

KONCENTRACIJE KALCIJUMA, NEORGANSKOG FOSFORA I MAGNEZIJUMA U KRVNOM SERUMU KRAVA TOKOM TRANZICIONOG PERIODA I PUNE LAKTACIJE

Jašović Boban¹, Đoković Radojica², Kuréubić Vladimir², Milun D. Petrović²,
Dosković Vladimir², Petrović Miloš², Rakonjac Simeon²

Izvod: Cilj ovog rada je bio da se odredе koncentracije kalcijuma (Ca), neorganskog fosfora (P) i magnezijuma (Mg) u krvi, indikatora stanja metabolizma neorganskih materija kod mlečnih krava Simentalske rase (n=45) u tranzicionom periodu i tokom pune laktacije. Ispitivane krave su podeljene u tri grupe. U prvoj grupi (n=15) nalazile su se klinički zdrave visoko gravidne krave, u drugoj grupi klinički zdrave krave (n=15) u puerperumu, dok su treću grupu (n=15) činile klinički zdrave krave u punoj laktaciji. Od svih ispitivanih krava uzeti su uzorci krvi. Iz dobijenog krvnog seruma određivane su koncentracije kalcijuma, magnezijuma i neorganskog fosfora spektrofotometrijskom metodom. Vrednosti ispitivanih makroelemenata u krvi su bile u fiziološkim granicama kod svih ispitivanih grupa krava. Koncentracije kalcijuma, magnezijuma i neorganskog fosfora u kvnom serumu kod grupe krava u puerperumu bile su u statistički značajno manjem ($p<0.05$) u odnosu na vrednosti ovih parametara krvi kod krava u visokom graviditetu i tokom pune laktacije, što može ukazati na pojačano korišćenje ovih makroelemenata iz krvi za potrebe mlečne žlezde na početku laktacije. Rezultati ovih ispitivanja ukazuju na očuvanu homeostazu ispitivanih makro-elemenata u krvi kod krava u tranzicionom periodu i tokom pune laktacije, što može ukazati da ne postoji deficit neorganskih materija, odnosno na adekvatno snabdevanje iz alimentarnih izvora.

Ključne reči: krave, tranzicioni period, makroelementi u krvi.

Uvod

U periodu neposredno pre i posle teljenja (peripartalni period, tranzicioni period) i uspostavljanjem laktacije organizam visoko-mlečnih krava je opterećen do krajnjih fizioloških granica, a maksimum se ostvaruje do 120. dana laktacije, što značajno optereće metabolizam mlečnih krava, a posebno organe za varenje, jetru, vime i organe za reprodukciju. Metabolička stanja negativnog bilansa energije kod mlečnih krava (gladovanje, teljenje i laktacija) dovode do mobilizacije masti, proteina i neorganskih materija iz telesnih depoa i njihovog povećanog korišćenja od strane mlečne žlezde u cilju održavanja visoke laktacije. (Overton i Waldron, 2004; Reynolds i sar. 2003; Liesegangi sar.2007; Đoković i sar. 2010). Tranzicioni period je period od 3 nedelje pre teljenja do 3 nedelje posle teljenja, kada nastaje smanjeno unošenje suve materije kod mlečnih krava, dok se zahtevi za energijom, organskim i neorganskim materijama značajno povećavaju za potrebe laktacije (Overton i Waldron, 2004).

¹ Univerzitet u Prištini, Poljoprivredni fakultet, Kopaonička bb, Lešak, Srbija;

² Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija.

Makroelementi su supstance neorganskog porekla, neophodne za pravilno održavanje životnih funkcija domaćih životinja (Soetan i sar. 2010; Sharma i sar. 2006; Kurćubić i sar. 2010). Neophodni su za odvijanje fizioloških procesa povezanih sa zdravstvenim statusom, rastom i reprodukcijom, kao i regularnom funkcijom imunog sistema, proizvodnjom hormona, sintezom tkiva, aktivnošću enzima, proizvodnjom energije, sintezom vitamina, neuromuskularne transmisije, proizvodnje mleka i koagulacije krvi (Jacobsen i sar., 1971; Miller, 1975).

