

## **ODNOS INDEKSA BOJE INFUZORIJA IZ BURAGA I POKAZATELJA PLODNOSTI KOD KRAVA HOLŠTAJN FRIZIJSKE RASE**

*M. Jovićin, M. Dražić, B. Petrujkić, M. Mirilović, H. Šamanc, I. Jeremić\**

**Izvod:** Zadatak našeg rada je bio da se prouči kako stabilnost ekosistema infuzorija u buragu krava, određena pomoću indeksa obojenosti infuzorija Lugolovim rastvorom joda, utiče na reproduktivne pokazatelje kod holštajn-frizijskih krava.

Rezultati ukazuju da stabilnost sistema infuzorija određena preko jodnog indeksa obojenosti Lugolovim rastvorom ima recipročan uticaj na servis period i indeks osemenjavanja.

Smanjenje indeksa obojenosti infuzorija dovodi do produženja servis perioda, a time i negativno utiče na plodnost.

Snabdevenost infuzorija energijom i hranljivim materijama utiče na indeks osemenjavanja, jer je smanjenje indeksa osemenjavanja u korelaciji sa povećanjem indeksa prebojenosti infuzorija.

Indeks obojenosti infuzorija Lugolovim rastvorom se može koristiti za brzo određivanje stanja ekosistema buraga. Naredna istraživanja bi trebalo da ustanove povezanost hemijskog sastava infuzorija buraga i reproduktivnih pokazatelja visoko mlečnih krava.

**Ključne reči:** infuzorije buraga, paraglikogen, plodnost, muzne krave.

### **Uvod**

Porast produktivnosti mlečnih krava je ostvaren promenama obroka, pre svega povećanjem udela koncentrovanih hraniva u obroku. Odlučujući faktor u maksimiziranju iskoriščavanja genetskog potencijala visokoproduktivnih životinja su nivo ishrane i punovrednost obroka, odnosno dostupnost energije, proteina, mineralnih materija i vitamina. Smanjenje udela kabastih hraniva u obroku za posledicu ima poremećaj funkcionalisanja mikroflore buraga. Pošto su visokomlečne krave, kao preživari, zavisne od mikroflore buraga u snabdevanju hranljivim materijama, njihov poremećaj funkcionisanja na kraju kraju rezultira skraćenjem proizvodnog veka životinja i smanjenjem ekonomičnosti. Biohemski procesi u buragu i kompleksni odnosi infuzorija sa organizmom domaćina i danas su predmet istraživanja mnogih autora (Ortega i Mendoza, 2003; Korčagina, 2009).

---

\* Dr Milovan Jovićin, viši naučni saradnik, Naučni institut za veterinarstvo, Novi Sad; mr Mirko Dražić, istraživač, PVS „Veterinarska klinika”, Kać; dr Branko Petrujkić, asistent, dr Milorad Mirilović, docent, dr Horea Šamanc, redovni profesor, Fakultet veterinarske medicine, Beograd; Ivan Jeremić, dvm specijalista reprodukcije, Veterinarska stanica, PKB Korporacija, Beograd - Padinska Skela.

E-mail prvog autora: milovan@niv.ns.ac.rs

Njihov značaj je višestruk: 1. Infuzorije pretvaraju šećer i biljne belančevine u životinjske, koje imaju veću biološku vrednost za domaćina; 2. Infuzorije pretvaraju šećer i biljni skrob u glikogen, koji skladiše u svojim ćelijama. Na taj način štite biljni skrob odnosno šećer od dejstva bakterija, koje ovaj materijal razlažu na niže masne kiseline; 3. Živahnim kretanjem infuzorije rastresaju sadržaj buraga, čime se olakšava njihova maceracija (Jovanović, 1968). Postoji dosta neslaganja između autora u kojoj meri se koriste ugljeni hidrati od strane mikroba buraga i samih preživara. Međutim, pogodan metod zaštite skroba iz buraga od napada mikroba još uvek nije pronađen. Osim toga, još uvek postoji kontroverza oko kapaciteta preživara da svari i apsorbuje velike količine skroba. Sa većim izbegavanjem varenja skroba u buragu, povećava se stepen postruminalnog varenja skroba, koji se efikasnije koristi za sintezu mleka, u odnosu na skrob svaren u buragu (Nocek i Tamminga, 1991; Ortega i Mendoza, 2003).

Obzirom na značaj mikro organizama buraga (infuzorija) u proceni statusa buragovog sadržaja koriste se standardne analize, koje obuhvataju: miris, pH-koncentraciju, boju, konzistenciju, raslojavanje, mikroskopski pregled nativne kapi i obojenog razmaza. Dopunske analize: specifična težina, digestija celuloze, vrenje glukoze i redukcija nitrita, kao i mikrobiološke analize i nove pojednostavljene i terenski prilagođene analize mogu u budućnosti imati praktičan značaj (Dewhurst i sar., 2000).

