



Zemědělská  
fakulta  
Faculty  
of Agriculture

Jihočeská univerzita  
v Českých Budějovicích  
University of South Bohemia  
in České Budějovice

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA**

**Autoreferát dizertační práce**

Ing. Jitka Kautská

České Budějovice

2022

## **Autoreferát disertační práce**

**Doktorand:** Ing. Jitka Kautská  
**Studijní program:** Zoohygienu a prevence chorob hospodářských zvířat  
**Studijní obor:** Zootechnika  
**Název práce:** Úroveň energetického metabolismu dojnic a složení mléčného tuku

**Školitel:** prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.  
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích  
Zemědělská fakulta  
Katedra zootechnických věd

**Školitel specialista:** doc. Ing. Eva Samková, Ph.D.  
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích  
Zemědělská fakulta  
Katedra potravinářských biotechnologií a kvality zemědělských produktů

**Oponenti:** prof. Ing. Eva Straková, Ph.D. VFU v Brně  
Fakulta veterinární hygieny a ekologie  
doc. Ing. Petr Sláma, Ph.D.  
MENDELU Brno, Agronomická fakulta  
doc. Ing. Jan Beran, Ph.D.  
ZF JU Č. Budějovice

Obhajoba disertační práce se koná dne 23.6.2022 v 11 hodin v zasedací místnosti budovy M katedry Zootechnických věd.

S disertační prací se lze seznámit na studijním oddělení Zemědělské fakulty JU v Českých Budějovicích.

prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.  
předseda oborové rady  
Zoohygienu a prevence chorob  
ZF JU v Českých Budějovicích

## **DEDIKACE**

Dizertační práce byla vypracována za podpory projektů:

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

## SOUHRN

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

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

## **SUMMARY**

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

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

# OBSAH

<b>1</b>	<b>ÚVOD</b> .....	<b>7</b>
<b>2</b>	<b>LITERÁRNÍ REŠERŠE</b> .....	<b>8</b>
2.1.1	Metabolické důsledky negativní energetické bilance.....	8
2.1.2	Metabolické ukazatele negativní energetické bilance a profylaxe ketogeneze .....	8
2.2	Úroveň energetického metabolismu dojnic a složení mléčného tuku.....	9
2.2.1	Složení mléčného tuku v souvislosti s negativní energetickou bilancí .....	10
2.2.2	Vliv výživy a plemenné příslušnosti dojnic na složení mléčného tuku.....	10
<b>3</b>	<b>CÍL PRÁCE</b> .....	<b>11</b>
3.1	Dílčí cíle.....	11
3.2	Hypotéza .....	11
<b>4</b>	<b>MATERIÁL A METODIKA</b> .....	<b>12</b>
4.1	Materiál .....	12
4.1.1	Charakteristika podniku .....	12
4.2	Metodika .....	13
<b>5</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE</b> .....	<b>14</b>
5.1	Úroveň energetického metabolismu a složení mléčného tuku.....	14
5.1.1	Ukazatelé užitkovosti a úrovně energetického metabolismu v první fázi laktace ...	14
5.1.2	Obsah a složení mastných kyselin v mléčném tuku v první fázi laktace .....	15
5.1.3	Zastoupení mastných kyselin v mléčném tuku v závislosti na obsahu ketolátek v mléce v prvních 100 dnech laktace .....	16
5.1.4	Vliv aktivity štítné žlázy na zastoupení mastných kyselin v mléčném tuku .....	17
5.1.5	Úroveň energetického metabolismu a obsah mastných kyselin v mléčném tuku v první fázi laktace	17
5.2	Metabolický a produkční účinek profylaxe energetického deficitu subklinických ketóz.....	18
5.2.1	Účinek intraruminální aplikace monenzinu na ukazatele mléčné užitkovosti dojnic v chovu Chyšná	18
5.2.2	Účinek intraruminální aplikace monenzinu na obsah kyseliny $\beta$ -hydroxymáselné v mléce a krvi dojnic v chovu Chyšná .....	18
5.2.3	Účinek intraruminální aplikace monenzinu na obsah stopových prvků v mléce dojnic	19
5.2.4	Účinek intraruminální aplikace monenzinu na vybrané biochemické parametry krevní plazmy	20
5.2.5	Účinek intraruminální aplikace monenzinu na aktivitu štítné žlázy .....	20
<b>6</b>	<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>22</b>
<b>7</b>	<b>POUŽITÁ LITERATURA</b> .....	<b>24</b>
<b>8</b>	<b>SEZNAM PUBLIKOVANÝCH VÝSLEDKŮ</b> .....	<b>30</b>

# 1 ÚVOD

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

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

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

## 2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

### 2.1 Energetický metabolismus vysokoužitkových dojnic v rané fázi laktace

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

#### 2.1.1 Metabolické důsledky negativní energetické bilance

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

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

#### 2.1.2 Metabolické ukazatele negativní energetické bilance a profylaxe ketogeneze

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



nápravných opatření a předcházení klinickým projevům onemocnění s výrazným poklesem mléčné užitkovosti.

