

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

FAKULTA ZEMĚDĚLSKÁ A TECHNOLOGICKÁ

Katedra zootechnických věd

DIZERTAČNÍ PRÁCE

Úroveň energetického metabolismu dojnic a složení mléčného
tuku

Autorka práce:

Ing. Jitka Kautská

Vedoucí práce:

prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.

Konzultant práce:

doc. Ing. Eva Samková, Ph.D.

ČESKÉ BUDĚJOVICE

2022

DEDIKACE

Disertační práce byla vypracována za podpory projektů:

- | | |
|---------------------------|--|
| NAZV KUS QJ1510339 | Komplexní systém zvýšení kvality mléka, mléčných produktů a monitoring zdravotního stavu krav s cílem zvýšit přidanou hodnotu zemědělské produkce v ČR |
| NAZV KUS QJ1510336 | Výzkum a podpora produkce zdravotně a spotřebitelsky benefitních mléčných výrobků cílenou selekcí a modifikací profilu mastných kyselin mléčného tuku |
| GAJU 028/2019/Z | Genetika, zdraví zvířat a biologicky a senzoricky aktivní jako základní předpoklad kvalitních potravin a zemědělských surovin |
| GAJU 002/2016/Z | Genetika, zdraví zvířat a kvalita produktů jako základ konkurenceschopnosti |
| GAJU 152/2014/Z | Vliv produkce a úrovně steroidních hormonů na aktivitu štítné žlázy ovcí a krav |

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracoval(a) pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

V Českých Budějovicích dne:.....

.....

Ing. Jitka Kautská

Abstrakt

Cílem práce bylo vyhodnotit vztah mezi úrovní energetického metabolismu vysokoprodukčních dojnic a množstvím mléčného tuku. Dále zastoupení a obsah mastných kyselin v mléčném tuku. Byl také vyhodnocen vliv antiketogenní profylaxe přípravku s obsahem monenzinu, souběžně byly vyhodnocovány parametry metabolismu. Pokus probíhal v chovu vysokoužitkových dojnic plemene holštýn v podniku Agropodnik Košetice a.s. s Průměrná dojivost v chovu byla ve sledovaném období 11 553 kg mléka.

Nejvyšší obsah mastných kyselin byl zaznamenán v 1. měsíci laktace a jejich obsah se postupně snižoval. Stejně tak, měli nejvyšší zastoupení nasycené mastné kyseliny s krátkým řetězcem (SAFA). Aplikace monenzinu prokazatelně snížila výskyt subklinických ketóz, jak u prvotetek, tak u krav na druhé a další laktaci. Snížení obsahu kyseliny β -hydroxymáselné v krvi a mléce potvrzuje význam použité antiketogenní profylaxe.

Klíčová slova: mastné kyseliny, mléčný tuk, metabolický profil, ketóza

Abstract

The aim of this study was to evaluate the relationship between the levels of energy metabolism of high-yielding dairy cows and the amount of milk fat. Furthermore, the proportion and content of fatty acids in milk fat. The effect of antiketogenic prophylaxis of the monenzin-containing preparation was also evaluated, and the metabolic parameters were evaluated at the same time. The experiment took place in the breeding of high-yield dairy cows of the Holstein breed in the company Agropodnik Košetice a.s. s The average milk yield in breeding was 11,553 kg of milk in the observed period.

The highest acid content was recorded in the first month of lactation and their content gradually decreased. Likewise, they had the highest proportion of short-chain saturated fatty acids (SAFA). The application of monenzin has a proven incidence of subclinical ketoses, both in first-calves and in cows for second and subsequent lactation. The reduction of β -hydroxybutyric acid in blood and milk confirms the importance of the antiketogenic prophylaxis used.

Keywords: fatty acids, milk fat, metabolic profile, ketosis

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych tímto chtěla poděkovat prof. Ing. Janu TRÁVNÍČKOVÍ, CSc. a doc. Ing. Evě SAMKOVÉ, Ph.D., za cenné rady a odborné vedení při řešení úkolů předložené disertační práce. Díky patří také paní Jitce RICHTEROVÉ a Ing. Martině STAŇKOVÉ z laboratoře Katedry zootechnických věd. Závěrem bych ráda poděkovala Ing. Zuzaně Křížové, Ph.D., za podporu během celého studia a za pomoc se zpracováním disertační práce.

.....

Ing. Jitka Kautská

OBSAH

1	ÚVOD.....	9
2	LITERÁRNÍ PŘEHLED.....	10
2.1	Metabolizmus.....	10
2.1.1	Metabolizmus sacharidů.....	10
2.1.2	Metabolizmus N-látek.....	11
2.1.3	Metabolizmus lipidů.....	12
2.2	Tvorba mléka a jeho složení.....	12
2.2.1	Syntéza mléčného tuku.....	13
2.2.2	Syntéza bílkovin.....	14
2.2.3	Syntéza laktózy.....	15
2.3	Faktory ovlivňující složení mléka.....	16
2.3.1	Zdravotní stav.....	16
2.3.2	Výživa.....	16
2.3.3	Plemeno.....	17
2.3.4	Fáze laktace.....	18
2.3.5	Věk.....	18
2.4	Energetický metabolismus vysokoužitkových dojnic v rané fázi laktace.....	19
2.4.1	Metabolické důsledky negativní energetické bilance.....	19
2.4.2	Metabolické ukazatele negativní energetické bilance a profylaxe ketogeneze.....	19
2.5	Úroveň energetického metabolismu dojnic a složení mléčného tuku.....	20
2.5.1	Složení mléčného tuku v souvislosti s negativní energetickou bilancí.....	21
2.5.2	Vliv výživy a plemenné příslušnosti dojnic na složení mléčného tuku.....	21
2.6	Produkční onemocnění dojnic.....	22
2.6.1	Acidóza bachorového obsahu.....	22
2.6.2	Alkalóza bachorového obsahu.....	22
2.6.3	Dislokace slezu.....	23
2.6.4	Ketóza.....	23
2.6.5	Lipomobilizační syndrom a steatóza jater.....	25

3	CÍL PRÁCE.....	27
3.1	Dílčí cíle.....	27
3.2	Hypotéza.....	27
4	MATERIÁL A METODIKA	28
4.1	Materiál.....	28
4.1.1	Charakteristika podniku.....	28
4.1.2	Reprodukční ukazatele	29
4.1.3	Užitkovost	30
4.1.4	Zhodnocení krmné dávky	31
4.1.5	Technologie ustájení.....	31
4.1.6	Zdravotní stav	32
4.2	Metodika.....	33
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	34
5.1	Úroveň energetického metabolismu a složení mléčného tuku.....	34
5.1.1	Ukazatelé užitkovosti a úrovně energetického metabolismu v první fázi laktace.....	34
5.1.2	Obsah a složení mastných kyselin v mléčném tuku v první fázi laktace.....	36
5.1.3	Zastoupení mastných kyselin v mléčném tuku v závislosti na obsahu ketolátek v mléce v prvních 100 dnech laktace	40
5.1.4	Vliv aktivity štítné žlázy na zastoupení mastných kyselin v mléčném tuku	43
5.1.5	Úroveň energetického metabolismu a obsah volných mastných kyselin v mléčném tuku v první fázi laktace	44
5.2	Metabolický a produkční účinek profylaxe energetického deficitu a subklinických ketóz	46
5.2.1	Účinek intraruminální aplikace monenzinu na ukazatele mléčné užitkovosti dojníc v chovu Chyšná	47
5.2.2	Účinek intraruminální aplikace monenzinu na obsah kyseliny β -hydroxymáselné v mléce a krvi dojníc v chovu Chyšná.....	48
5.2.3	Účinek intraruminální aplikace monenzinu na obsah stopových prvků v mléce dojníc	50
5.2.4	Účinek intraruminální aplikace monenzinu na vybrané biochemické parametry krevní plazmy.....	53
5.2.5	Účinek intraruminální aplikace monenzinu na aktivitu štítné žlázy.....	54

5.3	Metabolický a produkční účinek profylaxe energetického deficitu a subklinických ketóz v chovu dojených krav Hořepník.....	57
5.3.1	Účinek intraruminální aplikace monenzinu na mléčnou produkci dojnic v chovu Hořepník.....	58
5.3.2	Účinek intraruminální aplikace monenzinu na obsah kyseliny β -hydroxymáselné v krvi a v mléce dojnic v chovu Hořepník.....	59
5.3.3	Účinek intraruminální aplikace monenzinu na vybrané metabolické parametry dojnic v chovu Hořepník.....	59
6	ZÁVĚR.....	61
7	SOUHRN	63
8	SUMMARY	64
9	POUŽITÁ LITERATURA.....	65
10	SEZNAM TABULEK.....	77
11	SEZNAM GRAFŮ	78
12	SEZNAM OBRÁZKŮ	79
13	SEZNAM ZKRATEK	80
14	PŘÍLOHY	82

1 ÚVOD

V chovech dojnic ovlivňují metabolické poruchy téměř z 50 % stabilitu dojivosti, plodnost a celkově zdraví stáda. Velký význam má samozřejmě i komplex welfare dojnic – stájové mikroklima, vlastnosti ložních ploch, rozdělení stáje, nabídka vody, technologie a celkově management krmení. Centrální význam komplexu výživa/metabolismus jako důvod pro problémy v chovech je často podceňován. Signálem pro možné problémy v chovu jsou pro chovatele hlavně nedostatečná nebo klesající dojivost, zvýšený počet buněk v mléce a poruchy plodnosti (větší počet těžkých porodů, mrtvé plody, častější retence sekundin, velký počet metritid, slabá říje, špatné výsledky umělé inseminace i při velmi pečlivém provádění, dlouhé mezidobí a zvýšený počet zvířat vyřazených pro neplodnost).

V souvislosti s vysokou dojivostí stád jsou pozorovány čím dál tím častější komplexní poruchy zdraví. V různých kombinacích jsou pozorovány jako všeobecně špatný zdravotní stav zvířat, silné hubnutí, nedostatečná dojivost, poruchy plodnosti, zvýšený počet somatických buněk v mléce a zvýšená náchylnost k onemocněním na základě snížení imunity. Tyto příznaky vyvolávají subjektivní pocit, že se stádem něco není v pořádku. Zmíněné příznaky onemocnění ve formě komplexních poruch, jako problém celého chovu v souvislosti s vysokou dojivostí, se shrnují pod příznakem tzv. produkčních chorob.

Jednou z produkčních chorob je ketóza. Dojnice, které onemocní ketózou, podléhají současně několikanásobně vyššímu riziku poruch plodnosti a jiných onemocnění. Proto má profylaxe ketózy pozitivní efekt na celkovou výkonnost a zdraví chovu. Z tohoto důvodu by se měla systematicky plánovaná opatření k profylaxi ketózy zařazovat jako stálá opatření do managementu chovu, a to nezávisle na důkazu aktuálního výskytu ketózy, a to jak opatření výživářská, tak i medikamentózní. Důležitá je především profylaxe na základě úpravy výživy. Fyziologicky slabým místem dojnice je endokrinně řízený výrazný pokles příjmu krmiva pod 10 kg sušiny v peripartálním období s navazující negativní energetickou bilancí v rané laktaci. Když se tato profylaktická opatření dobře plánují a konsekvantně zavádějí, může být prevalence ketóz snížena pod 1 %, i když je dojivost stáda nad 10000 kg/305 dní.

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Metabolizmus

Metabolizmus (látková přeměna) je z biologického hlediska projevem života a základní vlastností živé hmoty. Podstatou metabolismu jsou dva pochody, které jdou proti sobě. Jsou vzájemně podmíněné a probíhají nepřetržitě (anabolismus a katabolismus). Anabolismem se rozumí tvorba složitých látek, které jsou aktivními složkami buněk, nebo se ukládají do zásoby. Takovéto syntetické procesy vyžadují přísun energie. Naproti tomu katabolismus je proces rozpadu složitých látek na jednodušší, při kterém vznikají různé metabolity a dochází k uvolnění energie. Látkový metabolismus se rozděluje na metabolismus sacharidů, bílkovin, lipidů, minerálních látek a vody (VALENT, 2003).

2.1.1 Metabolizmus sacharidů

70–80 % přijaté sušiny z krmné dávky zaujímají rostlinné sacharidy (DVOŘÁK, 2005; HOFÍREK *et al.*, 2009). Sacharidy představují zdroj energie pro přežvýkavce, i pro bachorové mikroorganismy (DOSKOČIL, 2003; DVOŘÁK, 2005). Existují dvě kategorie sacharidů obsažené v krmivech. Jedná se o nestrukturální sacharidy (cukry a škroby) a strukturní sacharidy (celulóza, hemicelulózy a pektiny) (DOSKOČIL, 2003; DVOŘÁK, 2005; HOFÍREK *et al.*, 2009). U přežvýkavců dochází k fermentaci sacharidů téměř výhradně v bachoru, jen 5–20 % z přijatých sacharidů se tráví v tenkém střevě (NAFIKOV a BEITZ, 2007). V bachoru dochází ke štěpení sacharidů enzymy mikrobiálního původu. Jejich konečným produktem jsou těkavé mastné kyseliny (TMK) (DOSKOČIL, 2003; DVOŘÁK, 2005; FRANDSON *et al.*, 2009; HOFÍREK *et al.*, 2009).

Těkavé mastné kyseliny zabezpečují 60–80 % potřeby energie pro dojnici (DOSKOČIL, 2003; DVOŘÁK, 2005). Největší zastoupení z těkavých mastných kyselin má kyselina octová (60–70 %), kyselina propionová (15–25 %) a kyselina máselná (10–20 %) (DOSKOČIL, 2003; HOFÍREK *et al.*, 2009; REECE, 2011). V bachoru dále vzniká kyselina mléčná, která se vyskytuje za fyziologických fermentačních podmínek v nízkých koncentracích (0,5–3,3 mmol·l⁻¹), protože je přeměňována na propionát (KUDRNA a HOMOLKA, 2007; HOFÍREK *et al.*, 2009). Takto vzniklé TMK jsou absorbovány z bachoru do krevního oběhu. Při fermentaci strukturních sacharidů vzniká lipogenní kyselina octová a máselná (celulóza a hemicelulóza) a ty pak slouží jako zdroj energie v periferních tkáních a pro syntézu mastných kyselin mléčného tuku. Kyselina máselná je transformována v bachorové stěně na kyselinu β-hydroxymáselnou a je také využívána jako zdroj energie v periferních tkáních. Naproti tomu

glukogenní kyselina propionová vzniká při fermentaci nestrukturálních sacharidů (škrob a cukry) a její využití je zejména pro syntézu glukózy v játrech (KUDRNA a HOMOLKA, 2007; HOFÍREK *et al.*, 2009). Kyselina propionová tvoří až 70 % zdroje pro glukoneogenezi v játrech, (REECE 2011). Glukóza v játrech vzniká také z aminokyselin. Za běžných podmínek jsou aminokyseliny asi z 20 % zdrojem pro glukoneogenezi, ale v průběhu hladovění, kdy může nastat nedostatek kyseliny propionové, tvoří aminokyseliny až 50 % zdroje glukózy (REECE, 2011). Syntéza glukózy z aminokyselin je ale metabolicky nákladná. Proto dostatek kyseliny propionové šetří aminokyseliny (DVOŘÁK, 2005).

2.1.2 Metabolismus N-látek

Přežvýkavci jsou mezi savci výjimeční ohledně metabolismu dusíkatých látek, protože díky činnosti mikroflóry bачoru nejsou závislí na přísunu esenciálních aminokyselin. Mikroorganismy osídlující bачor, se vyznačují schopností syntetizovat z jednoduchých dusíkatých látek všechny nepostradatelné aminokyseliny (HOFÍREK *et al.*, 2009). Krmivo obsahující bílkoviny, aminokyseliny, nukleové kyseliny, močovinu, dusičnany aj. se stává zásadním zdrojem N-látek v bачoru. Jako další zdroj dusíkatých látek je endogenní močovina, která se tvoří v játrech jako produkt detoxikace amoniaku. Do předžaludku se dostává 25–90 % plazmatické močoviny v souvislosti s obsahem bílkovin v krmné dávce. Pokud je příjem dusíku nižší bývají hodnoty vyšší (DOSKOČIL, 2003; HOFÍREK *et al.*, 2009). Zhruba 60–70 % bílkovin krmiva je v bачoru postupně hydrolyzováno pomocí mikroorganismů až na aminokyseliny (DOSKOČIL, 2003; DVOŘÁK, 2005; REECE, 2011). Zbytková část, (nedegradovatelný protein), zůstává v bачoru nedotčena a je trávena až v dalších úsecích gastrointestinálního traktu (DVOŘÁK, 2005). Aminokyseliny, které vznikají v bачoru, jsou dílem využity mikroorganismy k proteosyntéze a zbytek je deaminován za vzniku amoniaku (DOSKOČIL, 2003; HOFÍREK *et al.*, 2009). 80–90 % nebílkovinných dusíkatých látek v bачoru tvoří vznikající amoniak (HOFÍREK *et al.*, 2009), který je využíván bakteriemi jako zdroj dusíku pro syntézu mikrobiální bílkoviny (DOSKOČIL, 2003; DVOŘÁK, 2005; REECE, 2011). Takto vzniklý mikrobiální protein, je tráven ve slezu a v tenkém střevě (REECE, 2011), a pokrývá 40–70 % z celkové potřeby bílkovin organismu (DOSKOČIL, 2003). Amoniak, který zvíře nevyužije, je vstřebáván přes bачorovou stěnu a portálním oběhem přechází do jater, kde je detoxikován na močovinu, která přechází do krve a odtud je vylučována močí, mlékem a část se znovu vrací do bачoru (hepatoruminální cyklus). V bачoru je opět hydrolyzována na amoniak (TICHÁČEK *et al.*, 2007; HOFÍREK *et al.*, 2009; PECHOVÁ, 2009; BENDELJA *et al.*, 2011).

2.1.3 Metabolizmus lipidů

Do předžaludku se tuky dostávají především krmivem. Nejčastěji jako triacylglyceroly nebo volné mastné kyseliny (DOSKOČIL, 2003; DVOŘÁK, 2005; HOFÍREK *et al.*, 2009). Za den dojnice přijímá až 0,5–1 kg lipidů (DOSKOČIL, 2003; HOFÍREK *et al.*, 2009). Triacylglyceroly jsou hydrolyzovány mikroorganismy bachoru za vzniku glycerolu a mastných kyselin (DVOŘÁK, 2005; REECE, 2011). Použití lipidů v krmení zvyšuje v bachorové tekutině zastoupení kyseliny propionové a máselné, zatímco zastoupení kyseliny octové snižuje (HOFÍREK *et al.*, 2009). Neesterifikované mastné kyseliny s dlouhým řetězcem se v předžaludku neresorbují ani nepřeměňují. Menší část je začleněna do mikrobiálních buněk a zbylá část se pevně spojuje s částmi krmiva a ve formě nerozpustného komplexu přecházejí do slezu a tenkého střeva (DOSKOČIL, 2003; HOFÍREK *et al.*, 2009). Část nenasyčených mastných kyselin může být v bachoru hydrogenována na nasycené MK. Tím se sníží jejich toxicita k mikroorganismům (DOSKOČIL, 2003; HOFÍREK *et al.*, 2009; REECE, 2011). K syntéze mikrobiálních lipidů dochází také v předžaludku. O tom svědčí fakt, že ze slezu odchází větší množství vyšších mastných kyselin, než kolik jich bylo obsaženo v krmivu (DOSKOČIL, 2003; HOFÍREK *et al.*, 2009).

2.2 Tvorba mléka a jeho složení

Podle Codex Alimentarius je mléko definováno jako: „Mléko“ je sekret mléčné žlázy zvířat produkujících mléko, získaný dojením, do kterého nebylo nic přidáno a nebylo z něho ani nic odebráno, je určený ke konzumaci v tekutém stavu, nebo na další zpracování (NAVRÁTILOVÁ *et al.*, 2012). Je to komplexní biologická tekutina, bílé nebo slabě nažloutlé barvy, s typickou chutí a vůní. V mléce jsou obsaženy všechny látky potřebné k výživě a růstu těla mláďat. Z chemicko – fyzikálního hlediska je mléko polydisperzní systém, který se skládá ze dvou základních částí: z vody a z malých částic rozptýlených v tomto prostředí, nazývaných disperzní fází. V mléce se podle velikostí částíček rozlišují fáze molekulární (laktóza, vitamíny rozpustné ve vodě, soli, plyny), koloidní (bílkoviny) a emulzní (mléčný tuk) (LUKÁŠOVÁ *a kol.*, 1999). V současné době je známo více jak 200 druhů různých složek mléka (LUKÁŠOVÁ *a kol.*, 1999). Rozdělují se na složky původní a nepůvodní (obrázek 2.1), které se do mléka dostaly krví, stykem z okolního prostředí nebo stykem se zařízením. V mléce rozlišujeme tři základní složky a to vodu, sušinu a plyny (NAVRÁTILOVÁ *et al.*, 2012).

Obrázek 2.1: Obecné rozdělení složek mléka



(NAVRÁTILOVÁ *et al.*, 2012).

2.2.1 Syntéza mléčného tuku

Tuk v mléce je tvořen z 95–98 % triacylglyceroly (GAJDŮŠEK, 2003; SLAVÍK *et al.*, 2004; SEJRSEN *et al.*, 2006; SHINGFIELD *et al.*, 2010; REECE, 2011; BERNARD *et al.*, 2013). Triacylglyceroly jsou syntetizovány v sekrečních buňkách mléčné žlázy v hladkém endoplazmatickém retikulu (MCMANAMAN a NEVILLE, 2003). Jsou syntetizovány z glycerolu a mastných kyselin, které podle obsahu uhlíků v molekule pocházejí ze dvou zdrojů (NAVRÁTILOVÁ *et al.*, 2012; BERNARD *et al.*, 2013). Mastné kyseliny se středně dlouhým a krátkým řetězcem (C4:0 až C14:0) jsou téměř výlučně syntetizovány nově v sekrečních buňkách mléčné žlázy (SANTOS 2002; SEJRSEN *et al.*, 2006; BERNARD *et al.*, 2013). Tyto MK tvoří zhruba 30–50 % všech mastných kyselin obsažených v mléce (SANTOS 2002; SEJRSEN *et al.*, 2006; BERNARD *et al.*, 2013). Acetát (kyselina octová) a β -hydroxybutyrát (kyselina β -hydroxymáselná) jsou hlavními prekurzory syntézy MK s krátkým a středně dlouhým řetězcem (SHINGFIELD *et al.*, 2010; REECE, 2011). JELÍNEK (2003) a SLAVÍK *et al.*, (2004a) uvádějí, že laktující mléčná žláza zadrží asi 80 % acetátu z krve. Obsah tuku v mléce je tedy závislý především na poměru lipogenních a glukogenních živin, které vznikají bachorovou fermentací (zejména poměr acetátu ku propionátu) (KUDRNA a HOMOLKA,

2007). Mastné kyseliny, které mají vyšší počet uhlíků (C:14, C:16, C:18) vznikají z krevních lipidů. Jejich zdrojem jsou lipoproteiny s velmi nízkou hustotou (VLDL), které je tvořena v játrech. Do krve se uvolňují ve vazbě na apolipoproteinový komplex (PECHOVÁ *et al.*, 2009). Ve stěnách krevních kapilár jsou hydrolyzovány na volné mastné kyseliny monoacylglyceroly, diacylglyceroly a glycerol enzymem lipoproteinlipázou. Takto vzniklé produkty jsou vstřebávány buňkami mléčné žlázy a jsou využity pro syntézu triacylglycerolů (SEJRSEN *et al.*, 2006; SHINGFIELD *et al.*, 2010; NAVRÁTILOVÁ *et al.*, 2012; BERNARD *et al.*, 2013). Stejně jako neesterifikované mastné kyseliny (NEMK), které cirkulují v krvi vázané na albumin (SEJRSEN *et al.*, 2006; BERNARD *et al.*, 2013). Glycerol se dostává do mléčné žlázy jednak z krve jako produkt štěpení triacylglycerolu, nebo je syntetizován přímo v sekrečním epitelu mléčné žlázy z glukózy a kyseliny octové (JELÍNEK, 2003). Vytvořené mastné kyseliny se esterifikují s glycerolem. Syntetizovaný tuk je pak vylučován do lumenu alveol apokrinní sekrecí jako tzv. mléčná tuková kapénka (GAJDŮŠEK, 2003; MCMANAMAN a NEVILLE, 2003; MCMANAMAN, 2012), která v mléce vytváří emulzi olej/voda (CHANDAN, 2007).

2.2.2 Syntéza bílkovin

Mléčné bílkoviny se vytvářejí v sekrečních buňkách mléčné žlázy na ribosomech granulačního endoplazmatického retikula (JELÍNEK, 2003; SLAVÍK *et al.*, 2004, KUDRNA, 2010). Pro syntézu mléčné bílkoviny si mléčná žláza odebírá z krve zejména volné aminokyseliny, různé množství albuminu, globulinu, fibrinogenu a glykoproteinů. Některé bílkoviny se do mléka dostávají rovnou z krve (sérový albumin a imunoglobuliny) (SLAVÍK *et al.*, 2004; BOUŠKA *et al.*, 2006; KUDRNA, 2010).

Nebílkovinné dusíkaté látky, například amoniak, močovina, kyselina hippurová a kreatin do mléčné žlázy přecházejí rovněž z krve (GAJDŮŠEK, 2003; NAVRÁTILOVÁ *et al.*, 2012). Za aminokyseliny, které limitují syntézu mléčného proteinu, jsou podle dosavadních pokusů pokládány především methionin a lysin (SLAVÍK *et al.*, 2004, KUDRNA, 2010). Volné aminokyseliny, které se nacházejí v krevním řečišti mohou být z aminokyselin ze strávené mikrobiální bílkoviny (JELÍNEK, 2003; HEINRICHS *et al.*, 2005; KUDRNA, 2010). Dalším zdrojem aminokyselin pro mléčnou bílkovinu jsou nedegradovatelné dusíkaté látky, které prochází bachorem nezměněné až do tenkého střeva, kde jsou enzymaticky tráveny. Jejich stravitelná část se zde obvykle v podobě volných aminokyselin vstřebává. Aminokyseliny se mohou uvolňovat i ze svalové tkáně. K tomu dochází hlavně u vysokoužitkových krav, obzvláště v peripartálním období, tj. v období tzv. negativní energetické bilance. Kromě

tukových zásob dochází u dojnice i k úbytku svalové tkáně a uvolnění aminokyselin, které mohou být využity při syntéze mléka (KUDRNA, 2010).

2.2.3 Syntéza laktózy

Laktóza je speciální složkou mléka. Je syntetizována výhradně v sekrečních buňkách mléčné žlázy. Nenahraditelným prekurzorem pro syntézu laktózy je glukóza, mléčná žláza jí ale není schopna syntetizovat, a tak ji musí získávat z krve (JELÍNEK, 2003; FRANDSON *et al.*, 2009; NAVRÁTILOVÁ *et al.*, 2012). Mezi další zdroje patří glykoproteiny, ze kterých se v mléčné žláze při syntéze bílkovin uvolňuje glukóza (JELÍNEK, 2003; HOFÍREK, 2009). Pro syntézu jedné molekuly laktózy jsou potřeba dvě molekuly glukózy. První molekula glukózy je fosforylována v cytosolu sekreční buňky na glukózo-6-fosfát, který je pak izomerován na glukózo-1-fosfát. Poté se na glukózo-1-fosfát naváže uridintrifosfát (UTP) a dochází k syntéze UDP-glukózy. UDP-glukóza je přetvořena v UDP-galaktózu reakcí, jíž katalyzuje enzym UDP-galaktózo-4-epimeráza (BATMANIAN *et al.*, 2011; NAVRÁTILOVÁ *et al.*, 2012). Druhá molekula glukózy a UDP-galaktóza jsou transportovány do Golgiho aparátu sekreční buňky, aby dokončily závěrečné fáze syntézy laktózy (BATMANIAN *et al.*, 2011). Druhá molekula glukózy se dostává do Golgiho aparátu přes membránu transportem s pomocí specifického nosiče GLUT 1. Z cytosolu je aktivně transportována do Golgiho aparátu UDP-galaktóza (NAVRÁTILOVÁ *et al.*, 2012). V sekrečních vezikulech Golgiho aparátu UDP-galaktóza kondenzuje s glukózou. Vzniká laktóza a uridindifosfát (UDP). UDP, které vzniká při syntéze laktózy, může zpomalit její další syntézu, proto je hydrolyzován na uridinmonofosfát (UMP) a anorganický fosfor enzymem nukleosiddifosfatázou (BATMANIAN *et al.*, 2011; NAVRÁTILOVÁ *et al.*, 2012).

Syntéza laktózy probíhá jen jedním směrem, protože laktóza není v sekrečních buňkách hydrolyzována na glukózu a galaktózu. Vysoká koncentrace laktózy nezpomaluje její syntézu (NAVRÁTILOVÁ *et al.*, 2012). Takto vzniklá laktóza je z Golgiho aparátu uvolňována v transportních váčcích do cytosolu buňky (BATMANIAN *et al.*, 2011; NAVRÁTILOVÁ *et al.*, 2012). Uvnitř těchto váčků vyvolá laktóza hypertonické prostředí a do váčku pak začne z cytosolu prostupovat voda. Z toho vyplývá, že laktóza ovlivňuje množství vody v mléce (FOX, 2009; FRANDSON *et al.*, 2009; NAVRÁTILOVÁ *et al.*, 2012). Transportní váček putuje cytosolem k povrchu sekreční buňky, kde dojde k uvolnění jeho obsahu exocytózou do lumenu alveol (BATMANIAN *et al.*, 2011; NAVRÁTILOVÁ *et al.*, 2012).

2.3 Faktory ovlivňující složení mléka

Obsah složek mléka se mění od porodu až do zaprahnutí (NAVRÁTILOVÁ *et al.*, 2012). Největšími změnami prochází mléčný tuk. K menším změnám potom dochází také v obsahu bílkovin. Nejmenší změny jsou v obsahu laktózy (TICHÁČEK *et al.*, 2007).

2.3.1 Zdravotní stav

Vylučování a tvorba mléka souvisí s fyziologickými funkcemi organismu, to znamená se zdravotním stavem dojnice. Jakékoliv oslabení těchto fyziologických funkcí se projeví nejdříve změnami ve složení mléka. Negativní vliv na složení mléka mají lehká onemocnění, ale mnohem větší změny jsou pak vyvolány metabolickými problémy. Narušení zdravotního stavu vede okamžitě k poklesu obsahu bílkovin. Dochází ke snížení obsahu kaseinu a zvýšení sérových bílkovin, především imunoglobulinů, ale také často i nebílkovinných dusíkatých látek. Na množství a složení mléčného tuku mají největší vliv metabolické poruchy trávení v předžaludcích (GAJDŮŠEK, 2003). V počátečním období ketózy, kdy krávy hubnou a využívají pro pokrytí energetických potřeb zásobní tuk dochází přechodně ke zvýšení obsahu tuku v mléce (SLAVÍK *et al.*, 2004; HEINRICHS *et al.*, 2005). Naopak při acidóze bachorového obsahu dochází ke snížení obsahu tuku v mléce (SLAVÍK *et al.*, 2004).

Obsah laktózy v mléce se při výskytu metabolických poruch mění jen velmi málo. Při malém příjmu vody se může zvýšit koncentrace laktózy v mléce. K mírnému snížení obsahu laktózy dochází také při velkém energetickém deficitu (ketóze) nebo při závažných hepatopatiích (TICHÁČEK *et al.*, 2007). Při zánětech mléčné žlázy dochází k výraznému snížení koncentrace laktózy v mléce (TICHÁČEK *et al.*, 2007). Aby se vyrovnal osmotický tlak v mléčné žláze je laktóza nahrazována zvýšeným přechodem chloridu sodného z krve do mléka (GAJDŮŠEK, 2003).

2.3.2 Výživa

Výživa dojnic má velmi významný vliv na složení mléka (GAJDŮŠEK, 2003). Tvorba proteinu je energeticky náročná (NAVRÁTILOVÁ *et al.*, 2012) a jeho obsah v mléce je ovlivňován zejména množstvím energie v krmné dávce (TICHÁČEK *et al.*, 2007). Vyšší množství energie v krmné dávce totiž znamená zvýšení produkce těkavých mastných kyselin (TMK) v bachoru a mění se zastoupení jednotlivých TMK ve prospěch kyseliny propionové, která podporuje produkci mléka. Pokud je vyšší množství energie v krmné dávce dochází také ke zvýšení množství bachorové biofauny, která je zdrojem pro tvorbu bílkovin v mléce (TICHÁČEK *et al.*, 2007). I když se přidá bílkovina do krmné dávky nemá to zpravidla signifikantní efekt, a to

platí také o nadbytku dusíkatých látek v krmné dávce (HOFÍREK *et al.*, 2002). Při výrazném deficitu energie, ale i při nadbytku dusíkatých látek v krmné dávce za současného nedostatku energie dochází k poklesu obsahu bílkovin v mléce dojníc což bývá častější jev (SLAVÍK *et al.*, 2004b). Pokud se jedná pouze o mírný nedostatek dusíkatých látek v krmné dávce, není obsah bílkovin většinou ovlivněn (TICHÁČEK *et al.*, 2007). K poklesu obsahu bílkovin v mléce dochází teprve až tehdy, když je deficit dusíkatých látek v KD výraznější (PECHOVÁ, 2009). Rovněž se setkáváme s nízkým obsahem bílkovin při špatné kondici zvířat (SLAVÍK *et al.*, 2004b).

Koncentrace tuku v mléce je pro chovatele důležitým ukazatelem úrovně výživy dojníc (HOFÍREK *et al.*, 2002). Za nejdůležitější prekurzor syntézy mléčného tuku je pokládána kyselina octová, které vzniká při fermentaci vlákniny v bachoru (KUDRNA a HOMOLKA, 2007). Zárukou dostatečné tvorby kyseliny octové, a tím i dobré syntézy mléčného tuku je KD s optimální koncentrací strukturální vlákniny. Hrubá vláknina ve strukturálním stavu by měla tvořit 15–21 % sušiny krmné dávky, a z toho 50 % částic by mělo mít velikost minimálně 8 mm. Pokud je v KD vysoký podíl jemně mletých krmiv a kašovitá krmiva, negativně to ovlivní tvorbu kyseliny octové, a tím i tvorbu mléčného tuku. Pokud podíl objemné píce klesne pod 40 % sušiny krmné dávky, resp. když krmná dávka obsahuje méně než 300 g neutrálně detergentní vlákniny (NDF) na kg sušiny začíná obsah mléčného tuku výrazně klesat. Krmné dávky s vysokým podílem škrobů a rozpustných sacharidů přispívají především k tvorbě kyseliny propionové a depresivně působí na tvorbu kyseliny octové a tím i na syntézu mléčného tuku (KUDRNA a HOMOLKA, 2007). Také pastva ovlivňuje obsah tuku v mléce. Neobvyklým problémem je z tohoto hlediska zejména pastva na mladém travním porostu, protože má nízký obsah hrubé vlákniny a vysoký obsah rozpustných sacharidů. Z tohoto důvodu se tvoří menší množství kyseliny octové a následně je omezena syntéza mléčného tuku (KUDRNA a HOMOLKA, 2007). Při zvýšeném příjmu kyseliny octové a máselné při zkrmování nekvalitních siláží se také zvyšuje obsah tuku v mléce (SLAVÍK *et al.*, 2004a). Obsah laktózy v mléce je poměrně stabilní a při změnách krmné dávky se mění jen velice málo (TICHÁČEK *et al.*, 2007), klesá až při silně omezující energetické výživě, kdy současně klesá i doживost zvířat (GAJDŮŠEK, 2003).

2.3.3 Plemeno

GAJDŮŠEK (2003) uvádí vliv plemene na důležitou složku mléka, kterou je tuk. Nejvyšší obsahy tuku v mléce mají plemena Jersey a Guernsey, střední obsah plemena s kombinovanou užitkovostí a nejnižší obsah tuku pak mají mléčná plemena skotu. Dochází jak k odlišnostem v

množství mléčného tuku, tak i ve velikosti tukových kuliček. Vysoký obsah tuku a velké tukové kuličky zlepšují odstředování tuku při výrobě smetany a másla, což lze pozorovat například u mléka jerseyského plemene. Většina studií, které se zabývají vlivem plemene na obsah mastných kyselin, byla zaměřena na mléčné plemeno, holštýnské, které je chováno nejčastěji. Porovnání plemen Brown Swiss a holštýnského plemene, se prokázaly vyšší obsahy u mastných kyselin C4:0 až C14:0, C18:2n6 a CLA u plemene Brown Swiss (KELSEY *et al.*, 18 2003). Při porovnání složení mléčného tuku u holštýnského a jerseyského plemene bylo zjištěno, že obsah mastných kyselin (zejména mastných kyselin C8 až C12) je výrazně vyšší u plemene Jersey (BEAULIEU & PALMQUIST, 1995). Naopak obsahy kyselin C18:1 (WHITE *et al.*, 2001), C18:2n6 (TOWNSEND *et al.*, 1997) a C18:3n3 (DRACKLEY *et al.*, 2001) byly vyšší u holštýnského plemene. U českého strakatého skotu, který patří do kombinovaných plemen, byl prokázán výrazně nižší podíl SAFA (PEŠEK *et al.*, 2005).

2.3.4 Fáze laktace

Po otelení bývá obsah bílkovin a tuku v mléce poměrně vysoký, ale v průběhu narůstající mléčné produkce rychle klesá (VARGA a ISHLER, 2007; KUDRNA a HOMOLKA, 2007). V období maximální dojivosti (50.–70. den po porodu) dosahují mléčné složky nejmenších hodnot (BLOWEY a LAVEN, 2004). V této době tedy můžeme sledovat negativní korelace mezi produkcí mléka a procentem tuku (–0,15 až –0,30) a bílkovin (–0,10 až –0,30) (HUTJENS, 2006). Obsah mléčného tuku a bílkovin má snahu se zvyšovat od sedmdesátého dne po otelení (BLOWEY a LAVEN, 2004). BLOWEY a LAVEN (2004) nad to ještě uvádějí, že včasné zabřeznutí dojnice má kladný vliv na zvyšování obsahu mléčné bílkoviny. Rozmezí mezi dosaženým minimálním a maximálním obsahem tuku je přibližně 1 %, u obsahu bílkovin je toto rozmezí 0,6 % (NAVRÁTILOVÁ *et al.*, 2012). Obsah laktózy v mlezivu je nízký, po otelení ovšem rychle dochází k jejímu zvýšení a vrcholu dosahuje během prvních dvou týdnů laktace (BLOWEY a LAVEN, 2004). Ale na rozdíl od obsahu tuku a bílkovin laktóza ke konci laktace mírně klesá (BLOWEY a LAVEN, 2004; NAVRÁTILOVÁ *et al.*, 2012).

2.3.5 Věk

S každou další laktací obsah tuku v mléce klesá, protože se zvyšuje dojivost (HEINRICHS *et al.*, 2005). Oproti tomu obsah mléčných bílkovin se s každou další laktací snižuje o 0,02–0,05 % (HEINRICHS *et al.*, 2005; VARGA a ISHLER, 2007). Obsah laktózy s pořadím každé další laktace klesá, což může být následek větší pravděpodobnosti prodělání mastitid u dojníc (NAVRÁTILOVÁ *et al.*, 2012).

2.4 Energetický metabolismus vysokoužitkových dojnic v rané fázi laktace

Mezi ekonomicky významné zdravotní poruchy dojnic patří onemocnění etiologicky podmíněná metabolickým přetížením a nutričními nedostatky. V souvislosti s vysokými nároky na užitkovost dochází k poruchám energetického metabolismu, které souvisí s odbouráváním nebo ukládáním rezervního tuku, poklesem produkční výkonnosti, reprodukce a se změnami v kvalitě mléka. K nejvyšší incidenci dochází v tzv. tranzitním období, v období významných hormonálních a metabolických změn.

