



Kriva rezilijentnosti i kumulativni odgovor krava na toplotni stres

Mira Majkić^a, Marko Cincović^a, Jovan Spasojević^a, Ivica Jožef^a,
Bojan Blond^a, Dražen Kovačević^a

^aUniverzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu, Srbija

*Autor za kontakt: miramajkic@gmail.com

SAŽETAK

Rezilijentnost predstavlja kapacitet nekog sistema da savlada nepovoljne uslove. Kapacitet životinja da se odupru ili se oporave od delovanja nekog stresa (u ovom slučaju toplotnog stresa) se beleži u longitudinalnim merenjima učinka pre, tokom i posle perioda perturbacije. Kao rezultat ovakvog merenja dobija se kriva rezilijencije. Kriva rezilijencije ima više mera koji ukazuju na odgovor na nepovoljni faktor. Površina ispod krive predstavlja kumulativni odgovor organizma koji se dobija kao proizvod vremena delovanja stresa i vrednosti parametra koji posmatramo. Cilj ovog istraživanja je da se ispita rezilijencija krava na toplotni stres kroz formiranje krive rezilijencije i poređenja površina ispod krive za proizvodnju mleka i metaboličku adaptaciju. Vrednost THI indeksa se na teritoriji Vojvodine se menja tokom godine, tako da su vrednosti najviše u letnjem periodu. Proselna dnevna vrednosti THI indeksa već u junu mesecu prevazilazi graničnu vrednosti od 72 i iznosi 75 jedinica, dok je u julu THI na nivou 78 jedinica, i u avgustu 77 jedinica. Tokom septembra prosečna vrednost je 71, dok je u ostalim mesecima daleko ispod kritične vrednosti. Kada se pogleda povezanost THI i proizvodnje mleka rezultati ispitivanja su pronašli tri kategorije krava: krave kod kojih postoji negativna korelacija između THI i proizvodnje mleka (60%, krave u srednjoj i kasnoj laktaciji), krave kod kojih nema povezanosti između THI i količine proizvedenog mleka (15% krava koje se nalaze u periodu prve trećine laktacije posle pika laktacije) i krave kod kojih postoji pozitivna korelacija THI i proizvodnje mleka (15% krava u periodu od partusa do pika laktacije). Metabolički parametri kod krava pokazuju 4 prototipa krivih rezilijencije po obliku, s tim što krive mogu ići u pozitivnom smeru i u negativnom smeru u zavisnosti od toga da li vrednost metabolita raste ili opada. Prvi tip krive je ona kod koje dolazi do naglog porasta u jednom smeru, potom dolazi do brzog vraćanja na početnu vrednosti i odlazak vrednosti metabolita u suprotnom smeru (ako je rastao on tada opada, a ako je opadao on tada raste). Ovaj tip krive pokazuju kortizol, insulin, T3, T4, NEFA, glukoza, urea i broj neutrofila. Drugi tip krive je kriva kod koje vrednost naglo poraste/opadne i potom se održava na tom nivou tokom delovanja toplotnog stresa i zatim se naglo vraća na početni položaj (odgovor BHB). Treći tip krive je kriva kod koje dolazi do laganog opadanja/porasta metabolita, sa najvećom devijacijom pri sredini eksperimentalnog perioda, pa potom dolazi do laganog povratka na početni nivo. Takvu krivu je pokazao holesterol, broj eritrocita, leukocita i trombocita, MCV, HGB, MPV, AST i GGT. Četvrti tip krive je kriva kod koje dolazi do laganog opadanja/porasta vrednosti krvnog parametra tokom vremena i tu spada odgovor limfocita, ukupnih proteina, albumina i triglicerida. Prvi i drugi tip krive imaju najveći kumulativni efekat na vrednost metabolita u odnosu na treći i četvrti tip. Kumulativna promena metaboličkih parametara i kumulativni gubitak proizvedenog mleka izražen kroz površinu ispod krive rezilijencije predstavlja dobar model za ispitivanje uticaja metaboličke adaptacije krava u toplotnom stresu na proizvodnju mleka zbog značajnih korelacija koje su ostvarene između ovih kumulativnih efekata koje predstavljaju površinu ispod krive rezilijencije.

Ključne reči:

krave, toplotni stres, kumulativni efekti, proizvodnja mleka, metabolički parametri, krvna slika.

Uvod

Rezilijentnost predstavlja sposobnost nekog sistema da odreauguje na neki spoljašnji ili unutrašnji faktor uz sposobnost da izdrži i oporavi se posle delovanja, a opisuje se kao promena nastala tokom vremena u okviru kog dolazi do preme performansi ispitivanog sistema (Linkov i Tramp, 2019, Poulin i Kane, 2021). Rezilijentnost predstavlja kapacitet nekog sistema da savlada nepovoljne uslove. U protekloj deceniji rezilijentnost je definisana i u okviru animalne proizvodnje, pa se ona definiše na negleskom jeziku kao „environmental resilience“, koja predstavlja sposobnost organizma da se vrati u optimalni novo profitabilnosti i produktivnosti posle delovanja nekog nepovoljnog faktora spoljašnje sredine. Druga sveobuhvatnija definicija podrazumeva rezilijentnost kao opštu otpornost koja obuhvata sposobnost životinje da se nosi sa izazovima životne sredine, društva i bolesti, a opšta otpornost se zatim opisuje kao sposobnost životinje da na nju na minimalan način utiče neki

poremećaj ili da se brzo vrati u fiziološka, bihevioralna, kognitivna, zdravstvena, afektivna i proizvodna stanja koja su pristajala pre izlaganja poremećaju. Opšti aspekti rezilijencije kod mlečnih krava u kojima su date navedene definicije i druga objašnjenja prikazani su u novijem pregledu autora Kašná i sar. (2022).

