

# Regulacija estrusnog ciklusa krava

---

**Marić, Katarina**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2021**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:*

**Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek /  
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:151:725155>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-23**



Sveučilište Josipa Jurja  
Strossmayera u Osijeku

**Fakultet  
agrobiotehničkih  
znanosti Osijek**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Agrobiotechnical  
Sciences Osijek - Repository of the Faculty of  
Agrobiotechnical Sciences Osijek](#)



SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Katarina Marić

Preddiplomski sveučilišni studij Poljoprivreda

Smjer: Zootehnika

**REGULACIJA ESTRUSNOG CIKLUSA KRAVA**

Završni rad

Osijek, 2021.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA  
FAKULTET AGROBIOTEHNIČKIH ZNANOSTI OSIJEK

Katarina Marić

Preddiplomski sveučilišni studij Poljoprivreda

Smjer: Zootehnika

**REGULACIJA ESTRUSNOG CIKLUSA KRAVA**

Završni rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu završnog rada:

1. izv.prof.dr.sc. Mislav Đidara, mentor
2. prof. dr. sc. Marcela Šperanda, član
3. izv. prof. dr.sc. Tina Bobić, član

Osijek, 2021.

## TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Završni rad

Fakultet agrobiotehničkih znanosti Osijek  
Preddiplomski sveučilišni studij smjera Zootehnika  
Katarina Marić

### Regulacija estrusnog ciklusa krava

#### Sažetak:

Pubertet je razdoblje u kojemu životinje postaju sposobne za reprodukciju. Prvi estrus javlja se u razdoblju od 7 do 18 mjeseci starosti, nakon čega se ponavlja u prosječnim razmacima od 21 dan u krava i 20 dana u junica sve dok životinja ne ostane gravidna. Estrusni ciklus dijeli se u četiri osnovne faze: proestrus, estrus, metaestrus i diestrus, a pojavom ovulacije ženka je sposobna za oplodnju. Regulacija estrusnog ciklusa sastoji se od izmjene duljine ciklusa ili induciranja samoga estrusa što omogućuje odabir vremena umjetnog osjemenjivanja kao i razdoblja teljenja. Osnovne metode sinkronizacije estusa su produženje lutealne faze i skraćenje ciklusa regresijom žutog tijela što je moguće postići primjenom prostaglandina, progestagena te kombiniranom upotrebom hormona. Implementacijom hormonalnih proizvoda za regulaciju estrusa i ovulacije pružene su brojne mogućnosti za menadžment reprodukcije, kao što su povećanje plodnosti, skraćenje servis perioda i međutelidbenog razdoblja, izbjegavanje problema neprimjećivanja estrusa, olakšavanje rada sa životinjama te brojne druge.

**Ključne riječi:** pubertet, estrusni ciklus, estrus, hormonalna regulacija, sinkronizacija

32 stranice, 9 slika, 54 literaturne reference

Završni rad je pohranjen u Knjižnici Fakulteta agrobiotehničkih znanost u Osijeku i u digitalnom repozitoriju završnih i diplomskih radova Fakulteta agorbiotehničkih znanosti u Osijeku.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

The Final Thesis

Faculty of Agrobiotechnical Sciences Osijek  
Undergraduate expert university study Agrobiotechnical sciences, course Zootechnics  
Katarina Marić

### Regulation of estrus cycle in cows

#### Summary:

Puberty is the period in which animals become capable of reproduction. The first estrus occurs between 7 and 18 months of age, after which it is repeated at average intervals of 21 days in cows and 20 days in heifers until the animal remains pregnant. The estrus cycle is divided into four basic phases: proestrus, estrus, metaestrus and diestrus, and with the appearance of ovulation the female is capable of fertilization. The regulation of the estrus cycle consists of changing the length of the cycle or inducing the estrus itself, which allows the selection of the time of artificial insemination as well as the calving period. The basic methods of synchronization are the prolongation of the luteal phase and the shortening of the cycle by the regression of the corpus luteum, which can be achieved by the use of prostaglandins, progestogens and the combined use of hormones. The implementation of hormonal products for the regulation of estrus and ovulation provides numerous opportunities for reproductive management, such as increasing fertility, shortening the service period, reducing the problems of not noticing estrus and easier work with animals and many others.

**Key words:** puberty, estrus cycle, estrus, hormonal regulation, synchronization

32 pages, 9 pictures, 54 references

Final work is archived in Library of Faculty of Agrobiotechnical Science Osijek and in digital repository of Agrobiotechnical Science Osijek.

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. MORFOLOGIJA ŽENSKIH REPRODUKTIVNIH ORGANA</b> .....	2
2.1. Jajnik ( <i>ovarium</i> ).....	2
2.2. Jajvod ( <i>tuba uterina, salpinx, oviductus</i> ).....	3
2.3. Maternica ( <i>uterus, metra</i> ) .....	4
2.4. Rodnica ( <i>vagina</i> ).....	5
2.5. Vanjski spolni organi .....	6
<b>3. HORMONALNA REGULACIJA AKTIVNOSTI GONADA</b> .....	7
<b>4. ESTRUSNI CIKLUS</b> .....	10
4.1. Folikularna faza .....	11
4.2. Sazrijevanje oocite .....	13
4.3. Ovulacija .....	14
4.4. Lutealna faza.....	14
<b>5. REGULACIJA ESTRUSNOG CIKLUSA KRAVA</b> .....	16
<b>6. METODE MANIPULACIJE ESTRUSNIM CIKLUSOM RADI OPTIMIZACIJE REPRODUKCIJE KRAVA</b> .....	17
6.1. Pripravci koji potiču oslobađanje hormona prednjeg režnja hipofize .....	17
6.2. Pripravci koji zamjenjuju ili nadopunjuju gonadotropine hipofize .....	17
6.3. Progestageni.....	18
6.4. Prostaglandini .....	19
6.5. Kombinacije hormona.....	21
6.6. Protokol OvSynch.....	22
<b>7. ZAKLJUČAK</b> .....	24
<b>8. LITERATURA</b> .....	25

## 1. UVOD

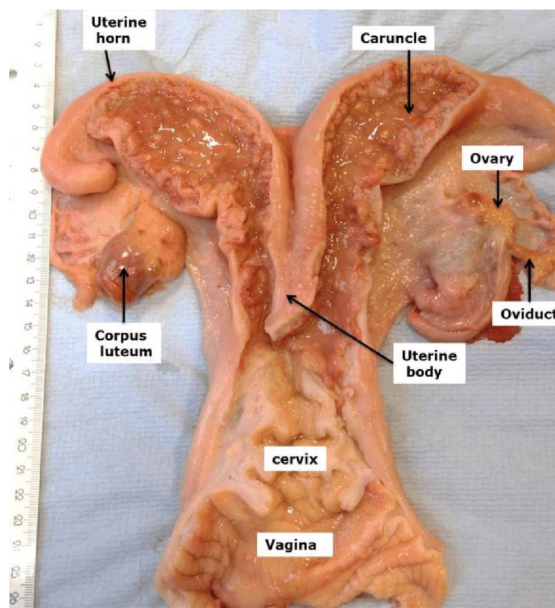
Spolna zrelost junica karakterizirana je pojavom intenzivnog rasta nekoliko tercijarnih folikula od kojih jedan ovulira. Nakon prve pubertetske ovulacije, koja nastupa u dobi od 11 do 15 mjeseci života, uspostavlja se ciklična aktivnost jajnika ili drugim riječima spolni ciklus. Spolni ciklus se ponavlja u prosječnim razmacima od 21 dan u krava i 20 dana u junica, u rasponu od 17 do 24 dana (Sartori i sur., 2004.), sve dok životinja ne ostane gravidna.

Spolni ciklus krava dijeli se u četiri osnovne faze: proestrus, estrus, metaestrus i diestrus (Kojima, 2003.), a pojavom ovulacije ženka je sposobna za oplodnju. Ovulaciji prethodi spolni žar ili estrus tijekom kojeg se očituju specifične fiziološke i morfološke promjene na spolnim organima kao i promjene u ponašanju životinje. Razdoblje estrusa traje 12 do 24 sata, a njegovo redovno očitovanje i otkrivanje jedan je od ključnih preduvjeta efikasne reprodukcije. U slučaju izostanka estrusa, ne regularne manifestacije vanjskih znakova gonjenja ili nestručnosti uzgajivača u prepoznavanju znakova tjeranja produžuju međutelidbeno razdoblje, dolazi do smanjenja proizvodnje mlijeka i teladi po kravi godišnje te se povećava postotak izlučivanja grla iz rasploda zbog niske reproduktivne efikasnosti. Iz navedenih je razloga neophodno znati fiziologiju estrusnog ciklusa kao i specifične znakove manifestacije estrusa kako bi životinja pravovremeno i uspješno bila osjemenjena. Osim toga, Stančić (2014.) naglašava da je poznavanje morfologije (građe) i fiziologije (funkcije) reproduktivnih organa osnovni preduvjet za razumijevanje pojedinih reproduktivnih procesa životinja. Stoga je njihovo poznavanje neophodno i za pravilno definiranje tehnologije upravljanja reproduktivnim procesima, posebno u intenzivnim uvjetima suvremene stočarske proizvodnje.

Regulacija estrusnog ciklusa ima iznimnu važnost u intenziviranoj farmskoj proizvodnji, a provodi se manipulacijom estrusnog ciklusa u svrhu sinkronizacije samoga estrusa i ovulacije. Primjenom hormonalnih tretmana olakšano je prepoznavanje krava u fazi estrusa, učinkovitija je primjena umjetnog osjemenjivanja te je shodno tomu poboljšana reproduktivna sposobnost.

## 2. MORFOLOGIJA ŽENSKIH REPRODUKTIVNIH ORGANA

Spolni sustav krava i junica sastoji se od jajnika (*ovarium*), jajovoda (*tuba uterina, oviductus*), dvorožne maternice (*uterus*) s materničnim grljakom (*cervix uteri*), ženskog kopolacijskog organa kojeg čine rodnica (*vagina*) s predvorjem (*vestibulum vaginae*), stidnica (*pudenda feminina, vulva*) s dražicom (*clitoris*) (Tomašković i sur., 2007.). Ženski spolni sustav krave smješten je neposredno ispod rektuma, unutar zdjeličnog pojasa (Hoard's Dairyman, 2006.). Naime, unutarnji spolni organi (jajnici, jajovodi, maternica, grlič maternice i rodnica) smješteni su ispred zdjeličnog pojasa unutar trbušne šupljine neposredno iznad i iza crijeva. Povezani su širokim materničnim ligamentima (*ligamenta lata uteri sinister et dexter*) pomoću kojih su pričvršćeni za dorzolateralnu stijenku trbušne šupljine. Navedeni ligamenti bogati su arterijskim i venskim krvnim žilama koje opskrbljuju organe krvlju, kao i živcima (Stančić, 2014.). Vanjskim spolnim organima pripadaju stidnica i dražica.



