



Projekat razvoja tržišne poljoprivrede II (FARMA II)

Program pomoći švedskog i američkog naroda

PRIRUČNIK ZA POLAGANJE ISPITA: OBUKA ZA OSJEMENJAVANJE KRAVA

Miljan Erbez Dragan Kesić Ivica Jožef



Juli 2020, godine

Publikaciju je pripremila Udruženje poljoprivrednih proizvođača – mljekara Republike Srpske uz podršku Vlade Kraljevine Švedske, Američke agencije za međunarodni razvoj i Vlade Sjedinjenih Američkih Država, putem Projekta razvoja tržišne poljoprivrede II (Sweden/USAID FARMA II projekt).

Tiraž: 100 komada

Štampa:

BIROKIP d.o.o.

Ada 28, 78 000 Banja Luka

Telefon/fax 051/311-444

Stajališta izražena u ovoj publikaciji ne moraju nužno odražavati stajališta Vlade Kraljevine Švedske, Američke agencije za međunarodni razvoj i Vlade Sjedinjenih Američkih Država.

Izdavač:



Удружење пољопривредних произвођача – млјекара
Републике Српске, Банја Лука
Књаз Милоша 21, 78000 Банја Лука, Република Српска,
Босна и Херцеговина
www.mljekarirs.com

За издавача:
Владимир Усорач

Аутори:
Милјан Ербез
Драган Кесић
Ивица Јожеф

Уредник
Александар Марић, М.Сс.

Овај прљручник је намијенјен за полагање теоријског дијела обуке за вјештачко осјемењивање на властитом стаду за узгајиваче крава, а у складу са Правилником о осposбљивању лица за обављање зоотехничких захвата („Службени гласник Републике Српске“, бр. 97/15).

Sadržaj

1. UVOD.....	4
2. ANATOMSKA GRAĐA POLNIH ORGANA KRAVE.....	6
3. FIZIOLOGIJA POLNIH FUNKCIJA KOD KRAVA.....	11
4. OPLODNJA JAJNE ĆELIJE.....	19
5. POLNI CIKLUS (ESTRUS).....	22
6. OOGENEZA.....	25
7. POLNA ZRELOST.....	25
8. PRIBOR ZA OSJEMENJAVANJE.....	25
9. PRIPREMA PLOTKINJE ZA INSEMINACIJU.....	26
10. MJESTO DEPONOVANJA INSEMINACIONE DOZE.....	27
11. PRIPREMA INSEMINACIONE DOZE.....	27
12. KONZERVACIJA SPERME.....	27
13. METODE INSEMINACIJE.....	31
14. VETERINARSKO-ZDRAVSTVENI USLOVI U VO.....	32
15. POKAZATELJI REPRODUKCIJE I OCJENA REZULTATA GRAVIDNOSTI.....	34
16. PRAKSA U LABORATORIJU.....	39
17. PRAKTIČNI DIO OBUKE U STADU.....	40
18. EVIDENCIJA O VJEŠTAČKOM OSJEMENJAVANJU.....	41
19. LITERATURA.....	44

1. UVOD

Zahvaljujući pogodnim bioklimatskim uslovima u Republici Srpskoj govedarstvo predstavlja jednu od najznačajnijih grana cjelokupne poljoprivredne proizvodnje. Osnova uzgoja su male farme (do 20 grla), koje se bave proizvodnjom mlijeka, a telad se u većini slučajeva prodaje različitim nakupcima koji se direktno bave tovom ili telad preprodaju trećim osobama. Najčešće telad prodaju u uzrastu od 2-3 mjeseca. Jedan dio farmera tove sve ili jedan dio teladi u svojim objektima, kako za privatne, tako i za potrebe tržišta. To nazivamo kombinovanom proizvodnjom.

Danas u RS ima oko 25.000 krava muzara, a u okviru članova Udruženja oko 6.000. Prosječna proizvodnja u kg, kreće se oko 4000 kg mlijeka po grlu, kod članova Udruženja oko 5.850 kg. Naše Udruženje proizvodi oko 31% mlijeka u Republici Srpskoj i 15% na nivou cijele BiH.

Zahvaljujući ekološki zdravom i čistom okruženju, te mogućnostima proizvodnje zdrave hrane u našim brdsko-planinskim područjima Republika Srpska ima velike mogućnosti da snabdijeva zahtjevno EU tržište, a ujedno da sopstveno tržište obezbijedi zdravim i pristupačnim proizvodima mliječne govedarske proizvodnje. Proizvodnja mlijeka jest zahtjevan proces, ali ujedno je i visoko profitabilan zbog većih cijena samih proizvoda i omogućuje redovne prihode. Povećanje proizvodnje mlijeka i mesa po grlu vuče za sobom povećanje preradivačkih kapaciteta, razvoj novih tržišnih brendova i proizvoda, ali i što je veoma bitno unaprjeđenje znanja i vještina proizvođača. Za razvoj govedarstva potrebno je uspostaviti dobru koordinaciju između svih nadležnih državnih organa, tržišta, farmera, preradivača, udruženja uzagivača odnosno organizacija za uzgoj i drugih faktora koji učestvuju u ovom procesu koji nije samo od ekonomskog nego i od nacionalnog značaja.

S tim u vezi edukacije, priručnici, obuke i ostalo vezano za primjenu vještačkog osjemenjavanja je od velikog značaja za razvoj govedarstva koje predstavlja jednu od najznačajnijih grana cjelokupne poljoprivredne proizvodnje.

Vještačko osjemenjavanje (VO) podrazumijeva zootehničku metodu ubacivanja doze sperme u određene dijelove ženskog reproduktivnog trakta, primjenom specijalnih instrumenata. Iz ovog se vidi da ubacivanje sperme može biti prirodno ili vještačko, a oplodnja je uvijek prirodna jer se uvijek dešava na prirodan način i predstavlja fiziološki proces spajanja jajne ćelije i spermatozoida. Proces oplodnje se može odigravati u prirodnim (in vivo) uslovima (u ampuli jajovoda) ili u vještački stvorenim uslovima u laboratoriji (in vitro), odnosno izvan organizma. Zbog toga se može govoriti o prirodnoj ili vještačkoj inseminaciji, ali samo o prirodnoj oplodnji.

Primjena vještačkog osjemenjavanja rezultira pozitivnim zootehničkim, sanitarno-veterinarskim i ekonomskim efektima u savremenoj stočarskoj proizvodnji, koji se ogledaju u slijedećem:

- Znatno brže razmnožavanje poželjnih genotipova mužjaka, jer se od jednog ejakulata pravi veliki broj doza, kojima se osjemenjava veći broj plotkinja.
- Efikasna kontrola širenja polnih bolesti.
- Moguće je vršiti znatno precizniju i efikasniju evidenciju o porijeklu životinja, čime se olakšava uzgojno selekcijski rad.
- Lakše i brže se izbacuju iz priploda priplodnjaci nosioci nepoželjnih i/ili degenerativnih svojstava.
- Za oplodnju se mogu koristiti i oni priplodnjaci koji se u prirodnom parenju iz određenih razloga ne bi mogli upotrijebiti.
- Uvođenjem osjemenjavanja omogućava se prevoz i transport sperme u najudaljenije krajeve, te se na taj način vrši unaprjeđenje stočarstva zaostalijih krajeva i mijenja tip životinja.

Međutim, i pored toga, postoje i izvjesni nedostaci vještačkog osjemenjavanja. Jedan od ozbiljnih nedostataka brzo može da se pogorša kvalitet stoke ako se koristi loše sjeme i sjeme od ograničenog broja priplodnjaka. Zbog upotrebe manjeg broja priplodnjaka brže može doći do uzgoja u srodstvu, te to zahtijeva vođenje tačne evidencije.

Osim proizvodnog efekta na unaprjeđenje stočarske proizvodnje, VO ima i značajnu zdravstvenu ulogu, a to se postiže kroz nekoliko postupaka:

- Ograničavanje širenja polnih bolesti i infekcija prethodnom provjerom sjemena.
- Redovna kontrola zdravstvenog stanja polnih organa priplodnjaka na inseminacionim stanicama i redovna kontrola njihovog spermograma.
- Korišćenje sjemena bikova provjerenih u kontroli nasljednosti zdravlja i plodnosti, koja je sastavni dio sveobuhvatne ocjene priplodnjaka.
- Stalna kontrola zdravstvenog stanja polnih organa plotkinje, rano otkrivanje poremećaja plodnosti i efikasno liječenje.
- Povećanje procenta plodnosti uvođenjem sjemena na mjesto najpogodnije za oplodnju.
- Mogućnost kontrole perioda estrusa pogodnog za pripuštanje.

2. ANATOMSKA GRAĐA POLNIH ORGANA KRAVE

Reproduktivne funkcije kod ženki obezbjeđuju proizvodnju jajnih ćelija i pružaju okruženje za rast i sazrijevanje ploda. Ovo zahtijeva koordinaciju kompleksa odnosa između hormona i promjena tkiva u tijelu ženke. Za uzgajivača je osnovno poznavanje anatomije i fiziologije polnih organa važno za otkrivanja estrusa, pripuštanje, porod plotkinje i period puerperijuma. Reproductivne organe ženke formiraju par jajnika i jajovoda, materica, vagina i vulva. Pri dostizanju polne zrelosti dozrijevaju u Grafovim folikulima u redovnim intervalima jajne ćelije, kod ženki se javljaju fiziološke promjene, praćene promjenom u ponašanju. Prvi estrus u periodu puberteta ne mora uvijek biti praćen proizvodnjom zrele jajne ćelije – ovulacijom.

Anatomska građa karlice i reproduktivni organe ženke:

Karlica se sastoji od dvije karlične kosti, koje se dorzalno pripajaju sa krsnom kosti a ventralno se spajaju u karličnu sponu. Svaka od karličnih kosti se u periodu razvoja i rasta jedinke sastoji od tri samostalne kosti: bedrena kost, sedalna kost i preponska kost. Granice među ovim kostima se spajaju u čašici butnog zgloba. Veza sa dijelom krsne kičme je kruta i slabo gipka. Objе karlične kosti zajedno sa krsnom kosti i prva tri do četiri repna pršljena ograničavaju karličnu šupljinu. Koštano dno karlične šupljine čine preponska i sedalna kost. Lateralnu granicu čine sa obje strane bedrena kost i tijelo, greben i kvrga sedalne kosti. Kaudalni ulaz u karlicu je širi i prostraniji od izlaza iz karlice. Sa strana karlični izlaz nema koštanu granicu. Sa obje strane granicu čine karlični ligamenti. Koštana karlica predstavlja prilično kruto ograničenje porođajnih puteva. Njen oblik i prostranost imaju u porođajnom pogledu veliki značaj. Porođajni kanal koji čine materica, grlić materice, vagina i ulaz u vaginu može se pri porođaju značajno rastezati. Rastezljivost može biti limitirana koštanom osnovom karlice. To je potrebno uzeti u obzir pri izboru životinja za priplod i pri izboru bika za pripuštanje. U karličnoj šupljini se dalje nalaze mokraćni putevi, izlaz probavnog trakta, krvni sudovi i nervi. U smjeru karlične ose pri porodu prolazi plod kroz karlicu. Kao rezultat anatomskih odnosa karlice karlična osa je kod goveda dva puta slomljena. To otežava tok poroda. Posebno nepovoljan je paralelni položaj tijela bedrenih kostiju, visoki sedalni grebeni, visoke dorzalne izbočine sedalnih kvrga i uspon kaudalne polovine karličnog dna.

Vulva je vanjska granica ženskog polnog aparata i čini je kod krava stidna regija. Sastoji se od lijeve i desne stidne usne, koje se dorzalno i ventralno spajaju u spojnicu stidnih usana. Dorzalna spojnica je zaobljena, ventralna oštra sa pramenom dužih dlaka. Stidne usne ograničavaju stidni otvor. Pokrivene su mekanom kožom sa nizom sitnih dlaka, lojnih i znojnih žlijezda. Ispod kože se nalazi bogato potkožno tkivo sa mnoštvom glatkih mišićnih vlakana i masnim tkivom. Ovdje

su smješteni prugasti mišići. Prema unutrašnjosti koža usana prelazi u kutanu sluznicu predvorja rodnice. Vulva je spolja odvojena od anusa trakom kože sa osnovom od ligamenata i mišića, koji čine međicu.