Rezilijentnost kao mera promene neke performanse tokom vremena se grafički predstavlja krivom rezilijentnosti. Dinamičke promene se mogu predstaviti kao promena vrednosti nekog parametra tokom vremena, ali i kao odstupanje izmerenih srednjih vrednosti proizvodnje od procenjenog potencijala životinje, što je značajno i ispitivanjima genske osnove rezilijencije (Berghof i sar., 2019). Kapacitet životinja da se odupru ili se oporave od perturbacije se beleži u longitudinalnim merenjima učinka pre, tokom i posle perioda perturbacije (Llonch i sar., 2020). Kao rezultat ovakvog merenja dobija se kriva rezilijencije. Kriva je nazvana „trougao otpornosti“, jer je početna paradigma uključivala odgovor gde postoji trenutni gubitak performansi, trenutni odgovor i relativno linearnu putanju oporavka. Potom je razvijena paradigma „trapeza/trapezoida otpornosti“ gde ponašanje sistema može uključivati faze kaskadnog opadanja/porasta i smanjene performanse pre oporavka, a faza oporavka može biti vrlo spora i potpuna restauracija možda neće biti moguća (Poulin i Kane, 2021). Rezilijentna kriva ima više osobina koje se mogu posmatrati, a osobina koja objedinjuje povezanost vremena i ostvarene vrednosti neke varijable koju merimo je površina ispod krive rezilijentnosti i ona predstavlja kumulativni efekat vremena i vrednosti merene osobine sistema (Poulin i Kane, 2021).

Toplotni stres kod krava predstavlja veliki problem u našem regionu, koji je sa globalnim zagrevanjem i čestim prodorom afričkih temperatura sa mediteranske regije postao još aktuelniji. U našoj geografskoj regiji postoji trend porasta indeksa temperature i vlažnosti (THI indeks), koji ukazuje na porast toplotne opterećenosti kod krava. Pored porasta prosečne i maksimalne vrednosti ovog indeksa u proteklih deset do petnaest godina, raste broj dana sa vrlo visokim THI indeksom kao i broj noći u kojima THI indeks prevazilazi biološke optimume kod krava (Cincović i sar., 2017). Toplotni stres kod krava dovodi do opadanja u proizvodnji mleka (Cincović i sar., 2010), a do sada u utvrđene razlike u metaboličkoj adaptaciji krava u termoneutralnom periodu i toplotnom stresu, kao i izmene u predispoziciji vimena prema korišćenju različitih metabolita u procesu proizvodnje mleka (Majkić i sar., 2017).

Rezilijencija krava na toplotni stres i na metaboličke adaptacije je ispitivana kod krava na različite načine kao što je analiza faktora rezilijencije, ispitivanje autokorelacije i drugo (Van Dixhoorn i sar., 2018; Galán i sar., 2018), ali korišćenje kumulativnog odgovora preko analize površine ispod krive rezilijencije nije bilo rasprostranjeno. Površina ispod krive predstavlja kumulativni odgovor organizma koji se dobija kao proizvod vremena delovanja stresa i vrednosti parametra koji posmatramo. Cilj ovog istraživanja je da se ispita rezilijencija krava na toplotni stres kroz formiranje krive rezilijencije i poređenja površina ispod krive za proizvodnju mleka i metaboličku adaptaciju.

Materijal i metode

Za ogled su odabrane samo zdrave krave holštajn-frizijske rase, starosti 2 do 3 godine. Gajene su pod istim uslovima ishrane i nege. Krave su birane prema momentu telenja, tako da se kod 30 krava prva trećina laktacije odvijala u letnjem periodu, kod 30 krava se druga trećina laktacije odvijala u letnjem periodu, a kod poslednjih 30 krava poslednja trećina laktacije je bila u letnjem priodu. Proizvodnja mleka i metabolički profil će biti praćeni na nedeljnom nivou tokom 24 nedelje i to: u aprilu i maju (termoneutralni period pre leta), potom u junu, julu i avgustu (letnji period visokih temperatura) i u septembru i oktobru (termoneutralni period posle leta). U navedenom periodu biće određen indeks temperature i vlažnosti vazduha (THI) kao nepristrasni pokazatelj opterećenosti toplotnom stresom. Podaci o proizvodnji mleka dobijeni su dnevnim merenjem proizvodnje kada je određivan nedeljni proseki za potrebe istraživanja.

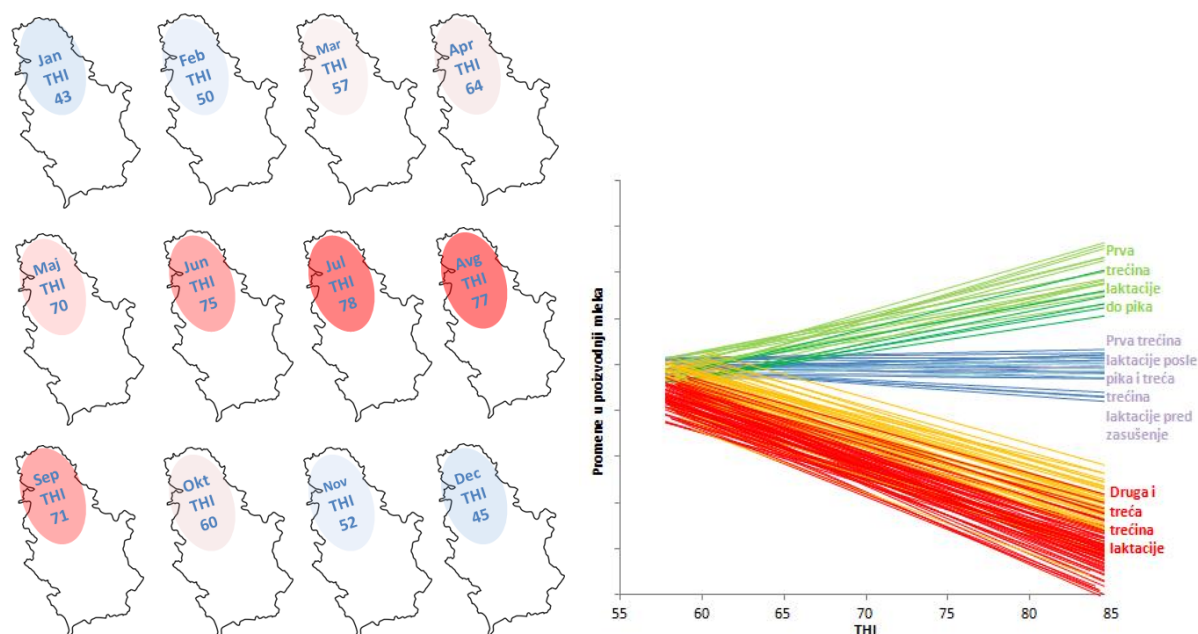
Analizom ćemo utvrditi najčešće krive rezilijentnosti za proizvodnju mleka i metaboličke promene kod krava. Za svaki tip krive biće određena površina ispod krive i to: AUC razvoj – površina od početka posmatranja do postizanja pika odgovora, AUC povratak – površina krive od postizanja pika do povratka u početni položaj i AUC ukupno – ukupna površina ispod krive koja obuhvata ceo ispitani period. Površina ispod krive će biti određena metodom trapezoidnog pravila koje ima opšti oblik:

$\int_a^b f(x) dx \approx (b-a/2n)[f(x_0) + 2f(x_1) + 2f(x_2) + 2f(x_3) + \dots + 2f(x_{n-1}) + f(x_n)]$. Kada se radi o proizvodnji mleka izračunata je površina ispod krive koja ukazuje na gubitak mleka tokom toplotnog stresa, što predstavlja integralni proračun za slučaj kada je $y < 0$ pa je izraženo u apsolutnim vrednostima. Korelacija između kumulativnog gubitka mleka i kumulativnih vrednosti proizvodnje mleka i metaboličkih parametara biće određena Pirsonovom korelacijom.

Rezultati i diskusija

Vrednost THI indeksa se na teritoriji Vojvodine se menja tokom godine, tako da su vrednosti najviše u letnjem periodu. Proselna dnevna vrednosti THI indeksa već u junu mesecu prevazilazi graničnu vrednosti od 72 i iznosi 75 jedinica, dok je u julu THI na nivou 78 jedinica, i u avgustu 77 jedinica. Tokom septembra prosečna vrednost je 71, dok je u ostalim mesecima daleko ispod kritične vrednosti. Kada se pogleda povezanost THI i proizvodnje mleka rezultati isitivanja su pronašli tri kategorije krava: krave kod kojih postoji negativna korelacija između THI i proizvodnje mleka (60%, krave u srednjoj i kasnoj laktaciji), krave kod kojih nema povezanosti između THI i količine proizvedenog mleka (15% krava koje se nalaze u periodu prve trećine laktacije posle pika laktacije) i krave kod kojih postoji pozitivna korelacija THI i proizvodnje mleka (15% krava u periodu od partusa do pika laktacije). Rezultati su prikazani na Slici 1.

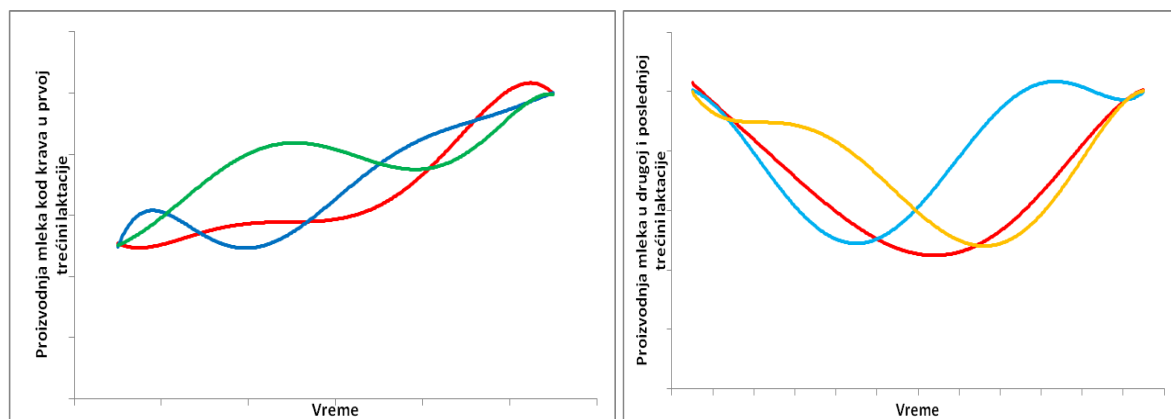
Smatra se da donja kritična temperatura kod mlečnih krava koje proizvode 30 kg mleka dnevno iznosi od -16°C do -37°C . Gornja kritična temperatura iznad koje se može razviti hipertermija iznosi $25-26^{\circ}\text{C}$, te goveda mnogo teže tolerišu visoke ambijentalne temperature (Kadzere i sar., 2002). Stresogenost temperature ambijenta se procenjuje uporednim merenjem temperature vazduha i vlažnosti vazduha (eng. Temperature-Humidity Index, THI). Retrospektivne analize su pokazale da je kritična vrednost THI indeksa iznad koje se javljaju fiziološke adaptacije, pad produktivnosti i patofiziološke izmene na nivou 72 (Ravagnolo O., Miszral I, 2000; West, 2003). U istraživanju Cincović i sar., 2017 pokayano je da su vrednosti THI indeksa bile u rasponu od 40,3 u januaru do 77,5 u julu. Vrednosti THI indeksa u periodu od 2005-2016 pokazuju da je toplotni stres prisutan tokom maja, juna, jula i avgusta. Zabeležen je i pozitivan linearni trend povećanja vrednosti THI indeksa u svakom mesecu izuzev januara, oktobra i novembra. Cincović i Belić (2011) su posmatrali krave u različitim fazama laktacije. Ispitivana je količina proizvedenog mleka i sastav, pri vrednosti THI <72 i >72 . Rezultati su pokazali da u drugoj trećini laktacije dolazi do značajnijeg pada u proizvodnji i kvalitetu mleka. Potrebno je naglasiti da se osetljivost goveda na veće vrednosti THI indeksa povećava sa povećanjem proizvodnje mleka, pa ukoliko se proizvodnja mleka poveća sa 35 na 45 kg/dan, osetljivost na toplotni stres se povećava za 5%. Dužina trajanja ekspozicije toplotnom stresu negativno utiče na proizvodnju mleka. Svoj negativni efekat toplotni stres ostvaruje u prvih 24-48 sati po izloženosti visokim temperaturama. Ukoliko su vrednosti THI indeksa od 72-80 značajno se smanjuje proizvodnja mleka i to u prva četiri dana po ekspoziciji (Collier i sar., 2012).