D'Agosto i Carneiro (1999) zaključuju da kod proučavanja infuzorija Lugolov rastvor može da poboljša uočljivost strukture cilija, koje primaju mrko-crvenkastu boju kada dođu u dodir sa Lugolovim rastvorom, zbog sadržaja polisaharidne prirode. Procena stabilnosti ekološkog sistema infuzorija kod muznih krava, određena preko indeksa obojenosti Lugolovim rastvorom joda, može se koristiti za brzo određivanje stanja varenja u buragu i količine rezervnih hranljivih materija (paraglikogena) u infuzorijama, koje se vare postruminalno i obezbeđuju organizam domaćina sa energijom, esencijalnim aminokiselinama i fosfolipidima (Jovičin i sar., 2009).

Kecić (2009) je modifikovala mikro-test za određivanje paraglikogena u infuzorijama tako da je enzimski test prilagođen za izvođenje u mikrokveti, dok je spektrofotometrijsko određivanje paraglikogena rađeno na mikrotitar pločicama. Uz ovo u uzorcima infuzorija određena je i koncentracija DNK. Dobijene vrednosti za paraglikogen i koncentraciju DNK u infuzorijama razlikuju se u zavisnosti od njihovog stanja, odnosno od toga da li su isprane puferizovanim fiziološkim rastvorom (PBS) i zamrzнуте u tečnom azotu odmah posle uzimanja ili nekoliko časova kasnije, što ukazuje da vrednosti ova dva parametra mogu da se iskoriste za procenu stanja infuzorija, a samim tim i za procenu stanja životinje iz kojih su uzete.

Protozoe takođe služe kao izvor hrane za domaćina. U odnosu na bakterije, protozoe rumena sadrže visok procenat nezasićenih masnih kiselina i to se smatra da je važan izvor masti za životinje domaćina. Prekrivene cilijama protozoe takođe štite nezasićene masne kiseline u buragu uključivanjem ovih masnih kiselina u svoje fosfolipide membrane. Katz i Keeney (1967) navode da se lipidi iz holotriha protozoa buraga sastoje se 70% od fosfolipida.

Imajući u vidu navedeno, cilj našeg istraživanja je bio da ispitamo da li postoji povezanost između indeksa obojenosti infuzorija i reproduktivnih pokazatelja (indeksa osemenjavanja i servis perioda) kod holštajn frizijskih krava.

## **Materijal i metod rada**

Ogled je izведен na dve farme muznih krava u Vojvodini. Farma A je sa prosečnih 350 krava na muži u 2008. godini, crveno bele holštajn frizijske rase (RHF), prosečne mlečnosti 5,996 kg mleka sa 3,95% mlečne masti, i Farma B sa prosečnih 377 krava na muži u 2008. godini, crno bele holštajn frizijske rase (HF), prosečne mlečnosti od 6,693 kg mleka sa 3,65% mlečne masti. Krave su u slobodnom sistemu držanja, na dubokoj stelji, sa izmuzištem tipa riblja kost, osim u porodilištu, gde je vezani sistem držanja. U ishrani krava korišćen je kompletan obrok (TMR, total mixed ration) koji se sastojao od: silaža cele kukuruzne biljke, seno lucerke, suvi repin rezanac i treber, i koncentrovane smeše sa 18,50% proteina (kukuruz, suncokretova sačma, sojina sačma, sojin griz, stočno brašno, minerali, so i premiks). Ispitivanja su trajala 365 dana, ogled je započet na 85 visokosteonih krava (VS) (68 visokosteonih krava i 17 visokosteonih junica). Na početku ogleda izvršena je ocena telesne kondicija krava (OTK) (Milovanović i sar., 2005) i to 15-7 dana pred očekivano teljenje, kada su uzeti i uzorci krvi i sadržaja buraga. Ove analize su ponovljene i kod oteđenih krava 30. i 60. dana posle teljenja. Izvršena su ispitivanja sadržaja buraga kod 85 visokosteonih (VS), 80 sveže oteđenih (SO) i 56 krava u piku laktacije (VM), i prikupljanje proizvodnih i reproduktivnih podataka u toku 2008. i 2009. godine.