2.4.1 Metabolické důsledky negativní energetické bilance

V souvislosti s energetickým deficitem se u vysokoužitkových dojnic nejčastěji ve 2. až 6. týdnu po porodu vyskytují ketózy, které se považují za nejvýznamnější metabolickou poruchu ve vzestupné fázi laktace (ILLEK, 2013). Výskyt onemocnění je spojen s vyššími hladinami ketolátek v tělních tekutinách, které jsou produkty katabolismu tělního tuku v době energetického nedostatku v časně fázi laktace. Příčinou jejich vzniku je v převaze nadměrná tvorba volných mastných neboli neesterifikovaných mastných kyselin (VMK, NEFA), při intenzivním odbourávání depotního tuku lipolýzou triacylglycerolů. Přebytek NEFA je příčinou zvýšené jaterní ketogeneze a v případě snížené tvorby lipoproteinů i příčinou hromadění triacylglycerolů resyntetizovaných z NEFA v játrech a vznik jaterní steatózy. Některé ketolátky vznikající při katabolismu lipidů jsou vyloučeny nejen močí a potem, ale také mlékem. V důsledku tak dochází ke zhoršení jakostních parametrů mléka a mléčné produkce (GUSTAFSSON, 1996; DUFFIELD, 2000; EDDY, 2004; LITHERLAND *et al.*, 2011).

V souvislosti s energetickým deficitem jsou uváděny negativní korelace mezi výskytem ketóz a obsahem mléčného proteinu. Zvýšená dostupnost volných mastných kyselin při odbourávání tukových rezerv vede častěji k vyššímu procentuálnímu zastoupení tuku v mléce (BUCEK, 2007). Závislost mezi obsahem ketolátek v mléce a dojivostí vyjadřuje například MIETTINEN (1994) korelací $r = -0,47$. Z tohoto důvodu je včasná identifikace ketózy velmi významná.

2.4.2 Metabolické ukazatele negativní energetické bilance a profylaxe ketogeneze

Diagnóza se opírá o zvýšený obsah ketolátek v tělních tekutinách. V krvi se zvýší jejich obsah nad 1,0 mmol/l (HOFÍREK, 2004) respektive nad 1,2 mmol/l (ŠLOSÁRKOVÁ *et al.*, 2015), v mléce aceton nad 0,4 mmol/l a kyselina β -hydroxymáselná (BHB) nad 0,25 mmol/l (PECHOVÁ, 2009). Stanovení ketolátek v mléce je vhodné pro bezpečný neinvazivní monitoring a kontrolu výživy dojnic (HANUŠ *a kol.*, 2013). Odhalení ketóz již na subklinické

úrovni je předpokladem pro včasné zavedení nápravných opatření a předcházení klinickým projevům onemocnění s výrazným poklesem mléčné užitkovosti.

Pro zlepšení utilizace energie dojnic při ketóze je možné hormonální ošetření inzulinem, pro podporu glukoneogenze a tvorby glykogenu v játrech je možné podávat glukoplastické a hepatoprotektivní látky, jako jsou propylenglykol, niacin, karnitin, lecitin, monenzin a sylimarin (GREEN *et al.*, 1999; HANUŠ *et al.*, 2002; TEDESCO *et al.*, 2004; LITHERLAND *et al.*, 2011; CHAPINAL *et al.*, 2012; GORDEN, 2013). Tyto metody jsou významné nejen z hlediska posílení zdraví zvířat, ale i pro zlepšení technologické kvality mléka. Z hlediska účinnosti antiketogenní profylaxe se v současné době častěji uplatňuje využití ionoforu monenzinu v podobě intraruminálních inzertů (kapslí) z nichž se monenzin v bacherovém prostředí v průběhu 3 měsíců postupně uvolňuje (ŠLOSÁRKOVÁ *et al.*, 2015). Monenzin ovlivňuje bacherovou fermentaci ve prospěch bakterií produkující kyselinu propionovou, která je nezbytným substrátem glukoneogeneze a tím obnovy nedostatkové glukózy. GREEN *et al.* (1999) při testaci intraruminálního účinku monenzinu zaznamenal nárůst obsahu glukózy v krevní plazmě o 15 % a pokles obsahu ketolátek v krvi (BHB) až o 35 %. Na základě rozboru výsledku 59 vědeckých studií uvádí DUFFIELD *et al.* (2008) pozitivní vliv monenzinu na snížení plazmatického obsahu BHB o 13 % a NEFA o 7 %, přičemž zásadně neovlivnil obsah cholesterolu, vápníku a inzulinu v krvi a močoviny v mléce. Tentýž autor experimentálně prokázal pozitivní účinek monenzinu na 50% snížení výskytu ketóz a zkrácení doby léčby jejich subklinických forem (DUFFIELD *et al.*, 2009). Vliv monenzinu na pokles BHB v krvi zejména v 1. týdnu laktace uvádí PLAIZIERA *et al.* (2005). Pozitivní účinek na ukazatele mléčné produkce v opakovaných pokusech prokázal KAŇKA (2015). Množství nadojeného mléka za prvních 100 dní laktace se u skupiny dojnic ošetřených monenzinem zvýšilo o 3-11 %, množství mléčného tuku o 6-12 % a mléčných bílkovin o 2-5 %.

2.5 Úroveň energetického metabolismu dojnic a složení mléčného tuku

Mléčný tuk je složen zejména z triacylglycerolů, které jsou syntetizovány v sekrečních buňkách mléčné žlázy z glycerolu a mastných kyselin (MK). Zdrojem MK pro syntézu mléčného tuku jsou MK krevní plazmy (volné mastné kyseliny z krmiva a depotního tuku) a MK syntetizované *de novo*. Základním prekursorem pro syntézu MK *de novo* je acetyl-CoA, vznikající u přežvýkavců z kyseliny octové nebo oxidací kyseliny β -hydroxymáselné (NAVRÁTILOVÁ *et al.*, 2012). Mastné kyseliny vytvořené *de novo* tvoří ze všech MK mléčného tuku asi 40 % (CHILLIARD *et al.*, 2000). Triacylglyceroly mléčného tuku jsou syntetizovány z více než 400 různých mastných kyselin. Jednotlivé MK mléčného tuku se od sebe liší délkou a charakterem

uhlovodíkového řetězce. Většina MK je přítomna ve stopových množstvích, pouze asi 15 MK v koncentraci 1 % nebo vyšší. Z nasycených mastných kyselin (SFA) mají největší zastoupení kyselina palmitová (15,0-46,0 %) a kyselina stearová (3,1-26,9 %), z mononenasycených mastných kyselin (MUFA) kyselina olejová (7,0-37,0 %) a z polynenasycených mastných kyselin (PUFA) kyselina linolová (0,5-13,3 %) (MOATE *et al.*, 2007).

2.5.1 Složení mléčného tuku v souvislosti s negativní energetickou bilancí

Zastoupení MK v mléčném tuku krav je ovlivněno mnoha faktory. V souvislosti s negativní energetickou bilancí vykazuje mléčný tuk vyšší zastoupení MK s dlouhým řetězcem (zejména k. stearová (C18) a k. olejová (C18:19) a nižší zastoupení MK se středním (6-12 atomů C) a krátkým řetězcem (méně než 6 C) (VRANKOVIĆ *et al.*, 2017). Mastné kyseliny s dlouhým řetězcem (více než 12 C) jsou mobilizovány z tukových zásob a mohou inhibovat elongaci řetězce MK při jejich syntéze v mléčné žláze (SECCHIARI *et al.*, 2011). NANTAPO *et al.*, (2014) uvádějí, že na začátku laktace bylo zaznamenáno vyšší zastoupení CLA (konjugovaná k. linolenová). Využitím energetických rezerv se také upravuje složení MK v mléčném tuku a také vzájemný poměr mezi jednotlivými skupinami MK (DUCHÁČEK *et al.*, 2014). V rané (časné) fázi laktace (30. den) ve srovnání se střední fází laktace (150. den) zaznamenali VRANKOVIĆ *et al.* (2017) nižší procentuální zastoupení nasycených mastných kyselin (SFA) a vyšší zastoupení mononenasycených (MUFA) a polynenasycených mastných kyselin (PUFA). Signifikantně vyšší procento SAFA zaznamenali autoři ve střední fázi laktace (150. den laktace), kdy dojnice již nebyly v energetickém deficitu. Také nižší hladiny MUFA naznačují již vyvážený příjem energie ve střední fázi laktace (STÁDNÍK *et al.*, 2015). V souvislosti s mobilizací MK ze zásobního tuku v období hlubokého energetického deficitu a jejich zvýšeného transportu do mléčné žlázy se zvyšuje i obsah mléčného tuku v procentech. (BENEDET *et al.*, 2019). NANTAPO *et al.*, (2014) uvádějí, že na začátku laktace bylo zaznamenáno vyšší zastoupení CLA (konjugovaná k. linolenová).

2.5.2 Vliv výživy a plemenné příslušnosti dojnic na složení mléčného tuku

Zastoupení MK v mléčném tuku se velmi mění v závislosti na zastoupení MK v krmné dávce. Pastva obecně zvyšuje množství k. olejové a PUFA a snižuje SAFA se střední délkou řetězce (CHILLIARD *et al.*, 2007). LERCH *et al.* (2015) prokázali, že dlouhodobé krmení s přídatkem olejnatých semen nahrazuje MK z tkáňových rezerv a může tak ovlivnit složení MK mléčného tuku během rozsáhlé tukové mobilizace tak, jak je tomu v počáteční fázi laktace. Hrubé složení mléčného tuku v kravském mléce ve švédsku v roce 2003 bylo 69,4 % nasycených mastných kyselin a 30,6 % nenasycených mastných kyselin (LINDMARK-MÅNSSON, 2003). Obsah

nasycených mastných kyselin je nejnižší v létě, když se krávy pasou, a nejvyšší v zimě díky vnitřnímu krmení. Obsah nenasycených mastných kyselin vykazuje opačný vzorec s největším množstvím v létě.

Vliv plemene na zastoupení MK v mléčném tuku je v porovnání s ostatními faktory minimální. U plemen dosahující vysoké dojivosti nebo tučnosti mléka byl zjištěn nižší podíl UFA a vyšší podíl SFA (SAMKOVÁ *et al.*, 2014, PILARCZYK *et al.*, 2015). Rozdíly v obsahu jednotlivých skupin MK (SFA, UFA) například mezi plemeny české strakaté a holštýn nedosahovaly statistické významnosti (SAMKOVÁ *et al.*, 2014).

2.6 Produkční onemocnění dojníc

2.6.1 Acidóza bachorového obsahu

K tomu, aby organismus udržel optimální pH bachorového prostředí, slouží pufrací systém. Nebývalou úlohu v tomto systému má produkce slin, které obsahují NaHCO_3 a Na_2HPO_4 . Optimální hodnota pH v bachoru by měla být v rozmezí 6,2 až 6,8. Pokud dojde ke snížení pH hodnoty bachorového obsahu dochází k rozvoji bachorové acidózy (HOFÍREK *et al.*, 2009).

2.6.2 Alkalóza bachorového obsahu

Alkalóza bachorového obsahu je porucha trávení v předžaludku. Probíhá akutní nebo chronickou formou a je charakterizována zvýšením pH v bachorové tekutině a zvýšeným obsahem amoniaku v bachorovém prostředí (PAVLATA *et al.*, 2008; HOFÍREK *et al.*, 2009). Tato porucha je nejčastěji vyvolána zkrmováním krmiv bohatých na bílkovinné a nebílkovinné dusíkaté látky. Bílkovinné za současného nedostatku sacharidových krmiv. Objevuje se především při zkrmování mladé zelené píce na pastvě, při senážním typu výživy a zvýšené riziko jejího výskytu je i pokud krmíme močovinu (TICHÁČEK *et al.*, 2007; PAVLATA *et al.*, 2008; HOFÍREK *et al.*, 2009). Při omezeném poměru živin v krmné dávce s nadbytkem dusíkatých látek se uvolňuje při bachorové fermentaci velké množství amoniaku. Bachorová mikroflóra nedokáže nadprodukcí amoniaku využít k syntéze bakteriální biomasy a postupně dochází k alkalizaci bachorového prostředí (TICHÁČEK *et al.*, 2007; HOFÍREK *et al.*, 2009).

Díky zvýšenému pH se snižuje ionizace vápníku a hořčíku. Tyto dva významné ionty se potom nemohou vstřebávat z gastrointestinálního traktu a dochází k hypokalcemii a hypomagnesemii. Alkalické prostředí v bachoru způsobuje negativní účinek na kulturní bachorovou mikroflóru a podílí se na množení nežádoucích mikroorganismů rodů *Coli*, *Proteus* a produkci toxických látek v bachoru (HOFÍREK *et al.*, 2009). Volný amoniak se z bachoru vstřebává do krve a v játrech je pak detoxikován za vzniku močoviny. Pokud se překročí

detoxikační kapacita jater začne se amoniak dostávat do periferního oběhu, kde působí jako nervový jed. Vyvolává křečové stavy, depresi a další nervové příznaky. Může dojít až k úhynu zvířete (TICHÁČEK *et al.*, 2007; PAVLATA *et al.*, 2008; HOFÍREK *et al.*, 2009). Pokud je průběh alkalózy bachorového obsahu lehký, nebývají příznaky onemocnění jednoznačné. Dochází ke snížení žravosti, k mírným tympaniím a k průjmům. Srst ztrácí lesk a bývá zježená. Na to, že onemocnění probíhá, dost často upozorní poruchy reprodukce, snížená tělesná kondice a výrazně snížená mléčná užitkovost. Někdy dochází k poklesu mléčného tuku (PAVLATA *et al.*, 2008; HOFÍREK *et al.*, 2009). Těžké formy onemocnění se projevují zvýšenou neuromuskulární dráždivostí, zástavou motorické činnosti předžaludku, hypersalivací a tympanií. Zvířata ulehají s nataženými končetinami od těla, vykonávající plovací pohyby, které mohou přejít v tetanické křeče. Pokud se jedná o subklinické poruchy dochází ke snižování produkce mléka o 15–20 % a signifikantnímu snížení obsahu bílkovin a laktózy v mléce (TICHÁČEK *et al.*, 2007; PAVLATA *et al.*, 2008; HOFÍREK *et al.*, 2009). V mléce je zvýšený obsah močoviny, nízká titrační kyselost a zvýšený počet somatických buněk (TICHÁČEK *et al.*, 2007). Bachorová tekutina má při alkalóze pH nad 7,5. Produkce těkavých mastných kyselin se snižuje na hodnotu 40–70 mmol·l⁻¹, oproti tomu produkce amoniaku stoupá a v drtivé většině případů zjišťujeme koncentraci vyšší než 20 mmol·l⁻¹ (TICHÁČEK *et al.*, 2007; PAVLATA *et al.*, 2008; HOFÍREK *et al.*, 2009)

2.6.3 Dislokace slezu

Na vzniku dislokace slezu mají podíl anatomické dispozice, genetika, výživa, technologie krmení, metabolické poruchy a mechanické vlivy. Motoriku slezu snižuje hypokalcemie a rychlý přísun ne zcela strávené zažitiny s vysokou koncentrací těkavých mastných kyselin (FLEISCHER *a kol.*, 2009). Fermentace nedostatečně natrávené zažitiny následuje ve slezu. Při fermentačním procesu vzniká velké množství plynů, které rozšiřují slez. V důsledku toho pak dochází k atonii slezu a k jeho přesunutí na některou stranu. Mnohdy dochází k dislokaci slezu u krav v prvních sto dnech laktace (PAVLATA *a kol.*, 2008). Mezi příznaky patří střídavé nechutenství, mírná apatie, trias je většinou v rozmezí fyziologických hodnot. Dislokaci slezu vyšetříme poklepem a poslechem. Při dislokaci slyšíme kovově zvonivý zvuk v oblasti devátého až třináctého žebra. Konzervativní léčba spočívá ve válení dojnice a v podávání léčiv, při chirurgické léčbě je slez reponován a přímo či nepřímo fixován (FLEISCHER *a kol.*, 2009).

2.6.4 Ketóza

Ketóza je akutní nebo chronicky probíhající porucha energetického metabolismu. Důvodem vzniku ketózy jsou obvykle všechny stavy, které vedou ke rozvoji energetického deficitu,

nedostatku propionátu nebo snížení glukoneogeneze a zvýšení ketogeneze (TICHÁČEK *et al.*, 2007; PECHOVÁ *et al.*, 2009b; ASRAT *et al.*, 2013). Podle důvodu vzniku energetického deficitu metabolismu sacharidů a jeho narušení rozlišujeme dvě základní podoby ketózy: primární a sekundární (TICHÁČEK *et al.*, 2007; PAVLATA *et al.*, 2008; PECHOVÁ *et al.*, 2009b). Hlavním důvodem vzniku primární ketózy je nepřiměřená výživa. Objevuje se především u vysokoprodukčních dojnic v první třetině laktace, mnohdy ve druhém až šestém týdnu po otelení (TICHÁČEK *et al.*, 2007; PAVLATA *et al.*, 2008; VESNA *et al.*, 2009). Nejčastěji bývají zasáhnuty dojnice, které jsou před otelením ve velmi dobré až tučné kondici a mají vysoký genetický potenciál pro produkci mléka (TICHÁČEK *et al.*, 2007; PAVLATA *et al.*, 2008; PECHOVÁ *et al.*, 2009b).

Důvodem rozvoje energetického deficitu je to, že v období po otelení, kdy dojnice vyžaduje velké množství energie pro mléčnou produkci, není schopna přijmout potřebné množství krmiva. Vrchol mléčné produkce je za čtyři až sedm týdnů po otelení, zatímco vrchol spontánního příjmu krmiva za osm až deset týdnů po otelení. Dochází tedy k mobilizaci tělesných rezerv a dochází k hubnutí zvířat. Jistý stupeň lipomobilizace je možno považovat za fyziologický, ale v okamžiku, kdy dojde k hromadění ketolátek v krvi a tělesné tkáně nejsou schopny využít tyto ketolátky jako zdroj energie, jde o patologický stav, který je označován jako ketóza (PECHOVÁ *et al.*, 2009b). Sekundární ketóza nesouvisí bezprostředně se složením krmné dávky a vzniká při sníženém příjmu krmiva (TICHÁČEK *et al.*, 2007; PAVLATA *et al.*, 2008; PECHOVÁ *et al.*, 2009b). Pokud vznikne energetický deficit, dojde ke snížení inzulínu a zvýší se hladina glukagonu. Glukagon pak zvýší glukoneogenezi z propionátu, laktátu, pyruvátu a v tukové tkáni navodí lipolýzu (PECHOVÁ *et al.*, 2009b). Při lipomobilizaci dochází v tukové tkáni k hydrolýze triacylglycerolů, začnou se uvolňovat neesterifikované mastné kyseliny a glycerol do krve. Glycerol je zužitkován v játrech a v mléčné žláze pro syntézu triacylglycerolů a pro glukoneogenezi. NEMK se přenášejí krví ve vazbě na bílkovinný nosič, jsou využívány v mléčné žláze k syntéze mléčného tuku, jsou oxidovány ve tkáních, a velká část je zadržena játry (TICHÁČEK *et al.*, 2007; PECHOVÁ *et al.*, 2009b). V játrech vstupují NEMK do mitochondrií, kde je β -oxidací odštěpován postupně acetyl-CoA. Ten pak může být oxidován v citrátovém cyklu na CO₂ a H₂O nebo je při vysokém stupni oxidace mastných kyselin zapojen do procesu ketogeneze, která prezentuje alternativní cestu, jak využít acetyl-CoA. Oxidace acetyl-CoA v citrátovém cyklu probíhá jen při dostatku oxalacetátu pro kondenzaci acetyl-CoA na citrát. Oxalacetát vzniká z propionátu a je využíván pro glukoneogenezi přednostně. Při jeho nedostatku se snižuje vstup acetyl-CoA do citrátového

cyklu a zvyšuje se ketogeneze, kdy je acetyl-CoA metabolizován na acetoacetát a β -hydroxybutyrát. Tyto dvě ketolátky pak mohou sloužit jako zdroj energie pro okrajové tkáně. Jejich konečná koncentrace v krvi je určena poměrem produkci ketolátek v játrech a jejich utilizací periferními tkáněmi. Pokud produkované množství převyší schopnost organismu ketolátky využít jako zdroj energie, dojde k jejich hromadění, zvýší se jejich koncentrace v krvi a vyloučí se mlékem a močí (PECHOVÁ *et al.*, 2009b).

U skotu existují dvě základní formy ketózy: První z nich, subklinická ketóza, se vyskytuje poměrně často a probíhá bez narušení celkového zdravotního stavu. U takto postižených dojnic zjišťujeme sníženou produkci mléka v průměru o 20 %, mléko mívá zvýšený obsah tuku, snížený obsah tuku prosté sušiny a nižší obsah kyseliny citronové. Zvířata jsou imunodeficitní a bývají náchylnější ke vzniku infekčního onemocnění, především mastitid. Závažně bývá snížena efektivita reprodukce (DUFFIELD 2004; TICHÁČEK *et al.*, 2007; PECHOVÁ *et al.*, 2009b). Druhá z forem, klinická ketóza, se vyskytuje méně často, může mít jak chronický, tak i akutní průběh. Příznaky bývají různé a s různou intenzitou vyjádřené buď na trávicím traktu (digestivní forma), nebo na nervovém aparátu (nervová forma) (TICHÁČEK *et al.*, 2007; PECHOVÁ *et al.*, 2009b). Dojivost při klinické ketóze klesá až o 50–80 % a mléko má změněné složení. Je snížen obsah tuku prosté sušiny, koncentrace tuku může být mírně zvýšená (TICHÁČEK *et al.*, 2007; PECHOVÁ *et al.*, 2009b). Diagnóza vychází z vyšetření klinických příznaků a z vyhodnocení užitkovosti dojnic. U subklinických forem ketózy je důležité laboratorní vyšetření krve, moči a mléka. V krvi pozorujeme zvýšenou koncentraci β -hydroxybutyrátu, sníženou koncentraci glukózy a zvýšenou koncentraci NEMK. Pro screeningové vyšetření je používáno semikvantitativní stanovení ketolátek v moči diagnostickými papírky nebo vyšetření mléka. V mléce určujeme aceton nebo β -hydroxybutyrát (PECHOVÁ *et al.*, 2009b).

2.6.5 Lipomobilizační syndrom a steatóza jater

Hlavní příčinou, proč dochází k rozvoji lipomobilizačního syndromu je nevhodná výživa v období tranzitního období a v první fázi laktace. Krmná dávka v tranzitním období často obsahuje nadbytek energie, a tím dochází k nadměrnému ukládání tuků v organismu dojnice. V poporodním období pak dochází k energetickému deficitu, který je způsobený nedostatečnou koncentrací energie v krmné dávce. V tomto období proto často dochází k negativní energetické bilanci. V důsledku toho u dojnic dochází k mobilizaci tělesných rezerv a k hubnutí. Neúměrná lipolýza, jejímž následkem dochází ke steatóze jater, vzniká především u dojnic ve velmi dobrém výživném stavu ($BCS \geq 4$). Dojnice, které jsou v horší kondici, tímto syndromem

většinou netrpí. Steatóza jater vzniká nejčastěji v prvním a druhém týdnu po otelení a v některých podnicích postihuje až 70 % vysokoprodukčních dojnic na druhé a vyšší laktaci (SLAVÍK *et al.*, 2004c; TICHÁČEK *et al.*, 2007; PAVLATA *et al.*, 2008; PECHOVÁ *et al.*, 2009b). Dojnice na tento vzniklý energetický deficit odpovídá mobilizací zásobního tuku. Zásobní tuk se štěpí na glycerol a na mastné kyseliny (NEMK), které jsou k dispozici pro výrobu energie a pro tvorbu mléčného tuku. Glycerol je využit v játrech jako zdroj pro glukoneogenezi. Oxidace NEMK konkuruje s glukoneogenezí, při které se přednostně spotřebovává oxalacetát. Z tohoto důvodu může dojít k nedostatečnému okysličování mastných kyselin. Začínají vznikat ketolátky a v játrech se ukládají neoxidované mastné kyseliny. Ty se používají pro resyntézu triacylglycerolů (TAG) v hepatocytech. Ty ve vazbě na apolipoproteinový komplex přecházejí do krve. Pokud je tvorba těchto transportních lipoproteinů (VLDL) nedostatečná, TAG se hromadí v hepatocytech a vzniká steatóza jater (SLAVÍK *et al.*, 2004c; TICHÁČEK *et al.*, 2007; PAVLATA *et al.*, 2008; PECHOVÁ *et al.*, 2009b). PAVLATA *et al.* (2008) udávají, že přirozený obsah tuků v játrech je okolo 5 %, ale při steatóze nastává patologické zvýšení na 20–45 %. Jak postupuje tuková dystrofie, redukuje se metabolicky aktivní povrch hepatocytů, čímž dochází ke snížení jejich metabolické aktivity (nedostatečně syntetizují albumin, glukózu a další metabolity). Detoxikační kapacita jater se taky snižuje (SLAVÍK *et al.*, 2004c; PECHOVÁ *et al.*, 2009b). S lipomobilizačním syndromem jsou slučovány některé další poruchy jako je zvýšená náchylnost k infekcím, mastitida, metritida, narušení metabolismu vitamínu D, snižování koncentrace vápníku a hořčíku, gastrointestinální atonie v okoloporodním období, dislokace slezu a za obvyklý následek je považována řada reprodukčních poruch (narušená funkce vaječníků, poruchy růstu a zrání folikulů) (TICHÁČEK *et al.*, 2007; PECHOVÁ *et al.*, 2009b). Pokud se jedná o subakutní lehčí formu, zjišťujeme nezájem o okolí, časté ležení, sníženou chuť na jadrná krmiva, siláž a nakonec i na seno. Postupně začíná dojnice hubnout, probíhá značný stupeň vylučování ketolátek močí a mlékem (PECHOVÁ *et al.*, 2009b). Jedná-li se o těžkou akutně probíhající formu onemocnění, dochází k anorexii, poklesu dojivosti, svalovému třesu, tachykardií, cyanóze až k ikteru sliznic, ulehnutí a apatii. V posledních stádiích onemocnění dochází někdy k vzestupu teploty (PAVLATA *et al.*, 2008; PECHOVÁ *et al.*, 2009b). Steatóza jater a lipomobilizační syndrom se také promítne na kvalitě a složení mléka. Dochází ke zvýšení počtu somatických buněk, snížení produkce mléka a ke snížení obsahu bílkovin v mléce. Obsah tuku v mléce bývá v první fázi onemocnění lehce zvýšený, ale pokud dojde ke zhoršování zdravotního stavu začne jeho obsah klesat zároveň se snižováním užitkovosti (SLAVÍK *et al.*, 2004c; TICHÁČEK *et al.*, 2007; PECHOVÁ *et al.*, 2009b)

3 CÍL PRÁCE

Vyhodnotit vztah mezi úrovní energetického metabolismu vysokoprodukčních dojnic a množstvím mléčného tuku, zastoupením a obsahem mastných kyselin v mléčném tuku.

3.1 Dílčí cíle

- a) Na základě analýzy mastných kyselin mléčného tuku v různých fázích laktace vyhodnotit vliv úrovně energetického metabolismu v souvislosti s lipolýzou a lipogenezí na složení mléčného tuku.
- b) Vyhodnotit vliv profylaxe subklinických ketóz na množství a složení mléčného tuku.

3.2 Hypotéza

- a) Mobilizace rezervních tuků v rané fázi laktace vysokoprodukčních dojnic ovlivní úroveň energetických složek v tělních tekutinách, množství a složení mléčného tuku.
- b) Intraruminální aplikace monenzinu zvýší tvorbu kyseliny propionové, podnítí glukoneogenezi, pozitivně ovlivní parametry energetického metabolismu a množství i složení mléčného tuku.

4 MATERIÁL A METODIKA

4.1 Materiál

Ve vybraném chovu dojených krav s užitkovostí 9-11 tis. litrů mléka za laktaci byly v průběhu laktace v souvislosti s kontrolou užitkovosti odebírány individuální vzorky mléka pro analýzu mastných kyselin v mléčném tuku (volné mastné kyseliny, nasycené a nenasycené, mastné kyseliny s dlouhým a krátkým řetězcem). Souběžně byly ve vzorcích mléka stanoveny parametry energetického metabolismu (močovina, aceton, kyselina β -hydroxymáselná) a ostatní jakostní a chemické parametry mléka (tuk, bílkoviny, laktóza). Složení mléčného tuku (variabilita zastoupení mastných kyselin) byla vyhodnocena v závislosti na parametrech energetického metabolismu, doživosti, stádiu laktace a pořadí laktace. Byl vyhodnocen vztah mezi stupněm mobilizace depotního tuku a zastoupením mastných kyselin v mléčném tuku.

Vybrané skupině dojnic plemene holštýn ve stádě s objektivně zvýšenou incidencí ketóz byla v rámci pokusného sledování účinku intraruminálně aplikovaného bolusu (inzertu) s postupným uvolňováním monenzinu odebrána krev, mléko a moč. Souběžně s pokusnou skupinou byl uskutečněn odběr u neošetřených dojnic (kontrolní skupina). V odebraných vzorcích byly stanoveny ukazatele látkového a energetického metabolismu včetně parametrů ketogeneze.

4.1.1 Charakteristika podniku

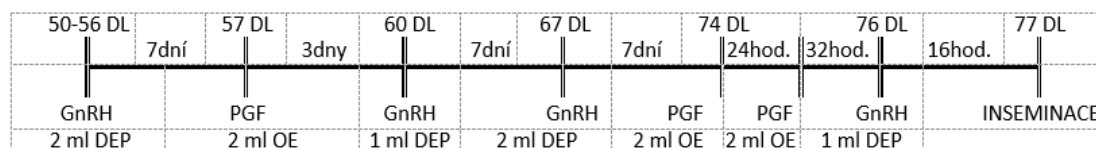
Agropodnik Košetice, a.s. vznikl v roce 2003 změnou právní formy (na akciovou společnost) z původního družstva Agrodružstvo Košetice, které vzniklo v roce 1976 sloučením JZD Košetice, JZD Buřenice a JZD Chyšná. Podle těchto původních je i dnes společnost rozdělena do tří středisek – středisko Košetice, Buřenice a Chyšná. V současné době Agropodnik Košetice, a.s. obhospodařuje přibližně celkem 2 850 ha. Podnik hospodaří na Českomoravské vrchovině, nadmořská výška se pohybuje v rozmezí 494–570 m. n.

Průměrná roční teplota je 7,4 °C. Klimatickým podmínkám na Vysočině je přizpůsobena struktura rostlinné výroby, kde stěžejní část tvoří výroba krmné základny pro živočišnou výrobu (kukuřice, výroba senáží atd.), dále společnost pěstuje brambory sadbové i konzumní, potravinářskou pšenici, řepku, v menší míře ječmen, oves a další. Živočišná výroba se zaměřuje na chov skotu holštýnského plemene, především na výrobu mléka a produkci hovězího masa. Velký význam má chov prasat a chov kuřat. V živočišné výrobě se podnik zaměřuje hlavně na chov skotu v počtu 2530 kusů, z toho 1030 kusů dojnic holštýnského plemene s průměrnou doživostí 11 553 kg mléka.

4.1.2 Reprodukční ukazatele

V chovu je využívána biotechnická metoda zaměřená na zjednodušení procesu vyhledávání říjí a inseminace – OVSYNCH. Cílem je minimalizovat chyby při vyhledávání nevýrazných říjí u dojnic a dosáhnout tak lepších reprodukčních parametrů v chovu. Pro zlepšení termínu inseminace se používá kombinace luteolýzy a vyprovokování ovulace realeasing hormonem se selektivním LH účinkem. Jalovice jsou inseminovány ve 13 měsíci věku. Reprodukční ukazatele chovu za období 2016-2017 jsou shrnuty v tabulce 1. Protokol řízené reprodukce je uveden na obrázku 4.2 a 4.3.

Obrázek 4.1: Double ovsynch protokol – schéma



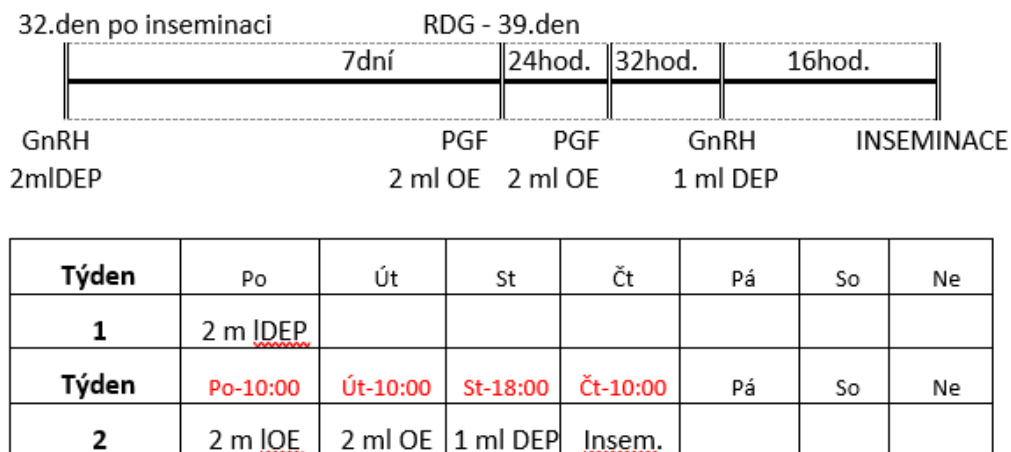
Týden	Po	Út	St	Čt	Pá	So	Ne
1					2ml DEP		
Týden 2	Po	Út	St	Čt	Pá	So	Ne
3	Po	Út	St	Čt	Pá	So	Ne
4	1ml DEP						
Týden 5	Po	Út	St	Čt	Pá	So	Ne
6	2ml DEP						
7	Po-10:00	Út-10:00	St-18:00	Čt-10:00	Pá	So	Ne
8	2ml OE	2ml OE	1ml DEP	Insem.			

*DL – dny laktace

*OE – oestrophan

*DEP - Depherelin

Obrázek 4.2: Resynch protokol – schéma



4.1.3 Užitkovost

Dojnice jsou dojeny 3x denně v rybinové dojárně 2x12 míst. Průměrná produkce za laktaci je 27,63 litrů/dojnici. Průměrná roční dojivost je 11 553 litrů/dojnici, 9 940 litrů/prvotelky. Mastitidní dojnice jsou ve skupinách společně s ostatními dojnicemi, nejsou oddělené v samostatné skupině. Brakace dosahuje hodnot maximálně 30 %. Důvodem jsou především: nízká užitkovost, těžce léčitelné mastitidy (chronické mastitidy), onemocnění končetin, nízká plodnost a těžké porody. Průměrné hodnoty vybraných parametrů v mléce jsou uvedeny v tabulce 4.1.

Tabulka 4.1 Průměrné hodnoty běžně sledovaných parametrů v mléce v období pokusu

Parametr	Hodnota
Tuk	4,14 %
Bílkovina	3,32 %
CPM	9000/ml
Somatické buňky	186.000/ml
Bod mrznutí	528,4
Močovina	4,26 mmol/l
RIL	negativní
Poměr tuk/bílkovina	1.25

4.1.4 Zhodnocení krmné dávky

Krmná dávka je zakládána na krmnou chodbu. Pro jednotlivé skupiny dojníc je sestavována krmná dávka individuálně: rozdoj, dojnice na vrcholu laktace, na konci laktace, březí dojnice před porodem a suchostojné. Složení krmné dávky je uvedeno v tabulce 4.2.

Tabulka 4.2: Složení krmné dávky pro jednotlivé skupiny dojníc (kg/ks/den)

	Rozdoj	Vrchol laktace	Konec laktace	Suchostojné krávy a březí jalovice
Směs	8,60	9,60	3,80	-
Šrot obilí	2,00	2,30	2,80	
Sláma				3
Seno	1	-		1
Pšenice vak	-	-		-
Jetel strnišť.	4	5	4	4
Melasa	0,80	0,80	0,80	
Senáž (jetelová)	5	6	20	6
Siláž (kukuřice)	19	21	7	12
Předporodní směs	-	-	-	2,60
Směs na porodnu	-	-	-	1,7
Primasan		-	-	0,17
GPS - oves		-	-	-

4.1.5 Technologie ustájení

Dojnice jsou ve volném ustájení se stlanými boxy. Krmení je zakládáno krmným vozem na krmnou chodbu, délka krmného stolu je 10–20 cm na dojnici. Porodní boxy jsou s hlubokou podestýlkou. Porody v noci nejsou hlídány, přesun krav na porodnu probíhá 21 dní před porodem. Dojnice jsou zasušovány plošně antibioticky 54 dní před porodem. Napáječky jsou pravidelně rozmístěné po ustájení v dostatečném množství (jedna napáječka na 15–20 dojníc).

Po porodu jsou telata přesouvána do VIB (venkovní individuální box) maximálně do 2 hodin. Do dvou hodin je také telatům podáno první mlezivo. V případě, že jsou telata neochotná pít, používá se krmení jícnovou sondou. Pokud jsou naplánovány přesuny telat, uskutečňují se mezi 14. – 21. dnem. Pokud telata zůstávají ve VIB, jsou po 56 dnech přesunuta do teletníků.

4.1.6 Zdravotní stav

Dvakrát ročně probíhá v chovu kompletní ošetření paznehtů specializovanou firmou. Individuální úpravu a ošetření paznehtů zajišťují zootechnici. Jednou měsíčně se provádí koupel ve venkovním bazénu s formalínem a dvakrát týdně jsou paznehty ošetřeny v průchozích vanách na dojárně formalínem, hypermanganem nebo modrou skalicí. V chovu probíhá vakcinace na Blue-Tongue přípravkem ZULVAC 8 Bovis, vakcinace proti BVD (Bovinní virová diarrhoea), BRSV (Bovinní respirační syncytiální virus), a PI3 (Virus bovinní parainfluenzy). Telata jsou očkována proti Trichofytóze před přechodem do centrálního teletníku. Jednou ročně jsou odebírány krve pro vyšetření na IBR (Infekční bovinní rhinotracheitida) a Brucelózu.

U telat se provádí kontrola koncentrace imunoglobulinů ve věku do 21 dní z krve metodou srážení síranem zinečnatým. Antiparazitární ochrana se u telat neprovádí. Nejčastější zdravotní komplikace jsou uvedeny v tabulce 4.3.

Tabulka 4.3: Nejčastější zdravotní komplikace

Reprodukční problematika	Zadržení lůžka, endometritidy, metritidy, poporodní paréza	15 %
Zdravotní komplikace v průběhu produkce	Mastitidy	30 %
Metabolická onemocnění	Ketózy, acidózy, dislokace slezu	28 %
Respirační onemocnění	Respirační syndrom telat	10 %
Porody	Porody s nutnou asistencí, aborty	5 %
Onemocnění paznehtů	Digitální dermatitida, hniloba, Rusterholzův vřed, nekrobacilóza, difuzní zánět škáry paznehtní	29 %

4.2 Metodika

- Ve vzorcích krve (krevní plazmy, krevního séra) budou stanoveny:

1. parametry energetického metabolismu a parametry energetické adaptability: kyselina β -hydroxymáselná (BHB), neesterifikované mastné kyseliny, glukóza, cholesterol, triacylglyceridy (biochemický analyzátor Dialab, spektroskopické metody)
2. parametry látkového metabolismu: bílkoviny krevní plazmy, močovina, jaterní enzymy (Dialab biochemický analyzátor, spektroskopické metody)
3. hormony štítné žlázy (RIA metody) a tyreotropin (ELISA)

- Ve vzorcích moče budou stanoveny:

1. ketolátky
2. acidobazické parametry
3. močovina
4. minerální látky (biochemický analyzátor Dialab)

- Ve vzorcích mléka budou stanoveny:

1. mléčné složky
2. zastoupení mastných kyselin v mléčném tuku (CombiFoss FT-IR Českomoravská společnost chovatelů, a.s.)

