

Utjecaj okolišnih i genetskih čimbenika na sadržaj ureje u mlijeku krava holštajn pasmine

Budimir, Draženko

Doctoral thesis / Disertacija

2014

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek /
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:151:715505>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-17**



Sveučilište Josipa Jurja
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet
agrobiotehničkih
znanosti Osijek**

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



REPUBLIKA HRVATSKA
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

mr. sc. Draženko Budimir, dipl. ing.

**UTJECAJ OKOLIŠNIH I GENETSKIH ČIMBENIKA NA
SADRŽAJ UREJE U MLIJEKU KRAVA HOLŠTAJN
PASMINE**

DOKTORSKI RAD

Osijek, 2014.

REPUBLIKA HRVATSKA
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

mr. sc. Draženko Budimir, dipl. ing.

**UTJECAJ OKOLIŠNIH I GENETSKIH ČIMBENIKA NA
SADRŽAJ UREJE U MLIJEKU KRAVA HOLŠTAJN
PASMINE**

- Doktorski rad -

Osijek, 2014.

REPUBLIKA HRVATSKA
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

mr. sc. Draženko Budimir, dipl. ing.

**UTJECAJ OKOLIŠNIH I GENETSKIH ČIMBENIKA NA
SADRŽAJ UREJE U MLIJEKU KRAVA HOLŠTAJN
PASMINE**

- Doktorski rad -

Mentor: dr. sc. Pero Mijić

Povjerenstvo za ocjenu:

- 1. dr. sc. Vesna Gantner, izvanredna profesorica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, predsjednica**
- 2. dr. sc. Pero Mijić, redoviti profesor Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, mentor i član**
- 3. dr. sc. Matija Domaćinović, redoviti profesor Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, član**

Osijek, 2014.

REPUBLIKA HRVATSKA
SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA
U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

mr. sc. Draženko Budimir, dipl. ing.

**UTJECAJ OKOLIŠNIH I GENETSKIH ČIMBENIKA NA
SADRŽAJ UREJE U MLIJEKU KRAVA HOLŠTAJN
PASMINE**

- Doktorski rad -

Mentor: dr. sc. Pero Mijić

**Javna obrana doktorskog rada održana je 06.11.2014. godine pred Povjerenstvom za
obranu:**

- 1. dr. sc. Vesna Gantner, izvanredna profesorica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku,
predsjednica**
- 2. dr. sc. Pero Mijić, redoviti profesor Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, mentor i
član**
- 3. dr. sc. Matija Domaćinović, redoviti profesor Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku,
član**

Osijek, 2014.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Doktorski rad

Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Poslijediplomski doktorski studij: Poljoprivredne znanosti

Smjer: Stočarstvo

UDK: 636.06 ' 234.19 + 157.02 ; 637.1

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Poljoprivreda

Grana: Stočarstvo

Utjecaj okolišnih i genetskih čimbenika na sadržaj ureje u mlijeku krava holštajn pasmine

mr. sc. Draženka Budimira, dipl. ing

Rad je izrađen na Poljoprivrednom fakultetu Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Mentor: Prof. dr. sc. Pero Mijić

Ciljevi ovoga rada su bili utvrditi u kojoj mjeri okolišni čimbenici (redosljed i stadij laktacije, starost kod prvog teljenja, sezona teljenja, regija i stado) imaju utjecaj na sadržaj ureje u mlijeku, te povezanost sadržaja ureje u mlijeku sa ostalim svojstvima mliječnosti krava. Najveća razina sadržaja ureje u mlijeku je zabilježena u prvoj laktaciji, u razdoblju između 110 i 140 dana, kada se kretala oko 23,6 mg/100ml. Na kraju prve laktacije prosječni sadržaj ureje u mlijeku je iznosio oko 21,6 mg/100ml. Drugu laktaciju karakterizira nešto veći sadržaj ureje, u razdoblju odmah nakon teljenja kada su zabilježene najviše vrijednosti od svih praćenih laktacija. Starost krava kod prvog teljenja je također imao utjecaj na sadržaj ureje u mlijeku. Krava koje su telile u dobi od 24. do 26. mjeseca imale su najvišu vrijednost sadržaja ureje koji je za navedeno razdoblje iznosio 23,2 mg/100ml. Najniža vrijednost sadržaja ureje je zabilježena kod krava koje su telile u dobi od 18. mjeseci i iznosila je ispod 20 mg/100ml. I sezona teljenja je utjecala na sadržaj ureje u mlijeku. U zimskoj sezoni 2004. godine zabilježene su najmanje vrijednosti sadržaja ureje u mlijeku, dok je u jesenskoj sezoni iste godine izmjeren najviši sadržaj ureje u mlijeku (24 mg/100ml). U narednim sezonama teljenja dolazi do opadanja sadržaja ureje u mlijeku. Razlike u sadržaju ureje u mlijeku utvrđene su između županija. Najviša vrijednost heritabiliteta (0,08) ocijenjena je modelom gdje je kao usporediva grupa korištena interakcija između stada i kontrolnog dana. U istraživanju, udio varijabilnosti pojašnjen interakcijom stado-dan kontrole, je iznosio 67%, dok je 25% varijabilnosti sadržaja ureje ostalo neprotumačeno. Ovaj je model korišten i pri procjeni uzgojne vrijednosti. Također je testiran i model gdje je utjecaj stada korišten kao usporediva grupa, te je ovim modelom ocijenjena najniža vrijednost heritabiliteta (0,03). U modelima gdje je interakcija između stada i godina testiranja korištena kao usporediva grupa ocijenjene su više vrijednosti heritabiliteta (0,04 i 0,05) u odnosu na prethodni model. Izračunate fenotipske korelacije između sadržaja ureje i osobina mliječnosti: dnevna količina mlijeka, dnevna količina i sadržaj masti i bjelančevina su bile statistički značajne ($P < 0,0001$). Pozitivna i niska fenotipska korelacija (0,15) utvrđena je između sadržaja ureje i dnevne količine mlijeka, između sadržaja ureje i dnevne količine masti (0,10), te između sadržaja ureje i količine bjelančevina (0,16). Između sadržaja ureje i sadržaja mliječne masti koeficijent korelacije je bio nizak i negativan (-0,05) dok je između sadržaja ureje i sadržaja bjelančevina on bio nizak i pozitivan (-0,03).

Broj stranica: 107

Broj slika: 1

Broj grafikona: 33

Broj tablica: 12

Broj literaturnih navoda: 132

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: kravlje mlijeko, holštajn pasmina, ureja, genetski čimbenici

Datum obrane:

Povjerenstvo za obranu:

1. izv. prof. dr. sc. Vesna Gantner – predsjednica
2. prof. dr. sc. Pero Mijić – mentor i član
3. prof. dr. sc. Matija Domaćinović – član

Rad je pohranjen u:

Nacionalna i sveučilišna knjižnica u Zagrebu, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Sveučilište u Zagrebu, Sveučilište u Rijeci, Sveučilište u Splitu,

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek

PhD thesis

Faculty of Agriculture in Osijek

Postgraduate study: Agricultural sciences

Course: Animal breeding

UDK: 636.06 ' 234.19 + 157.02 ; 637.1

Scientific Area: Biotechnical Sciences

Scientific Field: Agriculture

Branch: Animal breeding

Influence of environmental and genetical factors on urea content in milk with Holstein breed cows

Draženko Budimir, M.Sc.

Thesis performed at Faculty of Agriculture in Osijek, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek

Supervisor: Prof. dr. sc. Pero Mijić

The aims of this paper were to determine to which extent the environmental factors (order and stadium of lactation, age with the first calving, calving season, region and herd) have the influence on the content of urea in milk, and connection of urea content in milk with other features of milk production with cows. The largest share of urea content in milk was recorded in the first lactation, in the period between 110 and 140 days, when it was around 23.6 mg/100ml. In the end of the first lactation the average urea content in milk was around 21.6 mg/100ml. The second lactation is characterized by somewhat bigger urea content, in the period immediately after calving when the highest values from all tracked lactations was recorded. The age of cows with their first calving also had an impact on urea content in milk. Cows that calved in the age from 24th to 26th month had the highest value of urea content, which was 23.2 mg/100ml for the stated period. The lowest value of urea content was recorded with cows that calved in the age of 18 months and it was below 20 mg/100ml. Season of calving also influenced the urea content in milk. In winter season 2004 the lowest values of urea content in milk were recorded, while in the autumn season of the same year the highest urea content in milk was measured (24 mg/100ml). In the following calving season increase of urea content in milk followed. The differences in urea content in milk were determined between the counties. The highest value of heritability (0.08) was estimated by the model where as a comparison group the interaction between the herds and control day was used. In a research the share of variability was explained by the interaction herd-control day and it was 67%, while 25% of variability of urea content in milk remained unexplained. This model was used when estimating the breeding values. A model was also tested where the influence of herd was used as a comparison group and by this model the lowest value of heritability was estimated (0.03). In models where interaction between the herd and years of testing was used as comparison group higher values of heritability (0.04 and 0.05) were measured with respect to the previous model. Calculated phenotypical correlations between the urea content and milk production features: daily amount of milk, daily amount and content of fats and proteins were statistically significant ($P < 0.0001$). Positive and low phenotypical correlation (0.15) was determined between the content of urea and daily amount of milk, between the urea content and daily amount of fat (0.10), and between urea content and amount of proteins (0.16). Between the urea content and content of milk fat the coefficient of correlations was low and negative (-0.05), while between the urea content and content of proteins it was low and positive (-0.03).

Number of pages: 107

Number of pictures: 1

Number of figures: 33

Number of tables: 12

Number of references: 132

Original in: croatian

Key words: cow milk, Holstein breed, urea, genetical factors

Date of the thesis defense:

Reviewers:

1. **PhD Vesna Gantner, professor** – president
2. **PhD Pero Mijić, full professor** – mentor/member
3. **PhD Matija Domaćinović, full professor** – member

Thesis deposited in:

National and University Library, University of Josip Juraj Strossmayer in Osijek, University of Zagreb; University of Rijeka; University of Split,

KAZALO

1. UVOD	1
1.1. Pregled literature	5
1.1.1. Pregled brojnog stanja goveda u Republici Hrvatskoj.....	5
1.1.2. Kontrola mliječnosti u Republici Hrvatskoj	9
1.1.3. Fiziološka osnova ureje.....	13
1.1.4. Utjecaj hranidbe.....	15
1.1.5. Povezanost sadržaja ureje u krvi i u mlijeku goveda.....	19
1.1.6. Utjecaj sadržaja ureje u mlijeku na reprodukciju krava.....	21
1.1.7. Utjecaj ureje na zagađenje okoliša.....	24
1.1.8. Pasma	2
1.1.9. Okolišni čimbenici.....	29
1.1.9.1. Proizvodnja mlijeka.....	29
1.1.9.2. Kemijski sastav mlijeka.....	30
1.1.9.3. Broj somatskih stanica.....	34
1.1.9.4. Toplinski stres.....	36
1.1.9.5. Uzorkovanje mlijeka.....	38
1.1.9.6. Redoslijed laktacije.....	40
1.1.9.7. Stadij laktacije.....	41
1.1.9.8. Sezona teljenja.....	45
1.1.9.9. Fenotipske korelacije.....	46
1.1.10. Genetsko unaprjeđenje.....	46
1.1.10.1. Heritabilitet.....	47
1.1. Cilj istraživanja i hipoteze rada.....	49

2. MATERIJAL I METODE RADA	50
2.1. Materijal	50
2.1.1. Priprema proizvodnih podataka i porijekla.....	50
2.2. Statističke metode.....	52
2.2.1. Fiksni dio modela	53
2.2.2. Slučajni dio modela.....	54
3. REZULTATI ISTRAŽIVANJA	56
3.1. Struktura proizvodnih podataka.....	56
3.2 Struktura porijekla.....	66
3.3. Odabir modela.....	67
3.3.1. Fiksni utjecaji u modelu za svojstvo sadržaj ureje.....	67
3.3.2. Fenotipske korelacije.....	74
3.3.3. Komponente varijance.....	75
3.3.4. Procjena uzgojnih vrijednosti	77
4. RASPRAVA.....	80
5. ZAKLJUČCI	88
6. LITERATURA	90
7. SAŽETAK	101
8. SUMMARY	104
9. ŽIVOTOPIS	107

1. UVOD

Mlijeko predstavlja važnu namirnicu u prehrani suvremenog čovjeka. Ono se kao proizvod smatralo jako važnim za opstanak čovjeka i u prošlosti. Radi svega navedenog, u prošlosti je krava kao jedinka zauzimala posebno mjesto i nazivana je pomajkom čovječanstva. U nekim kulturama ona još uvijek zauzima visoko mjesto.

Proizvodnja mlijeka je sa socijalnog stajališta jako bitna za svaku državu i zbog toga se ovoj grani industrije poklanja posebna pozornost. U Europskoj uniji je u proteklom razdoblju veliki iznos novčanih poticaja bio usmjeren prema proizvođačima mlijeka, kako bi oni mogli normalno funkcionirati i održati svoju proizvodnju. S jedne strane ovo predstavlja pokazatelj da ova grana industrije bez pomoći države nije moguća, a s druge strane da je neophodno da svi građani imaju dostupno mlijeko u svojoj prehrani. U vrijeme globalizacije mnoge vlade nastoje očuvati socijalni mir održavajući nisku cijenu mlijeka, ali s time dovode u pitanje rentabilnost ove proizvodnje budući da cijene inputa svakodnevno rastu.

Ekonomski održiva proizvodnja mlijeka na mnogim gospodarstvima, a naročito onih manjih, danas se temelji na preradi mlijeka u određene autohtone proizvode dodane vrijednosti. Ovo je jedan od modela proizvodnje koji djelomično može osigurati opstanak stanovništva u ruralnim područjima. Mljekarski sektor je ekonomski teško samoodrživ i pravo je vrijeme da se razmisli o novim održivim modelima poticanja ove proizvodnje. U suprotnom, doći će do napuštanja ruralnih područja i prestanka obrađivanja poljoprivrednih površina.

Mlijeko je u današnje vrijeme globalizacije postala roba koja se, kao i drugi proizvodi, nalazi na otvorenom tržištu i čiju cijenu određuju ekonomska pravila ponude i potražnje. U takvim okolnostima vrlo je teško zadržati nisku cijenu mlijeka u prodaji i omogućiti stanovništvu podmirenje svojih potreba.

Radi navedenih razloga u Republici Hrvatskoj se posljednjih godina jako puno ulagalo u ovu proizvodnju. Nažalost, javlja se tržišna utakmica i suprotstavljene strane. Cilj poljoprivrednih proizvođača je da mlijeko proizvedu po što nižoj cijeni i tako ostvare dobit za sebe i svoju obitelj. Tržišna utakmica utječe da se pažljivo odabere način proizvodnje mlijeka i da se obrati pozornost

na sve značajke pravilnog načina uzgoja životinja. Posebno se ide u pravcu smanjenja troškova proizvodnje.

U proizvodnji mlijeka svakodnevno nastaju i primjenjuju se nove tehnologije, kao posljedica novih načina držanja, hranidbe, genetike, izgradnje objekata i cjelokupnog menadžmenta farme. Posebna pozornost posvećuje se pravilnoj i izbalansiranoj hranidbi, radi njenog izravnog utjecaja na proizvodnju mlijeka, ali i zbog samog udjela u cijeni koštanja. Sastavljaju se posebni obroci za svaku skupinu životinja ovisno o njenoj proizvodnji, što ponekad nije najbolji pristup jer se marginalizira utjecaj jedinke.

U vrijeme niskih cijena pojedinih komponenti krmiva često se eksperimentiralo kako bi se postigla što veća proizvodnost po grlu. Tu se podrazumijeva udio hranjiva bogatih bjelančevinama. Nažalost, vrijeme jeftinih hranjiva je iza nas i treba se prilagoditi novim uvjetima koji vladaju na tržištu. Cijene izvora bjelančevina svakodnevno rastu iz godine u godinu i ove trendove treba očekivati i u budućnosti. Uzroke svega ovoga jako je teško objasniti.

Posljednjih godina proizvodnja mlijeka u Republici Hrvatskoj imala je uspon zahvaljujući prilagodbi novim načinima proizvodnje, koji su se primjenjivali u razvijenim zemljama Europske unije. Kao rezultat toga došlo je do izgradnje novih farmi, uvođenja suvremene opreme te poboljšanja cjelokupnog menadžmenta farme. Praćenje suvremenih tehnologija podrazumijevalo je i nove načine hranidbe, balansiranja obroka za krave. Ovdje se posebna pozornost poklanja za visoko mliječne krave holštajn pasmine, ali i za sve druge pasmine. Grla holštajn pasmine, zbog svoje visoke genetske predispozicije za proizvodnju mlijeka, zahtijevaju i odgovarajuću hranidbu. U pojedinim fazama potrebno im je dati odgovarajući obrok, koji je lako probavljiv, ali i kvalitetan. Iako je popriličan dio proizvođača i uspio postići zadovoljavajuću proizvodnju, značajan pad cijena mlijeka na tržištu je i mnoge obeshrabrio od nastavka daljnje proizvodnje. Kako bi se zadržala proizvodnja mlijeka potrebno je nastaviti ulaganja u mliječni sektor (prilagođavanja hranidbe, genetike i cjelokupnog menadžmenta farme).

Zbog sve većih troškova proizvodnje mlijeka, u budućem razdoblju posebna pozornost poklanjat će se što racionalnijem korištenju resursa. To prije svega podrazumijeva primjerenu hranidbu, odnosno izbalansiran odnos pojedinih krmiva. Ovdje posebnu pozornost treba obratiti na činjenicu kako naći zamjenu krmiva bogatih bjelančevinama, čija cijena svakodnevno raste.

Jako je bitno pronaći kvalitetne izvore bjelančevina, jer to sve utječe na veće troškove proizvodnje mlijeka.

Odnos između sadržaja energije i bjelančevina trebao bi biti izbalansiran, kako bi se mogao postići potpuni učinak, kako s fiziološkog, tako i s ekonomskog stajališta. Sve ovo bit će poseban izazov znanosti i struci u budućnosti, a sve u cilju balansiranja između jeftinog obroka i dostatne proizvodnje po grlu. Jedna od mogućnosti je uporaba novog genetskog materijala koji će odgovoriti izazovima tržišta, a što se u prvom redu odnosi na odabir kvalitetnih linija bikova. Posebna odgovornost bit će na domaćim selekcionarima koji u reproduktivnim centrima trebaju iznaći prave odgovore na ove zahtjeve.

Posljednjih godina još se jedan izazov stavlja kao imperativ pred proizvođače mlijeka, a to je zaštita okoliša. Mnogobrojne nevladine udruge i određene institucije koje se bave ovom problematikom vrše pritisak na vlade razvijenih zemalja s naglaskom da mljekarski sektor onečišćuje okoliš. Proteklih godina svjedoci smo uvođenja određenih mjera kojima se regulira odlaganje stajskog gnoja, a nove regulative možemo očekivati i u skorijoj budućnosti. Nažalost, sve više se proizvodnja mlijeka optužuje za negativni utjecaj na ispuštanje stakleničkih plinova, onečišćenje zemljišta i podzemnih voda. Potrebno je naglasiti da se tu posebna pozornost daje na koncentraciju dušika u stajnjaku i gnojnici. Sve ovo treba uskladiti s racionalnom proizvodnjom i troškovima koji rastu.

Jedan od čimbenika koji može pomoći u rješavanju ove nedoumice je svakako koncentracija ureje u mlijeku. To se ogleda na više načina. Ureja predstavlja pouzdan pokazatelj izbalansiranosti obroka i njegov utjecaj na proizvodnju mlijeka. Ona govori o udjelu lako probavljivih bjelančevina u obroku i može pomoći kako ih smanjiti na prihvatljivu mjeru, odnosno kako obrok učiniti jeftiniji za istu proizvodnju mlijeka po grlu.

S druge strane, ureja se kao takva nalazi u krvi, ali i u fecesu. Smanjenjem njene koncentracije u hranidbi, odnosno dovođenjem na prihvatljivu razinu doći će i do smanjenja ukupnog dušika u stajskom gnojivu. Sve ovo će za posljedicu imati i smanjeno onečišćenje prirode sa stanovišta ekologije. S druge strane doći će i do smanjenja produkcije stakleničkih plinova.

Kako bi se dobila prava slika, pored hranidbe potrebno je ispitati i druge utjecaje na sadržaj ureje u mlijeku, kao što su: proizvodnja i sastav mlijeka, utjecaj stada, redoslijed

laktacije, stadiji laktacije, sezona, i slično. Sve ovo nam može pomoći da se dobije što konkurentnija proizvodnja mlijeka. Pored toga, treba dati odgovore na plodnost krava, odnosno određene reproduktivne parametre koji se, radi postizanja što veće proizvodnosti, često puta smanjuju. Ove dvije osobine najčešće su u negativnoj korelaciji. Sve navedeno moguće je postići kvalitetnim genetskim odabirom odgovarajućih očeva. Naravno, prvo treba utvrditi njihov utjecaj na sadržaj ureje u mlijeku i nakon toga dati odgovarajuće preporuke.

Sve ovo ima za cilj dovođenje proizvodnje mlijeka na samoodrživost jer su trendovi takvi da će se potpore smanjivati iz godine u godinu, a cijena mlijeka neće se značajnije mijenjati. Potrebno je ići u korak s vremenom i dati nove stručne i znanstvene odgovore i rješenja.

1.1. Pregled literature

1.1.1. Pregled brojnog stanja goveda u Republici Hrvatskoj

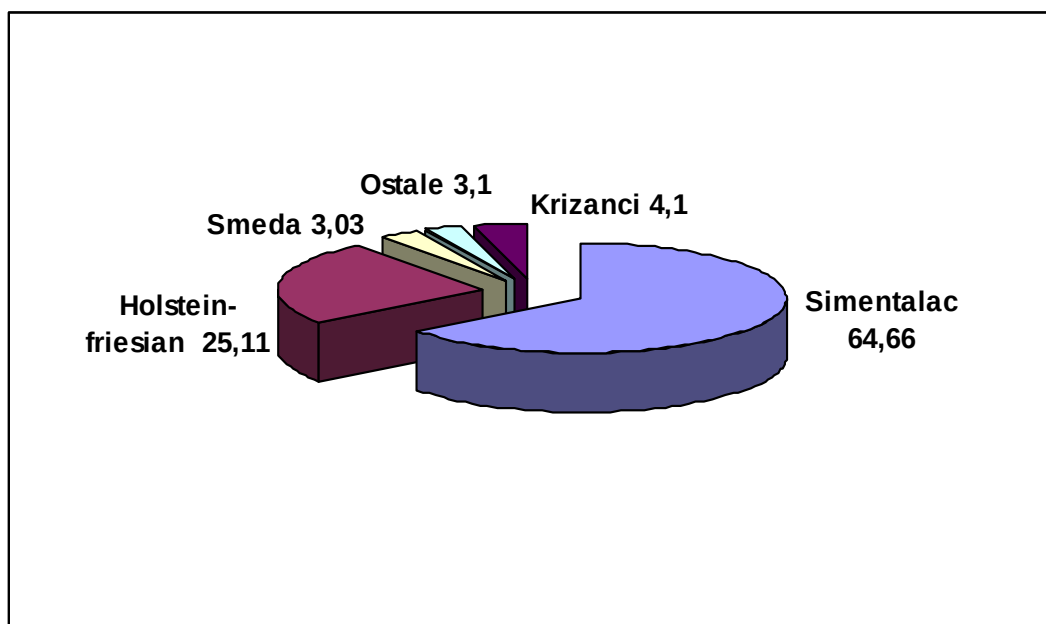
Brojno stanje goveda u Republici Hrvatskoj prati određene trendove koji vladaju i u zemljama EU. Pad broja krava naročito je bio izražen tijekom Domovinskog rata (1991.–1995.), budući da se značajan udio mliječnih krava nalazio na područjima zahvaćenim ratnim djelovanjem. Nakon 2000. godine brojno se stanje zbog uvoza velikog broja steonih junica stabiliziralo. Prema podacima Hrvatske poljoprivredne agencije (2012.), iz Tablice 1. vidljivo je da je najveći broj krava zabilježen 2006. godine. Ovo povećanje broja krava uvjetovano je nacionalnom agrarnom politikom koja je uključivala davanje značajnih iznosa novčanih potpora u sektor proizvodnje mlijeka, osiguranje povoljnih kreditnih linija te dijela nepovratnih sredstava kod kupovine matičnog stada, opreme ili pri izgradnji objekata.

Tablica 1. Broj krava u Hrvatskoj (HPA, Izvješće za 2012)

Godina	Broj krava	Mliječne i kombinirane krave	Kontrola mliječnosti		
			Broj krava	Udio krava (%)	Prosječna veličina stada
2003	223.954	222.816	46.754	21,0	9,3
2004	229.042	227.817	77.777	34,1	9,0
2005	231.633	229.340	86.846	37,9	10,1
2006	241.084	239.172	101.124	42,6	11,3
2007	234.671	232.076	111.075	47,9	12,3
2008	226.000	222.540	120.001	53,9	13,2
2009	224.719	219.914	120.703	54,9	13,7
2010	209.336	198.773	160.585	53,6	14,4
2011	206.291	193.951	109.865	56,6	15,7
2012	191.354	178.004	102.390	57,5	14,7

Pored tendencije smanjenja ukupnog broja krava, povećava se potencijalni udio grla pod kontrolom mliječnosti. Ovo je značajno za daljnji rad i razvoj Operativnog programa razvoja govedarske proizvodnje. Ovo će biti posebno značajno u narednom razdoblju jer će farme biti suočene s globalnim tržištem na kojem će morati daleko drugačije razvijati svoje upravljanje. Bolja kontrola farmi omogućit će davanje odgovarajućih preporuka za popravljivanje menadžmenta na farmama.

Populaciju krava u Republici Hrvatskoj (HPA, 2012.) čine slijedeće pasmine (Grafikon 1.): simentalaska (64,66%), holštajn (25,11%), smeđa (3,03%), ostale (3,1%) i križanci (4,1%).



Grafikon 1. Pasminski sastav u RH (HPA, 2012.)

Vidljivo je da je simentalaska pasmina i nadalje najbrojnija, ali tijekom zadnjih desetak godina dolazi do postupne promjene u strukturi goveda na farmama. Postepeno se smanjuje udio krava simentalaske pasmine, a povećava broj krava holštajn pasmine. Na ovo je zasigurno utjecala povoljna situacija u sektoru proizvodnje mlijeka.

Dugoročno promatrano, trend nije povoljan s obzirom na mesnu industriju jer se smanjuje broj simentalaskih krava koje su nezamjenjiv izvor teladi za tov, ali sa stanovišta mljekarske

industrije je za pohvalu. Sagledavajući sve gore navedeno, a sve je izraženija i ocjena znanstvenih i stručnih krugova, da je ekspanzija intenzivnog mliječnog govedarstva pri kraju. Razdoblje sve većeg pretapanja grla u holštajn pasminu bio je daleko najuspješniji globalni program u govedarstvu svijeta. Procjenjuje se da oko 80% populacije krava u zemljama EU su križanci i derivati holštajn pasmine. Moderni uzgojni programi danas veliku važnost daju funkcionalnim osobinama koje postupno odnose prevagu nad proizvodnim svojstvima.

Danas je uzgojni cilj dobiti kravu visoke proizvodnje, ali ne u laktaciji već u što dužem proizvodnom vijeku i bez dodatnih pratećih problema. U budućnosti cilj uzgajivača bit će krava koja proizvede najviše korisnih sastojaka mlijeka u svom proizvodnom životu u odnosu na svoju tjelesnu masu i količinu potrošene energije krme kojom se postiže najviša učinkovitost. Ovo će biti teško postići bez unapređenja funkcionalnih osobina, među kojima važno mjesto zauzimaju kontrola i mjerenje koncentracije ureje u mlijeku. Zemlje koje budu imale dovoljan broj krava moći će ostvariti uzgojni napredak u sklopu otvorenog tržišta Europske unije, dok onim drugima prijeti daljnji pad s obzirom na oštru konkurenciju.

Zastupljenost krava holštajn pasmine ima različite trendove po pojedinim županijama (Tablica 2.). Ovo je i prihvatljivo s obzirom na uvjete proizvodnje koji su različiti, a poznato je da ova pasmina ima povećane zahtjeve u pogledu hranidbe i uvjeta držanja.

Vidljivo je da je simentalaska pasmina i nadalje najbrojnija, ali tijekom zadnjih desetak godina dolazi do postupne promjene u strukturi goveda na farmama. Postepeno se smanjuje udio krava simentalске pasmine, a povećava broj krava holštajn pasmine, na što je zasigurno utjecala povoljna situacija u sektoru proizvodnje mlijeka.

Zastupljenost krava holštajn pasmine ima različite trendove po pojedinim županijama (Tablica 2). Ovo je i prihvatljivo s obzirom na uvjete proizvodnje koji su različiti, a svima je poznato da ova pasmina ima povećane zahtjeve u pogledu hranidbe i uvjeta držanja.

Tablica 2. Krave holštajn pasmine po županijama (HPA, 2012)

Županija	Kontrola mliječnosti						Ostale krave		Ukupno	
	AT metoda		BT metoda		Ukupno					
	Stada	Krava	Stada	Krava	Stada	Krava	Stada	Krava	Stada	Krava
Zagrebačka	251	1389	72	143	323	1532	189	346	512	1878
Krapinsko-zagorska	51	366	6	13	57	379	62	121	119	500
Sisačko-moslavačka	144	1017	47	157	191	1174	235	586	426	1760
Karlovačka	120	1166	51	144	171	1310	156	307	327	1617
Varaždinska	102	751	66	288	168	1039	114	214	282	1253
Koprivničko-križevačka	253	2317	206	745	459	3062	330	751	789	3813
Bjelovarsko-bilogorska	418	4063	213	686	631	4749	423	1018	1054	5767
Primorsko-goranska	5	15	8	50	13	65	33	52	46	117
Ličko-senjska	42	202	19	37	61	239	106	160	167	399
Virovitičko-podravska	94	917	16	212	110	1129	90	280	200	1409
Požeško-slavonska	50	297	29	105	79	402	51	143	130	545
Brodsko-posavska	139	968	12	42	151	1010	103	216	254	1226
Zadarska	1	9	4	838	5	847	27	83	32	930
Osječko-baranjska	195	2475	133	13008	328	15483	249	1180	577	16663
Šibensko-kninska	3	39	19	138	22	177	51	147	73	324
Vukovarsko-srijemska	201	1015	170	5128	371	6143	156	577	527	6720
Splitsko-dalmatinska	7	103	11	57	18	160	88	208	106	368
Istarska	16	513	21	86	37	599	59	149	96	748
Dubrovačko-neretvans.	-	-	-	-	-	-	21	40	21	40
Međimurska	116	1460	44	163	160	1624	63	222	223	1846
Grad Zagreb	15	60	6	8	21	68	38	53	59	121
Ukupno	2223	19143	1153	22048	3376	41191	2644	6853	6020	48044

1.1.2. Kontrola mliječnosti u Republici Hrvatskoj

Kontrola mliječnosti u Republici Hrvatskoj ima dugu tradiciju. S njenom provedbom započelo se davne 1930. godine unutar udruga uzgajivača koje su sačinjavale Savez marvogojskih udruga (Hrvatski stočarski centar, 2003.). Danas je Hrvatska poljoprivredna agencija (HPA) ovlaštena ustanova za provedbu kontrole proizvodnosti domaćih životinja u Republici Hrvatskoj. Od 1992. godine HPA (tadašnji Hrvatski stočarsko selekcijski centar) je članica međunarodnog komiteta za kontrolu proizvodnosti (engl. ICAR - International Committee for Animal Recording), a od travnja 2004. godine posjeduje pravo korištenja specijalnog ICAR-ovog pečata (*'Quod scriptum – est manet'*). ICAR je svjetska organizacija čiji je zadatak standardizirati procedure i postupke u provedbi sustava označavanja, kontrole i vrednovanja proizvodnih svojstava domaćih životinja te kontinuirano poticati napredak u kontroli proizvodnosti i evaluaciji primjenom novih znanstvenih spoznaja. Cilj je da članice ICAR-a provode kontrolne postupke sukladno metodama koje su preporučene i odobrene putem smjernica, procedura i uputa ICAR-a (ICAR, 2012.) na čemu je temeljen i sustav kontrole mliječnosti u Hrvatskoj.

Pod kontrolom mliječnosti podrazumijeva se prikupljanje podataka o dnevnoj proizvodnosti mliječnih grla goveda koja su u sustavu uzgojno–selekcijskog rada na određeni dan kontrole (ICAR, 2012.). U provedbi kontrole mliječnosti to podrazumijeva mjerenje i uzorkovanje mlijeka odobrenim i redovito baždarenim mjernim uređajima te provedbu laboratorijske analitike sukladno standardima ICAR-a. Proizvodni podaci zajedno s podacima o porijeklu ujedno predstavljaju temelj za izračun uzgojne vrijednosti grla te za provedbu selekcije u skladu s uzgojnim programom pojedine pasmine. Prema standardima ICAR-a (2012.), referentnom se smatra A4 metoda kontrole mliječnosti koja podrazumijeva mjerenje pri svim mužnjama u kontrolnom danu, a provodi je za to ovlaštena osoba. Kontrola se obavlja jednom mjesečno uz dozvoljeno razdoblje od 22–37 dana između dvije uzastopne kontrole. Godišnje mora biti napravljeno najmanje 11 kontrola. Mužnja grla pod kontrolom uglavnom je dvokratna (jutro–večer), ali na određenim je gospodarstvima u primjeni i trokratna mužnja (jutro–podne–večer). Referentnom se smatra metoda od dvije mužnje (2X) tijekom kontrolnog dana. Ukoliko se koriste podaci od drugačijeg broja mužnji, kontrole se moraju označiti prikladnim simbolima, kao što je prikazano u Tablici 3.

U stadu gdje se kontrolira jedna mužnja po kontrolnom posjetu i različita mužnja kod slijedećeg kontrolnog posjeta, koristi se simbol T (alternativna mužnja).

Tablica 3. Standardi ICAR – označavanje kontrola mužnje (ICAR, 2012.)

Broj dnevnih mužnji	Simbol
jedna mužnja dnevno	1X
dvije mužnje	2X
tri mužnje	3X
četiri mužnje	4X
stalna mužnja (npr. robot)	RX
regularna mužnja svaki dan ali u različito vrijeme (npr. 10 mužnji tjedno)	1,4X
Broj mužnji se označava prefiksom S	SX

Iz gore navedenog može se zaključiti da je metoda kontrole mliječnosti određena slijedećim kriterijima: osobom koja provodi kontrolu, brojem mužnji tijekom kontrolnog dana, kontrolom naizmjeničnih ili istih kontrolnih mužnji (kod AT metode) te intervalom između kontrolnih dana.

Na temelju kontrole utvrđuje se dnevna količina mlijeka, koja je jednaka zbroju količine izmjerene pri pojedinim mužnjama, te sastav mlijeka skupnog uzorka (proporcionalni dio pojedinih mužnji) kontroliranih grla. Pri alternativnoj metodi kontrola se obavlja samo pri jednoj mužnji, naizmjenično, ili pri jutarnjoj ili pri večernjoj mužnji, no uglavnom je prva kontrola u laktaciji pri večernjoj mužnji (ICAR, 2012.). Pri uzimanju uzoraka i mjerenju količine mlijeka mora biti nazočan kontrolor. Kontrolor je pri kontroli dužan zabilježiti vrijeme početka kontrolne i vrijeme početka ranije mužnje, radi izračuna dužine intervala između mužnji.

Prema ICAR-u (2012.), utvrđene količine mlijeka po pojedinoj mužnji korigiraju se odgovarajućim koeficijentima, odnosno dnevna se količina mlijeka procjenjuje na temelju

prethodno izrađenog i testiranog statističkog modela. Korekcijski faktori koriste se i za projekciju pojedinih komponenata mlijeka (mliječne masti i bjelančevina), dok se za sadržaj laktoze, ureje te broj somatskih stanica trenutno ne obavlja korekcija. Procjena dnevnih vrijednosti (količine i sastava mlijeka) korištenjem alternativne metode kontrole mliječnosti u Hrvatskoj se provodi prema metodi De Lorenza i Wiggansa (1986.), odobrenoj od strane ICAR-a. Prilikom provedbe kontrole mliječnosti dozvoljena je i primjena B metode (ICAR, 2012.). Oznaka B znači da kontrolu na gospodarstvu, odnosno mjerenje količine mlijeka pri pojedinoj mužnji te uzimanje uzoraka za laboratorijsku analizu, izvodi sam proizvođač. Kontrolu na gospodarstvu, odnosno mjerenje količine mlijeka pri pojedinoj mužnji te uzimanje uzoraka za laboratorijsku analizu izvodi sam uzgajivač, prethodno educiran o provedbi postupka označavanja uzoraka, pravilnog postupka uzimanja uzoraka te utvrđivanja količine namuženog mlijeka. Kontrolor na gospodarstvo dolazi samo po uzorke mlijeka za analizu.

Edukacija proizvođača, glede postupka označavanja uzoraka, pravilnog postupka uzimanja uzoraka te utvrđivanja količine namuženog mlijeka preduvjet je provedbi kontrole sukladno B metodi. Daljnje radnje, kao što su analiza uzoraka te obrada podataka obavljaju se kao i pri referentnoj metodi kontrole. Postoji i kontrola oznake C, koja podrazumijeva da su kontrolne radnje poduzete od strane farmera ili njegovog opunomoćenika, kao i od strane službenog predstavnika ovlaštene organizacije.

U današnje vrijeme, za razliku od raširene A kontrole, B kontrola zauzima sve veći udio. Ovo je naročito izraženo s ciljem smanjenja troškova provedbe same kontrole. Smanjenju troškova se teži i kod A metode, što podrazumijeva provedbu kontrole alternativnom metodom (AT) s različitim trajanjem kontrolnog razdoblja (4, 5, 6 ili 8 tjedana, Tablica 4.).

Tablica 4. Standardi ICAR – a za intervale između kontrola (ICAR, 2012.)

Metoda kontrole	Interval između kontrola (tjedni)	Minimalan broj kontrola/ godišnje	Interval između kontrola u godini (u danima)	
			min.	max.
Referentna metoda	4	11	22	37
A1	1	44	4	10
A2	2	22	10	18
A3	3	15	16	26
A4, AT4, B4	4	11	22	37
A5, AT5	5	9	32	46
A6, AT6, B6	6	8	38	53
A7	7	7	44	60
A8	8	6	50	70
A9	9	5	55	75
	Dnevno	310	1	3

*A – kontrolu vrši za to ovlaštena osoba; *B – kontrolu vrši uzgajivač.

Razumljivo je da se povećanjem intervala između kontrola smanjuje točnost izračuna laktacijske vrijednosti, ali smanjenje troškova njene provedbe je čimbenik koji igra veliku ulogu. Ovaj je trend raširen, kako u zemljama koje imaju dugu tradiciju kontrole, tako i u novim članicama ICAR-a. U cilju što točnije provedbe službene kontrole, neophodno je postojanje sustava nadkontrole. Njime se provjeravaju obavljene kontrolne radnje te se shodno tome dokumentiraju podaci iz provjere koji će osigurati utvrđivanje vjerodostojnosti kontrolnih postupaka (ICAR, 2012.).