Klitoris je analogan penisu mužjaka, počinje sa dva ramena na luku sedalne kosti. Ramena se spajaju u tijelo klitorisa, koje je smješteno na ventralnom zidu predvorja rodnice. Tijelo se završava glavićem klitorisa, koji je nepotpuno podijeljen fibroznom pregradom kavernoznog tijela i obavijen je prepucijem klitorisa.

Predvorje vagine seže od vulve do vanjskog otvora mokraćne cijevi u kranialnom dijelu. Ovdje se spajaju polni i mokraćni izvodni putevi. U kranialnom dijelu dna predvorja vagine leži ušće mokraćne cijevi a u blizini i ušće slijepe kese suburetralnog udubljenja. Predvorje vagine je obloženo kutanom sluznicom sa slojevitim skvamoznim epitelom i mukoznim žlijezdama. Na dnu predvorja vagine su male žlijezde predvorja, koje se otvaraju u blizini klitorisa. Na lateralnim zidovima je parna velika žlijezda predvorja (2-3 cm), njen otvor se nalazi kaudodorzalno od otvora mokraćne cijevi. Sekret ovih žlijezda vlaži sluznicu tokom estrusa i pri porodu i sadrži mirisne supstance za primamljivanje mužjaka tokom estrusa. Ispod sluznice predvorja je unutrašnji kružni i vanjski uzdužni sloj glatke muskulature. Prugasti mišići u zidu formiraju sfinkter. Vanjski sloj čine rijetki ligamenti. Venski splet formira kavernožno tijelo.

Vagina je mišićna cijev (15 – 35cm duga), koja čini kranialni nastavak predvorja vagine a istovremeno je izvodni put polnog i kopulacionog organa krave. Njen lumen je skupljen u usko zatvorenu šupljinu sa velikom mogućnošću širenja. Kranialno vagina čini izbočinu u blizini vrha materice u svod vagine. U vagini razlikujemo vaginalno dno i vaginalni vrh. Granicu između vagine i predvorja vagine čini kružna sluzava opna - himen, koja kod junica blago sužava vaginalni otvor. Lumen vagine je obložen žutosmeđom sluznicom bez žlijezda sa brojnim limfnim čvorovima. Sluznica stvara uzdužne nabore. Pokrivena je slojevitim skvamoznim epitelom. Ispod sluznice se nalazi unutrašnji prstenasti i unutrašnji uzdužni sloj glatke muskulature. U kaudalnom dijelu vagine je ventralno smješten mišić m. uretralis. Površina vagine je prevučena adventicijom sa mnogobrojnim krvnim žilama, vene ovdje čine bogat splet. Sluznica tokom estrusnog ciklusa prolazi kroz značajne promjene. Prije i tokom estrusa epitel je povećan, površinski slojevi postaju roviti, ljušte se i nalaze se slobodno u vagini.

Materica (uterus) je mišićni organ debelih zidova smješten dijelom u karličnoj a dijelom u trbušnoj šupljini. Na materici opisujemo grlić (cervix), tijelo (corpus) i rogove materice (cornua uteri).

Grlič je kaudalni dio materice (vezivna forma koja spaja vaginu sa tijelom materice), na dodir veoma tvrd, elastičan, kod odraslih krava 10 - 20 cm dug. Kaudalni kraj grlića, u vidu kupe, prominira u vaginalnu šupljinu. Sredinom grlića prolazi kanalić, koji se fiziološki otvara samo u vrijeme estrusa i poroda. Kanalić započinje u vagini spoljnim ušćem, i ulazi u matericu unutrašnjim ušćem. Sluznica grlića formira 3 - 4 spiralna nabora sa osnovom kružne muskulature, i visoke uzdužne nabore, koji daju spiralnim naborima i kaudalnom kraju grlića materice izgled rozete. Kranialni spiralni nabor okružuje unutrašnja vrata, kaudalni formira portio vaginalis. Kanalić grlića je ispunjen staklastom sluzi, koja stvara u spoljašnjem otvoru sluzni čep i zatvara u potpunosti ovaj prolaz. Sluznica grlića sadrži žlijezde gll. cervicales i pokrivena je jednoslojnim cilindričnim epitelom, koji stvara cervikalna sluz. Kranialno grlič prolazi suženjem isthmus uteri u tijelo materice.

Tijelo materice je veoma kratko (2 - 5 cm). Ovdje razlikujemo lijevu i desnu stranu i dorzalnu i ventralnu površinu. Kranialno se tijelo izbočuje u rogove materice.

Rogovi materice su dvije zakrivljene cijevi dužine 25 - 40 cm koje se sužavaju. Na početku u kratkom dijelu srastaju, u ovom dijelu su obloženi zajedničkom prevlakom peritoneuma i tako formiraju djelimičnu pregradu materice. Ovaj dio formira nastavak materice, ali kasnije se rogovi od sebe udaljavaju i zakrivljuju se kranioventralno u obliku ovnujskih rogova, čineći 3/4 zavoja spirale. Na unutrašnjem dijelu zakrivljenja se zateže ligament materice - mesometrium, vanjsko zakrivljenje je slobodno. Na mjestu bufurikacije oba roga spaja ligament.

Šupljina materice je obložena sluznicom sastavljenom od uzdužnih i poprečnih nabora iz koje se uzdižu karunkule različitih veličina (prema funkcionalnom stanju materice i starosti životinje), koje su poredane u 4 reda. Kod odrasle krave karunkule su veličine cca 1 cm, žučkaste su i posute sitnim kriptama, ovdje se u toku gravidnosti smještaju alantohorionove resice kotiledona i tako formiraju placentu. Kripte mogu biti razmještene i mimo karunkula i kao placentae accessoriae, koje nakon poroda nestaju. Karunkule nakon poroda involuiraju, ali nikada na nivo stanja kao kod junica. Materica je obložena debelom sluznicom - endometrium sa višerednim cilindričnim epitelom. Na njemu se u periodu metestrusa javljaju treplje koje vibriraju u smjeru vagine. U sluznici su razmještene žlijezde materice. Njihova aktivnost se pojačava u estrusu i tokom gravidnosti stvaraju uterino mlijeko. Potkožno tkivo u materici nedostaje, mišićni sloj - myometrium je jako razvijen, koji čini unutrašnji kružni i vanjski uzdužni sloj glatke muskulature. Oba sloja razdvaja rijetko vezivo sa spletom krvnih žila - stratum vasculare. Uzdužna muskulatura prelazi na jajovode i vaginu. Tokom gravidnosti mišićni sloj oslabljuje i širi se, mišićne ćelije se produžavaju i do 10x. Na površini mišićnog sloja se nalazi rastresito vezivo sa žilama i nervima - parametrium. Površinu materice pokriva

serozna prevlaka - perimetrium, koja prelazi na matericu sa širokog materičnog ligamenta (ligamentum latum uteri). Materica je smještena uglavnom u trbušnoj šupljini, samo grlić zalazi u karličnu šupljinu. Kod odrasle životinje materica seže i do buraga i leži dorzalno na spletu crijeva. U stabilnom položaju je drži peritonealna duplikatura - mesometrium, koju čini kaudalni dio širokog materičnog ligamenta. Mesometrium odstupa dorsolateralno od zidova karlične šupljine i zateže se lateralno na matericu i malo zakrivljenje rogova materice. Kranialno prelazi u mesovarium i sa njegove lateralne površine se odcjepljuje mesosalpinx. Glavna arterija je arteria uterina koja prolazi mesometrium, dijeli se na 5 – 8 grana. Tokom gravidnosti je rektalno opipljiva na bazi bedrene kosti.

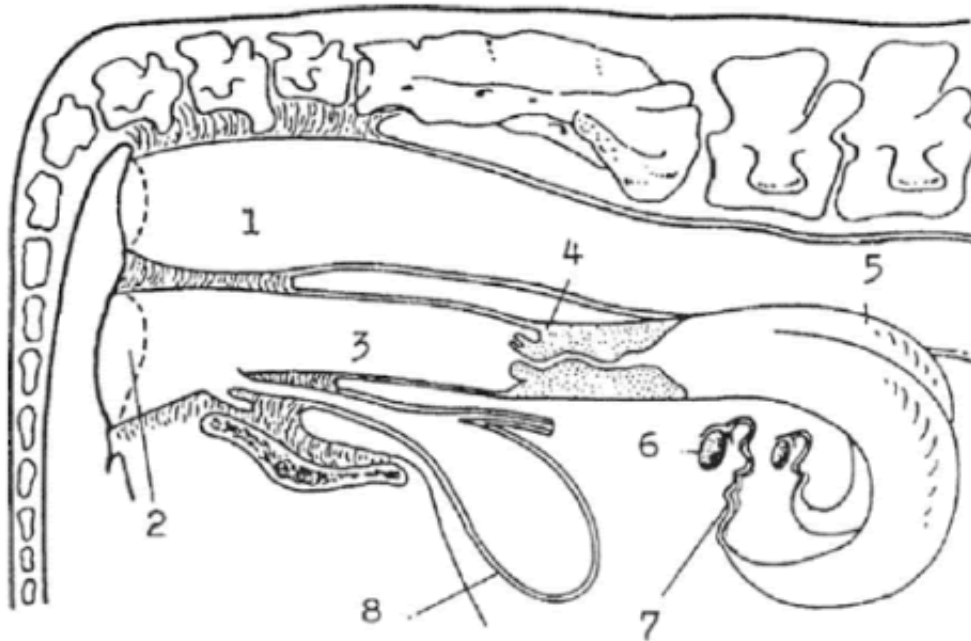
Jajvod krave je 20 - 30 cm duga glatko mišićna cijev obložena sluznicom, koja je u prosjeku samo 2 mm široka (u lijevku jajovoda raširena). Njegova funkcija je da uhvati jajnu ćeliju nakon ovulacije, omogući njenu oplodnju u gornjoj trećini jajovoda i aktivno je transportuje u matericu. Na jajovodu razlikujemo lijevak, prošireni dio, suženi dio i materični dio. Zid jajovoda se sastoji od sluznice, mišićnog sloja i seroze. Mišićni sloj čini unutrašnja kružna i vanjska uzdužna muskulatura. On je pokriven slojem peritoneuma - seroza, koja ovdje dolazi iz širokog materičnog ligamenta. Rektalno nije opipljiv.

Jajnik je parna polna žlijezda koja stvara ženske polne ćelije – jajne ćelije (ovum) i neke polne hormone. Smješten je pred kranialnim rubom karlične šupljine. Oblik, površina i veličina jajnika je promjenljiv pod uticajem stvaranja folikula i žutog tijela. Jajnik odrasle krave ima oblik šljive veličine 2 - 4,5 x 1 - 3 cm. Desni jajnik je obično veći sa većim brojem folikula. Kod polno nezrelih životinja površina jajnika je glatka. Osnova građe jajnika je vezivni skelet - stroma, koja čini na površini debeli sloj - tunica albuginea. Ispod nje se stroma dijeli na sloj kore i vaskularni sloj.

Sloj kore naliježe na slobodnu ivicu jajnika i ispunjena je folikulima u različitim razvojnim stadijima. Baza folikula se osniva već embrionalno. Tromjesečno žensko tele ih ima 70 – 300 hiljada, ali za života ih sazrije samo nekoliko stotina, ostali se degenerišu. Najveći broj je primarnih, nezrelih folikula. To su okrugle formacije veličine 30 - 50 mikrometara, sadrže oocitu 1. reda okruženu folikularnim ćelijama (zaštita, ishrana). U periodu puberteta folikuli se uvećavaju, folikularne ćelije se množe i građa folikula se komplikuje. Folikuli se spuštaju u dublje slojeve kore. Ovdje ih označavamo kao rastući folikuli. Folikul dalje raste, uranja se još dublje i mijenja se u mjehurasti folikul ispunjen tečnošću (1,5 - 2 cm). Prilikom daljeg rasta izbočuje se iznad površine jajnika i mijenja se u predovulatorni Graafov folikul.

Vaskularni sloj naliježe na hilum i bogato je prokrvljen. Ovaj dio jajnika je pokriven malim dijelom peritoneuma.