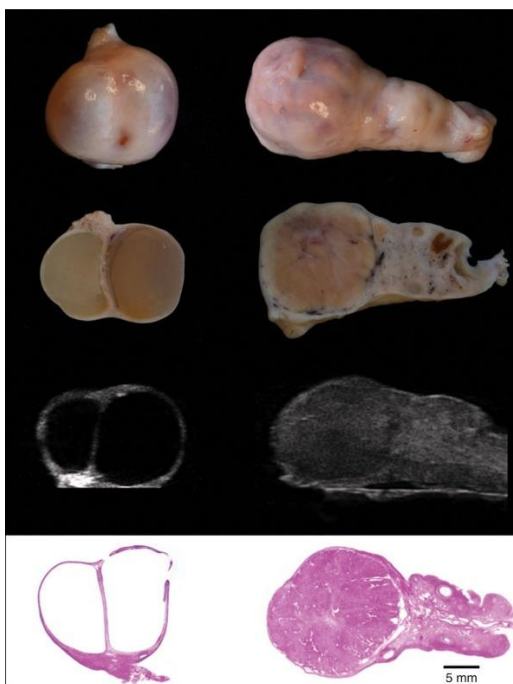
Slika 1. Građa ženskih reproduktivnih organa (Izvor: [www.researchgate.net](http://www.researchgate.net))

### 2.1. Jajnik (*ovarium*)

Jajnici su ženske spolne žlijezde ovalnog oblika smještene u trbušnoj šupljini. Veličine su 2,5 do 5 cm. U njima se razvijaju ženske gamete, odnosno ženske spolne stanice (jajna stanica, ovum, oocita). Jednako tako imaju važnu endokrinu ulogu jer se u njima sintetiziraju

te iz njih u krv izlučuju ženski spolni hormoni, estrogen i progesteron. Struktura jajnika nije statična, a izgled površine jajnika stalno se mijenja u ciklusima rasta i regresije folikula ili ovulacije te rasta i regresije žutog tijela (Ball i Peters, 2004.).

Jajnik je građen od vanjske i unutarnje zone. Vanjska zona ili *zona parenchymatosa* prekrivena je jednoslojnim, niskoprizmatičnim, germinativnim epitelom čije se stanice nazivaju oogonije. Oogonije sadrže diploidan (2n) broj kromosoma te se tijekom procesa mitotičkih i mejotičkih dioba formira jajna stanica (Stančić, 2014.). U vanjskoj zoni smještene su osnovne funkcionalne strukture jajnika, folikul i žuto tijelo (*corpus luteum*). U folikulima se razvija oocita i sintetizira estrogen, dok žuto tijelo sintetizira i izlučuje progesteron. Unutarnja zona ili *zona vasculosa* bogata je krvnim žilama, živcima i vezivnim tkivom.



Slika 2. Prikaz lijevog i desnog jajnika krave u proestrusu; površina jajnika, presjek jajnika, ultrazvučna slika, obojan histološki presjek (Izvor: veteriankey.com)

## 2.2. Jajovod (*tuba uterina, salpinx, oviductus*)

Jajovodi su parni cjevasti organi smješteni između jajnika i roga maternice (Stančić, 2014.). Dužine su 15 do 20 cm i promjera oko 3 cm (Hoard's Dairyman, 2006.). Uloga jajovoda je primanje i transport zrelih oocita od jajnika kroz lumen jajovoda, transport spermatozoida od maternice prema zadnjoj trećini jajovoda u kojemu se odvija oplodnja,



osiguravanje okoline bogate hranjivim tvarima za spermatozoide i početni rast zigote. Ove funkcije su, također, strogo kontrolirane djelovanjem ženskih spolnih hormona (Stančić, 2014.).

Na jajovodu se razlikuju infundibulum, ampula i istmus. Infundibulum je ljevkasti otvor koji djelomično okružuje jajnik. Slobodni rub infundibuluma čine prstolike tvorbe, fimbrije, čija je uloga usmjeravanje otpuštenih jajnih stanica u jajovod. Smješten je kranijalno, a nastavlja se na središnji, prošireni dio ili ampulu jajovoda. Ampula se nastavlja na posljednji cjevasti dio jajovoda koji se naziva istmus. Istmus se spaja s vrhom roga maternice, a ta se veza naziva uterotubalni spoj. Uterotubalni spoj čvrsto je zatvoren, osim u kratkim vremenskim intervalima kada propušta spermu i jajašca (Hoard's Dairyman, 2006.).

Stijenka jajovoda građena je od unutarnjeg sloja (mukoza), srednjeg sloja (mišićnica) te vanjskog sloja (seroza). Mukoza je prekrivena višerednim prizmatičnim trepetljikastim epitelom. Trepetljikaste stanice su najbrojnije u infundibulumu te se njihov broj značajno smanjuje prema maternici. Uloga trepetljika je da trepere u smjeru maternice te na taj način omogućuju pasivan transport jajne stanice ili ranog embrija kroz jajovod kao i njegovu stalnu rotaciju čime se sprječava njegoova implantacija u jajovodu. Sekretorne stanice sintetiziraju sekret jajovoda. Naime, intenzitet treperenja trepetljikastih stanica, sekrecija, smjer protoka i kontrakcije glatko mišićnih vlakana u stijenci jajovoda, kontrolirani su preciznim odnosom estrogena i progesterona u ovisnosti od faze estrusnog ciklusa.

### 2.3. Maternica (*uterus, metra*)

Maternica je građena od dva roga (*cornua uteri*) koji se spajaju te tvore tijelo maternice (*corpus uteri*). Svaki rog je u prosjeku dug 30 do 40 cm, a nalikuju rogovima ovna (Hoard's Dairyman, 2006.). Tijelo maternice se proteže sve do grlića maternice (*cervix uteri*), koji se dalje nastavlja u vaginalnu šupljinu. Maternica je širokim materničkim ligamentima (*ligamenta lata uteri*) vezana za dorzalnu stijenku trbušne šupljine. Ligamenti su bogati krvnim žilama i živcima.

Stijenka maternice građena je od sluznice (*endometrium*), mišićnice (*miometrium*) i seroze (*perimetrium*). Debljina stijenke maternice varira od 3 – 10 mm. Endometriji ili sluznica maternice je glatka i bez nabora. Sastoji se od žljezdanog epitela i ima približno 120 specijaliziranih uzdignutih područja poznatih kao "karunkuli". One su karakteristične za maternicu preživača i točke su vezivanja posteljice tijekom graviditeta (Ball i Peters, 2004.).

Endometrij sadrži brojne egzokrine žlijezde koje proizvode hranjive sekrete. Sekretorna aktivnost tih žlijezda pod utjecajem je hormona jajnika dok je aktivnost miometrija pod utjecajem hormona jajnika i oksitocina.

Osnovne funkcije materice su: pasivan transport sperme od mjesta ejakulacije do uterotubalnih spojeva, resorpcija dijela spermalne tekućine i mrtvih spermatozoida, prihvaćanje embrija i njihov razvoj tijekom perioda gravidnosti, regulacija početka i tijeka porođaja, odnosno istiskivanje plodova, plodnih ovojnica i tekućine u procesu partusa i kontrola trajanja estrusnog ciklusa (endometrij sintetizira i izlučuje prostaglandin  $F_2\alpha$ , koji izaziva regresiju žutih tijela) (Stančić, 2014.). Nadalje, vrat maternice smješten je između tijela maternice kranijalno i rodnice kaudalno. To je čvrsta, mišićava struktura slična sfinkteru koja djeluje kao prepreka odvajajući vanjske spolne organe od unutarnjih (Nabors i Linford, 2015.).

Vrat maternice u prosjeku je dug 10 do 12,5 cm, a normalno se širi (otvara) samo tijekom estrusa i u vrijeme teljenja (Hoard's Dairyman, 2006.). Naime, stijenku grlića maternice tvori fibrozno vezivno tkivo sa kolagenim i elastičnim vlaknima. Sluznica je jako naborana i sadrži brojne stanice koje proizvode sluz, čija se proizvodnja povećava uslijed djelovanja estradiola. Sluz podmazuje rodnicu tijekom kopulacije, pridonosi transportu bakterija i stranih čestica iz spolnoga sustava, a tijekom estrusa izlazi iz vulve. U vrijeme lutealne faze kao i tijekom bređosti progesteron potiče proizvodnju malih količina viskozne sluzi koja formira čep i na taj način onemogućuje prodor mikroorganizama i spermatozoida kroz grlić maternice.

#### 2.4. Rodnica (*vagina*)

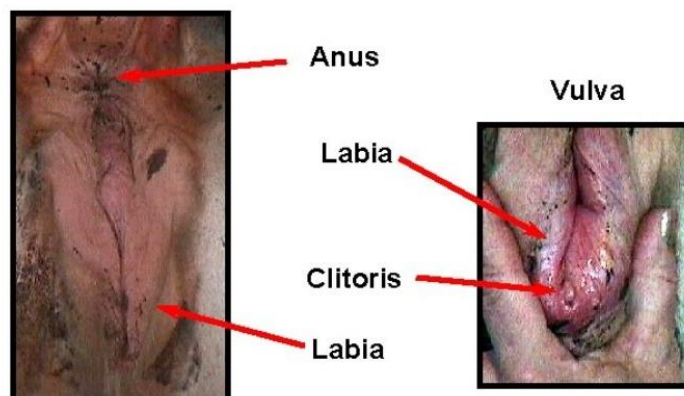
Rodnica je cjevasti mišićni organ dug oko 30 cm. Smještena je između kaudalnog dijela vrata maternice i ruba vestibula na vanjskom otvoru uretre (Nabors i Linford, 2015.). Rodnica fizički zatvara ulaz u unutarnje spolne organe te na taj način onemogućuje prodor stranim tijelima. Također, ima značajnu ulogu tijekom procesa porođaja, odnosno kod istiskivanja ploda, plodnih ovojnica i plodne vode. Naime, ona ne služi samo kao porođajni kanal, već i kao prolaz za sjeme i izlaz za urin (Hoard's Dairyman, 2006.). Uretra se otvara u dnu rodnice otprilike 10 cm ispred vulve (Ball i Peters, 2004.).