Grafikon 1. Vrednost THI indeksa tokom godine i njegova veza sa proizvodnjom mleka kod krava
Figure 1. The value of the THI index during the year and its relationship with milk production in cows

Razlikujemo tri tipa rezilijentnih krivih za proizvodnju mleka. Prvi tim podrazumeva nagli pad proizvodnje mleka i postepeni oporavak. Drugi tip krive je simetrična kriva gde proizvodnja mleka opada lagano, tako da je njena najniža tačka na sredini ispitivanog perioda, a potom dolazi do laganog oporavka. Treći tip krive je kriva koja reprezentuje lagano opadanje proizvodnje mleka, sa najnižom

proizvodnjom koja nastaje kasnije i uz ubrzan oporavak posle prestanka delovanja toplotnog stresa. Ovakve krive postoje kod krava u svim delovima laktacije. Navedena tri tipa krive su veoma značajna u proceni proizvodnje odnosno gubitka mleka tokom toplotnog stresa. Kumulativni gubitak mleka (površina ispod krive koja ukazuje na gubitak mleka) zavisio je od tipa krive: kod krive prvog tipa nedeljni gubitak pri prosečnoj proizvodnji od 30 L mleka je bio od 37-43L, kod krive drugog tipa je bio od 45 do 49L, dok je kod krive trećeg tipa bio od 49 do 55L. Što je period od početka delovanja stresa do najniže vrednosti proizvodnje mleka duži veći je kumulativni gubitak mleka, pa je akutni odgovor na toplotni stres povoljniji za proizvodnju, pri istom nivou najniže tačke u proizvodnji. Posmatrajući ranu laktaciju dobijaju se drugačiji rezultati. Krave sa prvim i trećim tipom krive pokazale su manji porast u proizvodnji mleka (od 20-30L nedeljno, ako je početak laktacije bio 15 L, a pik 30 L) u odnosu na krave sa drugim tipom krive. Dobijeni rezultati ukazuju da u prvih nekoliko nedelja laktacije i potom u periodu nekoliko nedelja pre očekivanog pika laktacije krave moraju biti dodatno zaštićene od toplotnog stresa. Rezultati su prikazani na Grafikonu 2.

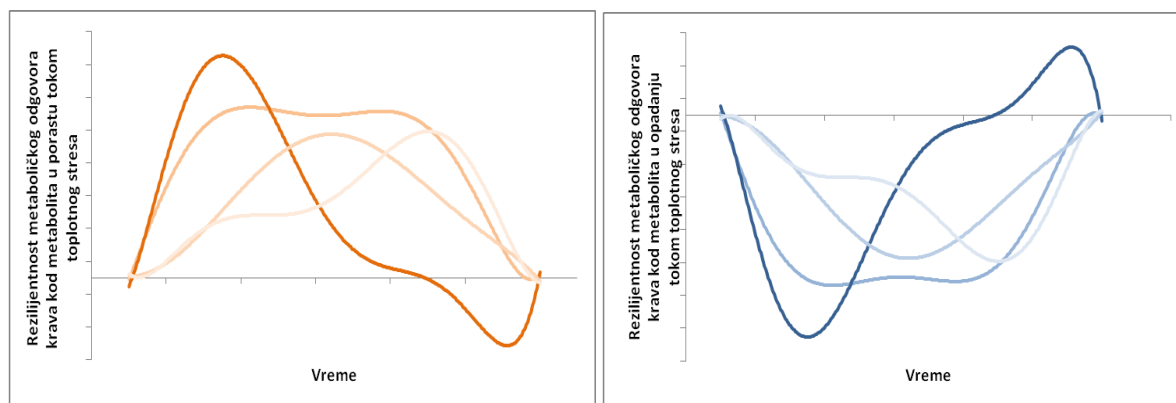


Grafikon 2. Kriva rezilijencije proizvodnje mleka kod krava u ranoj, srednjoj i kasnoj laktaciji kao odgovor na toplotni stres

Figure 2. Resilience curve of milk production in early, mid and late lactation cows in response to heat stress

Metabolički parametri kod krava pokazuju 4 prototipa krivih rezilijencije po obliku, s tim što krive mogu ići u pozitivnom smeru i u negativnom smeru u zavisnosti od toga da li vrednost metabolita raste ili opada. Prvi tip krive je ona kod koje dolazi do naglog porasta u jednom smeru, potom dolazi do brzog vraćanja na početnu vrednost i odlazak vrednosti metabolita u suprotnom smeru (ako je rastao on tada opada, a ako je opadao on tada raste). Ovaj tip krive pokazuju kortizol, insulin, T3, T4, NEFA, glukoza, urea i broj neutrofila. Drugi tip krive je kriva kod koje vrednost naglo poraste/opadne i potom se održava na tom nivou tokom delovanja toplotnog stresa i zatim se naglo vraća na početni položaj. Tu spada odgovor BHB. Treći tip krive je kriva kod koje dolazi do laganog opadanja/porasta metabolita, sa najvećom devijacijom pri sredini eksperimentalnog perioda, pa potom dolazi do laganog povratka na početni nivo. Takvu krivu je pokazao holesterol, broj eritrocita, leukocita i trombocita, MCV, HGB, MPV, AST i GGT. Četvrti tip krive je kriva kod koje dolazi do laganog opadanja/porasta vrednosti krvnog parametra tokom vremena i tu spada odgovor limfocita, ukupnih proteina, albumina i triglicerida. Prvi i drugi tip krive imaju najveći kumulativni efekat na vrednost metabolita, dok treći i četvrti tip krive pokazuju manje kumulativne efekte vrednosti metabolita tokom ogleđnog perioda. Rezultati su prikazani na Grafikonu 3.