Slika 1. Anatomska građa polnih oragana krave



- Šematski prikaz polnih organa krave: 1. Pravo crevo (Rectum), 2. Stidnica (Vulva), 3. Rodnica (Vagina), 4. Grljić materice (Cervix), 5. Materica (Uterus), 6. Jajnik (Ovarium), 7. Jajovod (Oviduct), 8. Mokraćna bešika; (Reprodukcija)

Izvor:

http://www.poljoberza.net/AutorskiTekstoviJedan.aspx?ime=AR00507_1.htm&autor=12

2.1. Mišići ženskog polnog aparata

Muskulaturu medice čini prugasta potkožna muskulatura, koja je grupisana oko anusa (karlične dijafragme) i krajnjih dijelova izvodnih puteva polnih i mokraćnih (karlične duplje).

Površinski mišić medice polazi sa kvрге sedalne kosti i hvata se za središte medice. Dorzalno ograničava medicu.

Duboki mišić medice formira uske snopove koji polaze između oba lista karlične duplje. Povlači se po cijelom obodu luka sedalne kosti i pričvršćuje se na sredini karlične duplje.

Stezač (sfinkter) uretre počinje na mjestu prolaska mokraćne cijevi kroz karličnu duplju, nastavlja kranijalno i završava na grliću mokraćnog mjehura. Ventralno njegova potkovicica okružuje mokraćnu cijev a dorzalno se kači na vaginalni zid.

Sfinkter ispuččenja uretre okružuje predvorje vagine. Odstupa od centra medice i dijeli se na dvije trake:

1. **Sfinkter predvorja vagine** kači se na korijen klitorisa.
2. **Sfinkter vretena** se kači ventralno od klitorisa i u stidnim usnama.

Zatezač korijena klitorisa je trouglasti mišić počinje na luku sedalne kosit i kači se na korijen klitorisa.

Uvlačeći mišić klitorisa počinje na 2. do 3. repnom pršljenu, spušta se ventralno, lateralno zaobilazi anus i na lateralnoj površini vagine se lista i kači na tijelo klitorisa. Ovaj mišić podiže dno predvorja vagine.

Široki materični ligamenti su parna peritonealna duplikatura sa sadržajem glatke muskulature, koja odstupa dorzolateralno od zida karlične šupljine. Spušta se ventromedialno i pričvršćuje se na pojedine dijelove polnih organa. Do jajnika dovodi žile i nerve koji ulaze na otvor jajnika. Dio učestvuje u nastanku vreće jajnika.

2.2.Ovulacija

U periodu estrusa jajnik se prokrvljava, folikularna tečnost se umnožava i tonus u folikulu raste, dok ne dođe do prskanja njegovog zida. Struja tečnosti sa sobom strgne oocitu, koji je zarobljen u lijevku jajovoda. Nakon ovulacije se ćelije stratum granulosum uvećavaju i množe, pune se pigmentom LUTEIN i kapljicama masnoće. Tako nastaje tokom 9 - 11 dana kompaktno žuto tijelo - corpus luteum. Ukoliko nije došlo do oplodnje jajne ćelije, dolazi do degradacije hijalina CL pod uticajem PGF2 - alfa u bijelo žuto tijelo i na kraju poslije njega ostaje samo ožiljak. Ukoliko dođe do oplodnje, CL se uvećava na 2 - 3 cm, njegova inkretorna aktivnost se održava i odgovoran je za održavanje gravidnosti. Posredstvom progesterona sprečava ovulaciju, estrus i kontrakcijama materice, stimuliše sekreciju materičnih žlijezda i izaziva promjene u mliječnoj žlijezdi, koje dovode do laktacije.

3. FIZIOLOGIJA POLNIH FUNKCIJA KOD KRAVA

3.1.Hormonalno upravljanje ciklusom

Polna aktivnost je upravljana neurohumoralno. U upravljanju učestvuje moždana kora, limbički sistem, hipotalamus, hipofiza, jajnici i materica. Glavni kontrolni centar formira hipotalamo-hipofizo-ovarialnu osu. Viši centri utiču na niže centre a oni opet regulišu funkciju viših centara posredstvom povratnih sprega. Ovarialni ciklus plotkinja je kontrolisan gonadotropnim hormonima. Oni se oslobađaju iz hipofize, njihova aktivnost je pod kontrolom hipotalamusa. Njihova proizvodnja se odvija u adenohipofizi, koja proizvodi FSH (folikulo stimulirajući hormon) i LH (luteinizirajući hormon). Ovi hormoni djeluju na jajnike, gdje FSH stimuliše rast folikula a LH utiče na zrenje oocita i ovulaciju. Osim gonadotropina hormoni koji utiču na polni sistem se proizvode i na nivou polnih žlijezda - jajnika. To su tzv. ovarialni hormoni estrogen i progesteron, koji se oslobađaju iz ovarialnih folikula (estrogeni) ili iz žutog tijela (progesteron). Na jajnicima se se zato pod uticajem gonadotropina neprestano smjenjuju faza folikularna (na jajniku su veliki antralni folikuli) i faza lutealna (na jajniku nastaje žuto tijelo). U folikularnoj fazi zid folikula proizvodi estrogene, koji utiču na cijeli polni sistem i odgovorni su za ispoljavanje simptoma estrusa. Istovremeno pozitivno stimulišu proizvodnju gonadotropina. Nakon ovulacije oocite iz folikula se na mjestu ovuliranog folikula počinje stvarati žuto tijelo (corpus luteum, CL), koje proizvodi hormon oksitocin (djeluje na glatku muskulaturu materice) i progesteron (u slučaju gravidnosti sprečava dalju proizvodnju gonadotropina a time i sljedeću ovulaciju – estrus). To je neka vrsta negativne povratne sprege polnog sistema koji djeluje na hipotalamus. Ukoliko ne dođe do gravidnosti, materica počinje da proizvodi hormon zvan prostaglandin F2 alfa (PGF2 α), koji je odgovoran za luteolizu ili nestajanje žutog tijela. Time nestaje žuto tijelo, koje prestane da proizvodi progesteron a time nestaje i blok hipotalamusa, koji počne da oslobađa prostaglandine i počne nastajanje novog Grafovog folikula, koji počinje da proizvodi estrogene i sve ovo se ponavlja.

Hipotalamus (dio međumozga) prima neuralnim putem informacije iz limbičkog sistema i humoralnim putem informacije o stanju polnih organa (povratna sprega), obrađuje ih i stimuliše ili inhibira podređene organe.

- Prednji seksualni centar: prima impulse i dalje ih predaje zadnjem seksualnom centru. Proizvodi *antidiuretički* hormon (ADH) i *oksitocin*. Oksitocin djeluje na kontrakcije ćelija glatkih mišića u materici i mliječne žlijezde pri porodu i u vrijeme spuštanja mlijeka. Oksitocin i ADH se širi duž nervnih vlakana ka zadnjem režnju hipofize.
- Zadnji seksualni centar: proizvodi neurosekrete koji stimulišu ili inhibiraju aktivnost hipofize – *neurohormoni*. Ovi hormoni se obilježavaju kao oslobađajući hormoni (*releasing hormone- RH*) tzv. *liberini* i inhibirajući hormoni (*inhibiting hormones – IH*) tzv. *statini*. Na polnu aktivnost ima uticaj *gonadotropni relasing hormon GnRH* za

oslobađanje hipofizarnih gonadotropina (FSH a LH). Ovaj hormon prelazi u krv portalnog krvotoka i tako dolazi do prednjeg režnja hipofize. Oslobađa se pulsno.

Hipofiza (moždani privjesak, glandula pituitaria) je centralni organ endokrinog sistema. Visi na peteljci, koja se proteže iz hipotalamusa, koji upravlja njenom aktivnošću. U velikoj mjeri je nadređena svim ostalim žlijezdama endokrinog sistema.

Sastoji se iz dva glavna dijela, prednji **adenohipofiza** i zadnji **neurohipofiza**, među kojima je klinasti dio – **pars intermedia**. Ovi dijelovi se razlikuju ne samo po svojoj funkciji, već i po embrionalnom porijeklu.

Adenohipofiza je pod uticajem RH i IH i pod njihovim uticajem oslobađa adenohipofizarne hormone u krv (Svakom hormonu adenohipofize odgovaraju dva hipofizotropna hormona, jedan stimulišući i drugi inhibirajući proizvodnju odgovarajućeg hormona). Radi se o čitavom nizu hormona, koji imaju osnovni značaj u kontroli formiranja hormona u drugim žlijezdama sa unutrašnjim lučenjem. Unutar citoplazme većine ćelija adenohipofize se nalazi sekreciona granula koja sadrži proizvedene hormone. Svaki hormon se proizvodi različitim tipom ćelija. Stvaranje hipofizotropnih hormona je povratno regulisano nivoom hormona, koji proizvodi ciljni organ.

- Adenohipofizotropni hormoni koji upravljaju sekrecijom žlijezda sa unutrašnjim lučenjem
 - TTH – Tireotropni hormon
 - ACTH – Adenokortikotropni hormon
 - FSH – Folikulo stimulirajući hormon
 - LH – Luteinizirajući hormon
- Hormoni koji djeluju direktno na organe i tkiva
 - STH – Somatotropni hormon
 - LTH – Luteotropni hormon
 - MSH – Melanostimulišući hormon

Zadnji režanj hipofize služi kao rezervoar ostalih hormona, koji se stvaraju u hipotalamusu (hormon koji reguliše apsorpciju vode i hormon koji ima odnos prema porođaju i laktaciji).

Gonadotropni hormoni prednjeg režnja hipofize, radi se o dva hormona prednjeg režnja hipofize, koji stimulišu aktivnost polnih žlijezda i utiču na lučenje polnih hormona luteinizirajući hormon (LH) i folikulostimulirajući hormon (FSH). Kod mužjaka oba hormona se oslobađaju u konstantnom nivou, kod ženki u talasima koji indukuju ovulacioni ciklus. Kod

ženki se FSH i LH uzajamno dopunjuju pri kontroli funkcija gonada, indukuju ovulaciju i doprinose razvoju žutog tijela. Kod mužjaka FSH zajedno sa LH i testosteronom stimulišu spermatogenezu. Dalje ovdje spada prolaktin, koji je odgovoran za razvoj mliječne žlijezde i za laktaciju.

Žuto tijelo (*corpus luteum, CL*) je privremena žlijezda sa unutrašnjim lučenjem koja se nalazi u kori jajnika. Čelije ovog tijela proizvode u lutealnoj fazi estrusnog ciklusa steroidne hormone: progesteron i estrogene. Njegova boja je data visokim sadržajem luteina, iz kojih se proizvode steroidi.

Faze rasta žutog tijela (CL):

- 1) Uvećavanje: 1 – 6 (7) dan nakon ovulacije. Definisano rastom i ojačavanjem tkiva. Postepeno se povećava proizvodnja progesterona. Do 5 – 6 dana je CL neosjetljiv na analoge PGF2alfa (npr. oestrophan, remophan)
- 2) Vrhunac: 6 (7) – 16 dan ciklusa. Potpuno sekreciono aktivno, osjetljivo na hormonalne intervencije PGF2alfa. Ukoliko ne dođe do oplodnje, CL ulazi u treću fazu.
- 3) Regresija (nestajanje): nakon 16 dana ciklusa u ovom periodu smanjuje se količina luteinove boje u citoplazmi ćelija luteina, ovdje se gomilaju lizozomi i masne kapljice. Čelije se raspadaju, resorbovane su i zamijenjene rijetkim vezivom. Koji se često mijenja u ožiljak bjeličaste boje. Regresione promjene se dešavaju relativno dug period vremena, često stari CL opstaje do sljedećeg ciklusa, ali bez sekretorne aktivnosti.

U slučaju oplodnje tijelo je stimulirano od strane horionskog gonadotropina, proizvedenim u trofoblastu embriona a kasnije placenti. Žuto tijelo se tako održava za vrijeme od 6 mjeseci i potom postepeno nestaje. Progesteron se međutim luči do kraja gravidnosti iz stadijuma tjelašca poznatog kao *corpus luteum graviditalis*.