Stijenka rodnice građena je od sluznice, glatkog mišićnog sloja i vezivnotkivne ovojnice (*tunica adventitia*). Sluznica rodnice prekrivena je višeslojnim pločastim epitelom koji ne

sadrži sekretorne stanice, već sadrži žlijezde. Žlijezde kontinuirano luče bistru, vodenastu sluz koja štiti rodnicu od stranih tvari (Hoard's Dairyman, 2006.). Debljina epitela mijenja se pod utjecajem ženskih spolnih hormona, ovisno o fazi estrusnog ciklusa. Tijekom folikularne faze estrusnog ciklusa, zbog djelovanja visoke koncentracije estrogena epitel postaje deblji. Zbog pojačane prokrvljenosti sluznica je hiperemična, a samim time je pojačano lučenje sluzi. Nasuprot tome, tijekom lutealne faze ciklusa, kao posljedica djelovanja progesterona, epitel postaje tanak, a sluznica je blijeda i bez sluzi. Mišićni sloj sastoji se od unutarnjeg i vanjskog sloja. Unutarnji sloj je deblji sa kružno postavljenim mišićnim vlaknima, dok je vanjski sloj tanak, a vlakna su uzdužno postavljena. Na rodnicu se nastavlja stidnica (*vulva*) koja pripada vanjskim spolnim organima.

## 2.5. Vanjski spolni organi

Vanjske spolne organe čine predvorje rodnice (*vestibulum vaginae*), stidnica (*vulva*), dražica (*clitoris*) i vestibularne žlijezde (*glandulae vestibulares*). Na prijelazu iz rodnice u predvorje rodnice smješten je otvor uretre i prstenasti nabor koji se naziva vestigialni himen. Predvorje je malo područje koje nastaje na otvoru uretre i završava kaudalno kako bi se stopilo s usnama vulve (Nabors i Linford, 2015.). Stidnica ili vulva građena je od malih i velikih usana (*labiae vulvae minor et maior*) između kojih je smješten uzdužni otvor stidnice (*rima vulvae*). Velike usne se spajaju dorzalno i ventralno u komisurama, a presvučene su pigmentiranom kožom koja je obrasla sitnim dlačicama. U ventralnoj komisuri smještena je dražica. Dražica je građena poput spolnog uda mužjaka (*penis*), ali bez mokraćnice (Babić i sur., 2003.). Tijekom folikularne faze ciklusa, uslijed djelovanja estrogena, koža stidnice postane hiperemična, a njeno tkivo edematozno.



Slika 3. Vanjski spolni organi krave (Izvor: slidetodoc.com)

### 3. HORMONALNA REGULACIJA AKTIVNOSTI GONADA

Sve reproduktivne funkcije životinja kontrolirane su djelovanjem složenih neuroendokrinih mehanizama na razini osovine: središnji živčani sustav – hipotalamus – hipofiza – gonade (Stančić, 2014.). Navedena djeluje na način da se podražaji iz vanjske sredine i unutrašnjosti organizma preko središnjeg živčanog sustava prenose do hipotalamusa i hipofize te tako utječu na njihovu sekretornu aktivnost.

Hipotalamus je smješten u podnožju moždanog debla. Sadrži neurosekretorne jezgre, supraoptičke i paraventricularne, u kojima su smještene neurosekretorne stanice. Stanice supraoptičke jezgre sintetiziraju stimulirajuće i inhibirajuće hormone koji djeluju na adenohipofizu. Stanice paraventricularne jezgre sintetiziraju antidiuretički hormon i oksitocin koji se putem neurosekretornih vlakana tih stanica dopremaju do stanica neurohipofize odakle se izlučuju u opći krvotok. Neurosekretorne stanice imaju sposobnost sekrecije, prenošenja sekreta do hipofize, kao i sposobnost primanja i prenošenja živčanih podražaja (Stančić, 2014.). Hipotalamus je uključen u kontrolu različitih fizioloških procesa kao što su regulacija temperature, apetit i različite reakcije kao što su strah i bijes, uz kontrolu funkcije hipofize (Ball i Peters, 2004.). Jednako tako važno je istaknuti da aktivnost hipotalamusa kontroliraju brojne neuronske veze iz viših centara mozga koji su uključeni u kontrolu reprodukcije.

Hipofiza je centralna endokrina žlijezda podijeljena na prednji (*adenohipofiza*), srednji (*pars intermedia*) i stražnji režanj (*neurohipofiza*). Prednji režanj sintetizira FSH (folikulstimulirajući hormon), LH (luteinizirajući hormon), LTH (luteotropni hormon ili prolaktin), TSH (tireostimulirajući hormon), STH (somatotropni hormon) i ACTH (adrenokortikotropni hormon) (Stančić, 2014.), dok srednji režanj hipofize sintetizira hormon melanotropin. Stražnja hipofiza luči dva peptidna hormona, oksitocin i vazopresin, koji se sintetiziraju u paraventricularnoj i supraoptičkoj jezgri hipotalamusa, a vezikulima prolaze niz aksone specijaliziranih sekretornih neurona u stražnju hipofizu odakle se izlučuju u opću cirkulaciju (Ball i Peters, 2004.).

Ciklus započinje lučenjem hormona koji regulira otpuštanje gonadotropina (GnRH) iz hipotalamusa (Ball i Peters, 2004.). Hormon koji regulira otpuštanje gonadotropina se neurosekretornim vlaknima iz jezgre hipotalamusa prenosi do prednjeg režnja hipofize putem portalnog sustava. Pod stimulacijom GnRH, oslobađaju se luteinizirajući hormon

(LH) i folikulstimulirajući hormon (FSH), koji dopijevaju u spolne žlijezde kroz cirkulaciju krvi i djeluju u jajniku (Amstalden i Williams, 2015.). Folikulstimulirajući hormon je zajedno sa steroidnim hormonima neophodan za gametogenezu te potiče lučenje peptidnog hormona inhibina koji suprimira sekreciju FSH.

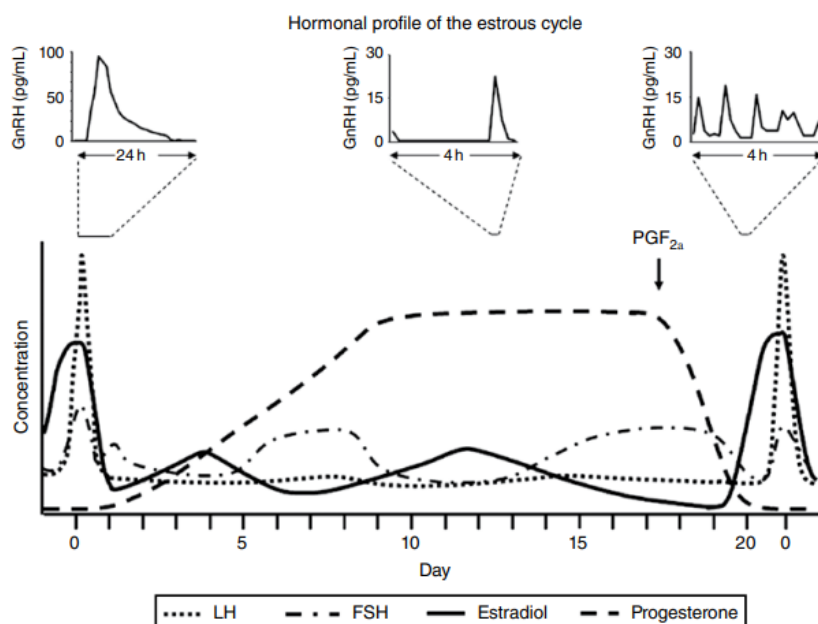
Luteinizirajući hormon uglavnom potiče endokrine stanice koje proizvode steroidne spolne hormone (estrogen i progesteron), dovodi do sazrijevanja jajne stanice u predovulatornom folikulu i uzrokuje ovulaciju. Estrogen stimulira rad uterusu, pospješuje razvoj epitela rodnice, stimulira razvoj mišićnog sloja jajovoda i kontraktilnu aktivnost mišićnih vlakana, kontrolira morfološke i fiziološke promjene na spolnim organima, stimulira razvoj i manifestaciju sekundarnih spolnih oznaka ženke kao i očitovanje specifičnih promjena ponašanja tijekom estrusa. Nasuprot tome, progesteron stimulira razvoj žljezdanog dijela endometrija i kontrolira sekretornu aktivnost žlijezda koje su prethodno senzibilizirane estrogenom, inhibira kontrakcije mišićnih vlakana miometrija, stimulira rast i razvoj mliječnih alveola vimena te je neophodan za uspostavljanje i održavanje normalnog procesa graviditeta.

Proizvodnja GnRH se u hipotalamusu odvija u dvije skupine neurona, a to su tonički i preovulatorni centar. Naime, tonički centar je odgovoran za bazalnu sekreciju niskoga intenziteta GnRH. Toničko oslobađanje gonadotropina, osobito LH, ne događa se stalnom brzinom, već na pulsirajući način kao odgovor na slično oslobađanje GnRH iz hipotalamusa (Noakes i sur., 2001.). Intervali imaju različite frekvencije i amplitude, što ovisi o živčanoj aktivnosti centra. Pulsatorni oblik sekrecije GnRH neophodan je za kontinuirani stimulatorni učinak na pulsirajuće otpuštanje LH i FSH iz prednjeg režnja hipofize. U slučaju da su koncentracije GnRH kontinuirano visoke, hipofiza nije u mogućnosti odgovoriti na GnRH. To je vjerojatno posljedica „down regulacije“ receptora za GnRH na stanicama koje proizvode gonadotropine.

Prije puberteta izlučivanje GnRH je oskudno, a regulirano je tipičnim sustavom negativne povratne sprege. Navedeno ukazuje da i spolni hormoni gonada i gonadotropni hormoni prednjeg režnja hipofize očituju inhibitorni učinak na sekreciju GnRH. Neuron u preovulatornom centru otpuštaju samo male količine GnRH pa kada sekrecija estrogena iz jednog ili više zrijućih folikula premaši određeni prag, otpuštaju se velike količine, što se naziva „val“, GnRH. Tada nastupa i odgovarajući sekretorni skok LH koji dovodi do

konačnog sazrijevanja jednog ili više folikula te naposljetku i same ovulacije. Iz navedenog razloga se centar naziva preovulatorni centar.

Ovulacija se ne može dogoditi bez preovulatornoga skoka koncentracije LH. Pozitivni povratni učinak preovulatornoga rasta koncentracije estrogena na sekreciju LH i u manjoj mjeri FSH od strane hipofize, u oštroj je suprotnosti sa uobičajenom negativnom povratnom spregom koja djeluje tijekom ostatka estrusnoga ciklusa. Sekrecija FSH i LH se mogu razlikovati jer folikuli u razvoju izlučuju povećane količine hormona inhibina, koji inhibira sekreciju FSH, ali ne i LH iz prednjeg režnja hipofize. Stoga navedena inhibicija sekrecije FSH igra važnu ulogu u povratnoj regulaciji folikularnoga razvoja.



Slika 4. Promjene koncentracije hormona tijekom estrusnog ciklusa krava (Izvor: Amstalden i Williams, 2015.)