Kumulativna promena metaboličkih parametara i kumulativni gubitak proizvedenog mleka izražen kroz površinu ispod krive rezilijencije predstavlja dobar model za ispitivanje uticaja metaboličke adaptacije krava u toplotnom stresu na proizvodnju mleka zbog značajnih korelacija koje su ostvarene između ovih kumulativnih efekata – površina ispod krive. Dobijene korelacije su mnogo veće i odnosu na korelacije koje su ostvarene kod ispitivanja uticaja koncentracije metabolita na količinu proizvedenog mleka. Rezultati su prikazani u Tabeli 1.



Grafikon 3. Krive rezilijencije metaboličke adaptacije krava za metaboličke parametre koji su u porastu i koji su u opadanju tokom toplotnog stresa

Figure 3. Resilience curves of metabolic adaptation of cows for metabolic parameters that increase and that decrease during heat stress

Tabela 1. Korelacija između kumulativne promene proizvodnje mleka i vrednosti metaboličkih parametara na kumulativni gubitak mleka kod krava u toplotnom stresu. Kumulativni efekat predstavljen kao površina ispod krive rezilijencije.

Table 1. Correlation between cumulative change in milk production and values of metabolic parameters on cumulative milk loss in cows under heat stress. Cumulative effect represented as area under the resilience curve.

	Tip krive	Pravac promene	MlekoAUC kumul gubitak	Korelacija termoneutralni i period najvećeg toplotnog stresa	Statistički značaj između koefic.korelac
Mleko	1-3	Opada	0,95 (p<0,001)	0,72 (p<0,001)	p<0,01
NEFA	1	Raste pa opada	0,78 (p<0,001)	0,21 (p<0,05)	p<0,01
BHB	2	Raste	0,89 (p<0,001)	0,25 (p<0,05)	p<0,01
Glu	1	Raste pa opada	0,86 (p<0,001)	0,23 (p<0,05)	p<0,01
Chol	3	Opada	0,85 (p<0,001)	0,13 (NS)	p<0,01
TGC	4	Opada	0,72 (p<0,001)	0,18 (NS)	p<0,01
TPROT	4	Raste	0,73 (p<0,001)	0,19 (NS)	p<0,01
ALB	4	Raste	0,78 (p<0,001)	0,15 (NS)	p<0,01
Urea	1	Raste pa opada	0,79 (p<0,001)	0,22 (p<0,05)	p<0,01
AST	3	Raste	0,78 (p<0,001)	0,14 (NS)	p<0,01
GGT	3	Raste	0,76 (p<0,001)	0,17 (NS)	p<0,01
Insulin	1	Raste	0,92 (p<0,001)	0,23(p<0,05)	p<0,01
Kortizol	1	Raste pa opada	0,87 (p<0,001)	0,21(p<0,05)	p<0,01
T3	1	Opadaa	0,98 (p<0,001)	0,25(p<0,05)	p<0,01
T4	1	Opada	0,92 (p<0,001)	0,23(p<0,05)	p<0,01
RBC	3	Opada	0,86 (p<0,001)	0,09 (NS)	p<0,01
HGB	3	Opada	0,81 (p<0,001)	0,12 (NS)	p<0,01
MCV	3	Opada	0,75 (p<0,001)	0,15 (NS)	p<0,01
WBC	3	Opada	0,79 (p<0,001)	0,19 (NS)	p<0,01
Neu	1	Raste pa opada	0,80 (p<0,001)	0,22(p<0,05)	p<0,01
Ly	4	Opada	0,84 (p<0,001)	0,21(p<0,05)	p<0,01
PLT	3	Opada	0,78 (p<0,001)	0,09 (NS)	p<0,01
MPV	3	Raste	0,73 (p<0,001)	0,09 (NS)	p<0,01

Glavni razlog za pad mlečnosti u toplotnom stresu predstavlja metabolička adaptacija organizma. Hristov i sar. (2007) su utvrdili da se pri temperaturi od 35°C, mlečnost smanjuje za 33%, dok se pri temperaturi od 40°C mlečnost smanji za 50%. Smatra se da hrana se kao uzrok može dovesti u vezu onda kada je njen unos smanjen za trećinu. U prilog navedenom ide i ispitivanje, koje su radili gde je nađena linearna redukcija iskorišćavanja suve materije hrane (20,23 kg/dan) u odnosu na proizvodnju mleka (20,26 kg /dan) pri vrednostima THI indeksa višim od 70, a promena unosa suve materije hrane prikazana je i validirana u novijoj meta-analizi (Chang-Fung-Martel i sar., 2021). Zbog toga, sa manjim odstupanjima, metabolička adaptacija na toplotni stres u velikoj meri podseća na metabolički stresni

odgovor kod krava u ranoj laktaciji i negativnom energetsom bilansu (Cincović, 2016). Određene razlike postoje samo u dinamici razvoja metaboličkih promena.