Koncentracije kalcijuma (Ca), neorganskog fosfora (P) i magnezijuma (Mg) u krvi kod krava u peripartalnom periodu i tokom laktacije predstavljaju odraz njihovog metabolizma, odnosno unošenja ovih makroelemenata putem hrane i njihovo korišćenje od strane perifernih tkiva, a naročito mlečne žlezde. Svako smanjenje koncentracija ovih parametara u krvi u odnosu na fiziološke vrednosti kod krava tokom laktacije, odnosno njihov nedostatak, kao i njihov nepravilan međusobni odnos, najčešće dovodi do subkliničkih i kliničkih manifestacija koje se nepovoljno odražavaju na zdravlje i plodnost životinja (Daniel, 1983; Ivanov i sar. 1993; Sevinc i sar. 1997; Kupczynski i sar. 2002; Lean i sar., 2006; Liesegangi i sar. 2007). Niske koncentracije kalcijuma i magnezijuma u krvi kod mlečnih krava u puerperiju smanjuju stvaranje insulina, što dovodi do narušavanja metabolizma organskih materija i predispoziciju za nastanak ketoze i masne jetre (Goff i Horst, 1997). Producija mleka i reproduktivne performance kod mlečnih krava su smanjene. Tonus mišića materice je narušen, učestala su zaostajanja posteljice, involucija materice je usporena i produžen je servis period (Daniel, 1983). Deficit magnezijuma u hrani kod mlečnih krava smanjuje sintezu i sekreciju parathormona, smanjuje se resorpcija kalcijuma i neorganskog fosfora u digestivnom traktu, umanjujući sintezu $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}$. Za 62% smanjuje se rizik od nastanka mlečne groznice (puerperalna pareza) kada se koncentracija magnezijuma povećava sa 0.3 na 0.4% suve mase u obroku krava pre teljenja (Wang i Beede 1992; Goff i Horst, 1997; Lean i sar., 2006).

Cilj ovog rada je bio da se odrede koncentracije kalcijuma, magnezijuma i neorganskog fosfora u krvi kod krava Simentalske rase tokom tranzisionog perioda i punе laktacije.

Materijal i metod rada

Ogledne životinje: Određivanje koncentracija makroelemenata: kalcijuma (Ca), magnezijuma (Mg), i neorganskog fosfora (P) u krvnom serumu oglednih životinja (junica i krava) sprovedeno je na farmi mlečnih krava „FARMAD“, lociranoj u selu Vrdila kod Kraljeva. Na farmi je u momentu realizacije ogleda bilo 132 muzna grla (ukupno 221 grlo, svih kategorija). Sva ogledna goveda su bila Simentalske rase (uvežena iz Bavarske). Tip farme je zatvoreni, remont stada isključivo iz sopstvenog podmlatka, a goveda se gaje u nevezanom sistemu (liga boksevi). Odabrane su 45 ogledne životinje različite starosti, i podeljene su u 3 ogledne grupe. Prvu oglednu grupu (A) je sačinjavalo 15 klinički zdravih krava, od petnaest do jednog dana do teljenja. U drugoj grupi (B) je ispitivano 15 klinički zdravih grla u puerperiumu, do petnaest dana posle teljenja. Za treću oglednu grupu (C) je odabранo 15 klinički zdravih krava u punoj laktaciji (90-120 dana). Krave su bile prosečne mase $694.4 \pm$

41.8kg u visokom graviditetu i 637.7 ± 37.9 kg tokom laktacije. Imale su prosečnu mlečnost od 66950 ± 4481 obračunatih na 305 dana laktacije. Ogled je postavljen tokom iste sezone sredinom aprila meseca. Obrok krava je bio pripremljen u skadu sa hranidbenim i energetskim potrebama krava.