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

## 2.2 Úroveň energetického metabolismu dojnic a složení mléčného tuku

Mléčný tuk je složen zejména z triacylglycerolů, které jsou syntetizovány v sekrečních buňkách mléčné žlázy z glycerolu a mastných kyselin (MK). Zdrojem MK pro syntézu mléčného tuku jsou MK krevní plazmy (volné mastné kyseliny z krmiva a depotního tuku) a MK syntetizované *de novo*. Základním prekursorem pro syntézu MK *de novo* je acetyl-CoA, vznikající u přežvýkavců z kyseliny octové nebo oxidací kyseliny  $\beta$ -hydroxymáselné (NAVRÁTILOVÁ *et al.*, 2012). Mastné kyseliny vytvořené *de novo* tvoří ze všech MK mléčného tuku asi 40 % (CHILLIARD *et al.*, 2000). Triacylglyceroly mléčného tuku jsou syntetizovány z více než 400 různých mastných kyselin. Jednotlivé MK mléčného tuku se od sebe liší délkou a charakterem uhlovodíkového řetězce. Většina MK je přítomna ve stopových množstvích, pouze asi 15 MK v koncentraci 1 % nebo vyšší. Z nasycených mastných kyselin (SFA) mají největší zastoupení kyselina palmitová (15,0-46,0 %) a kyselina stearová (3,1-26,9 %), z mononasyčených mastných kyselin (MUFA) kyselina olejová (7,0-

37,0 %) a z polynenasycených mastných kyselin (PUFA) kyselina linolová (0,5-13,3 %) (MOATE *et al.*, 2007).

### **2.2.1 Složení mléčného tuku v souvislosti s negativní energetickou bilancí**

Zastoupení MK v mléčném tuku krav je ovlivněno mnoha faktory. V souvislosti s negativní elongací řetězce MK při jejich syntéze v mléčné žláze (SECCHIARI *et al.*, 2011). NANTAPO *et al.*, (2014) uvádějí, že na začátku laktace bylo zaznamenáno vyšší zastoupení CLA (konjugovaná k. linolenová). Využitím energetických rezerv se také upravuje složení MK v mléčném tuku a také vzájemný poměr mezi jednotlivými skupinami MK (DUCHÁČEK *et al.*, 2014). V rané (časné) fázi laktace (30. den) ve srovnání se střední fází laktace (150. den) zaznamenali VRANKOVIĆ *et al.* (2017) nižší procentuální zastoupení nasycených mastných kyselin (SFA) a vyšší zastoupení mononenasycených (MUFA) a polynenasycených mastných kyselin (PUFA). Signifikantně vyšší procento SAFA zaznamenali autoři ve střední fázi laktace (150. den laktace), kdy dojnice již nebyly v energetickém deficitu. Také nižší hladiny MUFA naznačují již vyvážený příjem energie ve střední fázi laktace (STÁDNÍK *et al.*, 2015). V souvislosti s mobilizací MK ze zásobního tuku v období hlubokého energetického deficitu a jejich zvýšeného transportu do mléčné žlázy se zvyšuje i obsah mléčného tuku v procentech. (BENEDET *et al.*, 2019). NANTAPO *et al.*, (2014) uvádějí, že na začátku laktace bylo zaznamenáno vyšší zastoupení CLA (konjugovaná k. linolenová).

### **2.2.2 Vliv výživy a plemenné příslušnosti dojnic na složení mléčného tuku**

Zastoupení MK v mléčném tuku se velmi mění v závislosti na zastoupení MK v krmné dávce. Pastva obecně zvyšuje množství k. olejové a PUFA a snižuje SAFA se střední délkou řetězce (CHILLIARD *et al.*, 2007). LERCH *et al.* (2015) prokázali, že dlouhodobé krmení s přídatkem olejnatých semen nahrazuje MK z tkáňových rezerv a může tak ovlivnit složení MK mléčného tuku během rozsáhlé tukové mobilizace tak, jak je tomu v počáteční fázi laktace. Hrubé složení mléčného tuku v kravském mléce ve švédsku v roce 2003 bylo 69,4 % nasycených mastných kyselin a 30,6 % nenasycených mastných kyselin (LINDMARK-MÅNSSON, 2003). Vliv plemene na zastoupení MK v mléčném tuku je v porovnání s ostatními faktory minimální. U plemen dosahující vysoké dojivosti nebo tučnosti mléka byl zjištěn nižší podíl UFA a vyšší podíl SFA (SAMKOVÁ *et al.*, 2014, PILARCZYK *et al.*, 2015).