1.1.3. Fiziološka osnova ureje

Ureja predstavlja normalan sastojak mlijeka, kao dio neproteinskog dušika. Hrana, odnosno njen sastav izravno utječu na koncentraciju amonijaka u buragu, što je posebno izraženo kod krmiva bogatim lako probavljivim proteinima ili kod obroka s visokim sadržajem bjelančevina. S ovakvim obrocima kod goveda dolazi do povećanog sadržaja dušika u buragu i do povećanog prijenosa amonijaka u krvi.

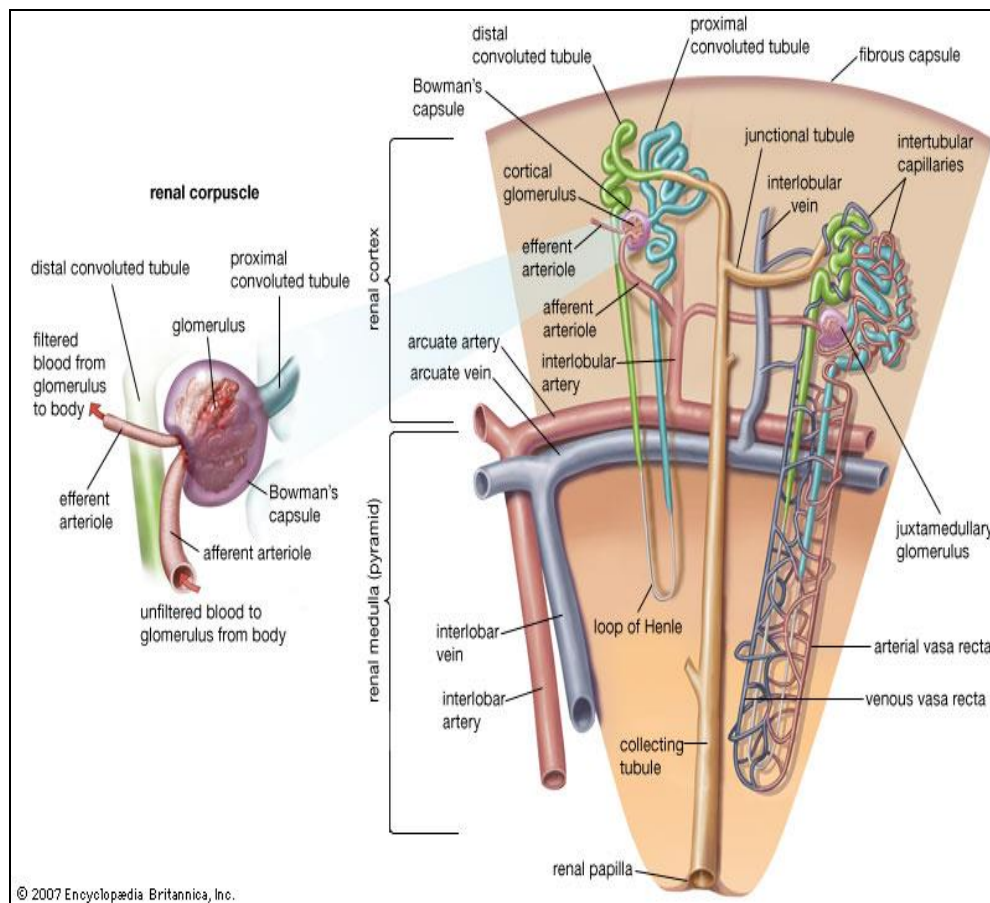
U rumino-retikularnom prostoru započinje razgradnja sirovih bjelančevina hrane, dolazi do deaminacije aminokiselina. Tom prilikom oslobađa se amonijak kojeg mikroorganizmi buraga koriste za sintezu svojih aminokiselina i bjelančevina, isključivo u slučaju dovoljne količine energije, odnosno lako probavljivih ugljikohidrata. Ukoliko toga nema, tada dolazi do fiziološke reakcije u jetri tako što se višak stvorenog toksičnog amonijaka pretvara u ureju (Symonds i sur., 1981.). Obujam sinteze mikrobnih bjelančevina ovisi o količini i sinkronizaciji brzine fermentacije konzumirane organske tvari i razgradnje bjelančevina krme (Grbeša, 1993.).

Koncentracija amonijaka u rumenu i pH buraga dva su glavna čimbenika koji utječu na razinu amonijaka u razmjeni s portalnim krvotokom. Suvišak aminokiselina i peptida oslobađa se u jetri i dušik se pretvara u ureju. Amonijak, koji je toksičan za životinje, brzo se u jetri pretvara u ureju (Swenson i Reece, 1993.).

Normalan sadržaj amonijaka u krvi kreće se u granicama od 0,1 do 0,1 mg%, što je dosta niska koncentracija ako se usporedi s razinom u buragu koja se kreće od 10 do 50 mg%, a sve je to posljedica brze detoksikacije amonijaka u jetri. Troškovi energije potrebne za sintezu i eliminaciju viška ureje procjenjuju se na oko 12 kcal po gramu (Van Soest, 1994.). Symonds i sur. (1981.) navode da jetra krave mogu uspješno ukloniti toksični amonijak do koncentracije od 12,0 g $\text{NH}_3\text{-N-h}^{-1}$. Kod koncentracije od 23 g $\text{NH}_3\text{-N-h}^{-1}$ dolazi do trovanja krave, prilikom čega životinja nemoćno leži na podu. Ukoliko bi koncentracija amonijaka bila u intervalu od 2 do 4 mg/100mL u perifernoj cirkulaciji (poslije jetre), krava će uginuti (Symonds i sur., 1981.).

Ulazak ureje u krvožilni sustav je preko jetrih sinusa pa dalje u venu jetre, gdje postaje dio krvi. Ureja se filtrira iz krvi preko bubrega, u koje ulazi putem bubrežne arterije te se filtrira preko nephronosa (Guyton, 1982., Slika 1.). Ovaj postupak prethodi za izlučivanje iz tijela u obliku urina (Guyton, 1982.).

Svaka bolest ili pogoršanje tjelesne kondicije, koje utječe na smanjenje glomerularne filtracije, poput dehidracije, bolesti srca i bolesti bubrega, ili bilo koje stanje koje povećava katabolizam proteina, može dovesti do povećanog sadržaja ureje u krvi, odnosno razine dušika (Fraser, 1991.).



Slika 1. Izgled nefrona (www.britannica.com/EBchecked/topic/409282/nephron)

Zbog protustrujnog toka i razlike u propusnosti membrane u uzlaznim i silaznim Henleovim petljama i koncentracije gradijenta za širenje ureje, stvara se pretpostavka da se u mokraći ukloni ureja iz krvi (Swenson i Reece, 1993.). Kroz bubrege je osiguran konstantan protok krvi kod životinja, čime se osigurava neprestana filtracija, bez obzira na volumen urina (Swenson i Reece, 1993.).

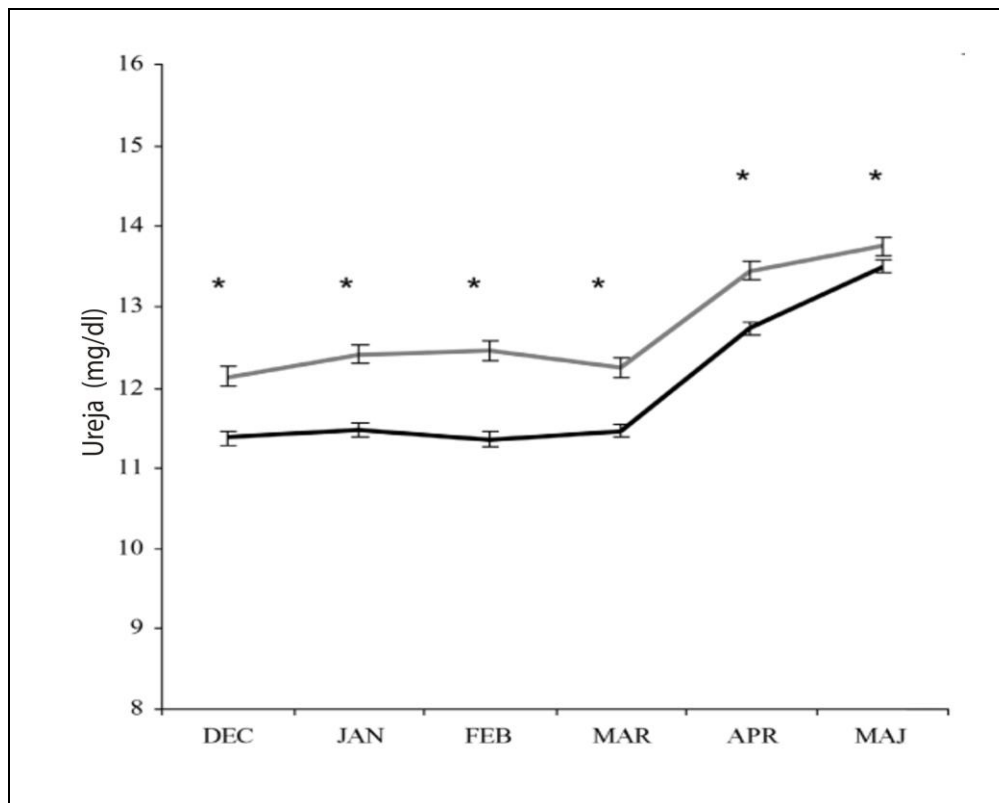
Koncentracije ureje u mokraći je proporcionalna koncentraciji ureje u krvi. Ureja se sastoji od malih neutralnih molekula, koja se putem difuzije, a preko stanične membrane prenosi u tjelesne tekućine. Budući da kroz mliječnu žlijezdu prođe jako velika količina krvi, ureja se difundira kako u mliječnu žlijezdu, tako isto i iz mliječne žlijezde. Na taj način se uspostavlja ravnoteža s koncentracijom ureje u krvi. Radi ovoga procesa količina dušika u mlijeku je proporcionalna s koncentracijom krvi ureje (Roseler i sur., 1993.) i može biti iskorištena kao ekonomski i neinvazivni proces praćenja bjelančevina u stadu (Ropstad i Refsdal, 1987.). Ovaj proces omogućuje da ureja u mlijeku može biti odličan pokazatelj koncentraciji ureje u krvi i u mokraći (Kohn i sur., 2004.).

1.1.4. Utjecaj hranidbe

Marenjak i sur. (2004.) ustanovili su da je neuravnotežen obrok krava, a posebno kod kojega je udio bjelančevina u suvišku, čisti ekonomski gubitak u proizvodnji mlijeka. Pored ekonomskog aspekta, on je neučinkovit i za životinje, a nepodoban za okoliš. Isti autori navode da vrijednost koncentracije ureje u krvi i ureje u mlijeku raste pri energetsom deficitu, odnosno nedovoljnoj opskrbi lako probavljivim ugljikohidratima, previsokoj proteinskoj ponudi te energetsom nedostatku uz istovremenu preveliku količinu bjelančevina u hranidbi.

Kada se sagleda ovo prethodno tumačenje, može se reći kako se ureja u mlijeku može koristiti kao alat za poboljšanje hranidbe stada i za praćenje hranidbenog statusa muznih krava u laktaciji (Jonker i sur., 2002., Grafikon 2.). Unuk (2003.) navodi da se za ocjenu pravilnog krmnog obroka za krave koristi sadržaj proteina, masti i ureje u mlijeku. Kao posebnost ističe da se sadržaj ureje u mlijeku uvijek razmatra zajedno sa sadržajem bjelančevina u mlijeku, a preporučene vrijednosti predstavljaju optimalnu opskrbu životinja sirovim bjelančevinama i energijom.

Koncentracija ureje u mlijeku je u pozitivnoj korelaciji s razinom konzumacije sirovih bjelančevina iz obroka, postotkom u buragu razgradivih i nerazgradivih bjelančevina i odnosom između bjelančevina i energije (Roseler i sur., 1993.; Baker i sur., 1995.), dok je u negativnoj korelaciji sa sadržajem nevlaknastih ugljikohidrata u obroku krava (Godden i sur., 2001.b).

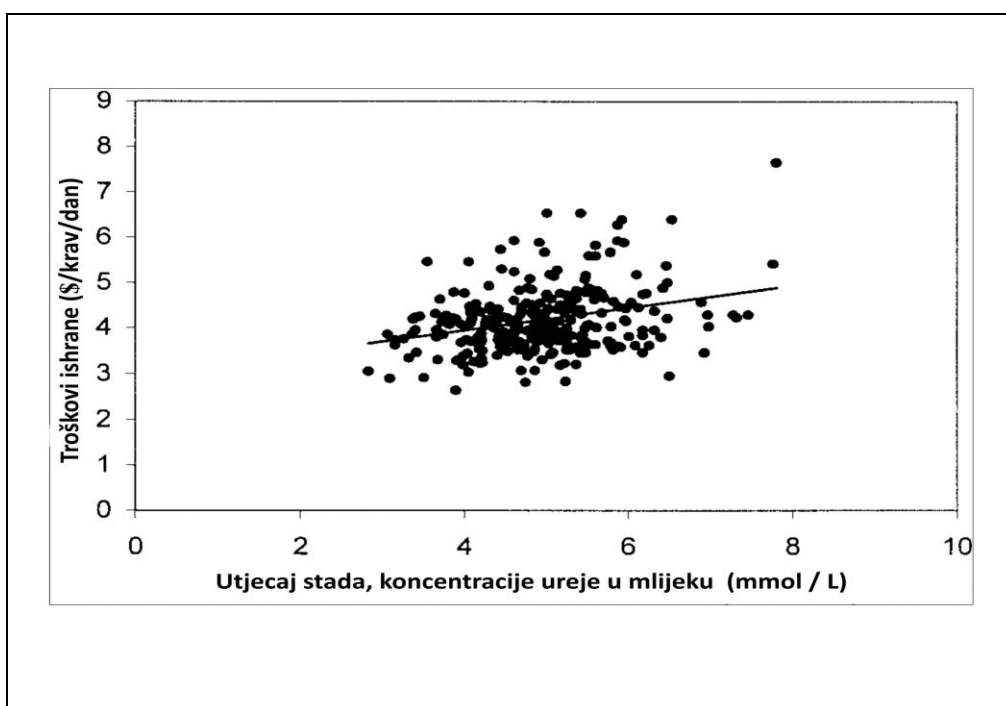


Grafikon 2. Utjecaj ishrane na sadržaj ureje (Jonker i sur.,2002)

Prema rezultatima brojnih autora, korelacija između sadržaja ureje u krvi i mlijeku je visoka i pozitivna (Roseler i sur., 1993.; Butler i sur., 1996.; Broderic i Clayton, 1997.; Rodriguez i sur., 1997.; Campanile i sur., 1998.; Wittwer i sur., 1999.). Radi toga se sadržaj ureje u mlijeku danas sve više koristi kao praktičan pokazatelj praćenja konzumacije sirovih bjelančevina i energije u obroku, odnosno lakši način provjere učinkovitost iskorištavanja dušika (N) iz obroka mliječnih krava. Sve navedeno ima važnu ulogu prilikom pripreme obroka za muzne krave. Kod neizbalansiranog obroka, koji ima višak sirovih bjelančevina, može doći do negativnog utjecaja na reproduktivne i proizvodne parametre (Broderick i Clayton, 1997.). Isti autori navode kako prevelika koncentracija sirovih bjelančevina povećava zahtjeve u energiji kod krava, a sve dovodi do prekomjernog izlučivanja dušika u okoliš. Ne treba zaboraviti kako su

izvori bjelančevina danas dosta skupi pa se automatski povećava cijena obroka i poskupljuje proizvodnja mlijeka.

Gooden i sur. (2001.a) navode kako srednja vrijednost sadržaja ureje u mlijeku ima pozitivnu korelaciju s troškovima hrane po grlu dnevno, ali ona nije povezana s dnevnim prihodima od mlijeka (Grafikon 3.). Isti autori navode da stada koje imaju veće vrijednosti koncentracije ureje, obično imaju niže troškove ishrane po grlu dnevno.



Grafikon 3. Utjecaj stada, koncentracije ureje u mlijeku i troškova proizvodnje
Gooden i sur. (2001a)

Roseler (1990.) utvrdio je gubitke od 0,09 US dolara po kravi dnevno, zbog hranjenja s viškom bjelančevina u obroku u državi New York. Nelson (1995.) dao je niz scenarija na osnovu kojih se za svaki uloženi dolar testiranja koncentracije ureje u mlijeku, znači povrat 10 dolara. U Nizozemskoj je koncentracija ureje u mlijeku važan čimbenik i sastavni je dio Europskog zakonodavstva (LNV, 2006.).

Dirksen (1994.) prikazuje odnos bjelančevina-energija te pojašnjava povezanost sadržaja bjelančevina i energije u obroku s koncentracijom ureje i bjelančevina u mlijeku. Kampl i Martinčić (1995.) istraživali su izrazito prisutan deficit u energiji i bjelančevinama te pretpostavili da je hranidba neodgovarajućim koncentratima uzrokovala nisku koncentraciju ureje ($2,99 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) i bjelančevina u mlijeku (2,71%). Kampl i Stolla (1995.) su na osnovi smanjenog sadržaja ureje u mlijeku i iz povećanog postotka masti u mlijeku dokazali izraziti nedostatak energije u hrani, čija je posljedica prekomjerna mobilizacija tjelesnih masti.

Središnji laboratorij za kontrolu mlijeka u Križevcima 2003. godine obavio je oko 23.000 analiza koncentracije ureje u mlijeku. Više od 50% uzoraka bilo je na donjoj granici prihvatljivosti (5-15 mg/dl mlijeka), dok su rezultati preostalih uzoraka bili u granicama prihvatljivosti (15-35,15 mg/dl), navode Čuklić i sur. (2009.). Isti autori utvrdili su kod dobro izbalansiranog obroka optimalnu koncentraciju ureje u mlijeku od 26,36 mg/dl te navode da koncentracija ureje u mlijeku od 15,7 mg/dl ukazuje da je obrok djelomično izbalansiran. Prilikom usporedbe sastava obroka i sastava mlijeka autori su zaključili da je potrebno podići količinu sirovih bjelančevina i energije iznad dobivene norme.

Babnik i sur. (2004.) utvrdili su da je na osnovi sadržaja bjelančevina i ureje moguće procijeniti opskrbljenost mliječnih krava probavljivim bjelančevinama i energijom, odnosno vrednovati njihov hranidbeni status. Tijekom različitih stadija laktacije, dnevna količina mlijeka slijedi tzv. „laktacijsku krivulju“.

Sadržaj mliječne masti i bjelančevina u mlijeku slijedi inverziju iste krivulje, uglavnom uslijed efekta razrjeđivanja, navodi Eicher (2004.). Signifikantan utjecaj na sadržaj mlijeka može imati i razina proizvodnje, a ne samo stadiji laktacije (Emery, 1988.).

Gantner i sur. (2006.) su na osnovu rezultata sadržaja bjelančevina i ureje u mlijeku utvrdili zadovoljavajuću opskrbljenost probavljivim bjelančevinama i energijom kod 21,04% krava koje proizvode ispod 10 kg mlijeka, 22,48% kod proizvodnje 10–20 kg te 18,29% proizvodnje iznad 20 kg mlijeka po grlu dnevno (Tablica 5.). Autori su naišli na izraženi deficit probavljivih bjelančevina kod krava niske mliječnosti, dok je nedovoljna opskrba energijom evidentna u krava s višom razinom proizvodnje (iznad 20 kg mlijeka).

Tablica 5. Razredi ovisno o sadržaju bjelančevina i ureje u mlijeku te opskrbljenosti probavljivim bjelančevinama i energijom (Gantner i sur., 2006.)

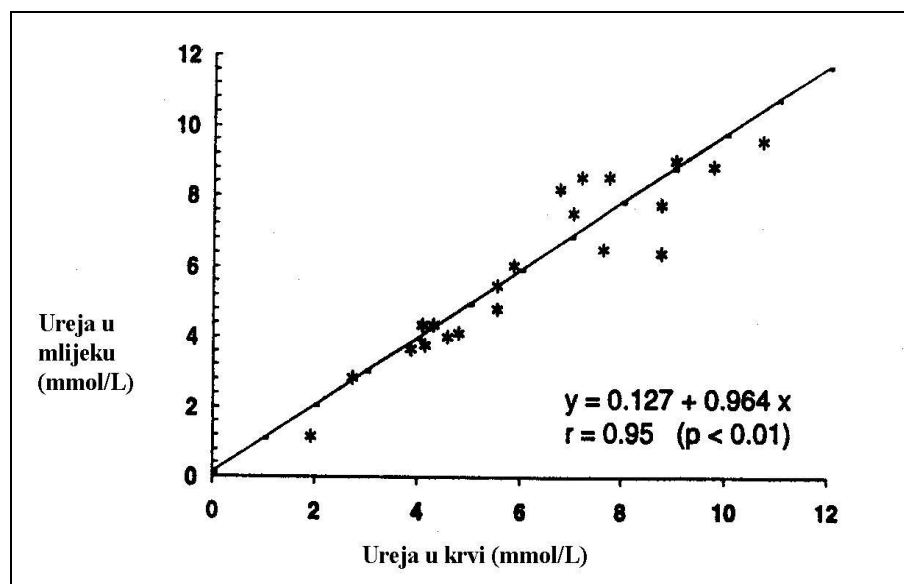
Razred	Bjelančevine (%)	Urea (mg/dl)	Opskrbljenost	
			Probavljivim bjelančevina	Energijom
C1	$\leq 3,20$	$\leq 15,00$	nedostatna	Nedostatna
C2	$\leq 3,20$	15,01 – 30,00	Zadovoljavajuća	Nedostatna
C3	$\leq 3,20$	$\geq 30,01$	u suvišku	Nedostatna
B1	3,21	$\leq 15,00$	Nedostatna	Zadovoljavajuća
B2	3,21	15,01 – 30,00	Zadovoljavajuća	Zadovoljavajuća
B3	3,21	$\geq 30,01$	u suvišku	Zadovoljavajuća
A1	$\geq 3,81$	$\leq 15,00$	nedostatna	u suvišku
A2	$\geq 3,81$	15,01 – 30,00	zadovoljavajuća	u suvišku
A30	$\geq 3,81$	$\geq 30,01$	u suvišku	u suvišku

1.1.5. Povezanost sadržaja ureje u krvi i u mlijeku goveda

Ureja nastala u jetri slobodno se i brzo širi kroz membrane stanica, ulazi u tjelesne tekućine, uključujući mlijeko, tako da koncentracija ureje u mlijeku precizno reflektira sadržaj ureje u krvi (Rook i Thomas, 1985.). Wittwer i sur. (1999., Grafikon 4.) su analizom skupnih uzoraka mlijeka utvrdili visoku pozitivnu korelaciju ($r=0,95$; $p<0,01$) između sadržaja ureje u krvi i u mlijeku krava, što je u skladu s rezultatima prethodnih istraživanja (Refsdal, 1983.; Rook

i Thomas, 1985.; Butler i sur., 1996.; Campanile i sur., 1998.). Broderick i Clayton (1997.) navode jaku povezanost vrijednosti ureje u krvi i u mlijeku krava ($r^2=0,842$) u individualnih uzoraka mlijeka.

Prema istraživanju Campanile i sur. (1998.), povećanje udjela sirovih bjelančevina u suhoj tvari obroka značajno povećava koncentraciju ureje u krvi i mlijeku. Roseler i sur. (1993.) dokazali su da je koncentracija ureje u mlijeku i u krvi pod utjecajem promjena sadržaja u buragu razgradivih i nerazgradivih (*bypass*) bjelančevina, kao i pod utjecajem razine unosa energije u obroku. Kod krava u laktaciji, sadržaj ureje u krvi opada uspostavljanjem optimalne razine fermentiranjem ugljikohidrata u buragu koji omogućuju sintezu mikrobnih bjelančevina, u buragu razgradivih bjelančevina i ostalih N-spojeva. Višak u buragu razgradivih bjelančevina odgovoran je za porast sadržaja ureje u krvi i mlijeku te ima vrlo mali utjecaj na sintezu bjelančevina mlijeka (Campanile i sur., 1998.).



Grafikon 4. Povezanost između sadržaja ureje u mlijeku i u krvi (Wittwer i sur., 1999)

Jedan od glavnih pokazatelja opskrbe dušikom u organizmu krava je koncentracija ureje u mlijeku ili krvnoj plazmi. Iz praktičnih razloga koncentracija ureje češće se mjeri u mlijeku nego u krvi. Međutim, koncentracija ureje u krvi usko je povezana s koncentracijom ureje u drugim tjelesnim tekućinama.

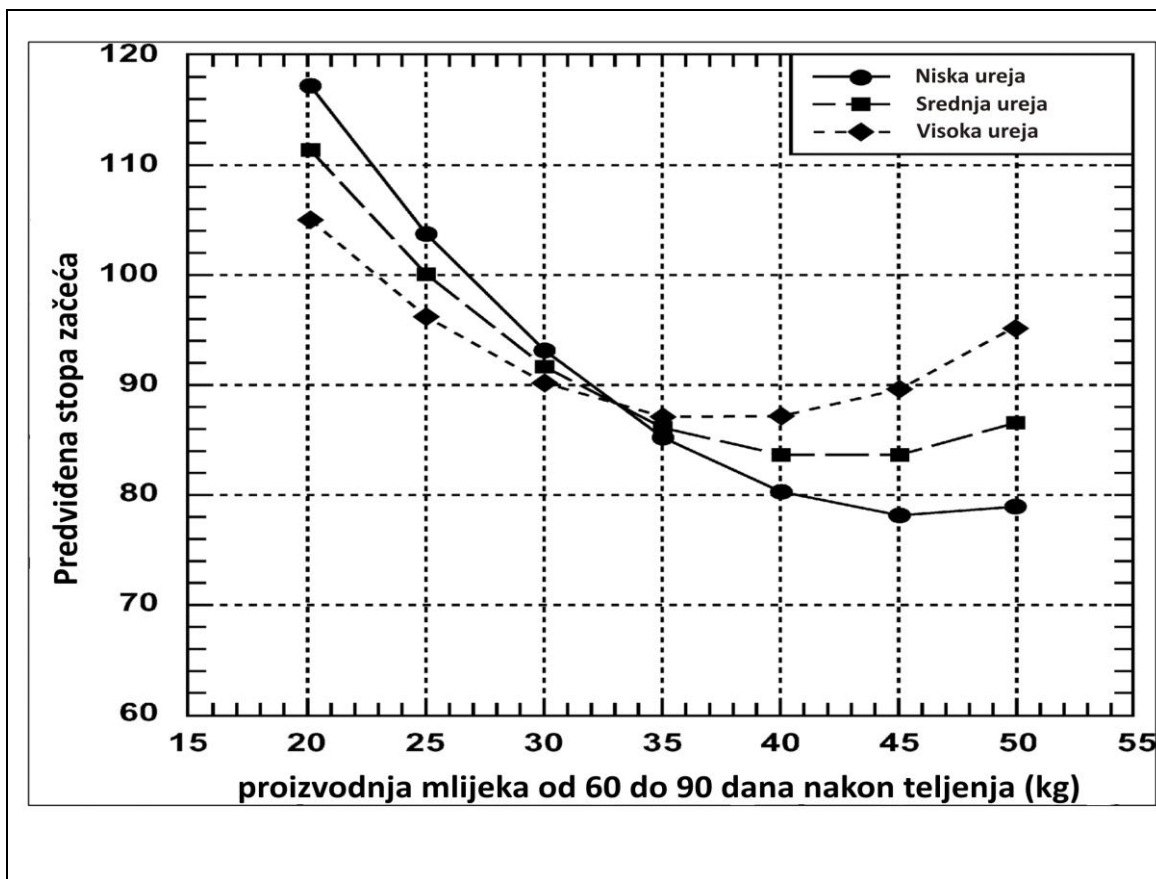
Veća konzumacija dušika u hrani ili povećan katabolizam proteina uzrokuje povećanje koncentracije ureje u krvnoj plazmi (Chládek i Máchal, 2004.). Orozco-Hernandez i Brisson (1995.) istraživali su odnos između plazmatske ureje i proizvodnje mlijeka. Otkrili su da je veći porast proizvodnje mlijeka usko povezan s manjom koncentracijom ureje u krvnoj plazmi i da je manja proizvodnja mlijeka bila u korelaciji s većom koncentracijom ureje u plazmi. Roseler i sur. (1993.) promatrali su pet skupina krava holštajn pasmine s obrocima različitog sadržaja i omjera razgradivih i nerazgradivih bjelančevina. Najniža koncentracija ureje u serumu utvrđena je u skupini s najnižom proizvodnjom mlijeka, ali ta tvrdnja nije potvrđena u ostalim skupinama.

Autori iznose različite podatke o sadržaju ureje u mlijeku, a što ovisi i o području istraživanja (Europa ili Amerika). Kada se sadržaj bjelančevina u mlijeku kreće u granicama od 3,2-3,8%, normalne vrijednosti ureje trebale bi biti u granicama od 15-30 mg/dl (Pintiće i sur., 2007.). Babnik i sur. (2004.) također navode da je optimalan sadržaj ureje u mlijeku 15-30 mg/dl, dok Jonker i sur. (1999.) kao optimalnim ističu niže vrijednosti ureje u mlijeku (10 do 16 mg/dl). Kohne i sur. (2004.) smatraju kao normalnim vrijednostima sadržaja ureje u intervalu od 7 do 19 mg/dl, a vrijednosti slične njihovim vrijednosti navode Moore i Varga (1996.). Carlson i Pehrson (1994.) preporučuju da se kao normalna koncentracija ureje u mlijeku smatra ona u intervalu od 4,0 do 5,5 mmol·l⁻¹. Različiti čimbenici, uključujući zdravlje ili energetske bilance, mogu utjecati na sadržaj ureje u mlijeku, a ujedno i na razlike u koncentraciji između pojedinih krava u stadu (Collard i sur., 2000.; Stockham i Scott, 2002).

1.1.6. Utjecaj sadržaja ureje u mlijeku na reprodukciju krava

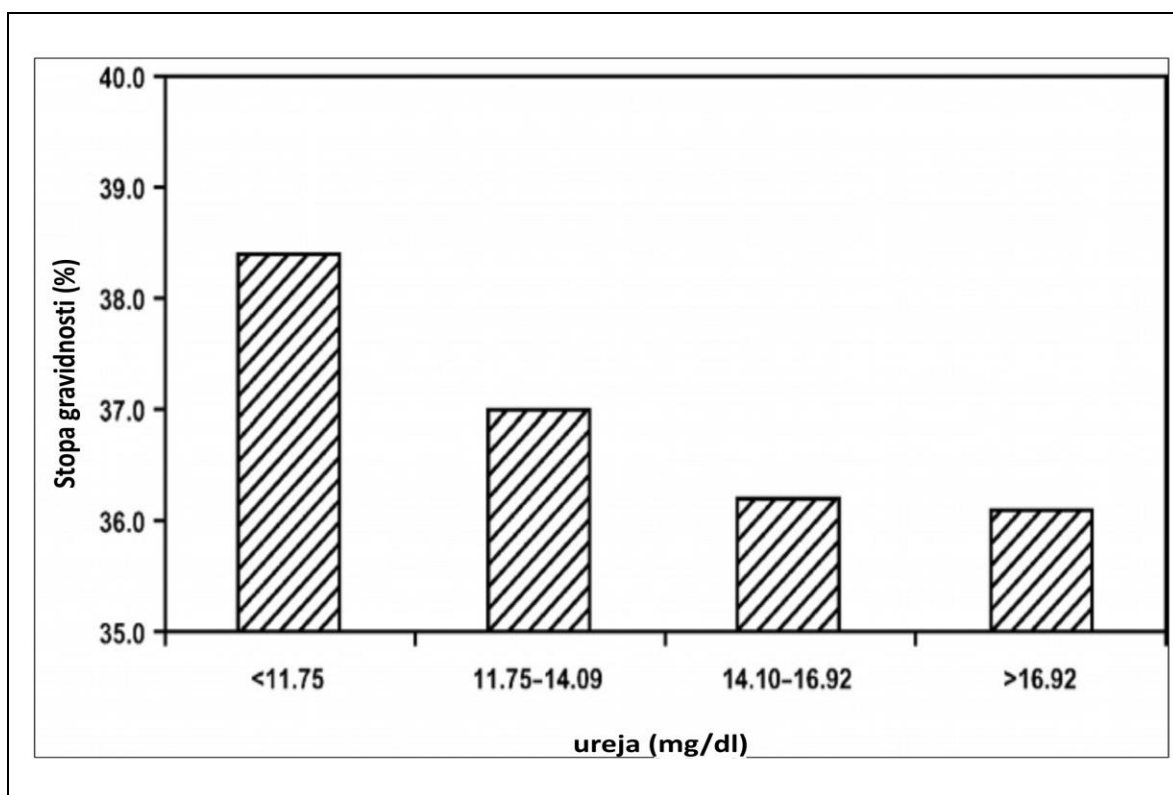
Problematika reprodukcije jedna je od osnovnih problema današnjeg suvremenog mljekarstva. Ovo se posebno očituje kod visoko produktivnih grla. Posljedica selekcije na što veću proizvodnju mlijeka su povećani problemi s reproduktivnim parametrima. Na probleme s dugovječnosti krava u proizvodnji utječe mnogo čimbenika. Jedan od njih je zasigurno i sadržaj ureje u mlijeku. Autori koji su istraživali ovaj problem (Gustaffson i Carlsson, 1993.; Butler i sur., 1996.; Wittwer i sur., 1999.; Melendez i sur., 2000.; Rajala-Schultz i sur., 2001.; Guo i sur., 2004., Grafikon 5.) ustanovili su da postoji jaka povezanost između visokog sadržaja ureje u mlijeku i smanjene reproduktivne sposobnosti u krava. Nasuprot toga, isti autori u drugim istraživanjima nisu utvrdili vezu između visokog sadržaja ureje u mlijeku i problema s

reproduktivnim parametrima (Butler i sur., 1996.; Melendez i sur., 2000.). Butler i sur. (1996.) su ustanovili da krave kojima je na dan osjemenjivanja utvrđen sadržaj ureje iznad 19 mg/dl mlijeka, imaju za 21% manju uspješnost koncepcije u odnosu na krave s nižim sadržajem ureje u mlijeku.



Grafikon 5. Interakcija između proizvodnje mlijeka i sadržaja ureje; nizak MUN = 10.7 mg/dL, srednji MUN = 13.7 mg/dL, visok MUN = 17 mg/dL (Guo i sur., 2004.).

Navedeno je u skladu s istraživanjem Larsona i sur. (1997.), ali oni su ustanovili da se to odnosi na grla s nešto većim sadržajem ureje (iznad 21 mg/dl). S druge strane Hojman i sur. (2004., Grafikon 6.) navode da je sadržaj ureje u mlijeku za probleme s koncepcijom dovoljan i u iznosu 14,09 mg/dl mlijeka, odnosno i 15,4 mg/dl prema istraživanjima Rajala-Schultz i sur. (2001).



Grafikon 6. Odnos sadržaja ureje prema gravidnosti, odnosno koncepciji osjemenjivanja kod krava u laktaciji (Hojman i sur., 2004.)

Razlozi koji se povezuju s problemom koncentracije ureje i problemom reprodukcije su višestruki. Jedno objašnjenje je da prevelika količina u buragu razgradivih bjelančevina djeluje putem dosad nepoznatog mehanizma na pad vrijednosti pH u maternici majke tijekom lutealne faze embrionalnog razvoja, što može za posljedicu imati smanjenje plodnosti (Elrod i Butler, 1993.). U ranom embrionalnom razvoju zahtijevaju se odgovarajući uvjeti u jajovodu i maternici. Povećane razine ureje ili amonijaka u krvi mogu biti toksične za spermu, jajašca ili embrije, odnosno mogu dovesti do destrukcije cilija u jajovodu majke (Moore i Varga, 1996.).

Prema istraživanjima Wittwera i sur. (1999.) sadržaj ureje u mlijeku veći od 7,3 mmol/l na dan osjemenjivanja rezultira značajnim smanjenjem postotka koncepcije kod prvog pripusta u odnosu na krave sa sadržajem ureje manjim od 5,0 mmol/l mlijeka. Uvođenje u obrok krmiva bogatih u buragu nerazgradivim bjelančevinama snižava sadržaj ureje u mlijeku i u krvi te poboljšava svojstva plodnosti krava (Canfield i sur., 1990.; Butler i sur., 1996.).

Amonijak i drugi produkti metabolizma ureje mogu utjecati na pogoršanje reproduktivnih parametara (Jordan i sur., 1983.). Jorritsma i sur. (2003.) utvrdili su da postoji utjecaj sadržaja ureje na reproduktivne parametre i to izrazito značajno u ranom dijelu laktacije.

1.1.7. Utjecaj ureje na zagađenje okoliša

U današnje vrijeme poljoprivredni proizvođači suočeni su s potrebom da proizvedu što veće količine hrane, s manje jedinica obradive površine. S druge strane često se postavlja pitanje utjecaja poljoprivredne proizvodnje na sam okoliš, odnosno utjecaj „poljoprivrednog otpada“ s farme na zagađenje istog. Prvi parametar koji je promatran i koji se našao pod kontrolom je dušik (Kohn i sur., 1997.). Kao jedan od čimbenika stočarske proizvodnje, Kohn i sur. (2005.) navode da je to proces pretvaranja ugljikohidrata i bjelančevina iz hrane za životinje u hranu za ljude. Samo jedan mali dio (do 30%) dušika iz stočne hrane ispuni ovaj cilj.

Najveći dio dušika izlučuje se putem fecesa i utječe na zagađenje okoliša. Dušik se oslobađa u okoliš putem izlučevina (urin i feces) životinja kao neprobavljene dušične frakcije i kao krajnji produkti metabolizma. Zbog toga se izlučivanje dušika putem izmeta promatra kao globalni ekološki problem i tretira kao jedan od vodećih zagađivača vode i zraka (NRC, 2003.). Zbog ovakvih stavova i rezultata stočarstvo se tretira kao jedan od vodećih zagađivača životne sredine. Van Aardenne i sur. (2001.) iznose podatak da je od svih izlučevina dušika u okoliš, nastalih kao posljedica ljudske aktivnosti, njih između 30 i 70% nastalo kao produkt stočarske proizvodnje. Kao glavni produkt metabolizma dušika kod većine sisavaca, a samim time i preživača, je ureja (Merchen, 1993.).

Iako se najveći dio ureje izlučuje putem urina, jedan dio se izlučuje i putem mlijeka. Jonker i sur. (1988.) predložili su jednostavan model izračunavanja dušika kod mliječnih krava, koji se zasniva na empirijskom odnosu između dušika u mokraći (UN) i mlijeku (MUN). On glasi $UN (g/d) = 12,54 * MUN (mg/dl)$. U istraživanju koje su na kravama holštajn pasmine proveli Kauffman i St-Pierre (2001.) ustanovljen je odnos $UN (g/d) = 17,6 (+ 0,56) MUN (mg/dl)$.