- Hodnocení produkčních a zdravotních ukazatelů:

1. parametry užitkovosti, reprodukce a kondice (zdravotní a zootechnické záznamy, údaje kontroly užitkovosti).

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Úroveň energetického metabolismu a složení mléčného tuku

Hodnocení vztahu mezi úrovní energetického metabolismu dojníc a složením mléčného tuku bylo zaměřeno na obsah a zastoupení mastných kyselin v tuku dojníc ve vzestupné fázi laktace zahrnujících prvních 100 dní. Údaje o zastoupení mastných kyselin a metabolických parametrů individuálních vzorků mléka byly získány v chovu Chyšná z výsledků KU a rozšířených analýz prováděných laboratoří Výzkumného ústavu mlékárenského s.r.o. v Praze. U vybrané skupiny dojníc bylo metabolické hodnocení rozšířeno o analýzy krve, včetně stanovení hormonů štítné žlázy. Vyhodnocovaná data a prováděné analýzy byly součástí projektu NAZV KUS QJ1510339.

Součástí kapitoly je i souhrn již částečně publikovaných výsledků týkající se volných mastných kyselin v mléce, jako ukazatel energetického deficitu (příloha č. 1):

KAUTSKÁ J., KRÍŽOVÁ, Z., SAMKOVÁ, E., KONEČNÝ, R., TRÁVNÍČEK, J. (2018): Vztah obsahu volných mastných kyselin v mléce a ukazatelů energetického deficitu u dojníc v první fázi laktace. (Relationship between free fatty acid content in milk and energy deficit indicators in dairy cows in the first lactation phase). Mlékařské listy, MILCOM a.s. 2018, 27 (5), 158. (příloha č. 1)

5.1.1 Ukazatelé užitkovosti a úrovně energetického metabolismu v první fázi laktace

V tabulkách 5.1 a 5.2 jsou uvedeny ukazatelé mléčné užitkovosti a parametry úrovně energetického metabolismu. Průměrný denní nádoj v průběhu prvních 100 dní se pohyboval v rozmezí 35,63 až 41,94 kg mléka, maximální hodnoty dosahovaly 58,4 a 58,8 kg v 1. a 2. měsíci a 61,9 kg ve 3. měsíci. Vysoký standard užitkovostí dokumentuje i zastoupení dojníc s denním nádojem nad 50 kg mléka, které v 1. měsíci laktace bylo 8,9 % ve 2. měsíci 18,6 a ve 3. měsíci 16,2 %. KRISTENSEN *et al.* (2015) uvádí průměrnou denní užitkovost u holštýnského skotu 30,4 l. Značnou metabolickou zátěž a nároky na krytí živinami potvrzují i vysoké obsahy základních složek mléka, zejména obsah mléčného tuku, který v prvním měsíci laktace dosahoval v průměru $4,72 \pm 1,94$ % a maxima 6,74 %. Pro porovnání průměrný obsah mléčného tuku u plemene holštýn byl v České republice v roce 2020 3,95 % (BUCEK *et al.*, 2021 – ročenka skotu). Zvýšený průměrný obsah mléčného tuku charakterizuje stav zvýšeného využívání tukových rezerv v souvislosti s energetickým nedostatkem v počátku laktace (De KOSTER *et al.*, 2018). Poměr mezi obsahem mléčného tuku a mléčné bílkoviny (T/B) vypočítaný z průměrných hodnot dosahoval v prvním měsíci laktace 1,43, normální hodnota

pro holštýnský skot je podle HEINRICHSE *et al.*, (2005) 1,19 a hodnoty nad 1,5 jsou ukazatelem tukové mobilizace a ketóz (ROSSOW, SÄCHSISCHER 2006; ŠLOSÁRKOVÁ *et al.*, 2015). Nižší, ale přesto nadprůměrný poměr T/B i vyšší obsah tuku byl zaznamenán i v následujícím období (2. měsíc laktace T/B 1,38 a 2. měsíc laktace (T/B 1,35). O nedostatečném krytí energie vzhledem k úrovni užitkovosti svědčí i pokles mléčných bílkovin pod 3,2 % ve 2. měsíci laktace (31.- 60. den laktace) a poměr mezi obsahem mléčné bílkoviny a mléčného tuku pod 80 % (NAVRÁTILOVÁ *et al.*, 2012). Rozdíl mezi sledovanými ukazateli užitkovosti testovaný analýzou rozptylu (ANOVA) byl na úrovni $p < 0,01$. V tabulce 5.1 je bližší statistické hodnocení Tukeyův HSD test.

Tabulka 5.1: Ukazatelé užitkovosti v první fázi laktace

Ukazatel mléčné užitkovosti	Do 30 dní laktace n = 123		31-60 dní laktace n = 129		61-100 dní laktace n = 210		Statistická významnost
	X	S _x	X	S _x	X	S _x	
Dojivost (kg)	35,63 ^{1,2}	11,94	41,26 ¹	10,22	40,26 ²	10,03	¹ HSDtest $p < 0,001$ ² HSD test $p = 0,004$
Mléčný tuk (%)	4,72 ^{1,2}	0,73	4,36 ¹	0,62	4,46 ²	0,70	¹ HSD test $p < 0,001$ ² HSD test $p = 0,008$
Bílkovina (%)	3,31 ¹	0,40	3,16 ^{1,2}	0,39	3,31 ²	0,32	¹ HSD test $p = 0,01$ ² HSD test $p = 0,004$
Laktóza (%)	4,92 ¹	0,30	5,16 ¹	0,23	5,11	0,21	¹ HSD test $p < 0,001$ ² HSDtest $p < 0,001$

Tabulka 5.2: Doplnkové ukazatele saturace dojníc energií v první fázi laktace

Korelační koeficient (r_{xy}) dny laktace: mléčná bílkovina (%)	-0,25	-0,10	0,04
Poměr mezi mléčným tukem (%) a mléčnou bílkovinou (%) (T/B)	1,43	1,38	1,35
Poměr mezi mléčnou bílkovinou (%) a mléčným tukem (%) (B/T)	70,1 %	72,5 %	74,2 %

Úroveň energetického metabolismu charakterizuje i obsah ketolátů v mléce. Obsah ketolátů byl nejvyšší v souvislosti se zahájením laktace v 1. měsíci a postupně se v následujících 2 měsících snižoval (tabulka 5.3). Průměrný obsah acetonu v mléce byl 1. měsíc $0,186 \pm 0,148$ a poslední měsíc $0,116 \pm 0,064$ $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. Obsah acetonu odpovídající zvýšené ketogenezi ($>0,4$ $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) (PECHOVÁ, 2009) vykazovalo celkem 13 % vzorků dojníc v 1. měsíci a ve 3. měsíci laktace pouze 2,4 % vzorků mléka. Obdobná tendence byla zjevná i u obsahu kyseliny β -hydroxymáselné (BHB). Hodnoty odpovídající výrazné ketogenezi a mobilizaci depotního tuku

(> 0,2 mmol/l, respektive > 0,25 mmol/l) v souvislosti s energetickým nedostatkem (GEISHAUSR *et al.*, 2000; PECHOVÁ, 2009; BENEDET *et al.*, 2019) byly v 1. měsíci zaznamenány u 12,2 % a ve 3. měsíci u necelých 2,0 % dojnic (vzorků). U obou ukazatelů ketogeneze byla zřetelná relativně vysoká variabilita, kterou potvrzují hodnoty směrodatné odchylky (tabulka 5.3) a variační koeficient (V%), který se v případě acetonu pohyboval v rozmezí 45,4 - 79,6 % a v případě BHB od 57,4 do 80,9 %. Podle některých autorů lze již obsah BHB v mléce v rozmezí 0,10 případně 0,15-0,20 mmol/l považovat za subklinické formy ketózy (SANTSCHI *et al.*, 2016). Analýza rozptylu pro ketolátky v mléce podle sledovaných úseků laktace byl na úrovni $p < 0,01$). Bližší statistická významnost v tabulce 5.3.

Obsah močoviny v mléce je považován za kritérium zásobování organismu dusíkatými látkami (NL) a současně odráží i bilanci energie a bílkovin, respektive NL v krmné dávce. Fyziologický obsah močoviny je obvykle uváděn v rozpětí od 20 do 30 mg/100 ml mléka (SPEK *et al.*, 2012). Obsah močoviny v mléce (tabulka 8), vykazoval po celé sledované období relativně stabilní hodnoty a odpovídal úrovni tolerované u dojnic s vyšší užitkovostí (ČMSCH, a.s. – Rozbory KU. ČMSCH, a.s. – Úvod [online]. Copyright © 2017 [cit. 14.1.2020]. Dostupné na: <https://www.cmsch.cz/laboratore/lrm-laborator-pro-rozbor-mleka/rozbory-mleka/rozbory-ku/>). Rozdíly v obsahu močoviny nebyly statisticky významné. Přesto, v souvislosti s předcházejícími parametry, i vyšší průměrný obsah močoviny v mléce potvrzuje nevyrovnanou bilanci mezi příjmem a potřebou energie, kterou lze v chovu s užitkovostí 11 000 kg mléka za laktaci předpokládat.

Tabulka 5.3: Ukazatele úrovně energetického metabolismu a ketogeneze v první fázi laktace

	Do 30 dní laktace n = 123		31-60 dní laktace n = 129		61-100 dní laktace n = 210		Statistická významnost
	X	S _x	X	S _x	X	S _x	
Aceton (mmol·l⁻¹)	0,186 ¹	0,148	0,130 ^{1,2}	0,059	0,116 ²	0,064	¹ HSD test $p < 0,001$ ² HSD test $p < 0,001$
BHB (mmol·l⁻¹)	0,084 ¹	0,068	0,061 ^{1,2}	0,035	0,049 ²	0,036	¹ HSD test $p < 0,001$ ² HSD test $p < 0,001$
Močovina (mg·100 ml⁻¹)	31,201	8,694	29,921 ¹	6,850	31,377 ¹	4,724	

5.1.2 Obsah a složení mastných kyselin v mléčném tuku v první fázi laktace

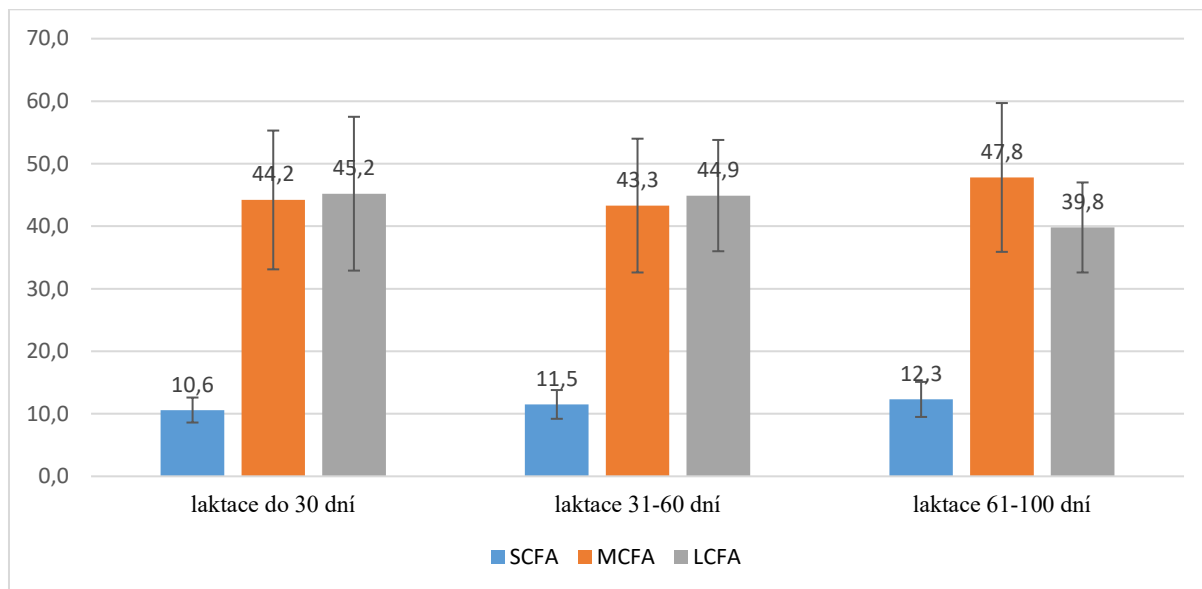
Obsah a složení mastných kyselin (MK) v mléčném tuku je ukazatelem metabolického zatížení dojnic, ale ovlivňuje i technologickou kvalitu mléka. V porovnání s nepřezvýkavými

zvířaty je složení MK u přežvýkavců pestřejší (ŠTOLCOVÁ, 2020). V našem sledování MK bez ohledu na délku řetězce vykazovaly nejvyšší obsah v 1. měsíci laktace a následně se jejich obsah v tuku snížil (tabulka 5.4). K trvalému postupnému poklesu došlo však pouze u kyselin s dlouhým řetězcem (LCFA), jejichž průměrný obsah se ve 3. měsíci laktace se ze 45,2 % snížil na 39,8 %, tedy o 5,4 %. U MK s krátkým řetězcem (SCFA) a se středně dlouhým řetězcem (MCFA) byl ve 3. měsíci zaznamenán po předcházejícím poklesu opětovný vzestup, a to v případě SCFA o 1,4 % a v případě MCFA o 3,6 %. Nejvyšší podíl na obsahu MK měly v 1. měsíci laktace LCFA a ve 3. měsíci mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem (MCFA). Naše výsledky jsou blízké údajům autorů BILAL *et al.* (2014), kteří zaznamenali nízké zastoupení SCFA a MCFA na začátku laktace a následně se jejich obsah zvyšoval. Vyšší obsah LCFA v prvních 30 ti dnech laktace tak souvisí s mobilizací (lipomobilizací) tukových rezerv (ŠTOLCOVÁ, 2020). Při nevyrovnané energetické bilanci dochází k nadměrnému uvolňování neesterifikovaných (volných) mastných kyselin, resp. LCFA do krevního oběhu. Při nedostatku energie, jako je tomu v případě NEB, jsou tyto kyseliny v játrech oxidovány neúplně za vzniku ketolátů (DRACKLEY *et al.*, 2001; CHILLIARD *et al.*, 2000; GRUMMER *et al.*, 2008; GROSS *et al.*, 2013; SUN *et al.*, 2016). Bylo také prokázáno, že kyseliny s dlouhým řetězcem (LCFA) pocházející z krve a zabudované do mléčného tuku inhibují syntézu SCFA a MCFA. Mastné kyseliny s krátkým a středním řetězcem, respektive MK se 14 uhlíky a část k. palmitové (C16:0) se tvoří *de novo* syntézou přímo v mléčné žláze. LCFA a část C16:0 pochází především z krmiva, případně z tukových rezerv (ŠTOLCOVÁ, 2020). Podle KOUBOVÉ (2016) má na obsah MK s krátkých řetězcem vliv i samotná individualita dojnice.

Tabulka 5.4: Obsah mastných kyselin podle délky řetězce v mléčném tuku z celkového obsahu mastných kyselin (g/100 g mléka)

Mastné kyseliny	Do 30 dní laktace		31-60 dní laktace		61-100 dní laktace		Statistická významnost
	X	S _x	X	S _x	X	S _x	
SCFA	0,450	0,088	0,427	0,085	0,449	0,103	
MCFA	1,897 ¹	0,479	1,579 ^{1,2}	0,389	1,746 ²	0,143	¹ HSD test p<0,001 ² HSD test p<0,001
LCFA	1,942 ¹	0,532	1,638 ^{1,2}	0,326	1,454 ²	0,261	¹ HSD test p<0,001 ² HSD test p<0,001

Graf 5.1: Relativní obsah mastných kyselin podle délky řetězce v mléčném tuku z celkového obsahu mastných kyselin (%)



V tukové tkáni dominují kyseliny palmitová, stearová a olejová (C16:0, C18:0 a C18:1). Při lipomobilizaci se zvyšuje i jejich koncentrace v krvi. Takto uvolněné kyseliny především kyselina olejová, jsou přenášeny do mléčné žlázy a jsou zabudovány do mléčného tuku (TYBURZCY *et al.*, 2008). Z uvedených MK měly v prvním měsíci laktace nejvyšší zastoupení v mléčném tuku v pořadí k. olejová, palmitová a nejméně k. stearová (tabulka 5.5).

V období 61-100 dní laktace zvýšila svou koncentraci kyselina palmitová (nárůst o 7,9 %), naopak obsah kyseliny stearové se snížil o 25,09 % a obdobně o 29,12 % i obsah k. olejové. Zvýšený obsah C 18:0 a C18:1 v 1. měsíci jasně dokumentuje výraznou mobilizaci depotního tuku a energetických rezerv a jejich pokles postupné vyrovnávání NEB. Neměnný obsah případně i mírné zvýšení obsahu k. palmitové (C16:0) lze vysvětlit její částečnou tvorbou *de novo* přímo v mléčné žláze a tím i nižší závislostí na depotním tuku (CHILLIARD *et al.*, 2000).

Tabulka 5.5: Obsah kyseliny palmitové, stearové a olejové v mléčném tuku (g/100 g tuku)

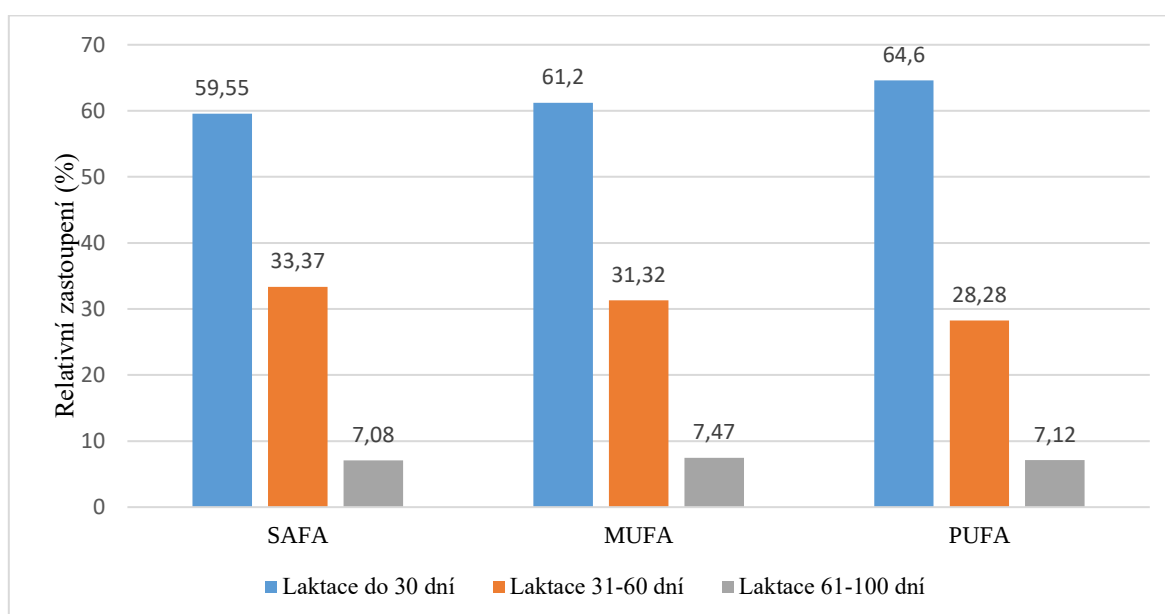
Mastné kyseliny	Do 30 dní laktace n = 123		31-60 dní laktace n = 129		61-100 dní laktace n = 210		Statistická významnost
	X	S _x	X	S _x	X	S _x	
K. palmitová C16:0	1,380 ¹	0,241	1,369 ^{1,2}	0,210	1,489 ^{1,2}	0,287	¹ HSD test p<0,01 ² HSD test p<0,001
K. stearová C18:0	0,703 ¹	0,161	0,613 ^{1,2}	0,098	0,562 ²	0,084	¹ HSD test p<0,001 ² HSD test p<0,001 ³ HSD test p<0,001
K. olejová C18:1	1,441 ¹	0,360	1,237 ^{1,2}	0,218	1,116 ²	0,184	¹ HSD test p<0,001 ² HSD test p<0,001 ³ HSD test p<0,001

Obsah mastných kyselin podle stupně nasycení (přítomnost dvojných vazeb v řetězci) v mléčném tuku je uveden v tabulce 5.6 a grafu 5.2). Nejnižší podíl na složení mléčného tuku vykazují polynenasycené MK (PUFA), jejichž průměrný obsah se pohyboval v rozmezí 7,08-7,47 % z celkového obsahu MK. Vyšší byl na počátku laktace (0,341 g/100 g tuku), nižší v posledních 61-100 dnech laktace (0,323 g/100 g tuku). Nejvyšší obsah měly nasycené MK (SAFA), u nichž byl zaznamenán i postupný vzestup z 2,868 g·100 g tuku⁻¹ (59,55 %) na 2,930 g·100 g tuku⁻¹ (64,6 %). Průměrný obsah mononenasycených MK (MUFA) byl v prvním měsíci laktace 1,607 g/100 g tuku a ve 3. měsíci (61-100 dní laktace) 1,283 g/100 g mléčného tuku. V případě MUFA jde o snížení podílu na celkovém obsahu MK o 5,09 %. Zastoupení MK podle nasycení v mléčném tuku je významně ovlivněno nejen složením krmné dávky a obsahem jednotlivých MK v píce, ale i plemenným, respektive užitkovým typem (SAMKOVÁ *et al.*, 2008). Například BULUT *et al.* (2015) potvrzuje vyšší obsah SAFA u dojnic holštýnského plemene ve srovnání s dojnicemi kombinované užitkovosti simentálského typu a obdobně KOUBOVÁ (2016) ve srovnání s dojnicemi českého strakatého skotu. Nasycené mastné kyseliny obsažené v živočišných tucích jsou významnou energetickou rezervou, a proto se v souvislosti s enormní užitkovostí a metabolickou adaptací na energetický deficit u této produkční skupiny krav přirozeně výrazně uplatňují. Na rozdíl od MUFA a PUFA se jejich obsah v mléčném tuku ve vzestupné fázi laktace udržoval stabilně vysoký a maxima dosáhl ve 3. měsíci laktace (tab. 6). Obsah pro lidskou výživu příznivých nenasycených MK v mléčném tuku naopak zvyšuje pastva, případně čerstvá píče. Například KOUBOVÁ *et al.* (2014) zaznamenala vzestup PUFA z 2,95 % na 3,66 % v souvislosti s přechodem z KD na bázi travní siláže na KD s přidavkem čerstvé vojtekšky.

Tabulka 5.6: Obsah mastných kyselin podle stupně nasycení v mléčném tuku (g/100 g tuku)

Mastné kyseliny	Do 30 dní laktace n = 123		31-60 dní laktace n = 129		61-100 dní laktace n = 210		Statistická významnost
	X	S _x	X	S _x	X	S _x	
SAFA (g/100 g tuku)	2,868	0,436	2,743 ¹	0,416	2,930 ¹	0,534	¹ HSD p<0,01
MUFA (g/100 g tuku)	1,607 ¹	0,351	1,404 ^{1,2}	0,213	1,283 ²	0,189	¹ HSD test p<0,001 ² HSD test p<0,001
PUFA (g/100 g tuku)	0,341 ¹	0,028	0,335 ²	0,027	0,323 ^{1,2}	0,031	¹ HSD test p<0,001 ² HSD test p<0,05

Graf 5.2: Relativní zastoupení mastných kyselin podle stupně nasycení v mléčném tuku



5.1.3 Zastoupení mastných kyselin v mléčném tuku v závislosti na obsahu ketoláték v mléce v prvních 100 dnech laktace

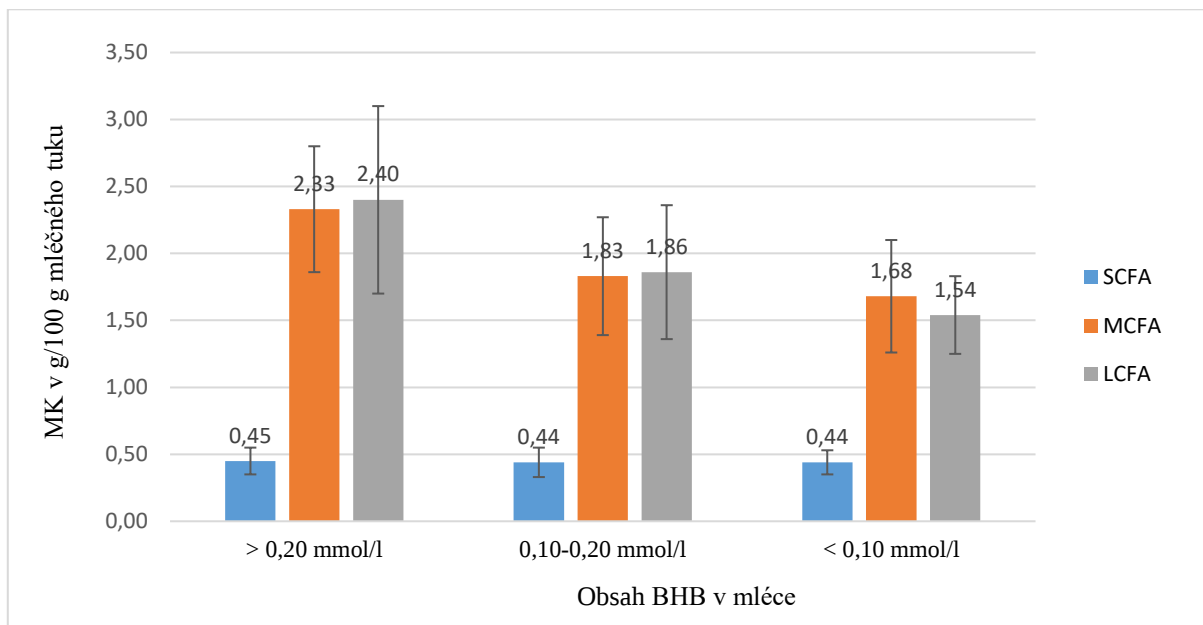
V grafu 5.3 je znázorněn obsah mastných kyselin podle délky uhlíkatého řetězce v mléčném tuku v závislosti na koncentraci kyseliny β -hydroxymáselné (BHB) v mléce. Ve vzorcích mléka s obsahem BHB > 0,20 mmol/l byl oproti vzorkům s obsahem BHB do 0,20 respektive pod 0,10 mmol/l vyšší obsah MK se středním (MCFA) a zejména s dlouhým řetězcem (LCFA). V případě MCFA byl rozdíl vyjádřen v procentech 21,46 % a 27,90 %, v případě LCFA 22,50 % a 33,83 %. Obsah BHB neměl vliv na koncentraci MK s krátkým řetězcem (SCFA), jejich průměrná koncentrace se bez ohledu na obsah BHB pohybovala v rozmezí 0,44-0,45 g/100 g

tuku. Uvedené rozdíly potvrzují i statisticky významné korelační koeficienty ($p < 0,05$) mezi obsahem acetonu a BHB) v mléce a LCFA ($r = 0,555$ a $0,473$), obdobně MCFA ($r = 0,254$ a $0,290$) (tabulka 11).

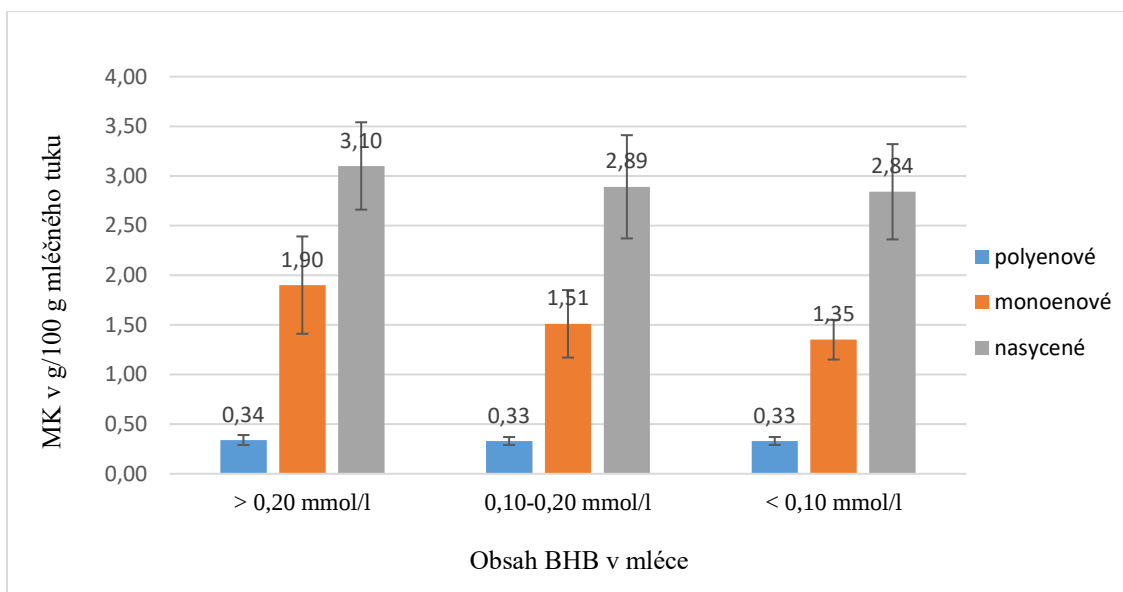
Závislost obsahu MK podle nasycení na koncentraci acetonu a BHB v mléce na základě korelačních koeficientů (tabulka 11) byla v našem sledování potvrzena pouze u monoenoových MK (MUFA: $r = 0,571$ resp. $0,463$, $p < 0,05$). Ve vzorcích mléka s obsahem BHB $> 0,20$ mmol/l byl oproti vzorkům s obsahem BHB pod $0,10$ mmol/l (graf 5.4) rozdíl v obsahu MUFA vyjádřen v procentech 29 %.

Vliv BHB na vybrané MK (k. palmitová, stearová, olejová) je uveden v grafu 5.5. Nejvyšší závislost na obsahu BHB vykazuje k. olejová (C18:1), jejíž obsah ve vzorcích s BHB nad $0,20$ mmol/l byl v procentech téměř o 32,6 % vyšší než u vzorků s obsahem BHB do $0,10$ mmol/l. V případě k. stearové (C 18:0) byl rozdíl téměř 29 % a u k. palmitové (C 16:0) necelých 5,4 %. Vzhledem k tomu, že k. olejová i k. stearová patří mezi MK s dlouhým řetězcem, je jejich závislost na obsahu ketolátek v mléce obdobná jako u celé skupiny LCFA (tabulka 5.4). Korelační koeficienty (tabulka 5.7). Mezi obsahem acetonu v mléce a kyselinou stearovou i olejovou jsou vyšší než 0,53 a v případě BHB vyšší než 0,48 ($p < 0,5$). Obdobně již zmíněná vyšší závislost mezi ketolátkami a k. olejovou (C 18:1) podporuje i relativně vyšší korelační koeficient mezi obsahem acetonu a BHB v mléce a MUFA ($r = 0,571$ a $0,463$). Uvedené závislosti mezi ketolátkami v mléce a LCFA a MK s dlouhým řetězcem (kyselinou olejovou a kyselinou stearovou) odráží míru lipomobilizace (ŠTOLCOVÁ, 2020). Nízké závislosti mezi ketolátkami a k. palmitovou, přesto že jde o MK s dlouhým řetězcem, souvisí s její již zmíněnou částečnou tvorbou *de novo* v mléčné žláze (CHILLIARD et al., 2000).

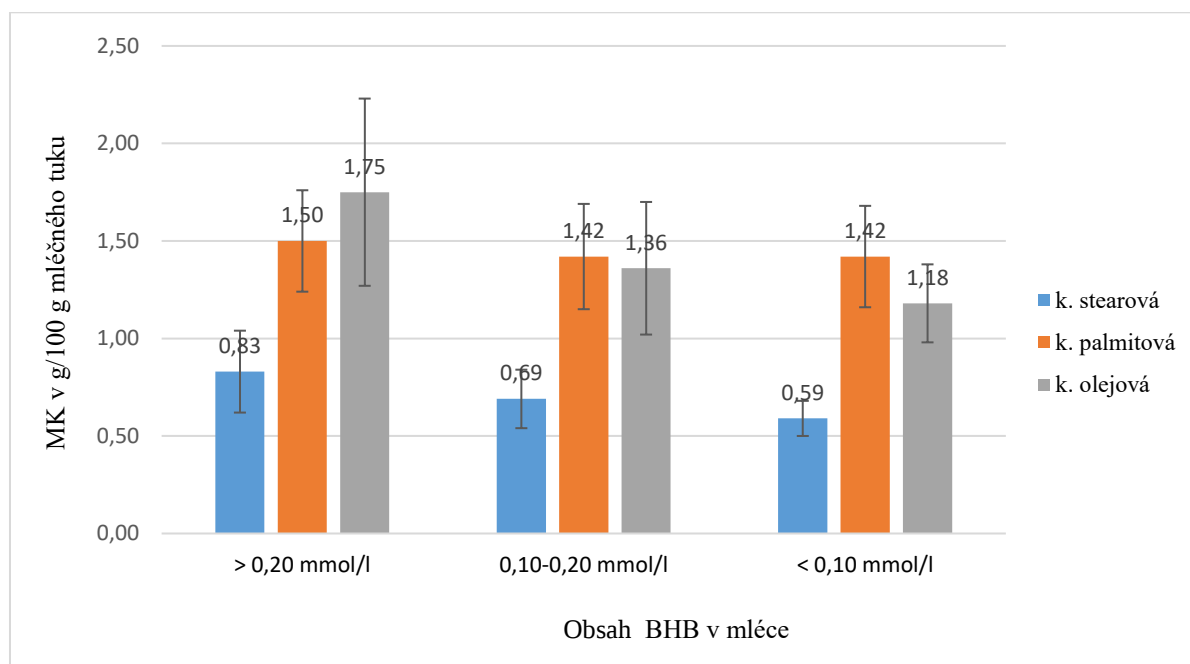
Graf 5.3: Obsah mastných kyselin podle délky řetězce v mléčném tuku v závislosti na obsahu kyseliny β -hydroxymáselné v mléce



Graf 5.4: Obsah mastných kyselin podle stupně nasycení v mléčném tuku v závislosti na obsahu kyseliny β -hydroxymáselné v mléce



Graf 5.5: Obsah kyseliny stearové, palmitové a olejové v mléčném tuku v závislosti na obsahu kyseliny β -hydroxymáselné v mléce



Tabulka 5.7 Korelační koeficienty mezi ketolátkami v mléce a obsahem mastných kyselin v mléčném tuku

Ketolátky v mléce (mmol/l)	MK podle délky uhlíkatého řetězce (g/100 g mléč. tuku)			MK podle nasycení (g/100 g mléč. tuku)			MK palmitová, stearová, olejová (g/100 g mléč. tuku)		
	SCFA	MCFA	LCFA	SAFA	MUFA	PUFA	palmitová	stearová	olejová
Aceton (mmol/l)		0,254	0,555		0,571			0,536	0,582
BHB (mmol/l)		0,290	0,473		0,463			0,482	0,484

Uvedeny rxy vyšší než 0,200

5.1.4 Vliv aktivity štítné žlázy na zastoupení mastných kyselin v mléčném tuku

U vybrané skupiny dojnic ($n = 24$) v období mezi 30. - 55. dnem laktace s průměrným denním nádojem 49,1 litrů mléka bylo metabolické hodnocení rozšířeno o vybrané parametry aktivity štítné žlázy. Průměrné hodnoty vybraných ukazatelů byly následující: tyroxin (T4) $45,421 \pm 15,472$ mmol/l, volná frakce tyroxinu (FT4) $14,336 \pm 1,683$ pmol/l a tyreotropin (TSH) $2,673 \pm 2,245$ ng/ml (0,730 - 7,240 ng/ml). Relativně vysoké hodnoty TSH a nižší koncentrace T4 lze v souvislosti s fází laktace a produkcí považovat za parametry odpovídající snížené činnosti štítné žlázy (STEINHOFF, 2019; VASILEV *et al.*, 2021). Negativní korelační koeficienty mezi obsahem acetonu a BHB v mléce a obsahem T4 ($r = -0,376, -0,387$) naznačují souvislost energetického deficitu a ketogeneze s činností štítné žlázy spojené s produkcí tyreohormonů (tabulka 5.8). Například MOHEBBI-FANI *et al.* (2008) zaznamenali nízké koncentrace

tyroxinu, ale i trijodtyroninu v souvislosti s negativní energetickou bilancí. K obdobným výsledkům ve svých pracích došli i DJOKOVIĆ *et al.*, 2015 nebo FIORE *et al.*, 2017. V rámci rozmezí hodnot T4, FT4 a TSH u testované skupiny krav je z tabulky 12 možné odvodit, že vyšší produkce tyreohormonů (T4 a jeho volné frakce) podporuje zastoupení MK s krátkým a středním řetězcem (SCFA a MCFA), dále skupiny nasycených MK (SAFA), z nichž zejména kyseliny palmitové (C 16:0). Střední, respektive nižší závislost byla stanovena také mezi FT4 a monoenovými mastnými kyselinami, například k. olejovou. Úroveň TSH spíše odráží regulační funkci ve vztahu ke štítné žláze. Záporné korelační koeficienty dokumentují, že vyšší koncentrace TSH, které souvisí se sníženou syntetickou činností štítné žlázy, jsou v našem sledování spojeny s tendencí nižšího zastoupením LCFA, MUFA a PUFA v mléčném tuku (DAWOOD *et al.*, 2021).

Tabulka 5.8 Korelační koeficienty mezi ukazateli aktivity štítné žlázy a obsahem mastných kyselin v mléčném tuku

Ukazatel aktivity štítné žlázy	MK podle délky uhlíkatého řetězce (g/100 g mléč. tuku)			MK podle nasycení (g/100 g mléč. tuku)			MK palmitová, stearová, olejová (g/100 g mléč. tuku)		
	SCFA	MCFA	LCFA	SAFA	MUFA	PUFA	palmitová	stearová	olejová
T4 (mmol/l)	0,594	0,392		0,418			0,438	-0,418	
FT4 (pmol/l)		0,386			0,362				0,238
TSH (ng/ml)			-0,313		-0,372	-0,317			-0,307

Uvedeny rxy vyšší než 0,200

5.1.5 Úroveň energetického metabolismu a obsah volných mastných kyselin v mléčném tuku v první fázi laktace

Obsah volných (neesterifikovaných) mastných kyselin (VMK) v mléce a mléčném tuku je podmíněn lipolýzou mléčného tuku přirozenými nebo kontaminujícími lipázami (RASMUSSEN *et al.*, 2006). Mezi biologické faktory ovlivňující lipolýzu se řadí produkční zátěž dojníc, jejímž důsledkem je energetický deficit a odbourávání tělesného tuku. Obsah VMK v mléce se fyziologicky pohybuje v rozmezí 0,5-1,2 mmol/100 g mléčného tuku (HANUŠ *et al.*, 2011). V tabulce 5.9 je uveden obsah VMK v mléce v jednotlivých fázích v první 100 dnech laktace. V souvislosti s vyšší metabolickou zátěží v prvních 30 dnech laktace nebyly zaznamenány vyšší koncentrace VMK ve srovnání s následujícím obdobím.