Gonadotropni hormoni zadnjeg reznja hipofize – neurohipofize, oksitocin, **nastaje u hipotalamusu, sakuplja se u zadnjem reznju hipofize. Omogućava kontrakcije glatkih mišića materice i mioepitelijalnih ćelija mliječne žlijezde.**

Oksitocin utiče na tri procesa:

- 1) Transport jajne ćelije i spermatozoida u polnom traktu plotkinje,
- 2) Porođaj i
- 3) Oslobađanje mlijeka.

3.2.Simptomi estrusa

Za manifestaciju simptoma estrusa je odgovoran 17-beta-estradiol.

Siptomi estrusa su sledeći:

- Crvenilo, kongestija i otok vulve.
- Opušta tonus himenalnog prstena
- Otvaren grlić materice koji povećava sekreciju cervikale sluzi, koja slobodno ističe iz vagine.
- Endometrijum materice je visok, senzitivan na oksitocin, koji izaziva kontrakcije muskulature materice i peristaltičke talase u zidu materice i jajovoda.
- Sluznica jajovoda proliferiše.
- Kod životinja se ispoljava psihička erotizacija, uzbuđenje i pristanak na parenje.
- Plotkinja u estrusu ispoljava spremnost da dozvoli da na nju skaču ili skače na ostale plotkinje, njuškanje, mukanje.
- Životinje u estrusu imaju blago povišenu temperaturu, tako da se u zimskom periodu može primijetiti dizanje pare iz tjela plotkinje u estrusu.
- Prolazno smanjenje proizvodnosti mlijeka i prijem krmiva.



Slika 2. Naskakivanje krava, Češka Republika, 2009. (Izvor: Važić i sar., 2018)

Prilikom estrusa, krave ispoljavaju i karakteristična ponašanja. Jedno od najčešćih je naskakivanje na druge krave (slika 2), pri čemu je oko 90% krava u estrusu na koje naskaču druge krave, a oko 70% onih koje su u estrusu skaču na druge krave.

Redosled hormonalnih promjena tokom estrusa:

- Opadanje nivoa progesterona (ukoliko u prethodnom estrusu nije došlo do oplodnje).
- Povećavanje lučenja FSH (vrhunac neposredno pred estrus).
- Povećana proizvodnja estrogena (vrhunac na početku estrusa), slijedi lučenje LH.
- Primjena mehanizma povratne sprege, dozrijevanje folikula i ovulacija.
- Stvaranje žutog tijela, povećavanje proizvodnje progesterona.

Nakon dostizanja polne zrelosti odvijaju se u normalnim uslovima polni ciklusi u redovnom intervalu za vrijeme cijelog reproduktivnog perioda osim perioda gravidnosti i kratkog perioda nakon poroda. Krava zato predstavlja poliestričnu životinju. Samo neke rase u polu divljim (ekstenzivnim) uzgojima mogu pokazivati sezonsku polnu aktivnost sa periodom anestrusa u najtoplijim mjesecima godine.

Dužina polnog ciklusa (estrusa) varira između 18 – 24 dana sa prosjekom kod junica 20 a kod krava 21 dan.

Polni ciklus (estrus) čini:

- proestrus (3-4 dana),
- estrus (12 – 36 sati),
- metestrus (4-5 dana) i
- diestrus (11-13 dana).

Ovulacija se odvija 8-12 sati nakon estrusa. Dan estrusa se najčešće označava kao dan 0.

Hormonalni profil se tokom polnog ciklusa značajno mijenja.

Progesteron od perioda ovulacije pokazuje značajan porast u zavisnosti od razvoja CL. Visok nivo progesterona je detektovan od 5 do 16 dana ciklusa, potom dolazi zahvaljujući regresiji CL do njegovog ponovnog pada.

LH se održava od ovulacije sve do 20 dana ciklusa na niskom nivou, tek 20 dana ciklusa pokazuje brz porast, koji izaziva dozrijevanje folikula i ovulaciju. Nakon ovulacije njegov nivo brzo opada.

FSH tokom ciklusa značajno varira u 3 – 4 talasa, koji odgovaraju pojedinim folikularnim talasima. Tek pri posljednjem povećanju nivoa FSH 17 – 20 dan ciklusa i uz istovremeno zajedničko djelovanje LH folikuli posljednjeg folikularnog talasa dozrijevaju i dolazi do ovulacije.

Nivo estrogena je tokom polnog ciklusa prilično stabilan, samo od 18 dana dolazi do porasta njihove koncentracije sa maksimumom 19 dan. Ovaj estrogeni maksimum ima za posljedicu manifestaciju simptoma estrusa i povratnom spregom na hipofizu izaziva maksimum proizvodnje LH.

3.3.Gravidnost

U hormonalnom obezbjeđenju gravidnosti kod preživara od početka učestvuju hormoni jajnika i hipofize (estrogeni jajnika i progesteron i hipofizarni gonadotropini), kasnije njihovu ulogu preuzimaju placentalni i fetalni hormoni. Krajem gravidnosti žuto tijelo stvara relaksin.

Hipofizarni gonadotropini imaju primjenu na početku gravidnosti. Njihova proizvodnja se napredovanjem gravidnosti mijenja i na prilično niskom nivou je.

- **Estrogene** od početka proizvode jajnici, kasnije placenta. Njihov nivo se postepeno povećava i dostiže maksimum na kraju gravidnosti, neposredno pred porod. Estrogeni izazivaju promjene na materici i time je pripremaju na prisustvo embriona:
 - Stimulišu rast i dijeljenje epitelijalnih ćelija i žlijezda (hiperplazija)
 - Izaziva povećanje mišićnih vlakana
 - Izaziva rast materice
 - Stimuliše skladištenje glikogena u muskulaturi materice
 - Povećava sadržaj u vodi rastvorljivih mikroproteina
 - Kontroliše skladištenje vode u cijelom polnom aparatu
 - Obezbeđuje adaptaciju materice na prisustvo embriona
 - Priprema matericu na povećanje metabolizma
- **Progesteron** je nazvan hormonom zaštite gravidnosti. Njegova koncentracija dostiže vrhunac oko 20 dana gravidnosti. Tokom gravidnosti zadržava relativno konstantan nivo sve do 220 dana. Zatim se bilježi njegov pad. Ukoliko nedostaje, ili nije u dovoljnoj količini, dolazi do odumiranja i resorpcije embriona ili ranog završetka gravidnosti (pobačaj, abortus). Na početku gravidnosti progesteron djeluje zajedno sa estrogenima i izaziva sekrecionu fazu endometrijuma.
- **Luteotropni** hormon LTH je hormon placentalnog porijekla i njegov nivo tokom gravidnosti postepeno raste. Nakon informacije o prisustvu embriona u materici proizvodi se takođe u hipotalamusu i uzrokuje promjenu cikličnog žutog tijela na gravidno.
- **Relaksin** proizvodi žuto tijelo na kraju gravidnosti. Primjenjuje se pred porod, kada izaziva oslobađanje krsnoredrenog zgloba i relaksaciju grlića materice.

Na početku gravidnosti žuto tijelo opstaje, proizvodi progesteron koji nadražuje nervne završetke u sluznici materice i sprečava stvaranje luteolizina. Hipotalamus je nervno informisan o prisustvu blastociste u materici, aktivira stvaranje LTH i LH u hipofizi a to ima za posljedicu promjenu CL na gravidno CL. Proizvodnja progesterona tako nastavlja. Progesteron za cijelo vrijeme gravidnosti blokira luteolitički princip i hipofizarne gonadotropine. Na početku

gravidnosti međutim još dolazi do rasta folikula na jajnicima. Oni proizvode estrogene, koji potpomažu implantaciju embriona i rast materice.

13. dan po oplodnji počinje trofoblast blastociste da proizvodi embrioprotein, koji sprečava proizvodnju PGF2alfa i tako sprečava regresiju CL.

Nakon implantacije i placentacije placenta proizvodi proteohormone i steroidne hormone, koji utiču na metabolizam i mliječnu žlijezdu.

3.4.Porod

Uzrok završetka gravidnosti odnosno porod ili teljenje je stvaranje hormona u nadbubrežima ploda. Oni stimuliraju stvaranje prostaglandina u materici, koji dopijevaju u krv jajnika, izazivaju nestajanje CL, smanjenje stvaranja progesterona, time povećavaju osjetljivost materice na oksitocin i izazivaju kontrakcije.

Povećanje nivoa relaksina ima za posljedicu opuštanje ligamenata karlice, krsnoredrenog zgloba i porođajnih puteva.

4. OPLODNJA JAJNE ĆELIJE

Nakon inseminacije dio spermatozoida dopijeva do jajovoda za 2-10 min., ostali opstaju u grliću i postepeno se oslobađaju. Samo oplodnji jajne ćelije mora prethoditi kapacitacija spermatozoida i akrozomska reakcija, pri kojoj dolazi do oslobađanja enzima iz akrozoma spermatozoida.

Ovako pripremljen spermatozoid nasijeda na površinu jajne ćelije, ovdje se veže primarnom vezom i svojim enzimima narušava ovojnice jajne ćelije. Hijaluronidaza je odgovorna za raspad ćelija corona radiataa a akrozin vari masu zone pellucide.

Nakon prodiranja u perivitelni prostor glava spermatozoida se pričvršćuje za vitelnu membranu i spaja se sa njom. U perivitelni prostor se oslobađaju materije, koje su odgovorne za zonalnu reakciju i nastajanje vitelnog bloka. Ovi procesi izazivaju takve promjene na zoni pellucidi, i vitelnoj membrani, koje onemogućavaju prodiranje sljedećeg spermatozoida u jajnu ćeliju i nastanak polispermije.

Zatim se može posmatrati bubrenje jedara jajne ćelije i spermatozoida i narušavanje njihovih membrana. Stvaraju se i spajaju jedarca, tako dolazi do razmjene dijela mase jedra spermatozoida i jajne ćelije. Zatim se ponovo formiraju membrane jedra i time nastane muški i ženski pronukleus. Pronukleusi se uvećavaju i međusobno približavaju, membrane jedara se ponovo narušavaju i masa jedara se sastavlja u jedno jedro. Ovako nastaje zigot – oplođena diploidna ćelija sa dva seta hromozoma.

Odmah nastupa serija mitotičkih dioba, koja ima za rezultat brazdanje jajne ćelije i eksponencijalni porast broja somatskih ćelija embriona.

Vrijeme od početka oplodnje do 1. brazdanja jajne ćelije iznosi oko 20 – 24 sata.

4.1. Biološke granice vitalnosti spermatozoida i jajne ćelije

Za određivanje najpogodnijeg vremena za inseminaciji mora se polaziti od poznatih podataka o vitalnosti spermatozoida i jajne ćelije.

Spermatozoidi su u svježem stanju sposobni za oplodnju u jajovodu za vrijeme od 40 sati, kod zamrznute sperme je njihva sposobnost redukovana na cca 22 sata.

Ovulirana jajna ćelija je sposobna za oplodnju veoma kratak period – 4 – 6 sati.

4.2. Transport spermatozoida i jajne ćelije u polnom traktu plotkinje

U transportu spermatozoida u polnom traktu plotkinje učestvuju usisni i peristaltički pokreti materice kontrolisani uticajem oksitocina, njihovo kretanje olakšava vlažno okruženje sluzi žlijezda materice. Dio spermatozoida prodire u jajovod odmah po inseminaciji tokom 2-10 minuta, veći dio je zadržan u dijelu uterotubarnog spoja, odakle se postepeno oslobađaju tokom sljedećih 20 minuta do 6 sati. Za optimalno vrijeme napredovanja spermatozoida polnim traktom plotkinje se smatra vrijeme od 1 – 2 sata. Jajovodom se spermatozoidi pokreću aktivnim kretanjem uz korišćenje vlastitih energetske rezervi uz istovremenu pomoć peristaltičkih talasa koji polaze iz uterotubarnog spoja i šire se u kranijalnom smjeru ka jajnicima a uz pomoć oscilatornog kretanja treplji epitelijalnih ćelija sluznice jajovoda.

U periodu nakon ovulacije peristaltički talasi u zidu jajovoda se okreću u smjeru od jajnika prema materici, da bi ubrzali napredovanje jajne ćelije kroz jajovod.