Sadržaj buraga u količini od 50 ml je uziman pre jutarnjeg dela obroka, pomoću univerzalne predželudačne sonde UPS-NS (Lalić i sar., 2001., patent br. MP-94/96/105). Profiltriran je kroz gustu plastičnu cediljku za čaj (dijametar rešetke 0,5 mm) u gradušanu epruvetu. Posle 10-15 minuta talog infuzorija je plastičnim špricem sa tankom plastičnom cevčicom pažljivo prebacivan u plastičnu epruvetu od 1,5 ml (Eppendorf, Nemačka). Iz ove epruvete je uzimana kap taloga infuzorija 25 µl pomoću automatske mikropipete (Eppendorf, Nemačka) i pomešana sa jednom kapi Lugolovog rastvora joda 5% (Alfapanon, Novi Sad, lot 335), a zatim je pokrivana pokrovnim stakalcem (18×18 mm). Preparati pokrivene kapi su mikroskopirani na mikroskopu Olympus BX 40, uvećanje 100×. Mikrofotografije su pravljene pomoću digitalne automatske kamere Camera Model: SP500UZ Olympus SC 35, sa uvećanjem 100×. Mikrofotografije su rađene na odabranom segmentu preparata sa prosečnom, reprezentativnom gustinom infuzorija, na po dva vidna polja. Slike su pravljene u formatu JPEG Image 2816×2112 pixels, Size 1,01 MB, a zatim je ubacivana mrežica (4×4) u kompjuterskom programu Fireworks MX (Macromedia, Inc., USA).

## **Određivanje indeksa obojenosti infuzorija**

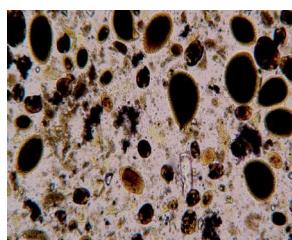
Prebrojane su intenzivno, srednje i slabo obojene infuzorije i izračunata je njihova procentualna zastupljenost. Za predstavljanje indeksa boje korišćena je siva skala - Grayscale (Marić, 2008), sa nijansama: 80% za intenzivno-tamno braon obojene infuzorije, 40% za srednje-svetlo braon obojene i 5% za slabo-žuto obojene infuzorije (Slika 1). Grayscale je jedan od sistema za opisivanja boja i u ovom slučaju predstavlja skalu sa koje se bira crna boja koja ima vrednosti od 0% do 100%. Vrednost 0% predstavlja belu boju, vrednost 100% crnu boju, a sve nijanse između su nijanse sive boje. Obojeni crtež se može pretvoriti u crno-beli crtež konvertovanjem u Grayscale. Za predstavljanje crno-belih slika, dovoljno je boju predstaviti isključivo količinom svetlosti. Različite količine svetlosti se diskretizuju u konačan broj nivoa nivoa osvetljenja i se dobija time odgovarajući broj nijansi sive boje. Ukoliko se za zapis informacije o količini svetlosti koristi 1 bajt, ukupan broj nijansi sive boje je 256 (Marić, 2008).

Indeks obojenosti (vrednosti 1,00-5,00), izračunavan je prema sledećoj formuli:

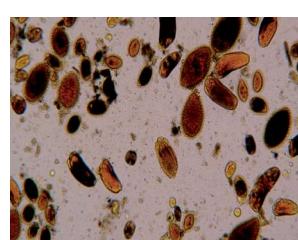
Indeks boje,  $S = (\% \text{ intenzivno obojenih} \times 80) + (\% \text{ srednje obojenih} \times 40) + (\% \text{ slabo obojenih} \times 5)$ .

**Slika 1.** Bojenje paraglikogena u infuzorijama Lugolovim rastvorom. Preparati stisnute kapi taloga sadržaja buraga krava obojenog Lugolovim rastvorom: infuzorije sa visokim (a), srednjim (b) i niskim (c) sadržajem glikogena. Uvećanje 100×; mrežica (4×4) u kompjuterskom programu Fireworks MX; digitalni zum 4×.

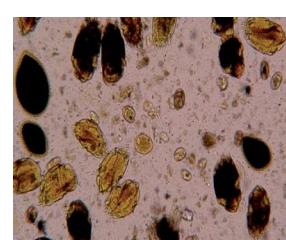
**Photo 1.** *Infusoria paraglycogen staining with Lugol's solution. Compressed drop of rumen fluid sediment stained by Lugol's solution: infusoria with high (a) medium (b) and low (c) glycogen paraglycogen content. Magnification 100×; mesh (4×4) Fireworks MX; digital zoom 4×*.



a) tamno braon boja  
a) dark brown



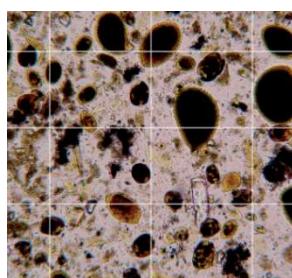
b) svetlo braon boja  
b) light brown



c) žuta boja  
c) yellow

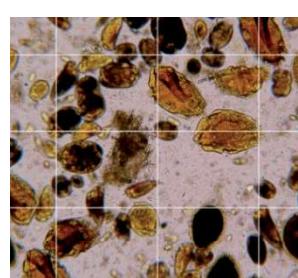
**Slika 2.** Snabdevenost infuzorija paraglikogenom. Zapaža se dominantno prisustvo infuzorija sa visokim (a), srednjim (b) i niskim (c) sadržajem glikogena. Preparati stisnute kapi taloga sadržaja buraga krava obojenog Lugolovim rastvorom. Uvećanje 100×.