## 4. ESTRUSNI CIKLUS

Pubertet se može definirati kao proces u kojemu životinje postaju sposobne za reprodukciju. Stoga se to razdoblje, kako navodi Estill (2015.), smatra kritičnom fiziološkom prekretnicom u reproduktivnom životu junica. Postizanjem puberteta, mlada ženka uspostavlja estrusni ciklus koji se očituje specifičnim morfološkim i funkcionalnim promjenama na svim spolnim organima. Ove promjene se događaju precizno određenim redoslijedom, a kontrolirane su djelovanjem ženskih spolnih hormona (estrogena i progesterona) (Stančić, 2014.). Naime, prvi estrus javlja se u razdoblju od 7 do 18 mjeseci starosti. Nakon što se jednom uspostavi, estrusni ciklus se kontinuirano odvija osim tijekom graviditeta, 3 – 6 tjedana nakon teljenja, tijekom velike proizvodnje mlijeka te u slučaju pojave različitih patoloških stanja (Noakes i sur., 2001.). U junica prosječna duljina estrusnog ciklusa iznosi 20 dana, a kod krava 21 dan (Nebel i sur., 1997.). Mali udio junica ne ovulira tijekom prvog tjeranja, a kod većine se prvi estrus javlja kao tihi estrus (Morrow i sur., 1969.).

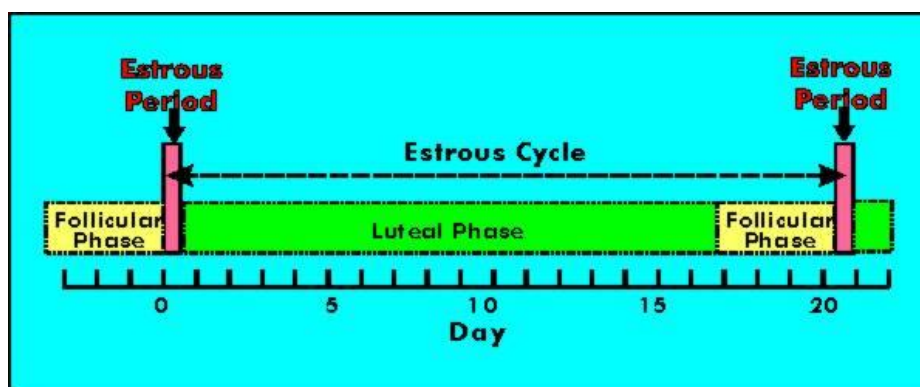
Postoji niz čimbenika koji mogu utjecati na trajanje estrusa: pasmina, doba godine, prisutnost bika, hranidba, prinos mlijeka, broj krava koje su u isto vrijeme u estrusu (Wishart, 1972.; Esslemont i Bryant, 1974.; Hurnik i sur., 1975.). Prema morfološkim i fiziološkim promjenama na spolnim organima, posebno na jajnicima, estrusni ciklus se može podijeliti na dvije osnovne faze, folikularna i lutealna faza (Stančić, 2014.). Folikularna faza traje 4 do 5 dana, a karakterizira ju rast i razvoj jajnih folikula, pojava ovulacije i visoka koncentracija estrogena u krvnoj plazmi. Lutealna faza je razdoblje od ovulacije do regresije žutog tijela u trajanju 15 do 16 dana, a progesteron iz žutog tijela dominantan je spolni hormon.

Osim toga, estrusni ciklus dijelimo i na osnovu vanjskih znakova estrusa na još četiri faze, proestrus (*proestrus*), estrus (*oestrus*), metaestrus (*metoestrus*) i diestrus (*dioestrus*) koje se ujedno i podudaraju s folikularnom i lutealnom fazom. Proestrus se očituje izrazito povećanom aktivnosti organa reproduktivnog sustava. Traje do tri dana. U tom se razdoblju javlja blago povećanje maternice, endometrij postaje edematozan uz pojačanu sekreciju, a sluznica rodnice postaje hiperemična (Noakes i sur., 2001.).

Estrus je razdoblje spolnog ciklusa u kojemu su vidljive morfološke i fiziološke promjene na životinjama, a traje 12 do 18 sati. To je vrijeme u kojemu je plotkinja spremna

za prirodni pripust ili umjetno osjemenjivanje. Vulva postaje natečena, a sluznica rodnice je tamnocrvene boje (Ball i Peters, 2004.). Javlja se obilan, proziran i sluzav iscjedak iz vulve, poznat još i kao estrusna sluz. Životinja je nemirna i često se glasa (Ball i Peters, 2004.). Ima smanjen apetit, skače na druge životinje, javlja se refleks stajanja ili refleks imobilizacije. Refleks stajanja je najsigurniji znak estrusa jer je u vrlo visokoj korelaciji s pojavom ovulacije (Stančić, 2014.). Dobro se očituje u prisutstvu mužjaka i pritiskom na lumbalno sakralno područje. Postoje velike varijacije među jedinkama u intenzitetu znakova tjeranja, no najpouzdanija metoda u otkrivanju estrusa je sami monitoring (Williamson i sur., 1972.; Esslemont i Bryant, 1974.; Foote, 1975.). Tjelesna temperatura tijekom estrusnog razdoblja varira. Lewis i Newman (1984.) ističu kako dan uoči estrusa tjelesna temperatura pada za 0.5 °C, tijekom estrusa se povećava, dok na dan ovulacije pada za oko 0.3 °C. Vaginalni pH također fluktuirira tijekom cijelog ciklusa, ali je najniži na dan estrusa kada iznosi 7.2. Ovulacija nastupa oko 12 sati nakon prestanka vidljivih vanjskih znakova estrusa.

Metaestrus je razdoblje spolnog ciklusa tijekom kojeg se na jajnicima razvija jedno ili više žutih tijela i traje 3 do 4 dana. Navedeno razdoblje se smatra intervalom između dominacije estrogena i progesterona. Diestrus je razdoblje aktivnosti žutog tijela i traje 12 do 14 dana. Naime, tada zrelo žuto tijelo luči velike količine progesterona, a faza završava nakon luteolize, odnosno regresije žutoga tijela nakon čega se lučenje progesterona brzo smanjuje. Razdoblje u kojemu ženka ne očituje cikličnost jajnika naziva se anestrus.



Slika 5. Spolni ciklus krave (Izvor: animalbiosciences.uoguelph.ca)

#### 4.1. Folikularna faza

Folikulogeneza je razvojni proces u kojem se aktivirani primordijalni folikul razvija do preovulacijske veličine kroz rast i diferencijaciju oocite i okolnih granulosa stanica (Adams i Singh, 2015.). Naime, tijekom razvoja fetusa, nediferencirane oocite u kori jajnika



počinje okruživati jedan sloj specijaliziranih epitelnih stanica. Oocita i epitelne stanice zajedno čine folikul. One oocite koje nisu inkorporirane u folikule odumiru mehanizmom apoptoze, a više od 90 % folikula degenerira i propada u nekom stupnju razvoja procesom atrezije. Tijekom svakog spolnog ciklusa rast folikula se odvija u dva do tri vala. Stoga u jajnicima razlikujemo nekoliko vrsta folikula, a to su primordijalni, primarni, sekundarni i tercijarni (antralni) folikuli.

Primordijalni folikuli su najnezrelija i najbrojnija vrsta folikula u kojima je oocita okružena jednim slojem pločastih epitelnih stanica. Pokretanje folikularnog rasta, koje se naziva aktivacija, započinje transformacijom spljoštenih pregranuloznih stanica primordijalnog folikula u jedan sloj kubičnih granuloznih (folikularnih) stanica pri čemu se folikul naziva primarnim folikulom (Adams i Singh, 2015.). Unutar svake grupe folikula, samo jedan postaje dominantan i nastavlja rast, što se naziva faza selekcije, odnosno nastaju sekundarni folikuli.

U sekundarnom folikulu epitelne stanice proliferiraju i tvore nekoliko slojeva građenih od dvije vrste stanica odvojenih bazalnom laminom. Granuloza stanice smještene su u unutrašnjosti, a teka stanice na površini. Granuloza stanice su pod utjecajem FSH, a teka stanice pod utjecajem LH, stoga obje proizvode hormone. Teku stanice sintetiziraju androgene, koji difundiraju u susjedne granuloza stanice gdje se pretvaraju u estrogen. Uz to što pretvara androgene u estrogen, granuloza stanice sintetiziraju peptidni hormon inhibin. Također, luče nestanični materijal koji formira sloj, zona pellucida, koji prekriva i štiti oocitu te ju odvaja od susjednih granuloza stanica.

Nakon što sekundarni folikul dostigne određenu veličinu, granuloza stanice počinju lučiti tekućinu, koja se nakuplja u središnjoj šupljini folikula, zvanom antrum. Taj folikul postane dominantan i naziva se tercijarni ili antralni folikul. Antralna tekućina sadrži hranjive tvari za oocitu u razvoju i parakrine čimbenike rasta koji podupiru razvoj folikula te enzime nužne za ovulaciju. Obično male skupine folikula rastu i sazrijevaju sinkronizirano i u međusobnoj interakciji putem hormonalnih signala. Sinkronizirani razvoj skupine folikula naziva se folikularnim valom. Tercijarni folikul izlučuje više estradiola, inhibina i drugih čimbenika te zbog toga uzrokuje atreziju i regresiju ostalih folikula. Dominantni folikul počinje kontinuirano rasti tijekom regresije žutog tijela. Folikul je tada oslobođen negativne povratne sprege progesterona i svoj rast nastavlja do predovulacijske veličine (20 mm) te pokreće hormonske mehanizme koji dovode do ovulacije (Tomašković i sur., 2007.).

Ukupan broj folikula u jajnicima definiran je kod rođenja, a tijekom života taj se broj smanjuje jer većina podliježe procesu atrezije, a samo mali dio dosegne predovulatornu veličinu i ovulira. Folikularni val kod krava traje 4 – 6 dana, a svakom valu prethodi povećanje koncentracije FSH u plazmi. U prvom ili u prva dva vala, svi folikuli atreziraju prije no što treći val uspije proizvesti zreli folikul koji naposljetku ovulira.

#### 4.2. Sazrijevanje oocite

Tijekom prve polovice intrauterinog razvoja fetusa, nediferencirane germinativne stanice oogonije se dijele mitozom i stvaraju veliki broj identičnih germinativnih stanica iz kojih naposljetku nastaju sve zrele oocite ili jajne stanice. U posljednjoj fazi razvoja fetusa, pojedine germinativne stanice ulaze u prvu mejotičku diobu te se nazivaju primarne oocite. Kada započne mejoza, kromosomi su udvostručeni, a svaki kromosom sadrži dvije sestrinske kromatide. Međutim, u ovom stadiju ne dolazi do citokineze već se mejoza zaustavlja, a primarna oocita ostaje u mirovanju dok se mejoza ne nastavi u vremenu ovulacije.