Tokom toplotnog stresa dolazi do povećane absorpcije glukoze preko digestivnog trakta i bubrega, a istovremeno je povećana glikogenoliza u jetri. Sa druge strane, korišćenjem glukoze kao izvora energije dobija se manja količina proizvedene toplote, jer je kalorigeni efekat manji u odnosu na količinu energije, koja se dobija razgradnjom masti. Koubkova i sar. (2002) su pronašli da se tokom toplotnog stresa nivo glukoze povećava sa 2,98 na 3,35 mmol/L. O'Brien i sar. (2010) su zaključili da je koncentracija glukoze kod krava u toplotnom stresu bila niža u odnosu na kontrolnu grupu, a Baumgard i sar. (2013) su došli do istih rezultata. Cincović i sar. (2012) su pošli od pretpostavke da su krave, koje imaju očuvanu sposobnost da mobilišu lipide manje osetljive na insulin. Krave su podeljene u dve grupe, jedna sa sniženom koncentracijom NEFA i druga sa povećanom koncentracijom NEFA. Obe grupe su izložene toplotnom stresu, i merena je koncentracija glukoze i NEFA nakon intravenskog testa opterećenja glukoze, zaključeno je da je koncentracija glukoze bila značajno viša kod krava sa očuvanom lipomobilizacijom. Koncentracija NEFA je takođe pokazivala tendenciju da bude viša kod krava sa očuvanom lipomobilizacijom. Wheelock i sar. (2011) su zaključili da je koncentracija insulina imala tendenciju povećanja sa 0,58 na 0,78 mmol/L kod krava u toplotnom stresu. Toplotni stres redukuje lipolitičku i istovremeno povećava lipogenu enzimsku aktivnost, čime se smanjuje sposobnost mobilizacije lipida i smanjuje koncentracija NEFA u plazmi. Ekspresija adipoznog LPL gena (adipoze LPL gene expression) je povećana čime se povećava nakupljanje triglicerida u jetri, što smanjuje njihovo prisustvo u krvi i može kompromitovati sintetsku sposobnost jetre kada opada i vrednost holesterola te napraviti sklonost ka ketogenezi (Delić i sar., 2020). Kao posledica povećanog katabolizma proteina tokom ekspozicije toplotnom stresu, dolazi i do povećanja koncentracije uree i kreatinina, a ovu činjenicu dokazali su i Mazzullo i sar. (2014). Istraživači su utvrdili povećanje koncentracije uree (35,63 mg/dl) i kreatinina (2,19 mg/dl) tokom letnje sezone, a ispitivane vrednosti tokom proleća iznosile su 27,80 mg/dl za ureu i 2,09 mg/dl za kreatinin. Isti istraživači su utvrdili povećanje koncentracija ukupnih proteina i albumina (7,61g/dl ukupnih proteina i 3,19 g/dl albumina) tokom letnje sezone, dok su vrednosti posmatranih parametara tokom proleća iznosile (7,27 g/dl za ukupne protein i 3,08 g/dl za albumine). Promena vrednosti uree može biti u vezi sa proteolizom u akutnom stresu, ali u kasnijem periodu dolazi do smanjenog unosa hrane te je samim tim i smanjena koncentracija uree (Đoković i sar., 2013), što je bio rezultat našeg dugotrajnog posmatranja krava. Krave sa znatnim padom proizvodnje mleka (preko 18%) tokom toplotnog stresa pokazale su veliko smanjenje koncentracije glukoze i NEFA i povećane koncentracije insulina i indeksa insulinske osetljivosti u odnosu na krave sa umerenim ili malim smanjenjem proizvodnje mleka (Majkić i sar., 2017). Nađeno je da krave pod stresom pokazuju smanjenje proizvodnje mleka, glukoze, neesterifikovanih masnih kiselina (NEFA) i odnosa glukoze u insulin, dok su vrednosti insulina, faktora nekroze tumora- α (TNF- α) i indeksa insulinske osetljivosti (RQUICKI) povišene. TNF- α je pokazao tendenciju da reguliše pomenutu korelaciju, a ostali metabolički parametri su pokazali nesignifikantan efekat na korelaciju između THI i proizvodnje mleka. Zaključeno je da varijacije u proizvodnji mleka tokom toplotnog stresa mogu biti bolje predviđene kada se THI koristi u kombinaciji sa glukozom i TNF- α kao metabolički prediktor (Majkić i sar., 2018). Imunološki i endokinoški odgovori kod krava u toplotnom stresu su veoma značajni (.). Promena imunogenosti uz promenu koncentracije kortizola kao glavnog stresnog hormona predstavlja osnovu za razumevanje prevencije i rezilijencije na toplotni stres (Gupta i sar., 2023).

Inflamatorni odgovor ali i direktno delovanje toplotnog stresa utiče na hematološke vrednosti. U preglednom radu Bagath i sar. (2019) pokazano je da kod krava dolazi do opadanja vrednosti leukocita, koja nastaje kao posledica opadanja limfocita, a vrednost neutrofila je bila promenljiva ali češće povišena. U israživanjima Sinha i sar. (2019) ispitan je uticaj visokih temperatura na hematološke parametre. Rezultati su pokazali da je koncentracija hemoglobina i parameter bele krvne loze bila statistički značajno niža u porređenju sa kontrolnom grupom. Niža koncentracija hemoglobina se može objasniti hmodilucijom, usled konzumiranja veće količine vode. Ukupan broj eritrocita je takođe bio smanjen, a razlog za to je hemoliza koja je nastala kao posledica hmodilucije. Kao posledica tiroidne supresije može doći do smanjenja eritropoeze, što može imati uticaja na parametre crvene krvne loze. U studiji (Mazzullo i sar., 2014) Broj eritrocita je pokazao značajno smanjenje uz istovremene promene Hb i Hct tokom ispitivanog perioda (Casella i sar., 2013). Promene tokom ispitivanog perioda mogu se pripisati promenama u metabolizmu vode. Visoke temperature okoline mogu dovesti do većeg gubitka vode preko površine kože evaporacijom, kao i preko respiratornog trakta, što zahteva kompenzacioni unos vode za regulisanje telesne temperature. Depresija eritrocita, Hb i Hct izazvana toplotom kod izloženih krava je bio povezan sa efektom hmodilucije, jer se više vode transportuje u cirkulatorni sistem za potrebe hlađenja procesom evaporacije (Koubkova i sar., 2002). Zajedno sa smanjenjem Hb i Hct, smanjenje MCV i MCH pri

visokim temperaturama životne sredine sugerše da je ova adaptacija povezana sa smanjenjem potreba ćelija za kiseonikom u cilju smanjenja metaboličkog toplotnog opterećenja (El-Nouti i sar., 1990). Međutim, smanjen MCV se može videti i kod nedostatka gvožđa i hroničnog gubitka krvi. Rezultati (Mazzulo i sar., 2014) su pokazali smanjenje vrednosti PLT povezano sa porastom temperature.