4.3. Kapacitacija i denudacija spermatozoida i jajne ćelije

Spermatozoidi dobijaju sposobnost oplodnje tek nakon određenog vremena od dodira sa sekretima materice i jajovoda. Ovaj proces se zove kapacitacija spermatozoida. Vrijeme potrebno za izvođenje ovih promjena je približno 4-6 sati i tek nakon ovog perioda su spermatozoidi sa hiperaktivnim kretanjem fiziološki spremni da penetriraju zonom pellucida do jajne ćelije.

Kapacitacija se može odvijati i u uslovima *in-vitro* po stimulaci u medijumu za kultivisanje obogaćenom komponentama folikularne tečnosti. Među značajne aktivatore ovog procesa spada ekstracelularni Ca, Na, K, enzimske komponente, progesteron i drugi.

Kapacitacija je kompleks biohemijskih procesa koji se odvijaju na ćelijskoj membrani spermatozoida. Ovi procesi naknadno indukuju akrozomsku reakciju (aktivacijom enzimskog kompleksa akrozomske kape glave spermatozoida, prije svega hijaluronidaze i proteinaza) i mobilizacijom energetske rezervi skoncentrisanih u mitohondrijalnoj oblasti oko biča spermatozoida. Korišćenje ovih energetske rezervi indukuje hiperaktivno kretanje spermatozoida.

Do indukcije akrozomske reakcije spermatozoida dolazi mimo oocite, ili direktno na površini njene zone pellucida nakon tzv. primarne veze spermatozoida na površinu oocite. Zatim slijedi prodiranje spermatozoida u oocitu.

Drugi preduslov za uspješnu oplodnju je promjena prirode kretanja spermatozoida. Progresivno rotirajuće (oko svoje ose) kretanje ejakuliranog spermatozoida se primjenjuje od ejakulacije do

prodiranja na mjesto oplodnje u gornjoj trećini jajovoda. Hiperaktivno kretanje karakteriše veća frekvencija i amplituda talasanja biča a rotirajuće kretanje prestaje. Spermatozoidi vezani na zonu pellucidu primarnom vezom pokazuju kružne pokrete, pomoću kojih se uvrću u jajnu ćeliju suprotno smjeru kazaljki na satu.

Jajna ćelija koja napreduje kroz jajovod je na početku obavijena zonom pellucida i corona radiata. U toku napredovanja kroz jajovod oslobađa se od ovih ćelija. Proces čišćenja jajne ćelije nazivamo *denudacija*.

5. POLNI CIKLUS (ESTRUS)

Polni ciklus (estrus) kod krava ima sledeće karakteristike:

- Dužina 21 dan ($21,7 \pm 3,7$ dana), kod junica 20,2 dana ($\pm 2,3$ dana)
- Dužina estrusa 24 ± 12 sati, zimi, pri vezanom smještaju nedostatku svjetla i lošoj ishrani estrus je duži, manje izražen. Pri višim temperaturama i u prisustvu bika u stadu estrus je kraći i izraženiji
- Prvi postporođajni estrus oko 20. – 30. dana.
- Ovulacija
- Period rasta CL
- Početak sekrecije PGF2alfa
- Pad nivoa progesterona
- Porast nivoa FSH i LH

5.1. Faze estrusa

Proestrus je priprema za estrus traje cca 3 dana.

Dolazi do regresije CL i izraženog rasta dominantnog folikula, koji dostiže veličinu 10 - 15 mm. Opada nivo progesterona, povećava se nivo estrogena. U materici dolazi do zakrvavljenja sluznice. Zid materice dobija čvrsto-elastičnu konzistenciju a rogovi materice se zakrivljuju u smjeru trbušne šupljine. Primjetna je povećana tonizacija i kontrakcije materice, blag otok vulve, crvenjenje vagine i njeno vlaženje. Pojavljuju se prvi simptomi promijenjenog ponašanja plotkinje praćeni nemirom, skakanjem na druge krave (psihička erotizacija), ali bez spremnosti na parenje. Period pred estrus - proestrus traje od 18. do 20. dana ciklusa.

Estrus prema vrsti traje 1-3 dana i više.

Na jajnicima dozrijeva folikul i ubrzava se nestajanje CL. Folikul narastao do tzv. Graafovog folikula veličine 15-25 mm. Unutar Graafovog folikula je folikularna tečnost sa jajnom ćelijom u dozrijevanju. Luči se luteinizirajući hormon (LH), on dovršava zrenje. Ovulacija nastaje nakon završetka estrusa. Period estrusa traje 1 dan +12 sati, ovaj period se označava kao 0. dan ciklusa. Grlić materice se otvara, iz polnih organa ističe staklasta sluz, čija rastezljivost se povećava. Materica je čvrsta, elastična, njeni rogovi su zakrivljeni. Vanjski simptomi estrusa dalje uključuju nemir, aktivnost, traženje ostalih životinja, njihovo njuškanje, lizanje i skakanje

na njih. Na vrhuncu estrusa plotkinja dozvoljava da na nju skaču druge krave, proteže se u hrbatu i podiže rep. Ispoljava se spremnost za parenje, doalzi do refleksa stajanja, koji traje 7 - 10 sati. Dolazi do smanjenja prijema krmiva i proizvodnje mlijeka.

Metestrus je završetak simptoma estrusa.

Je rani postovulacioni perioda, tokom kojeg se počinje razvijati CL (žuto tijelo). Neposredno nakon ovulacije moguće je na jajnicima krava napipati ovulacionu jamu, koja se postepeno popunjava tkivom rastućeg CL. Dominantna uloga folikula je zamijenjena žutim tijelom koje se stvara na mjestu prsnutog folikula i nakon 3 dana se izbočuje 15-20 mm iznad površine, kod junica biva i veći. U ovom periodu se desi još jedan folikularni talas, tako da je moguće napipati i folikule veličine 2 – 7 mm. Postepeno nestaju simptomi estrusa na polnim organima plotkinja se smiruje. Kod krava se uočava krvavi sekret 2 dana po završetku estrusa. U ovom periodu dolazi do same oplodnje. Period nakon estrusa - metestrus slijedi nakon ovulacije od 1. do 4. dana ciklusa.

Diestrus je mirni period traje cca 14 dana.

Krave su većinom mirne (period polnog mira), međutim mogu njuškati druge plotkinje u estrusu i skakati na njih. To je period nastupanja lutealne aktivnosti, koja počinje obično oko 4. dana nakon ovulacije i završava se regresijom žutog tijela. LH stimuliše sekreciju progesterona žutim tijelom. Progesteron priprema matericu na prijem ranog embriona. Rast žutog tijela se završava 8. dan. Povećava se sekrecija progesterona, koja dostiže 5. dana ciklusa $4 - 5 \text{ ng/cm}^3$, 7. - 8. dana pak $6 - 8 \text{ ng/cm}^3$. Dovršavanje promjena na sluznici materice za prijem i ishranu oplođene jajne ćelije. U periodu 8.-15. dana ciklusa na jajniku je rastući folikul (14 mm), ovaj folikul ima i sekretornu aktivnost (međuovulacioni folikul), u slučaju gravidnosti podliježe atreziji. Ukoliko je plotkinja ostala gravidna, žuto tijelo opstaje, perzistira i sprečava početak novog estrusa.

U slučaju da nije došlo do gravidnosti, 14. - 15. dana ciklusa sluznica materice počinje da proizvodi prostaglandin F2a, koji svojim luteolitičkim efektom izaziva regresiju žutog tijela. Dolazi kako do degeneracije žutog tijela, tako i do regresivnih promjena na sluznicama polnog aparata. Počinju sa rastom novi folikuli i priprema za novi ciklus.

Anestrus natupa monoestričnih životinja u slučaju da ne dođe do gravidnosti, odnosno kada su polni organi dug period neaktivni. Traje od 5. do 18. dana ciklusa, polni organi i ponašanje plotkinja su bez promjena.

Lutealna faza ciklusa. Uključuje period metestrusa i diestrusa, tj. period od ovulacije do 17 dana ciklusa, kada dolazi do rasta, procvata i početka regresije CL. Praćena proizvodnjom progesterona.

Folikularna faza ciklusa. Uključuje period proestrusa i estrus, tj. period od 18. dana do kraja estrusa (do ovulacije). Karakterisana rastom i dozrijevanjem folikula uz istovremenu proizvodnju estrogena.

6. OOGENEZA

Razvoj jajne ćelije – 3 perioda:

- **Razmnožavanje**, tokom embrionalnog razvoja dolazi do višestrukog oogonija – a time i do povećanja njihovog broja u jajnicima. Iz posljednje generacije oogonija rastom nastaju oocite 1. reda opkoljene 1 slojem ćelija i stvaraju se primarni folikuli. Nakon rođenja oogonije se više ne dijele i ne nastaju nove oocite.
- **Rast**, uvećavanje oocita, stvaranje jajne opne, množenje folikularnih ćelija i stvaranje opne od nekoliko slojeva, stvaranje folikularne tečnosti – nastaje Graafov folikul.
- **Zrenje**, oocit podliježe dvijema diobama zrenja i iz njega nastaje jajna ćelija sa polovičnim brojem hromozoma. Druga dioba sazrijevanja se odvija tek nakon ovulacije u jajovodu. U slučaju, da ne dođe do oplodnje, 2. dioba sazrijevanja se ne dovršava i jajna ćelija nestaje.

7. POLNA ZRELOST

Polna zrelost je definisana kao period, kada jedinke oba pola počinju uticajem endokrinoloških promjena u organizmu proizvoditi zrele i sposobne za oplodnju polne ćelije mužjaka i ženki. Kod goveda polna zrelost dolazi sa 7 do 12 mjeseci uzrasta, ali je junice najbolje pripuštati odnosno osjemenjavati kada imaju barem 70% tjelesne mase odrasle jedinke (cca 14+ mjeseci). Kod muznih rasa se junice prvi put pripuštaju u uzrastu 14 – 16 mjeseci, u tovnih rasa kasnije, sa 18 – 20 mjeseci starosti. Uvijek međutim u zavisnosti na njihovu masu i tjelesnu kondiciju! Pri sledećem telenju bi trebala iznositi 95 % odrasle životinje. Od bikova se prvi ejakulati dobijaju sa 10 – 12 mjeseci uzrasta, u priplod se uvode prema rasnoj pripadnosti. Do inseminacije, eventualno testnog sparivanja kod muznih rasa sa 12 mjeseci, do prirodnog sparivanja sa 14 mjeseci uzrasta.

8. PRIBOR ZA OSJEMENJAVANJE

Pribor za osjemenjavanje se sastoji od sljedeće opreme:

- Inseminacioni kontejner,
- Inseminacioni kateter,
- Zaštitne pipete,
- Pincetu,
- Makaze,
- Termobocu sa vodom temperature 38 °C ili termos za odmrzavanje,
- Rukavice (jednokratne),
- Lubrikant (npr. Kerolan) ,
- Desinfekciono sredstvo (npr. Desident),
- Celulozna vata.

Slika 3. Dio pribora za osjemenjavanje



Izvor: <https://www.allvetsupply.com/>

9. PRIPREMA PLOTKINJE ZA INSEMINACIJU

Plotkinju je potrebno premjestiti u prostor pogodan za inseminaciju. Prostor bi trebao da ispunjava uslove za fiksiranje životinje tako, da životinja ne može svojevóljno otići i da lice koje osjemenjava ima dovoljno prostora za manipulaciju opremom za inseminaciju i

istovremeno bude smanjen rizik od povrede životinje i tehničara. Potrebno je nagnati životinju u mjesto za pripuštanje, pregonsku cestu ili u boks ložu. U slučaju vezanog smještaja se pripušta direktno na ležištu.

Pred samu inseminaciju životinja se pregleda i izvrši se čišćenje vulve.

10.MJESTO DEPONOVANJA INSEMINACIONE DOZE

Inseminaciona doza se uvijek deponuje u prvu trećinu grlića materice.

- Intracervikalna inseminacija: sluz = biološki filter, propušta samo progresivne spermatozoide, površinska (u prvu polovinu grlića), dubinska (u zadnji dio grlića). U praksi najčešće korišćena.
- Intrauterina inseminacija: u matericu, kod plotkinja kod kojih postepeno prestaju znakovi estrusa, na tu stranu, gdje je razvijen Grafov folikul. U praksi se ne preporučuje zbog rizika uvlačenja zaraza. Ukoliko nismo sigurni, da li je plotkinja začela po prethodnoj inseminaciji, ne smije se koristiti – mogli bi doći do oštećenja plodovih ovojnica ploda.
- Inseminacija u rog materice: Koristi se u eksperimentalne svrhe.