Tabulka 5.9: Obsah volných mastných kyselin (mmol/100 g) v mléčném tuku v první fázi laktace

Dny laktace	n	průměr	s _x	V%	max.	min.
Do 30 dní laktace	123	1,045	0,472	45,16	2,010	0,050
31-60 dní laktace	129	0,991	0,440	44,40	1,890	0,210
61-100 dní laktace	210	1,166	0,456	39,11	2,300	0,280

V tabulce 5.10 je uvedeno porovnání úrovně parametrů, které signalizují energetický deficit a VMK. Dojnice s vyšším obsahem VMK ($>1,5$ mmol·l⁻¹) vykazovaly i nadprůměrný obsah ketolátek v mléce). Nejvyšší obsah acetonu v mléce byl $0,194 \pm 0,091$ mmol/l a kyseliny β -hydroxymáselné (BHB) 0,079 mmol/l. Rozdíly uvedených parametrů mezi skupinou dojníc s obsahem VMK nad 1,5 mmol/100 g tuku a skupinou s obsahem pod 0,9 mmol/100 g tuku byly však nízké, u acetonu 6,7 %, u BHB 16,0 %. Pouze v případech, kdy obsah VMK odpovídal nebo převyšoval hodnotu 2,0 mmol/100 g tuku byl obsah ketolátek v mléce oproti skupině dojníc s obsahem VMK do 0,9 mmol/100 g tuku výrazněji vyšší (obsah acetonu o 45,9 % a BHB o 35,7 %). Počet dojníc, které vykazovaly souběžně vysoký obsah VMK v mléčném tuku ($> 2,00$ mmol/100 g tuku) a ketolátek v mléce byl pouze 2,9 %. Korelační koeficienty vypočítané mezi obsahem VMK a parametry energetického deficitu a užitkovostí byly velmi nízké a nepřevyšovaly hodnotu $r = 0,1$. V našem sledování obsah VMK nevykazoval jednoznačnou souvislost mezi energetickým deficitem a ketogenezí. Rozšířené výsledky týkající se obsahu VMK a úrovně zásobení dojníc energií a NL jsou součástí přílohy 1.

Tabulka 5.10: Obsah VMK v mléčném tuku v závislosti na úrovni ukazatelů energetického metabolismu

VMK (mmol/100 g tuku)	n	% dojníc	Aceton (mmol/l)	BHB (mmol/l)	Močovina (mg/100 ml)	T/B (%)
<0,9	200	36,2	$0,133 \pm 0,063$	$0,056 \pm 0,037$	$30,17 \pm 5,82$	$1,38 \pm 0,21$
0,9-1,2	169	30,6	$0,119 \pm 0,059$	$0,051 \pm 0,038$	$30,66 \pm 5,06$	$1,40 \pm 0,25$
1,2-1,5	102	18,4	$0,122 \pm 0,084$	$0,053 \pm 0,039$	$30,78 \pm 4,65$	$1,34 \pm 0,23$
>1,5	82	14,8	$0,142 \pm 0,083$	$0,065 \pm 0,038$	$31,72 \pm 8,01$	$1,31 \pm 0,20$
$\geq 2,0$	16	2,9	$0,194 \pm 0,091$	$0,079 \pm 0,048$	$27,96 \pm 5,68$	$1,30 \pm 0,22$

5.2 Metabolický a produkční účinek profylaxe energetického deficitu a subklinických ketóz

V rámci této části disertační práce byl sledován metabolický a antiketogenní účinek intraruminálního bolusu s obsahem 32,4 g monenzinu, který ovlivňuje bachorovou mikrobiální aktivitu ve prospěch bakterií produkující glukogenní kyselinu propionovou a zmírňující energetický deficit v období nástupu do laktace. Antiketogenní efekt byl ověřován ve dvou chovech dojených krav plemene holštýn s odlišnou úrovní užitkovosti: V chovu Chyšná byla průměrná užitkovost za laktaci 11 553 kg mléka, v chovu Hořepník 10 269 kg mléka. Bližší údaje charakterizující jednotlivé chovy jsou uvedeny v kapitole Materiál a metodika. Výsledky získané v experimentech v chovu Hořepník byly již částečně publikovány (viz. kapitola přílohy). V této části jsou z experimentů v chovu Hořepník uvedeny souhrny výsledků a výsledky zatím nepublikované.

V chovu Chyšná se uskutečnily 2 experimenty: v 1. experimentu bylo v pokusné skupině 22 krav a 6 prvotetek, v kontrolní skupině 23 krav a 8 prvotetek. V 2. experimentu bylo v pokusné skupině 25 a v kontrolní 26 dojnic. Monenzin formou intraruminálního bolusu byl podáván jednorázově, 3 týdny před očekávaným porodem. Vzorky krve a mléka pro analýzu obsahu kyseliny β -hydroxymáselné (BHB) a další metabolická vyšetření byly v průběhu 1. a 2. pokusu odebrány ve 4týdenních cyklech od 2. do 18. měsíce laktace (celkem 5krát).

5.2.1 Účinek intraruminální aplikace monenzinu na ukazatele mléčné užitkovosti dojnic v chovu Chyšná

V tabulce 5.11 a 5.12 jsou uvedeny ukazatele užitkovosti krav v chovu Chyšná. Všechny sledované parametry jsou příznivější pro dojnice pokusné skupiny. Rozdíl v průměrné celkové laktaci dosahoval 137,5 kg mléka (1,2 %), rozdíl v průměrné 100denní laktaci 222,0 kg (1,8 %) mléka. Pozitivní efekt monenzinu je zřejmý i z rozdílu mezi průměrnou předcházející a aktuální 100denní laktací. V případě pokusné skupiny tento rozdíl činil 16,26 % a pouze 9,7 % u skupiny kontrolní. Rozdíly však u žádného ze sledovaných ukazatelů nebyly statisticky významné. Pozitivní účinek monenzinu byl zaznamenán i u prvotek (tabulka 16). V případě celkové laktace byl rozdíl 8,0 %, u 100denní laktace 7,8 % a vzhledem k nižší variabilitě, byl tento rozdíl statisticky významný ($p=0,03$). Produkce mléčných bílkovin a mléčného tuku za 100denní laktaci je uvedena v grafu 5.6. Rozdíly nebyly statisticky významné. Nejvyšší rozdíl byl mezi množstvím vyprodukovaných bílkovin u krav (8,2 %).

Tabulka 5.11: Ukazatele užitkovosti krav v chovu Chyšná

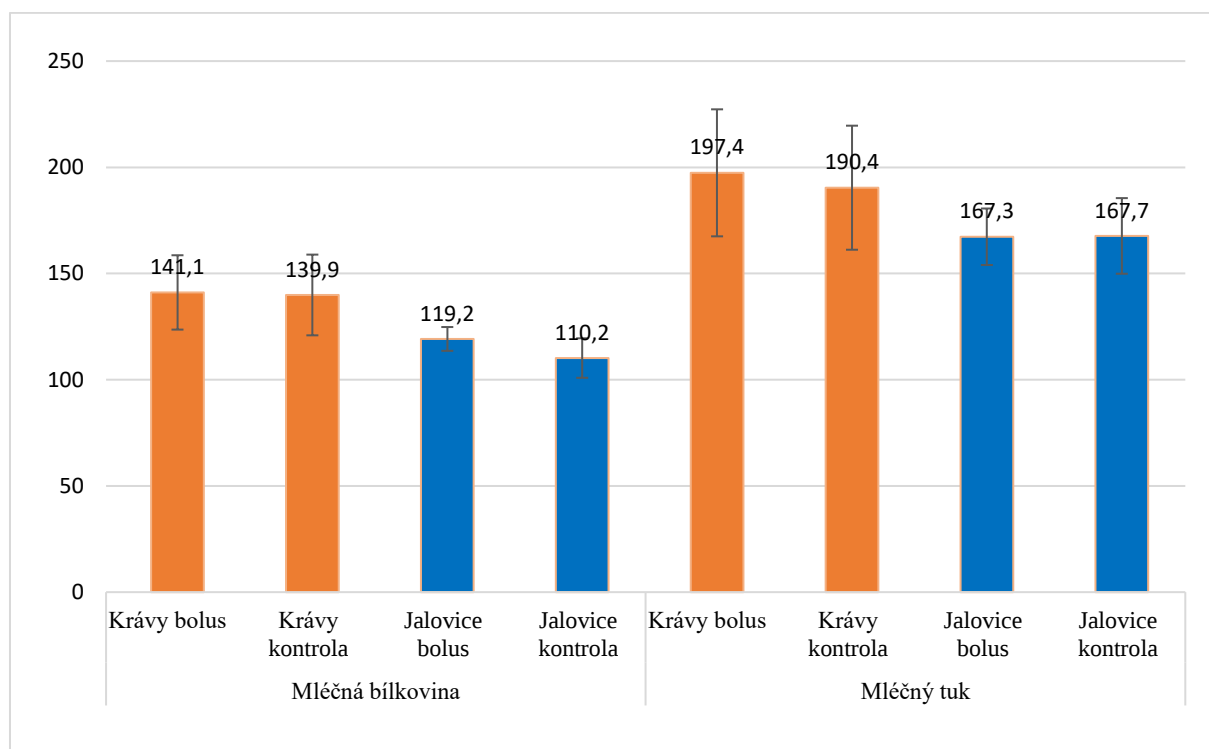
Ukazatel	Kontrolní skupina			Pokusná skupina		
	n	Průměr (kg mléka)	sx	n	Průměr (kg mléka)	sx
Aktuální celková laktace	23	11579,8	1978,8	22	11717,3	2063,6
Předchozí 100denní laktace (A)	23	3637,0	566,0	22	3623,0	944,0
Aktuální 100denní laktace (B)	23	3990,0	757,0	22	4212,0	696,0
Rozdíl B-A (kg mléka)		353,0 kg/ 9,7 %			589,0 kg/ 16,26 %	
Denní nádoj v předchozí 100denní laktaci (A)		36,3 kg			36,2 kg	
Denní nádoj v aktuální laktaci (B)		39,9 kg			42,1 kg	
Rozdíl B-A (kg mléka)		3,6 kg/9,9 %			5,9 kg/11,3 %	

Tabulka 5.12: Ukazatele užítkovosti prvotetek v chovu Chyšná

Užitkovost	Kontrolní skupina			Pokusná skupina		
	n	Průměr (kg mléka)	sx	n	Průměr (kg mléka)	sx
Celková aktuální laktace	8	10742,0	338,3	6	11606,3	1152,1
Aktuální 100denní laktace	8	3561,0 *	189,0	6	3839,0 *	365,0
Denní nádoj v aktuální laktaci		35,6 kg			38,3 kg	

*level p=0,740, t – test p=0,03

Graf 5.6: Produkce bílkovin a tuku v kg za 100denní laktaci



5.2.2 Účinek intraruminální aplikace monenzinu na obsah kyseliny β -hydroxymáselné v mléce a krvi dojníc v chovu Chyšná

V obou pokusech byly průměrné hodnoty kyseliny β -hydroxymáselné (BHB) nižší u skupiny krav ošetřených monenzinem (v 1. pokusu o 8,7 % a ve 2. o 14,5 %). Nižší byl i výskyt

individuálních hodnot odpovídající nežádoucí ketogenezi. Koncentrace BHB v krvi nad 0,90 mmol/l byla ve skupině pokusné v 1. pokusu u 7,40 % a u kontrolní skupiny u 18,5 % krav, ve 2. pokusu obdobné hodnoty dosahovaly úrovně 6,0 % a 17,4 %. Rozdíly mezi pokusnou a kontrolní skupinou nedosahovaly však ani v jednom z pokusů statistické významnosti.

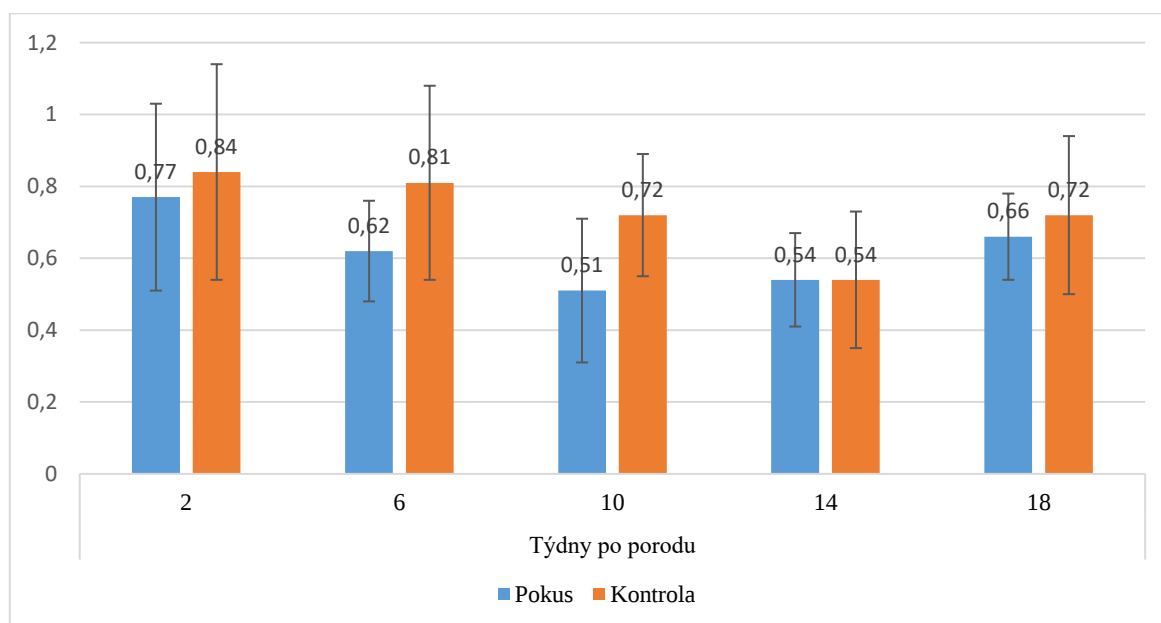
Obsah BHB v mléce vyšší než 0,200 mmol/l v období prvních 10 týdnů laktace dosahoval u pokusné i kontrolní skupiny 3,0 % a obsah v rozmezí 0,10-0,20 mmol/l u skupiny pokusné 25,8 % a kontrolní 29,2 %. Rozdíly nebyly statisticky významné (tabulka 5.13).

Tabulka 5.13: Obsah kyseliny β -hydroxymáselné v krvi v průběhu prvních 10 týdnů (mmol/l)

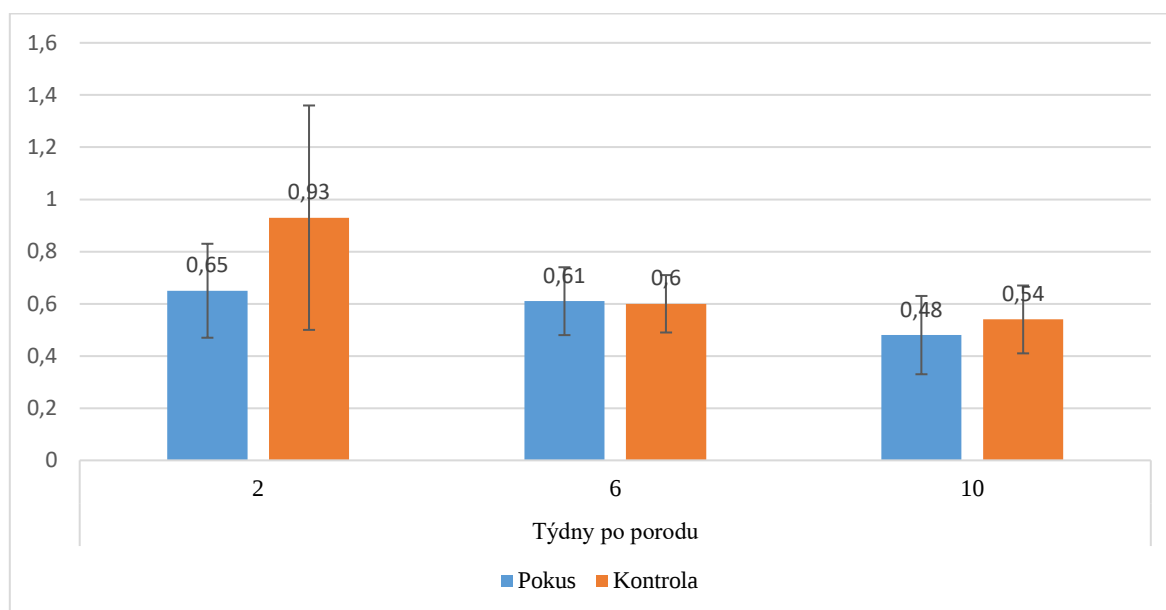
Pokus	Skupina	n	$\bar{x}$	s_x	Maximum	Minimum	Median
1. pokus	Pokusná	27	0,63	0,24	0,80	0,10	0,60
	Kontrolní	27	0,69	0,25	1,40	0,20	0,60
2. pokus	Pokusná	24	0,59	0,18	1,00	0,30	0,60
	Kontrolní	25	0,69	0,38	2,30	0,30	0,60

Dynamika obsahu BHB v krvi v průběhu pokusů je znázorněn v grafech 5.7 a 5.8. V 1. pokusu je zřetelný rozdíl mezi skupinami až do 10. týdne, nejvyšší 30,6 % byl v 10. týdnu, ve 2. pokusu byl rozdíl nejvyšší již v prvním odběru (43,12 %). V následujícím období se průměrné hodnoty BHB vyrovnaly.

Graf 5.7: Dynamika obsahu kyseliny β -hydroxymáselné v krvi krav v 1. pokusu (mmol/l)



Graf 5.8: Dynamika obsahu kyseliny β -hydroxymáselné v krvi krav ve 2. pokusu (mmol/l)



Aplikace monenzinu prokazatelně snížila výskyt subklinických ketóz jak u prvotetek, tak u krav na druhé a další laktaci a významně snížila výskyt pozitivních mléčných keton testů. Snížení obsahu kyseliny β -hydroxymáselné tak potvrzuje význam použité antiketogenní profylaxe. Obdobný pozitivní efekt monenzinu se dostavil i v našem předcházejícím sledování v chovu Hořepník, ve kterém byly rozdíly mezi skupinami i vzhledem k vyšší ketogenezi. (HLADKÝ *et al.*, 2016).

5.2.3 Účinek intraruminální aplikace monenzinu na obsah stopových prvků v mléce dojnic

Intraruminální aplikace monenzinu (32,4g) byla prováděna 3 týdny před porodem. Pozitivním účinkem bylo snížení subklinických ketóz a vyšší produkce mléka během prvních 100 dnů laktace. Účinek monenzinu na obsah mědi (Cu), zinku (Zn) a jódu (I) v mléce dojnic holštýn (11.553 litrů za laktaci) byl pozorován během tří experimentů (skupina E: monenzin, n =16, skupina C: bez monenzinu n=16).

Průměrná koncentrace kyseliny beta-hydroxymáselné (BHB) a sledovaných prvků v mléce jsou uvedeny v tabulce 18. Průměrný obsah BHB v mléce dojnic v prvním experimentu u skupiny E pohyboval od 0,078 do 0,144 mmol/l, u kontrolní skupiny pak od 0,222 do 0,328 mmol/l ($p < 0,01$). Koncentrace BHB nad 0,200 mmol/l v mléce dojnic v kontrolních skupinách již odpovídá subklinické ketóze (GEISHAUSER *et al.* 2000). V mléce dojnic v experimentálních skupinách byl zjištěn vyšší obsah mědi (o 15,8 – 28,2 %) a zinku (o 1,8 –

14,4 %) ve srovnání s kontrolními skupinami. Koncentrace jódu v mléce byla vyšší u dojnic ošetřených monenzinem až v průběhu druhého experimentu. V grafech 5.9 až 5.11 je uvedena dynamika jednotlivých sledovaných prvků v prvních 8 týdnech laktace. Koncentrace mědi a zinku v mléce byla vyšší u pokusné skupiny ve všech třech pokusných obdobích mezi 2. a 4. týdnem ve srovnání s 5. a 8. týdnem laktace. Nejvýznamnější rozdíl v obsahu Cu a Zn (Cu: vyšší o 19 % až 41 %, Zn: vyšší o 3 % až 19 %) byl pozorován mezi 2. a 4. týdnem laktace. Obsah jódu v mléce nevykazoval podobné trendy.

Subklinická ketóza je spojena s významnými změnami nejen ve složení, ale i produkci mléka (SUTHAR *et al.*, 2013). Ketóza byla během daných experimentů doprovázena poklesem obsahu mědi a zinku v mléce u kontrolní skupiny (tabulka 5.14; grafy 5.9 a 5.10). Tyto nižší hodnoty u kontrolních skupin mohou souviset s metabolickým přetížením jater v souvislosti s ketogenezí. Játra jsou důležitým zásobníkem a metabolickým orgánem pro měď (LECH A SADLIK 2007, 2011). Obsah jódu v mléce dojnic v kontrolních skupinách se nelišil od experimentálních skupin. Jód se koncentruje v těle mimo játra, zejména ve štítné žláze (PEKSA *et al.*, 2013). Na rozdíl od mědi a zinku odpovídá koncentrace jódu v mléce jeho příjmu krmnou dávkou, to potvrzuje i TRÁVNÍČEK *et al.*, 2010. Vzhledem k tomu, že měď je součástí kaseinu, lze jeho pokles u kontrolních skupin spojovat s poklesem obsahu mléčných bílkovin v souvislosti s ketózou (O'NEILL *et al.*, 1989; SUTHAR *et al.*, 2013). Nižší produkce mléčných bílkovin během prvních 100 dnů laktace byla v našich experimentech také zjištěna u dojnic se subklinickou ketózou – kontrolní skupina (viz. kapitola 5.2)

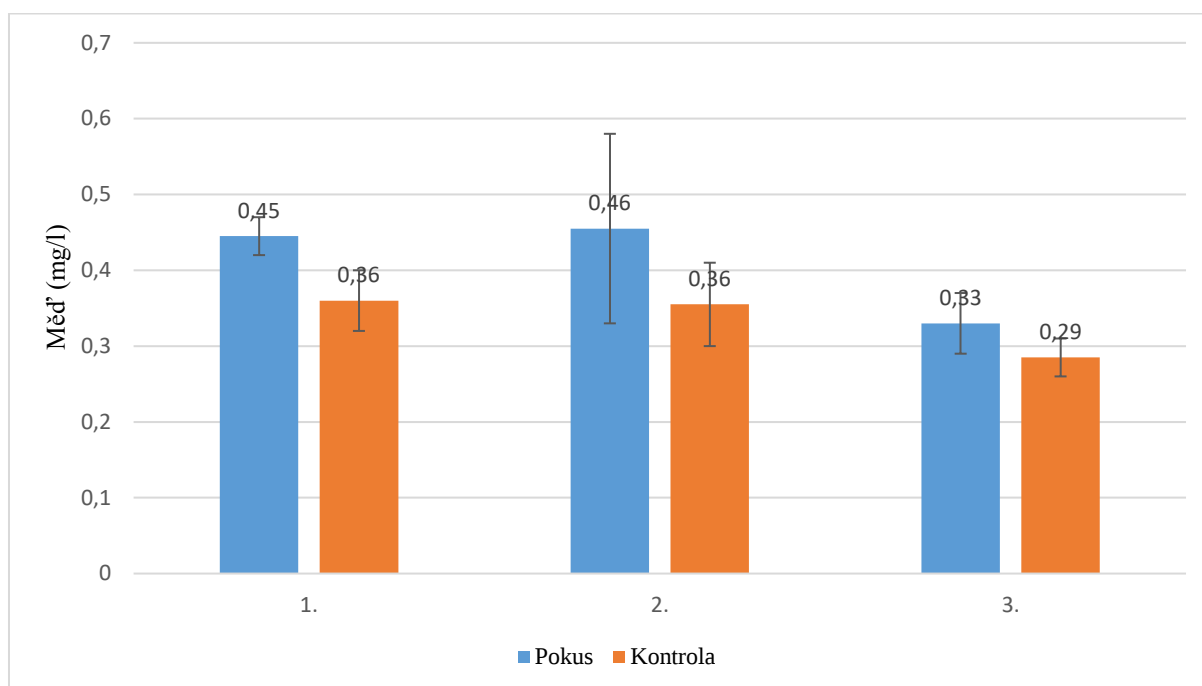
Tabulka 5.14: Koncentrace BHB, mědi, zinku a jódu v mléce dojnic

Experiment	skupina	n	BHB (mmol/l)	Měď (mg/l)	Zinek (mg/l)	Jód (mg/l)
1.	E	16	0.078 ± 0.039 ^a	0.445 ± 0.025 ^d	3.405 ± 0.250	0.18 ± 0.04
	C	16	0.222 ± 0.099 ^a	0.360 ± 0.040 ^d	3.345 ± 0.275	0.20 ± 0.05
2.	E	16	0.144 ± 0.069 ^b	0.455 ± 0.125 ^g	3.385 ± 0.425 ^f	0.32 ± 0.05
	C	16	0.328 ± 0.138 ^b	0.355 ± 0.055 ^g	2.960 ± 0.400 ^f	0.29 ± 0.06
3.	E	16	0.122 ± 0.069 ^c	0.330 ± 0.040 ^e	2.913 ± 0.275	0.20 ± 0.05
	C	16	0.303 ± 0.071 ^c	0.285 ± 0.025 ^e	2.750 ± 0.265	0.22 ± 0.04

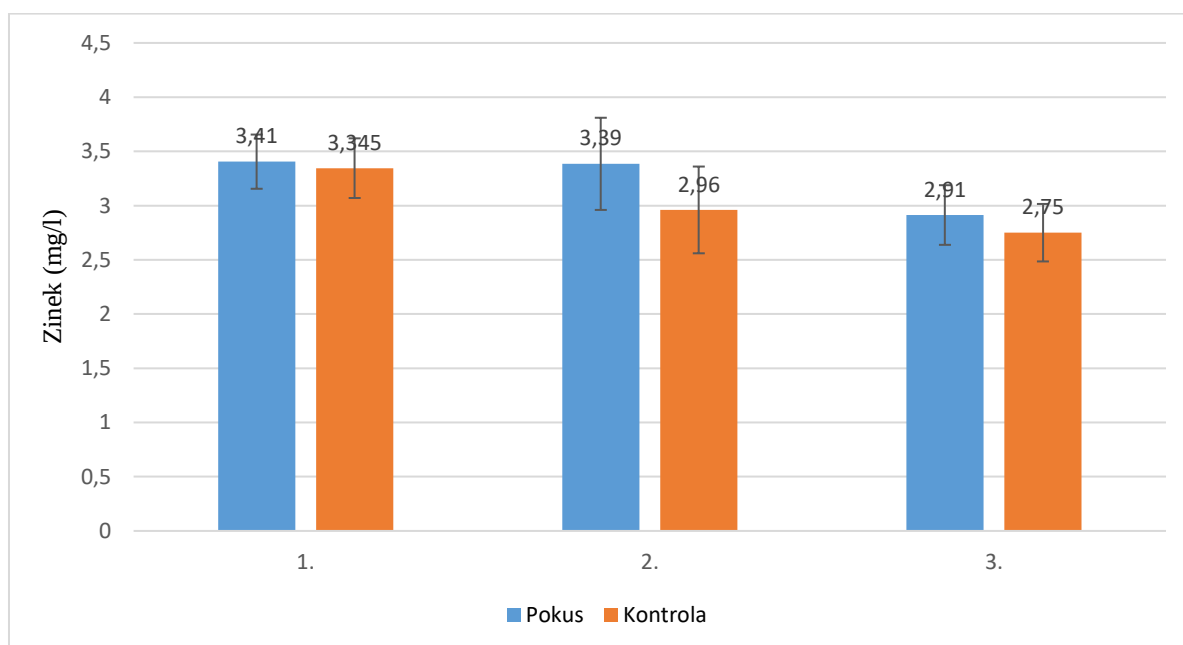
*E – experimentální skupina, C – kontrolní skupina, BHB – beta-hydroxybutyrát

a:a, b:b, c:c, d:d,e:e, f:f $p < 0,01$

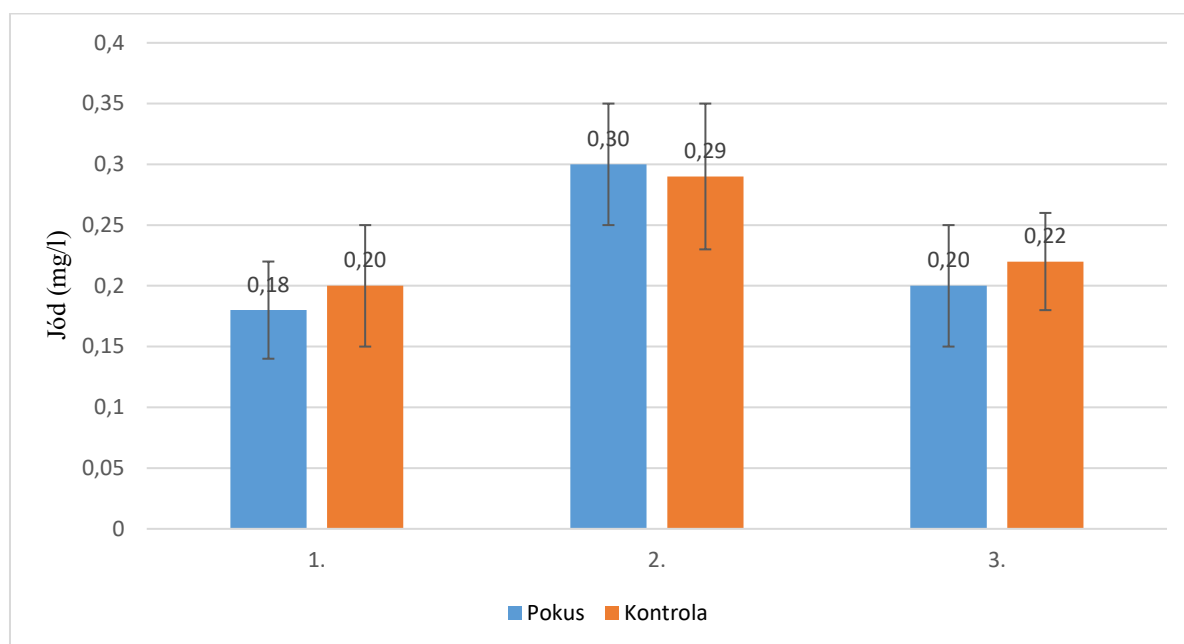
Graf 5.9: Koncentrace mědi v mléce (mg/l)



Graf 5.10: Koncentrace zinku v mléce (mg/l)



Graf 5.11: Koncentrace jódu v mléce (mg/l)



Pozitivní účinek monenzinu měl za následek nižší hladinu kyseliny β -hydroxymáselné v mléce a vyšší obsah Cu (o 15,8 % až 28,2 % vyšší) a Zn (o 1,8 % až 14,4 % vyšší). V obsahu jódu (I) v mléce nebyl pozorován žádný rozdíl mezi pokusnou a kontrolní skupinou.

5.2.4 Účinek intraruminální aplikace monenzinu na vybrané biochemické parametry krevní plazmy

V průběhu sledování účinku intraruminální aplikace monenzinu na vybrané biochemické parametry krevní plazmy byla odebrána krev celkem u 103 dojnic. Byly sledovány parametry: celková bílkovina (CB), močovina, gama-glutamyltransferáza (GMT), cholesterol, triacylglycerol a alkalická fosfatáza (ALP).

Fyziologické hodnoty celkových bílkovin krevní plazmy uvádějí PECHOVÁ *et al.*, (2003) koncentraci 60–80 g/l., POLAT *et al.*, (2009) 78,5 – 82,1 g/l. Podobně průměrné hodnoty u krav stanovili také MERT (1996), KARAGUL *et al.*, (1999) a PADILLA *et al.*, (2007). V průběhu obou pokusů se průměrné hodnoty celkové bílkoviny pohybovaly v rozmezí uváděném zmíněnými autory. Koncentrace celkových plazmatických bílkovin a močoviny ve 2. pokusu dosáhla statistické významnosti. Obsah celkových bílkovin byl u skupiny dojnic ošetřených monenzinem ve 2. pokusu o 6,0 % vyšší a močoviny o 15,4 % vyšší (tabulka 5.15). BUTLER *et al* (2008) uvádí vyšší obsah plazmatických bílkovin před porodem a výrazný pokles bílkovin v krevní plazmě bezprostředně po otelení. Přisuzuje toto snížené akumulaci globulinové frakce plazmatických bílkovin v mléčné žláze. Také VAN DORLAND *et al.*,

(2009) považují změny v koncentraci celkových bílkovin krevní plazmy u dojnic za odraz mobilizace dynamické zásoby proteinů k zabezpečení požadované mléčné produkce. Nicméně tito autoři zjistili postupné snižování plazmatických bílkovin v prvním týdnu po porodu a mírné zvyšování v následujících fázích. Koncentrace plazmatické močoviny je výrazně ovlivněna výživou dojnic a její koncentrace je navíc velmi individuální i přes uniformitu krmné dávky ve skupinách dojnic (BUCEK, 2006). Ostatní sledované parametry (cholesterol, triacylglyceroly a aktivita enzymů GMT a ALP) nevykazovaly statisticky významné rozdíly (tabulka 5.16).

Tabulka 5.15: Obsah celkové bílkoviny, močoviny a aktivita GMT v krevní plazmě v průběhu prvních 10 týdnů laktace

Pokus	Skupina	n	Celková bílkovina (mg·l ⁻¹)		Močovina (mmol·l ⁻¹)		GMT (μkat·l ⁻¹)	
			X	S _x	X	S _x	X	S _x
1. pokus	Pokusná	27	71,83	14,51	4,25	1,09	0,51	0,20
	Kontrolní	27	70,77	13,35	3,94	0,72	0,72	0,65
2. pokus	Pokusná	24	85,46 ¹	4,88	4,43 ²	0,62	0,51	0,18
	Kontrolní	25	80,67 ¹	5,95	3,84 ²	0,66	0,66	0,48

Level p > 0,05, t-test p = 0,008, ² Level p > 0,05, t-test p = 0,0076

Tabulka 5.16: Obsah cholesterolu, triacylglycerolů a aktivita ALP v průběhu prvních 10 týdnů laktace

Pokus	Skupina	n	Cholesterol (mmol·l ⁻¹)		Triacylglyceroly (mmol·l ⁻¹)		ALP (μkat·l ⁻¹)	
			X	S _x	X	S _x	X	S _x
1. pokus	Pokusná	27	5,27	1,69	0,17	0,09	0,75	0,30
	Kontrolní	27	5,73	2,18	0,17	0,08	0,74	0,38
2. pokus	Pokusná	24	6,60	1,90			0,81	0,22
	Kontrolní	25	5,82	1,72			0,77	0,21

5.2.5 Účinek intraruminální aplikace monenzinu na aktivitu štítné žlázy

U vysokoužitkových dojnic dochází během tranzitního období k významným hormonálním změnám, které úzce souvisí s metabolismem. V poslední fázi březosti a na počátku laktace se musí organismus dojnic vyrovnat se zvýšenou metabolickou zátěží. Po porodu dochází u dojnic ve větší nebo menší míře ke vzniku NEB. Je to následek neschopnosti přijmout dostatečné množství sušiny po porodu, nezbytné k pokrytí vysokých energetických požadavků, plynoucích z nárůstu laktace. Adaptace endokrinního systému v tranzitním období, primárně adaptace štítné žlázy, pankreatu a kůry nadledvinek, je klíčovým faktorem pro udržení metabolické rovnováhy (MOHEBBI-FANI *et al.*, 2008; DJOKOVIĆ *et al.*, 2014).

Účinky hormonů štítné žlázy jsou komplexní, díky přítomnosti receptorů téměř ve všech buňkách (STATHATOS, 2016). Majoritním účinkem tyreoidálních hormonů je zvyšování

bazálního metabolismu ve všech tkáních a orgánech s výjimkou mozku, sleziny a varlat. Při těchto dějích dochází následně ke zvýšené spotřebě kyslíku a zvýšení termogeneze (AKERS a DENBOW, 2013). Hormony štítné žlázy také ovlivňují diferenciaci nervové soustavy, zvyšují srdeční frekvenci a zvětšují intenzitu kontrakcí myokardu, mají také vasodilatační účinek na drobné cévy a krevní vlasečnice, stimulují tvorbu mléka a zvyšují obsah mléčného tuku (JELÍNEK a KOUDELA *et al.*, 2003).

V tabulce 5.17 jsou uvedeny průměrné hodnoty hormonů štítné žlázy za celé 10týdenní období po porodu. V obou pokusech byly u pokusných skupin zaznamenány vyšší koncentrace tyroxinu (T4), a to o 26,7 % a 4,5 % a trijódtyroninu (T3) o 7,0 a 14,8 %. Rozdíly však nedosahovaly statistické významnosti. Vyšší koncentrace T4 a T3 byly zjištěny i u dojníc ošetřených monenzinem v předcházejícím sledování v chovu Hořepník. Snížená funkce štítné žlázy souvisí s NEB (MOHEBBI-FANI *et al.*, 2008). Z výsledků je patrné, že i když rozdíly v koncentraci T4 a T3 mezi pokusnou a kontrolní skupinou nebyly statisticky významné, byla koncentrace těchto hormonů vyšší u skupiny pokusné. Studie HUZSENICZI *et al.*, (2002) poukazuje na to, že nízké koncentrace hormonů štítné žlázy mají vliv na opožděný návrat do normálního reprodukčního cyklu po porodu.

V grafech 5.12 a 5.13 je znázorněna dynamika T4 a T3 v prvním experimentu, ve kterém byl rozdíl mezi skupinami v porovnání s 2. pokusem relativně nejvyšší. V případě tyroxinu byl jeho obsah ve všech obdobích sledování (2., 5. a 10. týden post partum) u pokusné skupiny vyšší, přičemž nejvyšší rozdíl byl v 10. týdnu (36,9 %). V případě trijódtyroninu byl v 10. týdnu naopak obsah o necelých 6,0 % vyšší u skupiny kontrolní. Námi zjištěné hodnoty T3 se pohybovaly, především v 2. pokuse, na vyšší úrovni, v porovnání s údaji, které uvádí ve své studii DJOKOVIĆ *et al.*, (2010), $2,22 \pm 0,74$ nmol/l. Ještě nižší koncentrace u dojníc zjistili RASOOLI *et al.* (2004): $1,06 \pm 0,07$ nmol/l. Koncentrace T4 se u dojníc v průběhu pokusu pohybovala na nízké úrovni v porovnání se zjištěnými hodnotami, které uvádí CUNNINGHAM a KLEIN (2007), $79,86 \pm 26,12$ nmol/l. Podobnou koncentraci, $71,98 \pm 27,09$ nmol/l, uvádějí i MOHEBBI-FANI *et al.*, (2008). Vyšší obsah T3 u kontrolní skupiny může souviset s kompenzací nízkého obsahu T4 v tomto období (tabulka 5.17).

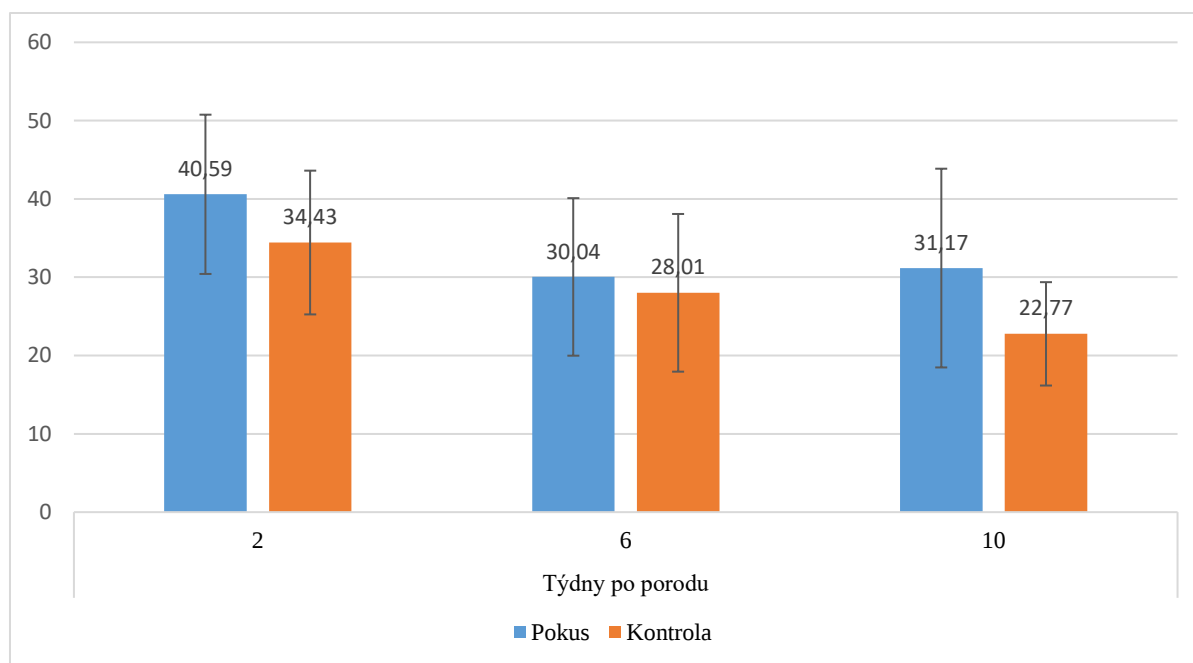
Volné formy (FT₄ a FT₃) tyreoidálních hormonů jsou schopny vstupovat do buněk a dále se zde metabolizovat. Za určitých podmínek přecházejí z volné formy do vazné a naopak (Langer, 2004). Z tohoto důvodu mají tyto volné frakce význam z hlediska konečného působení na cílové orgány. Volné formy hormonů byly u pokusné skupiny nevýznamně vyšší pouze v 1. pokusu. Ve druhém experimentu byly naopak o 6,3-7,3 % nižší. Při porovnání s údaji, které

uvádí ASHKAR *et al.*, (2010), se koncentrace FT4 pohybovala na nižší úrovni. Nižší koncentrace volných frakcí (FT4 a FT3) lze vnímat u kontrolní, monenzinem neošetřené skupiny, jako projev funkční adaptace štítné žlázy.