Postoji mnogo istraživanja temeljenih na povezanosti emisije amonijaka iz stajskog gnoja i koncentracije ureje u mlijeku. Isparavanje amonijaka u atmosferu je složen proces u kojem se dušik oslobađa iz stajskog gnoja (urina i izmeta) i putem različitih biokemijskih procesa. Početak

procesa isparavanja amonijaka iz gnojiva započinje hidrolizom mokraćne ureje u NH_3 i CO_2 , katalizirane pod utjecajem ureaze, enzima koji se nalazi kako u fecesu tako i u zemljištu (Muck i Steenhuis, 1980.).

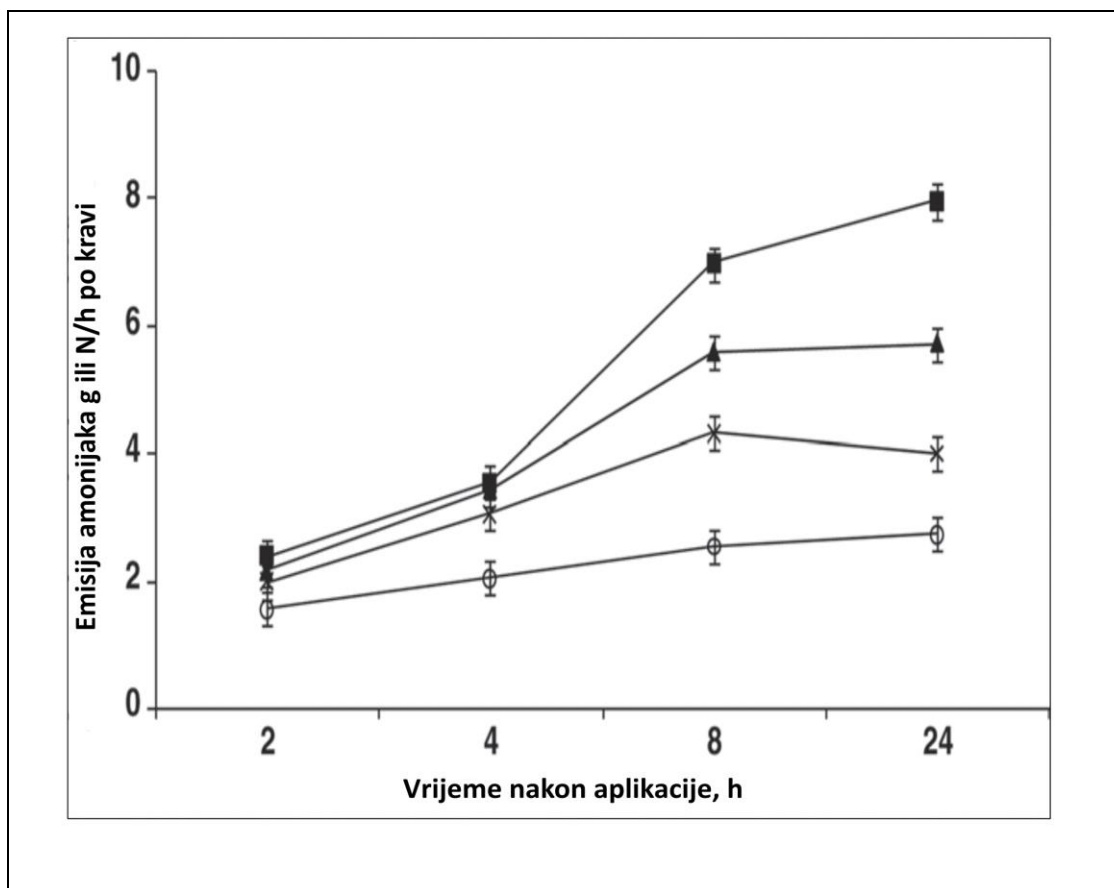
Jednom hidroliziran amonijak u vodenoj otopini prisutan je u oba oblika (kao NH_4^+ i NH_3) koji se nalaze u ravnoteži. Ono što uspostavlja ravnotežu između lako isparljivog NH_3 i neisparljivog NH_4^+ je odnos temperature i pH vrijednosti. Isparavanje amonijaka u atmosferu nastaje konvekcijom preko graničnog sloja gnojiva i atmosferskog zraka i ovisi o temperaturi i strujanju zraka (Monteny i Erisman, 1998.). Budući da se ureja proizvodi uglavnom u jetri, kao sredstvo detoksikacije služi sistemska cirkulacija, producirana katabolizmom i ruminalnim mikroorganizmima koji razgrađuju dušične spojeve u spojeve prihvatljive za preživače (DePeters i Ferguson, 1992.).

Koncentracija ureje u krvi povezana je s koncentracijom u mlijeku (Gustafsson i Palmquist, 1993.), tako da su koncentracija dušika u krvi i mlijeku usko povezani (Broderick i Clayton, 1997.). Koncentracija ureje u mlijeku može biti jako dobar način za određivanje izlučivanja dušika kroz mokraću i njegova učinkovitosti kod krava mliječnih pasmina. Linearna povezanost između koncentracije ureje u mlijeku i dušika u urinu je dobivena na osnovu proučavanja, da je iznos dušika izlučen putem urina proporcionalan koncentraciji ureje u krvi, a što je opet u korelaciji s koncentracijom ureje u mlijeku (Jonker i sur., 1998.).

Različiti autori utvrdili su da prekomjerno korištenje bjelančevina u obroku, uz povećanje troškova, dovodi i do povećanja zagađenja okoliša (Blanchard i sur., 1990.; Baker i sur., 1995.; Burgos i sur., 2007.). U svom radu Vandehaar (1998.) navodi da kod povećanja sadržaja bjelančevina u obroku za 2%, koji sadrži 19% sirovih proteina, dolazi do gubitka energije od 0,36 Mcal/dan. Mogućnost procjene izlučivanja dušika kod životinja može se koristiti kao metoda za smanjenje zagađenja, a istovremeno i za smanjenje korištenja viška proteinskih hranjiva u hranidbi krava (NRC, 2003.).

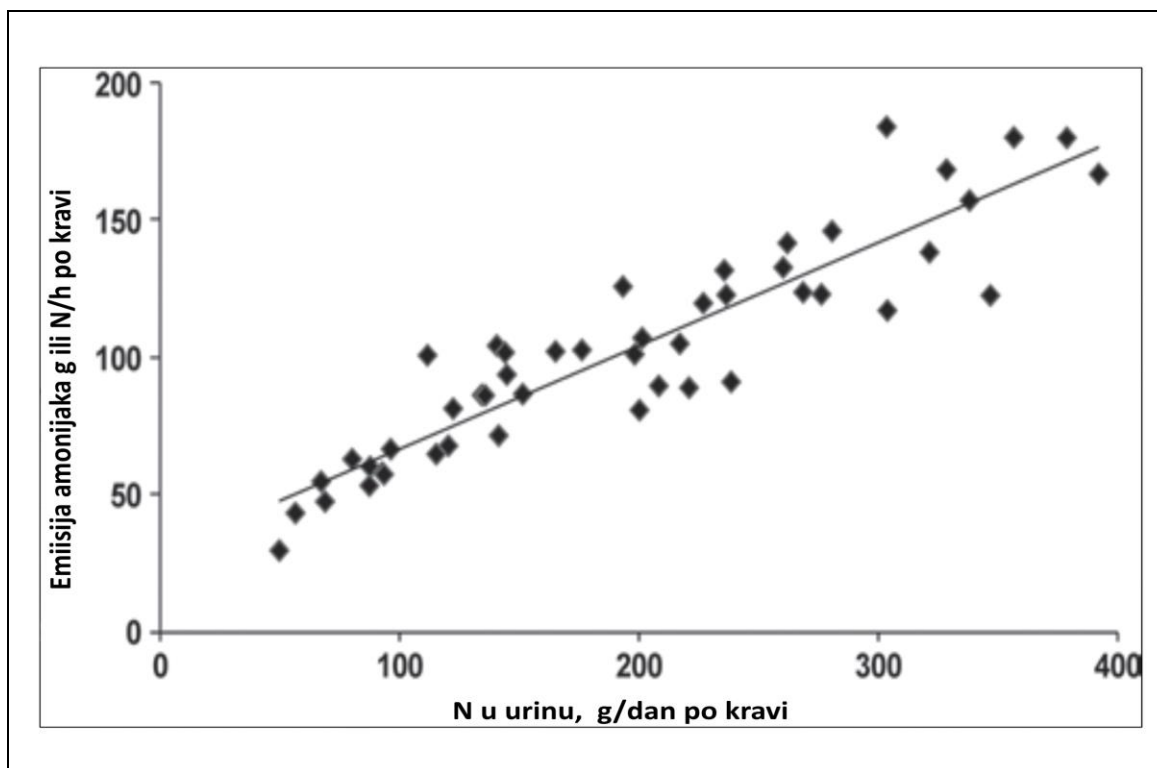
Točni izračuni proizvodnje stajnjaka na farmi mogu dati pokazatelje za smanjenje emisije dušika i olakšati plan njegove manipulacije. S druge strane, praćenje koncentracije dušika u krvnoj plazmi ili mlijeku mogu biti jasan pokazatelj proteinskog statusa unutar promatrane skupine životinja i može predstavljati odrednicu za uspostavljanje kvalitetnih obroka ili identifikaciju određenih problema s hranidbenim programima. Burgos i sur. (2010., Grafikoni 7. i

8.) u svome radu navode da se koncentracija ureje u mlijeku može koristiti za predviđanje koncentracije dušika u mokraći i vremena otpuštanja u atmosferu zavisno o obroku.



Grafikon7. Emisija amonijaka (g N/ha) ovisno o vremenu i obroku SP: 15 (O), 17 (×), 19 (▲), and 21% (■). (Burgos i sur., 2010)

Drugo negativno djelovanje može se ispoljiti preko ispiranja nitrata, uz pomoć oborina i povećanje njihove koncentracije u podzemnim vodama. Nažalost, i pored najboljeg upravljanja resursima, većina dušika iz gnojiva se ispire i završava u podzemnim vodama (Biswayt i sur., 2011.). Zbog svega navedenog bitno je poboljšati iskoristivost proteinskog hranjiva od strane životinja, da bi se smanjili problemi vezane za zagađenje okoliša.



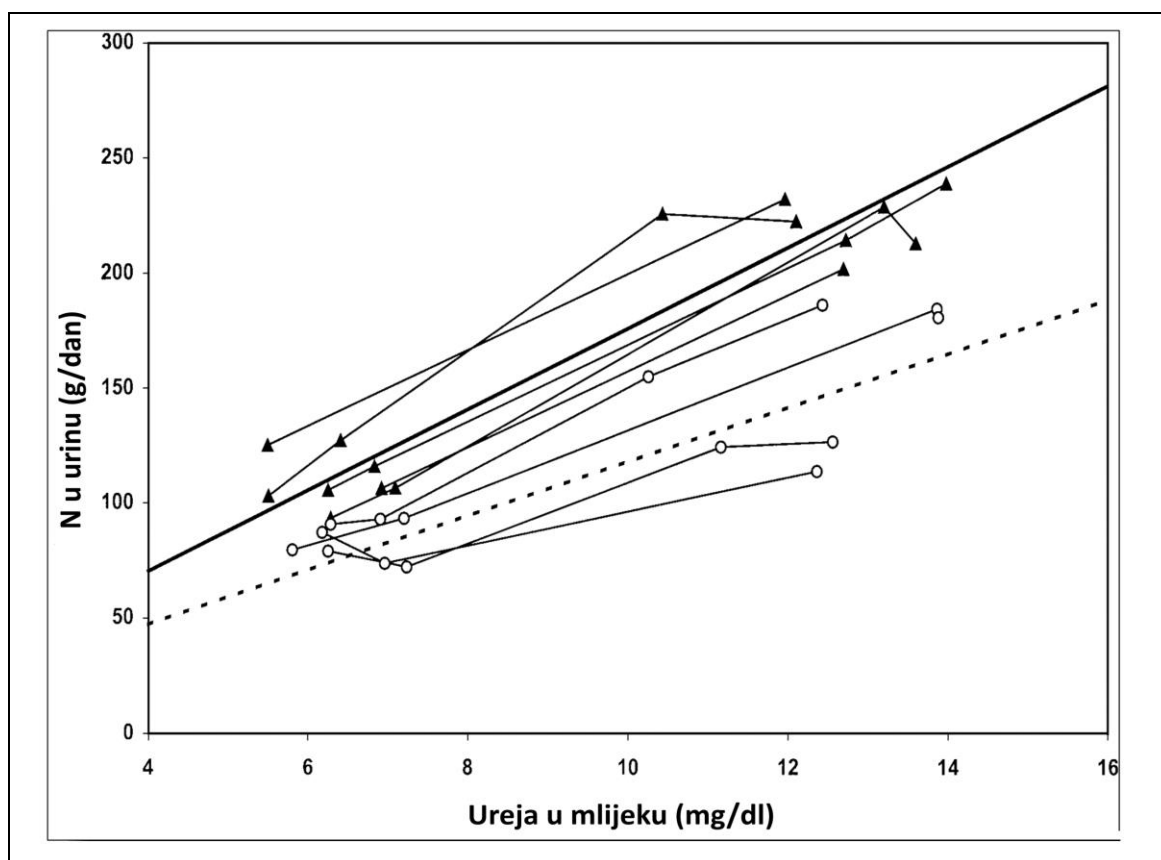
Grafikon 8. Emisija amonijaka (gN/d po kravi) u odnosu na izlučen N u mokraći (Burgos i sur., 2010)

Na osnovu dosadašnjih istraživanja koja su povezana s koncentracijom ureje u mlijeku, na promjenu koncentracije ureje mogu utjecati genetski, kao i okolišni čimbenici. Promjene uvjetovane genetskim potencijalom odnose se na razlike u sadržaju ureje između pasmina ili genotipova i jedinki unutar iste pasmine. Najznačajniji okolišni čimbenici koji uvjetuju razlike u sadržaju ureje su: proizvodnja mlijeka, sadržaj mliječne masti i bjelančevina (kemijski sastav mlijeka), ukupan broj somatskih stanica (BSS), uzorak mlijeka, toplinski stres, redoslijed i stadij laktacije, sezona teljenja i genetski utjecaj. Do sada se nije puno pozornosti poklanjalo ovim parametrima koji mogu dati neke od odgovora.

1.1.8. Pasma

Pasma ima značajan utjecaj na sadržaj mliječne masti, bjelančevina (Bruhn i Franke, 1977.), neproteinskog dušika (NPN) u mlijeku (Cerbulis i Farrell, 1975.) i ureje u krvi (Barton i

sur., 1996.). Kauffman i St-Pierre (2001., Grafikon 9.) nisu utvrdili značajne razlike u prosječnom sadržaju ureje u mlijeku između pasmina Holstein (9,44 mg/dl) i Jersey (9,47 mg/dl). U svom radu Rodriguez i sur. (1997.) utvrdili su veću prosječnu koncentraciju ureje u mlijeku krava Holstein nego u Jersey pasmine. Ferguson i sur. (1997.) zaključuju da Jersey krave imaju veći sadržaj ureje u mlijeku u odnosu na krave Holstein pasmine. Nekoliko istraživanja bavila su se utjecajem koncentracije ureje u mlijeku i tjelesne mase krava.



Grafikon 9. Odnosi sadržaja dušika u urinu sa sadržajem ureje u mlijeku kod krava holštajn (▲) i jersey (O) pasmine Kauffman i St-Pierre (2001).

Tjelesna masa goveda u negativnoj je korelaciji sa sadržajem ureje u mlijeku mliječnih krava (Oltner i sur., 1985.). Suprotno tome, Jonker i sur. (1998.) utvrdili su pozitivnu korelaciju između tjelesne mase krava i koncentracije ureje u mlijeku. Prema Jonkeru i sur. (2002.), krave veće tjelesne mase imaju manji sadržaj ureje, dok manje krave imaju veći sadržaj ureje u mlijeku.

Johnson i Young (2003.) navode značajnu razliku u sadržaju ureje s obzirom na pasminu: manje Jersey krave imale su nižu vrijednost ureje u krvi (14,1 mg/dl), nego veće holštajn krave (15,5 mg/dl). Međutim, iz njihovih rezultata ne može se zaključiti što je uzrokovalo navedene razlike između dviju pasmina, da li razlike u proizvodnji i sastavu mlijeka, različita sposobnost iskorištavanja dušika među pasminama ili različit menadžment hranidbe na farmama obuhvaćenih istraživanjem.

Budući da je svega nekoliko autora istraživalo razlike između pasmina krava s obzirom na sadržaj ureje u mlijeku, ovo se čini zanimljivim područjem za daljnja istraživanja i u našim proizvodnim i ekološkim uvjetima proizvodnje mlijeka.

1.1.9. Okolišni čimbenici

Jako je malo istraživanja provedeno na temu utjecaja nehranidbenih čimbenika na sadržaj ureje u mlijeku (Eicher i sur., 1999.b; Rajala-Schultz i Saville, 2003.; Arunvipas i sur., 2003.; Johnson i Young, 2003.; Hojman i sur., 2004.). Prema dostupnim istraživanjima, navedeni proizvodni i okolišni čimbenici mogu prouzročiti do 13,3% (Arunvipas i sur., 2003.), odnosno 37% individualnih varijacija u sadržaju ureje u mlijeku (Hojman i sur., 2004.).

1.1.9.1. Proizvodnja mlijeka

Dosadašnja istraživanja povezanosti između proizvodnje i sadržaja ureje u mlijeku imala su različita stajališta. Veći broj autora u svojim istraživanjima utvrdio je pozitivnu korelaciju između ova dva parametra (Macleod i sur., 1984.; Oltner i sur., 1985.; Carlsson i sur., 1995.; Godden i sur., 2001.a; Kaufmann i St-Pierre, 2001.; Arunvipas i sur., 2003.; Hojman i sur., 2004.). Za razliku od njih, Gustaffson i Palmquist (1993.), Gustaffson i Carlson (1993.), Baker i sur. (1995.), Eicher i sur. (1999.a) nisu utvrdili značajnu povezanost između spomenutih čimbenika, a Trevaskis i Fulkerson (1999.) ističu negativnu povezanost sadržaja ureje i proizvodnje mlijeka.

Prema dostupnim rezultatima istraživanja može se vidjeti da sadržaj ureje u mlijeku i dnevna razina proizvodnje mlijeka imaju pozitivnu korelaciju u stadima s visokom prosječnom

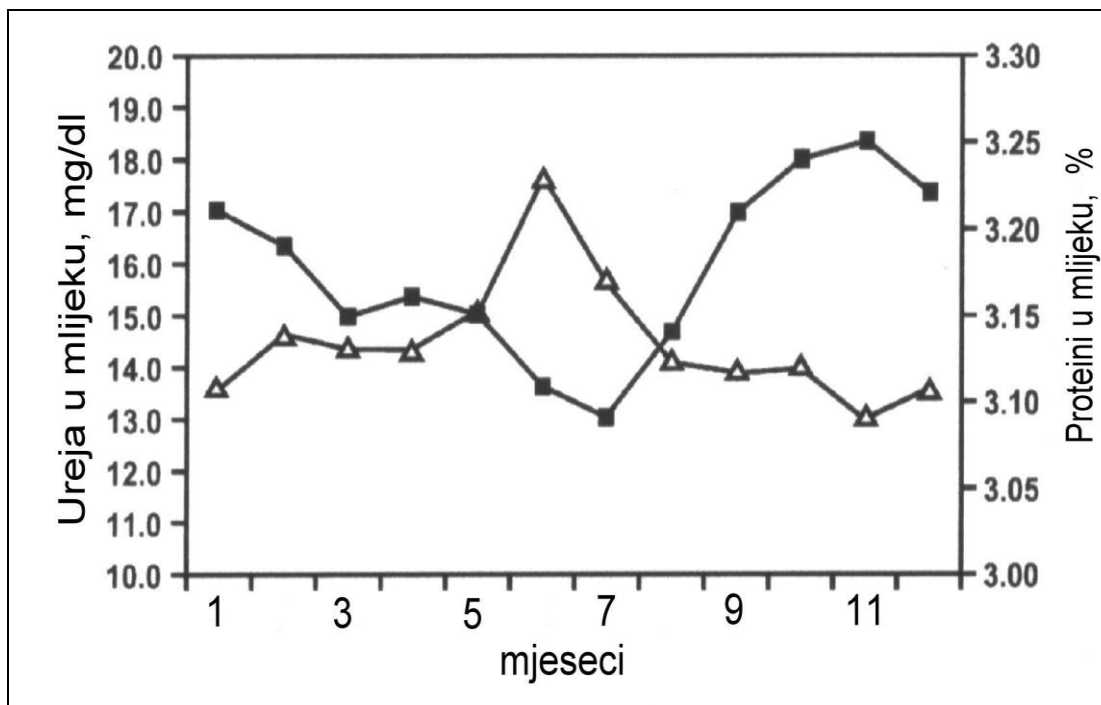
proizvodnjom mlijeka (>10.000 kg mlijeka u laktaciji po grlu), za razliku od stada s nižom prosječnom laktacijskom proizvodnjom mlijeka po grlu (<7.000 kg mlijeka), kod kojih nije utvrđena značajna povezanost (Rajala-Schultz i Saville, 2003.). Također, u stadima s visokom prosječnom laktacijskom proizvodnjom mlijeka utvrđen je značajno viši prosječni sadržaj ureje u mlijeku, što isti autori objašnjavaju visokom razinom sirovih bjelančevina u obroku visoko mliječnih krava.

Povećanje proizvodnje mlijeka za 2.000 kg u laktaciji povezano je s porastom razine ureje u mlijeku za $2,6$ mg/dl (Jonker i sur., 1999.), odnosno $0,33$ mg/dl (Arunvipas i sur., 2003.). Pozitivna korelacija dnevne proizvodnje mlijeka i sadržaja ureje u mlijeku može biti rezultat povećane proizvodnje koja rezultira većim hranidbenim potrebama za sirovim bjelančevinama. Dodatak bjelančevina u obroku povećava proizvodnju mlijeka osiguravajući više aminokiselina potrebnih za sintezu bjelančevina mlijeka, uz povećanje količine lako probavljivih ugljikohidrata u obroku krava. Macleod i sur. (1984.) navode da povećanje razine sirovih bjelančevina u obroku povećava konzumaciju suhe tvari krmiva, što neizravno rezultira povećanjem primanja energije obrokom. U svom radu Sackett i sur. (1991.) navode da je većina istraživanja provedena na pojedinim životinjama u eksperimentalnim uvjetima pomoću kemijskih ispitivanja za mjerenje sadržaja ureje u mlijeku. Vezu između ureje i hranidbene komponente treba utvrditi u poljskim uvjetima u kojima se koriste standardni postupci ispitivanja.

1.1.9.2. Kemijski sastav mlijeka

Odnos između količine bjelančevina i mliječne masti te sadržaja ureje u mlijeku je negativan (inverzan), tj. s povećanjem količine bjelančevina i mliječne masti smanjuje se koncentracija ureje u mlijeku (Arunvipas i sur., 2003.; Johnson i Young, 2003.; Čuklić i Kalember, 2004.). Johnson i Young (2003.) navode da unutar normalnih vrijednosti za mliječnu mast kod holštajn pasmine ($3,1-4,0\%$) i Jersey ($4,2-6,3\%$), sadržaj ureje se mijenjao vrlo malo, ali s porastom količine mliječne masti sadržaj ureje u mlijeku se značajno smanjivao. Međutim, prema istraživanjima Hojmana i sur. (2004.) između sadržaja ureje i masti u mlijeku utvrđena je pozitivna veza ($P<0,001$). Slično su utvrdili Godden i sur. (2001.a) te Rajala-Schultz i Saville (2003.) za visoko proizvodne krave. Moguće objašnjenje je u činjenici da visoke količine sirovih vlakana iz voluminozne krme povećavaju sadržaj mliječne masti i u isto vrijeme podižu razinu

ureje u mlijeku zbog visoke razgradljivosti njihovih bjelančevina (Hojman i sur., 2004., Grafikon 10.).



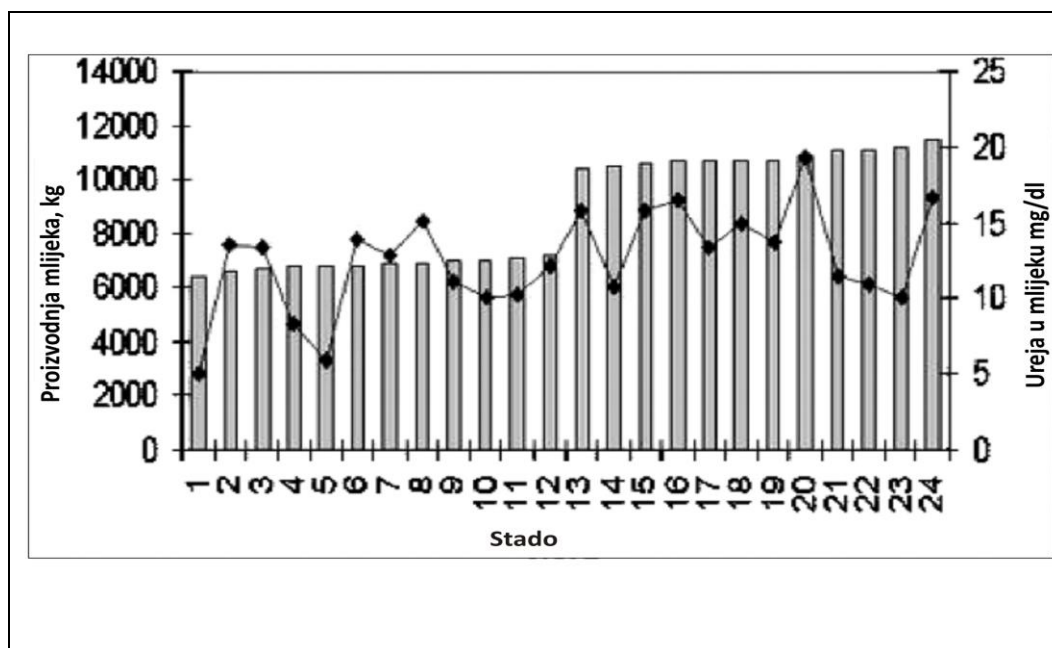
Grafikon 10. Utjecaj sadržaja ureje (Δ) i protena (■) u mlijeku po mjesecima (Hojman i sur., 2004)

Udio mliječne masti i bjelančevina u mlijeku bili su u negativnoj korelaciji sa sadržajem ureje. Najviši udio bjelančevina (3,41%) zabilježen je u mlijeku s rasponom udjela ureje od 15-25 mg/dl, dok je najviši udio mliječne masti (4,06%) zabilježen kada je ureja bila u rasponu od 15-20 mg/dl (Konjačić i sur., 2010.). Zbog negativnog odnosa između sadržaja ureje i bjelančevina u mlijeku, niže koncentracije ureje povezane su s većom iskoristivošću sirovih bjelančevina krmiva, odnosno većom iskoristivosti dušika.

Zbog navedene povezanosti, sadržaj bjelančevina u mlijeku, zajedno s koncentracijom ureje u mlijeku, može biti praktični pokazatelj izbalansiranosti obroka mliječnih krava. Opisani odnos između bjelančevina i ureje u mlijeku Jersey goveda utvrđen je samo kod viših razina bjelančevina (>3,4%) u mlijeku (Johnson i Young, 2003.). Trevaskis i Fulkerson (1999.) u krava

holštajn pasmine, držanih na paši, nisu utvrdili značajnu povezanost sadržaja ureje i bjelančevina u mlijeku.

Na odnos ureje i sadržaja bjelančevina, odnosno masti u mlijeku, utječe interakcija navedenih komponenata sastava mlijeka i visine proizvodnje mlijeka (Rajala-Schultz i Saville, 2003.). Prema istim autorima, sadržaj bjelančevina i masti u mlijeku nije povezan sa sadržajem ureje u mlijeku kod stada krava s nižom proizvodnjom mlijeka (Grafikon 11.). Međutim, u visoko mliječnih stada krava, postotak mliječne masti pozitivno je povezan s koncentracijom ureje u mlijeku. Jonker i sur. (1998.) procijenili su da promjena u postotku mliječne masti za $\pm 0,5\%$ dovodi do promjene prosječnog laktacijskog sadržaja ureje za približno $\pm 1,70$ mg/dl mlijeka.

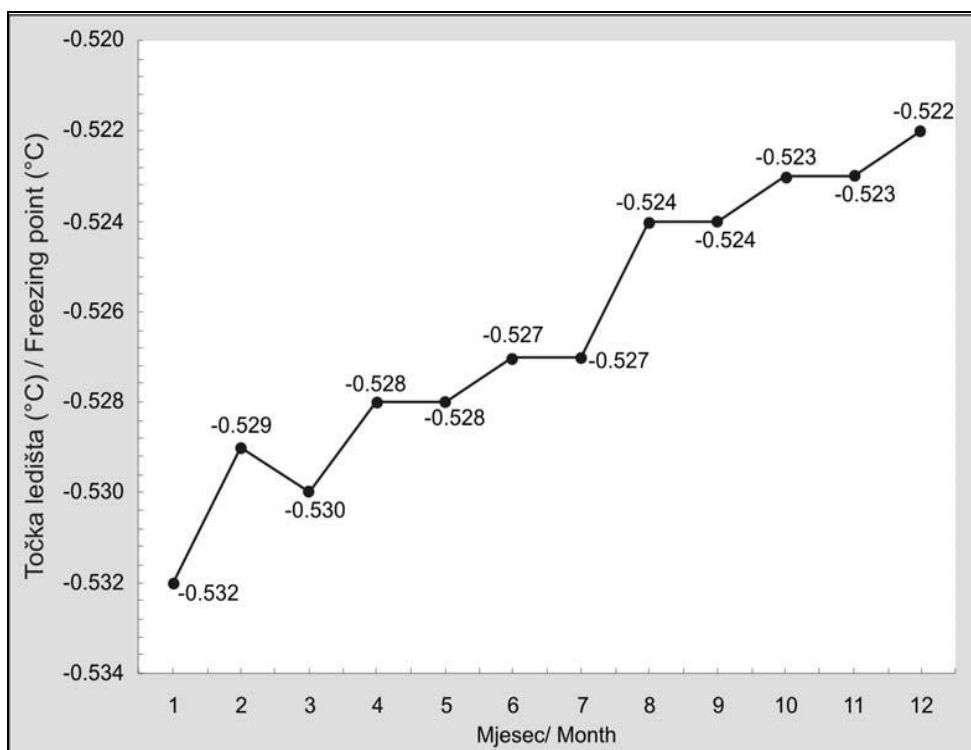


Grafikon 11 . Utjecaj stada, nivo proizvodnje mlijeka, na sadržaj ureje u mlijeku kod krava holštajn pasmine (Rajala-Schultz i Saville, 2003)

Mlijeko je po svojoj prirodi emulzija, koloid i prava otopina. Kao takvu je sačinjavaju mliječna mast i druge molekule lipida, dok koloid predstavljaju kazeinske micle i drugi dijelovi bjelančevina. U mlijeku se, pored toga, nalazi još i otopljeni mliječni šećer te mineralne tvari.

Kao fizikalno svojstvo mlijeka, točka ledišta ovisi o broju otopljenih molekula, odnosno iona u mlijeku, te praktično predstavlja konstantnu vrijednost, vrlo važnu za mliječnu industriju.

Određivanje točke ledišta mlijeka spada među najznačajnije metode ocjenjivanja kakvoće mlijeka. Točka ledišta je osnova za ocjenu prisutnosti dodane vode u mlijeku, a ovisi o pasmini, hranidbi životinja, načinu hranjenja i napajanja, sezoni, stadiju laktacije i razlikuje se prema područjima (Buchberger, 1986.; Golc i Penca, 1987.).

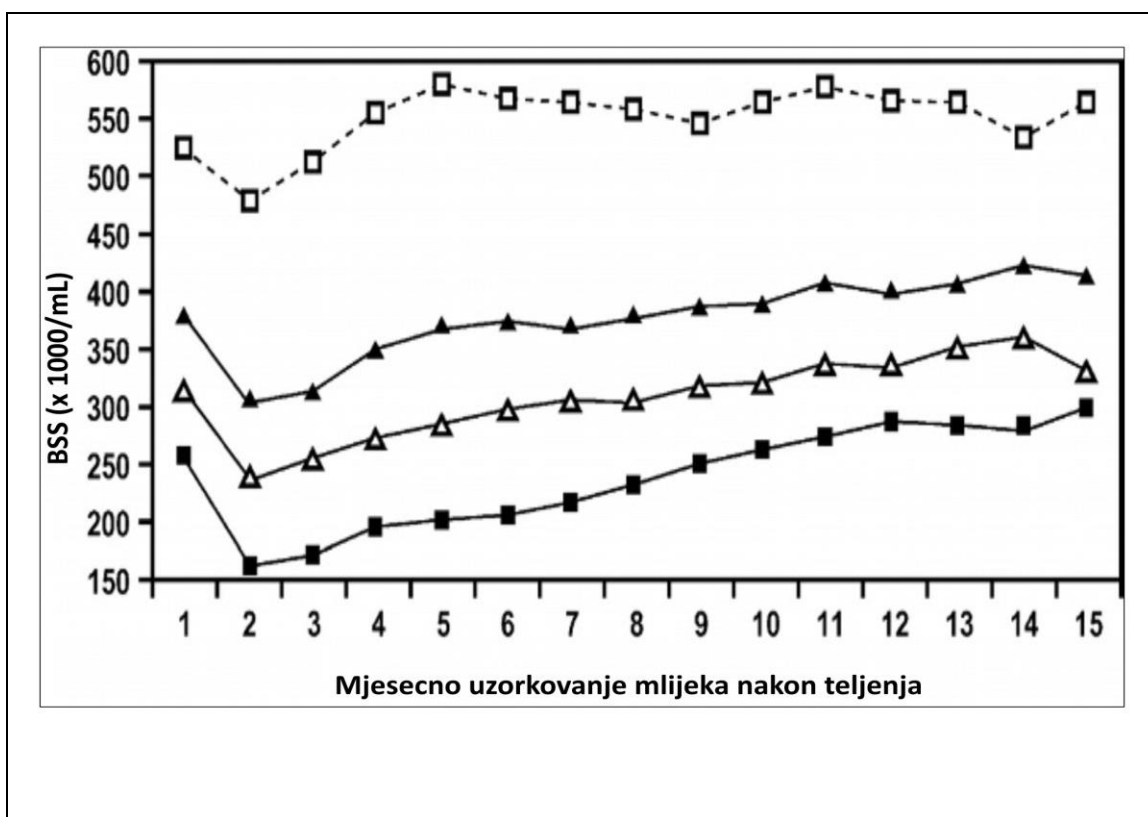


Grafikon 12. Promjene točke ledišta tijekom laktacije (Golc i Penca, 2005)

U svom radu Golc Teger i sur. (2005., Grafikon 12.) utvrdili su da je prosječni udio ureje u mlijeku kod ispitivanih krava bio 33,4 mg/100 ml. Pri tome su dobiveni sljedeći koeficijenti korelacija između osobina krava, sastava mlijeka i točke ledišta mlijeka, a za ureju je iznosio $r=0,091$ ($P<0,001$).

1.1.9.3. Broj somatskih stanica

Dosada je provedeno malo istraživanja o povezanosti broja somatskih stanica (BSS) i sadržaja ureje u mlijeku. U do sada objavljenim radovima, utvrđena je slaba negativna povezanost između BSS i sadržaja ureje u individualnim uzorcima mlijeka holštajn pasmine krava u Americi i Kanadi (Godden i sur., 2001.a; Rajala-Schultz i Saville, 2003.). S druge strane, Hojman i sur. (2004.) utvrđuju na velikom broju krava u Izraelu jaku negativnu povezanost između navedenih dviju varijabli (Grafikon 13.).



Grafikon 13. Prosječan BSS ($\times 1000/\text{mL}$ u mlijeku) prilikom mjesečnog uzorkovanja poslije telenja u kvartalima: MU1 (□), MU2 (▲), MU3 (Δ), MU4 (■), gdje je MU1 = <11.75 mg of MUN/dL, MU2 = 11.75 to 14.09 mg of MUN/dL, MU3 = 14.10 to 16.92 mg of MUN/dL, and MU4 = >16.92 mg of MUN/dL. (Hojman i sur., 2004)

De Peters i Ferguson (1992.) zaključuju da se u mlijeku krava oboljelih od mastitisa smanjuje sadržaj kazeina, a povećava količina nekazeinskih bjelančevina (koje uključuju ureju).

Licata (1985.) navodi smanjenje koncentracije ureje za 2,7 mg/dl u mlijeku iz četvrti vimena oboljelih od mastitisa. Koljančić i sur. (2010., Tablica 6.) utvrdili su da je broj somatskih stanica u mlijeku u negativnoj korelaciji sa sadržajem ureje.

Tabela 6. Prosječna proizvodnja mlijeka, udjel bjelančevina i mliječne masti te broj somatskih stanica pri različitom sadržaju uree u mlijeku (LSM±SE) (Koljančić i sur., 2010)

Urea (mg/dL)	n	Mlijeko (kg/dan)	Bjelančevine (%)	Mliječna mast (%)	BSS (000)
≤15.00	1671	23.26±0.087a	3.40±0.008a	4.05±0.018a	333±14.273a
15.01-20.00	7013	24.46±0.083b	3.41±0.004a	4.06±0.009a	287±6.953a
20.01-25.00	16687	25.22±0.054c	3.41±0.003a	4.05±0.006a	249±4.500b
25.01-30.00	20166	25.86±0.049d	3.40±0.002ab	4.03±0.005a	217±4.072c
30.01-35.00	13732	26.27±0.060e	3.39±0.003b	4.01±0.006b	204±4.935c
>35.01	8945	26.19±0.077e	3.37±0.003c	3.96±0.008c	195±6.177c

Najveći prosječni broj somatskih stanica ($333 \times 10^3 \text{ mL}^{-1}$) utvrđen je u mlijeku s <15 mg/dl ureje. Dakako, neki istraživači nisu utvrdili povezanost između sadržaja ureje u mlijeku (NPN sadržaja) i broja somatskih stanica u mlijeku krava (Ng-Kwai -Hang i sur., 1985.; Verdi i sur., 1987.; Eicher i sur., 1999.a).

1.1.9.4. Toplinski stres

Toplinski stres u današnje vrijeme predstavlja ozbiljan problem koji zbog globalnog zatopljenja dobiva sve više na značaju. Kod nas to pričinjava određene kako zdravstvene tako i ekonomske probleme na gospodarstvima. Ovo je posebno izraženo u ljetnim mjesecima, jer tada dolazi do smanjenja proizvodnje mlijeka na razini cijele farme, a smanjuje se postotak mliječne masti, bjelančevina i bezmasne suhe tvari u mlijeku, što s druge strane dovodi do velikih ekonomskih problema (Cincović i Belić, 2009.).