Uzorkovanje materijala: Uzorci krvi od svih krava u ogledu (n=45) su uzeti iz repne vene (v. coccygica), pomoću vacutainera (Terumo® Venodate) i sterilnih igala. Nakon uzimanja, krv je spontano koagulisala, na sobnoj temperaturi. Dobijeni krvni serumi su ocedeni, i nakon toga centrifugirani, na 3.000 obrtaja/minuti. Odvojeni serumi su pipetama prenošeni u sterilne epruvete, i čuvani do ispitivanja na temperaturi od -20°C .

Biohemijska ispitivanja: Određivanje koncentracija Ca, Mg i P u uzorcima krvnog seruma oglednih plotkinja je izvršeno standardizovanom metodom (atomska apsorpciona spektrofotometrija - AAS) - SRPS ISO 6869:2002, na uređaju UNICAM 969, u hemijskoj laboratoriji Veterinarskog specijalističkog instituta „Kraljevo“.

Statistička analiza: Statistička analiza dobijenih podataka rađena je putem ANOVA-procedure. Analizom varijanse i LSD testom procenjena je verovatnoća značajnosti statističkih razlika srednjih vrednosti prametara krvi između grupa krava korišćenih u eksperimentu. Verovatnoća je data za $P<0.05$ i $P<0.01$.(Microsoft STATISTICA ver.5.0 Stat.Soft.Inc.1995).

Rezultati istraživanja i diskusija

Makroelementi su neophodni za funkcionisanje esencijalnih biohemijskih procesa u organizmu mlečnih krava, a deficiti ovih neorganskih materija u zavisnosti od stepena mogu dovesti do kliničkih i subkliničkih simptoma, što može značajno umanjiti produktivne i reproduktivne performanse kod mlečnih krava (Dobrzański i sar 2005). Rezultati ispitivanja koncentracija makro i mikroelemenata u krvnom serumu kod krava tokom tranzisionog perioda i pune laktacije, prikazane su u tabeli br.1.

Tabela 1: Koncentracije makroelemenata (Ca, P i Mg) u krvnom serumu mlečnih krava u visokom graviditetu, u puerperiju i tokom pune laktacije.

Table 1. Serum levels of macronutrients (Ca, P i Mg) in dairy cows during late gestation, puerperium and peak lactation.

	Kasni graviditet <i>Late pregnancy</i>	Puerperium <i>Puerperium</i>	Puna laktacija <i>Peak of lactation</i>		
Grupa-Group	A	B	C		
n	15	15	15	$P<0.05$	$P<0.01$
Ca (mmol/l)	2.35 ± 0.24	2.17 ± 0.22	2.53 ± 0.29	A:B	B:C
P (mmol/l)	2.09 ± 0.34	1.97 ± 0.39	2.41 ± 0.38	A:C	B:C
Mg (mmol/l)	1.10 ± 0.26	1.02 ± 0.32	1.28 ± 0.20	B:C	

Na početku laktacije kod krava, homeostatski mehanizmi regulacije Ca i neorganskog P prilagođavaju se značajno povećanim zahtevima za Ca i P od strane

mlečne žlezde. Mobilizacija Ca iz kostiju se povećava kao i pojačana resorpcija iz gastro intestinalnog trakta kako bi se uspostavila homeostaza. Utvrđeno je da krave sa visokom proizvodnjom mleka znatno više mobilišu Ca i P iz kostiju u odnosu na krave sa niskom prouzvodnjom mleka (Liesegangi sar. 2007). Početak laktacije uslovjava nagle i visoke zahteve za Ca i P iz organizma krava neophodnih za sintezu sastojaka mleka. Kod pojedinih krava, smanjivanje koncentracija Ca i P u krvi na početku laktacije je izraženo, pa nastaje drastičan pad koncentracija Ca i P u krvi (od uobičajenih 2-3 mmol/l na <1.5 mmol/l), što dovodi do hipokalcemije, smanjuje neuro-mišićnu nadražljivost i dovodi do pojave mlečne groznice (puerperalna pareza). (Goff i Horst, 1997; Wang i Beede 1992; Sharma i sar. 2006). Puls (1988) je predložio klasifikaciju vrednosti Ca, P i Mg u krvi kod mlečnih krava na osnovu njihovih koncentracija i to na deficitarne, granične, adekvatne i visoke koncentracije u krvi.