**Photo 2.** *Infusoria paraglycogen content. Infusoria with staining with high (a) medium (b) and low (c) glycogen paraglycogen content can be seen. Compressed rumen fluid sediment drop stained by Lugol's solution. Magnification 100×.*



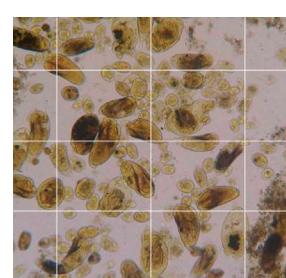
sadržaj glikogena optimalan  
Indeks boje= 5,11  
a) optimal paraglycogen  
content

Color index=5.11



sadržaj glikogena osrednji  
Indeks boje= 2,08  
b) medium paraglycogen  
content

Color index=2.08



sadržaj glikogena nizak  
Indeks boje= 0,86  
c) low paraglycogen content

Color index=0.86

U krave su po ispoljavanju simptoma estrusa osemenjavane. Kod krava koje su osemenjene tokom realizacije ogleda, nadalje, primenjivan manuelni i ultrazvučni pregled jajnika. U slučaju povađanja krave su ponovo osemenjavane. Utvrđivanje gradiditeta izvršeno je od 45 do 60 dana od poslednjeg osemenjavanja rektalnom palpacijom uterusa i ultrazvučnim pregledom.

Statističke analize izvršene su u programima Prizma i Sigma Pad (SigmaStat 3.5, v. 3.5.0.54, Systat Software, Inc., San Jose, CA, USA; Prism Pad v. 5.0, Graph Pad Software Inc., San Diego, CA, USA).

### **Rezultati istraživanja**

Kod svih krava na početku ogleda izvršeno je određivanje telesne kondicije a zatim su urađene osnovne analize uzoraka sadržaja buraga. Pokazatelji osnovnih ocena uzorka sadržaja buraga krava, kao što su vrednost pH, ocene boje, ocene mirisa, ocene broja i pokretljivosti malih, srednjih i velikih infuzorija, ocene separacije – taloženja i flotacije u uzorku posle 24 sata, taloga infuzorija, kao i ocena sadržaja glikogena (paraglikogena) u velikim, srednjim i malim infuzorijama. Pošto ovi pokazatelji nisu bili povezani sa pokazateljima naredne steonosti, nisu prikazani u ovom radu. U daljim analizama su prikazane samo izračunate ocene sadržaja glikogena u infuzorijama (indeksi boje).

Otelilo se ukupno 80 krava i junica. Prvo osemenjavanje je urađeno kod 56 visokomlečnih krava, u piku laktacije. U oglednom periodu je utvrđena steonost kod 41 krave (16 sa farme A i 25 sa farme B, u proseku  $41/56=73,21\%$ ). Korelaciona i regresiona analiza je urađena za 41 kravu kod koje je ustanovaljena steonost. Analize za indeks obojenosti infuzorija kod svežeoteljenih i visokomlečnih krava nisu pokazale statističku značajnost, pa iz razloga praktičnosti nisu prikazivane.

U tabeli 1. su prikazane vrednosti izmerenih parametara koji pokazuju stanje telesnih rezervi i energetske snabdevenosti krava, na tri ključne tačke u fiziološkom procesu: u visokoj steonosti, na 15-7 dana pred očekivano teljenje, zatim na oko 30. i 60. dana posle teljenja.

**Tab. 1.** Ocene telesne kondicije i indeksi boje infuzorija iz uzoraka sadržaja buraga holštajn frizijskih krava pre teljenja (1) i na 30 (2) i 60 (3) dana posle teljenja (n=41)

*Body Condition Score (BCS) and infusoria color index from rumen samples before calving (1) and on 30 (2) and 60 days (3) after calving (n=41)*

Pokazatelji <i>Parameter</i>	Deskriptivna statistika <i>Descriptive statistic</i>					
	Prosek ( $\bar{x}$ ) <i>Average</i>	$\pm SD$	SE	Maks. Max.	Min. Min.	CV(%)
<b>OTK-1</b> <i>BCS-1</i>	4,06	0,37	0,06	4,75	3,25	11,70
<b>OTK-2</b> <i>BCS-2</i>	3,35	0,35	0,06	4,25	2,50	11,40
<b>OTK-3</b> <i>BCS-3</i>	3,22	0,42	0,07	4,00	2,25	14,10
<b>Indeks boje-1</b> <i>Colour index-1</i>	2,53	1,00	0,16	5,52	1,08	31,60
<b>Indeks boje-2</b> <i>Colour index-2</i>	2,76	1,19	0,19	5,88	0,76	38,70
<b>Indeks boje-3</b> <i>Colour index-3</i>	2,16	0,95	0,16	4,08	0,79	31,80
<b>Servis period</b> <i>Open days</i>	131,88	50,08	7,82	239	37	150,81
<b>Indeks v.o.</b> <i>Insemination index</i>	2,44	1,397	0,22	6	1	44,10