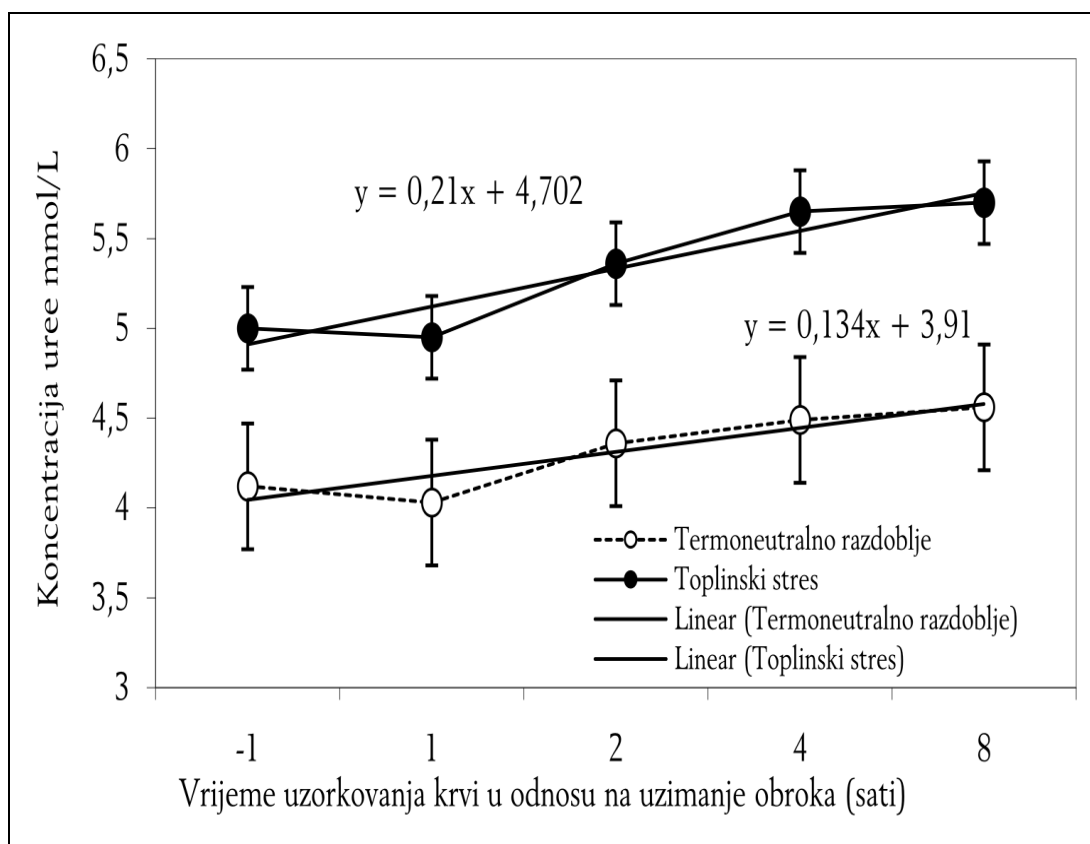
Ureja u krvotoku potječe iz buraga ili iz mišićnog tkiva. Stvara se u jetri iz amonijaka koji nastaje razgradnjom bjelančevina u predželucima, ili uslijed katabolizma bjelančevina i upotrebe aminokiselina u procesu glukoneogeneze, što je karakteristika metaboličkog prestrojavanja tijekom toplinskog stresa (Ronchi i sur., 1999.; Jenkins i McGuire, 2006.; Cincović i sur., 2010.).

Istraživanja Spiersa i sur. (2004.) pokazala su da krave u drugoj i posljednjoj trećini laktacije značajno smanjuju mliječnost tijekom toplinskog stresa, jer u tom razdoblju proizvodnja mlijeka najviše ovisi o konzumaciji hrane.

U svom radu Belić i sur. (2011.) navode da razgradnja glukoze u energetske potrebe daje manju energiju nego razgradnja masti, što umanjuje toplinsko opterećenje organizma. Isti autori pretpostavljaju da tijekom toplinskog stresa krave glukozu više koriste u energetske svrhe, a manje za proizvodnju mlijeka, dok se masti značajnije iskorištavaju za proizvodnju mlijeka.

Zbog katabolizma bjelančevina i viška amonijaka iz buraga u jetri krava, povećano se stvara ureja tijekom djelovanja toplinskog stresa (Ronchi i sur., 1999.; Cincović i sur., 2010.). Ureja se lako filtrira kroz stanične membrane i ima brojne utjecaje na proizvodnju mlijeka.

Pretpostavka je da povišena koncentracija ureje i njen prolazak kroz mliječnu žlijezdu ima negativan utjecaj na proizvodnju i karakteristike mlijeka u toplinskom stresu krava (Belić i sur., 2011., Grafikon 14.).



Grafikon 14. Utjecaj toplinskog stresa na postprandijalnu koncentraciju uree (mmol/L) (Belić i sur., 2011).

U istraživanju Belića i sur. (2011.) utvrđena je značajno viša koncentracija ureje u toplinskom stresu. Budući da ureja lako prolazi kroz staničnu membranu, iako dopijeva u mlijeko, pa je ekskrecija ureje manja tijekom djelovanja toplinskog stresa.

Koncentracija ureje u krvi negativno korelira s količinom proizvedenog mlijeka kod krava (Orozco-Hernandez i Brisson, 1995.). U svojim radovima Chládek (2002.) i Belić i sur. (2011.) utvrdili su negativnu korelaciju ureje i proteina u mlijeku.

1.1.9.5. Uzorkovanje mlijeka

Samo pravovremeno i kvalitetno uzorkovanje ima ulogu u dobivanju pravilnih podataka. Isto također utvrđeno je da sadržaj ureje varira u ovisnosti o dobu dana, odnosno vremenu mužnje (jutro ili večer). Prema dosadašnjim istraživanjima brojnih autora sadržaj ureje najčešće je manji u mlijeku jutarnje, nego kod uzoraka mlijeka iz večernje mužnje (Broderick i Clayton, 1997.; Ferguson i sur., 1997.; Godden i sur. (2001.a, Tablica 7.); Geerts i sur., 2004.). Razlike u sadržaju ureje između uzoraka mlijeka jutarnje i večernje mužnje vjerojatno su uvjetovane različitim vremenskim intervalima između hranidbe i mužnje tijekom jutra, odnosno večeri. Ovo su potvrdila istraživanja prema kojima je sadržaj ureje u mlijeku najveći upravo kada su krave hranjene 5-6 sati prije uzimanja uzoraka mlijeka, odnosno sadržaj ureje počinje opadati s povećanjem intervala između hranjenja i mužnje (Gustafsson i Palmquist, 1993.).

Zbog karakterističnog kratkog vremenskog intervala između hranjenja krava i večernje mužnje (do 6 sati), odnosno dužeg intervala između hranidbe i jutarnje mužnje, objašnjavaju se niže vrijednosti ureje u uzorcima mlijeka jutarnje mužnje (Godden, 1998.).

Značajna razlika utvrđena je i u istraživanjima Konjačića i sur. (2010.), gdje je u uzorcima mlijeka prikupljenih na jutarnjoj muži sadržaj ureje iznosio 29,93 mg/dl, u odnosu na večernju mužnju (28,34 mg/dl).

S druge strane, u istraživanjima Carlsona i Bergstroma (1994.) te Eichera i sur. (1999.b) nisu utvrđene signifikantne razlike između sadržaja ureje u uzorku mlijeka s obzirom na četvrt vime. Carlson i Bergstrom (1994.) utvrdili su značajne dnevne varijacije u sadržaju ureje u mlijeku. Najviše vrijednosti utvrđene su 3-5 sati nakon početka jutarnje hranidbe, a najniže vrijednosti (60% od maksimalne vrijednosti) tijekom noći.

Tabela 7. Sadržaj ureje u mlijeku zavisno od vremena uzorkovanja (Godden i sur., 2001a)

Uzorak	Urea mmol/l	SD	Min.	Max.
jutro	4,47	1,12	0,29	10,71
veče	4,73	1,23	0,71	12,11
zbirni	4,95	1,2	0,21	13,11

Temperatura čuvanja mlijeka vrlo je bitan čimbenik kod uzorkovanja mlijeka. Tako Miettinen i Juvonen (1990.) navode da sadržaj ureje u mlijeku koje se čuva na temperaturi od 4°C ostaje nepromijenjen, dok se koncentracija smanjuje kod uzorka čuvanog na sobnoj temperaturi.

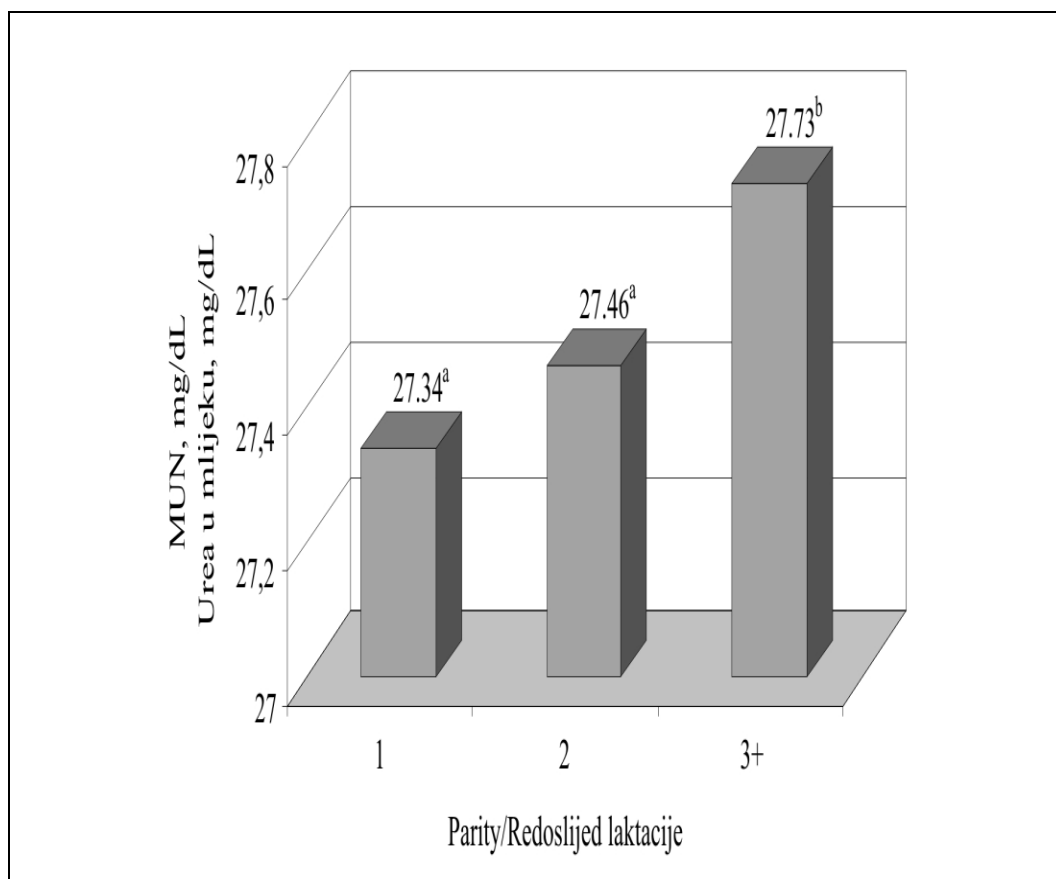
Slično su potvrdili Carlsson i Bergstrom (1994.) koji su došli do zaključka da u uzorku mlijeka, bez konzervansa, sadržaj ureje ostaje nepromijenjen i do 10 dana, ukoliko se čuva na 4°C.

Dodavanjem konzervansa, sadržaj ureje u mlijeku može ostati nepromijenjen i do 17 dana. Koncentracija ureje u deproteiniziranom mlijeku nije se promijenila ni nakon 30 dana, čuvanom na 4°C (Dhali, 2001.).

1.1.9.6. Redoslijed laktacije

Istraživanjem individualnih uzoraka mlijeka neki su autori utvrdili značajan utjecaj redoslijeda laktacije na koncentraciju ureje u mlijeku i krvi krava, odnosno da s povećanjem redoslijeda laktacije koncentracija ureje u mlijeku značajno raste (Peterson i Waldern, 1981.; Oltner i sur., 1985.; Carroll i sur., 1988.; Canfield i sur., 1990.; Barton i sur., 1996.; Godden i sur., 2001.a; Arunvipas i sur., 2003.; Wood i sur., 2003.; Hojman i sur., 2004.; Konjačić i sur. (2010, Grafikon 15.).

Krave u prvoj laktaciji još su uvijek u fazi rasta i razvoja te stoga efikasnije iskorištavaju aminokiseline iz obroka. Posljedica toga je smanjena deaminacija i sinteza ureje u jetrima, što rezultira nižim sadržajem ureje u mlijeku u krava prve laktacije (Oltner i sur., 1985.).

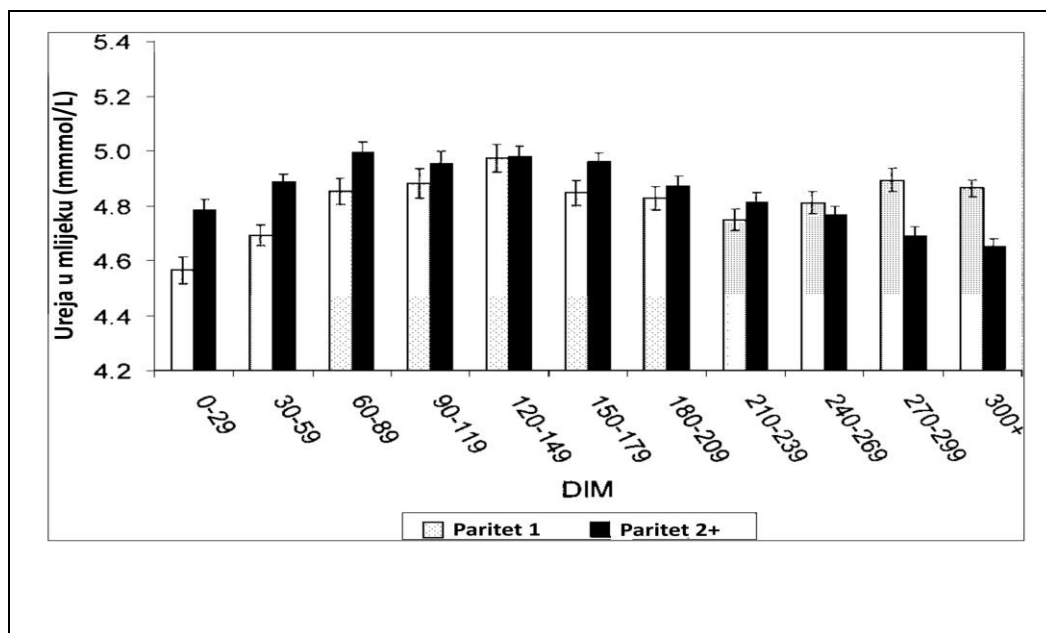


Grafikon 15. Prosječne vrijednosti uree u kravljem mlijeku s obzirom na redoslijed laktacije (Konjačića i sur., 2010)

Prema Carlsonu i sur. (1995.), krave drugog ili višeg reda laktacije imaju veću koncentraciju ureje u mlijeku nego prvotelke samo kada su smještene u staji, za razliku od krava držanih na paši. Johnson i Young (2003.) navode da krave holštajn pasmine imaju najveći sadržaj ureje u mlijeku prve laktacije, dok kod Jersey krava značajna razlika između laktacija nije utvrđena. Suprotno navedenom, neka istraživanja ukazuju na jako male i statistički neznčajne razlike uslijed povećanja laktacije (Canfield i sur., 1990.; Gooden i sur., 2001.a). Istraživanjem koje su proveli Ahn i sur. (2006.) utvrđeno je da je sadržaj ureje u mlijeku bio najniži nakon prvog teljenja i da s povećanjem laktacija nije bilo značajnih promjena.

1.1.9.7. Stadij laktacije

Sadržaj ureje u mlijeku varira s obzirom na stadij laktacije (Oltner i Witkorsson, 1983.; Oltner i sur., 1985.; Carlson i sur., 1995.; Moore i Varga, 1996.; Godden i sur., 2001.a, Grafikon 16.; Rajala-Schultz i Saville, 2003.). Prema navedenim autorima, koncentracija ureje u mlijeku je najniža tijekom rane laktacije (prvih 30 dana), dok je u krava držanih na paši najniža koncentracija ureje u mlijeku utvrđena između 40 i 60 dana laktacije (Trevaskis i Fulkerson, 1999.). Niži sadržaj ureje u mlijeku može biti u vezi sa smanjenom mogućnošću konzumacije suhe tvari u razdoblju neposredno nakon partusa, i naglim porastom mliječnosti, osobito u visoko mliječnih krava (Carlsson i sur., 1995.). Isti autori navode da u kasnijoj laktaciji kod smanjene proizvodnje mlijeka dolazi do smanjenja potreba za bjelančevinama, ali uz dovoljnu količinu razgradljivih bjelančevina i ugljikohidrata u obroku.



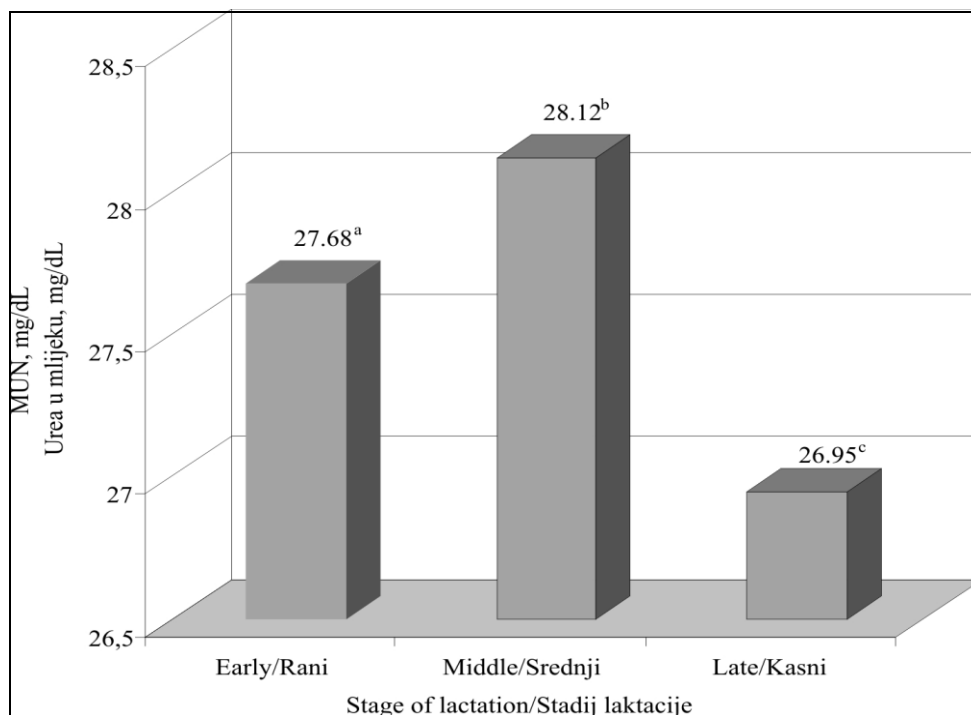
Grafikon 16. Sadržaj ureje u mlijeku, kod različitih grupa i stadija laktacije (Godden i sur., 2001a)

Kretanje sadržaja ureje u mlijeku uglavnom prati krivulju laktacije (Jonker i sur., 1999.; Johnson i Young, 2003.), odnosno sadržaj ureje u mlijeku dostiže svoju najvišu vrijednost upravo u vrijeme postizanja vrha laktacijske proizvodnje mlijeka (Rajala-Schultz i Saville, 2003.). Prema Carlsonu i sur. (1995.) te Arunvipasu i sur. (2003.) koncentracija ureje u mlijeku postiže najvišu vrijednost između 3. i 6. mjeseca laktacije.

Zbog značajne interakcije između redoslijeda i stadija laktacije (Carlson i sur., 1995.; Godden i sur., 2001.a), pad sadržaja ureje u mlijeku tijekom kasne laktacije znatno je veći u krava drugog ili višeg reda laktacije, nego kod krava u prvoj laktaciji.

U istraživanju Gantner i sur. (2006.) utvrđena je zadovoljavajuća opskrbljenost probavljivim bjelančevinama te energijom kod 13,79% krava u početnom stadiju laktacije, 16,36% krava u srednjem stadiju laktacije te kod 24,75% krava u posljednjem stadiju laktacije. U početnom stadiju laktacije, tj. u prvih 60 dana evidentna je nedostatna opskrba energijom, dok je suvišak iste karakterističan pri trajanju laktacije dužem od 120 dana (Gantner i sur., 2006.). Emanuelson i sur. (1993.) zaključili su da je najveća koncentracija ureje u mlijeku između 60 i 90 dana laktacije.

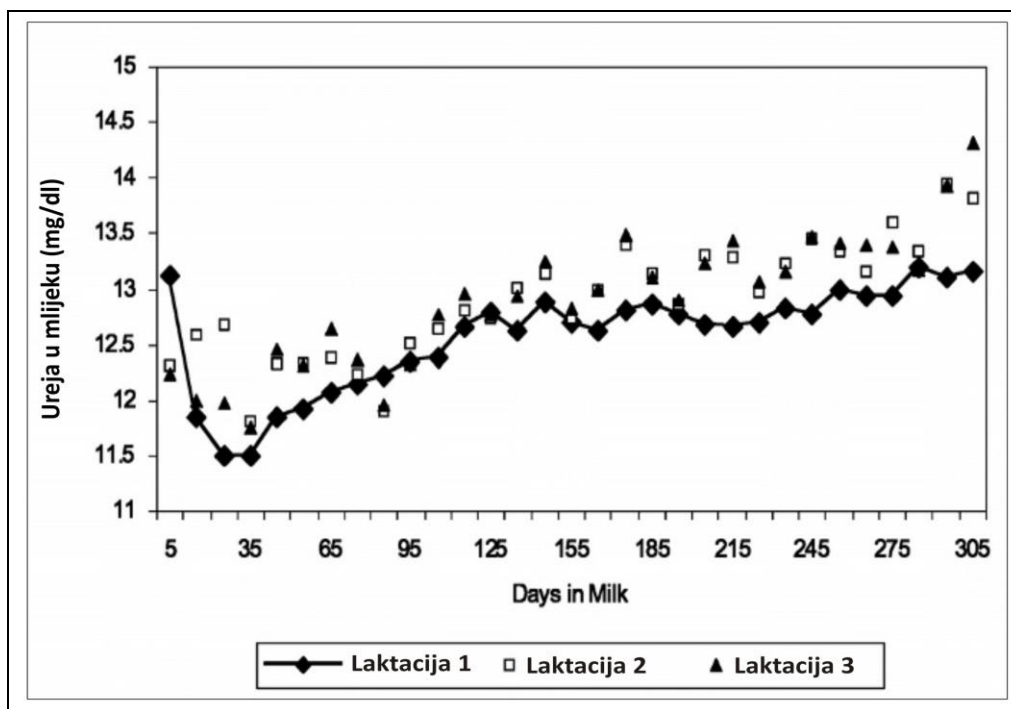
Kod istraživanja Konjačića i sur. (2010., Grafikon 17.), udio ureje bio je najniži u prvotelki (27,34 mg/dl) te se značajno povećavao u krava višeg redoslijeda laktacije.



Grafikon 17. Prosječne vrijednosti uree u kravljem mlijeku s obzirom na stadij laktacije (Konjačića i sur., 2010)

Sredinom laktacije (100-200 dana) zabilježen je najveći, a krajem laktacije (>200 dana) najmanji prosječni sadržaj uree u mlijeku.

Schepers i Meijer (1998.) nisu utvrdili značajnu povezanost između stadija laktacije i sadržaja ureje u mlijeku u identičnim uvjetima hranidbe pokusnih skupina krava obuhvaćenih istraživanjem. Wood i sur. (2003., Grafikon 18.) navode za krave prve tri laktacije kretanje sadržaja ureje u mlijeku inverznim kretanju laktacijske proizvodnje mlijeka, s najvišim vrijednostima ureje na kraju laktacije. Sličan pozitivan odnos između stadija laktacije i sadržaja ureje u mlijeku navode i drugi autori (Ng-Kwai-Hang i sur., 1985.; DePeters i Cant, 1992.; Broderick i Clayton, 1997.; Giger i sur., 1997.; Hojman i sur., 2004.).



Grafikon 18. Trend u sadržaju ureje u mlijeku u tri laktacije (Wood i sur., 2003)

U kasnoj laktaciji, zbog smanjene proizvodnje mlijeka, potrebe krave za bjelančevinama opadaju, a samim time i koncentracija ureje u mlijeku, uz pretpostavku zadovoljavajuće količine u buragu razgradivih bjelančevina i optimalnog odnosa bjelančevina i fermentirajućih ugljikohidrata u obroku. Ovo ukazuje na činjenicu da su nehranidbeni čimbenici od minorne važnosti za objašnjenje povezanosti između stadija laktacije i sadržaja ureje u mlijeku (Schepers i Meijer, 1998.).

U slučajevima hranidbe krava u kasnoj laktaciji, obrocima prebogatim sirovim bjelančevinama ili siromašnim energijom, sadržaj ureje u mlijeku će rasti, u usporedbi s padom proizvodnje mlijeka. Nasuprot prethodnom, u svojim radovima Hoffmann i Steinhofel (1990.), Faust i sur. (1997.) te Schepers i Meijer (1998.) nisu našli varijacije u sadržaju ureje u mlijeku u odnosu na stadij laktacije. Krave u ranoj laktaciji imaju ruminalnu floru koja još nije prilagođena za prelazak na visoke proteinske obroke nakon teljenja. Posljedice neusklađenosti energije i bjelančevina mogu dovesti do povećanog sadržaja ureje u mlijeku u prvim mjesecima laktacije (Jorritsma i sur., 2003.).

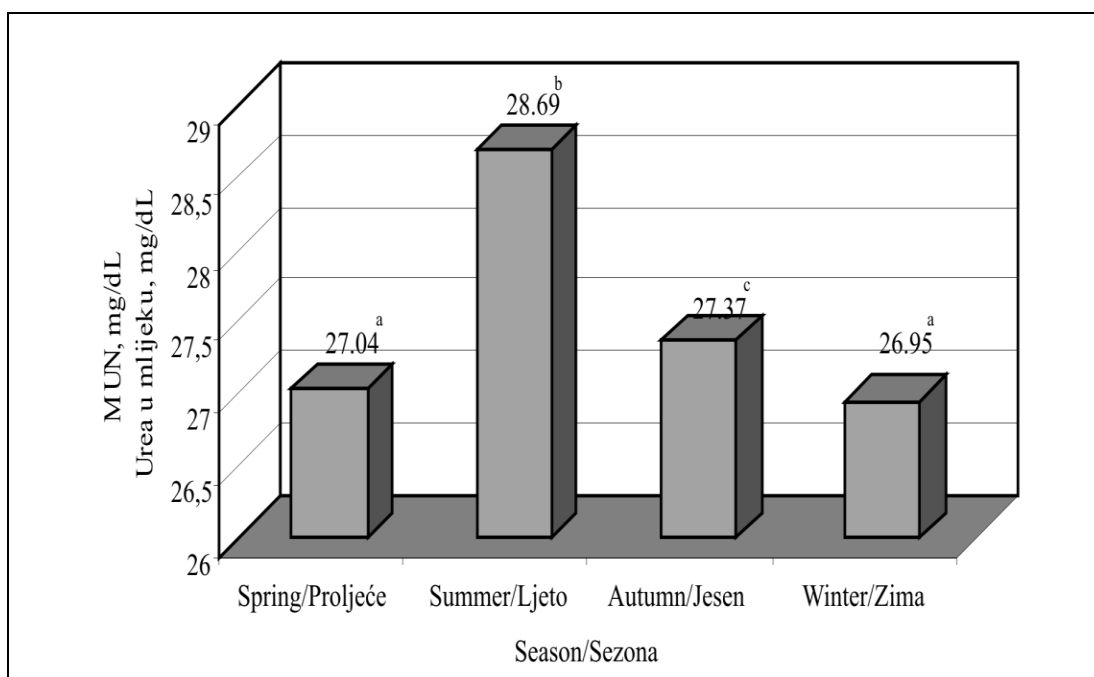
1.1.9.8. Sezona teljenja

Utjecaj sezone (godišnjeg doba) vrlo je bitan čimbenik proizvodnje mlijeka. Prije svega zbog različitih klimatskih utjecaja, a po svojoj prirodi krave su podložne ovim utjecajima, koji se različito očituju na proizvodnju mlijeka. Samim time sezona ima utjecaja i na promjenu koncentracije ureje u mlijeku. Tijekom ljetnog razdoblja sadržaj ukupnog dušika i pravih bjelančevina (većinom kazein) u mlijeku se smanjuje, dok se sadržaj neproteinskog dušika, koji uključuje ureju, povećava (Carlsson i sur., 1995.; Ferguson i sur., 1997.).

U radu Rajala-Schultz i Saville (2003.) utvrđena je značajna interakcija između godišnjeg doba i proizvodnje mlijeka u krava držanih na paši. U niže proizvodnih grla (količina mlijeka manja od 7.000 kg po laktaciji) sadržaj ureje u mlijeku bio je značajno veći tijekom ljeta. Naime, poznato je da svježja paša sadrži vrlo probavljive bjelančevine te visok odnos energije i bjelančevina (Soriano i sur., 2001.). Visoko proizvodna stada krava (kod kojih je proizvodnja iznad 10.000 kg mlijeka u laktaciji po grlu) imala su nizak sadržaj ureje upravo tijekom ljetnih mjeseci zbog smanjene konzumacije suhe tvari, odnosno primanja bjelančevina iz krme zbog visokih temperatura (Rajala-Schultz i Saville, 2003.).

Na osnovu istraživanja Hojmana i sur. (2004), u mlijeku krava držanih cijele godine u staji i hranjenih kompletnim (TMR - total mix ratio) obrokom bez zelene (košene) trave, najmanje vrijednosti ureje utvrđene su upravo tijekom ljeta, pa autori pretpostavljaju da je utjecaj sezone na sadržaj ureje izravan. Hojman i sur. (2004.) navode da je koncentracija ureje u mlijeku veća u proljeće, a najveća na početku ljeta tj. u lipnju (18,1 mg/dl). Rezultate slične ovima dobili su i Abdouli i sur. (2008.). Veću koncentraciju ureje u mlijeku tijekom zimskog razdoblja dobili su u svojim istraživanjima Yoon i sur. (2004.) te Jilek i sur. (2005.).

Istraživanja Konjačića i sur. (2010.), provedena u Hrvatskoj, pokazuju da je sezona značajno utjecala na sadržaj ureje u mlijeku, čija je koncentracija tijekom ljeta i jeseni bila viša nego zimi i u proljeće (Grafikon 19.).



Grafikon 19. Prosječne vrijednosti uree u kravljem mlijeku tijekom sezona (Konjačića i sur., 2010)

1.1.9.9. Fenotipske korelacije

Fenotipske korelacije ureje u odnosu na proizvodne osobine, kao što su sadržaj mliječne masti i količina mlijeka (Wenninger i Distl, 1993.; Wood i sur., 2003.; Mitchell i sur., 2005.) su niske. Stoop i sur. (2007.) navode da je korelacija između sadržaja ureje i broja somatskih stanica bila vrlo visoka (0,89).

1.1.10. Genetsko unaprjeđenje

Genetsko unaprjeđenje populacije postiže se odabirom superiornijih životinja za roditelje slijedećih generacija potomaka. Sa stajališta kvantitativne genetike, svaka jedinka prenosi 'polovicu' svojih gena na potomke.

Genotipska vrijednost jedinke jednaka je sumi genskih efekata i interakciji između gena. Samo se geni prenose s roditelja na potomke, što predstavlja aditivnu genetsku vrijednost

životinje. Preostali dio genotipske vrijednosti je ne-aditivni i predstavlja genetske interakcije (dominancu i epistazu) koje se ne mogu prenijeti s roditelja na potomke. Aditivna genetska vrijednost naziva se još i uzgojna vrijednost.

Procjena uzgojne vrijednosti zahtijeva, pored proizvodnih podataka i porijekla, ocjenjene genetske parametre (heritabilitet i genetske korelacije). Pozitivne genetske korelacije između proizvodnih svojstava omogućavaju istovremeno unaprjeđenje više svojstava, dok negativne uzrokuju unaprjeđenje jednog i eroziju drugog svojstva.

1.1.10.1. Heritabilitet

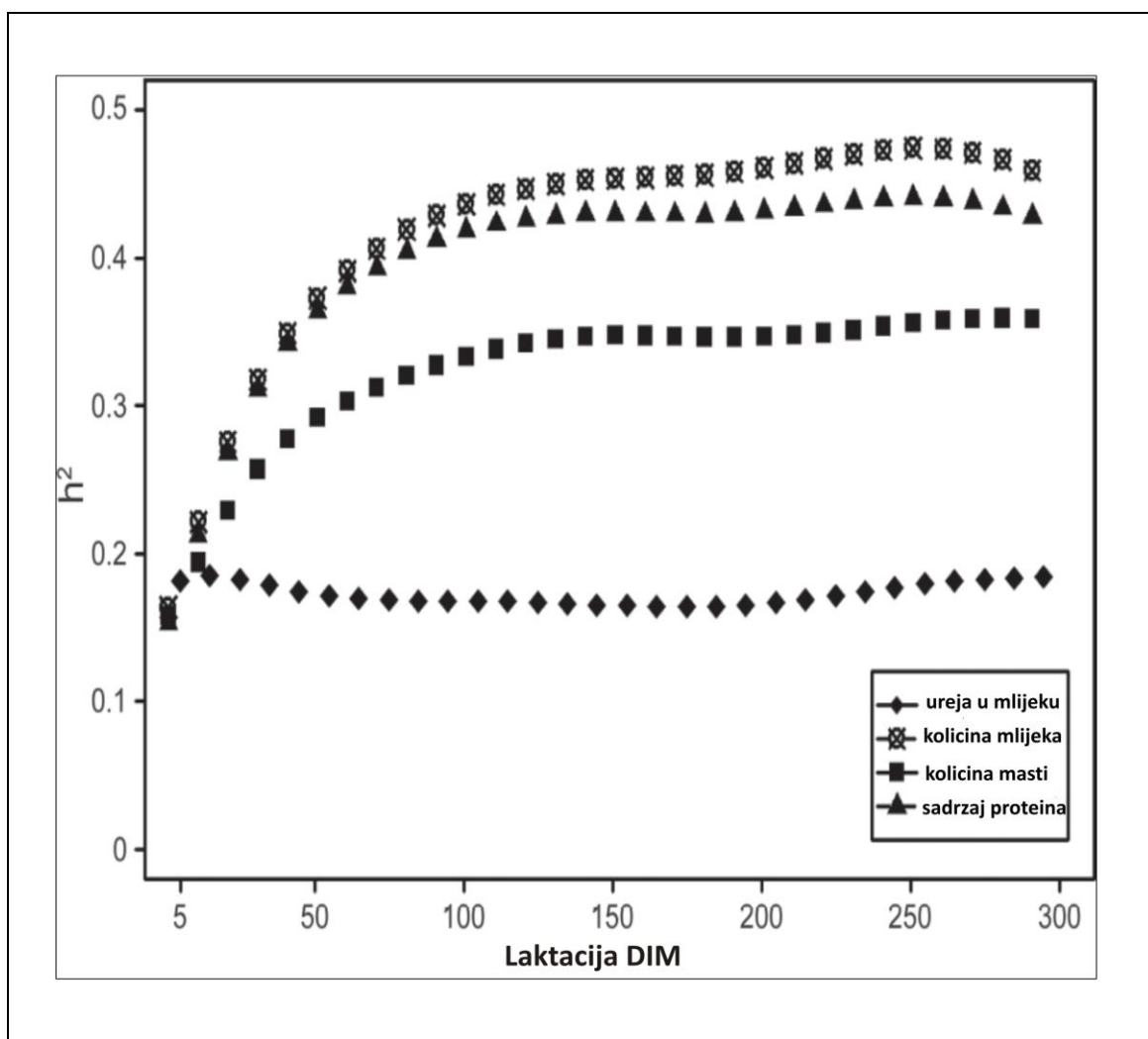
Ocjena heritabiliteta potrebna je za procjenu uzgojnih vrijednosti. Generalno gledajući, heritabilitet predstavlja udio genetske u ukupnoj fenotipskoj varijanci.

Procjena heritabiliteta za svojstvo sadržaja ureje u mlijeku iznosi između 6% i 44%. Mitchel i sur. (2005.) izračunali su vrijednost heritabiliteta za sadržaj ureje u mlijeku u granici od 0,13 do 0,22.

U svom radu Stoop i sur. (2007.) utvrdili su vrijednost heritabiliteta za sadržaj ureje 0,14. Mucha i Strandberg (2011.) su kod krava holštajn pasmine u Švedskoj izračunali heritabilitet u intervalu od 0,16–0,18 (Grafikon 20.).

Vrijednosti u procjeni razlikuju se između populacija zbog strukture podataka, metoda izračuna i efekata korištenih u modelu. Efekt utječe na procjenu heritabiliteta jedino kada je uključen u slučajni dio modela.

Ocjenjeni heritabilitet je specifičan ne samo za danu populaciju, nego je uvjetovan i okolišem. Ako su uvjeti okoliša konstantni tada je veća vrijednost ocijenjenog heritabiliteta.



Grafikon 20. Trend za heritabilitet za sadržaj ureje u mlijeku, količinu mlijeka, sadržaj proteina, i mliječne masti u prvoj laktaciji (Mucha i Strandberg, 2011)

1.2. Cilj istraživanja i hipoteze rada

Zbog sve većih troškova hrane, tehnologiju proizvodnje mlijeka treba usmjeriti na racionalno korištenje postojećih resursa. Tu se prije podrazumijeva primjerena hranidba, odnosno izbalansiran odnos svih krmiva u obroku. Posebno mjesto pri tome čine krmiva bogata bjelančevinama. To je zasigurno jedan od putova održive i konkurentne proizvodnje mlijeka na tržištu.

U radu su postavljeni sljedeći ciljevi istraživanja:

- utvrditi utjecaj okolišnih čimbenika na sadržaj ureje u kravljem mlijeku. Od okolišnih čimbenika većina autora ističe: pasminu, dob kod prvog teljenja, stadij laktacije, redni broj laktacije, sezonu teljenja, regija, način držanja, način mužnje, status infekcije vimena i slično,
- izračunati fenotipske korelacije između sadržaja ureje i osobina mliječnosti,
- izvršiti procjenu genetskih parametara za razvoj test-day modela za izračun genetskih parametara i daljnje genetsko vrednovanje,
- izračunati uzgojne vrijednosti za sadržaj ureje u mlijeku.

Navedeni ciljevi trebali bi pomoći u tumačenju postavljenih hipoteza rada:

- da postoji pozitivna korelacija između sadržaja ureje u mlijeku i proizvodnje mlijeka kod krava mlijećnih pasmina,
- da se odstupanje od normalnog sadržaja ureje u mlijeku u pojedinom stadiju laktacije može negativno odraziti na daljnju proizvodnu mlijeka,
- da postoji dovoljno jaki nasljedni utjecaj za genetsku procjenu ureje u mlijeku,
- da ureja u mlijeku može poslužiti kao pouzdan pokazatelj izbalansiranosti obroka krava.