Tabela 2: Klasifikacija vrednosti koncentracija Ca, P i Mg u krvi kod mlečnih krava
(Puls, 1988)

Table 2. Classification of blood Ca, P and Mg concentrations in dairy cows (Puls, 1988)

Status	Ca (mmol/l)	P (mmol/l)	Mg (mmol/l)
Deficit/deficit	0.25 - 1.5 mmol/l	0.16 - 1.28 mmol/l	0.473-0.516 mmol/l
Granične/limit	1.5 - 2.0 mmol/l	1.28 - 1.44 mmol/l	0.516 - 0.774 mmol/l
Adekvatan/adequat	2.0-3.0 mmol/l	1.44 - 2.56 mmol/l	0.774 - 1.505 mmol/l
Visok/high	> 3.0 mmol/l	2.56 – 3.84 mmol/l	> 1.505 mmol/l

Iz tabele br. 2 se može videti da su koncentracije Ca i P u krvnoj plazmi kod grupe krava u puerperijumu bile statistički značajno manje ($p<0.05$) u odnosu na vrednosti ovih parametara krvi kod krava u visokom graviditetu i tokom pune laktacije. Na osnovu dobijenih rezultata može se primetiti da su vrednosti Ca i P u krvi u ovim ispitivanjima bile u fiziološkim granicama (adekvatno snabdevanje) kod svih ispitivanih grupa krava, a da su se vrednosti Ca u krvi približavale graničnim kod grupe krava u puerperijumu, usled nagle i pojačane aktivnosti mlečne žlezde i pojačene mobilizacije Ca iz krvi i telesnih depoa. Do sličnih rezultata su došli i drugi autori (Jacobsen i sar., 1971; Curtis i sar. 1983; Puls, 1988; Ivanov i sar. 1993; Sevinc i sar. 1997; Kupczynski i sar. 2002; Đoković i sar. 2010). Dobijeni rezultati ukazuju na mogućnost pojave puerperalne pareze u subkliničkoj formi kod pojedinih životinja. Više od 300 enzima se aktivira uz pomoć Mg. Magnezijum je esencijalan kao kompleks Mg-ATP, za sve biosintetičke procese (glukoliza, membranski transport zavisan od energije, formiranje cikličnog AMP-a i transmisiju genetskog koda). Magnezijum je odgovoran za održavanje električnog potencijala (preko membrana nerava i mišića) i za prenos nervnog impulsa (Wacker 1980). Homeostaza Mg zavisi od optimalnog snabdevanja iz alimentarnih izvora, pa stoga koncentracija Mg zavisi od resorpcije u buragu (Fontenot i sar. 1989; Kurćubić i sar. 2010). Koncentracija Mg u krvi je bila najniža kod grupe krava u puerperijumu, ali bez statističke značajnosti ($P>0.05$) u odnosu na grupu krava pre teljenja, dok je istovremeno bila značajno manja ($P<0.05$) u odnosu na vrednosti Mg u krvi kod grupe krava u punoj laktaciji. Kod grupe mlečnih krava u peripartalnom periodu utvrđene su najniže vrednosti Mg u krvi koje su bile u fiziološkim granicama

(adekvatno snabdevanje), što može ukazati na nešto veće korišćenje Mg u krvi od strane mlečne žlezde na početku laktacije. Dobijeni rezultati su u skladu sa podacima drugih autora (Jacobsen i sar., 1971; Fontenot i sar.1989; Wang i Beede 1992; Ivanov i sar.1993, Sevinc i sar.1997; Puls 1988; Kupczynski i sar. 2002; Sharma i sar.2006).

Zaključak

Vrednosti ispitivanih makroelemenata u krvnom serumu krava su bile u fiziološkim granicama tokom tranzisionog perioda i pune laktacije.