Tijekom ovulacije prvu mejotičku diobu završava svaka primarna oocita stvarajući dvije stanice, jednu veliku sekundarnu oocitu i prvo polarno tjelešće. Obje stanice su haploidne. Svaka sadrži udvostručene kromosome svih homolognih kromosomskih parova. Sekundarna oocita nastavlja razvoj, dok se polarno tjelešće razgrađuje. Prilikom oplodnje sekundarna oocita ulazi u drugu mejotičku diobu pri kojoj također nastaje zrela jajna stanica i jedno malo polarno tjelešće koje se razgradi. Tijekom druge mejotičke diobe dolazi do odvajanja sestrinskih kromatida svakog kromosoma, nakon čega svaka stanica kćer prima jedan od dva jednostruka novonastala kromosoma. Kao rezultat nastaju dvije haploidne stanice kćeri koje sadrže  $n$  jednostruke kromosome. Stoga oplodena jajna stanica sadrži ukupno  $2n$  kromosoma (diploidna stanica) od kojih je  $n$  naslijeđen od sekundarne oocite i  $n$  od spermija.

Jajnik novorođene ženke sisavca sadrži puno veći broj jajnih stanica u odnosu na one koje će sazrijeti tijekom životnoga vijeka. Životni vijek ovulirane oocite je u prosjeku 24 sata. Parenje se odvija kada je jajna stanica zrela tijekom kratkog intervala u kojem postoje optimalni uvjeti za oplodnju oocite. Zona pelucida odvaja oocitu od okolnoga tkiva, uključujući krvne žile. Oocita prima hranjive tvari kroz tijesne spojeve uklopljene u zonu pelucidu, a koji povezuju oocitu i najbliži sloj granuloza stanica. Tijesni spojevi između granuloza stanica i oocite gube se tijekom kasne faze razvoja folikula. Naposljetku je oocita

zaštićena od inhibicijskog utjecaja granulosa stanica, a mejoza koja je bila zaustavljena tijekom razvoja fetusa se nastavlja.

#### 4.3. Ovulacija

Ovulacija se javlja spontano i predstavlja razgradnju stijenke ovulatornog folikula iz kojeg izlazi folikularna tekućina i jajna stanica u infundibulum jajovoda. Obično jedan folikul ovulira, a jajna stanica se oslobodi nakon svakog estrusa (Noakes i sur., 2001.). Oko 24 sata prije ovulacije počinje se lučiti ovulatorni val LH (luteinizirajućega hormona) iz adenohipofize, dok se izlučivanje hipofiziranog FSH inhibira (Stančić, 2014.). Porast LH izaziva lučenje estradiola, a taj nagli porast stimulira centar za oslobađanje LH (Karsch i sur., 1978.). Zatim dolazi do izbočenja folikula na površini jajnika. Luteinizirajući hormon stimulira sintezu proteolitičkih enzima u stanicama teka interne stijenke folikula. Ti enzimi provode autolizu stijenke folikula što dovodi do njegovog prsnuća (Stančić, 2014.). Na taj način nastaje otvor kroz koji se iz šupljine folikula otpušta folikularna tekućina u kojoj je smještena oocita, u peritonealnu šupljinu. Navedeni proces nazivamo ovulacija. Jajna stanica se prikuplja pomoću fimbrija i transportira niz jajovod kombinacijom cilijarnog djelovanja i mišićnih kontrakcija stijenke jajovoda (Ball i Peters, 2004.). Cilijarni epitel jajovoda transportira oocite prema ampuli u kojoj se naposljetku odvija oplodnja.

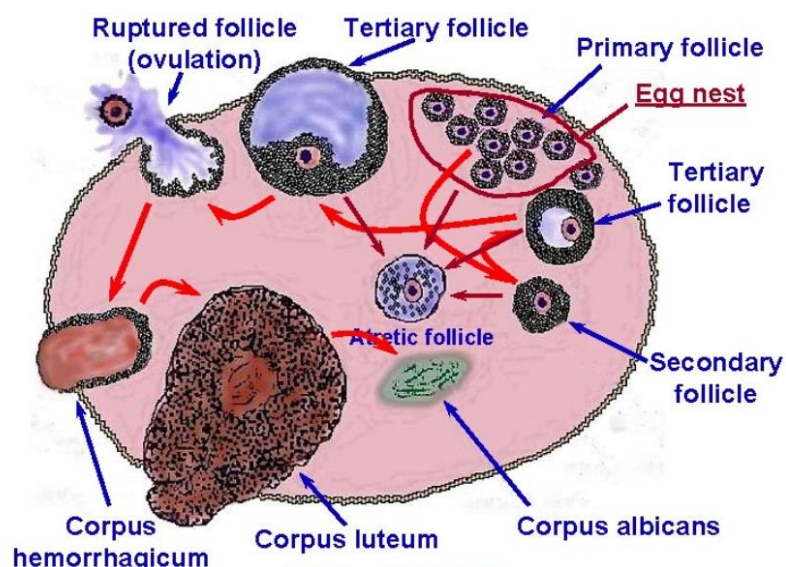
#### 4.4. Lutealna faza

Nakon ovulacije započinje lutealna ili progesteronska faza (Stančić, 2014.). Iz Graafovog se folikula vrlo brzo formira žuto tijelo (Noakes i sur., 2001.). To je privremena endokrina žlijezda čija je aktivnost pod utjecajem luteotropnih hormona. U potpunosti formirano žuto tijelo sastoji se od niza različitih tipova stanica: velikih i malih luteinskih stanica koje luče steroide, fibroblasta, glatkih mišića, pericita i endotelnih stanica te ujedno ima i najveću opskrbu krvlju po jedinici tkiva od svih organa (Reynolds i Redmer, 1999.).

Proces nastanka žutog tijela naziva se luteinizacija i pod kontrolom je LH vala. Luteinske stanice sintetiziraju i u krv izlučuju progesteron. Naime, progesteron povratnom spregom djeluje na hipotalamus na način da inhibira izlučivanje GnRH, što za posljedicu ima inhibiciju izlučivanja FSH i LH iz hipofize. Zbog navedenog načina djelovanja progesterona, tijekom lutealne faze dolazi do izostanka folikularnog rasta i ovulacije, pada koncentracije estrogena te izostanka vanjskih znakova estrusa. Tijekom prvog razdoblja lutealne faze,

koncentracija progesterona u plazmi poveća se i do 30 puta što uzrokuje promjene u maternici nužne za prihvaćanje i prehranu embrija.

U slučaju da tijekom estrusnog razdoblja nije došlo do oplodnje i uspostavljanja gravidnosti, na kraju lutealne faze stanice žutoga tijela spontano prolaze apoptozu, a ostatke fagocitiraju makrofagi. Taj se proces naziva luteoliza i traje do tri dana, a na mjestu žutoga tijela, ostaje mali ožiljak. To je posljedica luteolitičkog djelovanja prostaglandina  $F_{2\alpha}$  ( $PGF_{2\alpha}$ ), koji sintetiziraju specijalne žlijezde u endometriju negravidnog uterusa, a preko uteroovarijalne arterije dolazi do jajnika, odnosno žutog tijela (Stančić, 2014.). Regresijom žutog tijela, koncentracija progesterona u plazmi se vraća na bazalni nivo te dolazi do prestanka inhibicije izlučivanja gonadotropina iz adenohipofize. Na taj način stvoreni su uvjeti za ponovni rast kao i funkcionalnu aktivnost folikula te se samim time uspostavlja novi estrusni ciklus.



Slika 6. Shematski prikaz promjena na jajniku tijekom cjelokupnog razdoblja estrusnog ciklusa

(Izvor: slidetodoc.com)

## 5. REGULACIJA ESTRUSNOG CIKLUSA KRAVA

Danas je u intenzivnoj proizvodnji potreban sustav upravljanja stadom koji osigurava ekonomsku održivost (De Kruif i Brand, 1978.). Otkrivanje tjeranja smatra se ključnim čimbenikom u upravljanju reprodukcijom jer utječe na plodnost i brojnost, odnosno veličinu stada, stoga je to jedan od glavnih preduvjeta svakog uspješnog uzgojnog programa. Dostupnost različitih tehnika na tržištu olakšava i poboljšava promatranje oscilacija estrusnog ciklusa unutar stada, a samim time i reproduktivnu izvedbu. Između ostalog, sve je više zastupljena regulacija ili sinkronizacija estrusnog ciklusa. Regulacija estrusnog ciklusa krava sastoji se od izmjene duljine ciklusa ili induciranja samoga estrusa. Ona omogućuje odabir dana i vremena umjetne oplodnje kao i period teljenja.

Prednosti uspješne sinkronizacije estrusa su brojne, a neke od njih su olakšano otkrivanje tjeranja, istodobno osjemenjivanje plotkinja na farmi, bolji raspored isporuke teladi s farme, ujednačenija telad kao i lakše upravljanje proizvodnjom mlijeka. Osim toga, Stančić (2014.) naglašava kako se indukcijom sinkronizacije estrusnog ciklusa kod većeg broja grla poboljšava organizacija rada i smanjuju troškovi istoga. Spolni ciklus je moguće regulirati pomoću farmakoloških pripravaka i hormonskih tretmana u svrhu pokretanja ili usklađivanja estrusa kao i same ovulacije. Na osnovu fizioloških i hormonskih zbivanja tijekom estrusnog ciklusa, jasno proizlazi da je njegovo trajanje određeno trajanjem lutealne faze, odnosno trajanjem funkcionalne aktivnosti žutog tijela (Stančić, 2014.).

Gordon (1996.) navodi dva osnovna principa regulacije i sinkronizacije spolnog ciklusa u krava i junica, a to su produženje lutealne faze primjenom progestagena koji djeluju kao umjetno žuto tijelo i skraćenje ciklusa regresijom žutog tijela, aplikacijom prostaglandina. Navedene se metode provode primjenom prostaglandina, progestagena te kombiniranom upotrebom hormona. Imajući u vidu da estrus nastaje kao posljedica rasta dominantnog folikula, važno je istaknuti da djelotvornost protokola za sinkronizaciju, koji se temelji na primjeni progestagena ili prostaglandina, ovisi o stadiju rasta folikula u trenutku početka tretmana. Iz navedenih razloga Thatcher i sur. (2001.) ističu kako bi svaka plotkinja prije primjene protokola za sinkronizaciju trebala biti ultrazvučno pregledana kako bi se povećala preciznost sinkronizacije estrusa, poboljšala kvaliteta oslobođenih jajnih stanica te samim time pospješila koncepcija.