2. MATERIJAL I METODE RADA

2.1. Materijal

Predmetnim istraživanjem obuhvaćeni su zapisi sadržaja ureje dobiveni tijekom kontrole mliječnosti krava holštajn pasmine. Utvrđivanja mliječnosti kod analiziranih grla obavljena su redovitim mjesečnim kontrolama, AT4 ili BT4 metodom (ICAR, 2012.). Po ovoj metodi jednom se mjesečno kontrolira jedna od dvije dnevne mužnje (naizmjenično jutarnja i večernja) i uzimaju uzorci mlijeka za utvrđivanje kemijskog sastava (sadržaj mliječne masti, bjelančevina i laktoze, te sadržaj ureje i broj somatskih stanica).

Kontrolu mliječnosti prema AT metodi obavlja za to ovlaštena osoba. Prilikom provedbe kontrole mliječnosti primjenom BT metode kontrolu na gospodarstvu, odnosno mjerenje količine mlijeka pri pojedinoj mužnji te uzimanje uzoraka za laboratorijsku analizu izvodi sam proizvođač, koji je educiran o provedbi postupka označavanja uzoraka, pravilnog postupka uzimanja uzoraka te utvrđivanja količine namuženog mlijeka.

Kontrolor na gospodarstvo dolazi samo po uzorke mlijeka za analizu. Navedeni podaci dobiveni su iz središnje baze podataka Hrvatske poljoprivredne agencije, u kojoj se vode podaci o proizvodnim osobinama uzgojno valjanih grla. Pored proizvodnih podataka, u postupku genetskog vrednovanja korišteni su i podaci o porijeklu životinja, također dobiveni za korištenje iz središnje baze podataka Hrvatske poljoprivredne agencije.

Za kemijsku analizu uzorka mlijeka koristi se uređaj MilkoScan FT 6000, koji se nalazi u sklopu Comby sustava zajedno sa analizatorom Fossomatic 5000, za utvrđivanje broja somatskih stanica. Kemijski sastav mlijeka (mliječna mast, bjelančevine, laktoza, bezmasna suha tvar i urea) ispituju se metodom Infracrvene spektrofotometrije prema normi HRN ISO 9622:2001 Punomasno mlijeko - Određivanje udjela mliječne masti, bjelančevina i laktoze - Uputstva za rad na MID-infrared instrumentima (ISO 9622:1999).

2.1.1. Priprema proizvodnih podataka i porijekla

Svaki je zapis životinje na kontrolni dan uključivao individualne podatke o životinji tj. njen životni broj, datum rođenja i datum posljednjeg teljenja, kao i informacije o rednom broju i stadiju laktacije, dobi kod teljenja, sezoni teljenja. Za svaku je životinju bio poznat vlasnik tj. stado u kojem se životinja nalazi, kao i regija čije je predstavljanje urađeno na osnovu podjele Republike Hrvatske po županijama.

Pored individualnih informacija, svaki je zapis uključivao i proizvodne podatke životinje: datum kontrole, količina namuženog mlijeka, dnevni sadržaj mliječne masti, bjelančevina, logaritamskog broja somatskih stanica i sadržaj ureje u mlijeku.

Podaci za daljnju obradu pripremljeni su sukladno raspoloživim informacijama. U analizi su korišteni zapisi prve do desete laktacije krava. Zbog malog broja zapisa dnevnih kontrola mliječnosti, podaci osme do desete laktacije pridruženi su podacima iz sedme u jedan zajednički razred (7+). Stadij laktacije određen je brojem dana između datuma zadnjeg teljenja krave i svakog kontrolnog dana tijekom laktacije.

Trajanje laktacije bilo je ograničeno na 400 dana. Provjerom dobi kod teljenja osigurana je logična dob prema rednom broju laktacije. Prvotelke su se telile u dobi od 20 do 40 mjeseci, dok se starost krava kod drugog teljenja kretala od 32 do 56 mjeseci. Krave koje su se telile u trećoj laktacije bile su stare 44 do 72, u četvrtoj od 56 do 90, te u petoj od 68 do 108 mjeseci. Starost kod teljenja pri šestoj do desetoj laktaciji se proporcionalno povećavala.

Sezona teljenja formirana je kao interakcija između godine i tri uzastopna mjeseca teljenja združenih u jednu proizvodnu sezonu. Sukladno navedenom, određene su četiri sezone teljenja:

1. zima (od prosinca do veljače),
2. proljeće (od ožujka do svibnja),
3. ljeto (od lipnja do kolovoza) i
4. jesen (od rujna do studenog).

Sezona teljenja koja je sadržavala manje od 30 kontrola po razredu pridružena je prethodnoj ili susjednoj sezoni teljenja.

Regija je predstavljala županije na području Republike Hrvatske. Priobalne županije su, zbog razmjerno malog broja krava, imale i mali broj dnevnih kontrola, tako da su dnevne kontrole ovih županija bile združene u jednu regiju.

Veličina stada kretala se od malih obiteljskih gospodarstava pa do velikih farmi specijaliziranih za mliječnu proizvodnju. Interakcijom između stada i godine testiranja predstavljen je utjecaj koji govori o razlikama u proizvodnji stada tijekom različitih godina testiranja. Prošireni oblik prethodnog utjecaja je interakcija između stada i dane kontrole tj. podaci u istom stadu prikupljeni tijekom istog kontrolnog dana.

Kao posljednji parametar u analizi korišten je tzv. stalni okolišni utjecaj, koji je zajednički za sve kontrole krave tijekom jedne laktacije i predstavlja postupke pripreme životinje na nadolazeću laktaciju, odnosno utjecaj smještaja, hranidbe i kompletnog menadžmenta farme.

Prilikom obrade podataka iz analize su izlučeni podaci kojima je nedostajao ili je nelogičan podatak o datumu rođenja, datumu zadnjeg teljenja ili datumu kontrole, te regiji. Također su izbrisane dnevne kontrole koje su došle iz nepoznatog stada te ako stado unutar iste godine ima manje od tri kontrolirane krave.

Postavljene su i logične granice prihvatljivosti sukladno pravilima, standardima i smjernicama ICAR-a unutar kojih se nalaze vrijednosti za promatrano svojstvo u analizi. Uvažen je interval koncentracije ureje u mlijeku koji se kreće između 1 i 70 mg/100 ml.

Zapisi gdje je sadržaj ureje izvan navedenog raspona nisu uključeni u analizu. Nakon provedene pripreme podataka za daljnju analizu korišteno je 2.109.598 zapisa dnevne količine mliječnosti od 114.768 krava koje su telile u razdoblju od siječnja 2003. do prosinca 2012. godine.

Podaci o porijeklu uključuju sve krave sa zapisima dnevnih kontrola te njihove srodnike praćene kroz pet generacija. U porijeklu, s pedigreeom, nalazi se ukupno 154.727 životinja. S potpuno poznatim porijeklom tj. oba poznata roditelja imalo je ukupno 92.656 životinja. Poznatu samo majku imalo je 25,3% životinja, a poznatog samo oca imalo je 3,3% životinja. Ukupno 17.740 (11,4%) životinja bilo je nepoznatog porijekla.

2.2. Statističke metode

Zapisi na kontrolni dan modelirani su pomoću ponovljivog modela s dnevnim zapisima (engleski: test-day model). Ponovljivi model uključuje dnevne kontrole unutar laktacije kao ponovljena mjerenja istog svojstva i koji uzima u obzir okolišne faktore na kontrolni dan.

U pripremi podataka korišten je statistički paket SAS (SAS Inst. Inc., 2009.). Isti je korišten i pri razvoju fiksnog dijela modela, nakon čega je analiziran i razvijen slučajni dio modela. Utjecaji koji su testirani u ovom istraživanju formirani su su temeljem strukture dostupnih podataka te prema navodima iz pregleda literature (Liu i sur., 2000.; Sprengel i sur., 2001.; Špehar, 2010.).

Nakon razvoja fiksnog dijela modela i uključenja slučajnih utjecaja u model procijenjene su komponente varijance i izračunate uzgojne vrijednosti svih životinja uključenih u porijeklo za svojstvo sadržaja ureje u mlijeku.

2.2.1. Fiksni dio modela

Pri odabiru negenetskih (okolišnih) utjecaja u fiksnom dijelu modela korištena je metoda najmanjih kvadrata, temeljem GLM procedure (opći linearni model) unutar statističkog programa SAS (SAS Inst. Inc., 2009.). Uključivanje pojedinog utjecaja u model provedeno je uzevši u obzir slijedeće kriterije: statistička značajnost pojedinog utjecaja (p-vrijednost), stupnjevi slobode (df) i koeficijent determinacije (R^2) pojašnjen s pojedinim utjecajem u modelu. Slijedeći okolišni utjecaji analizirani su u fiksnom dijelu modela sa svrhom da se utvrdi njihov utjecaj na varijabilnost sadržaja ureje u mlijeku krava:

- dob kod prvog teljenja i stadij laktacije modelirani su kao kovarijable. Promjena dobi kod prvog teljenja opisana je kvadratnom regresijom. Nekoliko je regresijskih modela korišteno za opis promjene sadržaja ureje tijekom laktacije. Utvrđeno je da Ali-Schaeffer laktacijska krivulja (Ali i Schaeffer, 1987.) najbolje opisuje promjenu sadržaja ureje. Ova laktacijska krivulja (1) ima četiri regresijska koeficijenta:

varijable koje opisuju laktacijsku krivulju su linearni (t_1) i kvadratni član (t_2) stadija laktacije, kao i linearni (t_3) i kvadratni član (t_4) transformirani prirodnim logaritmom.

$$t_1 = t_{ijk}/305 \quad t_2 = (t_{ijk}/305)^2; \quad t_3 = \ln(t_{ijk}/305); \quad t_4 = \ln(t_{ijk}/305)^2 \quad (1)$$

- redni broj laktacije, sezona teljenja i regija korišteni su kao fiksni utjecaji s razredima.

2.2.2. Slučajni dio modela

Slučajni dio modela uključuje utjecaje koji se najčešće koriste u modelima s dnevnim kontrolama. Pored genetskog dijela, tzv. direktnog aditivnog genetskog utjecaja (utjecaj same životinje), on uključuje i okolišne utjecaje. Okolišni utjecaj se, nadalje, dijeli na stalni (permanentni) okolišni utjecaj unutar laktacije i usporedivu (tzv. contemporary) skupinu koju čine životinje kontrolirane u istom stadu, kontrolirane u istoj godini ili na isti kontrolni dan.

Za ocjenu komponenti varijance, kao i za procjenu uzgojnih vrijednosti životinja za sadržaj ureje u mlijeku, korišten je slijedeći ponovljivi model s dnevnim zapisima, prikazan jednadžbom (2) u skalaranom obliku:

$$y_{ijklmn} = \mu + \sum_{q=0}^4 b_{qi} t_{qijklmn} + R_j + S_k + h y_l + a_m + p_{mn} + e_{ijklmn} \quad (2)$$

y_{ijklm} = svojstvo (sadržaj ureje na dan kontrole pojedine krave)

μ = srednja vrijednost,

t_{ijklm} = stadij laktacije,

b_{io} = intercept za svaki redni broj laktacije ($i = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7+$),

$b_{i1}, b_{i2}, b_{i3}, b_{i4}$ = parametri Ali-Schaeffer-ove krivulje ugniježdeni unutar rednog broja laktacije ($i = 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7+$),

R_j = utjecaj regije ($j = 1, 2, 3, \dots, 16$),

S_k = sezona teljenja ($k = 1, 2, 3, \dots, 33$),

h_l = slučajni utjecaj stada ($l = 1, 2, 3, \dots, 5461$),

hy_l = slučajni utjecaj interakcije između stada i godine testiranja ($l = 1, 2, 3, \dots, 25.723$)

a_m = direktni aditivni genetski utjecaj ($m=1, 2, 3, 154.727$),

p_{mn} = slučajni stalni okolišni utjecaj ($mn = 1, 2, 3, \dots, 260.799$),

e_{ijklmn} = ostatak (neprotumačeni dio).

Proizvodni podaci, kao i podaci o porijeklu, prije ocjene komponenti varijance kodirani su u softverskom paketu SAS (SAS Inst. Inc., 2009.). Komponente varijance ocijenjene su pomoću REML (Residual Maximum Likelihood) procedure, koja je primijenjena u VCE-6 softverskom paketu (Kovač i sur., 2002.). Ocijenjeni genetski parametri osnova su za procjenu uzgojnih vrijednosti životinja za svojstvo sadržaja ureje.

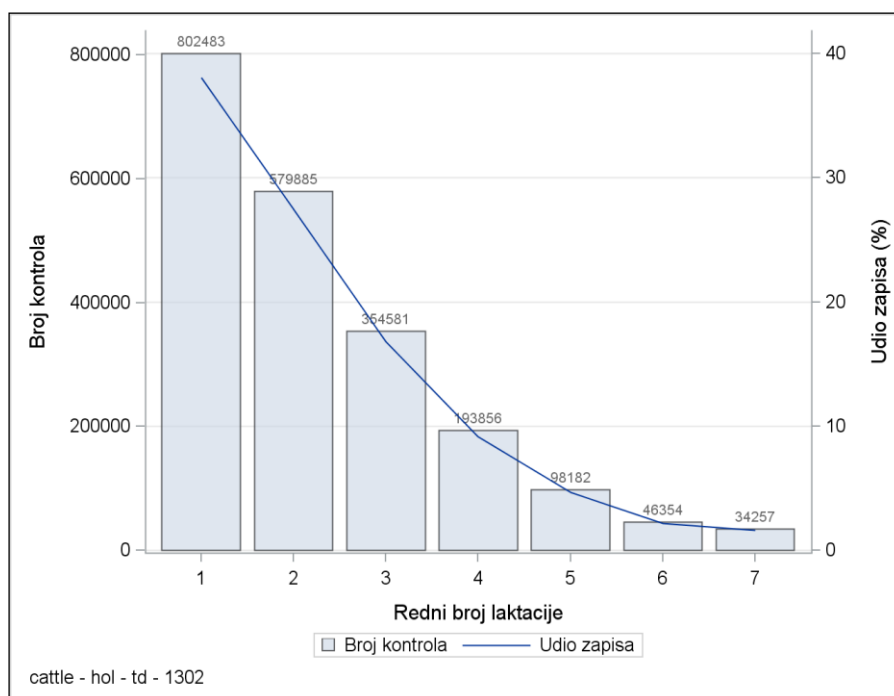
3. REZULTATI ISTRAŽIVANJA

Rezultati istraživanja su predstavljeni u dva dijela. Prvi dio odnosi se na prikaz strukture proizvodnih podataka i utjecaja korištenih u fiksnom dijelu modela, dok drugi dio uključuje ocjenu komponenti varijance i izračun uzgojnih vrijednosti.

3.1. Struktura proizvodnih podataka

Istraživanjem je bilo obuhvaćeno 2.109.598 zapisa na kontrolni dan evidentiranih kod 114.768 Holstein krava. Proizvodni podaci redovite kontrole mliječnosti prikupljeni su u vremenskom razdoblju od siječnja 2003. do ožujka 2013. godine.

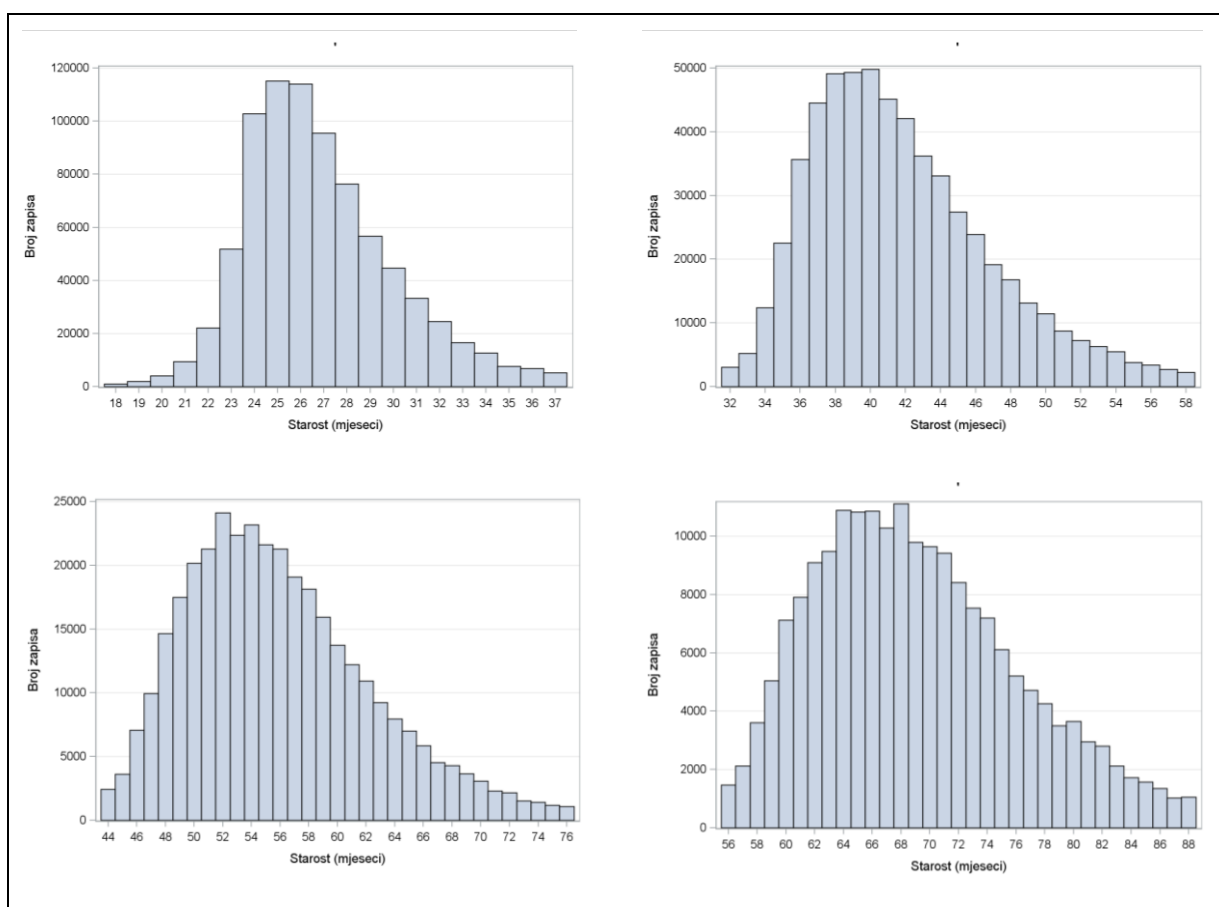
Broj dnevnih kontrola razlikovao se po rednom broju laktacije. Kao što je bilo i za očekivati, najveći broj dnevnih kontrola evidentiran je u prvoj laktaciji (Grafikon 21.). Laktacije od sedme do desete su združene u zajednički razred (7+) zbog malog broja kontrola u tim pojedinačnim laktacijama. Ujedno je u ovom razredu evidentiran i najmanji broj kontrola mliječnosti.

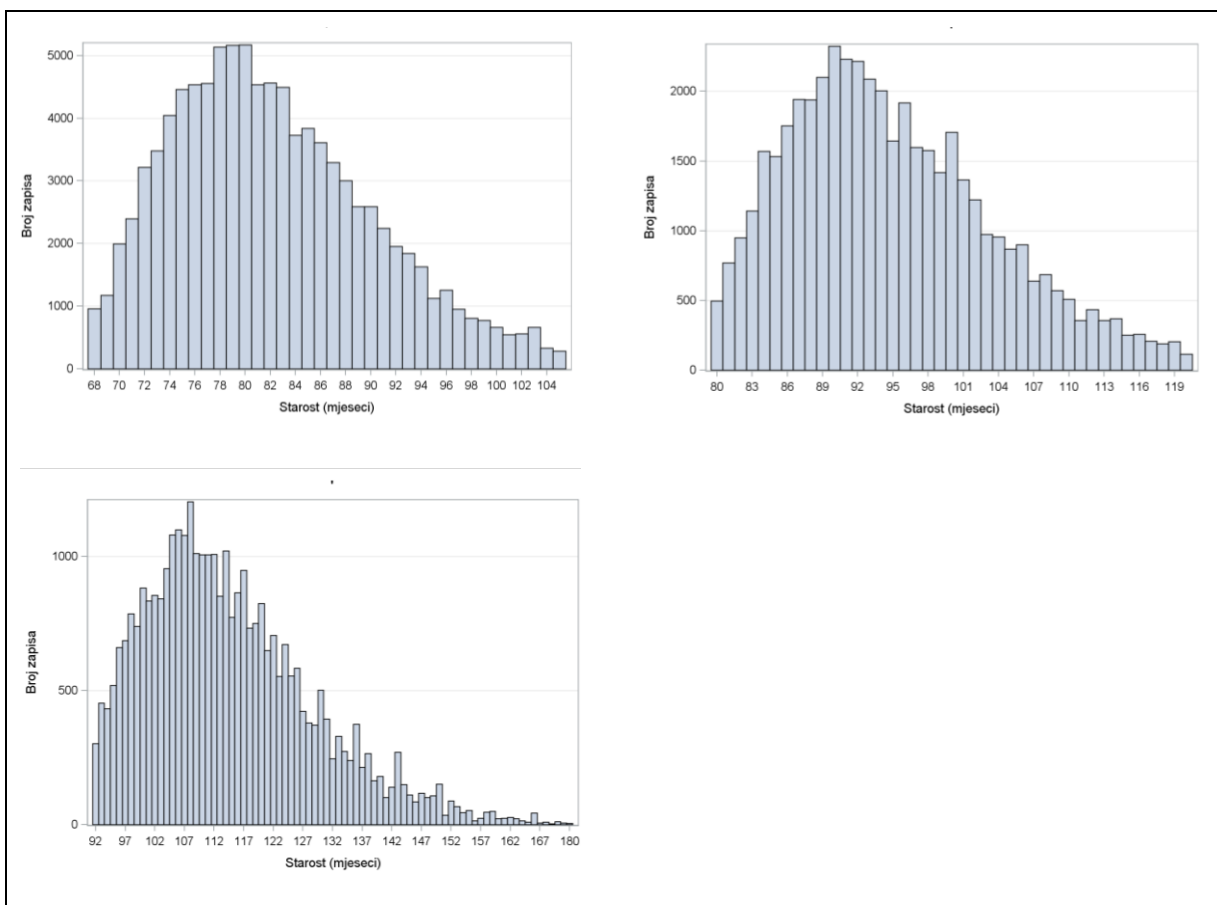


Grafikon 21. Broj i udio kontrola unutar laktacija

Iz Grafikona 21. vidljiv je trend ravnomjernog opadanja broja kontrola po laktacijama. Više od trećine dnevnih kontrola (40%) potječe iz prve laktacije što ukazuje na dužinu proizvodnog vijeka, uvjetovanog intenzitetom korištenja u proizvodnji mlijeka. U prilog tome govori i činjenica da se gotovo 90% svih kontrola Holstein pasmine nalazi unutar prve tri laktacije. Nakon treće laktacije dolazi do značajnog pada broja kontrola zbog slabije dugovječnosti krava, gdje zbog visoke proizvodnje mlijeka i reproduktivnih problema dolazi do smanjene otpornosti krava i njihovog ranijeg izlučenja.

Dob krava kod teljenja izračunata je kao razlika u mjesecima između datuma teljenja i datuma rođenja krave. Pripremljena je sukladno biološkim granicama unutar pojedinih laktacija (Grafikon 22.). Za prvotelke je raspon dobi kod teljenja bio između 18 i 37 mjeseci, za drugotelke od 32–58 mjeseca, za krave u trećoj laktaciji od 44–76 mjeseci, a za 4. laktaciju od 56–88 mjeseci.

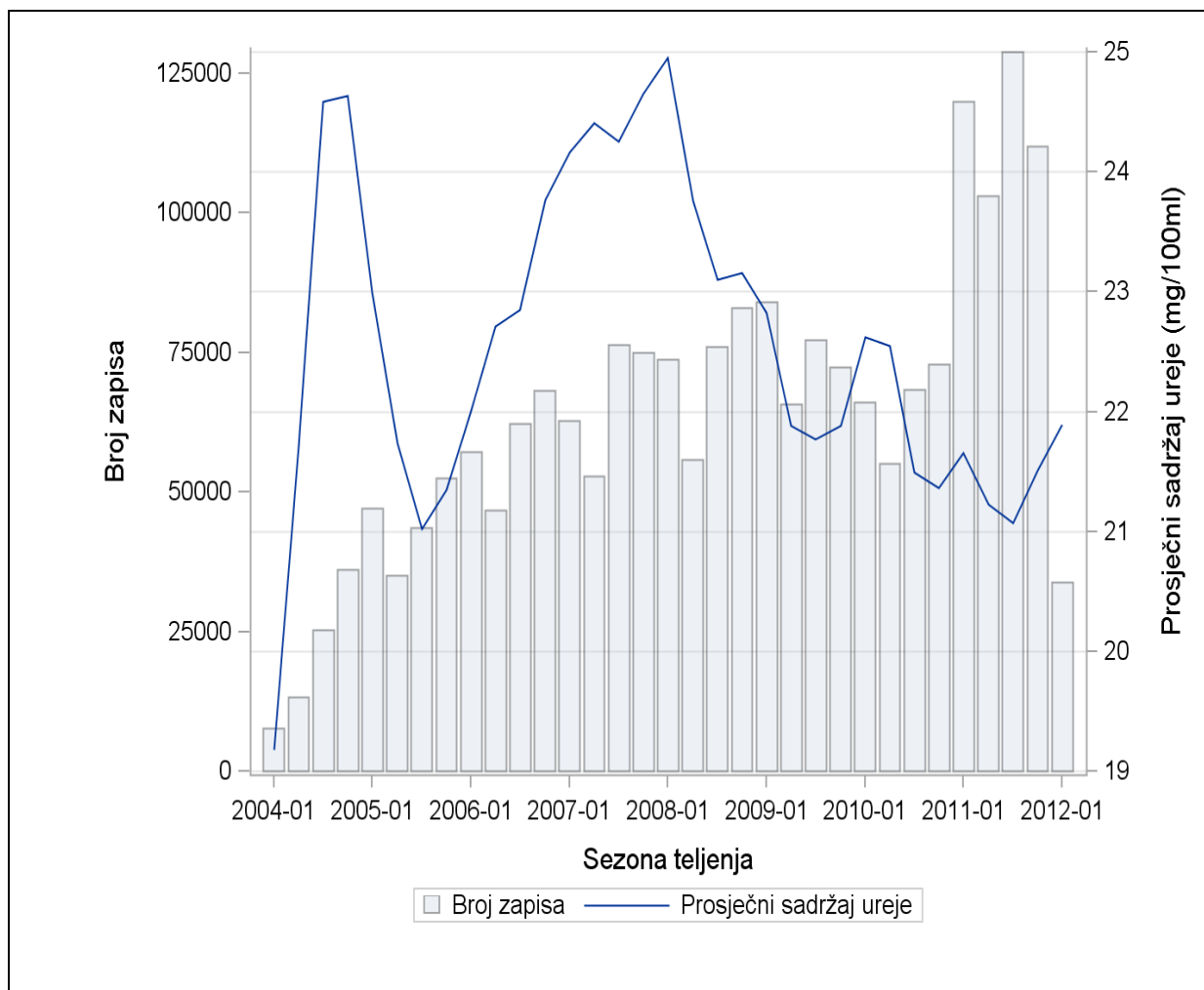




Grafikon 22. Dob kod teljenja (mjeseci) po rednom broju laktacije

Za krave u kasnijim laktacijama evidentiran je širi raspon dobi kod teljenja. Kasnije laktacije znače širi raspon dobi kod teljenja. To se prvenstveno odnosi na krave u razredu 7+ s obzirom da on obuhvaća krave od sedme do desete laktacije.

Sezona teljenja krava definirana je kao interakcija između godine i tri uzastopna mjeseca teljenja (Grafikon 23.). U istraživanju su korištene četiri sezone: zimska (teljenja od prosinca do veljače), proljetna (teljenja od ožujka do svibnja), ljetna (teljenja od lipnja do kolovoza) te jesenska (teljenja od rujna do studenog).



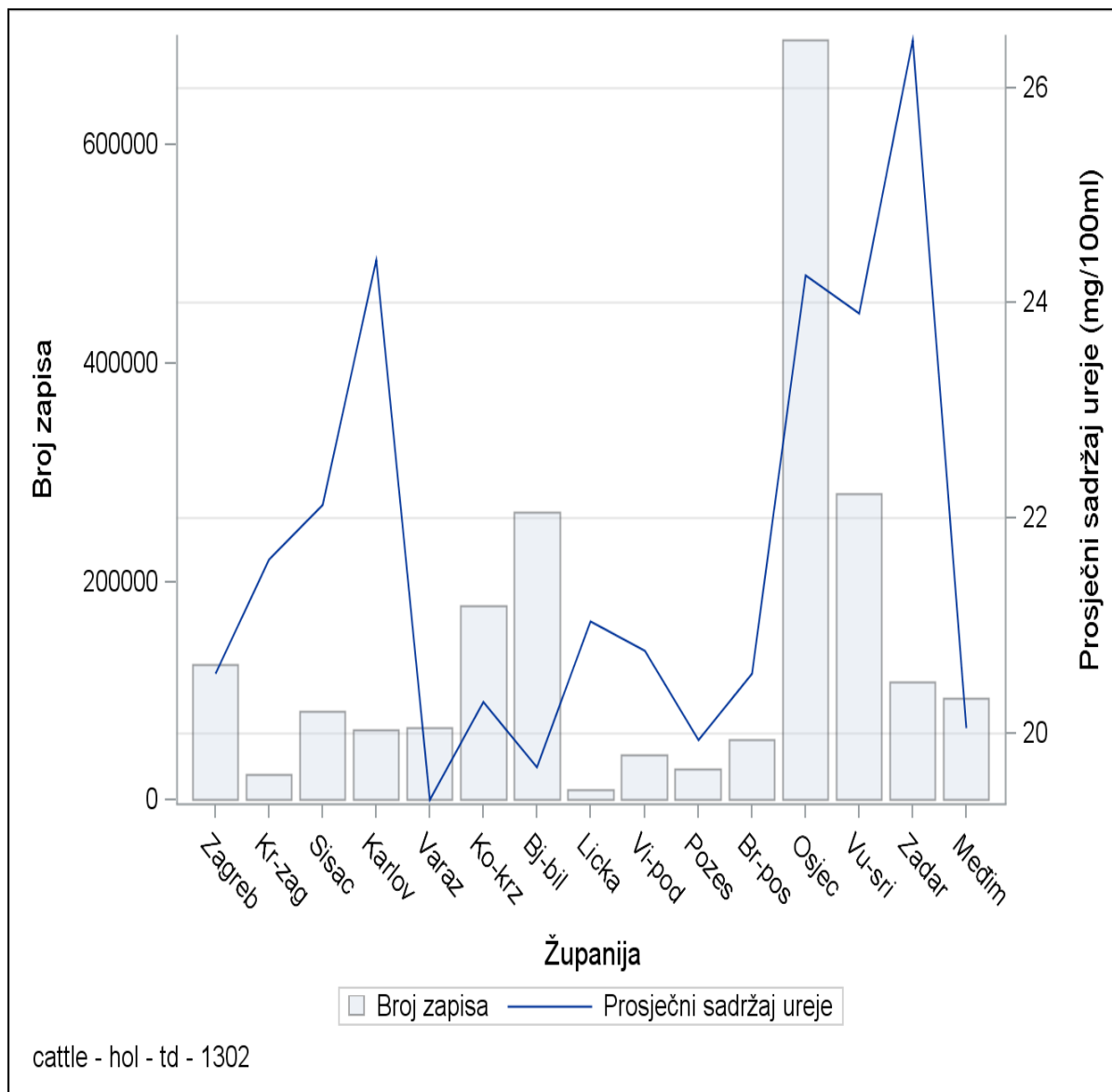
Grafikon 23. Broj zapisa i prosječni sadržaj ureje po sezoni teljenja

Najveći broj zapisa utvrđen je tijekom sve četiri sezone teljenja u 2011. godini. Ujedno je u ovim sezonama evidentiran i najmanji prosječni sadržaj ureje. Po broju zapisa slijede proljetna sezona u 2008. godini (57.073) te zimska u 2006. godini (54.244).

Ako promatrano razdoblje analiziramo po pojedinim sezonama, tada je najveći broj kontrola zabilježen tijekom zimskih i proljetnih sezona, dok je najmanji broj kontrola ostvaren u ljetnim sezonama.

Najviši prosječni sadržaj ureje utvrđen je tijekom sve četiri sezone teljenja u 2007. godini te na početku promatranog razdoblja, gdje je ujedno bio i najmanji broj evidentiranih zapisa.

Teritorij Republike Hrvatske podijeljen je u 20 županija (regija) i grad Zagreb. Županije se, pored klimatskih karakteristika, međusobno razlikuju i načinom uzgoja goveda - od tradicionalnog pa do suvremenog načina uzgoja, u kojem prevladavaju staje otvorenog tipa i elektronska izmuzišta.



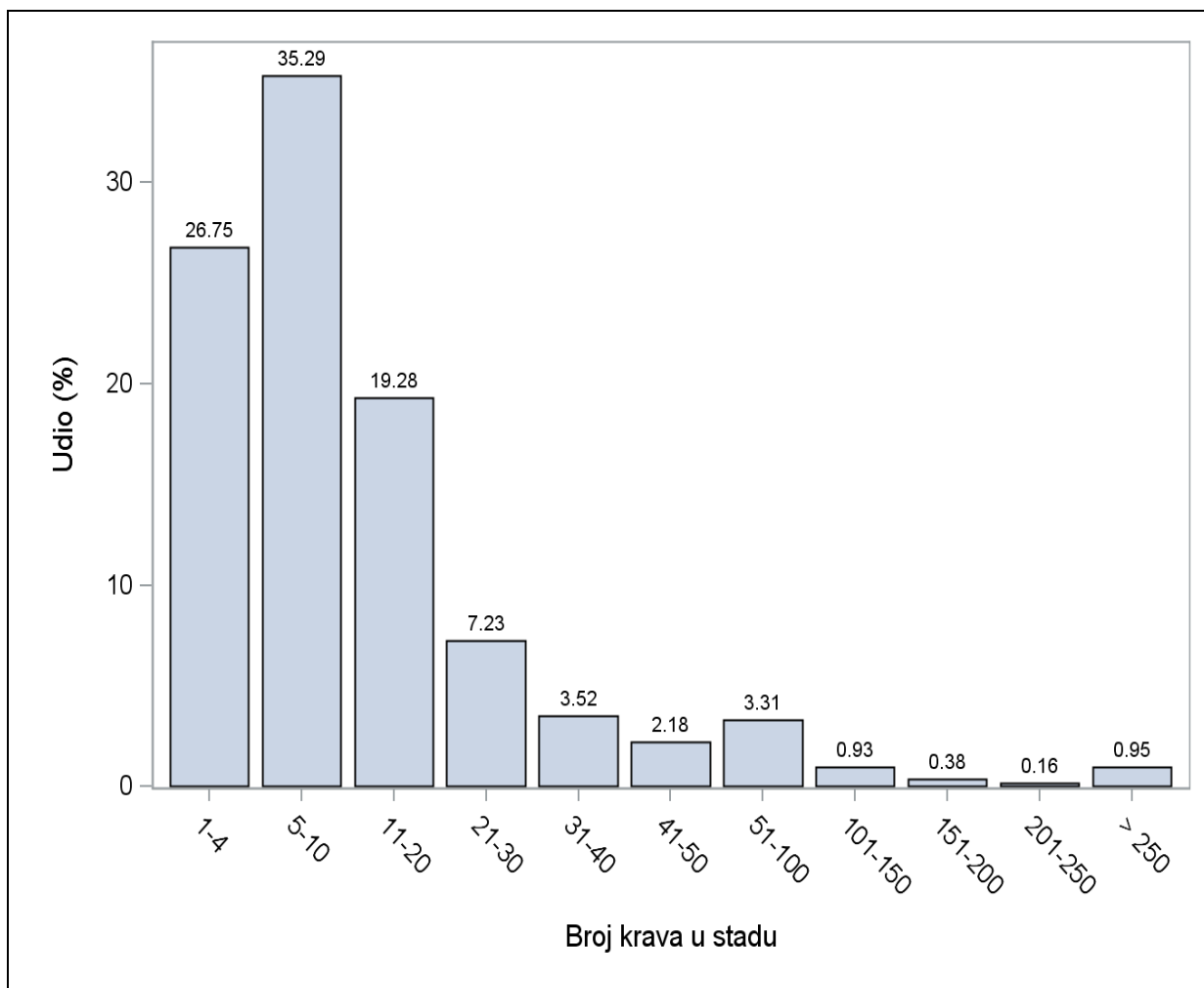
Grafikon 24. Broj zapisa i prosječni sadržaj ureje po regiji

Iz Grafikona 24. vidljivo je da se krave Holstein pasmine uzgajaju u 15 županija. Zbog sličnih klimatskih uvjeta i malog broja dnevnih kontrola, Šibensko–kninska, Dubrovačka i Splitsko-dalmatinska županija pridružene su Zadarskoj županiji, a grad Zagreb je združen sa Zagrebačkom županijom.

Priobalne županije imaju veći broj kontrola s obzirom da su u Zadarskoj županij smještene dvije velike specijalizirane mliječne farme s Holstein kravama. Po brojnosti zapisa prednjači Osječko–baranjska županija sa 695.788 zapisa kontrole mliječnosti. Razlog leži u činjenici da je u ovoj županiji smješten veći broj specijaliziranih mliječnih farmi, koje broje između 100 i 1200 krava. Slijedeće su po brojnosti Vukovarsko-srijemska (279.834) i Bjelovarsko–bilogorska županija (262.948).

Značajniji broj krava drži se u Koprivničko–križevačkoj županiji (178.059), dok se u ostalim županijama uzgaja manji broj Holstein krava. Najveći prosječni sadržaj ureje u mlijeku krava Holstein pasmine zabilježen je u Zadarskoj (28,2 mg/100 ml) i Karlovačkoj županiji (24,1 mg/100 ml), a najmanji u mlijeku krava Varaždinske županije (19,2 mg/100 ml).