Koncentracije kalcijuma i neorganskog fosfora u krvnom serumu kod grupe krava u puerperijumu bile su statistički značajno manje ($p<0.05$) u odnosu na vrednosti ovih parametara krvi kod mlečnih krava u visokom graviditetu i tokom pune laktacije, kao posledica pojačene mobilizacije kalcijuma i neorganskog fosfora iz krvi i telesnih depoa ka mlečnoj žlezdi na početku laktacije.

Koncentracija magnezijuma u krvi je bila niža, ali bez statističke značajnosti ($P>0.05$) kod grupe krava na početku laktacije u odnosu na grupu krava pre teljenja, dok je istovremeno bila značajno niža ($P<0.05$) u odnosu na vrednosti magnezijuma u krvi kod grupe krava u punoj laktaciji, što može ukazati na nešto veće korišćenje magnezijuma krvi od strane mlečne žlezde na početku laktacije.

Rezultati ovih ispitivanja ukazuju na očuvanu homeostazu ispitivanih makroelemenata u krvi kod mlečnih krava u tranzisionom periodu i tokom pune laktacije, što može ukazati da ne postoji deficit ispitivanih neorganskih materija, odnosno na adekvatno snabdevanje iz alimentarnih izvora.

Literatura

- Curtis C.R., Erb H.N., Sniffen C.J., Smith R.D., Powers P.A., Smith M.C., White M.E., HillmanR.B., Pearson E.J.(1983):Association of parturient hypocalcemia with eight periparturient disorders in Holstein cows. Journal of American Veterinary Medicine Association, Vol.183, pp. 559-561.
- Cvetković A., Ćirić V., Jovanović M., Litričin V., Lješević Ž., Marjanović D., Paunović S., Petrović M. (1986):Klinička dijagnostika unutrašnjih bolesti domaćih životinja. Univerzitet u Beogradu, Veterinarski fakultet, str.332.
- Daniel R.C.W.(1983): Motility of the rumen and abomasum during hypocalcaemia.Canadian Journal of Comparative Medicine, Vol. 47, pp. 276-280.
- Dobrzański Z., Górecka H., Opaliński S., Chojnacka K., Kołacz R. (2005): Trace and ultratraceelements in cow's milk and blood (in Polish). Medicine Weterine 61 (3), pp. 301–304
- Dvořák V., Bouda J., Doubek J.(1980): Levels of Macro- and Microelements in Blood Plasma of Late-pregnant Cows and Their Foetuses. Acta Veterinaria Brno, Vol. 49, pp. 199-201.
- Đoković R., Ilić Z., Kurćubić V., Dosković V. (2010): The values of organic and inorganic blood parameters in dairy cows during the peripartal period. Savremena poljoprivreda, Vol. 59, (1-2), str. 30-36.