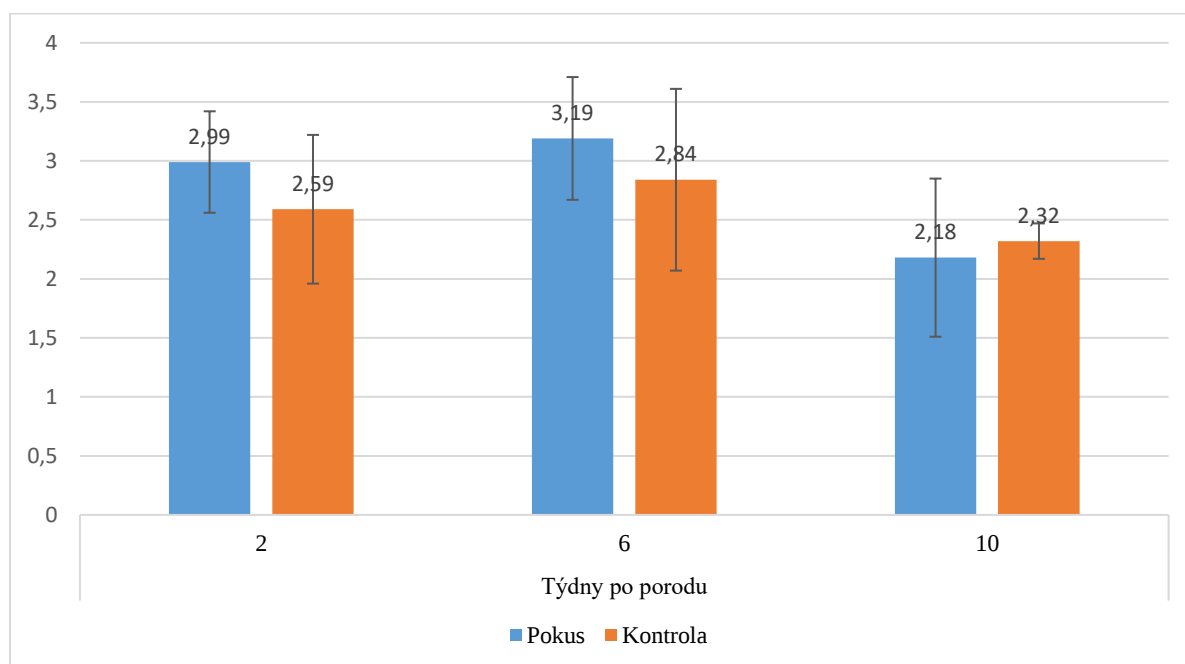
Tabulka 5.17: Obsah hormonů štítné žlázy v průběhu prvních 10 týdnů pokusu

Pokus	Skupina	n	T4		T3		FT4		FT3	
			x	s _x	x	s _x	x	s _x	x	s _x
1.	Pokusná	27	36,01	8,96	2,76	0,71	14,14	2,22	6,55	1,35
	Kontrolní	27	28,41	9,96	2,58	0,62	13,63	1,59	6,26	1,47
2.	Pokusná	24	37,39	8,60	2,33	0,80	15,41	2,63	8,13	4,26
	Kontrolní	25	35,79	9,47	2,03	0,97	16,64	1,96	8,67	3,86

Graf 5.12: Dynamika obsahu tyroxinu (T4) v krvi krav v 1. pokusu



Graf 5.13: Dynamika obsahu trijódtyroninu (T3) v krvi krav v 1. pokusu



5.3 Metabolický a produkční účinek profylaxe energetického deficitu a subklinických ketóz v chovu dojených krav Hořepník

Posílení energetického metabolismu aplikací intraruminálního bolusu s obsahem 32,4 mg monenzinu bylo v chovu dojených krav v Hořepníku sledováno ve 3 pokusných obdobích zahrnující přibližně 2. až 10. týden laktace. V každém pokusném období byla skupina pokusná a kontrolní, v každé bylo 8 krav, z toho 4 prvotelky a 4 krávy na 2. a vyšší laktaci. V každém pokusném období byly provedeny 2 odběry mléka a krve. Byly hodnoceny produkční a metabolické parametry včetně obsahu kyseliny β -hydroxymáselné. Bližší údaje o organizaci experimentů a analytických metodách jsou uvedeny v kapitole „Materiál a metodika“ a v publikacích, které jsou součástí kapitoly „Přílohy“. V této kapitole jsou uvedeny krátké souhrny již publikovaných výsledků a výsledky zatím nezveřejněné.

Publikace týkající se následujících výsledků:

HLADKÝ, J., TRÁVNÍČEK, J., HASOŇOVÁ, L., KŘÍŽOVÁ, Z., KONEČNÝ, R., SAMKOVÁ, E., KAUTSKÁ, J., KALA, R. (2016): Effects of monenzin on milk production and metabolism of dairy cows. MendelNet 2016, 205-209. (Příloha 2)

KŘÍŽOVÁ, Z., KAŇKA, V., TRÁVNÍČEK, J., KONEČNÝ, R., HLADKÝ, J., KAUTSKÁ, J. (2016): Účinek monenzinu na mléčnou produkci a obsah kyseliny beta-hydroxymáselné.

(Effects of monenzin on milk production and beta-hydroxybutyrate content in milk of dairy cows). (Mlékařské listy, MILCOM a.s. 2016, 25 (6), 147. (Příloha 3)

KAUTSKÁ, J., TRÁVNÍČEK, J., KONEČNÝ, R., KŘÍŽOVÁ, Z., SAMKOVÁ, E., HASOŇOVÁ, L., HANUŠ, O., STAŇKOVÁ, M. (2017): Effect of monenzin on the copper, zinc and iodine contents in milk of dairy cows. Mendel Net 2017, 2014-2018. (Příloha 4)

KONEČNÝ, R., KŘÍŽOVÁ, Z., HLADKÝ, J., KAUTSKÁ, J., HASOŇOVÁ, L., SAMKOVÁ, L., ŠIMÁK LÍBALOVÁ, K., TRÁVNÍČEK, J. (2019): Iodine content development in raw cow's milk in three regions of the Czech Republic between the year 2008 and 2018. Acta Veterinaria Brno, 2019, 88:265-270. (Příloha 5)

5.3.1 Účinek intraruminální aplikace monenzinu na mléčnou produkci dojníc v chovu Hořepník

Antiketogenní profylaxe na bázi intraruminální aplikace bolusu s 32,4 mg monenzinu se zřetelně projevila na stabilizaci mléčné užitkovosti dojených krav v chovu Hořepník (příloha 2 a 3). Dojnice pokusných skupin dosáhly vyšší produkce mléka za prvních 100 dní laktace (v jednotlivých pokusných sledováních od 3,4 do 11,2 %) a s tím související i vyšší produkce mléčného tuku a bílkovin (tuku o 6,9 až 12,0 % a bílkovina o 1,8 až 5,4 %). Vyšší produkci mléka odpovídá i příznivější perzistence laktace. Perzistence laktace mezi 1. a 2. kontrolou užitkovosti (respektive mezi 2. a 3. kontrolou užitkovosti) byla u pokusných skupin 88,9 - 96,9 %, u kontrolních skupin 81,8 - 89,8 %. U dojníc kontrolních skupin bylo zaznamenáno přechodné zvýšení obsahu mléčného tuku: pokusné skupiny 3,62-3,77 %, kontrolní skupiny 3,79-4,13 %, související se zvýšenou mobilizací endogenního tuku. Zvýšené lipomobilizaci u kontrolních monenzinem neošetřených dojníc odpovídají i vyšší korelační koeficienty mezi obsahem BHB v mléce a obsahem mléčného tuku: kontrolní skupiny $r = 0,040$ až $0,241$, pokusné skupiny $r = 0,379$ až $0,658$.

Produkční účinek byl samostatně vyhodnocen u prvotetek a krav na 2. a vyšší laktaci (příloha 3). Produkce mléka za prvních 100 dní laktace byla u prvotetek pokusné skupiny o 9,3 % vyšší ($3344,8 \pm 512,3$ kg) a u krav na 2. až 4. laktaci o 4 % vyšší ($4194,6 \pm 587,5$ kg) ve srovnání se skupinou kontrolní ($3058,6 \pm 301,3$ kg u prvotetek a u krav $4034,0 \pm 774,7$ kg).

5.3.2 Účinek intraruminální aplikace monenzinu na obsah kyseliny β -hydroxymáselné v krvi a v mléce dojnic v chovu Hořepník

Aplikace monenzinu měla ve všech 3 experimentech uskutečněných v chovu Hořepník pozitivní vliv na statisticky významně nižší ($p < 0,01$ a $p < 0,05$) obsah kyseliny betahydroxymáselné (BHB) v mléce i v krvi (příloha 1 a 2). Průměrný obsah BHB v mléce pokusných skupin byl v rozsahu od 0,075 do 0,179 mmol/l a u skupin kontrolních (neošetřených monenzinem) od 0,213 do 0,338 mmol/l. Koncentrace BHB v mléce nad 0,200 mmol·l⁻¹, která odpovídá stavu subklinické ketózy, byla u dojnic v pokusných skupinách od 6,0 % (1. pokus) do 25,0 % (2. a 3. pokus), u kontrolních skupin výrazně vyšší (od 68 % do 94 %). Koncentrace BHB v krvi byla u pokusných skupin přibližně 2,3krát nižší než u dojnic kontrolních skupin. V období 24–80 dní po porodu (laktace) byl u dojnic pokusných skupin obsah BHB v průměru od 0,488 do 1,218 mmol/l a u dojnic kontrolních skupin od 1,493 do 2,825 mmol/l. Zvýšenou zátěž ketolátkami dojnic neošetřených monenzinem odráží i vyšší korelační koeficienty mezi BHB v krvi a v mléce: pokusné skupiny $r = 0,541$ až $0,894$, kontrolní $r = 0,718$ až $0,932$. V tabulce 5.18 je uveden přehled obsahu BHB v mléce prvotetek a krav na 2. až 4. laktaci. Statisticky významné rozdíly byly mezi pokusnými a kontrolními skupinami prvotetek i krav, ale mezi prvotelkami a kravami v rámci skupiny rozdíly nebyly.

Tabulka 5.18: Obsah kyseliny β -hydroxymáselné v mléce (mmol/l) prvotetek a krav

Pořadí odběru	Pokusná skupina		Kontrolní skupina	
	Prvotelky (n 12)	2. až 4. lakt. (n 12)	Prvotelky (n 12)	2. až 4. lakt. (n 12)
4. týden laktace	0,133 ± 0,074 ^a	0,120 ± 0,072 ^b	0,329 ± 0,124 ^a	0,317 ± 0,104 ^b
8. týden laktace	0,112 ± 0,044 ^c	0,092 ± 0,033 ^d	0,254 ± 0,062 ^c	0,235 ± 0,092 ^d

a:a, b:b, c:c, d:d $p < 0,01$

5.3.3 Účinek intraruminální aplikace monenzinu na vybrané metabolické parametry dojnic v chovu Hořepník

Vliv monenzinu na obsah vybraných metabolických parametrů byl již zčásti publikován (přílohy 2-3). V obsahu glukózy, močoviny, triacylglycerolů a plazmatických bílkovin nebyly mezi pokusnými (E) a kontrolními skupinami (C) statisticky významné rozdíly. Nízký obsah glukózy (E 2,82, C 2,60 mmol/l) a plazmatických bílkovin (E 69,9, C 63,29 g/l) a vyšší obsah močoviny (E 7,54, C 6,52 mmol/l) u obou skupin lze dát do souvislosti s negativní energetickou bilancí, kterou potvrzuje již zmíněná vysoká koncentrace BHB v krvi (E 1,218 mmol/l, C 2,825

mmol/l). Ve všech 3 vyhodnocovaných experimentech byla u kontrolních skupin statisticky nevýznamně nižší koncentrace tyroxinu ($E\ 51,04 \pm 9,70$ mmol, $C\ 47,43 \pm 8,4$ mmol/l), 51,43 v krevní plazmě a ve 2 pokusech statisticky buď shodný nebo nevýznamně vyšší obsah trijódtyroninu. Obdobné výsledky, ale s většími rozdíly v průměrných hodnotách mezi pokusnými a kontrolními skupinami, byly i v experimentech v chovu Chyšná (kapitola 5.2.3 a 5.2.4). Snížená funkce štítné žlázy, kterou reprezentuje nižší produkce tyroxinu, souvisí například podle (MOHEBBI-FANI *et al.*, 2008) i s negativní energetickou bilancí.

V mléce vybrané skupiny krav ošetřených monenzinem (pokusná skupina, $n=24$) a obdobně v mléce krav kontrolní skupiny ($n=24$) byl v období mezi 2. až 8. týdnem laktace metodou AAS stanoven obsah Cu a Zn a spektroskopicky po spálení vzorku obsah jodu (příloha 4). U krav pokusných skupin s nižším obsahem kyseliny β -hydroxymáselné (tabulka 5.19) byl v mléce vyšší obsah Cu (o 15,8 % až 28,2 % vyšší) a Zn (o 1,8 % až 14,4 % vyšší). Statisticky významný nižší obsah Cu v mléce dojníc v kontrolní skupině může souviset s metabolickým přetížením jater v souvislosti s ketogenezí. Játra jsou důležitým zásobníkem a metabolickým orgánem pro měď. Vzhledem k tomu, že měď je součástí kaseinu, lze jeho pokles u kontrolních skupin spojovat také s poklesem obsahu mléčných bílkovin v souvislosti s ketózou (SUTHAR *et al.*, 2013). Nižší produkce mléčných bílkovin během prvních 100 dnů laktace byla v našich experimentech také zjištěna u dojníc se subklinickou ketózou. V obsahu I nebyl pozorován žádný rozdíl. Jeho množství v mléce souvisí s jeho zejména nutričním příjmem (TRÁVNÍČEK *et al.*, 2011). Průměrný obsah jodu v mléce krav pokusné i kontrolní skupiny se pohyboval v rozmezí 0,215 - 0,224 mg/l a odpovídal hodnotám obsahu jodu v mléce, které jsme souběžně zjistily v chovech dojených krav v kraji Vysočina (příloha 5).

Tabulka 5.19: Vliv intraruminální aplikace monenzinu na obsah vybraných prvků v mléce

Skupina	n	BHB (mmol/l)	Měď (mg/l)	Zinek (mg/l)	Jod (mg/l)
Pokusná	24	$0,123 \pm 0,066^a$	$0,392 \pm 0,083^b$	$3,290 \pm 0,480$	$0,224 \pm 0,083$
Kontrolní	24	$0,323 \pm 0,125^a$	$0,314 \pm 0,071^b$	$3,093 \pm 0,422$	$0,215 \pm 0,060$

^{a:a} $p < 0,01$, ^{b:b} $p < 0,05$

6 ZÁVĚR

Parametry užitkovosti a obsah základních složek mléka, zejména vysoký obsah mléčného tuku a vysoké hodnoty poměru mléčného tuku a bílkoviny (T/B) potvrzují v chovu dojených krav Chyšná značnou metabolickou zátěž testovaných dojnic spojenou se zvýšeným využíváním tukových rezerv v prvních 100 dnech laktace. Lipomobilizace souvisela s nárůstem acetonu a kyseliny β -hydroxymáselné (BHB) v mléce v hodnotách odpovídající subklinickým ketózám, jejichž nejvyšší prevalence byla v 1. měsíci laktace (12,2 % výskyt).

Mastné kyseliny v mléčném tuku v průběhu prvních 100 dnů laktace vykazovaly následující závislosti:

1. Nejvyšší obsah mastných kyselin (MK) v mléčném tuku byl v 1. měsíci laktace a následně se jejich obsah snižoval. K trvalému poklesu došlo u MK s dlouhým řetězcem (LCFA). MK s krátkým (SCFA) a středním řetězcem (MCFA) naopak vykazovaly postupný vzestup.
2. Nejvyšší obsah podle nasycení uhlíkatého řetězce vykazovaly nasycené MK (SAFA), přibližně 60 %, následně monoenové MK (MUFA), kolem 30 % a nejméně polyenové MK (PUFA), necelých 10 %. SAFA vykazovaly postupný vzestup, MUFA naopak pokles.
3. Z jednotlivých MK měly v prvním měsíci laktace nejvyšší zastoupení v mléčném tuku v pořadí kyselina olejová (C18:1) a kyselina palmitová (C16:0), nejméně kyselina stearová. (C18:0). Následně byl zaznamenán významný úbytek C18:1 a C18:0, mírný vzestup C16:0.
4. V souvislosti s ketogenezí a vzestupem ketolátek v mléce byl v mléčném tuku zaznamenán statisticky významný vzestup zejména MK s dlouhým řetězcem (LCFA) a následně se středním řetězcem (MCFA) a podle nasycenosti monoenových MK (MUFA). Z jednotlivých vyhodnocovaných MK nejvyšší závislost na obsahu acetonu a BHB vykazovala kyselina olejová (C18:1), následně kyselina palmitová (C16:0) a nejméně kyselina stearová (C18:0).
5. V souvislosti s ketogenezí a zvýšeným obsahem ketolátek v mléce a ukazateli energetického deficitu nebyl jednoznačně prokázán vzestup volných neesterifikovaných mastných kyselin (VMK) v mléčném tuku.
6. V rámci rozmezí hodnot T4, FT4 a TSH u testované skupiny krav lze odvodit, že zvýšená aktivita štítné žlázy podporuje v mléčném tuku zastoupení MK s krátkým a

středním řetězcem (SCFA a MCFA), dále skupiny nasycených MK (SAFA), z nichž zejména kyseliny palmitové (C 16:0). Snížená aktivita štítné žlázy byla v našem sledování spojena s tendencí nižšího zastoupení LCFA, MUFA a PUFA v mléčném tuku.

Profylaxe energetického deficitu posílením propiogenní aktivity aplikací monenzinu ve formě intraruminálních bolusu přinesla v opakovaných experimentech v chovech dojnic Chyšná a Hořepník následující výsledky:

1. Prokazatelné zvýšení užitkovosti, zejména produkce mléka za prvních 100 dní laktace a s tím i související vyšší produkce mléčného tuku a bílkovin. Vyšší doživosti odpovídá i příznivější perzistence laktace.
2. Aplikace monenzinu prokazatelně snížila výskyt subklinických ketóz, jak u prvotetek, tak u krav na druhé a další laktaci. Snížení obsahu kyseliny β -hydroxymáselné v krvi a mléce potvrzuje význam použité antiketogenní profylaxe. U dojnic neošetřených monenzinem došlo k přechodnému zvýšení obsahu mléčného tuku související se zvýšenou lipomobilizací.
3. Propiogenní účinek monenzinu se pozitivně projevil na úrovni vybraných metabolických parametreů, zejména na vyšším obsahu glukózy, plazmatických bílkovin a močoviny v krevní plazmě. S negativní energetickou bilancí a ketogenezí souvisela snížená aktivita štítné žlázy v podobě nižší produkce tyroxinu a trijodtyroninu. V mléce dojnic neošetřených monenzinem s průkazně vyšším obsahem kyseliny β -hydroxymáselné a acetonu byl zaznamenán snížený obsah zinku a zejména mědi. Ostatní sledované parametry (cholesterol, triacylglyceroly a aktivita enzymů GMT a ALP) nevykazovaly statisticky významné rozdíly.

7 SOUHRN

V současné době je stále snahou chovatelů zvyšovat mléčnou užitkovost dojnic. Nárůst užitkovosti však klade souběžně i vyšší nároky na požadavky nejen na zajištění živin, ale i na celkový zdravotní stav dojnic. Metabolické poruchy dojnic tvoří významnou skupinu onemocnění, která negativně ovlivňuje produkci mléka, jeho kvalitu, plodnost, imunitu a predisponují vznik řady orgánových onemocnění. Po dlouhou dobu probíhají v subklinické formě, ale již v tomto období se uplatňuje jejich široký negativní vliv na zdraví a produkci dojnic. Přechodné období mezi stáním na sucho a laktací je pro dojnice náročné zejména proto, že dochází k mnoha hormonálním a metabolickým změnám v souvislosti s porodem a laktací. V tomto období dochází k intenzivní mobilizaci tukových zásob, které poskytují energii a prekursorů pro syntézu mléka.

V rámci dizertační práce bylo provedeno několik analýz biologického materiálu. Analýzy byly zaměřeny na vyhodnocení vztahu mezi úrovní energetického metabolismu vysokoprodukčních dojnic a množstvím mléčného tuku. Dále vyhodnocení zastoupení a obsahu mastných kyselin v mléčném tuku. Byl vyhodnocený obsah mastných kyselin v mléce a jejich zastoupení podle délky řetězce a podle stupně nasycenosti. V souvislosti s metabolickým zatížením dojnic byla vyhodnocena i dynamika hormonů štítné žlázy a jejich vztah k mastným kyselinám. Součástí práce bylo i zhodnocení profylaxe energetického deficitu posílením propiogení aktivity aplikací monenzinu ve formě intraruminálních bolusu, která se ukázala jako efektivní.

8 SUMMARY

At present, breeders are still trying to increase the milk yield of dairy cows. However, the increase in efficiency not only places higher demands on nutrient requirements, but also on the overall health of dairy cows. Dairy metabolic disorders form several groups of diseases that negatively produce milk production, its quality, fertility, immunity and predispose to the emergence of many organ diseases. They have been taking place in a subclinical form for a long time, but their wide negative impact on the health and production of dairy cows has been applied for a long time. The transition period between standing on lactation is challenging for doing especially because of the many hormonal and metabolic changes associated with childbirth and lactation. During this period, there is an intensive mobilization of fat reserves, which provide energy and resources for milk synthesis.

Several analyzes of biological material were performed within the dissertation. The analyzes were aimed at evaluating the relationship between the levels of energy metabolism of high-yielding dairy cows and the amount of milk fat. Furthermore, evaluation of the presence and content of fatty acids in milk fat. The content of fatty acids in milk and their representation according to chain length and degree of saturation were evaluated. In connection with the metabolic load of dairy cows, the dynamics of thyroid hormones and their relation to fatty acids were also evaluated. Part of the work was also the evaluation of prophylaxis of energy deficit confidence in the propiogenic activity of monenzin application in the form of intraruminal boluses, which proved to be effective.

9 POUŽITÁ LITERATURA

1. AKERS, R. M., DENBOW, D. M. (2013): Anatomy and physiology of domestic animals. Wiley Blackwell, 2013, s. 680, ISBN 978-1-118-35638-8
2. ANTANAITIS, E., ŽALAITIS, V., JUOZAITIENE, V., STOPŠKUS, R., TELEVIČUS, M. 2015: Effects of monenzin on production and energy metabolism in early lactation cows. ŽEMĖS UKIO MOKSLAI, 22(2): 99–105.
3. ASHKAR, F., BARTLEWSKI, P., SINGH, J., MALHI, S., YATES, K., SINGH, T., KING, W. (2010): Thyroid hormone concentrations in systemic circulation and ovarian follicular fluid of cows. Experimental biology and medicine (Maywood, N. J.). 235. s. 215-21. 10.1258/ebm.2009.009185.
4. ASRAT M., TADESSE G. H., GOUNDER R. V., NAGAPPAN R. (2013): Prevalence and treatment of ketosis in dairy cows in and around Addis Ababa, Ethiopia. British Journal of Dairy Sciences, 2013, 3 (3): 26–30
5. BATMANIAN L., WORRALL S., RIDGE J. (2011): Biochemistry for health professionals. Chatswood, N. S. W: Elsevier Australia, 2011, 318 s. ISBN 978-072-9538–749.
6. BEAULIEU, A. D., & PALMQUIST, D. L. (1995): Differential-Effects of High-Fat Diets on Fatty-Acid Composition in Milk of Jersey and Holstein Cows. Journal of Dairy Science, 78(6), 1336-1344.
7. BENDELJA D., PRPIĆ. Z, MIKULEC N., IVKIĆ Z., HAVRANEK J., ANTUNAC N. (2011): Milk urea concentration in Holstein and Simmental cows. Mljekarstvo, 2011, 61 (1): 45–55.
8. BENEDET, A., FRANZOI, M., PENASA, M., PELLATTIERO, E., DE MARCHI, E. (2019): Prediction of blood metabolites from milk mid-infrared spectra in early-lactation cows. Journal of Dairy Science. Volume 102. Issue 12, December 2019, Pages 11298–11307
9. BENEDET, A., MANUELIAN, C.L., ZIDI, A., PENASA, M., DE MARCHI, M. (2019): Invited review: β -hydroxybutyrate concentration in blood and milk and its associations with cow performance. Animal, 13:8, 2019: 1676-1689.
10. BERNARD L., LEROUX C., CHILLIARD Y. (2013): Nutritional regulation of mammary lipogenesis and milk fat in ruminant: contribution to sustainable milk production. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 2013, 26: 292–302.

-
11. BILAL, G., CUE, R. I., MUSTAFA, A. F., HAYES, J. F. (2014): Effects of parity, age at calving and stage of lactation on fatty acid composition of milk in Canadian Holsteins. *Canadian Journal of Animal Science*. 2014. 94(3): 401-410.
 12. BLOWEY R. W., LAVEN R. A.: Factors affecting milk quality. In: ANDREWS A. H., BLOWEY R. W., BOYD H., EDDY R. G. (2004): *Bovine Medicine: Diseases and Husbandry of Cattle*. Oxford: Blackwell Science, 2004, s. 373–378. ISBN 06–320-5596-0.
 13. BOUŠKA J. (2006): *Chov dojeného skotu*. Praha: Profi Press, 2006, 186 s. ISBN 80-867–2616-
 14. BUCEK, P. (2007): Ketóza krav dojených plemen skotu. Českomoravská společnost chovatelů, a.s. 4 s. (www.cmsch.cz/store/2007-ketozy1.pdf)
 15. BUCEK, P., KUČERA, J., SYRŮČEK, J., et al. (2021): Ročenka 2020 – Chov skotu v České republice. Praha, VÚŽV, 45s.
 16. BUCEK, PAVEL (2006): Vybrané problémy měření obsahu močoviny v mléce. *Náš chov*, 2006, 10, 32-36.
 17. BULUT, S., KANBER, G., TIRINDAZ, C., KARA, H., MERT, R., KONUIK, M. (2015): Investigation of fatty acids of milk from different cow breeds. *Journal of Food Safety and Food Quality Archiv für Lebensmittel hygiene*. 66 (6): 102-111.
 18. CUNINGHAM, J. G., KLEIN, B. G. (2007): *Veterinary physiology*. Elsevier, s. 700, ISBN 978-1-416-03610-4
 19. DAWOOD, M., KRAMER, L. M., SHABBIR, M. I., & REECY, J. M. (2021). Genome-Wide Association Study for Fatty Acid Composition in American Angus Cattle. *Animals*, 11(8), 2424.
 20. DE KOSTER J., STRIEDER-BARBOZA C., DE SOUZA J., LOCK A. L., CONTRERAS G. A. (2018): Short communication: Effects of body fat mobilization on macrophage infiltration in adipose tissue of early lactation dairy cows. *JOURNAL OF DAIRY SCIENCE* 101: 7608-7613, DOI: 10.3168/jds.2017-14318
 21. DJOKOVIĆ, R., CICNOVIĆ, M., KURČUBIĆ, V., PETROVIĆ, M., LALOVIĆ, M., JAŠOVIĆ, B., STANIMIROVIĆ, Z. (2014): Endocrine and Metabolic Status of Dairy Cows during Transition Period. *Thai Journal of Veterinary Medicine*, 44 (1): s. 59-56
 22. DJOKOVIĆ, R., CINCOVIĆ, M., BELIĆ, B., TOHOLJ, B., DAVIDOV, I., & HRISTOVSKA, T. (2015). Relationship between blood metabolic hormones, metabolites
-

-
- and energy balance in Simmental dairy cows during peripartum period and lactation. *Pakistan Veterinary Journal*, 35(2), 163-167.
23. DOSKOČIL J.: Trávení a vstřebávání. In: JELÍNEK P., KOUDELA K., DOSKOČIL J., ILLEK J., KOTRBÁČEK V., KOVÁŘŮ F., KROUPOVÁ V., KUČERA M., KUDLÁČ E., TRÁVNÍČEK J., VALENT M. (2003): *Fyziologie hospodářských zvířat*. Brno: Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2003, s. 92–141. ISBN 80-7157-644-1.
 24. DRACKLEY, J. K., BEAULIEU, A. D., ELLIOT, J. P. (2001). Responses of milk fat composition to dietary fat or nonstructural carbohydrates in Holstein and Jersey cows. *Journal of Dairy Science*, 84 (5), 1231–1237
 25. DRACKLEY, J. K., OVERTON, T. R., DOUGLAS, G. N. (2001). Adaptations of glucose and long-chain fatty acids metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. *Journal of Dairy Science*. 84 (E Suppl.). E100–E112.
 26. DUFFIELD T.F., LISSEMORE, K. D., MCBRIDE, B. W., LESLIE, K. E. (2009): Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *J. DairySci.* 92: 571-580.
 27. DUFFIELD, T. F. (2000): Subclinical ketosis in lactating cattle. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract.* 16: 231-253.
 28. DUFFIELD, T. F., RABIEE, A. R., LEAN, I.J. (2008): A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 2. Production effects. *J. DairySci.* 91:1347-1360.
 29. DUCHÁCEK, J., STÁDNÍK, L., PTÁČEK, M., BERAN, J., OKROUHLÁ, M., ČÍTEK, J., AND STUPKA, R. (2014): Effect of cow energy status on the hypercholesterolemia fatty acid proportion in raw milk, *Czech. J. Food. Sci.*, 32, 273–279, 2014
 30. DVOŘÁK R. (2005): Fyziologie a patologie trávení u přežvýkavců. In: DVOŘÁK, R.: *Výživa skotu z hledisek produkční a preventivní medicíny: sborník referátů odborného semináře*. Brno: Česká buiatrická společnost, 2005, s. 17–25. ISBN: 80-86542-08-4.
 31. EDDY, R.G. (2004): Major metabolic disorders. In: ANDREWS, A. H., BLOWEY, R., BOYD, H., EDDY, R. G: *Bovine medicine: Diseases and husbandry of cattle*. Oxford, BlackwellSci. 2004, 781-803.
 32. FIORE, E., GIAMBELLUCA, S., MORGANTE, M., PICCIONE, G., VAZZANA, I., CONTIERO, B., GIANESELLA, M. (2017). Changes in thyroid hormones levels and metabolism in dairy cows around calving. *Acta veterinaria*, 67, 318-330
-

-
33. FLEISCHER P., DVOŘÁK R., ŠTERC J., DOLL K., NĚMEČEK L., HOFÍREK B., (2009), Levostranná dislokace slezu, s. 409-417, In: Hofírek B. a kol., Nemoci skotu, Brno, Česká buiatrická společnost, ISBN 978-80-86542-19-5
 34. FRANDSON R., WILKE W., FAILS A. D.(2009): Anatomy and Physiology of Farm Animals. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2009, 512 s. ISBN 08-138-1394-8.
 35. GAJDŮŠEK S.(2003): Laktologie. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2003, 78 s. ISBN: 80-7157-657-3.
 36. GEISHAUSER, T., LESLIE, K., TENHAG, J. (2000). Evaluation of Eight Cow-side Ketone Tests in Milk for Detection of Subclinical Ketosis in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 83: 296–299.
 37. GORDON, J. L., LEBLANC, S. J., DUFFIELD, T. F. (2013): Ketosis treatment in lacting dairy cattle. *Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice*, 29: 433-445.
 38. GREEN B. L., MCBRIDE B.W., SANDALS D., LESLIE K.E., BAGG R., DICK P. (1999): The impact of a monenzin controlled-release capsule on subclinical ketosis in the transition dairy cow. *J. DairySci.* 82:333-42. Gustafsson, Emanuelson
 39. GROSS, J. J., SCHWARZ, F. J., EDER, K., VAN DORLAND, H. A., BRUCKMAIER, R. M. (2013): Liver fat content and lipid metabolism in dairy cows during early lactation and during a mid-lactation feed restriction. *Journal of Dairy Science.* 96, 5008–5017.
 40. GRUMMER, R. R. (2008): Nutritional and management strategies for the prevention of fatty liver in dairy cattle. *The Veterinary Journal.* 176, 10–20.
 41. GUSTAFSSON, A. H., EMANUELSON, U. (1996): Milk acetone concentration as an indicator of hyperketonaemia in dairy cows: the critical value revised. *Anim. Sci.*, 63, s. 183-188.
 42. HANUŠ, O., GENČUROVÁ, V., VYLETĚLOVÁ, M., MANGA, I. (2013): Stanovení a interpretace koncentrace ketonů v mléce. *Mlékařské listy – Zpravodaj*, 119, 22-25.
 43. HANUŠ, O., MANGA, I., VYLETĚLOVÁ, M., GENČUROVÁ, V., KOPECKÝ, J., JEDELSKÁ, R. (2011): Význam sledování minoritních složek mléka pro zdraví zvířat a analytické možnosti jejich monitoringu. *Mlékařské listy*, 127, 14-18
 44. HANUŠ, O., SKYVA, J., TRAJLINEK, J. (2002): Ketózy, vážný problém vysoce dojných stád. (naschov.cz/ketozy-vazny-problem-vysoce-dojnych-stad/)
-

-
45. HEINRICHS J., JONES C., BAILEY K. (2005): Milk components: Understanding the causes and importance of milk fat and protein variation in your dairy herd. *Dairy and Animal Science*, 2005, 5 (97): 1–8.
 46. HOFÍREK B., DVOŘÁK R., NĚMEČEK L., SONJA F., ŠTERC J. (2009): Dysfunkce předžaludku. In: HOFÍREK, B., DVOŘÁK, R., NĚMEČEK, L., DOLEŽAL, R., POSPÍŠIL Z. et al.: *Nemoci skotu*. Brno: Noviko, 2009, s. 367–405. ISBN: 978-80-86542-19-5
 47. HOFÍREK B., PECHOVÁ A., PAVLATA L., DVOŘÁK, R. (2002): Klinická kontrola výživy, bachorové fermentace a konverze živin v chovu dojnic. *Veterinářství*, 2002, 52: 403–410.
 48. HOFÍREK, B. A PECHOVÁ, A. (2004): *Produkční a preventivní medicína v chovech mléčného skotu*. VFU Brno. 184 s.
 49. HUSZENICZA GY, KULCSAR M, RUDAS P. (2002): Clinical endocrinology of thyroid gland function in ruminants. *Vet Med Czech* 47: 199–210
 50. HUTJENS M. F. (2006): *Managing milk components*. Urbana, Illinois: University of Illinois, 2006, 4 s.
 51. CHANDAN R. C. (2007): Milk composition, physical and processing characteristics. In: HUI Y. H.: *Handbook of Food Products Manufacturing: Health, Meat, Milk, Poultry, Seafood, and Vegetables*. New Jersey: John Wiley and Sons, 2007, s. 347–378. ISBN 9780470125250.
 52. CHAPINAL, N., LEBLANC, S. J., CARSON, M. E., OVERTON, M. W., DUFFIELD, T. F. (2012): Metabolic parameters in transition cows as indicator for early-lactation culling risk. *J. Dairy Sci.* 95: 3057-3063
 53. CHILLIARD, Y., FERLAY, A., MANSBRIDGE, R.M., DOREAU, M. (2000): Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Ann. Zootech.* 49:181-205.
 54. CHILLIARD, Y., CHABOSSEAU, J.M., ROUEL, J., CAPITAN, P., GOMINARD, C., GABORIT, P., JUANEDA, P., FERLAY, A. (2002): Interactions between forage and sunflower or linseed oil supplementation on goat milk fatty acids of interest for human nutrition. In: J.L. Durand, J.C. Emile, C. Huyghe, G. Lemaire (eds.), *Grassland Sci. in Europe. Proc. 19th Gen. Meet. Europ. Grassland Fed.*, Reading, UK, 7:548-549.
 55. ILLEK, J. (2013): Poruchy metabolismu skotu. *Veterinářství*. 63: 354.
-

-
56. JELÍNEK P.: Laktace. In: JELÍNEK P., KOUDELA K., DOSKOČIL J., ILLEK J., KOTRBÁČEK V., KOVÁŘŮ F., KROUPOVÁ V., KUČERA M., KUDLÁČ E., TRÁVNÍČEK J., VALENT M. (2003): Fyziologie hospodářských zvířat. Brno: Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2003, s. 343–361. ISBN 80-7157-644-1.
57. JELÍNEK, P., KOUDELA, K., DOSKOČIL, J., ILLEK, J., KOTRBÁČEK, V., KOVÁŘŮ, F., KROUPOVÁ, V., KUČERA, M., KUDLÁČ, E., TRÁVNÍČEK, J., VALENT M. (2003): Fyziologie hospodářských zvířat; MZLU v Brně, 2003, s. 414. ISBN 80-7157-644-1
58. KAŇKA, V. (2015): Vybrané parametry látkového metabolismu dojených krav. Diplomová práce, ZF, JU v Č. Budějovicích. 75 s.
59. KARAGUL, H., ALTINTAS, A., FIDANCI, U. R., SEL, T. (1998): Basic Biochemistry Applications. Medisan Yayin Serisi, Ankara, Turkey, 1999, 38.
60. KELSEY, J. A., CORL, B. A., COLLIER, R. J., BAUMAN, D. E. (2003): The effect of breed, parity, and stage of lactation on conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat from dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86(8), 2588–2597.
61. KOUBOVÁ, J., SAMKOVÁ, E., HASOŇOVÁ L. (2016): Mastné kyseliny mléčného tuku a vývoj legislativy ve vztahu k nim. *Mlékařské listy – Zpravodaj*, 27/156, 3, 7-15. ISSN 1212950X
62. KOUBOVÁ, J., SAMKOVÁ, E., HASOŇOVÁ, L., KALA, R., ŠPIČKA, J., KVÁČ, M., HANUŠ, O. (2014): Vliv zkrmování čerstvé vojtěšky na zastoupení mastných kyselin v mléčném tuku dojníc. *Mlékařské listy*. 2014. 147: 11-14.
63. KRISTENSEN, T., JENSEN, C., OSTERGARD, S., WEISBJERG, M. R., AAES, O., NIELSEN, N. I. (2015): Feeding, production, and efficiency of Holstein-Friesian, Jersey, and mixed-breed lactating dairy cows in commercial Danish herds. *American Dairy Science Association. Journal of Dairy Science*, Vol. 98, No. 1. 263-275.
64. KUDRNA V. (2010): Působení krmné dávky na množství a kvalitu mléčné bílkoviny: certifikovaná metodika. Praha: Výzkumný ústav živočišné výroby, 2010, 18 s. ISBN 978-80-7403-053-6.
65. KUDRNA V., HOMOLKA, P. (2007): Vliv krmné dávky dojníc na množství a kvalitu mléčného tuku. Praha: Výzkumný ústav živočišné výroby, 2007, 49 s.
66. KVAPILÍK J., KUČERA, J., BUCEK P. A KOL., (2017): Ročenka 2017 chovu skotu v České republice [online]. Praha: Českomoravská společnost chovatelů, a.s. [Citace: 2016-
-