## **6. METODE MANIPULACIJE ESTRUSNIM CIKLUSOM RADI OPTIMIZACIJE REPRODUKCIJE KRAVA**

Manipulacija estrusnim ciklusom podrazumijeva metode kojima se na prirodan ili umjetan način potiče nastanak ovulacije. Ovulacija se na prirodan način može inducirati uz pomoć bika ili kastriranog, androgeniziranog mužjaka što za posljedicu ima porast koncentracije luteinizirajućeg hormona te pojavu estrusnog ponašanja. Osim toga, utvrđeno je kako skupno držanje rasplodnih junica dovodi do ranijeg ulaska junica u pubertetsko razdoblje kao i ranijeg očitovanja estrusa. No, kako bi se ostvarila sinkronizacija estrusnog ciklusa, danas se u većini slučajeva prirodne metode primjenjuju u kombinaciji s hormonskim liječenjem ili se isključivo provodi hormonalna regulacija. Neke od metoda hormonalne regulacije temeljile su se na pokušajima bliskog oponašanja normalnih endokrinih promjena koje se događaju, a moguće ih je podijeliti u različite skupine kao što su: pripravci koji potiču oslobađanje hormona prednjeg režnja hipofize; pripravci koji zamjenjuju ili nadopunjuju gonadotropine prednjeg režnja hipofize; estrogeni; progestageni; prostaglandini i melatonin (Noakes i sur., 2001.).

### **6.1. Pripravci koji potiču oslobađanje hormona prednjeg režnja hipofize**

Utvrđeno je da steroidni hormoni jajnika, osobito estrogeni, imaju pozitivan povratni učinak na prednji režanj hipofize i hipotalamus (Noakes i sur., 2001.). Stoga se smatra da estrogeni uzrokuju pojavu estrusnog ponašanja, promjene u spolnim organima te da mogu potaknuti oslobađanje gonadotropina hipofize. Naime, sintetski GnRH se može koristiti za poticanje oslobađanja endogenih gonadotropina, a kako navode Lamming i sur. (1979.) moguće ga je primjenjivati i za poticanje početka estrusa kod krava nakon teljenja.

### **6.2. Pripravci koji zamjenjuju ili nadopunjuju gonadotropine hipofize**

Noakes i sur. (2001.) navode kako je moguće ekstrahirati pročišćeni FSH i LH iz hipofize dobivenih u klaonicama, no negativna strana su visoka cijena koštanja i dugo vremensko razdoblje potrebno za dobivanje dovoljnih količina za rutinsku uporabu. Stoga se navedeno primjenjuje samo za superovulaciju i prijenos embrija. Usprkos tome, dostupne su dvije zamjene:

1. eCG se dobiva iz seruma gravidnih kobila, ima učinak sličan FSH-u, ali s određenom aktivnošću sličnom LH-u te je njime moguće stimulirati rast folikula i ovulaciju kod krava u anestrusnoj fazi spolnoga ciklusa
2. hCG ili ljudski korionski gonadotropin, dobiven iz urina trudnica, koji ima uglavnom učinak sličan LH, ali s određenom aktivnošću sličnom FSH, uz to se može primjenjivati za izazivanje ovulacije.

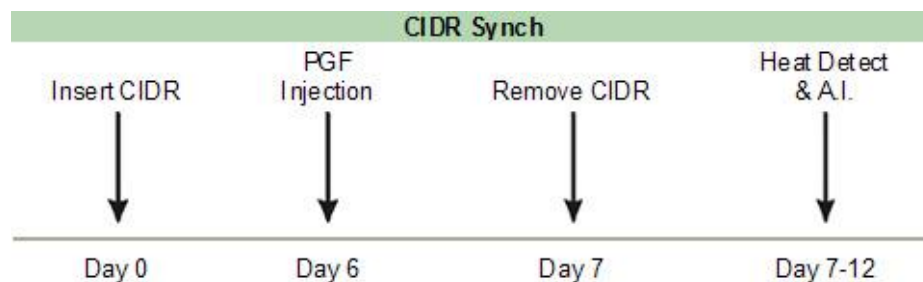
Važno je istaknuti da su oba gonadotropina uspješno korištena za manipulaciju cikličkom aktivnošću.

### 6.3. Progestageni

Progesteron i progestacijski spojevi naširoko su korišteni kod većine domaćih vrsta kao metoda kontrole estrusnog ciklusa, osobito sinkronizacije unutar skupina ženki (Noakes i sur., 2001.). Ti pripravci mogu se primijeniti na više načina: injekciono, subkutanim implantatima, preparatima koji oslobađaju progesteron u rodnici, intravaginalnim spužvicama natopljenim progestagenom ili stavljanjem preparata u hranu (Stančić, 2014.). Neovisno o metodi aplikacije, navedeni spojevi djeluju kao umjetno žuto tijelo, odnosno sprječavaju nastanak valova luteinizirajućeg hormona i ovulacije te samim time produžuju trajanje lutealne faze. Kada se izvor progestacijskih spojeva povuče ili njihovo djelovanje opadne, hipofiza se oslobađa inhibicijskog učinka progesterona i životinja se vraća u estrus za 24 do 36 sati.

Progesteron je prvi put upotrijebljen svakodnevnom injekcijom za sinkronizaciju estrusnih ciklusa u skupinama krava 1948. godine (Christian i Casida, 1948.) te je od tada započela primjena velikog broja sintetičkih tvari. Utvrđeno je da nakon tretiranja životinja navedenim pripravcima, u vremenskom razdoblju od 18 do 21 dan, nastupa prilično dobra sinkronizacija estrusa 4 do 6 dana po prestanku liječenja. Osim toga, Wishart i Young (1974.) su ostvarili dobru sinkronizaciju i plodnost uporabom sintetičkog progestagenskog hormona koji je apliciran kao potkožni implantat istovremeno s injekcijom estradiol valerata. Nakon 9 dana implantat je uklonjen te su uslijedile dvije ovulacije, prva nakon 48, a druga nakon 60 sati. Posljedično su stope koncepcije bile 65 %. Važno je naglasiti da se implantat ne smije primjenjivati kod mliječnih krava u laktaciji ukoliko se njihovo mlijeko koristi za ljudsku prehranu.

Druga metoda davanja progestagena je u obliku intravaginalne naprave za otpuštanje progesterona (PRID) ili napravom za kontrolirano unutarnje otpuštanje pripravka (CIDR). PRID je zavojnica od nehrđajućeg čelika prekrivena inertnim elastomerom koji sadrži 1,55 g progesterona (Noakes i sur., 2001.). Naime, naprava se aplicira u rodnicu pomoću posebnog spekuluma, a progesteron se apsorbira te u perifernoj krvi dostiže razinu kao u vrijeme diestrusa. Istovremeno se primjenjuje estradiol valerat kao antiluteotropno i luteolitičko sredstvo, no kako navode Smith i Vincent (1973.), dokazano je da su estrogeni slabo luteolitički osobito ako se primjenjuju u lutealnoj fazi. Nakon 12 dana zavojnica se ukloni, a krava ulazi u razdoblje estrusa kroz naredna 2 do 3 dana. Dobre stope koncepcije postižu se nakon dva osjemenjivanja 57 i 74 sata nakon uklanjanja uređaja. CIDR umetak je naprava čiji je izgled u obliku slova T, a funkcionira na približno isti način kao i PRID. Primjenom ove naprave, u kombinaciji s eCG i GnRH, moguće je izazvati preko 95 % sinkronizirane pojave estrusa i oko 60 % koncepcije nakon osjemenjivanja krava (Stančić, 2014.). Po završetku tretmana progesteronskim preparatima, kod većine krava se očituje estrus unutar sljedećih 24 do 48 sati (Stančić, 2014.).



Slika 7. Sinkronizacija estrusa primjenom CIDR (Izvor: dairy-cattle.extension.org)

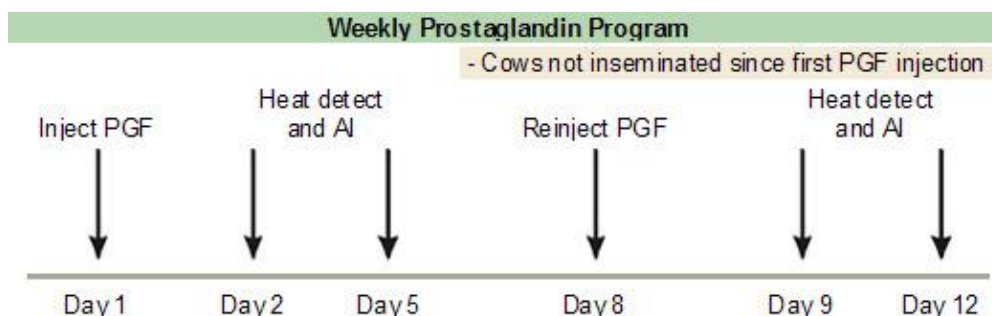
#### 6.4. Prostaglandini

Početak sedamdesetih godina prošloga stoljeća, veliki je broj istraživanja pokazalo da nativni  $PGF_{2\alpha}$  ili nekoliko njegovih visokopotentnih sintetičkih analoga, očituje snažno luteolitičko djelovanje (Stančić, 2014.). Budući da je duljina estrusnog ciklusa kontrolirana trajanjem životnog vijeka žutog tijela, uslijedila je primjena preparata luteolitika za skraćivanje lutealne faze u svrhu manipulacije estrusnim ciklusom krava. Ova se metoda primjenjuje na kravama i junicama kod kojih se često javljaju poteškoće u otkrivanju estrusa



pa to omogućuje rutinsko provođenje umjetnog osjemenjivanja u već unaprijed određeno vrijeme.

Sinkronizacija estrusa se provodi na način da se skupini krava ili junca u različitim fazama ciklusa, apliciraju dvije injekcije  $\text{PGF}_{2\alpha}$  ili jednog od njegovih sintetskih analoga u razmaku od 11 do 13 dana. Shodno tomu bi sve tretirane životinje, 3 do 5 dana poslije druge injekcije, trebale biti u fazi estrusa i ovulirati u približno isto vrijeme. Utvrđeno je da je kod 80 do 90 % jedinki moguće uočiti znakove estrusa i ovulaciju između 48 i 96 sati nakon primljene druge injekcije, kod 60 % se estrus očituje 48 do 72 sata, a kod preostalih 20 do 30 % između 72 i 96 sati nakon prestanka tretmana (Stančić, 2014.). Jednako tako, moguća je kombinacija prostaglandina s malom dozom estradiol benzoata koja se aplicira 24 sata nakon primjene prostaglandina. Navedeno uzrokuje znatno skraćivanje razdoblja od pojave estrusa do ovulacije. Vremensko razdoblje od primjene  $\text{PGF}_{2\alpha}$  do pojave estrusa i ovulacije ovisi o stupnju razvoja folikula u trenutku kada se ono primjeni. Stoga kod krava i junica koje imaju osjetljivo žuto tijelo u vrijeme primjene prve injekcije, estrus može biti induciran nakon 2 do 3 dana. U slučaju da se navedeno pravovremeno očituje, moguće je te jedinke osjemeniti u trenutnoj fazi ciklusa i na taj način uštedjeti dodatnu injekciju  $\text{PGF}_{2\alpha}$ .