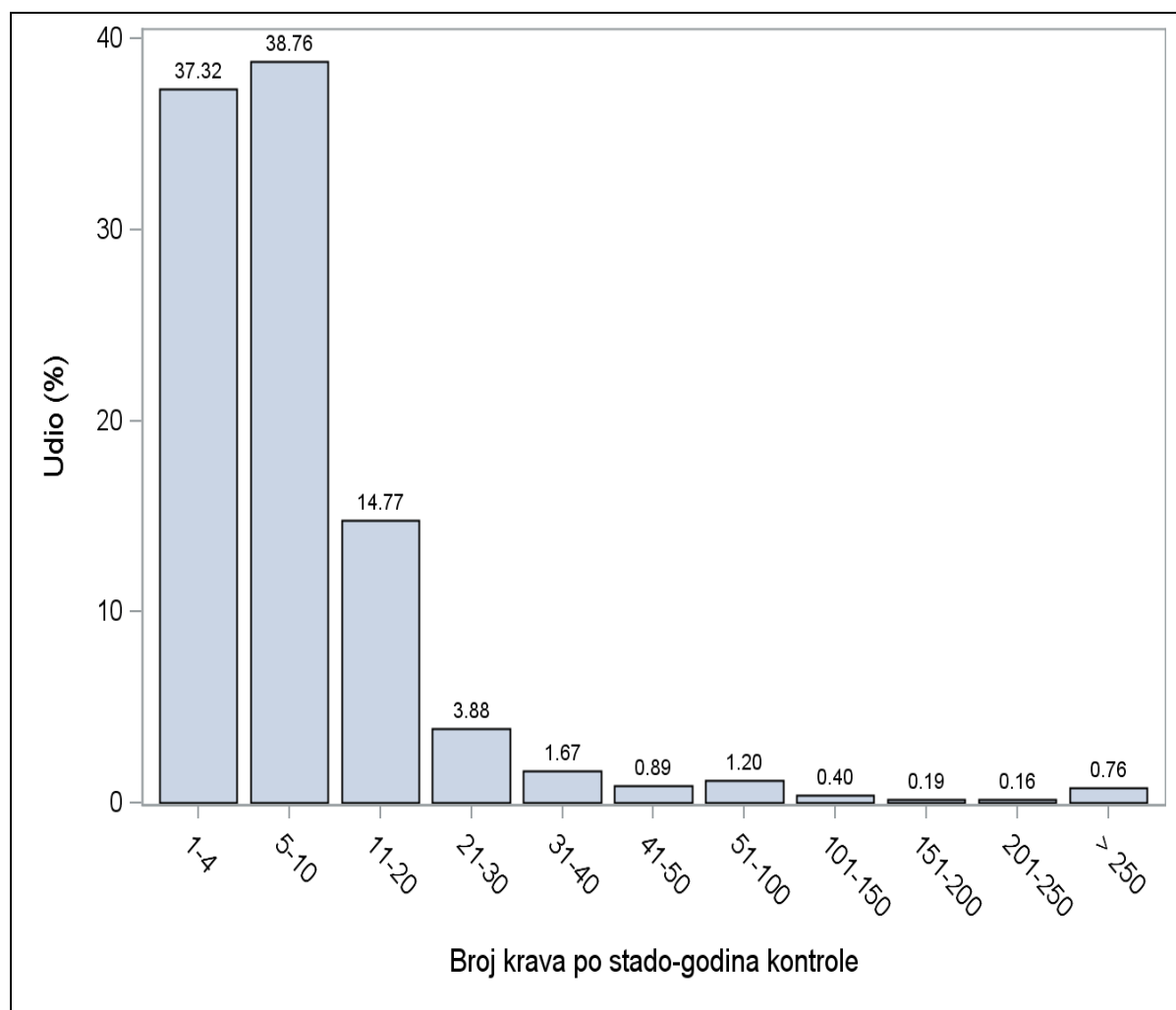
U analizu i obradu podataka uključeno je 5.461 stada u kojima se drže krave Holstein pasmine. Iz Grafikona 25. može se konstatirati da je struktura stada relativno nepovoljna, tj. da prevladavaju stada s manjim brojem krava. Do četiri krave drži 26,75% stada, a između pet i deset krava drži 35,28% Holstein stada.



Grafikon 25. Udio stada obzirom na broj krava u stadu

Između 11 i 50 holštajn krava broji 32% stada, dok se između 51 i 100 krava drži u 3,31% stada holštajn pasmine. Od 101 do 250 krava holštajn pasmine broji 1,47% stada. Više od 250 krava holštajn pasmine uzgaja se na 0,95% stada.

Struktura podataka s obzirom na interakciju između stada i godina testiranja bitno se ne razlikuje od strukture stada (Grafikon 26.). Do pet krava po godini kontrole imalo je 37,3% stada, što se donekle razlikuje od udjela za strukturu stada (10,65%). Između pet i deset krava po godini testiranja imalo je 38,76% stada.

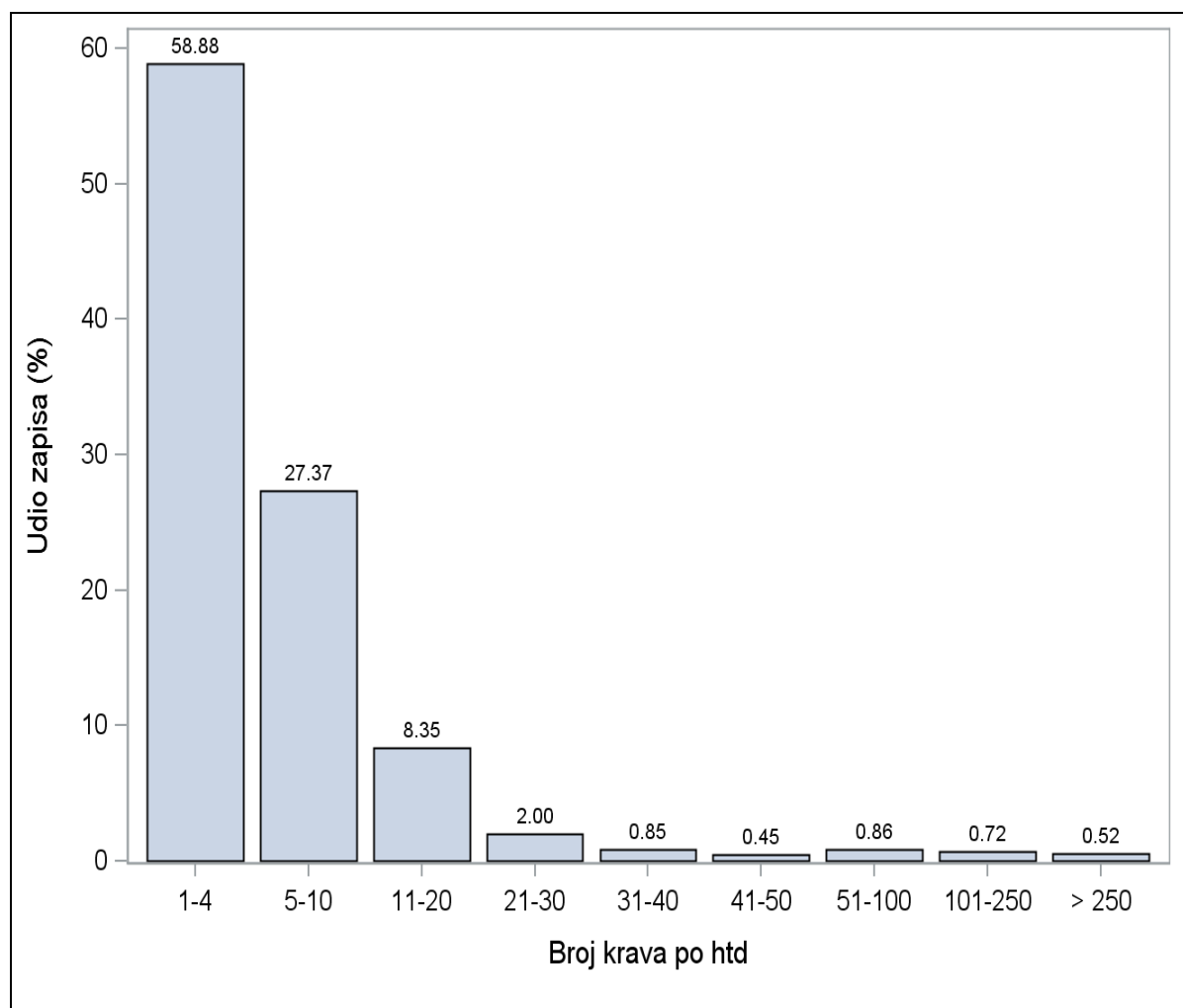


Grafikon 26. Udio stada obzirom na broj krava po stadu i godini kontrole

Od 11 do 50 Holstein krava po godini testiranja utvrđeno je u 21,2% stada, a između 51 i 100 krava po godini testiranja imalo je samo 1,20% stada. Oko 0,75% stada imalo je između 101 i 250 krava po godini testiranja, a 0,76% stada brojilo je više od 250 krava Holstein pasmine po godini testiranja.

Struktura podataka s obzirom na broj krava u stadu na dan testiranja pokazuje najveći udio stada s malim brojem krava po danu testiranja (Grafikon 27.). Kod 59% stada utvrđeno je svega jedna do četiri krave po danu testiranja, dok 36% stada ima između pet i 20 krava po danu testiranja. Od 20 do 30 krava po danu testiranja brojalo je 2,0% stada, odnosno njih 1,3% imalo

je po danu kontrole između 31 i 50 krava. U 1,6% stada bilo je testirano po danu kontrole između 51 i 250 krava. Više od 250 Holstein krava po danu testiranja imalo je samo 0,52% stada.



Grafikon 27. Udio stada obzirom na broj krava po danu kontrole

Struktura podataka po danu kontrole upućuje na još uvijek veliki broj malih farmi, dok je broj srednjih farmi vrlo malen. Ipak, prisutan je i određeni broj velikih farmi. Iako u promatranom razdoblju broj velikih farmi nije značajnije rastao, povećan je broj krava na njima.

Granične vrijednosti za sadržaj ureje u mlijeku kretale su se unutar intervala od 1 do 70 mg/100 ml (Tablica 8.). Prosječna vrijednost sadržaja ureje u mlijeku krava za sve laktacije iznosila je 22,52 mg/100 ml, sa standardnom devijacijom od 10,12 mg/100 ml.

Tablica 8. Opisna statistika za svojstvo sadržaj ureje (mg/100ml)

Laktacija	N	Prosjek	Std	Min	Max
Ukupno	1.923.801	22.52	10.12	1,00	70,00
1.	724.267	22,88	9,84	1,00	70,00
2.	535.072	22,98	10,13	1,00	70,00
3.	327.341	22,33	10,25	1,00	70,00
4.	177.323	21,52	10,28	1,00	70,00
5.	88.491	20.97	10,44	1,00	70,00
6.	41.178	20,73	10,61	1,00	69,90
7.	30.129	20,72	10,85	1,00	70,00

Krave u drugoj laktaciji imale su najveću prosječnu vrijednost sadržaja ureje (22,98 mg/100 ml). Najniža vrijednost sadržaja ureje evidentirana je kod krava u sedmoj laktaciji (20,72 mg/100 ml), koje su ujedno imale i najveću standardnu devijaciju sadržaja ureje u mlijeku (10,85 mg/100 ml). Minimalne i maksimalne vrijednosti sadržaja ureje po laktaciji imale su gotovo identične vrijednosti.

3.2. Struktura porijekla

Podaci o porijeklu (tzv. „pedigree file“) uključuju rodbinske veze između životinja. Ova datoteka uključuje sve krave s proizvodnim podacima (dnevni kontrolama) i njihove pretke tj. srodstvene veze koje se protežu kroz pet generacija (Tablica 9).

Tablica 9. Broj životinja po generaciji i spolu

Spol	Broj generacija u porijeklu												Ukupno	
	0		1		2		3		4		5			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
M			6,519	3.9	1,052	0.6	552	0.3	289	0.2	41	0.0	8,453	5.1
F	124,854	74.9	18,969	11.4	7,986	4.8	4,144	2.5	2,184	1.3	57	0.0	158,194	94.9
Ukupno	124,854	74.9	25,488	15.3	9,038	5.4	4,696	2.8	2,473	1.5	98	0.1	166,647	100.0

U pedigree file nalazi se ukupno 166.647 životinja. S nultom generacijom označene su krave koje su imale proizvodne podatke i one su predstavljale oko 75% od ukupnog broja životinja u porijeklu. Očevi i majke ovih krava predstavljaju prvu generaciju životinja te zajedno čine 15,3% od ukupnog broja životinja. Krave su bile potomci 6.519 bikova, odnosno 18.969 krava. Kao što je bilo i za očekivati, udio životinja se smanjuje s generacijom porijekla.

3.3. Odabir modela

Odabir modela koji je korišten za izračun komponenti varijance i procjenu uzgojnih vrijednosti uključuje utjecaje u fiksnom te u slučajnom dijelu modela, koji su signifikantno utjecali na varijabilnost sadržaja ureje. Odabir utjecaja proveden je temeljem modela koji koristi podatke mliječnosti na kontrolni dan, u kojem je laktacija definirana kao ponovljivo mjerenje, dok je stadij laktacije opisan u fiksnom dijelu modela.

Razvoj fiksnog dijela modela i definiranje utjecaja temeljeno je na koeficijentu determinacije (R^2), stupnju slobode (df) i udjelom varijabilnosti pojašnjene pojedinim utjecajem.

U odabrani model uključeni su slijedeći fiksni utjecaji s razredima: redni broj laktacije, županija i sezona teljenja definirana kao interakcija između godine i tri uzastopna mjeseca teljenja. Utjecaj dobi pri prvom teljenju opisan je kvadratnom regresijom, a stadij laktacije modeliran je Ali-Schaefferovom laktacijskom krivuljom ugniježđenom unutar rednog broja laktacije. Za fiksne utjecaje ocijenjene su srednje vrijednosti.

Korištenim modelom pojašnjeno je 6,8% varijabilnosti za svojstvo sadržaja ureje. U slučajni dio modela je, pored aditivnog genetskog utjecaja, bio uključen i slučajni utjecaj interakcije stada i dana kontrole.

3.3.1. Fiksni utjecaji u modelu za svojstvo sadržaj ureje

Stadij laktacije opisan je Ali-Schaefferovom funkcijom ugniježđenom unutar rednog broja laktacije (Ali i Schaefer, 1987.).

Iz analiziranih podataka vidljivo je da laktacijske krivulje sadržaja ureje imaju obrnuti trend u odnosu na laktacijsku krivulju dnevne količine proizvedenog mlijeka kod krava Holstein pasmine (Špehar, 2010.). Ovo se ogleda u tome jer sadržaj ureje ne prati količine proizvedenog mlijeka. Tako je na početku laktacije karakterističan porast dnevne količine mlijeka sve do određenog stadija, uobičajeno sedmog do osmog tjedna laktacije. Nakon toga došlo je do opadanja količine mlijeka prema kraju laktacije.

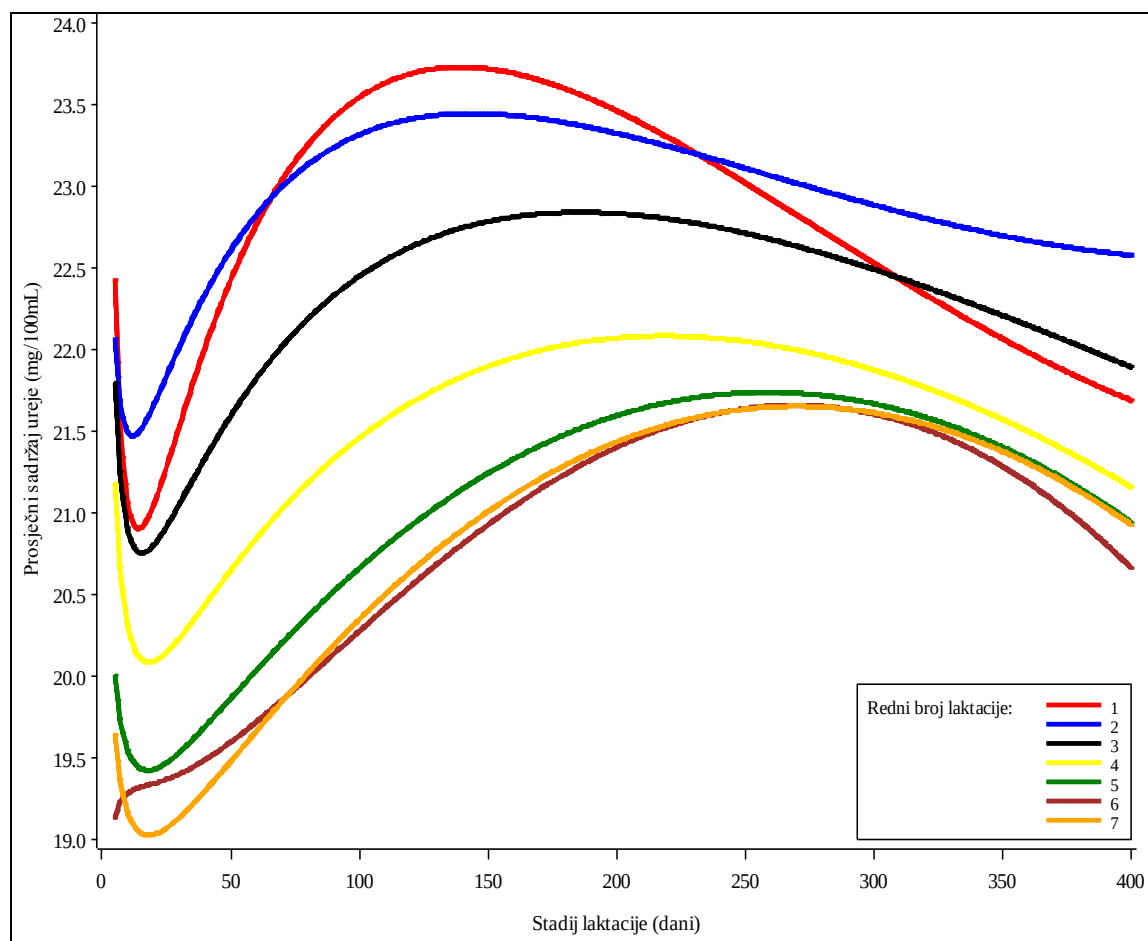
Vidljivo je da se sadržaj ureje mijenja tijekom laktacije, te da promjenu karakterizira blagi pad koncentracije u prvim danima laktacije. Nakon ovog početnog smanjenja dolazi do povećanja sadržaja ureje u mlijeku. Za pojedine laktacije najviši sadržaj ureje postignut je kod različitih stadija laktacije.

Najveća razina sadržaja ureje u mlijeku zabilježena je u prvoj laktaciji, u razdoblju između 110. i 140. dana laktacije, kada se kretala oko 23,6 mg/100 ml (Grafikon 28.). Prvih desetak dana utvrđen je najmanji sadržaj ureje u mlijeku i iznosio je u prosjeku 20,9 mg/100 ml. Na kraju prve laktacije prosječni sadržaj ureje u mlijeku iznosio je oko 21,6 mg/100 ml.

Drugu laktaciju karakterizira nešto veći sadržaj ureje u razdoblju odmah nakon teljenja, kada je zabilježena i najviša vrijednost (21,5 mg/100 ml) od svih laktacija obuhvaćenih istraživanjem. Maksimalna vrijednost sadržaja ureje u drugoj laktaciji ima sličan tijek promjeni sadržaja ureje u prvoj laktaciji, ali s nešto nižom vrijednošću (23,4 mg/100 ml).

Ono što je još uočljivo je da nakon 230 dana dolazi do blagog smanjenja sadržaja ureje, manjeg nego u prvoj laktaciji, što za rezultat ima veći sadržaj na kraju laktacije (22,7 mg/100 ml). U trećoj laktaciji nastavlja se trend opadanja sadržaja ureje u mlijeku u prvim danima laktacije, u odnosu na prve dvije laktacije, koji je iznosio oko 20,7 mg/100 ml.

Daljnji porast sadržaja ureje u mlijeku ima sličan tijek promjeni u drugoj laktaciji, ali s maksimalnim vrijednostima u razdoblju između 150. i 200. dana laktacije. Sadržaj ureje iznosio je oko 22,7 mg/100 ml, dok je na kraju laktacije ova vrijednost iznosila 21,7 mg/100 ml.



Grafikon 28 Promjena sadržaja ureje sa stadijem laktacije po rednom broju laktacije

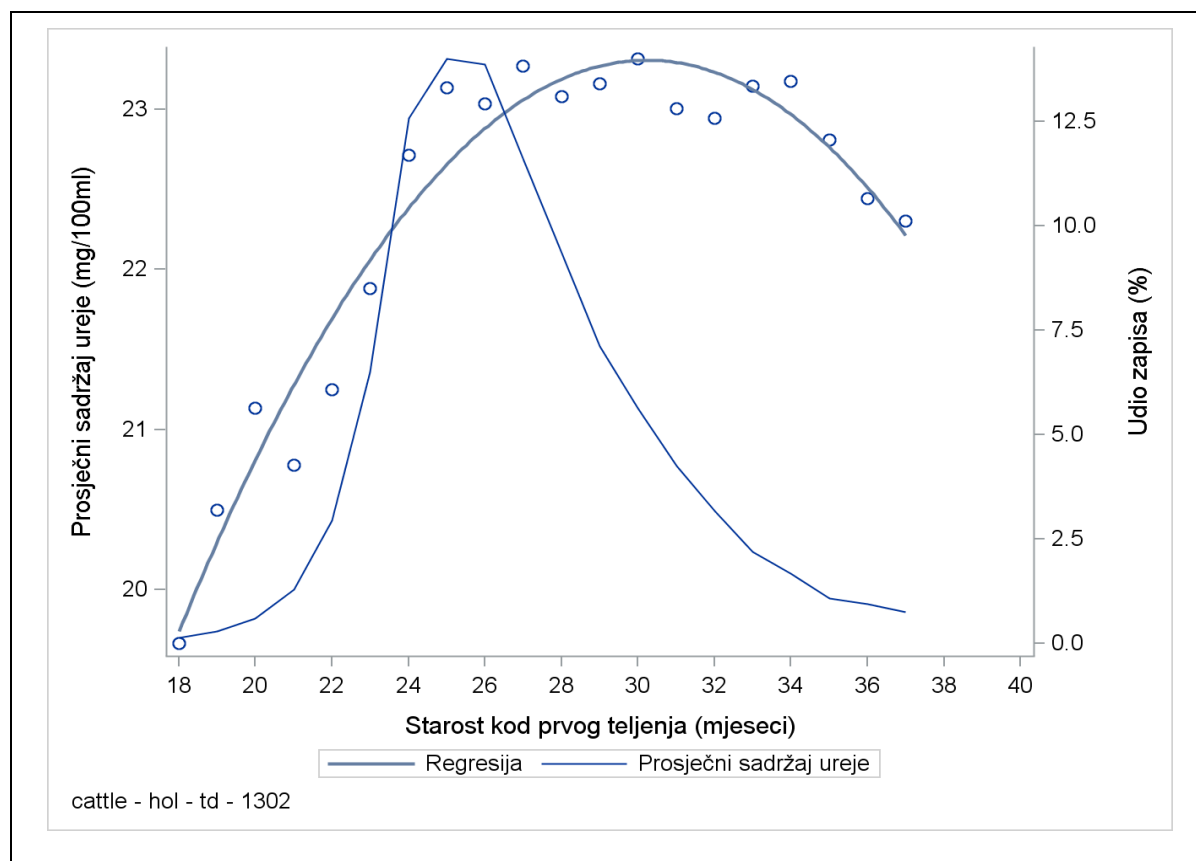
S daljnjim porastom laktacije dolazi do daljnjeg opadanja sadržaja ureje u mlijeku. Na početku četvrte laktacije minimalni sadržaj ureje iznosio je 20,1 mg/100 ml, nakon kojega dolazi do porasta. Maksimalna vrijednost sadržaja ureje postignuta je nešto kasnije u usporedbi s prethodnim laktacijama i to oko 200. dana laktacije.

Promjena sadržaja ureje sličnog je tijeka kao i u trećoj laktaciji, ali s manjim koncentracijama. Sadržaj ureje u mlijeku opada s daljnjim povećanjem rednog broja laktacije. U petoj, šestoj i sedmoj laktaciji promjene sadržaja ureje prilično su ujednačene, kao i izmjerene vrijednosti.

Od svih promatranih laktacija, u sedmoj laktaciji izmjeren je i najmanji sadržaj ureje u mlijeku, odmah nakon teljenja (19,0 mg/100 ml). Maksimum sadržaja ureje postignut je oko 250. dana laktacije (oko 21,5 mg/100 ml), nakon čega ovaj sadržaj postepeno opada do vrijednosti od 20,6 mg/100 ml na kraju sedme laktacije.

Dob kod prvog teljenja opisana je kvadratnom regresijom (Grafikon 29.). Iz grafikona je vidljivo da su krave prilikom prvog teljenja imale dob između 18 i 38 mjeseci, što ukazuje na neke od nedostataka u samom procesu vođenja farme i time direktno utječe na daljnje proizvodne parametre. Ukoliko promatramo dobivene vrijednosti sadržaja ureje vidljivo je da je maksimum zabilježen kod holštajn krava koje su se telile u dobi od 24 do 26 mjeseca.

Dobiven sadržaj ureje u mlijeku za navedeno razdoblje iznosio je oko 23,2 mg/100 ml. Najniži sadržaj ureje (ispod 20 mg/100 ml) utvrđen je kod krava koje su se telile u dobi od 18 mjeseci.



Grafikon 29 Promjena sadržaja ureje sa starosti krave kod prvog teljenja

Kod krava koje su se telile u ranijoj dobi, a i kod krava koje su prilikom teljenja bile nešto starije, sadržaj ureje opada i sličan je kao kod krava koje su se telile između 20 i 22 mjeseca starosti. Kod navedenih skupina sadržaj ureje bio je ispod 20 mg/100 ml.

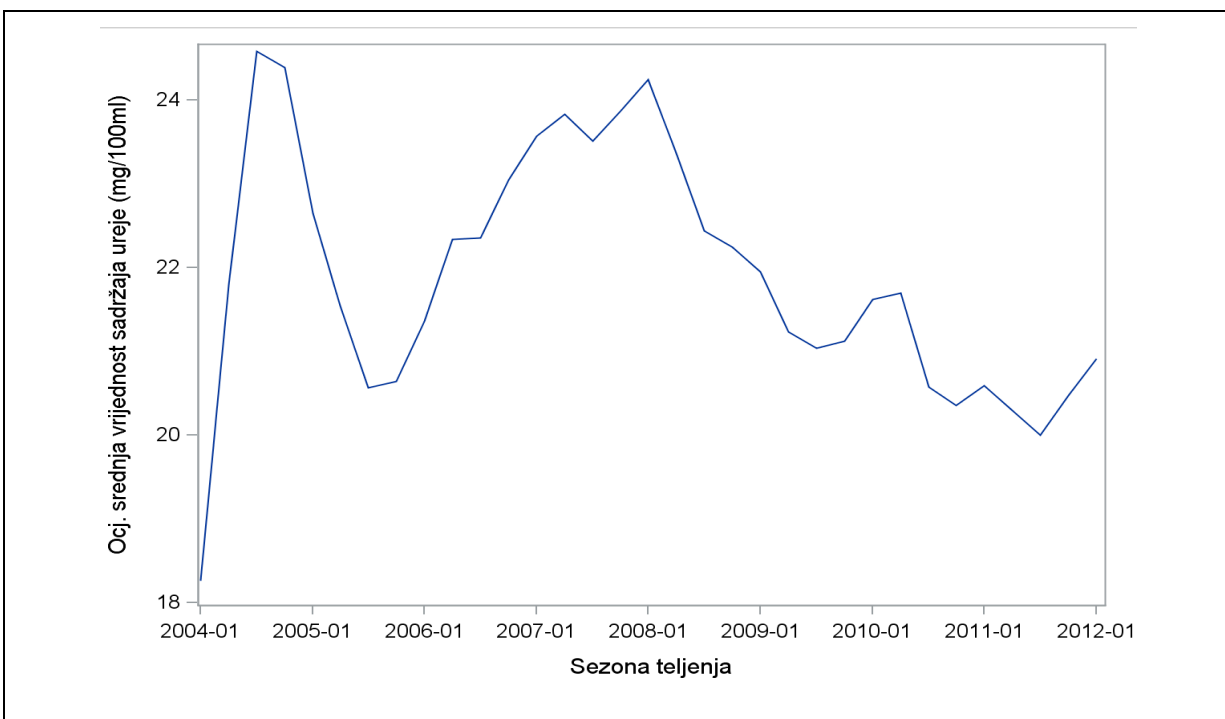
Sezona teljenja je slijedeći promatrani čimbenik koji je utjecao na promjenu sadržaja ureje. Određene sezone teljenja utječu na proizvodnju, odnosno poznato je da prilikom visokih temperatura dolazi do negativnog djelovanja na konzumaciju hrane.

Sezone teljenja podijeljene su na četiri razdoblja: zimska sezona (teljenja od prosinca do veljače), proljetna sezona (teljenja od ožujka do svibnja), ljetna sezona (teljenja od lipnja do kolovoza) i jesenska sezona (teljenja od rujna do studenog).

Dobiveni rezultati pokazuju na razlike sadržaja ureje u mlijeku kod krava Holstein pasmine od sezone do sezone. Predmetnim istraživanjem obuhvaćene su 33 sezone teljenja od 2004. do 2012. godine.

Tijekom 2004. godine zabilježene su najveće oscilacije sadržaja ureje. U zimskoj sezoni 2004. godine zabilježene su najmanje vrijednosti sadržaja ureje u mlijeku, dok je u jesenskoj sezoni iste godine izmjeren najveći sadržaj ureje u mlijeku i iznosio je preko 24 mg/100 ml.

Nakon toga dolazi do opadanja sadržaja ureje u mlijeku u jesenskoj sezoni 2005. godine, kada je zabilježeno 20,25 mg/100 ml. Ove razlike mogu biti posljedica različitih klimatskih prilika koje su vladale u 2005. godini.



Grafikon 30. Ocijenjena prosječna vrijednost sadržaja ureje po sezoni teljenja

U Grafikonu 30. uočljiv je nagli pad vrijednosti sadržaja ureje između jesenske sezone 2004. i zimske sezone 2005. godine. Nizak sadržaj ureje također je zabilježen u ljeto i jesen 2005., a zatim u zimskom razdoblju dolazi do blage stabilizacije.

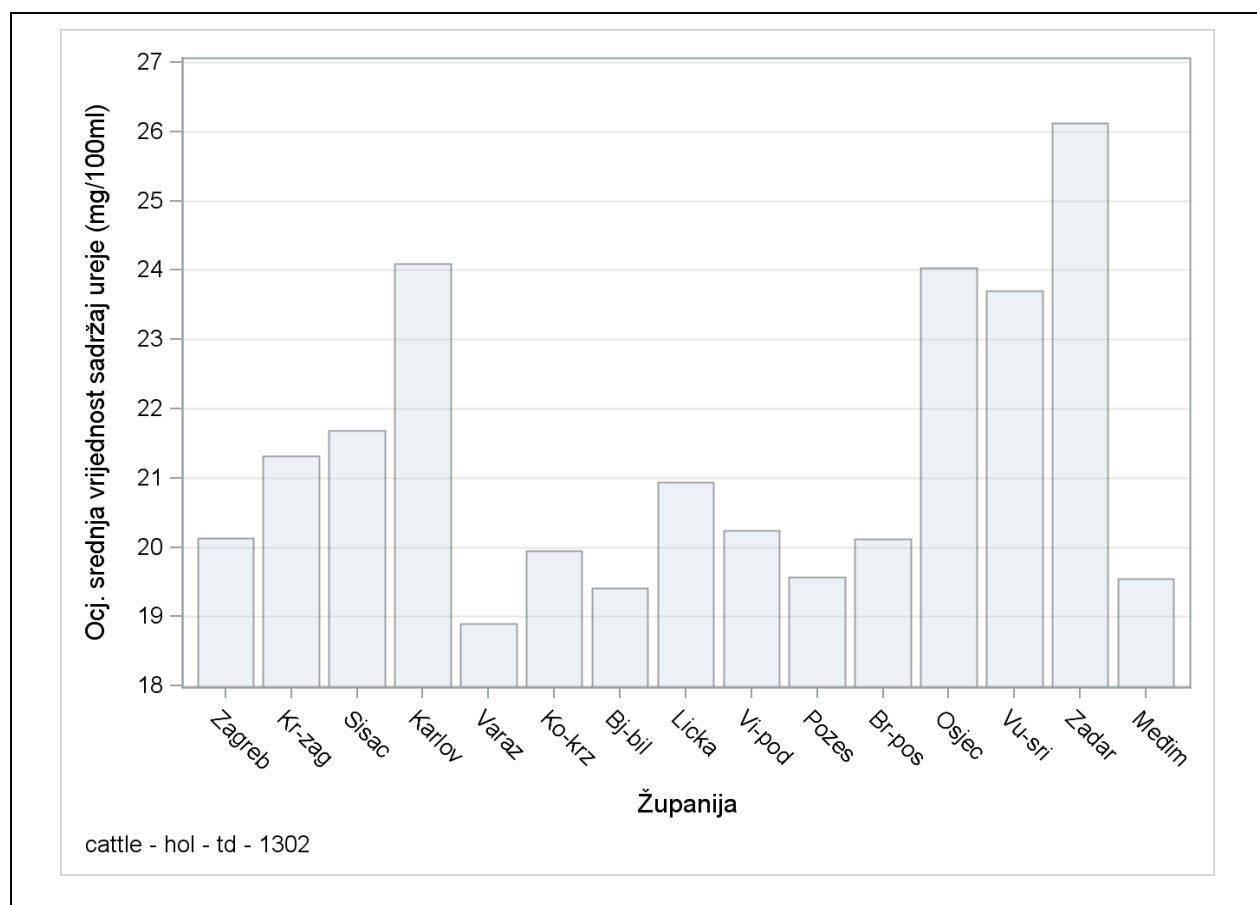
U ovom razdoblju zabilježene su visoke temperature tako da jedan od razloga ovog naglog smanjenja sadržaja ureje može biti upravo osjetljivost krava Holstein pasmine. Kod krava koje su telile tijekom 2006. vidljiv je nešto viši sadržaj ureje u mlijeku. Ovaj trend se nastavlja i dalje sve do kraja 2007. godine, uz blagi pad koji je zabilježen između ljetne i jesenske sezone.

Maksimalna vrijednost sadržaja ureje je zabilježena u zimskoj sezoni 2008. godine, a iznosila je 24 mg/100 ml. U narednim sezonama dolazi do opadanja sadržaja ureje u mlijeku. Najniže vrijednost sadržaja ureje u mlijeku u promatranom razdoblju izmjerene su tijekom ljeta 2011. godine, a iznosile su oko 20 mg/100 ml.

Utjecaj regije predstavlja zajedničko djelovanje geografskih i klimatskih utjecaja, ali i tradicijskih razlika između pojedinih regija. U Grafikonu 31. prikazane su prosječne vrijednosti sadržaja ureje u mlijeku po različitim regijama Republike Hrvatske.

U posljednjih nekoliko godina došlo je do povećanog uzgoja krava Holstein pasmine u različitim regijama. Utjecaj na proizvodnju mlijeka imaju i različiti pristupi pojedenih uzgajivača, jer je uočena različita educiranost u pogledu njihovog uzgoja.

Krave Holstein pasmine imaju i povećane zahtjeve za kvalitetnom krmom koju nije moguće proizvesti na različitim zemljišnim profilima. Županije se isto tako razlikuju i po broju i veličini farmi, a i opremljenosti istih.



Grafikon 31. Ocijenjena prosječna vrijednost sadržaja ureje po regiji

Najveće vrijednosti sadržaja ureje izmjerene su u Zadarskoj županiji, preko 26 mg/100 ml.

Najmanja prosječna vrijednost izmjerena je u Varaždinskoj županiji te je iznosila ispod 19 mg/100 ml. U Osječko–baranjskoj i Karlovačkoj županiji prosječne vrijednosti sadržaja ureje u mlijeku iznosile su oko 24 mg/100 ml. Zatim slijedi Vukovarsko–srijemska županija s vrijednošću sadržaja ureje oko 23,8 mg/100 ml.

Sve ostale županije imaju vrijednosti sadržaja ureje u mlijeku ispod 22 mg/100 ml. Vrijednosti sadržaja ureje oko 21 mg/100 ml izmjerene su u Krapinsko–zagorskoj i Sisačko–moslavačkoj županiji, dok je ova vrijednost neznatno ispod 21 mg/100 ml kod krava Holstein pasmine koje se drže u Ličko–senjskoj županiji.

Kod krava koji se uzgajaju u Zagrebačkoj, Koprivničko–križevačkoj, Virovitičko–podravskoj i Brodsko–posavskoj županiji vrijednosti sadržaja ureje u mlijeku kretale su se oko 20 mg/100 ml, a u Bjelovarsko–bilogorskoj, Požeškoj i Međimurskoj županiji zabilježene su prosječne vrijednosti ureje u mlijeku između 19 i 20 mg/100 ml.

3.3.2. Fenotipske korelacije

Fenotipske korelacije kao mjera povezanosti između svojstava omogućavaju da se određenom vjerojatnošću mogu predvidjeti vrijednosti jednog svojstva na osnovi saznanja o vrijednosti drugog. U predmetnom istraživanju izračunate su fenotipske korelacije između sadržaja ureje i promatranih osobina mliječnosti čije se vrijednosti prikupljaju tijekom redovite kontrole mliječnosti i nalaze u analiziranom setu podataka: dnevna količina mlijeka, dnevna količina i sadržaj masti i bjelančevina.

Kao što je vidljivo iz Tablice 10., dobivene vrijednosti fenotipskih korelacija bile su statistički značajne ($P < 0,0001$). Izračunate fenotipske korelacije između promatranih svojstava su niske, što ukazuje na činjenicu da s malom vjerojatnošću možemo predvidjeti na koji će se način mijenjati vrijednost promatranih osobina koje su korelirane sa sadržajem ureje.

Tablica 10. Fenotipske korelacije između sadržaja ureje i osobina mliječnosti

Svojstvo	<i>Mlijeko, kg</i>	<i>Mast, %</i>	<i>Mast, kg</i>	<i>Bjelančevine, %</i>	<i>Bjelančevine, kg</i>
Sadržaj ureje	0,15	-0,05	0,10	0,03	0,16

Pozitivna i niska fenotipska korelacija (0,15) utvrđena je između sadržaja ureje i dnevne količine mlijeka. Pozitivne vrijednosti koeficijenta korelacije utvrđene su i između sadržaja ureje i dnevne količine masti (0,10) te između sadržaja ureje i količine bjelančevina (0,16).

Između sadržaja ureje i sadržaja mliječne masti koeficijent korelacije bio je nizak i negativan (-0,05), dok je između sadržaja ureje i sadržaja bjelančevina on bio nizak i pozitivan (-0,03).

3.3.3. Komponente varijance

Komponente varijance za sadržaj ureje procijenjene su u VCE-6 programskom paketu (Kovač i sur., 2002.), koristeći REML metodu. Temeljem literaturnih navoda, testirani su slijedeći utjecaji u slučajnom dijelu modela s fiksnom regresijom: aditivni genetski utjecaj, usporediva skupina (stado, interakcija stado i godina testiranja, interakcija stado i dan kontrole) i permanentni utjecaj okoliša.

Kao što je vidljivo iz Tablice 11., testirani modeli razlikovali su se u definiciji usporedive skupine. Najniža vrijednost heritabiliteta (0,03) ocijenjena je modelom gdje je utjecaj stada korišten kao usporediva skupina.

U drugom i trećem modelu gdje je kao usporediva skupina korištena interakcija stado i godina testiranja, ocijenjene su više vrijednosti heritabiliteta (0,04 i 0,05) u odnosu na prethodni model. Treći se model razlikovao od drugoga u tome što nije uključivao permanentni utjecaj okoliša.