-
- 03-28]. Dostupné z: <https://www.cmsch.cz/plemenarska-prace/ku-kontrola-uzitkovosti/chovatelske-rocenky/rocenky-chovu-skotu/>
67. LANGER, P. (2004): In: Všeobecná a klinická endokrinológia (KREZE, A., KLIMEŠ, I., STÁRKA, L., PAYER, J., MICHÁLEK, J. eds.); AEP – Academic Electronic Press, Bratislava, 2004, s. 940. ISBN 80-88880-58-0
68. LECH, T., SADLIK, J.K. (2007): Copper concentration in body tissues and fluids in normal subjects of southern Poland. *Biological Trace Element Research*, 118(1): 10–5.
69. LERCH, S., PIERES, J.A.A., DEALAVAUD, C., SHINGFILD, K. J., POMIES, D., MARTIN., FERLAY, A. (2015): Rapeseed or linseed in dairy cow diet over 2 consecutive lactations: Effects on adipose fatty acid profile and carry-over effects on milk fat composition in subsequent early lactation. *Journal of dairy science*, 98(2), 1005-1018.
70. LIBERG, P. (1977): Agarose gel electrophoretic fractionation of serum proteins in adult cattle. A study of clinically healthy cows. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 1977, 18, 40-53.
71. LINDMARK-MÅNSSON, HELENA & FONDÉN, RANGNE & PETTERSSON, HANS-ERIK. (2003): Composition of Swedish dairy milk. *International Dairy Journal*. 13. 409-425. 10.1016/S0958-6946(03)00032-3.
72. LITHERLAND, N. B., DANN, H. M., DRACKLEY, J. K. (2011): Prepartum nutrient intake alters palmitate metabolism by liver slices from periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 94, 1928–1940.
73. LITHERLAND, N., DANN, H., DRACKLEY, J. (2011): Prepartum nutrient intake alters palmitate metabolism by liver slices from periparturient dairy cows. *J Dairy Sci*. 94: 1928-1940.
74. LUKÁŠOVÁ J., (1999): Hygiena a technologie produkce mléka. VFU v Brně, Brno, 101 s., ISBN 80–85114–53–4.
75. MCMANAMAN J. L., NEVILLE M. C. (2003): Mammary physiology and milk secretion. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2003, 55: 629–641.
76. MCMANAMAN, J. L. (2012): Milk lipid secretion: recent biomolecular aspects. *BioMolecular Concepts*, 2012, 3 (6): 581–591.
77. MERT, N. (1996): *Veterinary Clinic Biochemistry*. Ceylan Press, Bursa, Turkey, 1996, 280–288.
-

-
78. MIETTINEN, P.V.A. (1994): Relationship between Milk Acetone and Milk Yield in Individual Cows. *Journal of Veterinary Medicine Series A*. 41: 102-109.
 79. MOATE PJ, CHALUPA W, BOSTON RC & LEAN IJ (2007): Milk fatty acids. I. Variation in the concentration of individual fattyacids in bovine milk. *Journal of Dairy Science* 90 4730–4739
 80. MOHEBBI-FANI, M., NAZIFI, S., ROWGHANI, E. (2009): Thyroid hormones and their correlations with serum glucose, beta hydroxybutyrate, nonesterified fatty acids, cholesterol, and lipoproteins of high-yielding dairy cows at different stages of lactation cycle. *Comp Clin Pathol* 18: 211. <https://doi.org/10.1007/s00580-008-0782-7>
 81. NAFIKOV R. A., BEITZ D. C.(2007): Carbohydrate and lipid metabolism in farm animals. *The American Society for Nutrition*, 2007, 137:702–705.
 82. NANTAPO, C. T. W., MUCHENJE, V., & HUGO, A. (2014): Atherogenicity index and health-related fattyacids in different stages of lactation from Friesian, Jersey and Friesian× Jersey cross cow milk under a pasture-based dairy system. *Food Chemistry*, 146, 127-133.
 83. NAVRÁTILOVÁ, P., KRÁLOVÁ, M., JANŠTOVÁ, B., PŘIDALOVÁ, H., CUPÁKOVÁ, Š., & VORLOVÁ, L. (2012): *Hygiena produkce mléka*. Brno. ČR: Veterinární a farmaceutická univerzita.
 84. O'NEILL, N.C., TANNER, M.S. (1989): Uptake of copper from brassvessels by bovine milk and its relevance to Indian childhood cirrhosis. *Journal of Pediatric Gastroenterology Nutrition*, 9(2): 167–172.
 85. PADILLA, L., MATSUI, T., KEN-ICHI, S., KATAMOTO, H., YANO, H.(2007): Relationship between Plasma Vitamin C and Serum Diagnostic Biochemical Markers in Lactating Cows. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 2007, 69 (9), 909–913.
 86. PAVLATA L., PECHOVÁ A., DVOŘÁK R., (2008): Diferenciální diagnostika syndromu ulehnutí u krav, *Veterinářství*, 58. ročník, č. 1, s. 43-51, ISSN 0506-8231
 87. PECHOVÁ, A. (2009): Kontrola produkce a složení mléka. In: Hofírek, B., Dvořák, R., Němeček, L., Doležal, R., Pospíšil Z. et al. (2009): *Nemoci skotu*. Brno: Noviko, 2009, s. 1035-1039. ISBN: 978-80-86542-19-5.
 88. PECHOVÁ, A. et al. (2003): Diagnostika a výskyt hepatopatií u dojnic. *Zdravotní problematika přežvýkavců: produkční a metabolické choroby skotu*. Brno, 2003, 80.
-

-
89. PEKSA, Z., TRÁVNÍČEK, J., KONEČNÝ, R., JELÍNEK, F., DUŠOVÁ, H., HASOŇOVÁ, L., PÁLKA, V. (2013): Histometric and biochemical parameters of thyroid gland in sheep with high iodine supplementation. *Acta Veterinaria Brno*, 82(4): 405–409.
 90. PEŠEK, M., ŠPIČKA, J., SAMKOVÁ, E. (2005): Comparison of fatty acid composition in milk fat of Czech Pied cattle and Holstein cattle. *Czech Journal of Animal Science*, 50(3), 122 – 128.
 91. PILARCZYK, R., WOJCIK, J., SABLİK, P., & CZERNIAK, P. (2015): Fatty acid profile and health lipid indices in the raw milk of Simmental and Holstein-Friesian cows from anorganic farm. *South African Journal of Animal Science*, 45(1), 30-38.
 92. PLAIZIER, J.C., FAIRFIELD, A. M., AZEVEDO, P.A., NIKKHAH, A., DUFFIELD, T.F., CROW, G.H., BAGG, R., DICK, P., MCBRIDE, B.W. (2005): Effects of Monensin and Stage of Lactation on Variation of Blood Metabolites Within Twenty-Four Hours in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 88: 3595-3602.
 93. POLAT, U., GENCOGLU, H., TURKMEN, I. (2009): The effects of partial replacement of corn silage on biochemical blood parameters in lactating primiparous dairy cows. *Veterinární Medicína*, 2009, 54, 9, 407 - 411.
 94. RASMUSSEN, M. D., WIKING, L., BJERRING, M., LARSEN, H.C. (2006): Influence of air intake on the concentration of free fatty acids and vacuum fluctuations during automatic milking. *Journal of Dairy Science*, 89 (12), 4596-4605.
 95. RASOOLI, A., NOURI, M., KHAJEH, G. H., RASEKH, A. (2004): The influence of seasonal variations on thyroid activity and some biochemical parameters of cattle. *Iranian Journal Veterinary Research, University of Shiraz*. 5. s. 1383-1391.
 96. REECE, W. O. (2011): *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat*. Praha: Grada, 2011, 473 s. ISBN 978-80-247-3282-4.
 97. SAMKOVÁ, E. (2012): *Mléko: produkce a kvalita: Milk: production and quality*. 1. vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 240 s. ISBN 978-80-7394-383-7.
 98. SAMKOVÁ, E., ČERTÍKOVÁ, J., ŠPIČKA, J., HANUS, O., PELIKÁNOVÁ, T., & KVÁČ, M. (2014): Eighteen-carbon fatty acids in milk fat of Czech Fleckvieh and Holstein cows following feeding with fresh lucerne (*Medicago sativa* L.). *Animal Science Papers and Reports*, 32(3), 209-218.
-

-
99. SAMKOVÁ, E., PEŠEK, M., ŠPIČKA, J. (2008): Mastné kyseliny mléčného tuku a faktory ovlivňující jejich zastoupení. Vědecká monografie. Jihočeská univerzita v Č. Budějovicích, Zemědělská fakulta. 2008. 90 s.
 100. SANTSCHI, D., LACROIX, R., DUROCHER, J., DUPLESSIS, M., MOORE, R., LEFEBVRE, D. (2016): Prevalence of elevated milk β -hydroxybutyrate concentrations in Holstein cows measured by Fourier-transform infrared analysis in dairy herd improvement milk samples and association with milk yield and components. *Journal of Dairy Science*, 99. 2016: 9263-9270.
 101. SECCHIARI, P., MELE, M., SERRA, A., BUCCIONI, A., PAOLETTI, F., ANTONGIOVANNI, M. (2011): Effect of breed, parity and stage of lactation on milk conjugated linoleic acid content in Italian Friesian and Reggiana cows. *Italian Journal of Animal Science*, 2(15), 269-271.
 102. SEJRSEN K., HVELPLUND T., NIELSEN M. O. (2006): Ruminant physiology: digestion, metabolism and impact of nutrition on gene expression, immunology and stress. Wageningen: Academic Publisher, 2006, 600 s. ISBN 978-907-6998- 640.
 103. SHINGFIELD K. J., BERNARD L., LEROUX C., CHILLIARD Y. (2010): Role of trans fatty acids in the nutrition and regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal*, 2010, 4 (7): 1140–1166.
 104. SLAVÍK P., ILLEK J., MATĚJÍČEK M., KLOUDA Z. (2004): Mléko jako ukazatel zdraví dojníc – bílkoviny. *Veterinářství*, 2004b, 54: 459–464.
 105. SLAVÍK P., ILLEK J., MATĚJÍČEK M., KLOUDA Z. (2004): Obsah tuku v mléce jako ukazatel zdravotního stavu dojníc a úroveň výživy. *Veterinářství*, 2004a, 54: 520–524.
 106. SPEK, J.W., DIJKSTRA, J., G.C VAN DEN BORNE, BANNINK, A. (2012): Assessing urea transport from milk to blood in dairy cows. *Journal of Dairy Science* (2012) 95, 6536-6541
 107. STÁDNÍK, L., DUCHÁČEK, J., BERAN, J., TOUŠOVÁ, R., AND PTÁČEK, M. (2015): Relationships between milk fatty acids composition in early lactation and subsequent productive performance in Czech Fleckvieh cows, *Anim. Reprod. Sci.*, 155, 75–79, 2015.
 108. STATHATOS N. (2016): Anatomy and Physiology of the Thyroid Gland: Clinical Correlates to Thyroid Cancer. In: Wartofsky L., Van Nostrand D. (eds) *Thyroid Cancer*. Springer, New York, NY, ISBN 978-1-4939-3312-9
-

-
109. STEINHOFF, L. (2019): Thyroid hormone profiles and TSH evaluation during early pregnancy and the transition period in dairy cows. *The rriogenology*, 2019, 129: 23-28.
110. SUN, F., CAO, Y., CAI, C., LI, S., YU, C., YAO, J. (2016): Regulation of nutritional metabolism in transition dairy cows: energy homeostasis and health in response to post-ruminal choline and methionine. *PLoS ONE*. 11, e0160659.
111. SUTHAR, V.S., CANELAS-RAPOSO, J., DENITZ, A., HEUWIESER, W. (2013): Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96(5): 2925–2938.
112. ŠLOSÁRKOVÁ, S., FLEISCHER, P., SKŘIVÁNEK, M. (2015): Ketóza. In: Produkční choroby dojníc v trazitním období. Praktická příručka. *Náš Chov*. s. 6-8.
113. ŠTOLCOVÁ, M. (2020): Mastné kyseliny v kravském mléce: význam, syntéza, metabolismus a vztah k energetické bilanci dojníc. Výzkumný ústav živočišné výroby. Online. Dostupné na: <https://www.ctpz.cz/vyzkum/mastne-kyseliny-v-kravskem-mlece-vyznam-synteza-metabolizmus-a-vztah-k-energeticke-bilanci-dojnic-1042>
114. TEDESCO, D., STEINER, S., GALLETI, M. (2004): Efficacy of S ilymarin-Phospholipid Complex in Reducing The Toxicity of Aflatoxin B1 in Broiler Chicks. *Poultry Sci.* 83:1839-1843.
115. TICHÁČEK A., BJELKA M., HANUŠ O., KOPUNECZ P., OLEJNÍK P., PAVLATA L., PECHOVÁ A., PONÍŽIL A. (2007): Poradenství jako nástroj bezpečnosti v prvovýrobě mléka. Šumperk: Agritec s.r.o., 2007, 86 s.
116. TOWNSEND, S. J., SIEBERT, B. D., PITCHFORD, W. S. (1997): Variation in milk fat content and fatty acid composition of Jersey and Friesian cattle. In *Breeding responding to Client Needs. Proc. 12th Conf. Dubbo Australia*, 6 – 10 April, 1997. Armidale, Australia: AAABG Distribution Service, Part 1, 283–291. 47. Vacek, M. 1995. Optimalizace pl
117. TRÁVNÍČEK, J., KROUPOVÁ, V., DUŠOVÁ, H. (2011): Optimalizace obsahu jódu v kravském mléce. Metodická příručka, Jihočeská univerzita v ČB, Agrovýzkum Rapotín.
118. TRÁVNÍČEK, J., KROUPOVÁ, V., KONEČNÝ, R., STAŇKOVÁ, M., ŠŤASTNÁ, J., HASOŇOVÁ, L., MIKULOVÁ, M. (2010): Iodine status in ewes with the intake of iodine enriched alga *Chlorella*. *Czech Journal of Animal Science*, 55(2): 58–65.
-

-
119. TYBURCZY, C., LOCK, A. L., DWYER, D. A., DESTAILLATS, F., MOULOINGUI, Z., CANDY, L., BAUMAN, D. E. (2008): Uptake and utilization of trans octadecenoic acids in lactating cows. *Journal of Dairy Science*. 91, 3850–3861.
120. VALENT M. (2003): Premena látok a energie. In: JELÍNEK P., KOUDELA K., DOSKOČIL J., ILLEK J., KOTRBÁČEK V., KOVÁŘŮ F., KROUPOVÁ V., KUČERA M., KUDLÁČ E., TRÁVNÍČEK J., VALENT M.: Fyziologie hospodářských zvířat. Brno: Mendlova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2003, s. 142–158. ISBN 80-7157-644-1.
121. VAN DORLAND, H.A., RICHTER, S., MOREL, I., DOHERR, M.G., CASTRO, N., BRUCKMAIER, R.M. (2009): Variation in hepatic regulation of metabolism during the dry period and in early lactation in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 2009, 92, 1924–1940.
122. VARGA G. A., ISHLER V. A. (2007): Managing nutrition for optimal milk components. In: Proceedings from the Western Dairy Management Conference, March 7–9, 2007, Reno, Nevada. Western Dairy Management, s. 1–14.
123. VASILEV, R., VASILEVA, I., YUGATOVA, N., TROSHIN, E. (2020): DAFS-25k impact on cattle's thyroid hormonal status. In BIO web of conferences (Vol. 17, p. 00214). EDP Sciences.
124. VRANKOVIC, L., ALADROVIC, J., OCTENJAK, D., BIJELIC, D., CVETNIC, L., STOJEVIC, Z. (2017): Milk fatty acid composition as an indicator of energy status in Holstein dairy cows. *Arch. Anim. Breed.*, 60, 205–212, 2017
125. WHITE, S. L., BERTRAND, J. A., WADE, M. R., WASHBURN, S. P., GREEN, J. T., JENKINS, T. C. (2001): Comparison of fatty acid content of milk from jersey and Holstein cows consuming pasture or a total mixed ration. *Journal of Dairy Science*, 84(10), 2295–2301.
126. Butler, S. T., Pelton, S. H., Knight, P. G., Butler, W. R. 2008. Follicle-stimulating hormone isoforms and plasma concentrations of estradiol and inhibin A in dairy cows with ovulatory and non-ovulatory follicles during the first postpartum follicle wave. *Domestic Animal Endocrinology*. 35, 112 – 119.
-

10 SEZNAM TABULEK

Tabulka 4.1 Průměrné hodnoty běžně sledovaných parametrů v mléce v období pokusu	30
Tabulka 4.2: Složení krmné dávky pro jednotlivé skupiny dojníc (kg/ks/den).....	31
Tabulka 4.3: Nejčastější zdravotní komplikace.....	32
Tabulka 5.1: Ukazatelé užitečnosti v první fázi laktace	35
Tabulka 5.2: Doplnkové ukazatele saturace dojníc energií v první fázi laktace	35
Tabulka 5.3: Ukazatele úrovně energetického metabolismu a ketogeneze v první fázi laktace	36
Tabulka 5.4: Obsah mastných kyselin podle délky řetězce v mléčném tuku z celkového obsahu mastných kyselin (g/100 g mléka).....	37
Tabulka 5.5: Obsah kyseliny palmitové, stearové a olejové v mléčném tuku (g/100 g tuku).....	39
Tabulka 5.6: Obsah mastných kyselin podle stupně nasycení v mléčném tuku (g/100 g tuku)	40
Tabulka 5.7 Korelační koeficienty mezi ketolátky v mléce a obsahem mastných kyselin v mléčném tuku.....	43
Tabulka 5.8 Korelační koeficienty mezi ukazateli aktivity štítné žlázy a obsahem mastných kyselin v mléčném tuku	44
Tabulka 5.9: Obsah volných mastných kyselin (mmol/100 g) v mléčném tuku v první fázi laktace	45
Tabulka 5.10: Obsah VMK v mléčném tuku v závislosti na úrovni ukazatelů energetického metabolizmu	45
Tabulka 5.11: Ukazatele užitečnosti krav v chovu Chyšná	47
Tabulka 5.12: Ukazatele užitečnosti prvotetek v chovu Chyšná	48
Tabulka 5.13: Obsah kyseliny β -hydroxymáselné v krvi v průběhu prvních 10 týdnů (mmol/l).....	49
Tabulka 5.14: Koncentrace BHB, mědi, zinku a jódu v mléce dojníc	51
Tabulka 5.15: Obsah celkové bílkoviny, močoviny a aktivita GMT v krevní plazmě v průběhu prvních 10 týdnů laktace.....	54
Tabulka 5.16: Obsah cholesterolu, triacylglycerolů a aktivita ALP v průběhu prvních 10 týdnů laktace	54
Tabulka 5.17: Obsah hormonů štítné žlázy v průběhu prvních 10 týdnů pokusu	56
Tabulka 5.18: Obsah kyseliny β -hydroxymáselné v mléce (mmol/l) prvotetek a krav	59
Tabulka 5.19: Vliv intraruminální aplikace monenzinu na obsah vybraných prvků v mléce	60

11 SEZNAM GRAFŮ

Graf 5.1: Relativní obsah mastných kyselin podle délky řetězce v mléčném tuku z celkového obsahu mastných kyselin (%)	38
Graf 5.2: Relativní zastoupení mastných kyselin podle stupně nasycení v mléčném tuku	40
Graf 5.3: Obsah mastných kyselin podle délky řetězce v mléčném tuku v závislosti na obsahu kyseliny β -hydroxymáselné v mléce	42
Graf 5.4: Obsah mastných kyselin podle stupně nasycení v mléčném tuku v závislosti na obsahu kyseliny β -hydroxymáselné v mléce	42
Graf 5.5: Obsah kyseliny stearové, palmitové a olejové v mléčném tuku v závislosti na obsahu kyseliny β -hydroxymáselné v mléce	43
Graf 5.6: Produkce bílkovin a tuku v kg za 100denní laktaci	48
Graf 5.7: Dynamika obsahu kyseliny β -hydroxymáselné v krvi krav v 1. pokusu (mmol/l)	49
Graf 5.8: Dynamika obsahu kyseliny β -hydroxymáselné v krvi krav ve 2. pokusu (mmol/l).....	50
Graf 5.9: Koncentrace mědi v mléce (mg/l).....	52
Graf 5.10: Koncentrace zinku v mléce (mg/l).....	52
Graf 5.11: Koncentrace jódu v mléce (mg/l).....	53
Graf 5.12: Dynamika obsahu tyroxinu (T4) v krvi krav v 1. pokusu	56
Graf 5.13: Dynamika obsahu trijódtyroninu (T3) v krvi krav v 1. pokusu	57

12 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 2.1: Obecné rozdělení složek mléka	13
Obrázek 4.2: Double ovsynch protokol – schéma.....	29
Obrázek 4.3: Resynch protokol – schéma.....	30

13 SEZNAM ZKRATEK

ALP	Alkalická fosfatáza
B (%)	Obsah mléčné bílkoviny
BCS	Body condition score (stav tělesné kondice)
BHB	β -hydroxybutyrát
CB	Celková bílkovina
CLA	Konjugovaná linolová mastná kyselina
ft3	Volný trijódtyronin
ft4	Volný tyroxin
KD	Krmná dávka
KU	Kontrola užitkovosti
L (%)	Obsah laktózy
LCFA	Mastné kyseliny s dlouhým řetězcem
MCFA	Mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem atomů uhlíku
MUFA	Mononenasycené mastné kyseliny
NDF	Neutrálně detergentní vláknina
NEB	Negativní energetická bilance
NEFA	neesterifikované mastné kyseliny
NEMK	Neesterifikované mastné kyseliny
NL	Dusíkaté látky
PUFA	Polynenasycené mastné kyseliny
SAFA	Nasycené mastné kyseliny
SARA	Subacute ruminal acidosis (subakutní bachorová acidóza)
SCFA	Mastné kyseliny s krátkým řetězcem
T (%)	Obsah mléčného tuku
T/B	Poměr tuku a bílkoviny v mléce

TAG	Triacylglycerol
TMK	Těkavé mastné kyseliny
TSH	Tyreostimulační hormon
UDP	Uridindifosfát
UMP	Uridinmonofosfát
UTP	Uridintrifosfát
VLDL	Very low density lipoprotein (lipoproteiny o nízké hustotě)
VMK	Volné mastné kyseliny

14 PŘÍLOHY

PŘÍLOHA 1

- KIZERWETTER-SWIDA M., CHROBAK D., RZEWUSKA M., BINEK M. (2009): Antibiotic resistance patterns and occurrence of *mecA* gene in *Staphylococcus intermedius* strains of canine origin. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 12(1):9-13.
- KLIMEŠOVÁ M., BJELKOVÁ M., DUŠEK K., HANUŠ O., VONDRUŠKOVÁ E., NEJESCHLEBOVÁ L., ŽÁK P. (2016): Antibakteriální účinek medu na kmeny *Staphylococcus aureus*. *Mlékařské listy-zpravodaj* 158, 27(5): 1-5.
- KLIMEŠOVÁ M., HANUŠ O., ŘIHA J., VONDRUŠKOVÁ E., DUŠEK K. (2017b): Antibacterial effect of honey on mastitis pathogens. Posterové sdělení na odborném semináři Bentley v Lille (Francie) 2017, *International Seminar: More value from every sample throughout the whole dairy chain. Convent des Minimes Hotel, Lille, France 2nd - 6th of October, 2017*.
- KLIMEŠOVÁ M., HANUŠ O., NEJESCHLEBOVÁ L., VONDRUŠKOVÁ E. (2017c): Koaguláza-negativní stafylokoky v nosní sliznici krav. *Mlékařské listy - zpravodaj*, 164, Vol. 28, No. 5: 1-4. ISSN 1212-950X.
- KLIMEŠOVÁ M., MANGA I., NEJESCHLEBOVÁ L., HORÁČEK J., PONIŽIL A., VONDRUŠKOVÁ E. (2017a): Occurrence of *Staphylococcus aureus* in cattle, sheep, goat and pig rearing in the Czech Republic. *Acta Veterinaria Brno*, 86: 3-10.
- KLIMEŠOVÁ M., HANUŠ O., NEJESCHLEBOVÁ H., NEJESCHLEBOVÁ L. (2017d): Occurrence of resistant *Staphylococcus* spp. strains in animal rearing. *International Journal of Advances in Science Engineering and Technology*, 5(3), Spl. Issue 1: 30-32. ISSN: 2321-9009.
- KLIMIENE I., VIRGAILIS M., PAVILONIS A., SIUGZDINIENE R., MOCKELI-UNAS R., RUZAUSKAS M. (2016): Phenotypical and genotypical antimicrobial resistance of coagulase-negative staphylococci isolated from cow mastitis. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 19(3): 639-646. doi: 10.1515/pjvs-2016-0080.
- KOKSAL F., YASAR H., SAMASTI M. (2009): Antibiotic resistance patterns of coagulase-negative staphylococcus strains isolated from blood cultures of septicemic patients in Turkey. *Microbiological Research*, 164(4): 404-410. doi.org/10.1016/j.micres.2007.03.004.
- MARTINEAU F., PICARD F.J., ROY P.H., OUELLETTE M., BERGERON M.G. (1998): Species-specific and ubiquitous-DNA-based assays for rapid identification of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Microbiology*, 36: 618-623.
- MAŠLAŇOVÁ I., ZEMAN M., INDRÁKOVÁ A., DOŠKAŘ J., PANTŮČEK R. (2017): Characterization of novel *Staphylococcus sciuri* bacteriophages participating in interspecies plasmid transduction, and packaging *mecA* gene. In abstract book 1st German Phage Symposium, ° 8.- 13. 10. 2017, Hohenheim (Germany), p. 66.
- MORONI P., PISONI G., ANTONINI M., RUFFO G., CARLI S., VARISCO G., BOETTCHER P. (2005): Subclinical mastitis and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus caprae* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from two Italian goat herds. *Journal of Dairy Science*, 88(5): 1964-1704.
- NEJESCHLEBOVÁ H., KLIMEŠOVÁ M., KARPIŠKOVÁ R., HANUŠ O., NEJESCHLEBOVÁ L. (2015): Environmentální a kontagiózní mastitidní patogeny na mléčné farmě. Environmental and contagious mastitis pathogens on dairy farm. *Náš chov*, 7: 28-30. ISSN 0027-8068.
- RAGBETLI C., PARLAK M., BAYRAM Y., GUDUCUOGLU H., CEYLAN N. (2016): Evaluation of antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* isolates by years. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2016: 1-4. Article ID 9171395. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/9171395>.
- SÁNCHEZ GARCÍA M., DE LA TORRE M.A., MORALES G., ET AL. (2010): Clinical outbreak of linezolid-resistant *Staphylococcus aureus* in an intensive care unit. *Journal of American Medical Association*, 303(22): 2260-2264.
- SAEED K., AHMAD N., DRYDEN M., CORTES N., MARSH P., SITJAR A., WYLLIE S., BOURNE S., HEMMING J., JEPPESEN C., GREEN S. (2014): Oxacillin-susceptible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (OS-MRSA), a hidden resistant mechanism among clinically significant isolates in the Wessex region/UK. *Infection*, 42: 843-847.
- SILVA N.C., GUIMARÊS F.F., DE P MANZI M., GÓMEZ-SANZ E., GÓMEZ P., ARAÚJO-JÚNIOR .P., LANGONI H., RALL V.L., TORRES C. (2014): Characterization of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci in milk from cows with mastitis in Brazil. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 106(2): 227-233. doi: 10.1007/s10482-014-0185-5.
- VAIDYA V.K. (2011): Horizontal Transfer of antimicrobial resistance by extended-spectrum β lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Journal of Laboratory Physicians*, 3(1): 37-42.
- VIRDIS S., SCARANO CH., COSSU F., SPANU V., SPANU C., DE SANTIS E.P.L. (2010): Antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase negative staphylococci Isolated from goats with subclinical mastitis. *Veterinary Medicine International*, 2010: 517060. doi: 10.4061/2010/517060.
- VYLETĚLOVÁ M. (2003): Vývoj výskytu mastitidních patogenů a jejich citlivosti za posledních 10 let. In: Sborník příspěvků k semináři s mezinárodní účastí: "Chov a šlechtění skotu pro konkurenceschopnou výrobu 2003. Šlechtitelské a technologické aspekty chovu dojených krav a kvality mléka". Rapotín, listopad 2003: 103-110. ISBN 80-903142-1-X
- VYLETĚLOVÁ M. (2009): Identifikace mastitidních patogenů včetně MRSA v kozím a ovčím mléce a jejich citlivosti na antibiotika. *Výzkum v chovu skotu*, 4: 56-60. ISSN 0139-7265.
- VYLETĚLOVÁ M., HANUŠ O., KARPIŠKOVÁ R., ŠTÁSTKOVÁ Z. (2011a): Occurrence and antimicrobial sensitivity in staphylococci isolated from goat, sheep and cow s milk. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, LIX, 3: 209-214. ISSN 1211-8516.
- VYLETĚLOVÁ-KLIMEŠOVÁ M., HANUŠ O., HASONOVÁ L., ROUBAL, P., MANGA I., NEJESCHLEBOVÁ, L. (2013): Occurrence of mastitis pathogens in relation to somatic cells. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, LXI, 5: 1505-1511. ISSN 1211-8516.
- VYLETĚLOVÁ M., NEJESCHLEBOVÁ L., HANUŠ O. (2010): Sledování hlavních mastitidních patogenů. *Náš chov*, 2: 68 - 71. ISSN 0027-8068.
- VYLETĚLOVÁ M., VLKOVÁ H., MANGA I. (2011b): Occurrence and characteristics of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin resistant coagulase-negative *Staphylococci* in raw milk manufacturing. *Czech Journal of Food Sciences*, 29:11-16. ISSN 1212-1800.
- VYLETĚLOVÁ M., HANUŠ O. (2012): Mastitidy a somatické buňky. *Náš chov*, 12: 58-59. ISSN 0027-8068.

Korespondující autor:

Doc. RNDr. Marcela Klimešová, Ph.D.

Výzkumný ústav mlékárenský, s.r.o.

Marcela.vyletelova@seznam.cz

Přijato do tisku: 23. 7. 2018

Lektorováno: 6. 8. 2018

VZTAH OBSAHU VOLNÝCH MASTNÝCH KYSELIN V MLÉCE A UKAZATELŮ ENERGETICKÉHO DEFICITU U DOJNIC V PRVNÍ FÁZI LAKTACE

Kautská Jitka, Křížová Zuzana, Samková Eva,

Konečný Roman, Trávníček Jan

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 370 05 České Budějovice

**Relationship between free fatty acid content
in milk and energy deficit indicators in dairy
cows in the first lactation phase**

Abstrakt

Obsah volných mastných kyselin (VMK), acetonu, kyseliny beta-hydroxymáselné, močoviny a bílkovin byl stanoven v období 2015-2016 v mléce dojenic v první fázi laktace (n = 553) v chovu s průměrnou užitkovostí 10.963 l mléka za laktaci. Uvedené parametry byly stanoveny metodou MIR-FT. Nejvyšší průměrný obsah VMK byl v prosinci ($1,235 \pm 0,373$) a nejnižší v červenci ($0,571 \pm 0,173$ mmol/100 g tuku). Byla zaznamenána

tendence vzestupu obsahu VMK v souvislosti s vyšší koncentrací ketolátů v mléce. Korelační koeficienty mezi obsahem VMK a ketolátkami byly nízké ($r < 0,1$). Rozdíl v obsahu VMK mezi skupinami dojnic s nízkým a s vyrovnaným příjmem energie nebyl statisticky významný. Výsledky naznačují, že obsah VMK v rozmezí 1,5-2,5 mmol/100 g tuku nelze jednoznačně využít jako ukazatel zvýšené ketogeneze a subklinických ketóz u dojnic v první fázi laktace.

Klíčová slova: volné mastné kyseliny, aceton, kyseliny beta-hydroxymáselná, mléko

Abstract

The content of free fatty acids (FFA), acetone, beta-hydroxybutyric acid, urea, and protein was determined in the dairy cows milk ($n = 553$) in milk samples of Holstein cows with an average milk yield of 10.963 l per lactation in 2015 and 2016. These parameters were determined by the MIR-FT method. The highest mean FFA content was in December ($1,235 \pm 0,373$) and the lowest in July ($0,571 \pm 0,173$ mmol / 100 g of fat). There was a tendency to increase FFA content in relation to a higher concentration of ketones in milk. Correlation coefficients between FFA content and ketones were low ($r < 0,1$). The difference in VMK content among low and balanced energy cow groups was not statistically significant. The results suggest that FFA content in the range of 1.5-2.5 mmol / 100 g of fat cannot be clearly used as an indicator of increased ketogenesis and subclinical ketoses in dairy cows during the first lactation phase.

Key words: free fatty acids, acetone, beta-hydroxybutyric acid, milk

Úvod

Obsah volných (neesterifikovaných) mastných kyselin (VMK) v mléce a mléčném tuku je podmíněn lipolýzou mléčného tuku přirozenými nebo kontaminujícími lipázami (Rasmussen et al., 2006). Mezi faktory, které rozklad tuku urychlují, patří i jeho struktura, zejména kvalita tukových kapének. Defektní kapénky vznikají při mechanickém zatížení mléka, nevhodných podmínkách skladování nebo

Tab. 1 Úroveň ukazatelů energetického deficitu v závislosti na obsahu volných mastných kyselin (VMK) v individuálních vzorcích mléka

VMK (mmol/100 g tuku)	n dojnic	Četnost (%)	Aceton (mmol/l)	BHB (mg/100 ml)	Močovina (mg/100 ml)	T/B
< 0,9	200	36,2	$0,133 \pm 0,063$	$0,056 \pm 0,037$	$30,17 \pm 5,82$	$1,38 \pm 0,21$
0,9-1,2	169	30,6	$0,119 \pm 0,059$	$0,051 \pm 0,038$	$30,66 \pm 5,06$	$1,40 \pm 0,25$
1,2-1,5	102	18,4	$0,122 \pm 0,084$	$0,053 \pm 0,039$	$30,78 \pm 4,65$	$1,34 \pm 0,23$
> 1,5	82	14,8	$0,142 \pm 0,083$	$0,065 \pm 0,038$	$31,72 \pm 8,01$	$1,31 \pm 0,20$
$\geq 2,0$	16	2,9	$0,194 \pm 0,091$	$0,079 \pm 0,048$	$27,96 \pm 5,68$	$1,30 \pm 0,22$

BHB = kyselina beta-hydroxymáselná; T/B = poměr mezi obsahem tuku a bílkovin



Graf. 1 Vývoj průměrného obsahu volných mastných kyselin v mmol/100 g tuku

transportu mléka (Samková et al., 2008). Mezi biologické faktory ovlivňující lipolýzu se řadí produkční zátěž dojnic, jejímiž důsledky je energetický deficit a odbourávání tělesného tuku, četnější dojení a záněty mléčné žlázy (Hanus et al., 2016). Volné mastné kyseliny jsou v mléce obsaženy v množství odpovídající 0,1-0,4 % mléčného tuku. Jsou těžké a nepříznivě ovlivňují senzorické vlastnosti mléka a mléčných produktů. Mastné kyseliny s krátkým řetězcem jsou obsaženy spíše v mléčné plazmě a mastné kyseliny s dlouhým řetězcem naopak v mléčném tuku (Samková et al., 2008). Obsah VMK se vyjadřuje v mmol na 100 g mléčného tuku. Běžný obsah VMK v mléce je 0,5-1,2 mmol/100 g mléčného tuku (Hanus et al., 2011). Cílem sdělení bylo posoudit vztah mezi obsahem VMK v mléce (mléčném tuku) a ukazateli energetického deficitu u dojnic v první fázi laktace s užitkovostí 10.000 l mléka za laktaci.

Materiál a metodika

Hodnocení vztahu mezi obsahem VMK v mléce a ukazateli energetického deficitu proběhlo v chovu dojnic plemene holštýn s průměrnou užitkovostí 10.963 litrů za laktaci. Individuální vzorky mléka byly odebírány při raním dojení v rámci pravidelné kontroly užitkovosti v období od října 2015 do července 2016 u dojnic v prvních 100 dnech laktace. Dojnice jsou dojeny 3x denně v rybnové dojárně (2x 12 míst). V individuálních vzorcích mléka ($n = 553$) byly kromě jakostních složek (obsah tuku a bílkovin) a VMK stanoveny parametry jejichž úroveň souvisí s příjmem energie nebo jejím deficitem: močovina (mg/100 ml), aceton (mmol/l) a kyselina beta-hydroxymáselná (BHB) v mmol/l. Analýzy byly provedeny metodou MIR-FT na pracovišti ČMSCH v Buštěhradě.

Výsledky a diskuze

Průměrný obsah VMK ve vzorcích mléka dojnic v první fázi laktace je uveden v grafu 1. Nejvyšší průměrné hodnoty byly zaznamenány v zimních měsících, v prosinci a únoru ($1,235 \pm$

Tab. 2 Obsah volných mastných kyselin (VMK; mmol/100 g mléka) v individuálních vzorcích mléka v závislosti na saturaci dojníc energií a dusíkatými látkami

Úroveň saturace energií (E) a dusíkatými látkami (NL)	n	průměr	sx	max.	min.	četnost (%) VMK nad 1,5 mmol/100 g tuku
Vyrovnaný příjem E i NL	102	1,058	0,457	2,000	0,056	18,3
Nízký příjem E	92	1,019	0,389	2,224	0,030	10,3
Nízký příjem E a vysoký NL	126	1,009	0,353	2,455	0,068	8,3
Nízký příjem E i NL	30	1,161	0,526	2,221	0,022	19,2
Vysoký příjem NL	72	1,169	0,421	2,290	0,115	28,6
Vysoký příjem NL i E	67	1,076	0,443	2,013	0,032	19,7
Vysoký příjem E	45	1,062	0,402	2,075	0,012	13,6

0,373 a $1,225 \pm 0,465$ mmol/100 g mléčného tuku) a nejnížší v červnu a červenci ($0,882 \pm 0,265$ a $0,571 \pm 0,173$ mmol/100 g tuku). V prosinci a v únoru byl také největší výskyt vzorků s obsahem VMK nad 1,5 mmol/100 g tuku (19,3 a 28,3 %), v letních měsících se vzorky s obsahem VMK nad 1,5 mmol/100 g tuku nevyskytovaly. Dynamika obsahu VMK v mléce dojníc v první fázi laktace neodpovídala trendu jejich obsahu v bazénových vzorcích mléka. Podle Hanuš (2008) se obsah VMK v bazénových vzorcích mléka naopak v letním období zvyšuje. Celkem bylo vyšetřeno 553 individuálních vzorků mléka, v 82 vzorcích (14,8 %) převyšoval obsah VMK 1,5 mmol/100 g tuku.