11.PRIPREMA INSEMINACIONE DOZE

Pri vađenju pejete iz kontejnera preporučuje se lagano protresti pejetu tako, da eventualna kapljica tečnog azota na vanjskoj strani čepa otpadne. U vodeno kupatilo se stavlja pejeta sa čepom nagore. Cjevčica se izvadi i osuši celuloznom vatom. Kraj cjevčice sa čepom od vate se protrlja među prstima, da bi se čep oslobodio i olakšalo se njeno pomjeranje pri inseminaciji. Cjevčica se drži uspravno, sa vatenim čepom dolje i blagim tapkanjem se eventualni mjehurić vazduha premjesti u gornji dio cjevčice, čime se sadržaj promiješa. Cjevčica se uvuče u inseminacionu aparaturu, kraj bez vatenog čepa se makazama odsiječe tako, da cjevčica prelazi metalni kraj aparature za cca 1,5 cm. Jednokratna pokrovna pipeta se navuče na aparaturu sa cjevčicom i na rašireni kraj aparature se osigura protiv klizanja zaptivnim prstenom. Blagim pritiskom na klip se odlijepi vateni čep i sperma se izgura u vrh pokrovne pipete tako da nivo sperme dođe do ušća pokrovne pipete. Ovako pripremljenom aparaturom se istiskanjem sadržaja cjevčice osjemeni. Sperma ne dolazi u kontakt sa okolinom.

12.KONZERVACIJA SPERME

Cilj konzervacije sperme je očuvanje njene vitalnosti i dobre sposobnosti oplodnje spermatozoida. Dalje potom odgovarajućim razređivanjem proizvesti maksimalan broj

inseminacionih doza sa takvim brojem spermatozoida, koji odgovara biološkim zahtjevima za obezbjeđenje uspješne oplodnje – koncepciju. Zahtjev je, da inseminaciona doza sadrži minimalno 7,5 miliona aktivnih spermatozoida pri aktivnosti spermatozoida u inseminacionoj dozi minimalno 30%.

Princip je da se zaustave metabolički procesi spermatozoida uz uslov reverzibilnosti.

Postoje dva tipa konzervacije sperme:

1) Kratkoročna konzervacija

Koristi se rijetko (skladištenje pri temperaturi +2 do +4°C na period maks. 2 dana), koriste se: žumančano-citratni razređivač, žumančano-mliječni razređivač, razređivač od mlijeka u prahu.

2) Dugoročna konzervacija

Korišćenje efekta kriokonzervacije tečnog azota kao medijuma za hlađenje pri temperaturi -196°C. U toku zamrzavanja i odmrzavanja spermatozoida dolazi do složenih procesa promjene stanja vode i koncentracije rastvora u ćeliji (spermatozoida) i mimo nje, a time i do opterećenja ćelijske membrane. Posljedica ovih procesa je preživljavanje samo određenog broja spermatozoida (30 – 50 %). U toku zamrzavanja i odmrzavanja sperme (ćelija) nastaju u suštini dva kritična – štetna momenta tzv. „solution effect“ i stvaranje „unutarćelijskog leda – kristala“. Solution effects nastaje uglavnom pri postepenom hlađenju, dok se unutarćelijski led stvara pri veoma brzom hlađenju spermatozoida. Obje mogućnosti uzrokuju smrt ćelija. Zato je neophodno zamrzavanje izvesti tako, da budu minimizirana oba uticaja.

Pri dubokom zamrzavanju sperme veoma je opasno prelazno povećanje skladišne temperature iznad -130°C, do kojeg može doći pri nestručnoj manipulaciji sa inseminacionim dozama. Ovo može izazvati tzv. rekristalizaciju, kada narastaju veći kristali unutar spermatozoida i narušavaju njihovu unutrašnju strukturu i vode do gubitka sposobnosti oplodnje. Do ovoga može doći i pri nedostatku N₂ u kontejneru.

Zamrzavanje sperme se vrši nizom tehnoloških postupaka, koji se zasnivaju na principu „pakovanja“ inseminacionih doza. U prošlosti je bila najraširenija tzv. japanska metoda (sjeme se zamrzavalo u pilulama – peletama obima 0,1 cm³, skladištilo se u papirnim kutijicama opisanih registrom bika i stavljanjem u kontejner). Najraširenija metoda dugoročne konzervacije sperme u svijetu je francuska metoda (zamrzavanje i skladištenje u pejetama zapremine 0,25 – 0,50 cm³ sperme). Pejete sadrže na svom pakovanju neophodnosti, vidjeti u drugim poglavljima.

Inseminacija za 12 sati po početku estrusa, reinseminacija u slučaju nastavljanja simptoma za 12 sati.

Do narušavanja sposobnosti oplodnje spermatozoida u pejetama najčešće dolazi njihovim dugoročnim ili višekratnim izlaganjem temperaturama iznad kritične $-130\text{ }^{\circ}\text{C}$, tzv. hladne zone bezbjedne temperature.

Hladna zona bezbjedne temperature koja sprečava početak procesa odmrzavanja inseminacione doze u kontejneru je zavisna od napunjenosti kontejnera tečnim azotom (N_2). U kontejneru napunjenom N_2 , je temperatura ispod površine azota $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$. Temperatura u grlu kontejnera je zavisna od nivoa azota. Pri normalnom stanju nivoa azota se temperature iznad nivoa azota – u njegovim parama, smjerem na gore prema ušću grla kreću od -160 do $-140\text{ }^{\circ}\text{C}$, u samom ušću grla kontejnera, koje je obično dugačko cca 13-15 cm je temperatura već kritična, i kreće se od -25 do $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ u sredini grla. U vanjskom ušću kontejnera se temperatura para azota kreće od $+10$ do $+20\text{ }^{\circ}\text{C}$. U kontejneru sa kraćim i širim grlom temperature su niže od gore navedenih. I isparavanje azota je veće. Za kritičnu temperaturu para azota iznad nivoa u kontejneru u pogledu narušavanja sposobnosti oplodnje spermatozoida u inseminacionoj dozi može se smatrati temperatura iznad $-130\text{ }^{\circ}\text{C}$, pri kojoj dolazi do orošavanja inseminacione doze – pejete. Prelazno povećanje temperature pejete izaziva proces tzv. rekristalizacije, pri kojem dolazi do toga, da veći kristali leda pri naknadnom smanjenju temperature rastu na račun manjih kristala i narušavaju unutrašnju strukturu spermatozoida i vode do gubitka sposobnosti oplodnje spermatozoida. Do prelaznog povećanja temperature inseminacione doze može doći u grlu kontejnera pri nestručnom i dugom rukovanju u grlu kontejnera, ili pri nedostatku azota u kontejneru. To znači, da je nivo azota nizak a pare azota imaju veću temperaturu - 120 do $-160\text{ }^{\circ}\text{C}$ mogu se povećavati sve do $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$. Pejeta, koja je prošla proces povećane temperature – rekristalizacije, je nakon vađenja iz kontejnera orošena, ili obavijena slojem mraza – leda, eventualno napukla.

Pri namjeri rukovanja sa inseminacionim dozama ili gobletima je neophodno najprije prekontrolisati nivo azota u kontejneru. Pri niskom nivou azota dolazi pri manipulaciji sa inseminacionim dozama i njihovim ponovnim uranjanjem u pare azota do djelimičnog hlađenja, približno za -30 do $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ponovno hlađenje inseminacione doze zavisi od nivoa azota u kontejneru. Čim relativno duže tehničar rukuje sa gobletom, inseminacionom dozom iznad zone bezbjedne temperature, tim duže mora nazad vratiti goblet hladiti uronjen u pare iznad nivoa, ili uronjen u tečni azot. Vrijeme manipulacije u grlu kontejnera mora biti uvijek što kraće, maksimalno do jednog minuta. Nakon jednog minuta u grlu odmah uroniti makar na 10 sec. u

azot. U radnim uslovima kod inseminacionih tehničara dolazi do bespotrebnog gubitka azota iz kontejnera njegovim kvarenjem, nepažnjom, nestručnom manipulacijom i sl.

Karakteristike oštećene – odmrznute i ponovo zamrznute inseminacione doze. Primjetne su kako na površini pejete, koja je obavijena mrazom ili ledom. Pejete mogu biti i međusobno spojene – primrzle i teško se vade iz gobleta. Sljedeća karakteristika su nesimetrične kružne i uzdužne pukotine, izbočina u sredini pejete, sedimentacija spermatozoida u donjoj polovini pejete. Zato je važno prisustvo i kontrola uzgajivača. Pejeta po izvršenoj inseminaciji mora biti predata od strane inseminacionog tehničara uzgajivaču. Zajedno sa zapisom o izvršenoj inseminaciji i registrom bika u karton plotkinje je prazna pejeta dokument o sadržaju sperme datog bika i dokument o eventualnom oštećenju pejete. Inseminaciona doza - pejeta izvađena iz kontejnera i ostavljena na vanjskoj temperaturi gubi svoju sposobnost oplodnje već nakon 10 do 30 sec. Kod inseminacione doze – pejeta – izvađene iz kontejnera i ostavljene pri vanjskoj temperaturi, dolazi do započinjanja procesa odmrzavanja. Zajedno sa ponovnim uranjanjem u azot dolazi do njenog nestručnog zamrzavanja i djelimičnog oštećenja sposobnosti oplodnje sa svakim sljedećim ponavljanjem ovog procesa sperma gubi svoju sposobnost oplodnje.

13.METODE INSIMINACIJE

13.1. Rektalna metoda

Inseminator lijevom rukom rektalno pregleda unutrašnje organe plotkinje i fiksira grlić materice kroz zid crijeva a desnom rukom uvodi kateter vaginom sve do kanalića grlića materice.

Detaljan postupak:

Kažiprstom i srednjim prstom lijeve ruke se otvore stidne usne i po pregledanju sluznice predvorja vagine se u napravljen otvor u obliku lijevka u otvor stidnice zavede desnom rukom inseminacioni kateter odozdo prema gore pod ugom oko 45⁰ kroz predvorje vagine. Po prolasku vrha pipete iz predvorja vagine u vaginu (oko 10 – 15 cm) pipeta se dalje uvodi skoro u vodoravnom položaju do blizine grlića materice. Tek kada je pipeta dobro umetnuta u vaginu, oslobode se stidne usne i lijeva ruka zaštićena rukavicom se umetne u rektum plotkinje. Iz rektuma se odstrane nakupljene izlučevine i pregledaju se pipanjem polni organi. Preko zida rektuma se uhvati grlić u blizini njegovog kaudalnog kraja tako, da ga palac ograničava sa desne strane a slobodan mali prst olakšava traženje vanjskog otvora grlića materice. Drugom rukom se pomjera pipeta prema malom prstu, koji njeno dalje kretanje usmjerava prema vanjskom otvoru. Grlić materice se oprezno navuče na pipetu – kateter. Njegov vrh bi trebao da se umetne otprilike do polovine grlića materice (tj. 3-5 cm). Sporim stiskanjem klipa uz istovremeno sporo, kontinuirano izvlačenje pipete se istiskuje sperma i deponuje na većoj površini sluznice kanalića grlića materice. Po istiskanju sperme pusti se grlić materice, izvuče se ruka iz rektuma i istovremeno se izvuče kateter.

13.2. Vaginorektalna metoda

Ovo je u principu ista metoda kao prethodna, samo sa tom razlikom, da se u vaginu umeće ruka zaštićena sterilnom rukavicom. Po uvođenju dlana u vaginu tehničar skupi ruku, čime napravi prostor, u koji umeće kateter. Ruku uvodi do polovine dužine vagine, dalje ne. Kateter dalje uvodi do grlića materice i potom premješta ruku u rektum i inseminaciju dovršava isto kao kod rektalne metode.

13.3. Metoda za pripravnike

Radi se o modifikaciji prethodnog postupka s tom razlikom, da se ruka u vaginu uvodi sve do grlića materice, gdje tehničar prihvati kraj grlića materice i umetne kateter 2 – 3 cm duboko. Potom slijedi prihvatanje iz rektuma.