Korelacije između ocena telesne kondicije kod visokosteonih krava, 15-7 dana pre očekivanog teljenja (OTK-1), 30. dana posle teljenja (OTK-2) i 60. dana posle teljenja (OTK-3) i indeksa boje infuzorija u uzorcima sadržaja buraga kod krava tri navedene kategorije, i broja dana do naredne steonosti (servis perioda) i utroška doza semena (indeksa v.o.), prikazani su u tabeli 2.

**Tab. 2.** Međusobna povezanost energetske snabdevenosti holštajn frizijskih krava pre teljenja (1) i 30.(2) i 60. dana (3) posle teljenja i pokazatelja plodnosti kod naredne steonosti

*Correlation between available energy of Holstein-Fresian cows and fertility indicators in next lactation measured before calving (1) and 30 (2) and 60 days (3) after calving*

Pokazatelji Parameter	Koeficijenti korelacije Correlation coefficients					
	Ocena telesne kondicije Body Condition Score			Indeks boje infuzorija Infusoria Color index		
	OTK-1 BSC-1	OTK-2 BSC-2	OTK-3 BSC-3	1	2	3
<b>OTK-1</b> <i>BCS-1</i>	—	r=0,325*	r=0,54**	r=-0,28	r=0,31	r=-0,145
<b>OTK-2</b> <i>BCS-2</i>		—	r=0,66***	r=-0,22	r=0,001	r=0,24
<b>OTK-3</b> <i>BCS-3</i>			—	r=0,04	r=0,11	r=0,09
<b>Indeks boje-1</b> <i>Colour index-1</i>				—	r=-0,06	r=0,09
<b>Indeks boje-2</b> <i>Colour index-2</i>					—	r=0,25
<b>Indeks boje-3</b> <i>Colour index-3</i>						—
<b>Servis period</b> <i>Days open</i>	r=0,001	r=-0,07	r=-0,13	r=-0,43**	r=0,155	r=0,17
<b>Indeks v.o.</b> <i>Insemination index</i>	r=-0,02	r=0,02	r=-0,05	r=-0,34*	r=0,14	r=-0,24

\* p<0,5; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001;

Statistički značajna, srednje visoka korelacija postoji samo između ocena telesne kondicije kod visokosteonih krava 15-7 dana pre očekivanog teljenja (OTK-1, r=0,325; p<0,05) i ocene telesne kondicije kod oteljenih krava, 30. dana posle teljenja (OTK-2, r=0,54; p<0,01) i 60. dana posle teljenja (OTK-3; p<0,66; p<0,001), kao što je prikazano u tabeli 2. Ostali analizirani parametri su bili sa slabim stepenom korelacije, koji nisu bili ni statistički značajni.

Međusobna povezanost između indeksa v.o. i servis perioda je bio r=0,799; p<0,001. Regresiona analiza je pokazala da je odnos indeksa v.o. i servis perioda definisan sledećom jednačinom:

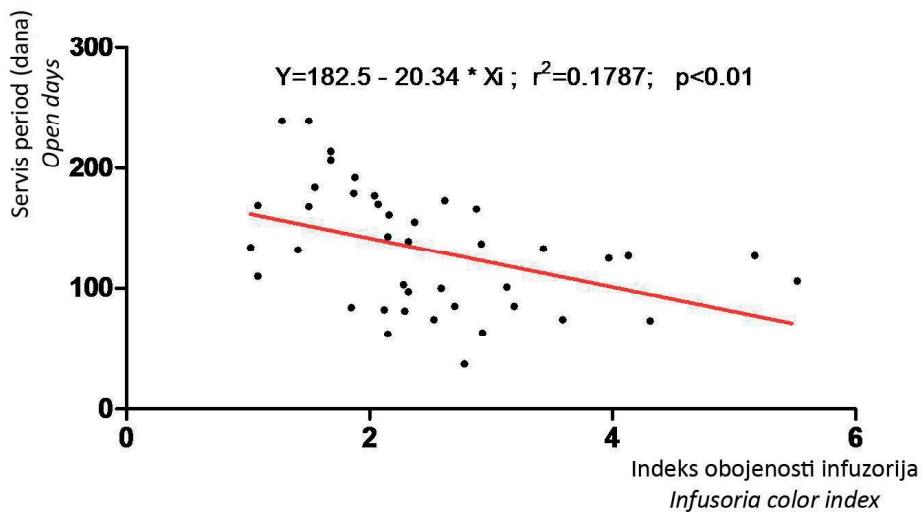
$$Y = 42,47 - 21,65 \times X_i;$$

koeficijent determinacije je bio r<sup>2</sup>=0,6382; p<0,001;

Radi toga je urađena regresiona analiza, koja je prikazana na grafikonima 1 i 2.