Četvrtim modelom, koji uključuje i utjecaj stada i interakciju stado i kontrolni dan kao usporedivu skupinu, ocijenjena vrijednost heritabiliteta iznosila je 0,06. Najviša vrijednost

heritabiliteta (0,08) ocijenjena je petim modelom, gdje je kao usporediva skupina korištena interakcija između stada i kontrolnog dana.

Tablica 11 Procjena komponenti varijance za svojstvo sadržaj ureje koristeći različite modele

Model	Utjecaji	h^2	p^2	c_h^2	c_{hy}^2	c_{hd}^2	e^2
1	$a + c_h + p + e$	$0,03 \pm 0,001$	$0,09 \pm 0,001$	$0,25 \pm 0,004$	/	/	$0,63 \pm 0,003$
2	$a + c_{hy} + p + e$	$0,04 \pm 0,001$	$0,01 \pm 0,002$	/	$0,34 \pm 0,001$	/	$0,61 \pm 0,002$
3	$a + c_{hy} + e$	$0,05 \pm 0,002$			$0,33 \pm 0,002$	/	$0,62 \pm 0,001$
4	$a + c_h + c_{hd} + e$	$0,06 \pm 0,001$		$0,19 \pm 0,003$		$0,53 \pm 0,003$	$0,22 \pm 0,001$
5	$a + c_{hd} + e$	$0,08 \pm 0,001$	/	/	/	$0,67 \pm 0,001$	$0,25 \pm 0,001$

h^2 – heritabilitet, p^2 – udio permanentnog okoliša, c_h^2 – udio za stado, c_{hy}^2 – udio za stado-godina testiranja, c_{hd}^2 – udio za stado-kontrolni dan, e^2 – ostatak (neprotumačeni dio)

Permanentni utjecaj okoliša uključen u prvi i drugi model pojasnio je mali udio varijabilnosti (1% i 9%). Iz tog razloga nije bio uključen u ostale modele. Stado kao usporediva skupina pojasnio je najmanji udio varijabilnosti (25% i 19%) u usporedbi s interakcijom stado i godina kontrole (33% i 34%) i utjecajem definiranim kao interakcija stada i dan kontrole (53% i 67%).

Neprotumačeni dio varijabilnosti bio je najveći u modelima gdje je stado korišteno kao usporediva skupina (63% i 61%). U modelima gdje je korištena interakcija stado i kontrolni dan ovaj je udio bio najmanji (22% i 25%).

3.3.4. Procjena uzgojnih vrijednosti

Za izračun uzgojnih vrijednosti korišten je peti model. Ovim modelom ocijenjena je najviša vrijednost heritabiliteta uz nizak udio neprotumačene varijabilnosti. Procijenjene uzgojne vrijednosti bile su u rasponu od -6,42 mg/100 ml do 13,31 mg/100 ml (Tablica 12.). Ovaj je raspon bio uži za bikove nego za krave s obzirom da bikovi rezultate dobivaju temeljem većeg broja potomaka, u usporedbi s kravama.

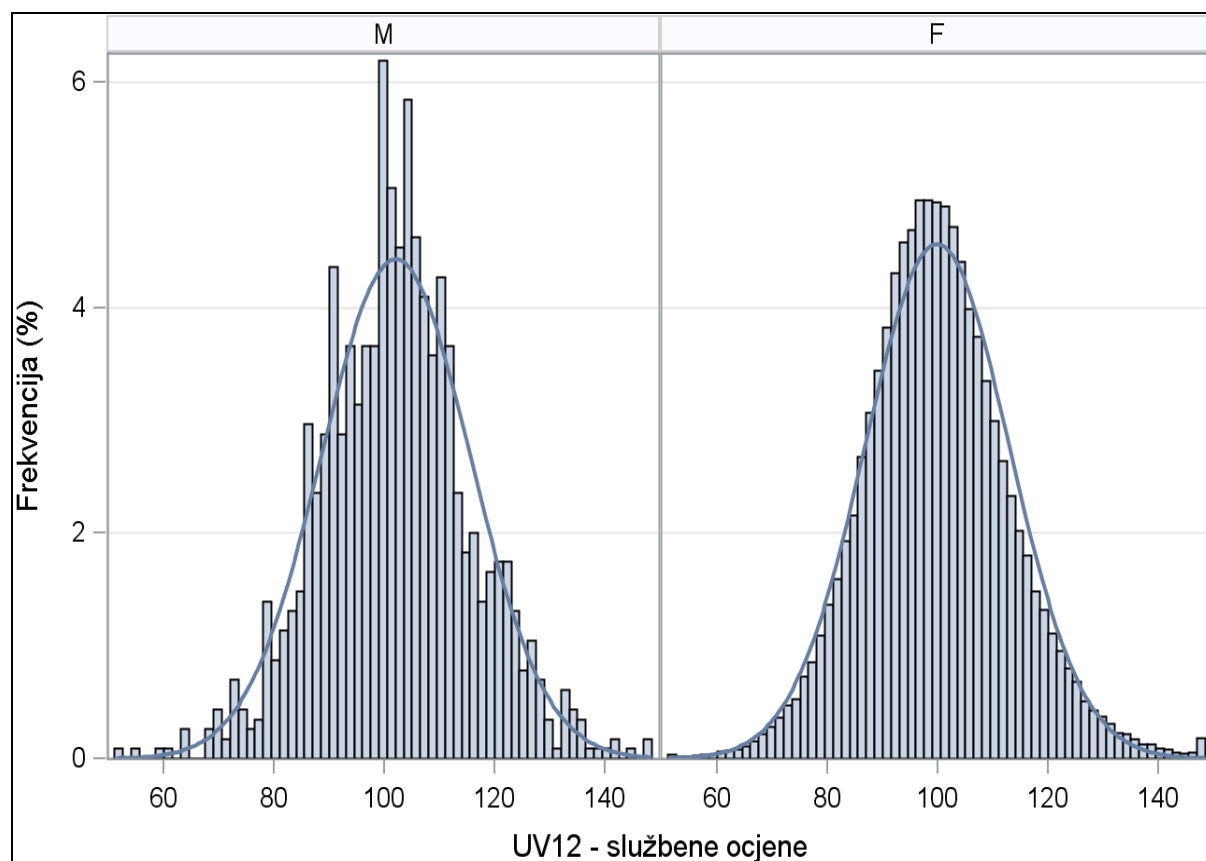
Tablica 12 Opisna statistika apsolutnih i standardiziranih uzgojnih vrijednosti i točnosti ocjene za svojstvo sadržaj ureje

Opisna statistika - službene ocjene		M	F	Sum
Uzgojna vrijednost	Broj (N)	1.146	108.726	109.872
	Prosjek	0,34	0,13	0,13
	Std	1,35	1,31	1,31
	Min	-4,98	-6,42	-6,42
	Max	5,76	13,31	13,31
Standardizirana uzgojna vrijednost	Broj (N)	1.146	108.726	109.872
	Prosjek	100,03	99,86	99,88
	Std	12,01	12,10	12,11
	Min	64,19	64,05	64,05
	Max	147,90	147,99	147,99
Točnost	Broj (N)	1.146	108.726	109.872
	Prosjek	0,71	0,55	0,55
	Std	0,15	0,11	0,11
	Min	0,50	0,35	0,35
	Max	1,00	0,84	1,00

Standardizacija uzgojnih vrijednosti postupak je kojim se uzgojne vrijednosti zbog lakšeg razumijevanja i tumačenja za publiciranje, standardiziraju na određeni prosjek i standardnu devijaciju.

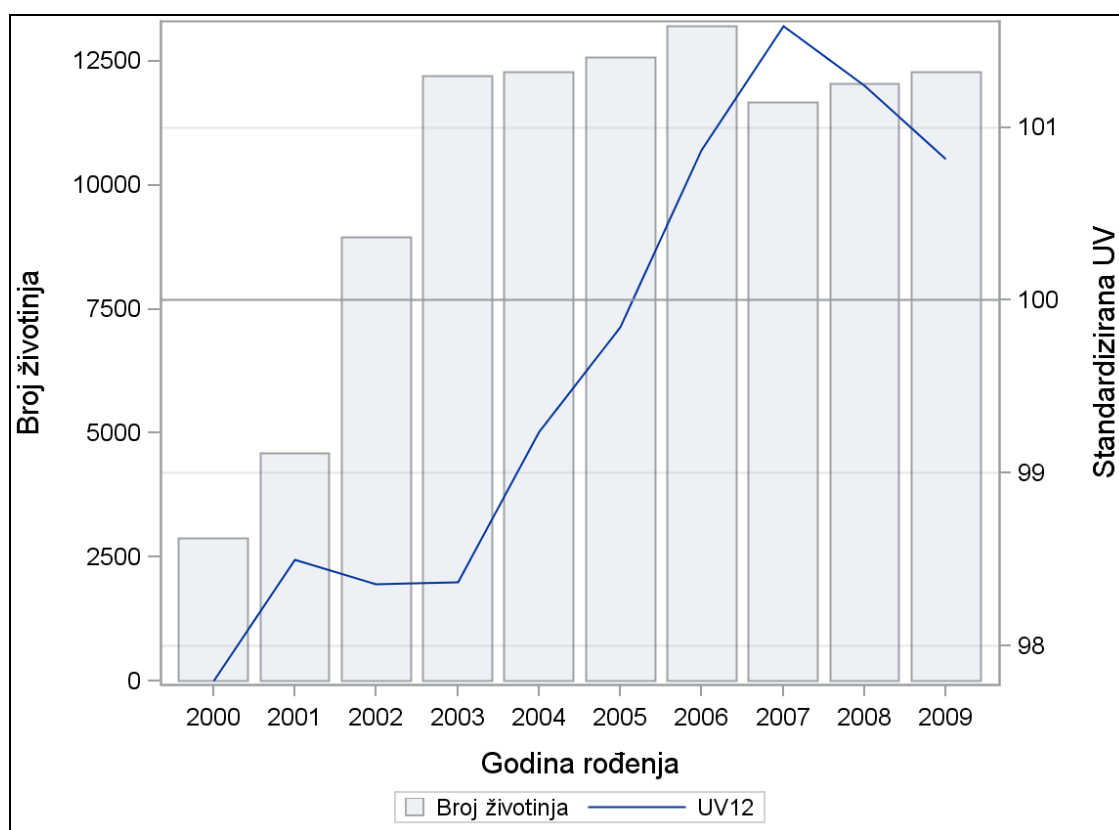
Na području srednje Europe uzgojne se vrijednosti standardiziraju na srednju vrijednost 100, dok odstupanje za jednu standardnu devijaciju iznosi ± 12 bodova. Kao što je vidljivo iz Tablice 10. i Grafikona 18., uzgojne su vrijednosti normalno distribuirane u rasponu od 64 do 148 (-3 tri standardne devijacije i +4 standardne devijacije).

Najveći je udio uzgojnih vrijednosti bikova oko prosjeka zbog činjenice da veliki udio bikova ima mali broj potomaka, odnosno kćeri. S obzirom da krave u svakoj populaciji čine većinski dio (98% u predmetnom istraživanju, Grafikon 32.), distribucija je bez većih odstupanja od normalne krivulje. U Tablici 9. prikazane su samo službene uzgojne vrijednosti. Kao kriterij službenosti koristi se pouzdanost procjene uzgojne vrijednosti od 50%.



Grafikon 32 Distribucija standardiziranih uzgojnih vrijednosti za svojstvo sadržaj ureje po spolu

Genetski trend (Grafikon 33.) za svojstvo sadržaja ureje izračunat je kao linearna regresija uzgojnih vrijednosti životinja po godini rođenja. Pozitivan genetski trend uočen je u razdoblju od 2000. do 2007. godine. U zadnje dvije godine promatranog razdoblja došlo je do pada prosječnih uzgojnih vrijednosti.



Grafikon 33. Genetski trend za svojstvo sadržaja ureje

4. RASPRAVA

Varijabilnost sadržaja ureje u mlijeku uvjetovana je genetskim i okolišnim čimbenicima. Do sada u Republici Hrvatskoj nisu bila provedena istraživanja koja bi analizirala ove čimbenike i dala određene preporuke za njihovo daljnje vrednovanje. U predmetnom istraživanju provedena je analiza različitih čimbenika koji utječu na varijabilnost sadržaja ureje te je razvijen model za genetsko vrednovanje ovog svojstva. Ono će biti osnova odabira superiornijih životinja budućih generacija za sadržaj ureje, što će sigurno pridonijeti i smanjenju troškova farmi. Naime, temeljem procijenjenih uzgojnih vrijednosti moguće je dati preporuke za odabir određenih linija očeva, čime će se utjecati na smanjenje sadržaja ureje u mlijeku.

Cilj ove disertacije bio je izračun okolišnih i genetskih parametara za sadržaj ureje u mlijeku holštajn pasmine goveda, koji su osnova za genetsko vrednovanje ovog svojstva. Njihovom izračunu prethodio je razvoj modela, odnosno odabir čimbenika koji su utjecali na varijabilnost sadržaja ureje u mlijeku.

Odabir modela koji je korišten za izračun komponenti varijance i procjenu uzgojnih vrijednosti proveden je odabirom utjecaja u fiksnom te u slučajnom dijelu modela koji su signifikantno utjecali na varijabilnost sadržaja ureje.

Odabir utjecaja proveden je temeljem modela koji koristi podatke mliječnosti na kontrolni dan u kojem je laktacija definirana kao ponovljivo mjerenje, dok je stadij laktacije opisan u fiksnom dijelu modela. Razvoj fiksnog dijela modela i definiranje utjecaja temeljeno je na koeficijentu determinacije (R^2), stupnju slobode (df) i udjelu varijabilnosti pojašnjene pojedinim utjecajem. U odabrani model uključeni su slijedeći fiksni utjecaji s razredima: redni broj laktacije, županija i sezona teljenja definirana kao interakcija između godine i tri uzastopna mjeseca teljenja.

Utjecaj dobi pri prvom teljenju opisan je kvadratnom regresijom, a stadij laktacije modeliran je Ali-Schaefferovom laktacijskom krivuljom ugniježđenom unutar rednog broja laktacije. Za fiksne utjecaje ocjenjene su srednje vrijednosti. Korištenim modelom pojašnjeno je 6,8% varijabilnosti za svojstvo sadržaja ureje. U slučajni dio modela je, pored aditivnog

genetskog utjecaja, bila uključena i interakcija stada i kontrolnog dana. Također su izračunate i fenotipske korelacije između sadržaja ureje u mlijeku i drugih svojstava mliječnosti.

Tijekom pripreme podataka iz daljnje analize izlučeni su oni zapisi koji se nalaze izvan logičnih vrijednosti za analizirano svojstvo, kao i za testirane čimbenike. Prilikom testiranja i obrade podataka uočeno je da ukupan broj krava, a posljedično i broj dnevnih kontrola, opada s porastom rednog broja laktacije. Ovaj trend je posebno izražen nakon trećeg teljenja. Kao jedan od mogućih razloga je smanjeni životni vijek i povećanje problema povezanih s reproduktivnim parametrima uslijed visoke produktivnosti. Zbog intenzivnih uvjeta proizvodnje, Holstein krave imaju slabiju otpornost organizma te se ranije izlučuju iz proizvodnje, u usporedbi s kravama simentalске pasmine. Sličan je trend i u svim razvijenim zemljama koje ulažu u proizvodnju mlijeka.

Broj zapisa dnevnih kontrola razlikovao se po rednom broju laktacije. Kao što je bilo i za očekivati, najveći je broj dnevnih kontrola evidentiran u prvoj laktaciji. Zapisi od sedme do desete laktacije združeni su u zajednički razred (7+) zbog malog broja zapisa. Iz dobivenih podataka vidljiv je trend ravnomjernog opadanja broja kontrola po laktacijama. Najveći broj dnevnih kontrola (40%), odnosno više od jedne trećine, potječe iz prve laktacije. Ovo govori o vrlo kratkom proizvodnom vijeku krava, koji je uvjetovan povećanim intenzitetom korištenja u proizvodnji mlijeka. Kao potpora toj činjenici govori i podatak da se skoro 90% svih kontrola holštajn pasmine nalazi unutar prve tri laktacije. Nakon treće laktacije zabilježen je značajni pad broja kontrola, kao posljedica slabije dugovječnosti krava, gdje zbog visoke proizvodnje mlijeka i reproduktivnih problema dolazi do smanjene otpornosti krava i njihovog ranijeg izlučenja iz daljnjeg držanja.

Dob krava kod teljenja izračunata je kao razlika u mjesecima između datuma teljenja i datuma rođenja krave. Kod prvotelki taj se raspon kod teljenja kretao između 18 i 37 mjeseci. Za krave u drugoj laktaciji interval je bio u rasponu od 32–58 mjeseci, za krave u trećoj laktaciji od 44–76 mjeseci, dok se za 4. laktaciju interval kretao od 56–88 mjeseci.

Za krave u kasnijim laktacijama, što je bilo i za očekivati, evidentiran je širi raspon dobi kod teljenja. Kasnije laktacije znače širi raspon dobi kod teljenja. To se prvenstveno odnosi na krave u razredu 7+ s obzirom da on obuhvaća krave od sedme do desete laktacije.

Stadij laktacije opisan je Ali-Schaefferovom funkcijom ugniježđenom unutar rednog broja laktacije (Ali i Schaefer, 1987.). Vidljivo je da se sadržaj ureje mijenja tijekom laktacije te je karakterističan blagi pad koncentracije u prvim danima laktacije, odnosno za vrijeme trajanja kolostralnog razdoblja, na što utječe i sam sastav mlijeka. Nakon ovoga početnog smanjenja dolazi do povećanja sadržaja ureje u mlijeku po rednom broju laktacije. Ovisno o stadiju razlikuje se i izgled krivulje. Krivulje se razlikuju većinom u visini, ali su vrlo sličnog oblika. Ovi podaci sukladni su s navodima da sadržaj ureje u mlijeku varira s obzirom na stadij laktacije (Oltner i Witkorsson, 1983.; Oltner i sur., 1985.; Carlson i sur., 1995.; Moore i Varga, 1996.; Godden i sur., 2001.a; Rajala-Schultz i Saville, 2003.). Prema navedenim autorima, koncentracija ureje u mlijeku najniža je tijekom rane laktacije (prvih 30 dana).

To se podudara i s vrijednostima u našem istraživanju jer je u prvih desetak dana došlo do pada ureje i najmanji prosječan rezultat iznosio je 20,9 mg/100 ml. Ovakav niži sadržaj ureje u mlijeku može biti povezan sa smanjenom mogućnošću konzumacije suhe tvari u razdoblju neposredno nakon teljenja i naglim porastom mliječnosti, osobito u visoko mliječnih krava. To su u svom radu potvrdili Carlsson i sur. (1995). U početnom stadiju laktacije, odnosno u prvih 60 dana, evidentna je nedostatna opskrba energijom (Gantner i sur., 2006.).

Najveći sadržaj ureje u mlijeku zabilježen je u prvoj laktaciji, u razdoblju između 110 i 140 dana, kada se kretala oko 23,6 mg/100 ml. Ovo se poklapa s rezultatima u istraživanjima Carlssona i sur. (1995.) te Arunvipasa i sur. (2003.), koji su ustanovili da koncentracija ureje u mlijeku doseže najvišu vrijednost između 3. i 6. mjeseca laktacije. Na kraju prve laktacije prosječni sadržaj ureje u mlijeku iznosio je oko 21,6 mg/100 ml. Drugu laktaciju karakterizira nešto veći sadržaj ureje, u razdoblju odmah nakon teljenja i zabilježene su najviše vrijednosti od svih praćenih stadija, 21,5 mg/100 ml. Izgled ove krivulje poklapa se s krivuljom iz prve laktacije, ali s nešto nižim sadržajima oko 23,4 mg/100 ml. Nakon 230 dana dolazi do blagog smanjenja sadržaja ureje, manjeg nego u prvoj laktaciji, što za ishod ima veći sadržaj na kraju laktacije u iznosu od 22,7 mg/100 ml. U trećoj laktaciji dolazi do nastavka opadanja sadržaja ureje u mlijeku u prvim danima (20,7 mg/100 ml), u odnosu na prve dvije laktacije.

Tijek krivulje prati izgled krivulje u drugoj laktaciji, ali s pomicanjem maksimuma za razdoblje između 150 i 200 dana. Ovo se podudara s istraživanjima Carlsona i sur. (1995.) te Goddena i sur. (2001.a), koji su kao zaključak istakli da dolazi do značajne interakcije između

redoslijeda i stadija laktacije. Isti autori navode da je pad sadržaja ureje u mlijeku tijekom kasne laktacije znatno veći u krava drugog ili višeg reda laktacije, nego u krava u prvoj laktaciji. U kasnoj laktaciji, zbog smanjene proizvodnje mlijeka, dolazi do smanjenih potreba u obroku za bjelančevinama, jer su životinje zadovoljile svoje uzdržne potrebe.

Ovo ukazuje na činjenicu da su nehranidbeni čimbenici od minorne važnosti za objašnjenje povezanosti između stadija laktacije i sadržaja ureje u mlijeku (Schepers i Meijer, 1998.). Wood i sur. (2003.) navode da je za krave u prve tri laktacije kretanje sadržaja ureje u mlijeku obrnutog kretanja laktacijske proizvodnje mlijeka, s najvišim vrijednostima ureje na kraju laktacije.

S daljnjim porastom rednog broja laktacije trend se nastavlja i dolazi do opadanja sadržaja ureje u mlijeku. U četvrtoj laktaciji utvrđen je minimalni sadržaj ureje od 20,1 mg/100 ml, nakon čega dolazi do porasta.

Zabilježeno je daljnje pomicanje maksimuma laktacije u odnosu na 200. dan. Izgled krivulje sličan je krivulji iz treće laktacije, ali s manjim koncentracijama.

S daljnjim povećanjem rednog broja laktacije dolazi do daljnjeg opadanja sadržaja ureje u mlijeku. U petoj, šestoj i sedmoj laktaciji izgledi krivulja su prilično ujednačeni, kao i izmjerene vrijednosti. Određene razlike uočene su u sedmoj laktaciji, u kojoj je izmjeren i najmanji sadržaj ureje u mlijeku, odmah nakon teljenja (19,0 mg/100 ml). Maksimum koncentracije se dalje pomiče prema drugom dijelu trajanja laktacije (prema 250 danu).

Može se zaključiti kako postoji interakcija između stadija laktacije i sadržaja ureje u mlijeku. Sličan pozitivan odnos između stadija laktacije i sadržaja ureje u mlijeku navode i drugi autori (Ng-Kwai-Hang i sur., 1985.; DePeters i Cant, 1992.; Broderick i Clayton, 1997.; Giger i sur., 1997.; Hojman i sur., 2004.). Međutim, Hoffmann i Steinhofel (1990.), Faust i sur. (1997.) te Schepers i Meijer (1998.) nisu utvrdili značajnu povezanost između stadija laktacije i sadržaja ureje u mlijeku u identičnim uvjetima hranidbe pokusnih skupina krava obuhvaćenih istraživanjem. Isto tako Schepers i Meijer (1998.) nisu utvrdili varijacije sadržaja ureje u mlijeku u odnosu na stadij laktacije.

Dob pri prvom teljenju kretala se u dosta širokom rasponu. Granične vrijednosti su bile u intervalu od 18. do 37. mjeseci, što pokazuje neke od nedostataka u samom procesu vođenja farme i direktno može utjecati na daljnje proizvodne parametre. Ukoliko promatramo dobivene vrijednosti sadržaja ureje, vidljivo je da je maksimum zabilježen kod Holstein krava koje su oteljene u dobi od 24. do 26. mjeseca. Sadržaj ureje u mlijeku za navedeno razdoblje iznosio je 23,2 mg/100 ml. Najniži sadržaj ureje (ispod 20 mg/100 ml) zabilježen je kod krava koje su se telile u dobi od 18 mjeseci.

U istraživanju Wooda i sur. (2003.) nije ustanovljena povezanost sadržaja ureje s dobi pri prvom teljenju. Svakako je dobro da se prvo osjemenjivanje ne dogodi prerano, jer ono može uzrokovati probleme u daljnjem razvoju junice i kasnijoj proizvodnji mlijeka, te manju otpornost organizma na bolesti. Posebnu pozornost treba usmjeriti na dob junice i njenu tjelesnu masu, što treba biti glavni kriterij za određivanje termina prvog osjemenjivanja.

Sezona teljenja je slijedeći okolišni čimbenik koji utječe na varijabilnost sadržaja ureje. Određene klimatske sezone utječu na svojstva mliječnosti, odnosno, poznato je kako visoke temperature negativno djeluju na konzumaciju hrane. Sezona teljenja na svoj način utječe na razlike u sadržaju ureje u mlijeku. Dobiveni rezultati pokazuju različite sadržaje ureje u mlijeku krava Holstein pasmine ovisno o sezoni teljenja. Ovo se podudara s istraživanjima Rajala-Schultz i Saville (2003.), koji su utvrdili značajnu interakciju između godišnjeg doba i proizvodnje mlijeka u krava.

U predmetnom istraživanju najmanje vrijednosti sadržaja ureje u mlijeku zabilježene su u zimskoj sezoni 2004. godine. U jesenjoj sezoni iste godine izmjerena je najveća koncentracija ureje u mlijeku (preko 24 mg/100 ml). Nakon toga dolazi do značajnog opadanja sadržaja ureje u mlijeku u ljetnoj sezoni 2005., kada je zabilježeno 20,25 mg/100 ml. Do sličnih zaključaka došli su i Rajala-Schultz i Saville (2003.) uz konstataciju da su visoko proizvodna stada krava (kod kojih je proizvodnja iznad 10.000 kg mlijeka u laktaciji) imala nizak sadržaj ureje upravo tijekom ljetnih mjeseci zbog smanjene konzumacije suhe tvari, odnosno smanjene probave (unosa) bjelancevina iz krme zbog previsokih temperatura.

Ovo se podudara s našim rezultatima pri čemu su razlike najvjerojatnije posljedica različitih klimatskih prilika koje su vladale tijekom 2005. godine. Slična iskustva potvrđuju i Hojman i sur. (2004.) kod krava koje su držane cijele godine u staji i hranjene kompletnim

obrokom bez zelene (košene) trave. I u njivom istraživanju najmanje vrijednosti ureje utvrđene su upravo tijekom ljeta pa autori pretpostavljaju kako je utjecaj sezone na sadržaj ureje izravan. Budući da su krave Holstein pasmine dosta osjetljivije na utjecaj visoke temperature, odnosno jače reagiraju na klimatske promjene i to u obliku smanjenja konzumacije hrane, a samim time i na količinu proizvedenog mlijeka.

U godini teljenja 2006. zabilježen je porast sadržaja ureje u mlijeku, a ovaj trend je nastavljen sve do kraja 2007. godine (23,8 mg/100 ml). Maksimalna vrijednost sadržaja ureje zabilježena je zimskoj sezoni 2008. godine (24 mg/100 ml). Nakon ovoga vidljivo je da dolazi do opadanja sadržaja ureje u mlijeku u svim narednim sezonama. Najniža vrijednost sadržaja ureje u mlijeku (20 mg/100 ml) izmjerena je u sezoni 2011. (ljetno razdoblje). Ovo odstupa od istraživanja Konjačića i sur. (2010.) gdje je utvrđen značajan utjecaj sezone na udio ureje u mlijeku, a čija je koncentracija tijekom ljeta i jeseni bila viša nego zimi i u proljeće.

Utjecaj regije dosta je kompleksan čimbenik jer predstavlja zajedničko djelovanje geografskih i klimatskih utjecaja, ali i određenih tradicionalnih načina uzgoja koji se javljaju unutar pojedinih regija. U rezultatima su prikazane dobivene prosječne vrijednosti sadržaja ureje u mlijeku po različitim regijama Republike Hrvatske. Zbog teritorijalnog ustroja u Hrvatskoj regija predstavlja pojedinu županiju. U posljednjih nekoliko godina došlo je do povećanog uzgoja krava Holstein pasmine u pojedinim regijama.

Utjecaj na proizvodnju mlijeka imaju i različiti pristupi pojedinih uzgajivača jer je uočena različita educiranost u pogledu uzgoja krava. Krave Holstein pasmine imaju i povećane zahtjeve za kvalitetnom krmom koju nije moguće proizvesti na različitim zemljišnim profilima. Županije se isto tako razlikuju i po broju i veličini farmi, ali i opremljenosti istih. Najveće vrijednosti sadržaja ureje izmjerene su u Zadarskoj županiji, (preko 26 mg/100 ml), a uzrok ovako povećane vrijednosti može biti i u tome jer se u ovoj županiji nalaze samo dvije suvremene farme. U Osječko-baranjskoj i Karlovačkoj županiji izmjerene su prosječne vrijednosti sadržaja ureje u mlijeku od 24 mg/100 ml, slijedi je Vukovarsko-srijemska županija s 23,8 mg/100 ml. Sve ostale županije imaju daleko manje vrijednosti ureje u mlijeku (ispod 22 mg/100 ml). Najmaji prosječni udio ureje (ispod 19 mg/100 ml) izmjeren je u Varaždinskoj županiji.

Ocjena komponenti varijance prethodi procjeni uzgojnih vrijednosti. Pet ponovljivih modela (engl. test-day model) s dnevnim zapisima testirano je sa svrhom dobivanja optimalnih

vrijednosti heritabiliteta uz što manji udio neprotumačene varijabilnosti. Modeli su se međusobno razlikovali u definiciji usporedive skupine. Najniža vrijednost heritabiliteta (0,03) ocijenjena je modelom gdje je utjecaj stada korišten kao usporediva skupina. U modelima gdje je interakcija između stada i godina testiranja korištena kao usporediva skupina ocijenjene su više vrijednosti heritabiliteta (0,04 i 0,05) u odnosu na prethodni model. Treći se model razlikovao od drugog u tome što nije uključivao permanentni utjecaj okoliša.

Najviša vrijednost heritabiliteta (0,08) ocijenjena je modelom gdje je kao usporediva skupina korištena interakcija između stada i kontrolnog dana. Iz literature je poznato da su heritabiliteti za svojstvo sadržaja ureje u mlijeku iznose između 6% i 44% (Broderick i Clayton, 1997.; Wood i sur., 2003.; Gooden i sur., 2001.a; Stoop i sur., 2007.). Ove se procjenjene vrijednosti razlikuju između populacija uslijed strukture podataka, metoda izračuna i efektima korištenim u modelu. U svom radu Stoop i sur. (2007.) utvrdili su vrijednost heritabiliteta za sadržaj ureje 0,14. U predmetnom istraživanju udio varijabilnosti pojašnjen interakcijom stado-dan kontrole iznosio je 67%, dok je 25% varijabilnosti sadržaja ureje ostalo neprotumačeno.

U predmetnom istraživanju izračunate **fenotipske korelacije** između sadržaja ureje i osobina mliječnosti: dnevna količina mlijeka, dnevna količina i sadržaj masti i bjelančevina bile su statistički značajne ($P < 0,0001$). Pozitivna i niska fenotipska korelacija (0,15) utvrđena je između sadržaja ureje i dnevne količine mlijeka, između sadržaja ureje i dnevne količine masti (0,10), te između sadržaja ureje i količine bjelančevina (0,16). Između sadržaja ureje i sadržaja mliječne masti koeficijent korelacije bio je nizak i negativan (-0,05), dok je između sadržaja ureje i sadržaja bjelančevina on bio nizak i pozitivan (-0,03). Izračunate fenotipske korelacije između promatranih svojstava su niske, što ukazuje na činjenicu da s malom vjerojatnošću možemo predvidjeti na koji način će se mijenjati vrijednost promatranih osobina koje su korelirane sa sadržajem ureje. Broderick i Clayton (1997.) utvrdili su negativne fenotipske korelacije sadržaja ureje u mlijeku i količine mlijeka i postotka mliječne masti. U istraživanju Goddena i sur. (2001.a) također je utvrđena negativna korelacija (-0,05) između sadržaja ureje u mlijeku i proizvodnje mlijeka, ali i korelacija blizu nule (0,0001) za sadržaj mliječne masti. Količina i sadržaj bjelančevina bila je pozitivno korelirana (0,03 i 0,16) sa sadržajem ureje. Niske fenotipske korelacije između sadržaja ureje i sadržaja mliječne masti te između sadržaja ureje i količine mlijeka utvrdili su kod Holstein pasmine krava i Wenninger i Distl (1993.), Wood i sur. (2003.) te Mitchell i sur. (2005.).

Jedna od budućih aktivnosti je izračun genetskih korelacija između sadržaja ureje i osobina mliječnosti kako bi se utvrdilo vodi li selekcija na sadržaj ureje istovremeno do unaprijeđenja ili erozije ostalih osobina mliječnosti.

5. ZAKLJUČCI

Na temelju provedenog istraživanja mogu se izvesti slijedeći zaključci:

- Fiksni dio ponovljivog modela s dnevnim zapisima za ocjenu genetskih parametara i procjenu uzgojnih vrijednosti za svojstvo sadržaj uključuje slijedeće utjecaje: stadij laktacije koji je opisan Ali-Schaefferovom funkcijom ugniježđenom unutar rednog broja laktacije, utjecaj dobi pri prvom teljenju opisanog kvadratnom regresijom, te utjecaj regije i sezone teljenja korištene kao razrede fiksnih utjecaja. S korištenim modelom pojašnjeno je 6,8% varijabilnosti analiziranog svojstva.
- Slučajni dio modela sadrži direktni aditivni genetski utjecaj i interakciju stado-dan kontrole.
- Procijenjeni heritabilitet za sadržaj ureje iznosio je 0,08. Udio varijance ocijenjen utjecajem interakcije stado-dan kontrole iznosio je 0,67. Nepojašnjeno je ostalo 25% od ukupne varijabilnosti sadržaja ureje.
- Statistički značajni korelacijski koeficijenti ($P < 0,0001$) utvrđeni su između sadržaja ureje i osobina mliječnosti. Pozitivna i niska fenotipska korelacija (0,15) utvrđena je između sadržaja ureje i dnevne količine mlijeka. Pozitivne vrijednosti koeficijenta korelacije utvrđene su i između sadržaja ureje i dnevne količine masti (0,10), te sadržaja ureje i količine bjelančevina (0,16). Između sadržaja ureje i sadržaja mliječne masti koeficijent korelacije bio je nizak i negativan (-0,05), dok je između sadržaja ureje i sadržaja bjelančevina on bio nizak i pozitivan (-0,03).
- Rezultati predstavljeni u predmetnom istraživanju ukazuju da model s dnevnim zapisima i fiksnom regresijom može biti korišten za genetsko vrednovanje sadržaja ureje Holstein pasmine goveda u Hrvatskoj.
- Daljnja istraživanja trebala bi obuhvatiti razvoj modela koji bi uključio ostala svojstva mliječnosti kako bi se utvrdile genetske korelacije između svojstava i omogućio istovremeni genetski napredak više svojstava.

-
- Nadalje, potrebno je proučiti povezanost sadržaja ureje s ostalim svojstvima, a ponajprije s plodnošću i dugovječnošću krava.
 - Pravilan uzgojno–seleksijski rad i odabir bikova s najboljom uzgojnom vrijednošću za sadržaj ureje može rezultirati nižim sadržajem ureje u stadu te dovesti do mogućnosti za odabir onih životinja koje imaju veću koncentraciju bjelančevina, a koje su potrebne u proizvodnji sira. Isto tako može rezultirati smanjenjem troškova proizvodnje i povećanjem profitabilnosti stada, uz predviđanje emisije štetnih plinova u atmosferu iz stajnjaka kod mliječnih krava.

6. LITERATURA

1. Abdouli, H., Rekik, B., Haddad-Boubaker, A. (2008): Non-nutritional factors associated with milk urea concentrations under Mediterranean conditions. *World Journal of Agricultural Sciences* 4 (2): 183-188.
2. Ahn, B.S., Jeon, B.S., Kwon, E.G., Ajmal Khan, M., Kim, H.S., Ju, J.C., Kim, N.S. (2006): Estimation of genetic parameters for daily milk yield, somatic cell score, milk urea nitrogen, blood glucose and immunoglobulin in Holsteins. *Asian-Aust. Journal of Animal Science* 19(9): 1252–125.
3. Ali, T.E., Schaeffer, L. (1987): Accounting for covariances among test day milk yields in dairy cows. *Canadian Journal of Animal Science* 6: 637-644.
4. Arunvipas, P., Dohoo, I.R., Van Leeuwen, J.A., Keefe, G.P. (2003): The effect of non-nutritional factors on milk urea nitrogen in dairy cows in Prince Edward Island, Canada. *Journal of Veterinarian Medicine* 59: 83-93.
5. Babnik, D., Verbić, J., Podgoršek, P., Jeretina, J., Perpar, T., Logar, B., Sadar, M., Ivanović, B. (2004.): Priročnik za vodenje prehrane krav molznic ob pomoči rezultatov mlečne kontrole. Raziskave in študije 79, Kmetijski inštitut Slovenije, Ljubljana.
6. Baker, L.D., Ferguson, J.D., Chalupa, W. (1995): Responses in urea and true protein of milk to different protein feeding schemes for dairy cows. *Journal of Dairy Science* 78: 2424-2434.
7. Barton, B.A., Rosario, H.A., Andersson, G.W., Grindle, B.P., Carroll, D.J. (1996): Effects of dietary crude protein, breed, parity, and health status on the fertility of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 79: 2225–2236.
8. Belić, B., Cincović, M., Popović-Vranješ, A., Pejanović, R., Krajnović, M. (2011.): Metaboličke promjene i iskorištavanje metabolita kod krava u toplinskom stresu, *Mljekarstvo* 61: 309-318.
9. Blanchard, T., Ferguson, J., Love, L., Takeda, T., Henderson, B., Hasler, J., Chalupa, W. (1990): Effect of dietary crude-protein type on fertilization and embryo quality in dairy cattle. *American Journal of Veterinarian Research* 51: 905-908.
10. Biswajit, R., Brahma, B., Ghosh, S., Pankaj, P.K., Mandal, G. (2011): Evaluation of Milk Urea Concentration as Useful Indicator for Dairy Herd Management. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advance* 6(1): 1-19.