Tabulka 1 poskytuje porovnání úrovně parametrů, které signalizují energetický deficit v závislosti na obsahu VMK. Z tabulky je zřejmé, že u skupin dojníc s vyšším obsahem VMK byly i vyšší průměrné hodnoty acetonu a BHB v mléce a částečně i močoviny v mléce. Rozdíly uvedených parametrů mezi skupinou dojníc s obsahem VMK nad 1,5 mmol/100 g tuku a skupinou s obsahem pod 0,9 mmol/100 g tuku byly však nízké, u acetonu 6,7 %, u BHB 16,0 % a močoviny 5,1 %. Pouze v případech, kdy obsah VMK odpovídal nebo převyšoval hodnotu 2,0 mmol/100 g tuku (2,0 - 2,5 mmol/100 g tuku), byl obsah ketolátů v mléce oproti skupině dojníc s obsahem VMK do 0,9 mmol/100 g tuku vyšší (obsah acetonu o 45,9 % a BHB o 35,7 %). Přesto i ve skupině dojníc s obsahem VMK nad 2,0 mmol/100 g tuku (n=16) byl rozptýl hodnot obsahu acetonu i BHB v mléce velmi široký: aceton od 0,05 do 0,43 mmol/l a BHB od 0,02 do 0,23 mmol/l. Korelační koeficienty mezi uvedenými parametry energetického deficitu a obsahem VMK nepřevyšovaly hodnotu $r = 0,1$.

Poměr mezi obsahem mléčného tuku a mléčné bílkoviny (T/B), který v případě subklinických ketóz převyšuje hodnotu 1,5 (Pechová, 2009), nevykazoval zjevnou tendenci vzestupu v souvislosti s vyšším obsahem VMK ve vzorku. Korelační koeficient mezi obsahem VMK a hodnotami T/B byl pouze 0,083.

V tabulce 2 je srovnání obsahu VMK v mléce v závislosti na zásobení dojníc energií (E) a dusíkatými látkami (NL), který je charakterizován obsahem a vzájemný poměr močoviny a bílkovin v mléce (Pechová, 2009). U dojníc s vyrovnaným příjmem E i NL nebyly ve srovnání s dojnicemi s nízkým příjmem energie, a to i v kombinaci s vysokým nebo nízkým příjmem NL, v obsahu VMK statisticky významné rozdíly. Ve všech uvedených skupinách byly maximální hodnoty VMK na úrovni 2,000 a minimální pod 0,2 mmol/100 g tuku.

Závěr

Vyšetřením obsahu VMK v individuálních vzorcích mléka dojníc v první fázi laktace (n=553) v chovu s průměrnou užitkovostí 10.963 l mléka za laktaci byla prokázána tendence vzestupu obsahu VMK v souvislosti s vyšší koncentrací ketolátů v mléce. Nízké korelační koeficienty ($r < 0,1$) mezi obsahem VMK a ketolátů v mléce a statisticky nevýznamné rozdíly v obsahu VMK mezi skupinou dojníc s nízkým a s vyrovnaným příjmem energie krmnou dávkou naznačují, že obsah VMK v individuálních vzorcích mléka v první fázi laktace nelze jednoznačně využít jako ukazatel zvýšené ketogeneze a rizika subklinických ketóz.

Poděkování

Práce vznikla za podpory projektu GAJU 002/2016/Z a NAZV KUS QJ1510336

Literatura:

- HANUŠ, O., VEGRICHT, J., FRELICH, J., MACEK, A., BJELKA, M., LOUDA, E., JANŮ, L. (2008): Analysis of raw cow milk quality according to free fatty acid contents in the Czech Republic. *Czech Journal of Animal Science*, 53 (1), 17-30.
- HANUŠ, O., MANGA, I., VYLETĚLOVÁ, M., GENČUROVÁ, V., KOPECKÝ, J., JEDELSKÁ, R. (2011): Význam sledování minoritních složek mléka pro zdraví zvířat a analytické možnosti jejich monitoringu. *Mlékařské listy*, 127, 14-18.
- HANUŠ, O., KLIMEŠOVÁ, M., ROUBAL, P., SAMKOVÁ, E., FALTA, D., ŠLACHTA, M., HASONOVÁ, L., NĚMEČKOVÁ, I. (2016): Milk fat free fatty acids in dependence on health of dairy cows. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 22 (5), 796-803.
- PECHOVÁ, A. (2009): Kontrola produkce a složení mléka. In: Hofírek, B., Dvořák, R., Němeček, L., Doležal, R., Pospíšil Z. et al.: *Nemoci skotu*. Brno: Noviko, 2009, s. 1035-1039. ISBN: 978-80-86542-19-5.
- SAMKOVÁ, E., PEŠEK, M., ŠPIČKA, J. (2008): Mastné kyseliny mléčného tuku skotu a faktory ovlivňující jejich zastoupení, Jihočeská univerzita v Č. Budějovicích, 90 s. ISBN 978-80-7394-104-8.
- RASMUSSEN, M. D., WIKING, L., BJERRING, M., LARSEN, H.C. (2006): Influence of air intake on the concentration of free fatty acids and vacuum fluctuations during automatic milking. *Journal of Dairy Science*, 89 (12), 4596-4605.

Korespondující autor: Ing. Zuzana Křížová

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Zemědělská fakulta, katedra zootechnických věd

Studentská 1668, 370 05 České Budějovice

Tel.: +420 387 772 611, e-mail: krizoz00@zf.jcu.cz

Přijato do tisku: 23. 7. 2018

Lektorováno: 7. 8. 2018

PŘÍLOHA 2

EFFECTS OF MONENSIN ON MILK PRODUCTION AND METABOLISM OF DAIRY COWS

JAN HLADKY¹, JAN TRAVNICEK¹, LUCIE HASONOVA², ZUZANA KRIZOVA¹,
ROMAN KONECNY¹, EVA SAMKOVA², JITKA KAUTSKA³, ROBERT KALA²

¹Department of Animal husbandry sciences

²Department of Agricultural Products Quality
University of South Bohemia in Ceske Budejovice
Studentska 1668, Ceske Budejovice 370 05

³Agropodnik Kosetice, a.s.
Kosetice 212, 394 22 Kosetice
CZECH REPUBLIC

j.hladky@seznam.cz

Abstract: The effect of monensin (intraruminal bolus, 32.4 g) was observed in Holstein cows (milk yield of 10,200 litres) in three experiments. Blood and milk was examined during 4 to 8 weeks after parturition. The positive effect of monensin resulted in lower concentration of beta-hydroxybutyrate in blood (0.60–1.31 mmol/l) and milk (0.075–0.137 mmol/l). Milk yield increased by 3.4–11.2% for the first 100 days of lactation, fat yield by 6.9–12.0%, and protein yield by 1.81–5.4%. No significant differences were found in plasma glucose, triglycerides, and urea.

Key Words: ketosis, milk yield, metabolic parameters, thyroxine, triiodothyronine

INTRODUCTION

In the relation to the energy deficit in high-production milking cows during 2nd to 6th week of lactation after parturition the occurrence of ketosis is found. The illness is connected to the increase of nonesterified fatty acids (NEFA) production, which are the cause of higher hepatic ketogenesis and rise of ketone bodies in body fluids, including milk. The result of such is a decrease in milk production and changes in qualitative parameters of milk (Duffield 2000; Litherland et al. 2011). The detection of ketosis, already in subclinical level, leads to precocious protective measures and it also preventing the clinical symptoms of diseases (Hanuš et al. 2013). The diagnosis lays in the detection of the increased keto bodies in body liquids. In blood, the increase reaches values above 1.0 mmol/l (Hofírek et al. 2004) or even 1.2 mmol/l (Šlosárková et al. 2015). In milk, the acetone level increases above 0.40 mmol/l and beta-hydroxybutyric acid (BHB) increases above 0.20 mmol/l (Geishaus et al. 2000) or 0.25 mmol/l (Hofírek 2004). From the effectivity aspect of anti-ketogenetic prophylaxation the most commonly used is monensin ionophore in the form of intraruminal boluses, from which the monensin is gradually released (Šlosárková et al. 2015). Monensin positively affects ruminous fermentation for the bacteria producing propionic acid, which is a necessary substrate of gluconeogenesis.

MATERIAL AND METHODS

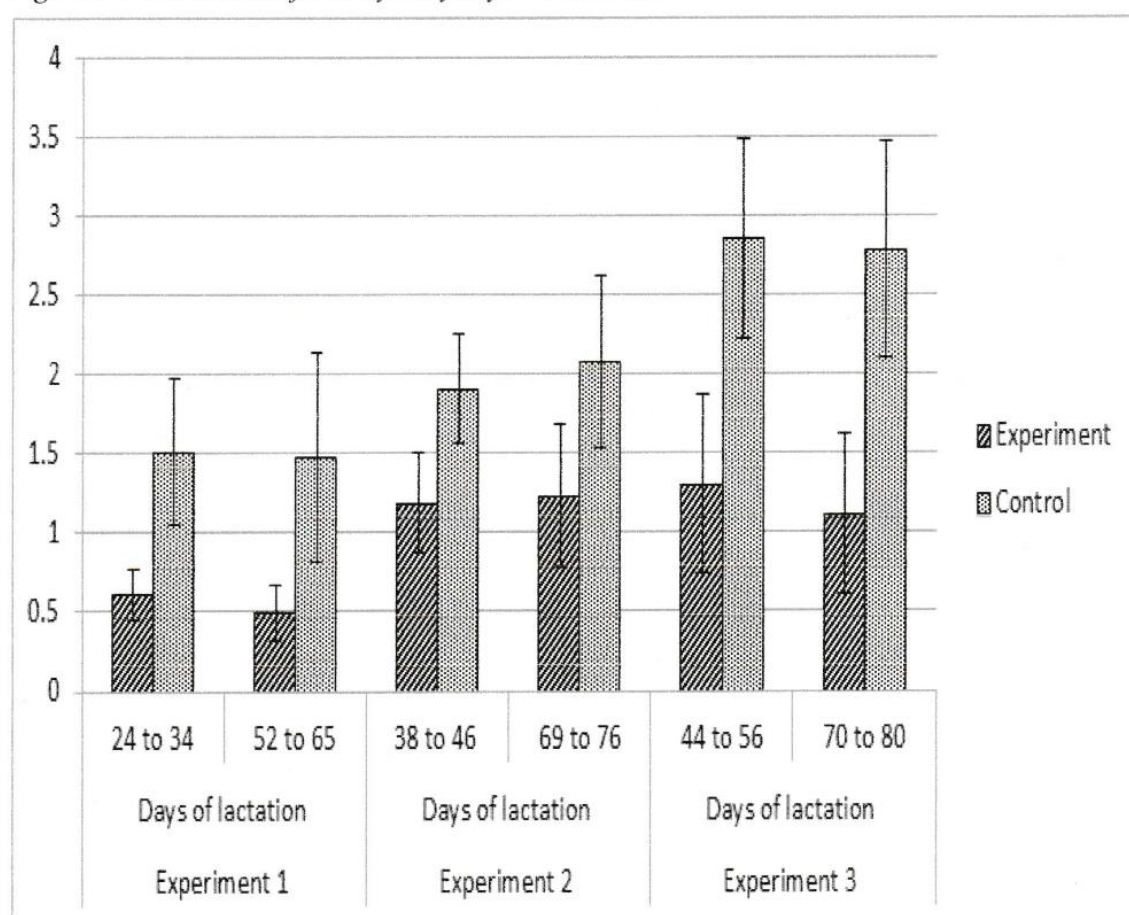
The effect of intraruminal bolus (Kexxtone) containing monensin (32.4 g) was validated in 3 experiments using milking cows of Holstein breed with average production of 10,200 litres of milk during lactation. Experimental group E was used in each experiment (n = 8, monensin was applied 3 weeks before parturition) as well as a control group C (n = 8). Blood and milk was examined twice during 2nd to 6th week after parturition, when the energy deficit is highest (see Introduction). The presence of BHB in milk will be determined by infrared spectroscopy (FT – MIR) method. The milk components were determined by infrared absorption analyzer Combi Foss. Production of milk was validated by yield control. Metabolic parameters and BHB of blood plasma were measured by using a metabolic analyzer Dialab. Thyroxine (T4) and Triiodothyronine (T3) in blood serum were determined by RIA methods (kits Immunotech Praha).

All data were analysed using program Microsoft Excel. Both graphs are shown in a column planar type with expressing standard deviations. In this program were determined also P – values, on tables averages with standard deviations. In the same manner was performed recalculating the absolute values to the percentage expression. Lactation persistence was expressed in percentage of index P 2:1 (2nd to 1st days of lactation).

RESULTS AND DISCUSSION

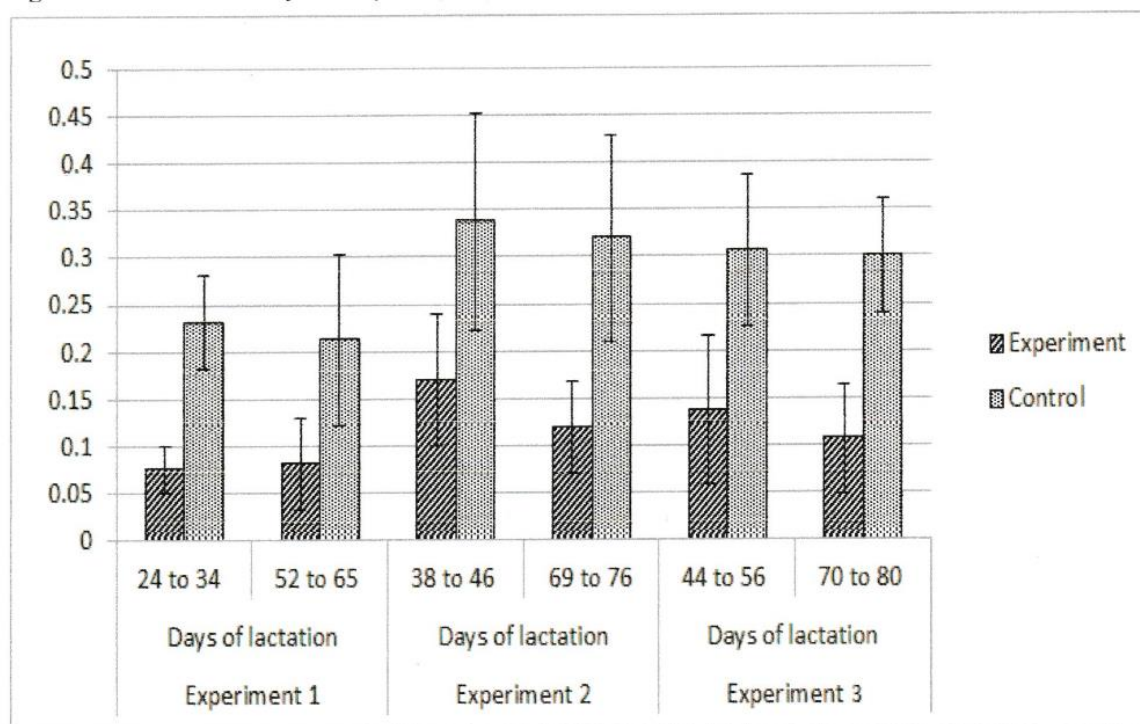
The application of monensin in the form of intraruminal bolus had in, all three experiments, positive effect on statistically significant lower content ($P < 0.01$ and $P < 0.05$) of BHB acid in milk and also in blood plasma (figure 1, 2). Correlational coefficients between the contents of BHB in milk and blood plasma were in trial group in the range of 0.541 to 0.894 and in control group from 0.718 to 0.932. The average content of BHB in milk of trial group was in the range of 0.075 to 0.179 mmol/l and in control group (not treated by monensin) from 0.213 to 0.338 mmol/l. Concentration of BHB in milk above 0.200 mmol/l corresponding to the subclinical ketosis (Geishauser et al., 2000) was in milking cows in experimental groups from 6% (1st experiment) to 25% (2nd and 3rd experiment) and in control group from 68% to 94%.

Figure 1 Concentration of beta-hydroxybutyric acid in milk



Data are expressed with +/- standard deviation

Figure 2 Concentration of beta-hydroxybutyric acid in blood plasma



Data are expressed with $\pm$ standard deviation

The importance of antiketogenetic prophylaxis used for stabilizing the milk production is obvious in table 1. Trial group of milking cows reached higher production of milk in the first 100 days of lactation (in 1st experiment increase of 3.4%, in 2nd experiments increase of 4.9% and in 3rd experiment increase of 11.2%) also relating to higher milk fat and proteins content (fat increase of 6.9% to 12.0% and protein increase of 1.81% to 5.4%). The increase in milk production corresponds to favorable lactation persistence. Lactation persistence was in trial group 88.9% to 96.9% and in experimental group 81.8% to 89.8%. In milking cows of control group, the increase of milk fat was also noted (trial group 3.62 to 3.77%) being linked to an increase in lipo-mobility (Hanuš et al. 2013). The average values of milk protein and lactose did not show significant differences in the first 8 weeks of lactation.

Table 1 Milk, fat and protein yield for the first 100 days lactation

Experiment	Group	Milk yield (kg)	Fat yield (kg)	Protein yield (kg)
1.	E	3902.5 $\pm$ 892.3	157.8 $\pm$ 40.1	119.6 $\pm$ 22.9
	C	3772.8 $\pm$ 845.3	140.8 $\pm$ 31.6	117.5 $\pm$ 24.6
2.	E	3777.2 $\pm$ 618.3	147.5 $\pm$ 16.9	116.4 $\pm$ 15.4
	C	3601.5 $\pm$ 795.2	137.8 $\pm$ 25.6	113.8 $\pm$ 22.7
3.	E	3629.6 $\pm$ 486.3	142.6 $\pm$ 21.6	116.4 $\pm$ 15.7
	C	3264.6 $\pm$ 518.9	130.8 $\pm$ 18.9	110.0 $\pm$ 18.1

Data are expressed with $\pm$ standard deviation

Table 2 Metabolic parameters of the blood plasma

Experiment	Group	Glucose (mmol/l)	Urea (mmol/l)	Total protein (mmol/l)	TG (mmol/l)	T3 (mmol/l)	T4 (nmol/l)
1.	E	2.90±0.38	7.54±1.84	79.91±2.43	0.29±0.01	1.78±0.22	51.43±3.1
	C	2.87±0.44	6.52±1.42	81.24±1.83	0.28±0.03	1.79±0.09	49.93±5.1
2.	E	3.39±0.29	3.30±0.65	74.30±5.94	0.46±0.03	2.30±0.51	54.05±9.9
	C	3.57±0.34	3.84±0.69	70.30±3.11	0.45±0.01	1.96±0.47	49.59±8.6
3.	E	2.82±0.53	4.37±0.96	69.69±2.69	0.49±0.06	2.37±0.65	51.04±9.7
	C	2.60±0.39	4.09±0.82	63.29±6.86	0.51±0.02	2.48±0.28	47.43±8.4

Data are expressed with +/- standard deviation

Legend: TG - Triglycerides, T3 – Triiodothyronine, T4 – Thyroxine

The effect of monensin on selected metabolic parameters is stated in table 2. There were no statistically significant differences between the trial and the control group. Lower content of glucose and plasma protein (1st and 3rd experiment) and higher content of urea (1st experiment) relates to the energy deficit (Hofírek et al. 2004). In all three experiments the control group showed lower thyroxine concentration in blood plasma, which had no statistical significance. Lower levels of thyroxine in cows with ketosis onset are claimed by Ropstad et al. (1989). Lower content of ketone bodies (BHB) in milk and blood, or even a decrease in numbers of status corresponding to subclinical ketosis supports the significance of used anti-ketogenic prophylaxation. The positive production effect of monensin in the first period of lactation was also confirmed in experiments by Antanaitis et al. (2015), or by work of Duffield et al. (2008), Slosarkova et al. (2015) and others.

CONCLUSION

The intraruminal application of monensin (32.4 g) 3 weeks before parturition had a positive effect on the reduction of subclinical ketosis and on higher the milk production in the first 100 days of lactation.

ACKNOWLEDGEMENTS

The research was financially supported by the grand NAAR KUS QJ 510339, grand GAJU 002/2016 and GAJU 152/2014/Z

REFERENCES

- Antanaitis, E., Žalaitis, V., Juozaitiene, V., Stopškus, R., Televičius, M. 2015: Effects of monensin on production and energy metabolism in early lactation cows. *ŽEMĖS UKIO MOKSLAI*, 22(2): 99–105.
- Duffield, T. 2000: Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice* 16(2): 231–253.
- Duffield, T.F., Rabiee, A.R., Lean, I.J. 2008: A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 1. Metabolic effects. *Journal of Dairy Science*, 91(4):1334–46.
- Geishauser, T., Leslie, K., Tenhag, J. 2000: Evaluation of Eight Cow-side Ketone Tests in Milk for Detection of Subclinical Ketosis in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 83: 296–299.
- Hanuš, O., Vyletěllová, Klimešová, M., Falta, D., Chládek, G., Roubal, P., Seydlová, R. 2013: Metaanalysis of ketosis milk indicators in terms of their threshold estimation. *Acta Universitatis Agriculturae et silviculturae Medelinae Brunensis*, 61(6): 929–937.
- Hofírek, B., Pechová, A., Doležel, R., Pavlata, L., Dvořák, R., Fleischer, P. 2004: *Produkční a preventivní medicína v chovech skotu*. Veterinarní a farmaceutická univerzita Brno. 184 p.

- Litherland, N.B., Dann, H.M., Drackley, J.K. 2011: Prepartum nutrient intake alters palmitate metabolism by liver slices from peripartal dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 94(4): 1928–1940.
- Ropstad, E., Haise, K., Refsdal, A.O. 1989: Thyroxine in blood plasma related to plasma levels of acetoacetate and glucose in ketotic and healthy cows. *Acta veterinaria Scandinavica*, 30(2): 175–183.
- Šlosárková, S., Fleischer, P., Skřivánek, M. 2015: Ketóza. Produkční poruchy dojníc v tranzitním období. Anex of monthly newspaper *Náš chov*, p. 6–8.

PŘÍLOHA 3

ÚČINEK MONENZINU NA MLÉČNOU PRODUKCI A OBSAH KYSELINY β -HYDROXYMÁSELNÉ V MLÉCE DOJNIC

Ing. Zuzana Krížová¹, Ing. Vladimír Kaňka²,
prof. Ing. Jan Trávníček¹, CSc.,
Ing. Roman Konečný¹, Ph.D., Ing. Jan Hladký¹,
Ing. Jitka Kautská³

¹ Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích,
Zemědělská fakulta, Studentská 1668, 370 05 České
Budějovice

² Reprogen a.s., plemenářské středisko Pelhřimov,
Nádražní 461, 393 01, Pelhřimov

³ Agropodnik Košetice a.s., Košetice 212, 394 22, Košetice

Effects of Monensin on milk production and β -hydroxybutyrate content in milk of dairy cows

Abstract

The effect of monensin (intraruminal bolus - 32.4 g of monensin) was observed in Holstein dairy cows (milk yield 10,200 litres) on a farm in the district Pelhřimov. Each experimental group E consisted of 12 primiparous cows (+12 cows in control group C) and 12 cows in the second to fourth lactation (+12 cows in control group C). Monensin was applied 3 weeks before parturition in both experimental groups (group E). Milk samples were collected twice during 4th to 8th week after parturition. The positive effect of monensin was reflected lower concentration of β -hydroxybutyric acid in milk (BHB) and a higher milk yield in experimental group. Milk production in the first 100 days of lactation was higher in primiparous cows by 9.3 %. In dairy cows to second and subsequent lactation increased milk production by 4 %.

Key Words: ketone bodies, milk components, milk yield, lactation

Abstrakt

Účinek monenzinu (intraruminální bolus, 32,4 g monenzinu) byl sledován u dojníc plemene Holštýn (užitkovost 10 200 litrů mléka za laktaci) ve vybraném chovu v okrese Pelhřimov. Pokus probíhal na 12 prvotelkách (+12 prvotelek jako kontrolní skupina C) a na 12 dojnících na druhé až čtvrté laktaci (+12 krav jako kontrolní skupina C). Monenzin byl aplikován prvotelkám a dojnícím 3 týdny před porodem (skupiny E). Individuální vzorky mléka byly odebrány dvakrát v průběhu 4-8 týdnů po porodu. Pozitivní účinek monenzinu se projevil nižší koncentrací kyseliny β -hydroxymáslé v mléce (BHB) a vyšším nádojem

u obou experimentálních skupin. U prvotelek pokusné skupiny došlo v průběhu prvních 100 dní laktace ke zvýšení produkce mléka o 9,3 %, u krav na druhé až čtvrté laktaci došlo ke zvýšení o 4 %.

Klíčová slova: ketolátky, složky mléka, mléčná užitkovost, laktace

Úvod

Ketóza patří mezi ekonomicky nejzávažnější produkční choroby diagnostikované ve vzestupné fázi laktace. Onemocnění je spojeno s odbouráváním depotního tuku v souvislosti s energetickým deficitem a zvýšenou tvorbou ketolátek. Dochází k poklesu mléčné produkce a ke změnám jakostních parametrů mléka (Duffield, 2000; Litherland *et al.*, 2011). Odhalení ketóz na subklinické úrovni je základním předpokladem pro včasné zavedení nápravných opatření a předcházení výrazným ztrátám mléčné užitkovosti (Hanuš *et al.*, 2013). Diagnóza se opírá o zjištění zvýšené hladiny ketolátek v tělních tekutinách a v mléce dochází ke zvýšení koncentrace kyseliny β -hydroxymáslé (BHB) nad 0,20 mmol.l⁻¹ (Geishaus *et al.*, 2000) respektive nad 0,25 mmol.l⁻¹ (Hofírek *et al.*, 2004).

Z hlediska účinnosti antiketogenní profylaxe se v současné době častěji uplatňuje aplikace ionoforu monenzinu v podobě intraruminálních bolusů z nichž se monenzin postupně uvolňuje (Šlosárková *et al.*, 2015). Monenzin ovlivňuje bachorovou fermentaci ve prospěch bakterií produkujících kyselinu propionovou, která je nezbytná pro obnovu glukózy. Pozitivní účinek intraruminálního monenzinu na stabilizaci energetického metabolismu v podobě vzestupu krevní glukózy a poklesu BHB uvádějí i Duffield *et al.* (2008).

Cílem práce bylo v chovu dojníc plemene Holštýn s průměrnou užitkovostí 10 200 litrů mléka za laktaci a s tendencí k častým ketózám ověřit účinek monenzinu na obsah ketolátek v mléce a úroveň parametrů užitkovosti u prvotelek a krav na 2. až 4. laktaci v prvních 100 dnech laktace.

Materiál a metodika

Účinek intraruminálního bolusu s obsahem 32,4 g monenzinu byl ověřován v chovu dojených krav plemene Holštýn v okrese Pelhřimov s průměrnou užitkovostí 10 200 litrů mléka za laktaci. Monenzin byl aplikován 3 týdny před porodem 12 prvotelkám (pokusná skupina E) a 12 kravám na 2. až 4. laktaci (pokusná skupina E). Stejný počet prvotelek a zastoupení krav na 2. až 4. laktaci tvořilo kontrolní skupinu (skupiny C). Užitkovost krav v předcházející laktaci byla srovnatelná. Mléko bylo vyšetřeno 2x v průběhu 4-8 týdnů po porodu. Kyselina β -hydroxymáslá byla stanovena metodou infračervené spektroskopie (FT-MIR), složky mléka pomocí analyzátoru Combi Foss a údaje o užitkovosti byly získány z protokolu o kontrole užitkovosti.

Získané údaje byly zpracovány v programu Microsoft Excel 2013 a statisticky vyhodnoceny v programu STATISTICA 12 (Statsoft CZ).

Tab. 1 Obsah kyseliny β -hydroxymáselné v mléce (mmol.l⁻¹)

Pořadí kontroly užítivosti	Pokusná skupina (skupina E)		Kontrolní skupina (skupina C)	
	Prvotelky (n=12)	2. až 4. laktace (n=12)	Prvotelky (n=12)	2. až 4. laktace (n=12)
1. kontrola (1. odběr)	0,133±0,074 ^a	0,120±0,072 ^c	0,329±0,124 ^b	0,317±0,104 ^d
2. kontrola (2. odběr)	0,112±0,044 ^a	0,092±0,033 ^a	0,254±0,062 ^c	0,235±0,092 ^b

ab,cd,ef,gh p<0,001

Tab. 2 Produkční ukazatele za prvních 100 dní laktace

Pořadí laktace	Skupina	Nádoj (kg)	Tuk (kg)	Bílkovina (kg)
Prvotelky	E	3344,8±512,3	119,6±22,9	105,8±14,9
	C	3058,6±301,3	120,4±14,3	98,4±8,1
2. až 4. laktace	E	4194,6±587,5	166,2±24,4	128,6±14,1
	C	4034,0±774,7	152,6±25,6	129,2±21,2

Tab. 3 Korelační koeficienty mezi obsahem kyseliny β -hydroxymáselné v mléce (BHB) a vybranými složkami mléka

Korelační koeficient	Prvotelky 2. až 4. laktace			
	Skupina E	Skupina C	Skupina E	Skupina C
BHB : mléčný tuk	0,241	0,379	0,040	0,658
BHB : močovina v mléce	0,439	0,589	-0,150	0,752

Výsledky a diskuze

Intraruminální aplikace monenzinu v podobě bolusu s postupným uvolňováním měla pozitivní vliv na nižší tvorbu ketolátů a na ukazatele produkčních parametrů u prvotelek i krav na 2. až 4. laktaci. Průměrná koncentrace BHB v mléce prvotelek skupiny E při 1. odběru (1. kontrola užítivosti) byla 0,133±0,074 mmol.l⁻¹ a ve druhém odběru (2. kontrola užítivosti) 0,112±0,044 mmol.l⁻¹. U prvotelek skupiny C byla koncentrace BHB v prvním odběru 0,329±0,124 mmol.l⁻¹ a ve druhém odběru 0,254±0,062 mmol.l⁻¹ (tabulka 1). Rozdíly mezi skupinami byly statisticky vysoce významné (p<0,001). Obdobné rozdíly byly i mezi dojnicemi na 2. až 4. laktaci: první odběr skupina E 0,120±0,072 mmol.l⁻¹, skupina C 0,317±0,104 mmol.l⁻¹ a ve 2. odběru skupina E 0,092±0,033 mmol.l⁻¹ a skupina C 0,235±0,092 mmol.l⁻¹. Koncentrace BHB v mléce nad 0,200 mmol.l⁻¹, která odpovídá stavu subklinické ketózy (Geishauser *et al.*, 2000), byla u prvotelek skupiny C prokázána téměř v 70 % a u krav na druhé až čtvrté laktaci v 54 %. U pokusné skupiny prvotelek i krav, kterým byl aplikován monenzin byla subklinická ketóza prokázána pouze u 8-9 % dojníc. Nízký obsah ketolátů (BHB) v mléce, respektive snížení počtu stavů odpovídající subklinickým ketózám, potvrzuje význam a užité formy antiketogenní profylaxe (Duffild *et al.*, 2008).

Dojnice skupiny E dosáhly vyšší průměrné 100 denní laktace (prvotelky o 9,3 % a krávy na 2. až 4. laktaci o téměř 4 %). U prvotelek skupiny E byla za prvních 100 dní laktace dosažena vyšší produkce mléčných bílkovin o 7,5 % a u krav o 8,9 % vyšší produkce tuku (tabulka 2). Uvedené rozdíly však nedosahovaly statistické

významnosti. Vyšší hodnoty korelačních koeficientů mezi obsahem kyseliny β -hydroxymáselné v mléce a obsahem mléčného tuku u dojníc obou kontrolních skupin, které nebyly ošetřeny monenzinem, souvisí se zvýšenou lipomobilizací a s ní spojenou tendencí k přechodnému zvýšení obsahu mléčného tuku (Duffild *et al.*, 2000). Rovněž vyšší korelační koeficienty mezi obsahem BHB a obsahem močoviny v mléce dojníc skupiny C odráží vyšší energetický nedostatek (tabulka 3). Pozitivní efekt aplikace monenzinu v první fázi laktace byl potvrzen i v experimentech Antanaitise *et al.* (2015), v pracích Hanuše *et al.* (2013) nebo Šlosárkové *et al.* (2015) a dalších.

Závěr

Aplikace monenzinu prokazatelně snížila výskyt subklinických ketóz jak u prvotelek, tak u krav na druhé a další laktaci a významně snížila výskyt pozitivních mléčných keton testů. Snížení obsahu kyseliny β -hydroxymáselné tak potvrzuje význam použité antiketogenní profylaxe.

Poděkování

Práce vznikla za podpory projektu GAJU 152/2014/Z, GAJU 002/2016/Z a NAZV KUS QJ 1510339.

Seznam literatury

- ANTANAITIS, E., ŽALAITIS, V., JUOZAITIENĖ, V., STOPŠKUS, R., TELEVIČUS, M. (2015): Effects of monensin on production and energy metabolism in early lactation cows. *Žemės ūkio mokslai*, 22 (2):99-105s.
- DUFFIELD, T. (2000): Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. The Veterinary clinics of North America. *Food animal practice*, 16 (2): 231-253s.
- DUFFIELD, T. F., RABIEE, A. R., LEAN, I. J. (2008): A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 1. Metabolic effects. *J. Dairy Sci.*, 91 (4):1334-46s.
- GEISHAUSER, T., LESLIE, K., TENHAG, J. (2000): Evaluation of Eight Cow-side Ketone Tests in Milk for Detection of Subclinical Ketosis in Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*, 83: 296-299s.
- HANUŠ, O., VYLETĚLOVÁ - KLIMEŠOVÁ, M., FALTA, D., CHLÁDEK, G., ROUBAL, P., SEYDLOVÁ, R. (2013): Metaanalysis of ketosis milk indicators in terms of their threshold estimation. *Acta univ. agric. et. silvic. Medel. Brun.*, 61 (6): 929-937s.
- HOFÍREK, B., PECHOVÁ, A., DOLEŽEL, R., PAVLATA, L., DVOŘÁK, R., FLEISCHER, P. (2004): *Produkční a preventivní medicína v chovech skotu*. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. 184s.
- LITHERLAND, N.B., DANN, H.M., DRACKLEY, J. K. (2011): Prepartum nutrient intake alters palmitate metabolism by liver slices from periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94 (4): 1928-1940s.
- ŠLOSÁRKOVÁ, S., FLEISCHER, P., SKŘIVÁNEK, M. (2015): Ketóza. Produkční poruchy dojníc v tranzitním období. *Příloha měsíčníku Náš chov*, 6-8s.

Korespondující autor: Ing. Zuzana Křížová
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta - Katedra zootechnických věd
Studentská 1668, 370 05 České Budějovice
Tel.: +420 387 772 611, E-mail: krizoz00@zf.jcu.cz

Přijato do tisku 10. 9. 2016

Lektorováno 5. 10. 2016.

PŘÍLOHA 4

EFFECTS OF MONENSIN ON THE COPPER, ZINC AND IODINE CONTENTS IN MILK OF DAIRY COWS

JITKA KAUTSKA^{1,3}, JAN TRAVNICEK¹, ROMAN KONECNY¹,
ZUZANA KRIZOVA¹, EVA SAMKOVA², LUCIE HASONOVA², OTO HANUS⁴,
MARTINA STANKOVA¹

¹Department of Animal Husbandry Sciences

²Department of Agricultural Products' Quality
Studentska 1668, 370 05 Ceske Budejovice

³Agropodnik Kosetice a.s
Kosetice 212, 394 22, Kosetice

⁴Dairy Research Institute
Ke Dvoru 12a, 160 00 Praha
CZECH REPUBLIC

krizoz00@zf.jcu.cz

Abstract: The effect of monensin (intraruminal bolus, 32.4 g) on the copper (Cu), zinc (Zn) and iodine (I) contents in milk of Holstein dairy cows (10,200 liters per lactation) was observed during three experiments (E group: monensin, n = 8, C group: n = 8). Milk was examined twice between the 2nd and 8th week of lactation. The positive effect of monensin resulted in a lower level of beta-hydroxybutyric acid in milk and the higher Cu contents (15.8 % to 28.2 % higher) and Zn (1.8% to 14.4 % higher) in milk. No difference was observed in the iodine (I) content in milk.

Key Words: copper, zinc, iodine, milk, ketosis

INTRODUCTION

Ketosis ranks among the frequent production diseases in the ascending phase of lactation. This disease is associated with the deposit fat reduction in relation to energy deficiency and increased ketogenesis (Duffield 2000 and Litherland et al. 2011). A subclinical form of the disease is manifested by an increase in ketone bodies in body fluids, by a decline in milk production, an increase in a milk fat content, and by a decline in the non-fat dry matter (Suthar et al. 2013). The data on changes in minerals in milk of cows with ketosis is not very common. The statistically insignificant decline was stated, for example, by King (1979). Changes in the content of trace elements in connection with ketosis are measured in blood serum. As an example, the lower copper (Cu), cobalt (Co) and manganum (Mn) contents in blood serum of cows with clinical ketosis were discovered by Kaya et al. (2016). The statistically significant lower zinc (Zn) content in blood serum in dairy cows with subclinical ketosis was established by Zhang et al. (2010). Trace elements are characterized by unequal ability of transition from feed to milk. For example, the Cu content in milk does not correlate with the content in a feed ration (Kinal et al. 2007). On the other hand, the iodine (I) content correlates positively with its intake (Trávníček et al. 2010).

As for the efficiency aspect of anti-ketogenetic prophylaxation, monensin ionophore in the form of intraruminal boluses is the most commonly used (Šlosárková et al. 2015). Monensin positively affects fermentation in the rumen to produce propionic acid (Duffield et al. 2008).

The aim of the study was to evaluate the submitted Zn, Cu and I contents in milk of dairy cows with subclinical ketosis and cows treated with ionophore monensin.

MATERIAL AND METHODS

The intraruminal bolus containing monensin (32.4 g) was validated during 3 experiments using dairy cows (Holstein-Friesian breed) with an average production of 10,200 litres of milk during lactation. Both the experimental group (E) (n = 8, monensin was applied 3 weeks before parturition)

and control group (C) ($n = 8$) were used during each experiment. Each group composed of 4 dairy cows for the 1st lactation and 4 dairy cows for the 2nd to 5th lactation was examined twice between the 2nd and 8th week after parturition. The milk was examined twice during the experiments: between the 2nd and 4th week of lactation and between the 5th and 8th week of lactation. The feed ration was identical in the control and experimental groups. The contents of trace elements per 1 kg of dry matter of fodders were: copper (Cu) 12.2 mg, zinc (Zn) 63.0 mg and iodine (I) 1.3 mg. The presence of beta-hydroxybutyric acid in milk (BHB) was determined by the infra-red spectroscopy (FT-MIR) method. The atomic absorption spectrophotometry (AAS) method was applied to determine the content of Zn and Cu in milk while using a UNICAM 969 AA spectrometer. Iodine in milk was determined on the basis of alkaline ashing by a spectrophotometric method according to Sandell-Kolthoff. The analysis was compared to a reference sample. All data was analyzed through the Statistica Program.

RESULTS AND DISCUSSION

The average concentration of beta-hydroxybutyric acid (BHB) and tracked elements in milk are included in Table 1. The intraruminal administration of monensin 3 weeks before parturition influenced positively a reduction of the BHB concentration in milk during all three experiments. The average BHB content in milk of dairy cows within the experimental groups ranged from 0.078 to 0.144 mmol/l and from 0.222 to 0.328 mmol/l ($P < 0.01$) in milk of dairy cows within the control groups. The BHB concentration over 0.200 mmol/l in milk of dairy cows in the control groups already corresponds to the subclinical ketosis (Geishauser et al. 2000).

Milk of dairy cows in the experimental groups contained the higher average Cu and Zn content (Cu: higher by 15.8 % to 28.2%, Zn: higher by 1.8 % to 14.4%) compared to the control groups. The iodine content in milk was higher in dairy cows treated with monensin only during the second experiment. The average content of elements in milk of dairy cows in the first lactation is shown in Table 2. The biggest differences between the experimental and control groups were also identified in the Cu content (24.8 %). The difference in the Zn content was only 6.3% and 4.2% for the I content.

Figures 1 to 3 show the dynamics of elements during the first 8 weeks of lactation. The Cu and Zn contents in milk were higher in all three attempts between the 2nd and 4th week of lactation as compared to the 5th and 8th week of lactation. The most significant difference in the Cu and Zn contents (Cu: higher by 19% to 41%, Zn: higher by 3% to 19 %) was observed between the 2nd and 4th week of lactation. The iodine content in milk did not show similar trends (Figure 3).