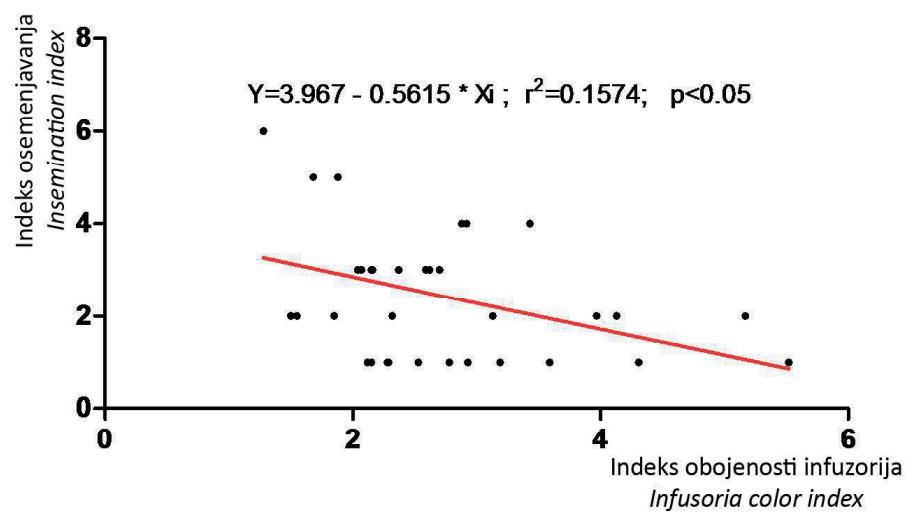
**Graf. 1.** Zavisnost dužine servis perioda od indeksa obojenosti infuzorija buraga (n=41)

**Fig. 1.** The correlation between open days and rumen infusoria colour (n=41)



**Graf. 2.** Zavisnost indeksa osemenjavanja od indeksa obojenosti infuzorija (n=38)

**Fig. 2.** The dependance of insemination index from infusoria colour index (n=38)



## Diskusija

Tokom poslednjih trideset godina, intenzivnom selekcijom je količina proizvedenog mleka tokom laktacije znatno porasla. Evidentno je da se istovremeno dešava pad plodnosti mlečnih goveda, kao jedan od važnih faktora koji utiče na profitabilnost komercijalnih farmi muznih goveda. Protozoe su veoma osetljive na nepovoljne faktore u sadržaju buraga. Tako promene vrednosti pH ispod fizioloških granica izazivaju njihov brz nestanak iz sadržaja buraga (Doležal i sar., 2008).

Rezultati dobijeni u našem ogledu ukazuju da stabilnost sistema infuzorija određena preko jodnog indeksa obojenosti Lugolovim rastvorom ima recipročan uticaj na servis period i indeks osemenjavanja. Na farmi B su zapažene manje dramatične oscilacije Lugolovog indeksa obojenosti infuzorija u poređenju sa farmom A. To je praćeno sa manjim gubitkom telesne mase i boljom perzistencijom mlečnosti u prvih 100 dana ( $3273,01 \pm 724,87$  i  $3167,57 \pm 386,51$  kg). Naš nalaz je u saglasnosti sa nalazima drugih autora (Doležal i sar., 2008), koji su takođe utvrdili da opadanje broja protozoa rezultira smanjenjem mikrobijalne sinteze i smanjenjem proizvodnje mleka.

Istraživanja su pokazala da se skrob koji je svaren postruminalno, efikasnije koristi za sintezu mleka, u odnosu na skrob koji je svaren u buragu. Doprinos apsorbovanje glukoze na procenat glukoneogeneze je bio značajno veći kod ishrane kukuruzom u odnosu na ishranu travom (61% prema 8%). Međutim, endogena proizvodnja glukoze je bila niža kod osnovne ishrane (15,6 prema 26,9 mmol/h). Učinak štednje endogenih prekursora ne račun egzogene apsorpcije glukoze kod ishrane sa visokim udelom kukuruza nije bio u odnosu 1:1. Ravnoteža između spoljašnjeg obezbeđivanja i endogene sinteze glukoze, ukazuje na visoko regulisan sistem. Podaci ukazuju na prisustvo crevnih mikroorganizama koji su sposobni da fermentiraju skrob. Obrada hraniva i upravljanje ishranom, u velikoj meri utiču na mesto varenja skroba (Nocek i Tamminga, 1991). Ortega i Mendoza (2003) u preglednom radu rezimiraju sadašnje znanje o varenju skroba kod preživara, kao i metabolizam glukoze u buragu, post-ruminalnoj apsorpciji skroba i glukoze i potrebama preživara. Biljna hraniva sadrže oko 75% ugljenih hidrata, iz kojih se obezbeđuju primarni izvori energije za mikropopulaciju buraga i organizam domaćina. Postoje mnoga otvorena pitanja, koja se uglavnom odnose na to u kojoj meri se ugljeni hidrati koriste od strane mikroba rumena i samih preživara, kao i na pronalaženje najprikladnijih načina korišćenja u ishrani preživara. Međutim, pogodan metod zaštite skroba iz buraga mikroba napada još uvek nije pronađen. Osim toga, još uvek postoji kontroverza oko kapaciteta preživara da svari i apsorbuje velike količine skroba.