11. Broderick, G.A., Clayton, M.K. (1997): A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *Journal of Dairy Science* 80: 2964-2971.
12. Bruhn, J.C., Franke, A.A. (1977): Monthly variations in gross composition of California Herd Milk. *Journal of Dairy Science* 60: 696–700.
13. Buchberger, J. (1986.): Gefrierpunkt der Milch. Einflüsse von Melktechnik und Rasse. *Der Tierzüchter* 38(11): 248.-250.
14. Burgos, S.A., Fadel, J.G., De Peters, E.J. (2007): Prediction of ammonia emission from dairy cattle manure based on milk urea nitrogen: Relation of milk urea nitrogen to urine urea nitrogen excretion. *Journal of Dairy Science* 90: 5499-5508.
15. Burgos, S.A., Embertson, N.M., Zhao, Y., Mitloehner, F.M., De Peters, E.J., Fadel, G. (2010): Prediction of ammonia emission from dairy cattle manure based on milk urea nitrogen: Relation of milk urea nitrogen to ammonia emissions. *Journal of Dairy Science* 93: 2377-2386.
16. Butler, W.R., Calalman, J.J., Beam, S.W. (1996): Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *Journal of Animal Science* 74: 858–865.
17. Canfield, R.W., Sniffen, C.J., Butler, W.R. (1990): Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 73: 2342-2349.
18. Campanile, G., De Filippo, C., Di Palo, R., Taccone, W., Zicarelli, L. (1998): Influence of dietary protein on urea levels in blood and milk of buffalo cows. *Livestock Production Science* 55: 135-143.
19. Carlson, J., Bergstrom, J. (1994): The diurnal variation of urea in cow's milk and how milk fat content, storage and preservation affects analysis by a flow injection technique. *Acta Veterinaria Scandinavica* 35(1): 67-77.
20. Carlson, J., Pehrson, B. (1994): The influence of the dietary balance between energy and protein on milk urea concentration. *Acta Veterinaria Scandinavica* 35(2): 193-205.
21. Carlson, J., Bergstrom, J., Pehrson, B. (1995): Variations with breed, age, season, yield, stage of lactation, and herd in the concentration of urea in bulk milk and individual cow milk. *Acta Veterinaria Scandinavica* 36: 245-254.
22. Carroll, D.J., Barton, B.A., Anderson, G.W., Smith, R.D. (1988): Influence of protein intake and feeding strategy on reproductive performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 71: 3470-3481.
23. Cerbulis, J., Farrell, H.M. (1975) : Composition of the Milks of Dairy Cattle. II. Ash, Calcium, Magnesium, and Phosphorus, *Journal of Dairy Science* 59(4): 589-593.

-
24. Chládek, G. (2002): Blood plasma urea and its relationship with yield and composition of cows milk. *Medicine Veterinarian* 58: 871-873.
 25. Chládek, G., Máchal, L. (2004): Blood plasma urea concentration and its relationship with milk production parameters in Czech Pied cow. *Journal of Central European Agriculture* 5: 337-346.
 26. Cincović, M.R., Belić, B. (2009): Influence of thermal stress to milk production and quality in dairy cows. *Veterinary Journal of Republic of Srpska* 9(1): 53-56.
 27. Cincović, M.R., Belić, B., Stevančević, M., Lako, B., Toholj, B., Potkonjak, A. (2010): Diurnal variation of blood metabolite in dairy cows during heat stress. *Contemporary agriculture* 59(3-4): 300-305.
 28. Collard, B.L., Boettcher, P.J., Dekkers, J.C.M., Petitclerc, D., Schaeffer, L.R. (2000): Relationships between energy balance and health traits of dairy cattle in early lactation. *Journal of Dairy Science* 83: 2683–2690.
 29. Čuklić, D., Kalember, Đ. (2004.): Urea u mlijeku kao parametar hranidbe mliječnih krava. *Stočarstvo* 58: 3.-13.
 30. Čuklić, D., Vukobratović, M., Poljak, F., Tomše Đuranec, V., Pintiće, N., Jelen, T. (2009.): Korištenje kemijskih analiza u menadžmentu hranidbe mliječnih krava. *Krmiva* 51: 37-44.
 31. DeLorenzo, M.A., Wiggans, G.R. (1986): Factors for estimating daily milk yield, fat and protein from a single milking for herds milked twice a day. *Journal of Dairy Science* 69: 2386–2394.
 32. Peters, E.J., Ferguson, J.D. (1992): Nonprotein nitrogen and protein distribution in the milk of cows. *Journal of Dairy Science* 75: 3192-3209.
 33. DePeters, E.J., Cant, J.P. (1992): Nutritional factors influencing the nitrogen composition of bovine milk: a review. *Journal of Dairy Science*, 75: 1043–2070.
 34. Dhali, A. (2001): Studies on the effect of feeding management systems on blood and milk urea concentration in dairy cattle. Ph.D. Thesis, National Dairy Research Institute, Deemed University, Karnal, India,
 35. Dirksen, C. (1994.): Kontrolle von Stoffwechselstörungen bei milchkuehen and Hand von Milchparametern. XVII. World Buiatrics Congress, Bologna, 29.VIII.- 2.IX., Vol. 1. 35-45.
 36. Eicher, R.E. Bouchard, E., Tremblay, A. (1999a): Cow level sampling factors affecting analysis and interpretation of milk urea concentrations in 2 dairy herds. *Canadian Veterinarian Journal* 40(7): 487-92.

-
37. Eicher, R., Bouchard, E., Bigras-Poulin, M. (1999b): Factors affecting milk urea nitrogen and protein concentrations in Quebec dairy cows. *Previous Veterinarian Medicine*, 39: 53-63.
 38. Eicher, R. (2004): Evaluation of metabolic and nutritional situation in dairy herds: Diagnostic use of milk components. *Previous Veterinarian Medicine* 42: 59-65.
 39. Elrod, C.C., Butler, W. (1993): Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *Journal of Animal Science* 71: 694-701.
 40. Emery, R.S. (1988): Milk fat depression and influence of diet on milk composition. *Vet. Clin. North Am. Food Animal Practicum* 4: 289-305.
 41. Emanuelson, M., Ahlin, K.A., Wiktorsson, H. (1993): Longterm feeding of rapeseed meal and full-fat rapeseed of double low cultivars to dairy cows. *Livestock Productions Science* 33: 199-214.
 42. Faust, M.A., Kilmer, L.H., Funk, R. (1997): Effects of laboratories for milk urea nitrogen and other milk components. *Journal of Dairy Science* 80 (1): 206.
 43. Ferguson, J.D., N. Thomsen, N., Vecchiarelli, B., Beach, J. (1997): Comparison of BUN and MUN tested by different methods. *Journal of Dairy Science* 80(1): 161.
 44. Fraser, C.M. (1991): *The Merck Veterinary Manual*. 7th Edn., Merck and Co. Rahway, New Jersey, pp: 869-894.
 45. Gantner, V., Kuterovac, K., Jovanovac Sonja, Solić, D., Dakić, A. (2006.): Vrednovanje hranidbenog statusa mliječnih krava na osnovu sadržaja ureje u mlijeku. *Stočarstvo* 60(1): 41-45.
 46. Geerts, N.E., De Brabander, D.L., Vanacker, J.M., De Boever, J.L., Boterman, S.M. (2004): Milk urea concentration as affected by complete diet feeding and protein balance in the rumen of dairy cattle. *Livestock Productions Science* 85: 263-273.
 47. Giger R., Faissler, D., Busato, A., Blum, J., Kupfer, U. (1997): Blood parameters during early lactation and their relationship to ovarian function in dairy cows. *Reproductions of Domestic Animals* 32: 313-319.
 48. Godden, S.M. (1998): Evaluation of a milk urea assay, and the relationship between milk urea concentrations and nutritional management and performance in Ontario dairy herds. Doctoral (D.V.Sc.) Thesis. University of Guelph. Guelph, ON.
 49. Godden, S.M., Lissemore, K. D., Kelton, D. F., Leslie, K. E., Walton, J.S., Lumsden, J.H. (2001a): Factors associated with milk urea concentrations in Ontario dairy cows. *Journal of Dairy Science* 84: 107-114.
 50. Godden, S.M., Lissemore, K.D., Kelton, D.F., Leslie, K.E., Walton, J.S., Lumsden, J.H. (2001b): Relationship between milk urea concentration and nutritional management,

- production, and economic variables in Ontario dairy herd. *Journal of Dairy Science* 81: 2681-2692.
51. Golc, S., Penca, V. (1987.): Krioskopska točka mleka v povezavi z drugimi lastnostmi mleka. *Zbornik Biotehniške fakultete Univerze Edvarda Kardelja v Ljubljani. Kmetijstvo (Živinoreja), suplement*, 11: 333.-343.
52. Golc Teger, S., Lavrenčič, A., Grahelj, A. (2005.): Točka ledišta mlijeka visoko proizvodnih mliječnih krava. *Mljekarstvo* 55(2): 125-138.
53. Grbeša, D. (1993): Aktualnosti u hranidbi preživara. *Stočarstvo* 47: 233-243.
54. Groeneveld, E., Kovač, M., Wang, T. (1990): PEST, a general purpose BLUP package for multivariate prediction and estimation. In: 4th World Congress on genetic Applied to Livestock Production. Edinburg, 23-27 jun. 1990. The East of Scotland College of Agriculture: 488-491.
55. Guo, K., Russek-Cohen, E., Varner, M.A., Kohn, R.A. (2004): Effects of milk urea nitrogen and other factors on probability of conception of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 87: 1878-1885.
56. Gustafsson, A.H., Carlson, J. (1993): Effects of silage quality, protein evaluation systems and milk urea content on milk yield and reproduction in dairy cows. *Livestock Productions Science* 37: 91-105.
57. Gustafsson, A.H., Palmquist, D.L. (1993): Diurnal variation of rumen ammonia, serum urea, and milk urea in dairy cows at high and low yields. *Journal of Dairy Science* 76: 475-484.
58. Guyton, A.C. (1982): Formation of urine by the Kidney: Glomerular Filtration, Tubular Function and Plasma Clearance. In: *Human Physiology and Mechanisms of Disease*, Guyton, A.C., J.E. Hall and W. Schmitt (Eds.). 3rd Edn., W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA., pp. 247-292.
59. Hoffmann, V.M., Steinhofel, O. (1990): Possibilities and limitations for appraisal of energy and protein supply through monitoring of milk urea level. *Journal of Veterinarian Medicine* 45: 223-227.
60. Hojman, D., Kroll, D., Adin, G., Gips, M., Hanochi, B., Ezra, E. (2004): Relationships between milk urea and production, nutrition, and fertility traits in Israeli dairy herds. *Journal of Dairy Science* 87: 1001-1011.
61. Hrvatska poljoprivredna agencija (2013.): Godišnje izvješće za 2012. godinu. Zagreb
62. Hrvatski stočarski centar (2003.): 90. obljetnica organiziranog uzgojno-seleksijskog rada u stočarstvu Hrvatske. Zagreb.
63. <http://www.britannica.com/EBchecked/topic/409282/nephron> (04.1.2013.)

-
64. ICAR – International Committee for Animal Recording (2012): Guidelines approved by the General Assembly held in Cork, Ireland, June 2012.
65. Jenkins, T.C., McGuire, M.A. (2006): Major advances in nutrition: impact on milk composition. *Journal of Dairy Science*, 89: 1302-1310.
66. Jilek, F., Štipkova, M., Fiedlerova, M., Rehak, D., Volek, J., Nemcova, E. (2005): Differences in milk urea content in dependency on selected non-nutritive factors, 56th Annual Meeting of the EAAP, Uppsala, Sweden.
67. Johnson, R.G., Young, A.J. (2003): The association between milk urea nitrogen and DHI production variables in commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science* 86: 3008-3015.
68. Jonker, J.S., Kohn, R.A., Erdman, R.A. (1998): Using milk urea nitrogen to predict nitrogen excretion and utilization efficiency in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science* 81: 2681-2692.
69. Jonker, J.S., Kohn, R.A., Erdman, R.A. (1999): Milk urea nitrogen target concentrations for lactating dairy cows fed according to National Research Council recommendations. *Journal of Dairy Science* 82: 1261-1273.
70. Jonker, J.S., Kohn, R.A., High, J. (2002): Use of milk urea nitrogen to improve dairy cow diets. *Journal of Dairy Science* 85: 939-946.
71. Jordan, E.R., Chapman, T.E., Holtan, D.W., Swanson, L.V. (1983): Relationship dietary crude protein to composition of uterine secretions and blood in higher producing post partum dairy cows. *Journal of Dairy Science* 66: 1854-1862.
72. Jorritsma, R., Wensing, T., Kruip, T.A.M., Vos, P.L.A.M., Noordhuizen, J.P.T.M. (2003): Metabolic changes in early lactation and impaired reproductive performance in dairy cows. *Veterinarian Research* 34: 11-26.
73. Kauffman, J., St-Pierre, N.R. (2001): The relationship of milk urea nitrogen to urine nitrogen excretion in Holstein and Jersey cows. *Journal of Dairy Science* 84: 2284-2294.
74. Kampl, B., Martinčić, T. (1995.): Odnos razine mokraćevine u mlijeku i aktivnost fosfoenolpiruvat karboksinaze u citosolu jetrenih stanica u krava. *Veterinarski Arhiv* 65(2): 57.-62.
75. Kampl, B., Stolla, R. (1995.): Pokazatelji energetskog deficita mliječnih krava u mlijeku i njihovo korištenje u programu zdravstvene preventive i intenziviranja proizvodnje i reprodukcije. *Praksis veterina* 12(3): 189-197.
76. Kohn, R.A., Dou, Z., Ferguson, J.D., Boston, R.C. (1997): A sensitivity analysis of nitrogen losses from dairy farms. *Journal of Environmental Management* 50: 417–428.

-
77. Kohn, R.A., French, K.R., Russek-Cohen, E. (2004): A Comparison of Instruments and Laboratories Used to Measure Milk Urea Nitrogen in Bulk-Tank Milk Samples. *Journal of Dairy Science* 87: 1848-1853.
78. Kohn, R.A., Dinneen, M.M., Russek-Cohen, E (2005): Using blood urea nitrogen to predict nitrogen excretion and efficiency of nitrogen utilization in cattle, sheep, goats, horses, pigs, and rats. *Journal of Animal Science* 83: 879-889.
79. Konjačić, M., Kelava, N., Ivkić, Z., Ivanković, A., Prpić, Z., Vnučec, I., Ramljak, J., Mijić, P. (2010): Non-nutritional factors of milk urea concentration. *Mljekarstvo* 60(3): 166-174.
80. Kovač, M., Groeneveld, E., Garcia Cortes, L.A. (2002): VCE-5 User's a package forestimation of dispersion parameters. 7th WCGALP, Montpellier, France, 19-23 Aug. 2002.
81. Larson, S.F., Butler, W.R., Currie, W.B. (1997): Reduced fertility associated with low progesterone postbreeding and increased milk urea nitrogen in lactating cows. *Journal of Dairy Science* 80: 1280-1295.
82. LNV (2006): Manure policy 2006: System of utilization norms. Brochure 2006, Regulation Service, Ministry of Agriculture, Nature, and Food Quality, The Hague, the Netherlands.
83. Licata, E. (1985): Subclinical mastitis and urea determination in cows' milk. *Obiettivi e Doc-Vet* 6: 65-67.
84. Liu, Z., Reinhardt, F., Reents, R. (2000): Parameter estimates of a random regression test daymodel for first three lactation somatic cell scores bull. *Interbull Bulleetin* 26: 61-66.
85. Macleod, G.K., Grieve, D.G., McMillan, I., Smith, G.C. (1984): Effect of varying protein and energy densities in complete rations. *Journal of Dairy Science* 67: 1421-1429.
86. Marenjak, T.S., Poljičak-Milas, N., Stojević, Z. (2004.): Svrha određivanja koncentracije ureje u kravljem mlijeku. *Praxis veterinaria* 52(3): 233.-241.
87. Melendez, A., Donovan, A., Hernandez, J. (2000): Milk urea nitrogen and infertility in Florida Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 83: 459-463.
88. Merchen, N.R. (1993): Digestion, absorption, and excretion in ruminants. *The Ruminant Animal Digestive Physiology and Nutrition*, p.p. 172-201.
89. Miettinen, P.V., Juvonen, R.O. (1990): Diurnal variation of serum and milk urea levels in dairy cows. *Acta Agriculture Scandinavica* 40: 289-296.
90. Mitchell, R.G., Rogers, G.W., Dechow, C.D., Vallimont, J.E., Cooper, J.B., Sander-Nielsen, U., Clay, J.S. (2005): Milk urea nitrogen concentration: Heritability and genetic correlations with reproductive performance and disease. *Journal of Dairy Science* 88: 4434-4440.

-
91. Monteny, G.J., Erisman, J.W. (1998): Ammonia emissions from dairy cow buildings: A review of measurement techniques, influencing factors and possibilities for reduction. Netherlands. *Journal of Agriculture Science* 46: 225–247.
 92. Moore, D.A., Varga, G. (1996): BUN and MUN: urea nitrogen testing in dairy cattle. *Component of Continuous Education. Practise Veterinarian* 18: 712-720.
 93. Mucha S., Strandberg, E. (2011): Genetic analysis milk of urea nitrogen and relationships with yield and fertility across lactation. *Journal of Dairy Science* 94: 5665–5672.
 94. Muck, R. E., Steenhuis, T.S. (1980): N losses in free stall dairy barns. In *Livestock Waste: A Renewable Resource. Proceedings 4th International Symposium on Livestock Wastes.* ASAE, St. Joseph, MI, p.p. 406–409.
 95. Nelson, A.J. (1995): Practical application of MUN analysis. In *Proc. 4th Annual NE Dairy Productions Medicine Symposium.* Syracuse, New York, p.p. 35–45.
 96. Ng-Kwai-Hang, K.F., Hayes, J.F., Moxley, J.E., Monardes, H.G. (1985): Percentages of protein and non-protein nitrogen with varying fat and somatic cells in bovine milk. *Journal of Dairy Science* 68: 1257–1262.
 97. NRC (2003): *Air Emissions from Animal Feeding Operations: Current Knowledge, Future Needs.* National Academic Press, Washington, DC.
 98. Oltner, R., Wikorsson, H. (1985): Urea concentrations in milk and blood as influenced by varying amounts of protein and energy to dairy cows. *Livestock Productions Science* 67: 1090-1114.
 99. Oltner, R., Emanuelson, M., Witkorsson, H. (1985): Urea concentration in cows milk in relation to milk yield, live weight, lactation number and composition of feed given. *Livestock Productions Science* 12: 45-57.
 100. Orozco-Hernandez, J.R., Brisson, G.J. (1995): Juice extracted grass pellets and sodium Bicarbonate for cows fed timothy silage of two chop lengths. *Journal of Dairy Science* 78: 2415-2423.
 101. Peterson, R.G., Waldern, D.E. (1981): Repeatabilities of serum constituents in Holstein-Friesians affected by feeding, age, lactation, and pregnancy. *Journal of Dairy Science* 64: 822–831.
 102. Pintiće, N., Poljak, F., Dakić, A., Blažek, D., Jelen, T., Pintiće, V. (2007.): Kvantitativni pokazatelji kakvoće mlijeka i hranidbeni status krava simentalke i holstein pasmine Potkalničkog kraja. *Krmiva* 49(2): 79.-88.

-
103. Rajala-Schultz, P.J., Saville, W.J.A., Frazer, G.S., Wittum, T.E. (2001): Association between milk urea nitrogen and fertility in Ohio dairy herds. *Journal of Dairy Science* 84: 482-489.
 104. Rajala-Schultz, P.J., Saville, W.J.A. (2003): Sources of variation in milk urea nitrogen in Ohio dairy herds. *Journal of Dairy Science* 86: 1653-1661.
 105. Refsdal, A.O. (1983): Urea in bulk milk as compared to the herd mean of urea blood. *Acta Veterinaria Scandinavica* 24: 518-520.
 106. Rodriguez, L.A., Stallings, C.C., Herbein, J.H., McGilliard, M.L. (1997): Effect of degradability of dietary protein and fat on ruminal, blood, and milk components of Jersey and Holstein cows. *Journal of Dairy Science* 80: 353-363.
 107. Ropstad, E., Refsdal, A.O. (1987): Herd reproductive performance related to urea concentration in bulkmilk. *Acta Veterinaria Scandinavica* 28:55.
 108. 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.
 109. Rook, J.A.F., Thomas, P.C. (1985): Milk secretion and its nutritional regulation. Ch. 8 in *Nutritional Physiology of Farm Animals*. J. A. F. Rook and P. C. Thomas, ed. Longham Group, Ltd., London, England.
 110. Roseler, K.K. (1990): The role and economic impact of milk parameters to monitor intake protein in lactating dairy cattle. Masters Thesis, Cornell University, Ithaca, NY.
 111. Roseler, D.K., Ferguson, J.D., Sniffen, C.J., Herrema, J. (1993): Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk non-protein nitrogen in holstein cows. *Journal of Dairy Science* 76: 525.
 112. Sackett, D.L., Haynes, R.B., Guyatt, G.H., Tugwell, P. (1991): Clinical epidemiology. 2nd Editions. Little Brown and Company, Toronto, pp: 51-67.
 113. SAS, Inst. Inc 2001. Version 8.2. Cary,NC, SAS Institute Inc.
 114. Schepers, A.J., Meijer, R.G.M. (1998): Evaluation of the utilization of dietary nitrogen by dairy cows based on urea concentration in milk. *Journal of Dairy Science* 81: 579-584.
 115. Soriano, F.D., Polan, C.E., Miller, V.N. (2001): Supplementing pasture to lactating Holsteins fed a total mixed ration diet. *Journal of Dairy Science* 84: 2460-2468.
 116. 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. *Journal Therm. Biology* 29(7-8): 759-764.

-
117. Sprengel, D., Dodenhoff, K.U., Götz, J., Duda L. Dempfl. (2001): International Genetic Evaluation for milkability. *Interbull Bulletin* 27: 35-40.
 118. Stockham, S.L., Scott, M.A. (2002): *Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology*. 1st Edition., Iowa State University Press, Ames, IA., USA., pp: 433-519.
 119. Stoop, W.M., Bovenhuis, H., van Arendonk, J.A.M. (2007): Genetic parameters for milk urea nitrogen in relation to milk production traits. *Journal of Dairy Science* 90:1981–1986.
 120. Symonds, H.W, Mather, D.L., Collis, K.A. (1981): The maximum capacity of the liver of the adult dairy cow to metabolize ammonia. *British Journal of Nutrition* 46: 481–486.
 121. Swenson, M.J., Reece, W.O. (1993): Water Balance and Excretion. In: *Duke's Physiology of Domestic Animals*, Swenson, M.J. and W.O. Reece (Eds.). 11th Edn., Cornell University Press, Ithaca, New York, pp: 573-604.
 122. Špehar, M., Ivkić, Z., Gorjanc, G., Bulić, V., Barać, Z. (2010.): Razvoj sistematskog dijela test day modela za svojstvo broja somatskih stanica simentalke pasmine goveda. Zbornik sažetaka 45. hrvatskog i 5. međunarodnog simpozija agronoma, 15. do 19. veljače, Opatija.
 123. Trevaskis, L.M., Fulkerson, W. J. (1999): The relationship between various animal and management factors and milk urea, and its association with reproductive performance of dairy cows grazing pasture. *Livestock Production Science* 57: 255-265.
 124. Unuk, N. (2003.): Vsebnost sečnine v mleku. Lisasto govedo, Glasilo zveze društev rejcev govedi lisaste pasme Slovenije, ISSN 1580-3473, str. 7.-8.
 125. Vandehaar, M.J. (1998): Efficiency of nutrient use and relationship to profitability on dairy farms. *Journal of Dairy Science* 81: 272-282.
 126. Van Aardenne, J.A., Dentener, F.J., Klijn Goldewijk, C.G.M., Lelieveld, J., Olivier, J.G.J. (2001): A 1°–1° resolution dataset of historical anthropogenic trace gas emissions for the period 1890–1990. *Global Biogeochem. Cycles* 15: 909–920.
 127. Van Soest, P.J. (1994): *Nutritional Ecology of the Ruminant*. 2nd Edn., Cornell University, Ithaca, NY, USA.
 128. Verdi, R.J., Barbano, D.M., Dellavalle, M.E., Senyk, G.F. (1987): Variability in true protein, casein, non-protein nitrogen, and proteolysis in high and low somatic cell milks. *Journal of Dairy Science* 70: 230–242.
 129. Wenninger, A., Distl, O. (1993): Analysis of environmental and genetic influences on urea and acetone content of milk from German Simmental and German Brown. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* 100: 405–410.

-
130. Wittwer, F.G., Gallardo, P., Reyes, J., Opitz, H. (1999): Bulk milk urea concentrations and their relationship with cow fertility in grazing dairy herds in southern Chile. *Journal of Dairy Science* 38: 159-166.
 131. Wood, G.M., Boettcher, P.J., Jambrozik, J., Jansen, G.B., Kelton, D.F. (2003): Estimation of genetic parameters for concentrations of milk urea nitrogen. *Journal of Dairy Science* 86: 2462-2469.
 132. Yoon, J.T., Lee, J.H., Kim, C.K., Chung, Y.C., Kim, C.H. (2004): Effects of milk production, season, parity and lactation period on variations of milk urea nitrogen concentration and milk components of Holstein dairy cows. *Asian-Australian Journal of Animal Science* 17: 479-484.

7. SAŽETAK

Sadržaj ureje u mlijeku uvjetovan je kako genetskim tako i okolišnim čimbenicima. Do sada u Republici Hrvatskoj nisu bila provedena istraživanja koja bi analizirala ove čimbenike i dala određene preporuke za njihovo daljnje vrednovanje.

Ciljevi ovoga rada bili su utvrditi u kojoj mjeri okolišni čimbenici (redoslijed i stadij laktacije, starost kod prvog teljenja, sezona teljenja, regija i stado) imaju utjecaj na sadržaj ureje u mlijeku, te povezanost sadržaja ureje u mlijeku s ostalim svojstvima mliječnosti krava. Drugi cilj ove disertacije bio je izračun genetskih parametara za sadržaj ureje u mlijeku holštajn pasmine goveda koji su osnova za genetsko vrednovanje ovog svojstva. Njihovom izračunu prethodio je razvoj modela tj. odabir čimbenika koji su utjecali na varijabilnost sadržaja ureje u mlijeku. Odabir modela koji je korišten za izračun komponenti varijance i procjenu uzgojnih vrijednosti proveden je odabirom utjecaja u fiksnom te u slučajnom dijelu modela koji su signifikantno utjecali na varijabilnost sadržaja ureje.

Odabir utjecaja proveden je temeljem modela koji koristi podatke mliječnosti na kontrolni dan u kojem je laktacija definirana kao ponovljivo mjerenje, dok je stadij laktacije opisan u fiksnom dijelu modela. Razvoj fiksnog dijela modela i definiranje utjecaja temeljeno je na koeficijentu determinacije (R^2), stupnju slobode (df) i udjelu varijabilnosti pojašnjene pojedinim utjecajem. U odabrani model uključeni su slijedeći fiksni utjecaji s razredima: redni broj laktacije, županija i sezona teljenja definirana kao interakcija između godine i tri uzastopna mjeseca teljenja. Utjecaj dobi pri prvom teljenju opisan je kvadratnom regresijom, a stadij laktacije modeliran je Ali-Schaefferovom laktacijskom krivuljom ugniježđenom unutar rednog broja laktacije. Za fiksne utjecaje ocjenjene su srednje vrijednosti. Korištenim modelom pojašnjeno je 6,8% varijabilnosti za svojstvo sadržaja ureje. U slučajni dio modela je, pored aditivnog genetskog utjecaja, bila uključena i interakcija stada i kontrolnog dana. Također su izračunate i fenotipske korelacije između sadržaja ureje u mlijeku i drugih svojstava mliječnosti.

U analizi je korišteno 2.109.598 zapisa dnevne količine mliječnosti prikupljenih od 114.768 krava holštajn pasmine, koje su telile u razdoblju od siječnja 2003. do prosinca 2012. godine. Podaci o porijeklu uključuju sve krave sa zapisima dnevnih kontrola te njihove srodnike

praćene kroz pet generacija. U porijeklu je bilo uključeno ukupno 154.727 životinja. Vidljivo je da se sadržaj ureje mijenja tijekom laktacije te je karakterističan blagi pad koncentracije u prvim danima laktacije, odnosno za vrijeme trajanja kolostralnog razdoblja, na što utječe i sam sastav mlijeka. Nakon ovoga početnog smanjenja dolazi do povećanja sadržaja ureje u mlijeku po rednom broju laktacije. Najveći sadržaj ureje u mlijeku zabilježen je u prvoj laktaciji, u razdoblju između 110 i 140 dana, kada se kretala oko 23,6 mg/100 ml. Na kraju prve laktacije prosječni sadržaj ureje u mlijeku iznosio je oko 21,6 mg/100 ml. Drugu laktaciju karakterizira nešto veći sadržaj ureje, u razdoblju odmah nakon teljenja kada su zabilježene najviše vrijednosti od svih praćenih laktacija. S daljnjim porastom rednog broja laktacije trend se nastavlja i dolazi do opadanja sadržaja ureje u mlijeku. U četvrtoj laktaciji izmjeren je minimalni sadržaj ureje od 20,1 mg/100 ml, nakon kojega dolazi do porasta. Možemo zaključiti da postoji interakcija između stadija laktacije i sadržaja ureje u mlijeku.

Starost krava kod prvog teljenja je također imala utjecaj na sadržaj ureje u mlijeku. Krava koje su telile u dobi od 24. do 26. mjeseca imale su najvišu vrijednost sadržaja ureje koji je za navedeno razdoblje iznosio 23,2 mg/100 ml. Najniža vrijednost sadržaja ureje zabilježena je kod krava koje su telile u dobi od 18 mjeseci i iznosila je ispod 20 mg/100 ml. I sezona teljenja utjecala je na sadržaj ureje u mlijeku. U zimskoj sezoni 2004. godine zabilježene su najmanje vrijednosti sadržaja ureje u mlijeku, dok je u jesenskoj sezoni iste godine izmjeren najviši sadržaj ureje u mlijeku (24 mg/100 ml). U narednim sezonama teljenja dolazi do opadanja sadržaja ureje u mlijeku. Utjecaj regije je dosta kompleksan čimbenik jer predstavlja zajedničko djelovanje geografskih i klimatskih utjecaja, ali i tradicijskih razlika između pojedinih regija. Razlike u sadržaju ureje u mlijeku utvrđene su između županija. Najviša vrijednost heritabiliteta (0,08) ocijenjena je modelom gdje je kao usporediva skupina korištena interakcija između stada i kontrolnog dana. U istraživanju udio varijabilnosti pojašnjen interakcijom stado-dan kontrole iznosio je 67%, dok je 25% varijabilnosti sadržaja ureje ostalo neprotumačeno.

Ovaj je model korišten i pri procjeni uzgojne vrijednosti. Također je testiran i model gdje je utjecaj stada korišten kao usporediva skupina te je ovim modelom ocijenjena najniža vrijednost heritabiliteta (0,03). U modelima gdje je interakcija između stada i godina testiranja korištena kao usporediva skupina ocijenjene su više vrijednosti heritabiliteta (0,04 i 0,05) u odnosu na prethodni model. Najviša vrijednost heritabiliteta (0,08) ocijenjena je modelom gdje je kao usporediva skupina korištena interakcija između stada i kontrolnog dana. Izračunate

fenotipske korelacije između sadržaja ureje i osobina mliječnosti: dnevna količina mlijeka, dnevna količina i sadržaj masti i bjelančevina bile su statistički značajne ($P < 0,0001$). Pozitivna i niska fenotipska korelacija (0,15) utvrđena je između sadržaja ureje i dnevne količine mlijeka, između sadržaja ureje i dnevne količine masti (0,10), te između sadržaja ureje i količine bjelančevina (0,16). Između sadržaja ureje i sadržaja mliječne masti koeficijent korelacije bio je nizak i negativan (-0,05), dok je između sadržaja ureje i sadržaja bjelančevina on bio nizak i pozitivan (0,03).

Daljnja istraživanja bi trebala obuhvatiti razvoj modela koji bi uključio ostala svojstva mliječnosti kako bi se utvrdile genetske korelacije između svojstava i omogućio istovremeni genetski napredak više svojstava. Nadalje, potrebno je proučiti povezanost sadržaja ureje s ostalim svojstvima, a ponajprije s plodnošću i dugovječnošću krava. Pravilan uzgojno–seleksijski rad i odabir bikova s najboljom uzgojnom vrijednosti za sadržaj ureje može rezultirati nižim sadržajem ureje u stadiu te dovesti do mogućnosti za odabir onih životinja koje imaju veću koncentraciju bjelančevina, a koje su potrebne u proizvodnji sira. Isto tako može rezultirati smanjenjem troškova proizvodnje i povećanje profitabilnosti stada uz predviđanje emisije štetnih plinova u atmosferu iz stajnjaka kod mliječnih krava.

8. SUMMARY

Influence of environmental and genetical factors on urea content in milk with Holstein breed cows

Milk urea concentration is determined by both genetic and environmental factors. So far in Croatia were not conducted any research studies to analyze these factors and to make specific recommendations for further evaluation.

The objectives of this study were to determine the extent to which environmental factors (the number and stage of lactation, age at first calving, calving season, region and herd) have an effect on milk urea concentration and what is the correlation of urea content in milk with other properties of dairy cows. The second objective of this dissertation was the calculation of genetic parameters for milk urea concentration in Holstein breed of cattle that are the basis for genetic evaluation of this attribute. Their calculation is preceded by the development of a model, i.e. the choice of factors that influenced the variability of urea concentration in milk. The choice of a model, which was used to calculate the variance components and to estimate breeding values, was carried out by selecting the effect in fixed and random part of the model which has significantly influenced the variability of urea concentration.

The effect selection was based on a model that uses the milking data on the control day in which the lactation is defined as a repetitive measuring while the lactation stage is described in the fixed part of the model. The development of a fixed part model and the definition of the effect are based on the coefficient of determination (R^2), the degree of freedom (df) and the proportion of variability explained by the particular effect. The selected model included the following fixed effects groups: number of lactation, county and calving season which is defined as the interaction between a year and three consecutive months of calving. The age effect at first calving is modeled as quadratic regression and stage of lactation is modeled by Ali-Schaeffer lactation curve nested within the number of lactation. For the fixed effects the mean values were evaluated. Used model explained 6.8 % of the variability of urea concentration characteristic. In the random part of the model, besides the additive genetic effects, it included the herd interaction and the control day interaction. In addition to this, the phenotypic correlations between the concentration of urea in milk and other milking capacity properties have been calculated.

The analysis encompassed 2.109,598 records of daily milk yields amounts collected from 114.768 cows of Holstein breed which calved during the period from January 2003 to December 2012. The data about the origins include all cows with records of daily controls and their relatives followed through five generations. The origin included a total of 154.727 animals. It is evident that the urea concentration changes during the lactation and that there is a characteristic slight decrease of concentration in the first days of lactation or during the colostrums period, which affects the very composition of milk. After this initial decrease, it comes to an increase in the concentration of urea in milk per the ordinal number of lactation. The highest level of milk urea concentration was recorded in the first lactation, between 110 and 140 days, when it was about 23.6 mg/100ml. At the end of the first lactation the average milk urea concentration was approximately 21.6 mg/100ml. The second lactation is characterized by a higher urea concentration and this is in the period immediately after calving when the highest values were recorded of all monitored lactations. Along further increase in the number of lactation this trend continues and it comes to a decline in the milk urea concentration. In the fourth lactation the minimum urea concentration was measured and it was 20.1 mg/100ml, after which it is followed by an increase. We can conclude that there is an interaction between the stage of lactation and milk urea concentration.

The age of the cows at the first calving also had an effect on milk urea concentration. Cows that calved in the age from 24 to 26 months had the highest value of urea concentration and for the specified period it amounted to 23.2 mg/100ml. The lowest value of urea concentration was noted in cows that have calved at the age of 18 months and it amounted below 20mg/100ml. The season of calving also influenced milk urea concentration. In the winter season 2004 the lowest values of milk urea concentration were recorded, while in the autumn season of the same year the highest milk urea concentration was recorded (24 mg/100ml). In the subsequent seasons of calving the milk urea concentration began to decrease. The impact of the region is a quite complex factor because it represents the joint action of geographic and climatic influences, but also traditional distinctions between regions. The differences in milk urea concentration have been found between counties. The highest value of heritability (0.08) was evaluated in a model where as the comparable group was used the interaction between the herd and the control day. In the research the portion of variability was explained by the interaction of herd and control day and it amounted to 67%, while 25% of the variability in the milk urea concentration remained

unexplained. This model is used also to estimate the breeding values. In addition to this, a model was tested where the influence of the herd was used as a comparable group and in this model the lowest heritability value was evaluated (0.03). In models where the interaction between herds and years of testing was used as a comparable group were rated higher heritability values (0.04 and 0.05) compared to the previous model. The highest value of heritability (0.08) was evaluated in a model where as a comparable group was used the interaction between the herd and the control day. The calculated phenotypic correlations between milk urea concentration and milking traits: daily quantity of milk, daily quantity and the content of fat and proteins were statistically significant ($P < 0.0001$). Positive and low phenotypic correlation (0.15) was found between the milk urea concentration and daily milk yield, between the urea concentration and the daily amount of fat (0.10) and between the urea concentration and the amount of proteins (0.16). Between the urea concentration and milk fat content the correlation coefficient was low and negative (-0.05) while between urea concentration and protein content it was low and positive (0.03).

Further research should include the development of a model which would include other milking properties in order to identify the genetic correlations between traits and to allow the genetic improvements of more properties at the same time. Furthermore, it is necessary to study the connection between the urea concentration with other properties, and in particular with fertility and longevity of cows. Proper breeding and selection work and the selection of bulls with the best breeding values for urea concentration can result in a lower content of urea in the herd and it can lead to the possibility to select those animals that have higher concentrations of proteins which are necessary in the production of cheese. It may also result in a reduction of production costs and to increase the profitability of the herd with predicting emissions into the atmosphere from manure produced on a dairy farm.

9. ŽIVOTOPIS

Draženko (Jozo) Budimir, rođen je 17.10.1975. godine u Banjaluci, Republika Bosna i Hercegovina. Osnovnu i srednju Poljoprivrednu školu završio je u rodnom mjestu, kao učenik generacije.

Poljoprivredni fakultet u Banjaluci upisao je 1996. godine, na kojem je i diplomirao kao redoviti student 15.10.2001. godine.

Po završetku studija bio je uposlen kao suradnik Caritasa biskupije Banja Luka na projektima koji su se odnosili na razvoj poljoprivredne proizvodnje u Bosni i Hercegovini. Tijekom 2002. godine proveo je tri mjeseca u Velikoj Britaniji na Department of Agriculture - University of Reading.

Imao je više studijskih putovanja u inozemstvo, koja su se odnosila na obuku i razvoj stočarske proizvodnje. Tijekom 2005. godine boravio je u Bremenu (Njemačka), obučavajući se za vođenje pilot-projekta u proizvodnji električne energije iz bioplina, koji nastaje iz stajnjaka.

Sudjelovao je na više selekcija bređih junica u inozemstvu za potrebe različitih donatorskih projekata i na više stručnih i znanstvenih skupova.

2004. godine upisao je poslijediplomske studije na Poljoprivrednom fakultetu, Univerziteta u Novom Sadu, Odsjek tehnologija animalne proizvodnje, smjer govedarstvo, gdje je stekao titulu magistra znanosti 2007. godine.

Poslijediplomski doktorski studij Poljoprivredne znanosti, smjer Stočarstvo upisao je 2010. godine na Poljoprivrednom fakultetu Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku.

Do sada objavio 13 znanstvenih i stručnih radova te četiri stručne brošure za potrebe proizvođača. Trenutno obnaša dužnost direktora u Zemljoradničkoj zadruzi Livač, Aleksandrovac, općina Laktaši, Bosna i Hercegovina, čiji je vlasnik i osnivač Caritas biskupije Banja Luka.