13.4. Reinseminacija

U uzgoju goveda se veoma često koristi isto kao i kod ostalih životinja tzv. reinseminacija, koja slijedi za 8 – 12 sati po prvoj inseminaciji. Radi se o inseminaciji u istom estrusu, uvijek sjemenom istog bika. Reinseminacija se vrši kod plotkinja, koje su osjemenjene na početku estrusa ili su pri inseminaciji bile nemirne, nadražene i previše primorane „na mokrenje“ (sve plotkinje, koje za 8 sati po inseminaciji još uvijek ispoljavaju znakove polnog uzbuđenja). Važi opšte poznato pravilo. Plotkinje osjemenjene ujutru se reinseminuju uveče, a plotkinje osjemenjene uveče su reinseminuju ujutru.

14. VETERINARSKO-ZDRAVSTVENI USLOVI U VO

Postoji nekoliko grupa reproduktivnih poremećaja koji mogu da ograniče uspješnost inseminacije, a mi smo ovdje naveli pojedine. U svakom slučaju, za sve aktivnosti u ovom polju treba biti konsultovan doktor veterinarske medicine.

14.1. Razvojne anomalije

- **Hermafroditizam** su neravnomjerno razvijene karakteristike oba pola kod jedne jedinke,
- **Frimartinizam** nastaje kod junica koje se razvijaju u materici zajedno sa muškim plodom i manifestuje se nedostatkom izvodni polni kanala a često i jajnika.

14.2. Funkcionalni poremećaji

- tihi estrus
- funkcionalna aciklija i atrofija jajnika
- poremećaji zrenja folikula i abnormalnosti ovulacija
- sindrom cista jajnika
- perzistentno (opstajuće) žuto tijelo

14.3. Upale

- akutna i hronična upala sluznice materice
- piometra (nagimilavanje gnoja u materici)
- upala grlića materice

14.4. Vještačka neplodnost

- neplodnost izazvana nedovoljnom brigom o reprodukciji
- nedostaci u evidenciji reproduktivnog stanja
- nizak nivo detekcije estrusa
- neodgovarajuće vrijeme inseminacije
- nizak kvalitet sjemena, nestručno rukovanje sa ID
- nepravilno izvođenje inseminacije
- grubo ophođenje sa plotkinjom
- nepravilan medikamentozni tretman

14.5. Asimptomatska sterilnost

- propuštanje oplodnje – degenerativne promjene na jajnoj ćeliji
- embrionalni mortalitet – normalan je do 20%

14.6. Prevencija poremećaja plodnosti

Poznato je da se sa poremećajima plodnosti susrećemo češće kod krava nego kod junica. Uzrok je vjerovatno u izgubljenom porođaju i tekućoj laktaciji – opterećenje krave. Kvalitet estrusnog ciklusa i uslovi za oplodnju i implementaciju jajne ćelije zavise od niza faktora.

Važan je neporemećen tok puerperijuma, kada se pojavljuje normalno funkcionalno stanje unutrašnjih polnih organa, prije svega materice i jajnika, uravnotežuje se hormonalno stanje organizma i sekreciona aktivnost sluznica i započinje prvi ovarijalni ciklus.

Sljedeće opterećenje za kravu je baz sumnje početak laktacije. Ovo takođe zavisi od proizvodnosti životinje. Kod visokoproizvodnih muzara se sa problemima u reprodukciji srećemo češće nego kod životinja sa prosječnom proizvodnošću. Junice nisu opterećene ovim faktorima.

Drugi ključni faktor odlučujući o uspješnosti reprodukcije su uslovi uzgoja. Radi se o kompleksu mnog činilaca: genetički, zdravstveni, klimatski i uzgajivački uticaji, gdje veliki značaj ima svakako i ishrana. Većina izvora navodi niske vrijednosti nasljedivosti plodnosti, neke segmentne karakteristike imaju veću nasljedivost. Srednju do veliku nasljedivost imaju neki poremećaji: sklonost folikularnim cistama i anomalijama razvoja polnih organa.

Uslov koji pogoduje plodnosti je dobro zdravstveno stanje i uzgojna kondicija plotkinje. Prije svega sa početkom laktacije, kada količina usvojenih hranljivih materija u krmnom obroku nije dovoljna za pokrivanje proizvodnje mlijeka, dolazi do opadanja žive mase krava. Izbalansiran krmni obrok je važan faktor koji utiče na plodnost. Prije svega nedostatak energije u krmnom

obroku smanjuje kod plotkinja stopu gravidnosti. Svoj značaj ima i zastupljenost vitamina (A, D, E), mineralnih materija i elemenata u tragovima. Nedostaci u ishrani se ispoljavaju embrionalnim mortalitetom, neredovnim i tihim estrusima i usporenom involucijom materice po porodu. Svakako je važna i zdravstvena ispravnost krmnog obroka. Ukoliko se, npr. u silaži pojave plijesni, njihovi toksini mogu da podrže rast ovarijalnih cista ili da uzrokuju blagu toksičnost sekreta izvodnih polnih kanala, koji potom smanjuje preživljavanje spermatozoida u polnom aparatu plotkinje. Takođe nepovoljno se može ispoljiti i prisustvo ili disbalans masnih kiselina u silaži. Uravnotežen zdravstveno ispravan krmni obrok moramo obezbijediti već junicama, zato što upravo od njih odgajamo sljedeću generaciju plotkinja.

15. POKAZATELJI REPRODUKCIJE I OCJENA REZULTATA GRAVIDNOSTI

15.1. Osnovni reproduktivni pokazatelji

Nivo reprodukcije se ocjenjuje na osnovu sljedećih pokazatelja, koje je potrebno procjenjivati u odnosu na nivo mliječne proizvodnje. Vrijednosti navedene u tabeli su orijentacione.

Tabela 1. Pokazatelji nivoa reprodukcije

Pokazatelj	Nivo reprodukcije			
	Odlična	Dobra	Odgovarajuća	Loša
Gravidnost po 1. inseminaciji %	iznad 55	45-55	35-45	do 35
Gravidnost nakon svih inseminacija %	iznad 55	do 55	do 45	do 35
Interval (dana)	do 57	58-66	66-76	iznad 77
Servis period (dana)	do 100	101-110	111-130	iznad 130
Inseminacioni indeks	do 1.6	1.7-2,0	2,1-2,4	iznad 2.4
Međutelidbeni interval (dana)	do 365	366-340	401-420	iznad 421

U tabeli 1. prikazani su sledeći pokazatelji:

Gravidnost po 1. osjemenjavanju se izražava postotkom krava, koje su zaista pri 1. osjemenjavanju po porodu ostale gravidne. Gravidnost po 1. inseminaciji koja dostiže u stadu vrijednost iznad 50-60 % se može ocijeniti kao odlična do dobra. Kod junica se dostiže gravidnost po 1. inseminaciji za 15-20 % veća.

Gravidnost nakon svih inseminacija ne bih smjela biti ispod nivoa donje klasifikacione granice gravidnosti po 1. Inseminaciji za pojedine kategorije.

Interval izražava broj dana od poroda do 1. inseminacije. Njegova dužina zavisi prije svega od toka involucije polnih organa nakon poroda, od obnavljanja potpunog ovarijalnog ciklusa i ispoljavanja estrusa. Ovaj period traje kod većine plotkinja 5-6 sedmica, kod visokoproizvodnih krava i duže. Plotkinje koje nemaju ciklus do 60 dana po porodu moraju biti pregledane i tretirane. Interval iznad 70 dana u uzgojima sa prosječnom proizvodnošću je nezadovoljavajući. **Servis period (SP)** je broj dana od porodu do inseminacije, pri kojoj krava ostane gravidna. U uzgojima sa prosječnom proizvodnošću je odgovarajući SP do 100 dana, zadovoljavajući do 120 dana. SP je jedan od ekonomski najznačajnijih pokazatelja reprodukcije, ali ne uzima u obzir ekonomske gubitke, koji nastaju kod plotkinja, koje dugo pogađaju, nisu gravidne, eventualno su bile izlučene. Ovaj pokazatelj je regulisan remontom.

Inseminacioni indeks se utvrđuje tako, što dijelimo broj svih provedenih inseminacija kod gravidnih plotkinja brojem svih gravidnih plotkinja. Inseminacija sa naknadnom reinseminacijom se računa kao jedinica.

Međutelidbeni interval se izračunava kao aritmetička sredina dužine perioda između dva poroda svih krava u stadu.

15.2. Pomoćni pokazatelji uspjeha reprodukcije u stadu

Pored prethodno navedenih pokazatelja ocjene steonosti / gravidnosti u stadu, postoje i pomoćni pokazatelji nivoa reprodukcije.

Tabela 2. Pomoćni pokazatelji nivoa reprodukcije

Pokazatelj	Nivo reprodukcije			
	Odlična	Dobra	Odgovarajuća	Loša
Bruto natalitet (broj teladi)	iznad 95	91-95	81-90	ispod 80
Neto natalitet (broj teladi)	iznad 95	do 91	do 81	ispod 80

Tabela 2. Prikazuje sledeće pokazatelje:

Bruto natalitet se izražava brojem teladi rođenih za 1 godinu od 100 krava u stadu. Ne uračunavaju se telad rođena od provtelki.

Neto natalitet je broj živo odgojenih teladi od 100 krava (provotelki i starijih grla). Vrijednosti neto nataliteta nebi smjele biti ispod donje granice bruto nataliteta. Ova vrijednost je najobjektivniji pokazatelj nivoa reprodukcije stada.

Ostali pokazatelji nivoa reprodukcije su sledeći:

Postotak (%) gravidnih plotkinja od ukupnog broja krava izražava % plotkinja od ukupnog broja krava u stadu, koje su ostale gravidne u ocjenjivanoj godini. Vrijednosti se kreću između 85-95%.

Uginuće teladi i pri najboljem zootehničkom radu se srećemo sa uginućem teladi. Dozvoljeni maksimum je 5% gubitaka. Ukoliko je uginuće veće, potrebno je potražiti uzrok i odstraniti ga. Uginuće teladi izračunavamo kao % uginulih od svih živo rođenih teladi.

Embrionalni mortalitet pokazuje vjerovatnoću uspješne gravidnosti nakon VO. Prema dosadašnjim istraživanjima, oko 8% oplodjenih jajnih ćelija (embriona) se dalje ne razvija. Zaustavljanje razvoja je uzrokovano genetičkim manama ili poremećajem histokompatibilnosti između spermatozoida i jajne ćelije. Najveći embrionalni mortalitet se može uočiti u razdoblju implantacije embriona, i to sa 25-30 dana gravidnosti. Mnogi embrioni su resorbovani sluznicom materice, ali žuto tijelo opstaje, smanjuje sekreciju prostaglandina F2 alfa i njegove luteolitičke efekte, što blokira pojavljivanje novog estrusa dugo nakon nestanka embriona. To je najčešće uzrok neostajanja gravidnih krava ili ponavljanja estrusa tek nakon 60-80 dana po naizgled uspješnom osjemenjavanju. Ovdje je pogodan tretman hormonima injekcijom prostaglandina (npr. Oestrophan). Odluka o njihovom korišćenju se komplikuje time, što rektalni pregled ukazuje na neprisustvo embriona, ali nivo progesterona u mlijeku je visok kao u da je krava steona. S toga se preporučuje sonografski pregled.

Poznata su tri perioda, u kojima dolazi do najvećeg mortaliteta embriona:

Prvi period – rani embrionalni mortalitet (5. – 7. dana po inseminaciji), kada embrion dostiže razvojnu fazu kasne morule ili rane blastociste. Veći gubici kod plotkinja koje povadaju. Gubici često nisu utvrđeni od strane uzgajivača (7 – 22%).

Drugi period – rani embrionalni mortalitet (14. – 17. dana po inseminaciji), kada embrion nije dovoljno razvijen, da se odupre spontanoj sekreciji materice prostaglandina F2 alfa. Gubici u ovom periodu dostižu do 18%. Estrus kod ovih krava se javlja normalno, ili sa manjim zakašnjenjem.

Treći period – (25. – 40. dana po inseminaciji) kasni embrionalni mortalitet, neuspješna nidacija (vezivanje) jajašceta u rogu materice. Gubici u ovom periodu do 13 %.