Smanjenje indeksa obojenosti infuzorija buraga u našem ogledu za jedan stepen dovelo je do produženja servis perioda krava za 20,34 dana. Ovaj podatak je od velikog značaja pošto je vrlo dobro poznato da dužina servis perioda utiče na ekonomičnost proizvodnje kod visoko mlečnih krava (Holmann i sar., 1984; De Vries, 2006). Produženje servis perioda nesumnjivo opterećuje proizvodnju troškovima ishrane krava i povećava cenu litra proizvedenog mleka. Tačan iznos povećanja troškova zavisi od države i sistema gajenja, međutim za sve se sa sigurnošću može reći da bi se skraćenjem servis perioda za 20,34 dana servis period skratio za jednu petinu a time i povećao profit za otprilike isto toliko.

Na osnovu linearne regresije između indeksa obojenosti infuzorija i indeksa osemenjavanja dobijene u našem istraživanju, jasno se uočava da se povećanjem indeksa obojenosti infuzorija za 1 stepen indeks osemenjavanja smanjuje za 0,5615 jedinica. Indeks osemenjavanja je jedan od opšte prihvaćenih pokazatelja uspeha reprodukcije visokomlečnih krava (De Vries i sar., 2010) i njegovo smanjenje doprinosi postizanju što bolje plodnosti stada.

Veliki trud je uložen u proučavanje i razjašnjavanje funkcije buraga (Šamanc i sar. 2006). Brojni pristupi su razrađivani a mnogi od njih su komplikovani za izvođenje a rezultati su često nekonzistentni. Nasuprot ovome relativno malo pašnje je posvećeno razvoju manje invazivnih tehnika (koje isključuju fistuliranje buraga) u proceni statusa buraga. Prepostavka je da bi se razvojem i standardizovanjem ovih neinvazivnih metoda moglo doći do vrlo korisnih alatki za terensku primenu.

### **Zaključak**

Smanjenje indeksa obojenosti infuzorija za jednu ocenu dovodi do produženja servis perioda za dužinu jednog polnog ciklusa kod krava a time negativno utiče na plodnost.

Snabdevenost infuzorija energijom i hranljivim materijama utiče na indeks osemenjavanja jer je smanjenje indeksa osemenjavanja u korelaciji sa povećanjem indeksa prebojenosti infuzorija i to jedna ocena indeksa obojenosti/0,5 doza semena.

Indeks obojenosti infuzorija Lugolovim rastvorom se može koristiti za brzo određivanje stanja ekosistema buraga. Naredna istraživanja bi treba da ustanove povezanost hemijskog sastava infuzorija buraga i reproduktivnih pokazatelja visoko mlečnih krava.

### **Literatura**

1. D'Agosto, M, Carneiro, ME, (1999): Evaluation of lugol solution used for counting rumen ciliates. Revta bras. Zool., 16, (3), pp. 725-729.
2. De Vries, A, (2006): Economic Value of Pregnancy in Dairy Cattle, J. Dairy Sci. 89:3876–3885.
3. De Vries, A, Van Leeuwen, J, Thatcher, WW, (2010): Economics of Improved Reproductive Performance in Dairy Cattle, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. Published August 2005. Reviewed February 2010. <http://edis.ifas.ufl.edu>. Accessed on 01-10-2013
4. Dewhurst, RJ, Davies, DR, Merry, RJ, (2000): Microbial protein supply from the rumen. Animal Feed Science and Technology, 85, 1-21.
5. Doležal, P, Zeman, L, Frabišek, M, Výskočil, I, Skladanka, J, (2008): The effect of brewers' grains silage supplementation on the Rumen fermentation characteristics in cows. Animal welfare, ethology and housing systems, Különszám, Gödöllő, Vol. 4, 2, 746-752.
6. Holmann, FJ, Shumway, CR, Blake, RW, Schwart, RB, Sudweeks, EM, (1984): Economic value of days open for Holstein cows of alternative milk yields with varying calving intervals. J. Dairy Sci. 67:636–643.
7. Jovanović, M. (1968): Fiziologija predželudaca preživara. Autorizovana skripta prema predavanjima, Katedra za bujatriku, Veterinarski fakultet, Beograd, 1-13.