Slika 8. Sinkronizacija estrusa primjenom prostaglandina (Izvor: dairy-cattle.extension.org)

Fortune i sur. (1991.) navode da dominantni folikul u prvom valu gubi sposobnost ovulacije nakon što dosegne fazu razvoja regresije ako se izazove luteoliza. U tom slučaju, to će biti dominantni folikul sljedećeg vala koji će rasti i ovulirati što će rezultirati dužim intervalom nego u slučaju prerane luteolize kada je dominantni folikul u središnjoj fazi razvoja. Stoga Garcia i sur. (1999.) zaključuju da bi sinkronizacija estrusa i ovulacije bila poboljšana kada bi se druga injekcija  $\text{PGF}_{2\alpha}$  uvijek mogla dati pred kraj faze dominantnog

folikula. Naime, u svrhu smanjenja troškova i poboljšanja stope koncepcije, sve je više zastupljen takozvani kompromisni režim. Svim se životinjama istoga dana ubrizgava  $\text{PGF}_2\alpha$  i tijekom sljedećih 5 dana promatra se eventualna pojava estrusa. Od 1. do 5. dana se osjemenjuju sve jedinke kod kojih se očituje estrus (Hoard's Dairyman, 2006.), dok ostale primaju drugu injekciju prostaglandina nakon čega slijedi umjetno osjemenjivanje nakon otkrivanja estrusa. Jedinke kod kojih se očituje estrus nekoliko dana nakon osjemenjivanja je neophodno ponovo osjemeniti. Prostaglandin se smije primjenjivati samo na estrusnim i ne gravidnim jedinkama (Noakes i sur., 2001.). Hoard's Dairyman (2006.) ističe da ako se žuto tijelo ukloni tijekom prve dvije trećine graviditeta dolazi do pobačaja.

### 6.5. Kombinacije hormona

U goveda je poznato da se ovulacija ne može uskladiti vrlo blisko pomoću jednostavnog režima sinkronizacije kao što su samo prostaglandini ili progestageni (Coulson i sur., 1979.). Posljedica toga je smanjeni postotak koncepcije koji nastaje iz dva razloga: prvo, zbog varijabilnosti luteolitičkog refraktornog razdoblja žutog tijela nakon ovulacije i drugo, zbog složenosti folikularnih valova koji se javljaju kod goveda (Noakes i sur., 2001.). Stoga se primjenjuju različite kombinacije za manipuliranje folikulogenezom.

Jedna od kombinacija hormona su intravaginalni progestageni, GnRH, koji se primjenjuju istodobno s umetanjem PRID – a ili CIDR – a, nakon čega slijedi aplikacija  $\text{PGF}_2\alpha$  24 sata prije nego se ukloni intravaginalni progestagenski uređaj. GnRH potiče folikulogenezu te je u vrijeme primjene  $\text{PGF}_2\alpha$  prisutan dominantni folikul, sposoban za sazrijevanje i ovulaciju koja nastupa nakon uklanjanja CIDR – a. Navedeno uzrokuje pojavu estrusa kod 95 % jedinki nakon 5 dana od primjene hormona, a dokazano je da navedene kombinacije hormona mogu smanjiti potrebu za ponovnim osjemenjivanjem, ali mogu biti skupe te zahtijevaju dodatno rukovanje životinjama.

Druga se metoda sastoji od primjene GnRH nultoga dana, čija je uloga da osigura pojavu dominantnog folikula koji može rasti i ovulirati. Osim toga, može produljiti životni raspon žutog tijela u kasnom diestrusu tako da i dalje reagira na  $\text{PGF}_2\alpha$  7 dana kasnije (Peters i sur., 1999.). Zatim se 7. dana daje  $\text{PGF}_2\alpha$ , a 9., odnosno 10. dan se daje GnRH. Coulson i sur. (1980.) navode kako bi druga primjena GnRH trebala osigurati bolju sinkronizaciju ovulacije stimuliranjem preovulacijskog skoka LH.

U kombinacije hormona se ubrajaju i egzogeni steroidni hormoni jer imaju mogućnost promjene folikulogeneze. Estradiol se koristi za suzbijanje inhibicijskog učinka dominantnog folikula, dopuštajući time pojavu novog folikularnog vala (Noakes i sur., 2001.). Puno bolji rezultati postignuti su kombinacijom estradiola i progestagena koji su inhibiranjem izlučivanja FSH i LH potisnuli folikulogenezu. Stoga, kada je njihov utjecaj oslabio, novi folikularni val pojavio se u predvidljivo vrijeme, neovisno o stupnju estrusnog ciklusa u kojem su primijenjeni (Garcia i sur., 1999.).

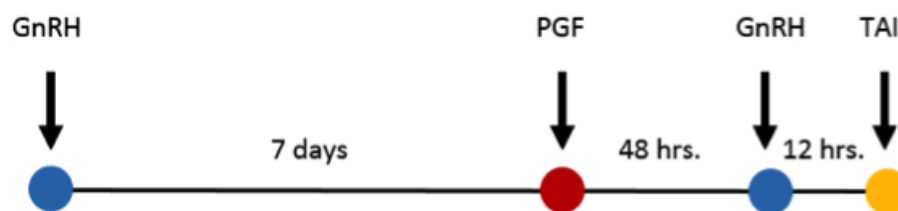
#### 6.6. Protokol OvSynch

Folikuli tijekom svog rasta do veličine oko 9 mm, postaju osjetljivi na luteinizirajući hormon, stoga je moguće ubrzati njihovo sazrijevanje ubrizgavanjem egzogenih hormona (Ginther i sur., 1996.; Yaniz i sur., 2004.). OvSynch je primjer takvog protokola koji dovodi do izjednačavanja razvoja folikula na jajnicima, uzrokuje ovulaciju i omogućuje umjetno osjemenjivanje, a razvili su ga Pursley i sur. (1995.) na Sveučilištu Wisconsin, Madison. Primjena OvSynch protokola od iznimne je važnosti za uspješan menadžment na farmi, a postotak koncepcije ovom metodom se ne razlikuje od one sa sigurno utvrđenim estrusom (Britt i Gaska, 1998.). Naime, kako navodi Štibrić (2017.), OvSynch je induksijski program za mliječne krave koji se temelji na kombinaciji injekcija sintetskih analoga ili bioloških pripravaka GnRH i sintetskih analoga ili prirodnog prostaglandina  $F_2\alpha$ .

OvSynch započinje primjenom prve injekcije GnRH koji potiče ovulaciju folikula jajnika na način da uzrokuje razvoj žutog tijela. Sukladno tome, Pursley i sur. (1995.) u svom istraživanju navode da prva injekcija GnRH inducira ovulaciju u 65 % krava, dok u 100 % inducira novi folikularni val. Sama učinkovitost indukcije ovulacije ovisi o stupnju sazrijevanja folikula u vrijeme primjene (Bello i sur., 2006.). Nakon ovulacije, nova folikulogeneza nastupa nakon 1,5 – 2 dana (Pursley i sur., 1995.). Folikuli koji su mlađi od tri dana ne ovuliraju, a novi inducirani dominantni folikul razvit će se kroz sljedećih sedam dana. Sedmog dana protokola OvSynch ubrizgava se  $PGF_2\alpha$  kako bi izazvao luteolizu, odnosno regresiju žutog tijela te omogućio nastavak razvoja dominantnog folikula sljedećeg vala. Zatim 48 do 54 sata nakon  $PGF_2\alpha$ , daje se druga injekcija GnRH (Hoard's Dairyman, 2006.). Druga injekcija GnRH sinkronizira termin ovulacije dominantnog folikula iz vala potaknutog prvom injekcijom GnRH. Fricke i sur. (1998.) navode da nakon druge injekcije, u svega 85 % krava dominantni folikul ovulira unutar 23 – 32 sata, a umjetno osjemenjivanje

je optimalno provesti nakon 16 sati. Uspješnost navedenog protokola ovisi od stada do stada. Primjerice, prvotelke imaju bolji odgovor na sinkronizaciju protokolom OvSynch, a ujedno i veći postotak koncepcije u usporedbi s kravama koje su se telile dva ili više puta (El-Tarabany i sur., 2016.). Također, metodu OvSynch je moguće primjenjivati kod tihih tjeranja, toplinskog stresa kao i kod tretmana za liječenje cisti.

Postoje modifikacije OvSynch protokola, a jedna od njih je Presynch. Presynch protokol započinje s  $\text{PGF}_2\alpha$  12 dana prije OvSynch protokola (Ayres i sur., 2013.). Hoard's Dairyman (2006.) navodi da je istraživanje pokazalo poboljšanu plodnost kod krava kada su estrusni ciklusi unaprijed sinkronizirani prije primjene OvSynch protokola. Postoje brojne metode koje se mogu koristiti, međutim najčešća metoda uključuje dvije injekcije prostaglandina aplicirane u razmaku od 14 dana, dok se druga injekcija aplicira 12 ili 14 dana prije početka primjene OvSynch protokola (Hoard's Dairyman, 2006.). Takav tretman nema negativnih posljedica kod krava koje imaju aktivne jajnike (Souza i sur., 2008.). Sukladno navedenom važno je istaknuti kako je novi trend u mliječnom govedarstvu upotreba različitih protokola s tendencijom osjemenjivanja što većeg broja krava do stotog dana nakon teljenja (Nowicki i sur., 2017.), što je u potpunosti moguće postići ovom metodom. Prednosti protokola OvSynch su nepotrebnost detekcije estrusa, mogućnost primjene bez obzira na fazu ciklusa i fiksno vrijeme osjemenjivanja te uspostava pouzdanog ritma kontrole što podrazumijeva skraćenje servis razdoblja (Wolfenson i sur., 2004.).