Table 1 Contents of beta-hydroxybutyric acid and copper, zinc and iodine in milk of dairy cows

Experiment	Group	n analysis	BHB (mmol/l)	Copper (mg/l)	Zinc (mg/l)	Iodine (mg/l)	Fat ¹ (kg)	Protein ¹ (kg)
1.	E	16	0.078 ± 0.039 ^a	0.445 ± 0.025 ^d	3.405 ± 0.250	0.18 ± 0.04	157.8 ± 40.1	119.6 ± 22.9
	C	16	0.222 ± 0.099 ^a	0.360 ± 0.040 ^d	3.345 ± 0.275	0.20 ± 0.05	140.8 ± 31.6	117.5 ± 24.
2.	E	16	0.144 ± 0.069 ^b	0.455 ± 0.125 ^e	3.385 ± 0.425 ^f	0.32 ± 0.05	147.5 ± 16.9	116.4 ± 15.4
	C	16	0.328 ± 0.138 ^b	0.355 ± 0.055 ^e	2.960 ± 0.400 ^f	0.29 ± 0.06	137.8 ± 25.6	113.8 ± 22.7
3.	E	16	0.122 ± 0.069 ^c	0.330 ± 0.040 ^e	2.913 ± 0.275	0.20 ± 0.05	142.6 ± 21.6	116.4 ± 15.7
	C	16	0.303 ± 0.071 ^c	0.285 ± 0.025 ^e	2.750 ± 0.265	0.22 ± 0.04	130.8 ± 18.9	110.0 ± 18.1

a, a, b, b, c, c, d, d, e, e, f, f $P < 0.01$

Legend: E – experimental group; C – control group; BHB – beta-hydroxybutyric acid; 1 – 100 days lactation

Subclinical ketosis is associated with significant changes in the composition and production of milk (Suthar et al. 2013). Ketosis was accompanied by a decline in the Cu and Zn contents in milk

(Tables 1, 2; Figures 1–3) during the given experiments. This statistically significant lower Cu content in milk of dairy cows in the control groups can be related to the metabolic liver congestion in connection with ketogenesis. The liver is an important depot and metabolic organ for Cu contrary to Zn (Lech and Sadlik 2007, 2011). The iodine content in milk of dairy cows in the control groups was not different from the experimental groups. It is concentrated in the body outside the liver, especially in the thyroid gland (Peksa et al. 2013). As opposed to Cu and Zn, the iodine content in milk also corresponds with its intake (Trávníček et al. 2010). Due to the fact that Cu is part of casein (O'Neill et al., 1989), its decline in milk of the control groups may be combined with a decline in the milk protein content in connection with ketosis (Suthar et al. 2013). Lower milk protein production during the first 100 days of lactation was also found in dairy cows with subclinical ketosis (control groups) in our experiments (protein reduction of 1.81% to 5.4%). There was also a decline in milk and fat production. The results have already been published (Hladký et al. 2016).

Table 2 Contents of beta-hydroxybutyric acid and copper, zink and iodine in milk dairy cows (1st lactation)

Group	n analysis	BHB (mmol/l)	Copper (mg/l)	Zinc (mg/l)	Iodine (mg/l)
E	24	0.123 ± 0.066 ^a	0.392 ± 0.083 ^b	3.290 ± 0.480	0.224 ± 0.083
C	24	0.323 ± 0.125 ^a	0.314 ± 0.071 ^b	3.093 ± 0.422	0.215 ± 0.060

^{a,a} $P < 0.01$, ^{b,b} $P < 0.05$

Legend: E – experimental group; C – control group; BHB – beta-hydroxybutyric acid

Figure 1 Dynamic of copper content in milk (mg/l)

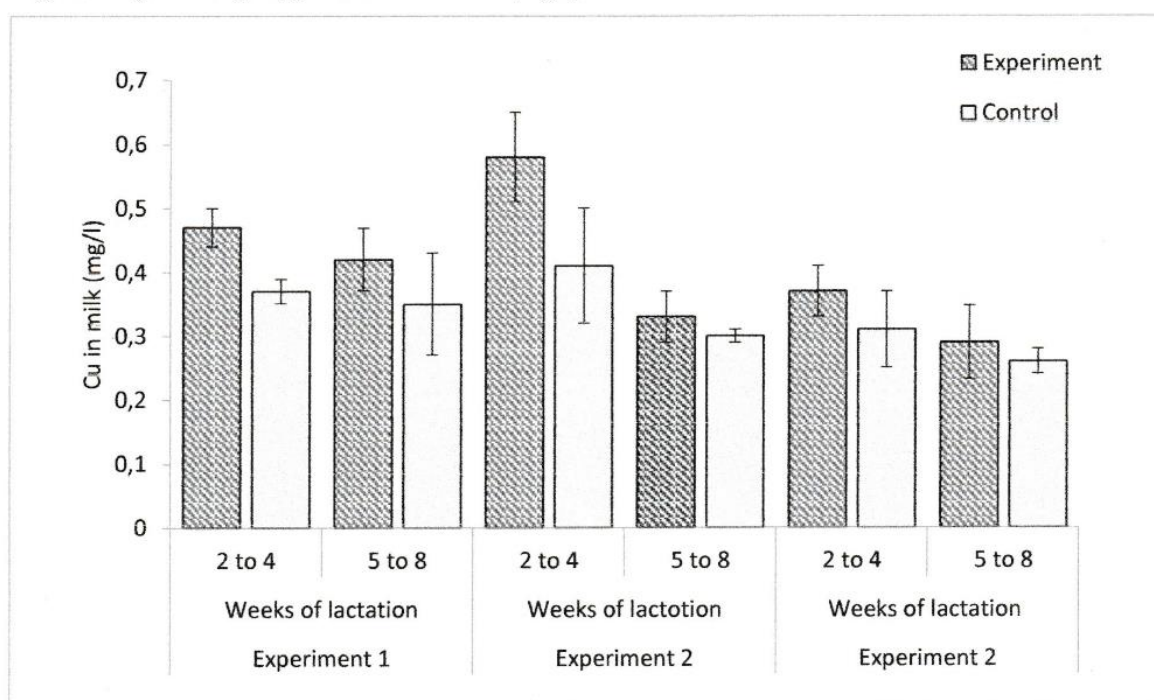


Figure 2 Dynamic of zinc content in milk (mg/l)

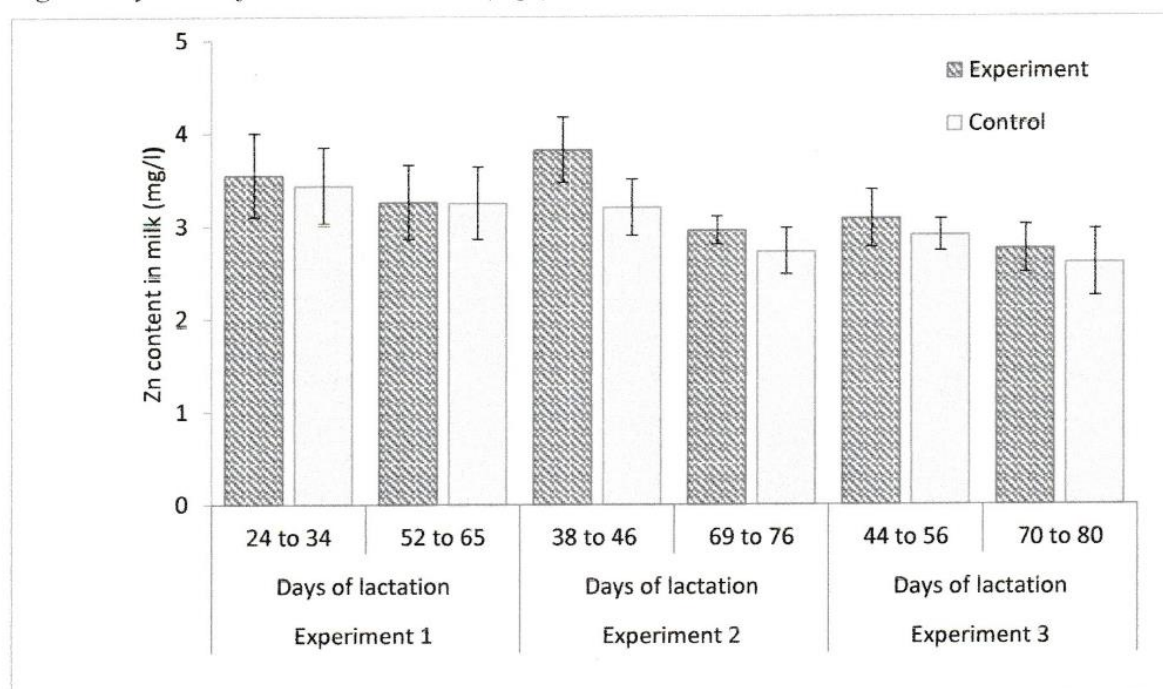
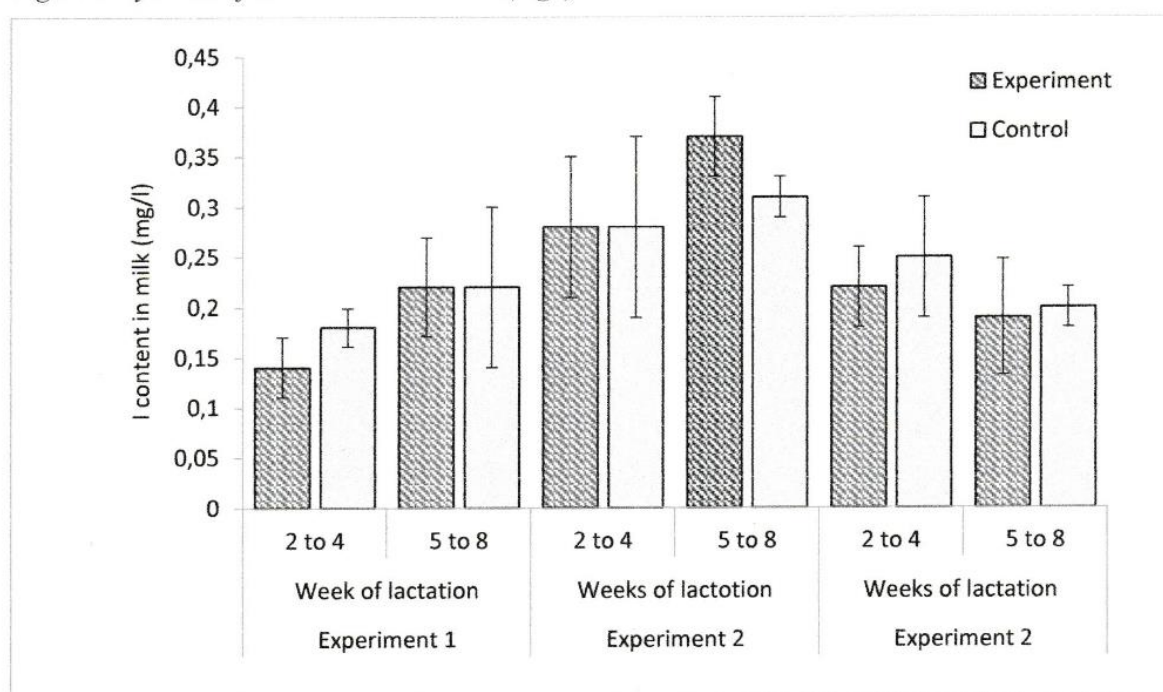


Figure 2 Dynamic of iodine content in milk (mg/l)



CONCLUSION

The intraruminal administration of monensin (32.4 g) 3 weeks before parturition had a positive effect on a reduction of subclinical ketosis and on a higher Cu content in milk.

ACKNOWLEDGEMENTS

The research was financially supported by the University of South Bohemia in České Budějovice (GAJU–002/2016/Z) and by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (NAZV KUS QJ 1510339).

REFERENCES

- Antanaitis, E., Žalaitis, V., Juozaitienė, V., Stopškus, R., Televičus, M. 2015. Effects of monensin on production and energy metabolism in early lactation cows. *ŽEMĖS UKIO MOKSLAI*, 22 (2):99–105.
- Duffield, T. 2000. Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, 16(2): 231–253.
- Duffield, T.F., Rabiee, A.R., Lean, I.J. 2008: A meta-analysis of the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 1. Metabolic effects. *Journal of Dairy Science*, 91(4): 1334–46.
- Geishauser, T., Leslie, K., Tenhag, J. 2000. Evaluation of Eight Cow-side Ketone Tests in Milk for Detection of Subclinical Ketosis in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 83: 296–299.
- Hladký, J., Travníček, J., Hasoňová, L., Křížová, Z., Konečný, R., Samková, E., Kautská, J., Kala, R. 2016: Effect of monensin on milk production and metabolism of dairy cows [Online]. In *MendelNet 2016, 23rd International PhD Students Conference*. Brno, Czech Republic, 9–10 November, Mendel University in Brno, Faculty of AgriSciences, pp. 205–209. Available at: https://mnet.mendelu.cz/mendelnet2016/mnet_2016_full.pdf
- Kaya, A., Özkan, C., Kozat, S., Akgül, Y., Özbek, M. 2016. Evaluation of cobalt, copper, manganese, magnesium and phosphorus levels in cows with clinical ketosis. *Pakistan Veterinary Journal*, 36(2): 236–238.
- Kinal, S., Korniewicz, A., Sluzarczyńska, M., Bodarski, R., Korniewicz, D., Čermák, B. 2007: Effect of the application of bioplexes of zinc, copper and manganese on milk quality and composition of milk and colostrum and some indices of the blood metabolic profile of cows. *Czech Journal of Animal Science*, 52(12): 423–429.
- King, J.O.L. 1979. The Effects of Ketosis in Dairy Cows on Body Weight, Milk Yield and Milk Composition. *British Veterinary Journal*, 135(11): 40–43.
- Lech, T., Sadlik, J.K. 2007. Copper concentration in body tissues and fluids in normal subjects of southern Poland. *Biological Trace Element Research*, 118(1): 10–5.
- Lech T, Sadlik J.K. 2011. Zinc in postmortem body tissues and fluids. *Biological Trace Element Research*, 142(1): 11–17.
- Litherland, N.B., Dann, H.M., Drackley, J.K. 2011. Parturient nutrient intake alters palmitate metabolism by liver slices from periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94(4): 1928–1940.
- O'Neill, N.C., Tanner, M.S. 1989. Uptake of copper from brass vessels by bovine milk and its relevance to Indian childhood cirrhosis. *Journal of Pediatric Gastroenterology Nutrition*, 9(2): 167–172.
- Peksa, Z., Travníček, J., Konečný, R., Jelínek, F., Dušová, H., Hasoňová, L., Pálka, V. 2013. Histometric and biochemical parameters of thyroid gland in sheep with high iodine supplementation. *Acta Veterinaria Brno*, 82(4): 405–409.
- Suthar, V.S., Canelas-Raposo, J., Denitz, A., Heuwieser, W. 2013. Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96(5): 2925–2938.
- Travníček, J., Kroupová, V., Konečný, R., Staňková, M., Šťastná, J., Hasoňová, L., Mikulová, M. 2010. Iodine status in ewes with the intake of iodine enriched alga *Chlorella*. *Czech Journal of Animal Science*, 55(2): 58–65.
- Zhang, Z., Liu, G., Li, X., Gao, L., Guo, C., Wang, H., Wang, Z. 2010. Evaluation of the change of serum copper and zinc concentrations of dairy cows with subclinical ketosis. *Biological Trace Element Research*, 138(1-3): 8–12.

PŘÍLOHA 5

Iodine content development in raw cow's milk in three regions of the Czech Republic between the years 2008 and 2018

Roman Konečný, Zuzana Křížová, Jan Hladký, Jitka Kautská, Lucie Hasoňová,
Eva Samková, Kristýna Šimák Líbalová, Jan Trávníček

University of South Bohemia in České Budějovice, Faculty of Agriculture, České Budějovice, Czech Republic

Received August 8, 2018

Accepted June 13, 2019

Abstract

The study examines an analysis and evaluation of iodine content in raw cow's milk in three regions of the Czech Republic between the years 2008 and 2018. Bulk milk samples were collected at dairy farms situated in South Bohemia, Central Bohemia, and the Vysočina Region. Iodine in milk was determined on the basis of alkaline ashing, using the spectrophotometric method according to Sandell-Kolthoff. The highest mean iodine content was measured in 2009 ($485.5 \pm 408.2 \mu\text{g/l}$) and the lowest in 2016 ($169.2 \pm 71.7 \mu\text{g/l}$). Since 2010 there has been a gradual decline of iodine concentration, from $479.5 \pm 304.9 \mu\text{g/l}$ in 2010 to $231.2 \pm 63.5 \mu\text{g/l}$ in 2018. A similar decreasing tendency was recorded in all the monitored regions. The percentage of samples containing iodine above $500 \mu\text{g/l}$ was on the decrease (37% in 2009; 0% in 2016–2018) and less than $80 \mu\text{g/l}$ (8% in 2009; 0% in 2017–2018). The current state corresponds to the requirements for iodine content in milk for human consumption. The study emphasizes the importance of continuous iodine content checks in milk and the related adjustments of iodine supplementation to the feeding rations of dairy cows.

Iodine concentration, nutrition, dairy farms, bulk samples

Iodine is an essential trace element for humans due to its incorporation in thyroid hormones which affect many biological processes in the human body (Zimmermann 2011; Flachowsky et al. 2014; Nerhus et al. 2018). As a result of this, iodine deficiency or excess may have a negative effect on human health. Many studies reveal that the population exposed to the highest risks of iodine deficiency are pregnant and breastfeeding women, children and also the elderly (Řehůřková et al. 2010; Zamrazil et al. 2010; Bílek et al. 2016; Ryšavá et al. 2016). The risks of excessive intake were recorded in children of up to 10 years of age (Řehůřková et al. 2010).

The iodine sources in human nutrition are represented by foods with a natural iodine content (milk, eggs, fish, and chicken meat), food fortified with iodine (salt, bread and bakery products, dairy products, meat products) or nutritional supplements (Leung and Braverman 2014; Steinhauserová et al. 2014). In the Czech Republic as well as in other countries, milk and dairy products represent the most important iodine sources due to their relatively high consumption (Dahl et al. 2003; Řehůřková and Ruprich 2013; Křížová et al. 2014; Ryšavá et al. 2016; Van der Reijden et al. 2017; Dahl et al. 2018). For example, in 2017 the average annual milk and dairy product consumption was 240 litres per capita (CZSO 2017).

The iodine content in cow's milk mainly depends on its intake in the feeding ration (Troan et al. 2015). Low iodine level in the fodder, and consequently, in milk, is mainly affected by its supplementation in feeding rations (Trávníček et al. 2004). Kursá et al. (1998) reported that the iodine content in milk from cows without iodine supplements did not

Address for correspondence:

Corresponding author
prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.
Faculty of Agriculture
University of South Bohemia in České Budějovice
Studentská 1668, 37005 České Budějovice, Czech Republic

Phone: +420 387 772 621
E-mail: travnic@zf.jcu.cz
<http://actavet.vfu.cz/>

exceed 50 µg/l and often dropped below 20 µg/l (with clinical signs of iodine deficiency). The optimal iodine content in milk for the necessary iodine supply to dairy cows and also with respect to milk consumers ranges between 100 and 200 µg/l (Trávníček et al. 2011).

Values of less than 80 µg/l reflect a low iodine intake due to thyroid gland activity in high-yielding dairy cows. Values higher than 250 µg/l are related to its excessive intake (Trávníček et al. 2011). The determination of proportional iodine intake by cows is connected with the presence of goitrogenic substances in the feeding ration (glucosinolates, isoflavones, perchlorates, bromides, nitrates and others) reducing the use of iodine for the synthesis of thyroid hormones (Pailan and Singhal 2007; Leung et al. 2012; Flachowsky et al. 2014). Prevention of iodine deficiency, which is manifested by low iodine concentration in milk, reduced milk production and thyropathies in calves during the intrauterine development, consists of sufficient iodine supplementation during gestation and lactation. The iodine content in cow's milk has been systematically monitored in the Czech Republic since the 1990s. Between 1988 and 1996, the mean iodine concentration decreased to 31 µg/l as a result of insufficient supplementation (Kursa et al. 1998). Between 1997 and 1999, the mean iodine content in milk increased to 128 µg/l, as a result of enhanced care for mineral nutrition of high-yielding dairy cows. After 2000, there was a steep rise in iodine concentration in milk which reached a mean concentration of 310 µg/l of milk in 2003 (Kursa et al. 2005).

The aim of this work was to evaluate the development of iodine content in cow's milk at dairy farms situated in three regions of the Czech Republic between 2008 and 2018.

Materials and Methods

Iodine content was monitored in bulk milk samples of raw milk collected between 2008 and 2018 at dairy farms in South Bohemia, Central Bohemia, and the Vysočina Region (Table 1). The milk samples were taken from milk tanks at the given breeding farms. The samples were taken using the same method as for the determination of quality performed by qualified employees of the dairy farm. The samples were frozen in standard sampling bottles on the day of sampling and kept at -15°C for 4 to 6 weeks before analysis. Iodine in milk was determined on the basis of alkaline ashing using the spectrometric method of Sandell-Kolthoff (Kursa et al. 2005). The principle behind determination is the reduction of Ce^{4+} to Ce^{3+} , in the presence of As^{3+} due to the catalytic effect of iodine. Dry mineralisation takes place in the alkaline environment at 600°C . The above described method was used to determine total iodine (inorganically and organically bound iodine to proteins). Statistical processing of data included the average values (means), standard deviations (SD), minimum and maximum values, median; significance was determined by the ANOVA – Tukey's test. Data were evaluated by STATISTICA 9.0. (StatSoft, Inc.).

Table 1. Iodine content in bulk samples of cow's milk (µg/l) in 2008–2018.

Year	Number		Mean $\pm$ SD	Min	Max	Median	PCTL	
	Samples	Herds					0.25	0.75
2008	78	78	390.1 $\pm$ 250.0	28.2	1258.0	310.8	207.6	555.7
2009	140	70	485.5 $\pm$ 408.2 ^a	13.4	2840.0	292.2	189.6	800.8
2010	70	70	479.5 $\pm$ 304.9 ^b	70.4	1332.0	435.0	223.8	612.8
2011	84	42	402.2 $\pm$ 380.8 ^c	21.0	1502.0	267.5	164.0	596.0
2012	80	40	344.1 $\pm$ 354.0 ^d	22.0	2080.0	232.5	127.7	440.0
2013	90	45	292.2 $\pm$ 264.1 ^e	24.0	1200.0	224.0	145.7	296.2
2014	108	54	219.3 $\pm$ 87.4 ^f	50.0	456.0	229.0	140.0	292.5
2015	150	75	243.7 $\pm$ 129.9 ^g	35.0	688.0	240.0	152.8	306.0
2016	70	70	169.2 $\pm$ 71.7 ^h	40.0	316.0	158.0	112.7	227.5
2017	70	70	209.7 $\pm$ 53.6 ⁱ	90.0	308.0	209.0	174.0	260.0
2018	70	70	231.2 $\pm$ 63.5 ^j	110.0	460.0	228.0	210.0	265.0

^a2,3,4,5,6,7 $P < 0.01$; ^b1 $P < 0.05$; ^b2,3,4,5,6,7 $P < 0.01$; ^c3,4,5,6,7 $P < 0.01$; SD = standard deviation, PCTL = percentile

Results

Iodine content development in dairy cow's milk is shown in Table 1. The highest mean iodine content ($485.5 \pm 408.2 \mu\text{g/l}$) was found in the samples taken in 2009. Since 2010, the mean values were significantly ($P < 0.01$) decreasing, even more markedly since 2014. Table 1 also clearly shows a decrease in both the mean iodine content and the maximum values of iodine. In 2012 the maximum iodine values reached $2080.0 \mu\text{g/l}$, followed by a sharp drop in 2014 with only $456.0 \mu\text{g/l}$ and $460.0 \mu\text{g/l}$ in 2018.

The recorded minimum iodine value ranging from 13.4 to $70.4 \mu\text{g/l}$ indicates the existence of dairy farms with a significant iodine deficiency in the feed rations (Table 1).

An overview of the relative representation (%) of the samples by iodine content is shown in Table 2. Samples with a low iodine content (less than $80 \mu\text{g/l}$) did not occur in 2017 and 2018. During the reporting period their occurrence culminated between 2011 and 2013 (from 12% to 19%). Proportion of the samples with a standard iodine content (80 – $250 \mu\text{g/l}$) did not exceed 46% between 2008 and 2015. Between 2016 and 2018 their representation increased up to 74–73%. However, the samples proportion reflecting excessive iodine intake decreased between 2016 and 2018. Samples with an iodine content of 250 – $500 \mu\text{g/l}$ were represented by 13–27%, and samples containing more than $500 \mu\text{g/l}$ were no longer present between 2016 and 2018.

Table 2. Relative proportion (%) of samples by iodine content in cow's milk in 2008–2018.

Iodine content in samples (µg/l)	% samples										
	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
< 80	5	7	1	12	12	19	6	8	13	0	0
80–250	31	32	21	29	43	38	33	46	74	73	73
250–500	32	24	31	33	26	27	45	39	13	27	27
> 500	32	37	47	26	19	16	16	7	0	0	0

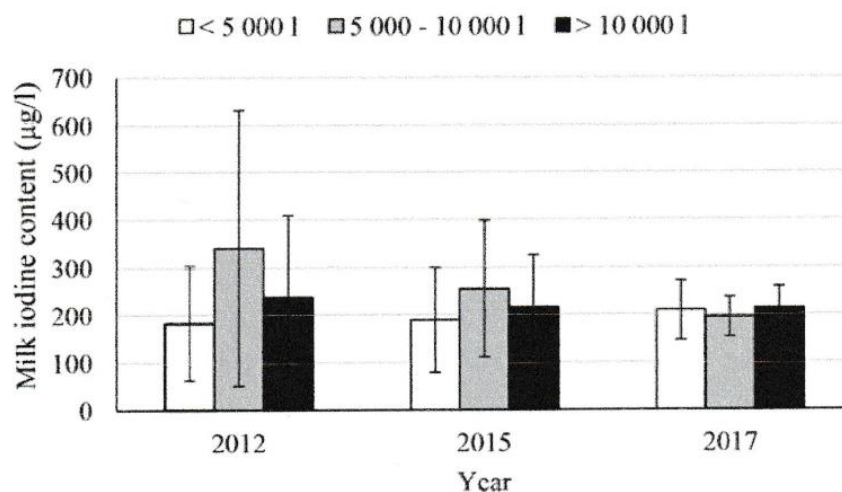


Fig. 1. Development of iodine content in milk ($\mu\text{g/l}$) depending on the daily milk production on the farm

The relationship between the amount of milk delivered daily for dairy processing and iodine content in a bulk sample is shown in Fig. 1. A lower iodine content was found at the dairy farms producing up to 5 000 litres of milk per day and the highest at the dairy farms producing 5 000 to 10 000 litres of milk per day. The highest difference was discovered in 2012, the lowest in 2017. The most balanced iodine content was found at the dairy farms with the highest daily milk production (over 10 000 litres).

This study also focused on regional differences in the iodine content (Fig. 2). However, during the reporting period, significant differences were recorded only in 2017. Figure 2 shows that since 2014 the dispersion of values was decreasing in percentile 0.75 along with the decreasing iodine content in milk (Table 1).

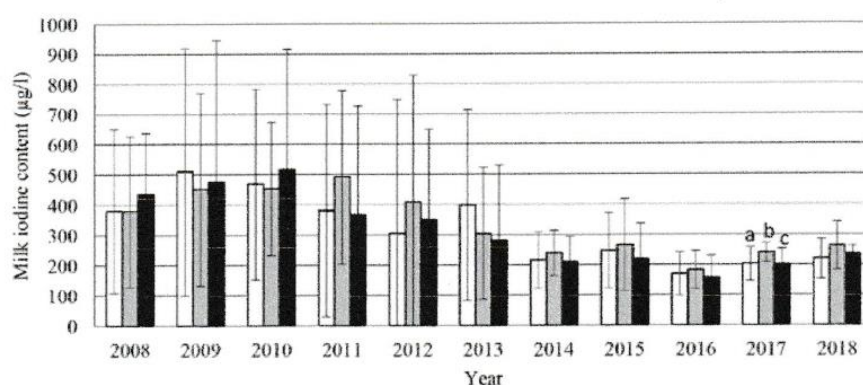


Fig. 2. Development of iodine content in milk ($\mu\text{g/l}$) in three regions of the Czech Republic
a,b $P < 0.01$, b,c $P < 0.05$

Discussion

This study deals with the iodine content development in cow's milk in three regions of the Czech Republic in the last eleven years (2008–2018). Bulk milk samples were collected at dairy farms situated in South Bohemia, Central Bohemia, and the Vysočina Region. The work follows from the extensive study of Kursá et al. (2005) and the study of Trávníček et al. (2006) who monitored the iodine content in milk between 2003 and 2005. Both authors recorded a marked increase in the iodine content in milk compared to the previous 10 years. Based on an analysis of 226 bulk samples, Kursá et al. (2005) noted a mean iodine content of $310.4 \mu\text{g/l}$ milk. In 2005, Trávníček et al. (2006) analysed milk samples from 169 bulk transportation tanks with an iodine value of $442.5 \mu\text{g/l}$. The increase in iodine content in milk was the result of targeted iodine supplementation in feeding rations of dairy cows initiated between 1997 and 1999. The increased supplementation responded to the insufficient subsidy of feed rations and an increased intake of goitrogens contained in the feed of plant origin (Trávníček et al. 2011).

The recorded high iodine content in raw cow's milk and milk used for commercial purposes indicated the potential risk of excess iodine in the selected population group (Trávníček et al. 2011; Kavřík et al. 2018; Nejedlá 2018). As a result of these findings, the Intersectoral Committee on Iodine Deficiency Solution responded by recommending

a reduction of the maximum iodine content in cow's milk mineral feed supplements (Nejedlá 2018). The iodine content in the cow's milk feed was also regulated via Commission Regulation (EC) No. 1459/2005, decreasing the maximum iodine content in dairy cows feed to 5 mg/kg of feed (Trávníček et al. 2011; Nejedlá 2018). After the implementation of this Regulation in 2006, we recorded a mean iodine content in raw cow's milk amounting to 371.8 ± 235.0 µg/l (data not shown). Table 2 clearly shows that between 2008 and 2009, the mean iodine content in milk temporarily increased again and in 2009 the highest value (485.5 µg/l) was recorded during the monitored period (2008–2018). This value was also the highest value in comparison to the other European countries (Germany 124.5 ± 30.6 µg/l, Poland 183.5 ± 5.0 µg/l, Ireland 449.0 µg/l) (Köhler 2012; O'Brien et al. 2013; Śliwiński et al. 2015). Since 2010, a desirable gradual decrease in the mean iodine values in milk (Table 2) has been recorded. In 2017 and 2018 the mean and median values already met the requirements for the iodine content in milk as a food product (Kursa et al. 2005).

The results gathered from this study are slightly different compared to the data provided by the National Institute of Public Health in Brno (NIPH) which monitors the dietary exposure of the population of the Czech Republic to iodine and its most important dietary sources. In 2009, the NIPH also recorded increased mean iodine values in milk used for commercial purposes (whole and skimmed milk). However, the iodine values had an increasing tendency until 2011 (Řehůřková et al. 2010; Kavřík et al. 2018). Between 2012 and 2014, they recorded a relatively stable mean iodine content in market milk of around 250 µg/l, which was followed by a temporarily increased mean iodine content of over 300 µg/l in 2015 (Kavřík et al. 2018). This study also recorded this tendency, yet the values increased only by 11.13% to 243.7 µg/l.

The recorded differences in dynamic and mean values were probably due to the different size of the monitored areas and numbers of the analysed samples. The NIPH analysed lower numbers of samples per year. Another factor might be the regional difference in the ratio of small and large dairy farms described by Vorlová et al. (2014).

Paulíková et al. (2008) and Crnkić et al. (2014) describe a significant difference in the iodine content in different regions of their countries. Results of this study also record regional differences in the iodine content, however, they showed significant differences ($P < 0.01$; $P < 0.05$) only in 2017 (Fig. 2).

Changes in the relative proportions (%) of iodine content in samples (Table 2) confirm positive changes in the iodine saturation of dairy cows which are manifested both by the desirable decrease in mean values and the decrease in low and extremely high values (Table 1). Samples with a low iodine content (less than 80 µg/l) were not present in 2017–2018 and samples containing more than 500 µg/l have not been part of our set since 2016. The balancing of the iodine content in milk between dairy farms with a different production and supply of milk for processing is also a very important finding (Fig. 1). The above facts are the results of the controlled optimization of iodine content in feeding rations in dairy farms with a daily milk production exceeding 5 000 or rather 10 000 litres, which significantly affects the amount of iodine in raw milk and consequently in drinking milk and dairy products.

Positive changes in the iodine content in cow's milk are related to the current systematic coverage of its content in bulk milk samples. The optimal content of iodine in cow's milk is an important contribution by the dairy industry to supplying the Czech population with iodine from natural sources.

Acknowledgements

This study was supported by Ministry of Agriculture of the Czech Republic - NAZV KUS QJ1510339, the Grant Agency of the University of South Bohemia (project No. 028/2019/Z).

References

- Bílek R, Kaňová N, Mindžáková V, Neumann D, Jiskra J, Ryšavá L, Zamrazil V 2016: Iodine supply of pregnant women in the Czech Republic (In Czech). *Vnitř Lék* **62**: 10-16
- Crnković Č, Haldimann M, Hodžić A, Tahirović H 2015: Seasonal and regional variations of the iodine content in milk from Federation of Bosnia and Herzegovina. *Mljekarstvo* **65**: 32-38
- CZSO. Food Consumption 2017 [online]. © Czech Statistical Office. 2017. Available at: <https://www.czso.cz/csu/czso/food-consumption-2017>. Last modified August 9, 2019. Accessed March 12, 2019
- Dahl L, Opsahl JA, Meltzer HM, Julshamn K 2003: Iodine concentration in Norwegian milk and dairy products. *Brit J Nutr* **90**: 679-685
- Dahl L, Wik Markhus M, Sanchez PVR, Moe V, Smith L, Meltzer HM, Kjelleevold M 2018: Iodine deficiency in a study population of Norwegian pregnant women—results from the little in Norway study (LiN). *Nutrients* **10**: 513
- Flachowsky G, Franke K, Meyer U, Leiterer M, Schöne F 2014: Influencing factors on iodine content of cow milk. *Eur J Nutr* **53**: 351-365
- Kavřík R, Nevrlá J, Řehůřková I, Ruprich J 2018: Iodine monitoring in the market milk in the Czech Republic (in Czech). Available at: http://www.szu.cz/uploads/documents/czsp/seminare/2018/Abstrakt_Iod_v_mlece_2018_Kavrik.doc. Last modified March 21, 2018. Accessed March 12, 2019
- Köhler M, Fehner A, Leitener M, Spörl K, Remer T, Schäfner U, Jahreis G 2012: Iodine content in milk from German cows and human milk: new monitoring study. *Trace Elem Electroly* **29**: 119-126
- Křížová Z, Trávníček J, Hasoňová L, Vítková L, Staňková M 2014: Milk as an important source of iodine in human nutrition (In Czech). *Mlékařské listy* **147**: 20-23
- Kursa J, Rambeck WA, Kroupová V, Kratochvíl P, Trávníček J 1998: Occurrence of struma in cattle in the Czech Republic. *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere* **26**: 326-331
- Kursa J, Herzig I, Trávníček J, Kroupová V 2005: Milk as a food source of iodine for human consumption in the Czech Republic. *Acta Vet Brno* **74**: 255-264
- Leung AM, Braverman LE 2014: Consequences of excess iodine. *Nat Rev Endocrinol* **10**: 136-142
- Leung AM, Braverman LE, He X, Schuller KE, Roussilhes A, Jahreis KA, Pearce EN 2012: Environmental perchlorate and thiocyanate exposures and infant serum thyroid function. *Thyroid* **22**: 938-943
- Nejedlá M 2018: Prevention of iodine deficiency in the Czech Republic (In Czech). *Hygiena* **63**: 25-27
- Nerhus I, Wik Markhus M, Nilsen MB, Øyen J, Maage A, Ødegård ER, Kolden Midtbø L, Frantzen S, Kögel T, Eide Graff I, Øyvind L, Dahl L, Kjelleevold M 2018: Iodine content of six fish species, Norwegian dairy products and hen's egg. *Food Nutr Res* **62**: 1291-1294
- O'Brien B, Gleeson D, Jordan K 2013: Iodine concentration in milk. *Irish J Agr Food Res* **52**: 209-216
- Pailan GH, Singhal KK 2007: Effect of dietary glucosinolates on nutrient utilization, milk yield and blood constituents of lactating goats. *Small Rumin Res* **71**: 31-37
- Paulíková I, Seidel H, Nagy O, Kováč G 2008: Milk iodine content in Slovakia. *Acta Vet Brno* **77**: 533-538
- Ryšavá L, Kříž J, Kašparová L, Křížová T, Žoltá M, Lisníková P 2016: Iodine supply and ioduria among the Czech population between the years 1995 and 2016 (In Czech). *Vnitř Lék* **62**: 28-32
- Řehůřková I, Ruprich J, Dořková M 2010: Iodine and its dietary exposition for the population of the Czech Republic (In Czech). In: Ryšavá L, Žoltá M (Eds): *Sborník IX. konference u příležitosti dne jódu „Zásobení jódem a prevence tyreopatií se zaměřením na období těhotenství a kojení“*. Státní zdravotní ústav Praha, Praha, pp. 7-10
- Řehůřková I, Ruprich J 2013: Dietary supply of iodine to Czech population and its most important sources (in Czech). In: Ryšavá L, Žoltá M (Eds) *Sborník X. konference u příležitosti dne jódu: „Zásobení jódem jako prevence tyreopatií a zdroje dietární expozice“*. Státní zdravotní ústav Praha, Praha, pp. 13-19
- Steinhausová P, Řehůřková I, Ruprich J 2014: Determination of iodine and sodium content in fermented meat products purchased in the Czech Republic - a pilot study. *Acta Vet Brno* **83**: 273-277
- Śliwiński B, Brzóska F, Szybiński Z 2015: Iodine concentration in Polish consumer milk. *Ann Anim Sci* **15**: 799-810
- Trávníček J, Herzig I, Kursa J, Kroupová V, Navrátilová M 2006: Iodine content in raw milk. *Vet Med-Czech* **51**: 448-453
- Trávníček J, Kroupová V, Dušová H, Krhovjácová J, Konečný R 2011: Optimization of iodine content in cow's milk (In Czech). *Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Agrovýzkum Rapotín*. 56 p.
- Trávníček J, Kroupová V, Šoch M 2004: Iodine content in bulk feeds in western and southern Bohemia. *Czech J Anim Sci* **49**: 483-488
- Troan G, Dahl L, Meltzer HM, Abel MH, Indahl UG, Haug A, Prestløkken E 2015: A model to secure a stable iodine concentration in milk. *Food Nutr Res* **59**: 29829
- Van der Reijden O, Zimmermann BZ, Galetti V 2017: Iodine in dairy milk: Sources, concentrations and importance to human health. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* **31**: 385-395
- Vorlová L, Hodulová L, Borkovcová I, Přidalová H, Kostrhounová R, Klimešová-Výletčlová M, Šustová K 2014: Iodine content in bulk tank milk samples in relation to dairy farm size. *Acta Vet. Brno*, **83**: 9-13
- Zamrazil V, Bílek R, Čerňovská J, Dvořáková M, Němeček J 2010: Iodine deficiency in the world and in the Czech Republic - Current status and perspectives. *Vnitř Lék* **56**: 1310-1315
- Zimmermann BM 2011: The role of iodine in human growth and development. *Semin Cell Dev Biol* **22**: 645-652