8. Jovičin, M., Milovanović, A., Žikić, D., Kovačević, M., Košarcić, S., Dražić, M., Barna, T., (2009): Evaluation of rumen protosocial ecosystem stability determined by Lugol iodine index of chromaticity in dairy cows; The international symposium on biocides in public health and environment [and] the international symposium on antisepsis, disinfection and sterilization [and] Belgrade conference 2009 on vector control in urban environments, 6; 6, Belgrade (Serbia), 6-7 Oct 2009.
9. Katz I, Keeney M, (1967): The lipids of some rumen holotrich protozoa. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism, 144, 1, 102–112.
10. Kecić J, (2009): Izolovanje, strukturna karakterizacija i određivanje paraglikogena u infuzorijama rumena preživara. Diplomski rad, Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet.
11. Korčagina, TA, (2009): Različnye podkhody k izucheniju vzaimootnošenij endobiontnykh infuzorij s travojadnymi mlekopitajuščimi. Materijali konferencije „Ekologija, evolucija i sistematika životnyh”, 17-19 novembar, Rjazanj, 93-94.
12. Lalic, M., Jovičin, M., Pavlović, R., (2001): Universal spring stomach rump UPS-NS. Veterinary Journal of Republic of Srpska, Banja Luka, Vol. 1, No 3, pp. 188-192.
13. Marić, F, (2008): Digitalni formati zapisa podataka. Društvo matematičara Srbije, Republički seminar o nastavi matematike i računarstva u osnovnim i srednjim školama, Niš, 11. i 12. januara 2008. godine ([http://www.dms.org.rs/seminars/seminar\\_2008/papers/Maric.pdf](http://www.dms.org.rs/seminars/seminar_2008/papers/Maric.pdf)) Accessed on 01-11-2013
14. Milovanović, A., Jovičin, M., Šamanc, H., (2005): Ocenjivanje telesne kondicije krava holštajn-frizijske rase. Priručnik, Veterinarska komora Srbije, Beograd.
15. Nocek, JE, Tamminga, S, (1991): Site of Digestion of Starch in the Gastrointestinal Tract of Dairy Cows and Its Effect on Milk Yield and Composition. J Dairy Sci 74:3598-3629.
16. Ortega, CME, Mendoza, MG, (2003): Starch digestion and glucose metabolism in the ruminant: a review. Interciencia, Association interciencia Caracas, Venezuela, Vol. 28, 007, 380-386.
17. Šamanc, H., Vujanac, I., Stojić, V., Ivanov, I., Adamović, M., (2006): Preveniranje kiselih indigestija goveda, Zbornik naučnih radova Instituta PKB Agroekonomik, vol. 12, br. 3-4, str. 37-45.

UDC:636.082.454+616.33-08.8  
Original scientific paper

## **RELATIONSHIP BETWEEN THE RUMEN INFUSORIA COLOR INDEX AND FERTILITY INDICATORS IN HOLSTEIN FRIESIAN COWS**

*M. Jovičin, M. Dražić, B. Petrujkić, M. Mirilović, H. Šamanc, I. Jeremić\**

### **Summary**

The goal of our paper was to investigate how the rumen infusoria ecosystem stability, determined by infusoria color index by Lugol solution staining affects reproduction parameters of Holstein-Friesian cows.

The results point out that infusoria system stability has vice versa influence on open days and insemination index.

The decrease of infusoria color leads to longer service period and negatively affects fertility.

Accumulation of energy and nutrients in infusoria affects insemination index since we observed the decrease of insemination index to be in the correlation with infusoria coloring index increase.

Infusoria coloring index by Lugol stain can be used for rapid determination of rumen ecosystem. Future investigations should determine the correlation between rumen infusoria chemical composition and reproductive parameters in dairy cows

**Key words:** rumen infusoria, paraglycogen, fertility, dairy cows.

---

\* Milovan Jovičin, Ph.D. senior research associate, Scientific Veterinary Institute, Novi Sad, Republic of Serbia; Mirko Dražić, M.Sc. research fellow, PVS „Veterinarska klinika”, Kać, Republic of Srbija; Branko Petrujkić, Ph.D. assistant, Milorad Mirilović, Ph.D. docent, Horea Šamanc, Ph.D. professor, Faculty of Veterinary Medicine, Belgrade, Republic of Serbia; Ivan Jeremić, dvm spec., PKB Veterinary Station, Belgrade-Padinska Skela, Republic of Serbia.

E-mail: milovan@niv.ns.ac.rs