Interinseminacioni interval bi trebao da odgovara dužini estrusnog ciklusa kod plotkinja koje povadaju i po broju dana se dijeli u sljedeće grupe:

- Skraćenje ciklusa ispod 18 dana može svjedočiti o češćim pojavama folikularnih cista i o poremećajima hormonalne funkcije ili povratne veze.
- Normalan estrusni ciklus traje od 18-24 dana

- Pojava neredovnih ciklusa dužih od 24 dana iznad 25% ukazuje na embrionalni mortalitet. Ukoliko frekvencija produženih ciklusa dostigne 40%, potrebno je situaciju rejšavati sveobuhvatnom analizom i odstraniti odlučujuće uzroke.
- Pojava dvostrukih ciklusa (iznad 10%) govori o nedostacima u praćenju estrusa.

15.3. Analiza uzoraka pogoršane plodnosti u stadu

U svakom uzgoju je neophodno kontinuirano procjenjivati rezultate proizvodnosti, reprodukcije i zdravstvenog stanja stada. U današnje vrijeme se većinom radi o timskom radu, u kojem učestvuju uzgajivač, inseminacioni tehničar, veterinar a eventualno i savjetnik-specijalista za ishranu.

Pogodno je pretiti prije svega ove parametre:

- **Proizvodnja:**

- Mliječnost (mliječna stada) i tjelesna kondicija teladi pod majkom (krave BTPM)
- Sadržaj materija (masti, bjelančevine, laktoza) – muzna stada
- Sadržaj somatskih ćelija u mlijeku – muzna stada
- Urea u mlijeku – muzna stada
- Prirasti ili porast visine u krstima kod teladi i junica – muzna stada i stada BTPM

- **Zdravlje:**

- Broj uginuća i prinudnih klanja i njihovi uzroci
- % zadržanih posteljica
- Ostale postporođajne komplikacije
- Kondicija krava u pojedinim fazama laktacije
- Komplikacije sa nogama – šepanje
- Metabolički testovi, pH mokraće, stolice, analiza tečnosti buraga, nalazi iz klanica i uginuća

- **Reprodukcija:**

- Podjela stada
- % steonih krava
- % pripuštenih ili nepregledanih
- % nepripuštenih do 60 dana nakon telenja
- % nepripuštenih iznad 60 dana nakon telenja
- Vrš se analiza nepripuštenih iznad 60 dana po porodu

- % steonih po I. inseminaciji i po svim inseminacijama kod krava i junica
- Servis period, interval
- Embrionalni mortalitet
- Redovnost ciklusa kod krava i junica
- Analiza poremećaja (životinje koje nemaju ciklus, ciste, endometritisi...)
- Ostali dodatni pregledi (kristalizacija vaginalne sluzi, spermicidnost sluzi...)

Uzgajivač koji koristi osjemenjavanje u stadu bi trebao da vodi evidenciju o provedenim osjemenjavanjima.

15.4. Kvalitet doza za osjemenjavanje

Kod normalno korišćenih inseminacionih doza se obično zahtijeva minimalno 50 % učešće pokretnih spermatozoida, ili 30% koji se kreću glavom napriejdspermatozoida. Tih 30 % bi trebalo da čini minimalno 7,5 miliona spermatozoida tj, ukupan broj spermatozoida u inseminacionoj dozi bi trebao biti cca 25 miliona spermatozoida.

Kod seksiranih inseminacionih doza se zahtijeva minimalno 2,5 miliona spermatozoida sa pravolinijskim kretanjem i 30 % aktivnost, tj. ukupan broj spermatozoida 8,3 miliona/inseminacionoj dozi, bez patogenih klica, manje od 5 000 nepatogenih klica i 25 spora mikromiceta/ID.

16.PRAKSA U LABORATORIJI

U okviru ovog dijela polaznici će posjetiti Veterinarsko-stočarski centar sa kojim Udruženje ima Ugovor o saradnji. Polaznici će proći kompletan proces od uzimanja ejakulata kod bika, do pripreme doza, skaldištenja i testiranja. Polaznici će proći dio koji se odnosi na mikroskopski pregled sjemena, kako bi se upoznali sa kretanjem spermatozoida, te drugim karakteristikama sjemena. Takođe polaznicima će biti objašnjen sistem rukovanja sa tečnim azotom, punjenje kontejnera za doze, dopunjavanje i bezbjedno transportovanje.

Punjenje kontejnera tečnim azotom, ukoliko se puni topao, tj. prazan kontejner, neophodno je postupati posebno oprezno i polako. Tečnost se uz jako vrenje brzo isparava i pod pritiskom para izbacuje iz grla van. Temperature unutar kontejnera dostižu svoje najniže vrijednosti odmah nakon punjenja, međutim brzina isparavanja se ustaljuje za oko 3 dana. Pri dopunjavanju kontejnera se tekođe mora postupati oprezno.

- Novi kontejner mora biti dobro dezinfikovani (na 10 l kontejnera je potrebno: 5 ml formalina, 1,5 g hipermangana, 2 ml vode),
- Kontejner prije punjenja mora biti postepeno rashlađen, da ne dolazi do prskanja azota pri nalijevanju kontejnera ili čak do oštećenja kontejnera. U kontejner se zato najprije nalije 10% zapremine azota i ostavi se da se prohladi 1/2 dana.
- Punjenjem praznog kontejnera tečnim azotom nastaje oštro vrenje, razvijanje gasovitog azota i opasnost od prskanja tečnosti, zato je neophodno kontejner dolijevati oprezno i polako.
- Ukoliko dođe do stvaranja mraza na zatvaraču, neophodno je odstraniti ga suvim i toplim vazduhom a zatvarač prije stavljanja na ušće grla na suvo očistiti

Rukovanje kanisterom sa dozama, kanisteri se stavljaju u kontejner oprezno i polako. Zid ulaznog grla kontejnera je veoma tanak. Brze temperaturne promjene mogu imati za posljedicu njegovo oštećenje, to znači potpun gubitak vakuuma a time i izolacionu sposobnost. Pri naglom stavljanju kanistera u kontejner takođe postoji opasnost od prskanja azota. Pri manipulaciji kanister mora uvijek biti u grlu. Pri vađenju sjemena iz kanistera potrebna je tačna i brza manipulacija tako, da ne dolazi do toplotnog šoka. Za savršenu orijentaciju za kanister se zakače etikete od PVC-a sa oznakom registra bika.

- Rukovanje sa kontejnerom se mora izvršiti u što kraćem periodu, dug boravak na vazduhu smanjuje aktivnost ID, koje su smještene u gobletima

- Kanister sa dozama nikad ne smije potpuno napustiti grlo kontejnera i pare azota koje ovdje struje.
- Potrebno je ID odmrzavati za vrijeme od 40 sekundi pri temperaturi 37 °C. Isto tako mora biti zagrijana i inseminaciona aparatura. Ni u kom slučaju ne smije doći do rashlađivanja sjemena. Prema navedenim nalazima i pri kratkoročnom hlađenju kod običnih ID preživljava samo 30 – 40% spermatozoida, zato se preporučuje zagrijavanje pripremljene ins. aparature vlastitim tijelom inseminacionog tehničara (na primjer na leđima i sl.).

Prva pomoć u slučaju nastanka promrzlina. Pri nastanku promrzlina moramo smjestiti povrijeđenog u toplo i davati mu tople tečnosti. U slučaju lakših povreda potopimo promrzlo mjesto u mlaku vodu ili lagano trljamo čistom tkaninom, ili zagrijavamo. Ukoliko se obnovi cirkulacija, nije neophodna stručna njega. Pri težim povredama promrzlinu tretiramo kao opekotinu i tražimo stručnu pomoć ljekara. U slučaju da se kod povrijeđenog javi nedostatak kiseonika i otežano dihanje, potrebno je da premjestimo povrijeđenog na svjež vazduh, prema potrebi započnemo vještačko disanje i trenutno prevezemo na dalji ljekarski tretman.

17.PRAKTIČNI DIO OBUKE U STADU

Ovaj dio podrazumjeva **praktičnu** primjenu teorijskog znanja i sprovodi se u stadu. U ovom dijelu obuke obavezno je prisustvo doktora veterinarske medicine i diplomiranog inženjera stočarstva. Polaznik je prolazi kompletnu proceduru osjemenjavanja na živoj životinji. ovaj dio se sastoji iz sljedećih tačaka:

- Klinički pregled spoljašnjih i unutrašnjih polnih organa krave
- Priprema opreme za osjemenjavanje i priprema doze
- Fiksiranje grla
- Osjemenjavanje
- Evidencija u skladu sa Pravilnikom o načinu vođenja evidencije o osjemenjavanju i prirodnom pripustu (Službeni glasnik republike Srpske 45/16)

18.EVIDENCIJA O VJEŠTAČKOM OSJEMENJAVANJU

Evidencije o vještačkom osjemenjavanju i prirodnom pripustu vode se u pisanom obliku i u elektronskoj formi. Pravila vođenja evidencije su proposita Pravilnikom o načinu vođenja evidencije o osjemenjavanju i prirodnom pripustu („Sl. gl. Republike Srpske“, br. 45/16).

Evidencija o osjemenjavanju sadrži sljedeće podatke:

- 1) ime i prezime lica koje obavlja osjemenjavanje,
- 2) vrstu i rasu plotkinje,
- 3) datum (dan, mjesec i godina) osjemenjavanja,
- 4) identifikacioni broj i ime plotkinje,
- 5) datum (dan, mjesec i godina) rođenja plotkinje,
- 6) identifikacioni broj, broj iz centralnog registra muških priplodnih grla (u daljem tekstu: registar), ime i rasu oca plotkinje,
- 7) identifikacioni broj, ime i rasu majke plotkinje,
- 8) identifikacioni broj, broj registra, ime i rasu priplodnjaka čijim je sjemenom plotkinja osjemenjena,
- 9) redni broj osjemenjavanja,
- 10) ime i prezime / naziv, registracioni broj poljoprivrednog gazdinstva (RPG) i adresu vlasnika plotkinje,
- 11) broj potvrde o osjemenjavanju i
- 12) broj licence, odnosno šifre osjemenitelja (broj uvjerenja) i potpis lica koje je obavilo osjemenjavanje.

Oblik i sadržaj evidencije o osjemenjavanju je ispod u tabeli Evidencija o vještačkom osjemenjavanju, kao i tabela u kojoj se navodi utrošak sjemenskih doza.

Osjemenitelj je dužan nakon obavljenog osjemenjavanja plotkinje da o izvršenom osjemenjavanju izvjesti Organizaciju za uzgoj (Udruženje poljoprivrednih proizvođača – mljekara RS).

Ukoliko je osjemenitelj korisnik sistema matične evidencije koju vodi Udruženje, onda se ovi podaci šalju elektronski.

19.LITERATURA

1. Biniova, Zuzana, 2015. Ineminacioni tehničar za inseminaciju goveda, natura s.r.o., Češka Republika.
2. Krajinović, M., Šahinović, R., Vegara M., Vilić, H. 2004. Osnove opšteg stočarstva. Biotehnički fakultet, Univerzitet u Bihaću.
3. MPŠV RS, 2015. Pravilnik o osposobljavanju lica za obavljanje zootehničkih zahvata („Sl. gl. Republike Srpske“, br. 97/15).
4. MPŠV RS, 2016. Pravilnik o načinu vođenja evidencije o osjemenjavanju i prirodnom pristupu („Sl. gl. Republike Srpske“, br. 45/16).
5. Važić, Božo; Trkulja, Tanja; Erbez, Miljan. Objekti za smještaj goveda, Jun 2018. Izdavač: Poljoprivredni Fakultet i Arhitektonsko-građevinsko-geodetski fakultet, Univerziteta u Banjoj Luci, 317 pgs. Banja Luka, 2018.



Projekat razvoja tržišne poljoprivrede II (FARMA II)

Program pomoći švedskog i američkog naroda

Vlada Kraljevine Švedske i Američke agencije za međunarodni razvoj (USAID), podržali su pripremu i štampanje ove publikacije putem Projekta razvoja tržišne poljoprivrede II (Sweden/USAID FARMA II).



Udruženje poljoprivrednih proizvođača – mljekara Republike Srpske
www.mljekarirs.com

Juli, 2020. godine