Slika 9. OvSynch protokol (Izvor: dairyfocus.illinois.edu)

## 7. ZAKLJUČAK

Cilj svakog proizvođača je maksimalizirati učinkovitost proizvodnje na farmi što uključuje povećanje broja grla kao i poboljšanje reproduktivne sposobnosti junica i krava. Budući da cjelokupna proizvodnja ovisi o efikasnosti reprodukcije, neophodno je upravljati reproduktivnim ciklusom svake jedinice. Slijedom toga, razvijene su metode koje omogućuju preciziranje vremena za umjetno osjemenjivanje neovisno o fazi ciklusa u kojemu se plotkinja trenutno nalazi. Osnovne metode regulacije estrusnog ciklusa su produženje lutealne faze ili skraćenje ciklusa regresijom žutoga tijela. U metodama regulacije se najčešće primjenjuju sintetski analozi hormona koji regulira otpuštanje gonadotropina (GnRH), čija je uloga poticanje rasta i razvoja folikula, u kombinaciji s prirodnim ili sintetskim analozima prostaglandina  $F_2\alpha$  koji omogućuju pokretanje novog estrusnog ciklusa. Između ostalog, jedan od najzastupljenijih hormonskih protokola je OvSynch metoda koja osim u sinkronizaciji estrusa ima značajnu ulogu u liječenju cističnih jajnika. Implementacijom hormonalnih proizvoda za regulaciju estrusa i ovulacije pružene su brojne mogućnosti za menadžment reprodukcije, kao što su povećanje plodnosti, skraćenje servis perioda i međutelidbenog razdoblja, izbjegavanje problema neprimjećivanja estrusa, olakšavanje rada sa životinjama te brojne druge. Neophodno je istaknuti da su metode regulacije u potpunosti sigurne za životinje i okoliš, a navedena primjena hormona nema negativan utjecaj na dobrobit životinja.

## 8. LITERATURA

1. Adams, G. P., Singh, J. (2015.). Ovarian Follicular and Luteal Dynamics in Cattle. U: Bovine Reproduction, First Edition. Hopper, R. M. („ur.“) Wiley – Blackwell, UK, 219-244.
2. Amstalden, M., Williams, G. L. (2015.). Neuroendocrine Control of Estrus and Ovulation. U: Bovine Reproduction, First Edition. Hopper, R. M. („ur.“) Wiley – Blackwell, UK, 203-218.
3. Ayres, H., Ferreira, R. M., Cuncha, A. P., Araujo, R. R., Wiltbank, M. C. (2013.): Double Ovsynch in high-producing dairy cows: effects on progesterone concentrations and ovulation to GnRH treatments. *Theriogenology* 79, 159–164.
4. Babić, K., Herak, M., Tušek, T. (2003.): Anatomija i fiziologija domaćih životinja. Visoko gospodarsko učilište, Križevci, Zrinski d.d. Čakovec.
5. Ball, P. J. H., Peters, A. R. (2004.): Reproduction in Cattle, third edition. Blackwell Publishing, Oxford, UK. 252.
6. Bello, N. M., Steibel, J. P., Pursley, J. P. (2006.): Optimizing ovulation to first GnRH improved outcomes to each hormonal injection of Ovsynch in lactating dairy cows. *J Dairy Sci.* 2006; 89: 3413–3424.
7. Britt, J. S., Gaska, J. (1998.): Comparison of two estrus synchronization programs in a large, confinement-housed dairy herd. *J. Am. Vet. Med. A.* 212, 210-212.
8. Christian, R. E., Casida, L. E. (1948.): *J. Anim. Sci.*, 7, 540.
9. Coulson, A., Noakes, D. E., Cockrill, T., Harmer, J. (1979.): *Vet. Rec.*, 105, 440.
10. Coulson, A., Noakes, D. E., Cockrill, T., Harmer, J. (1980.): *Vet. Rec.*, 107, 108.
11. De Kruif, A., Brand, A. (1978.): Factors influencing the reproductive capacity of a dairy herd. *N.Z. Vet.J.* 26, 178-189.
12. El – Tarabany, M. S., El-Tarabany, A. A., Roushdy, E. M. (2016.): Impact of parity on the efficiency of ovulation synchronization protocols in Holstein cows. *Theriogenology* 86, 2230–2237.
13. Esslemont, R. J., Bryant, M. J. (1974.): *ADAS Q. Rev.*, 12, 175.
14. Estill, C. T. (2015.). Initiation of Puberty in Heifers. U: Bovine Reproduction, First Edition. Hopper, R. M. („ur.“) Wiley – Blackwell, UK, 195-202.
15. Foote, R. H. (1975.): *J. Dairy Sci.*, 58, 248.

16. Fortune, J. E., Sirois, J., Turzillo, A. M., Lavoie, M. (1991.): *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 43, 187.
17. Fricke, P. M., Guenther, J. N., Wiltbank, M. C. (1998.): Efficacy of decreasing the dose of GnRH used in a protocol for synchronization of ovulation and timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology* 52, 1133-1143.
18. Garcia, A., van der Weijden, G. C., Colenbrander, B., Bevers, M. M. (1999.): *Vet. Rec.*, 145, 334.
19. Ginther, O. J., Wiltbank, M. C., Fricke, P. M., Gibbons, J. R., Kot, K. (1996.): Selection of the dominant follicle in cattle. *Biol Reprod.* 1996; 55:1187–1194.
20. Gordon, I. (1996.): *Controlled Reproduction in Cattle and Buffaloes*. CAB International, Wallingford, UK.
21. Gordon, I. (2005.): *Reproductive Technologies in Farm Animals*. CAB International, Wallingford, UK. 346.
22. Hoard's Dairyman (2006.): *Dairy Cattle Fertility and Sterility*. W. D. Hoard and Sons Company, 91.
23. Hopper, R. M. („ur.“) (2015.): *Bovine Reproduction, First Edition*. Wiley – Blackwell, UK, 816.
24. Hurnik, J. F., King, C. J., Robertson, H. A. (1975.): *Appl. Anim. Ethol.*, 2, 55.
25. Karsch, F. J., Legan, S. J., Ryan, D., Fostre, D. L. (1978.) In: *Control of Ovulation*, ed. D. B. Crighton, p. 29. London: Butterworth.
26. Kojima, F. N. (2003.): The estrous cycle in cattle: physiology, endocrinology and follicular waves. *Applied animal science* 19, 83-95.
27. Lamming, G. E., Foster, J. P., Bulman, D. C. (1979.): *Vet. Rec.*, 104, 156.
28. Lewis, G. S., Newman, S. K. (1984.): *J. Dairy Sci.*, 67, 146.
29. Morrow, D. A., Roberts, S. J., McEntee, K. (1969.): *Cornell Vet.*, 59, 134.
30. Nabors, B., Linford, R. (2015.). *Anatomy of the Reproductive System of the Cow*. U: *Bovine Reproduction, First Edition*. Hopper, R. M. („ur.“) Wiley – Blackwell, UK, 191-194.
31. Nebel, R. L., Jobst, S. M., Dransfield, M. B. G., Pandolfi, S. M., Bailey, I. L. (1997.): *J. Dairy Sci.*, 80 (suppl. 1), 151.
32. Noakes, D. E., Parkinson, T. J., England, G. C. W. (2001.): *Arthur's Veterinary reproduction and obstetrics* eighth edition. *W. B. Saunders, London*, 3-53;868.

33. Nowicki, A., Baranski, W., Baryczka, A., Janowski, T. (2017.): OvSynch Protocol and its Modifications in the Reproduction Management of Dairy Cattle Herds. *J. Vet. Res.* 61, 329-336.
34. Peters, A. R., Mawhinney, S. B., Drew, S. B., Ward, S. J., Warren, M. J., Gordon, P. J. (1999.): *Vet. Rec.*, 145, 516.
35. Pursley, J. R., Mee, M. O., Wiltbank, M. C. (1995.): Synchronization of ovulation in dairy cows using PGF<sub>2</sub> $\alpha$  and GnRH. *Theriogenology*. 1995; 44:915–923.
36. Reynolds, L. P., Redmer, D. A. (1999.): *J. Reprod. Fertil. Suppl.*, 54, 181.
37. Sartori, R., Haughian, J. M., Shaver, R. D., Rosa, G. J. M., Wiltbank, M. C. (2004.): Comparison of ovarian function and circulating steroids in estrous cycles of Holstein heifers and lactating cows. *Journal of dairy science*, 87(4), 905-920.
38. Smith, L. E., Vincent, C. K. (1973.): *J. Anim. Sci.*, 36, 216.
39. Souza, A. H., Ayres, H., Ferreira, R. M., Wiltbank, M. C. (2008.): A new presynchronization system (Double-Ovsynch) increases fertility at first postpartum timed AI in lactating dairy cows. *Theriogenology* 70, 208–215.
40. Stančić, I. B. (2014.): Reprodukcijska domaćih životinja. Univerzitet u Novom Sadu. Poljoprivredni fakultet, Novi Sad. 1-51;136-168;315-331;387.
41. Štibrić, G. (2017.): Učinkovitost različitih sinkronizacijskih protokola s obzirom na faze spolnog ciklusa u mliječnim krava. Doktorski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb, Hrvatska.
42. Thatcher, W. W., Moreira, F., Santos, J., Mattos, R. C., Lopes, F. L., Pancarcil, S. M., Risco, C. A. (2001.): Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. *Theriogenology* 55, 75-89.
43. Tomašković, A., Makek, Z., Dobranić, T., Samardžija, M. (2007.): Rasplodivanje krava i junica, Veterinarski fakultet, Zagreb.
44. Williamson, N. B., Morris, R. S., Blood, D. C., Cannon, C. M. (1972.): *Vet. Rec.*, 91, 50.
45. Wishart, D. F. (1972.): *Vet. Rec.*, 90, 595.
46. Wishart, D. F., Young, I. M. (1974.): *Vet. Rec.*, 95, 503.
47. Wolfenson, D., Inbar, G., Roth, Z., Kaim, M., Bloch, A., Braw – Tal, R. (2004.): Follicular dynamics and concentrations of steroids and gonadotropin in lactating cows and nulliparous heifers. *Theriogenology* 62, 1042-1055.



48. Yaniz, J. L., Murugavel, K., López-Gatius, F. (2004.): Recent developments in oestrous synchronization of postpartum dairy cows with and without ovarian disorders. *Reprod Domest Anim.* 2004; 39:86–93.

#### Internetske stranice

49. [https://animalbiosciences.uoguelph.ca/~gking/Ag\\_2350/estrus.htm](https://animalbiosciences.uoguelph.ca/~gking/Ag_2350/estrus.htm) (6.9.2021.)
50. <https://dairy-cattle.extension.org/dairy-herd-synchronization-programs/> (6.9.2021.)
51. <https://dairyfocus.illinois.edu/newsletter-issues/reaching-reproductive-targets-for-improved-profitability/> (6.9.2021.)
52. <https://slidetodoc.com/animal-sciencedairy-science-434-reproductive-physiology-lecture-1/> (6.9.2021.)
53. <https://veteriankey.com/ovarian-follicular-and-luteal-dynamics-in-cattle/> (6.9.2021.)
54. [https://www.researchgate.net/figure/The-reproductive-tract-in-the-cow\\_fig1\\_336664969](https://www.researchgate.net/figure/The-reproductive-tract-in-the-cow_fig1_336664969) (6.9.2021.)