Sve navedene adaptacije pronađene su u našim istraživanjima uz opis kumulativnih promena i magnitude promena kroz krive rezilijentnosti. Ipak, površina ispod krivih rezilijentnosti kao vid kumulativne adaptacije na toplotni stres pokazuje mnogo bolju povezanost sa kumulativnim gubitkom količine proizvedenog mleka u odnosu na korelacione analize koje se vrše kao pul uzoraka dobijenih iz termoneutralnog perioda i toplotnog stresa. Kumulativni efekat toplotnog stresa, odnosno kumulativna metabolička performansa predstavlja mnogo bolji model za procenu gubitka mleka kod krava, barem sa aspekta linearne povezanosti. Za praćenje kumulativnog efekta potrebno je uvrstiti nova tehnološka rešenja, kao što različiti senzori, robotizovana muža ili kompletno robotizovani farmski sistem, kako bi se pravilno procenili efekti toplotnog stresa na farmama (Ji i sar., 2020).

Zaključak

Dobijeni rezultati ukazuju da je procena rezilijentne krive od velikog značaja za ispitivanje produktivne i metaboličke adaptacije krava na toplotni stres. Različiti oblici rezilijentne krive proizvodnje mleka i vrednosti metaboličkih parametara daju različite promene u proizvodnji mleka tokom toplotnog stresa. Kumulativni efekti u vidu površine ispod rezilijentne krive predstavljaju odličan istraživački model za ispitivanje uticaja metaboličke adaptacije na proizvodnju mleka kod krava u toplotnom stresu.

Zahvalnica

Ovaj rad je rezultat projekta broj 142-451-3035/2023-01/01, koji je finansiran od strane Pokrajinskog sekretarijata za visoko obrazovanje i naučnoistraživačku delatnost Vojvodine.

Literatura

- Bagath, M., Krishnan, G., Devaraj, C., Rashamol, V.P., Pragna, P., Lees A.M., Sejian, V. 2019. The impact of heat stress on the immune system in dairy cattle: A review. *Research in veterinary science*, 126: 94-102
- Baumgard L.H., Rhoads Jr.R.P. 2013. Effects of heat stress on postabsorptive metabolism and energetics. *Animal. Review of Animal Biosciences.*, 1(1): 311-337.
- Berghof, T.V.L., Poppe, M., Mulder, H.A. 2019. Opportunities to improve resilience in animal breeding programs. *Front Genet.*, 9: 15 p.
- Casella, S., Scianò, S., Zumbo, A., Monteverde, V., Fazio, F., Piccione, G. 2013. Effect of seasonal variations in Mediterranean area on haematological profile in dairy cow. *Comp. Clin. Pathol.*, 22: 691–695.
- Chang-Fung-Martel, J., Harrison, M. T., Brown, J. N., Rawnsley, R., Smith, A. P., Meinke, H. 2021. Negative relationship between dry matter intake and the temperature-humidity index with increasing heat stress in cattle: a global meta-analysis. *International Journal of Biometeorology*, 65(12): 2099-2109.
- Cincović, M. 2016. Metabolički stres krava. Monografija. Poljoprivredni fakultet Novi Sad – Departman za veterinarsku medicinu, Novi Sad.
- Cincović, M.R., Belić, B., Stevančević, M., Toholj, B., Lako, B., Potkonjak, A. 2012. Uticaj stepena lipomobilizacije na rezultate testa opterećenja glukozom kod mlečnih krava u toplotnom stresu. *Veterinarski glasnik* 66(1-2):3-11.
- Cincović, M.R., Majkić, M., Belić, B., Plavša, N., Lakić, I., Radinović, M. 2017. Thermal comfort of cows and temperature humidity index in period of 2005-2016 in Vojvodina region (Serbia). *Acta Agriculturae Serbica*, 22(44): 133-145.
- Cincović, M.R., Belić, B.M., Toholj, B.D., Radović, I.V., Vidović, B.R. 2010. The influence of THI values at different periods of lactation on milk quality and characteristics of lactation curve. *Journal of Agricultural Sciences (Belgrade)*, 55(3): 235-241.
- Delić, B., Belić, B., Cincović, M. R., Djokovic, R., Lakić, I. 2020. Metabolic adaptation in first week after calving and early prediction of ketosis type I and II in dairy cows. *Large Animal Review*, 26(2): 51-55.
- Djoković, R., Kurčubić, V., Ilić, Z., Cincović, M., Petrović, M., Fratrić, N., Jašović, B. 2013. Evaluation of metabolic status in Simmental dairy cows during late pregnancy and early lactation. *Vet Arhiv*, 83(6): 593-602.
- El-Nouty, F.D., Al-Haidary, A.A., Salah, M.S. 1990. Seasonal variation in hematological values of high- and average yielding Holstein cattle in semi-arid environment. *J. King Saud. Univ*, 2: 173–182.
- Galán, E., Llonch, P., Villagrà, A., Levit, H., Pinto, S., Del Prado, A. 2018. A systematic review of non-productivity-related animal-based indicators of heat stress resilience in dairy cattle. *PloS one*, 13(11): e0206520.
- Gupta, S., Sharma, A., Joy, A., Dunshea, F.R., Chauhan, S.S. 2023. The Impact of Heat Stress on Immune Status of Dairy Cattle and Strategies to Ameliorate the Negative Effects. *Animals* 13: 107.