- Fontenot J.F., Allen V.C., Bunce, G.E., Goff J.P.(1989): Factors influencing magnesium absorption and metabolism in ruminants. *Journal of Animal Science*, Vol.67, pp. 3445-3455.
- Goff J.P., Horst R.L.(1997): Physiological changes in parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science*, Vol. 80, pp.1260-1268.
- Hansen S.L., Spears J.W., Lloyd K.E., Whisnant C.S. (2006b): Feeding a low manganese diet to heifers during gestation impairs fetal growth and development. *Journal of Dairy Science*, Vol. 89, pp.4305-4311.
- Ivanov I., Damjanović Z., Radojičić S. (1993): Poremećaj metabolizma makroelemenata u visokom graviditetu i ranoj laktaciji. *Veterinarski glasnik*, Vol.47, (4-5), str. 319-329.
- Jacobsen D.R, Hemken R.W., Button F.S., Hotton, R.H.(1971): Mineral nutrition, calcium, phosphorus, magnesium and potassium interrelationship. *Journal of Dairy Science*, Vol 50 (7),pp. 935-944.
- Kupczynski R., Chudoba-Drozdzowska B.(2002):Values of selected biochemical parameters of cows blood during their dryning-off and the beginning of lactation. *Electronic journal of Polish Agricultural Univerzities*, Vol.55, pp. 225-231.
- Kurćubić V., Ilić Z., Vukašinović M., Đoković R.(2010):Effect of Dietary Supplements of Sodium Bicarbonate on Tissue Calcium (Ca) and Magnesium (Mg) Levels in Beef Cattle. *Acta Agriculturae Serbica*, 29 (15), pp. 55-76.
- Lean I.J., DeGaris P.J., McNeil D.M., Block E.(2006): Hypocalcaemia in dairy cows: meta-analysis and dietary cation anion difference theory revisited. *Journal of Dairy Science*, Voč.89, pp. 669-684.
- Liesegang A., Chiappi C., Risteli J., Kessler J., Hess H.D.(2007): Influence of different calcium contents in diets supplemented with anionic salts on bone metabolism in periparturient dairy cows. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, Vol. 91, (3-4), pp. 120-119.
- Miller W.J.(1975): New concepts and developments in metabolism and homeostasis of inorganic elements in dairy cattle. A review. *Journal of Dairy Science*, Vol. 58, pp. 1549-1560.
- National Research Council. (2001): Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th ed.National Academy Press, Washington, D.C.
- Overton T.R., Waldron M.R. (2004): Nutritional management of transition dairy cows: Strategies to optimize metabolic health. *Journal of Dairy Science*, Vol.87:, pp. E105-E119.
- Puls R. (1998): Mineral levels in animal health, diagnostic data. Sherpa international, British Columbia, Canada.
- Reynolds C.K, Aikman P.C., Luoli B., Humpkeirs D.J., Beever D.A.(2003): Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. *Journal of Dairy Science*,Vol.86, pp.1201-1217.
- Sevinc M., Basoglu A., Birdane F., Gokcen M., Kucukfindik M. (1997): The changes of metabolic profile in dairy cows during dry period and after. *Turkish Journal of Veterinaryand Animal Science*,Vol. 3, pp. 475-478.

- Sharma M.C., Kumar P., Joshi C., Kaur H.(2006): Status of serum minerals and biochemical parameters in cattle of organized farms and unorganized farms of Western Uttar Pradesh. Journal of Animal and Veterinary Advances, Vol, 1(1), pp. 33-41.
- Soetan K.O., Olaiya C.O., Oyewole O.E.(2010): The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants: A review. African Journal of Food Science, Vol.4(5), pp. 200-222.
- Wacker W.E.C.(1980): Magnesium and Mangan. Cambridge, Mass.: Harvard University Press.
- Wang C., Beede D.K.(1992): Effects of magnesium on acid base status and calcium metabolism of dairy cows fed acidogenic salts. Journal of Dairy Science, Vol. 75,pp. 829-836.

BLOOD SERUM LEVELS OF CALCIUM, INORGANIC PHOSPHORUS AND MAGNESIUM IN TRANSITION AND PEAK LACTATION COWS

*Jašović Boban, Doković Radojica, Kurćubić Vladimir, Milun D. Petrović,
Doković Vladimir, Petrović Miloš, Rakonjac Simeon*

Abstract

The objective of this study was to determine blood levels of macronutrients in Simmental cows ($n=45$) during the transition period and peak lactation. The experimental cows were assigned to three groups: Group A ($n=15$) including clinically healthy late gestation cows, Group B ($n=15$) comprising clinically healthy cows in the puerperium, and Group C ($n=15$) made up of clinically healthy peak lactation cows. Blood samples were collected from all experimental cows. Blood serum samples were analysed for calcium, magnesium and inorganic phosphorus levels using spectrophotometry. Blood levels of macronutrients were within the physiological range in all experimental cows. Blood concentrations of calcium, magnesium and inorganic phosphorus in cows in the puerperium were statistically significantly lower ($p<0.05$) compared with those in dairy cows during late gestation and peak lactation, which may indicate the increased use of these macronutrients in early lactation for the mammary gland. The results show that the homeostasis of the macronutrients tested in the blood of transition and peak lactation dairy cows was maintained, suggesting their adequate supply from alimentary sources.

Key words: cows, transition period, macronutrients in blood.