- Hristov, S., Stanković, B., Joksimović-Todorović, M., Bojkovski, J., Davidović, V. 2007. Uticaj toplotnog stresa na proizvodnju mlečnih krava, Zbornik naučnih radova PKB, 13 (3-4): 47-54.
- Ji, B., Banhazi, T., Ghahramani, A., Bowtell, L., Wang, C., Li, B. 2020. Modelling of heat stress in a robotic dairy farm. Part 4: Time constant and cumulative effects of heat stress. *Biosystems Engineering*, 199: 73-82.
- Kadzere, C. T., Murphy, M. R., Silanikove, N., Maltz, E. 2002. Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livestock production science*, 77(1): 59-91.
- Kašná, E., Zavadilová, L., Vařeka, J., Kyselová, J. 2022. General resilience in dairy cows: A review. *Czech Journal of Animal Science*, 67(12): 475-482.
- Koubkova, M., Knizkova, L., Kunc, P., Hartlova, H., Flusser, J., Dolezal, O. 2002. Influence of high environmental temperatures and evaporative cooling on some physiological, hematological and biochemical parameters in high-yielding dairy cows. *Czech Journal of Animal Science*, 47(8): 309-318.
- Linkov, I., Trump, B.D. 2019. *The science and practice of resilience*. New York, NY: Springer; 2019.
- Lonch, P., Hoffmann, G., Bodas, R., Mirbach, D., Verwer, C., Haskell, M.J. 2020. Opinion paper: Measuring livestock robustness and resilience: Are we on the right track? *Animal*, 14(4):667-669.
- Majkić, M., Cincović, M.R., Belić, B., Plavša, N., Hristov, S., Stanković, B., Vranješ-Popović, A. 2018. Variations in milk production based on the temperature-humidity index and blood metabolic parameters in cows during exposure to heat stress. *Animal Science Papers and Reports*, 36 (4): 359-369.
- Majkić, M., Cincović, M. R., Belić, B., Plavša, N., Lakić, I., Radinović, M. 2017. Relationship between milk production and metabolic adaptation in dairy cows during heat stress. *Acta Agriculturae Serbica*, 22(44): 123-131.
- Mazzullo, G., Rifici, C., Lombardo, S.F., Agricola, S., Rizzo, M., Piccione, G. 2014. Seasonal variations of some blood parameters in cow. *Large Animal Review*, 20(2): 81-84.
- O'Brien, M.D., Rhoads, R.P., Sanders, S.R., Duff, G.C., Baumgard, L.H. 2010. Metabolic adaptations to heat stress in growing cattle. *Domestic animal endocrinology*, 38(2): 86-94.
- Poulin, C., Kane, M.B. 2021. Infrastructure resilience curves: Performance measures and summary metrics. *Reliability Engineering & System Safety*, 216: 107926.
- Sinha, R., Kamboj, M. L., Ranjan, A., Devi, I. 2019. Effect of microclimatic variables on physiological and hematological parameters of crossbred cows in summer season. *Indian Journal of Animal Research*, 53(2): 173-177.
- Van Dixhoorn, I. D. E., de Mol, R. M., Van der Werf, J. T. N., van Mourik, S., van Reenen, C. G. 2018. Indicators of resilience during the transition period in dairy cows: A case study. *J Dairy Sci* 101(11): 10271-10282.
- Wheelock, J.B., Rhoads, R.P., VanBaale, M.J., Sanders, S.R., Baumgard, L.H. 2010. Effects of heat stress on energetic metabolism in lactating Holstein cows. *J Dairy Sci*, 93(2): 644-655.

Resilience curve and cumulative response of cows to heat stress

Mira Majkić^a, Marko Cincović^a, Jovan Spasojević^a, Ivica Jožef^a,
Bojan Blond^a, Dražen Kovačević^a

^aUniversity of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Department of veterinary medicine, Novi Sad, Serbia

*Corresponding author: miramajkic@gmail.com

ABSTRACT

Resilience is the capacity of a system to overcome adverse conditions. The capacity of animals to resist or recover from the action of some stress (in this case heat stress) is recorded in longitudinal performance measurements before, during and after the perturbation period. As a result of this measurement, a resilience curve is obtained. The resilience curve has several measures that indicate the response to an adverse factor. The area under the curve represents the cumulative response of the organism, which is obtained as a product of the stress action time and the value of the parameter we are observing. The goal of this research is to examine the resilience of cows to heat stress through the formation of a resilience curve and a comparison of the areas under the curve for milk production and metabolic adaptation. The value of the THI index in the territory of Vojvodina changes throughout the year, so that the values are highest in the summer period. The average daily value of the THI index already in June exceeds the threshold value of 72 and amounts to 75 units, while in July the THI is at the level of 78 units, and in August 77 units. During September, the average value is 71, while in the other months it is far below the critical value. When looking at the relationship between THI and milk production, the results of the study found three categories of cows: cows in which there is a negative correlation between THI and milk production (60%, cows in middle and late lactation), cows in which there is no relationship between THI and the amount of milk produced (15% of cows in the period of the first third of lactation after peak lactation) and cows in which there is a positive correlation between THI and milk production (15% of cows in the period from parturition to peak lactation). Metabolic parameters in cows show 4 prototypes of resilience curves per form, with the fact that the curves can go in a positive direction and in a negative direction depending on whether the value of the metabolite increases or decreases. The first type of curve is the one in which there is a sudden increase in one direction, then there is a rapid return to the initial value and the departure of the metabolite value in the opposite direction (if it increased, it then decreases, and if it decreased, it then increases). Cortisol, insulin, T3, T4, NEFA, glucose, urea and neutrophils show this type of curve. The second type of curve is a curve in which the value rises/falls sharply and then is maintained at that level during the heat stress and then suddenly returns to the initial position (response of BHB). The third type of curve is a curve in which there is a slight decrease/increase of metabolites, with the highest deviation near the middle of the experimental period, and then there is a slight return to the initial level. Cholesterol, erythrocyte, leukocyte and platelet count, MCV, HGB, MPV, AST and GGT showed such a curve. The fourth type of curve is a curve in which there is a slight decrease/increase in the value of the blood parameter over time, and this includes the response of lymphocytes, total proteins, albumin and triglycerides. The first and second types of curves have the greatest cumulative effect on the metabolite value compared to the third and fourth types. Cumulative change in metabolic parameters and cumulative loss of milk produced expressed through the area under the resilience curve represents a good model for examining the impact of metabolic adaptation of cows in heat stress on milk production due to the significant correlations that were realized between these cumulative effects that represent the area under the resilience curve.

KEY WORDS: cow, heat stress, cumulative effects, milk production, metabolic adaptation, complete blood count