### **3 CÍL PRÁCE**

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

#### **3.1 Dílčí cíle**

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

#### **3.2 Hypotéza**

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

## 4 MATERIÁL A METODIKA

### 4.1 Materiál

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

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

#### 4.1.1 Charakteristika podniku

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

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

## 4.2 Metodika

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

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

- Ve vzorcích moče budou stanoveny:

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

- Ve vzorcích mléka budou stanoveny:

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

- Hodnocení produkčních a zdravotních ukazatelů:

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

## 5 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 5.1 Úroveň energetického metabolismu a složení mléčného tuku

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

Součástí kapitoly je i souhrn již částečně publikovaných výsledků týkající se volných mastných kyselin v mléce, jako ukazatel energetického deficitu.

#### 5.1.1 Ukazatelé užitkovosti a úrovně energetického metabolismu v první fázi laktace

Průměrný denní nádoj v průběhu prvních 100 dní se pohyboval v rozmezí 35,63 až 41,94 kg mléka, maximální hodnoty dosahovaly 58,4 a 58,8 kg v 1. a 2. měsíci a 61,9 kg ve 3. měsíci. Vysoký standard užitkovosti dokumentuje i zastoupení dojníc s denním nádojem nad 50 kg mléka, které v 1. měsíci laktace bylo 8,9 % ve 2. měsíci 18,6 a ve 3. měsíci 16,2 %. KRISTENSEN *et al.* (2015) uvádí průměrnou denní užitkovost u holštýnského skotu 30,4 l. Značnou metabolickou zátěž a nároky na krytí živinami potvrzují i vysoké obsahy základních složek mléka, zejména obsah mléčného tuku, který v prvním měsíci laktace dosahoval v průměru  $4,72 \pm 1,94$  % a maxima 6,74 %. Pro porovnání průměrný obsah mléčného tuku u plemene holštýn byl v České republice v roce 2020 3,95 % (BUCEK *et al.*, 2021 – ročenka skotu). Poměr mezi obsahem mléčného tuku a mléčné bílkoviny (T/B) vypočítaný z průměrných hodnot dosahoval v prvním měsíci laktace 1,43, normální hodnota pro holštýnský skot je podle HEINRICHSE *et al.*, (2005) 1,19 a hodnoty nad 1,5 jsou ukazatelem tukové mobilizace a ketózy (ROSSOW, SÄCHSISCHER 2006; ŠLOSÁRKOVÁ *et al.*, 2015) Úroveň energetického metabolismu charakterizuje i obsah ketolátů v mléce. Obsah ketolátů byl nejvyšší v souvislosti se zahájením laktace v 1. měsíci a postupně se v následujících 2 měsících snižoval. Průměrný obsah acetonu v mléce byl 1. měsíc  $0,186 \pm 0,148$  a poslední měsíc  $0,116 \pm 0,064$   $\text{mmo} \cdot \text{l}^{-1}$ . Obsah acetonu odpovídající zvýšené ketogenezi ( $>0,4$   $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ ) (PECHOVÁ, 2009) vykazovalo celkem 13 % vzorků dojníc v 1. měsíci a ve 3. měsíci laktace pouze 2,4 % vzorků mléka. Obdobná tendence byla zjevná i u obsahu kyseliny  $\beta$ -hydroxymáselné (BHB). Hodnoty odpovídající výrazné ketogenezi a mobilizaci

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

Obsah močoviny v mléce je považován za kritérium zásobování organismu dusíkatými látkami (NL) a současně odráží i bilanci energie a bílkovin, respektive NL v krmné dávce. Fyziologický obsah močoviny je obvykle uváděn v rozpětí od 20 do 30 mg/100 ml mléka (SPEK *et al.*, 2012). Obsah močoviny v mléce vykazoval po celé sledované období relativně stabilní hodnoty a odpovídal úrovni tolerované u dojnic s vyšší užitkovostí. Rozdíly v obsahu močoviny nebyly statisticky významné. Přesto, v souvislosti s předcházejícími parametry, i vyšší průměrný obsah močoviny v mléce potvrzuje nevyrovnanou bilanci mezi příjmem a potřebou energie, kterou lze v chovu s užitkovostí 11 000 kg mléka za laktaci předpokládat.

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

V našem sledování MK bez ohledu na délku řetězce vykazovaly nejvyšší obsah v 1. měsíc laktace a následně se jejich obsah v tuku snížil. K trvalému postupnému poklesu došlo však pouze u kyselin s dlouhým řetězcem (LCFA), jejichž průměrný obsah se ve 3. měsíci laktace se ze 45,2 % snížil na 39,8 %, tedy o 5,4 %. U MK s krátkým řetězcem (SCFA) a se středně dlouhým řetězcem (MCFA) byl ve 3. měsíci zaznamenán po předcházejícím poklesu opětovný vzestup, a to v případě SCFA o 1,4 % a v případě MCFA o 3,6 %. Nejvyšší podíl na obsahu MK měly v 1. měsíci laktace LCFA a ve 3. měsíci mastné kyseliny se středně dlouhým řetězcem (MCFA). Naše výsledky jsou blízké údajům autorů BILAL *et al.* (2014), kteří zaznamenali nízké zastoupení SCFA a MCFA na začátku laktace a následně se jejich obsah zvyšoval. Vyšší obsah LCFA v prvních 30 ti dnech laktace tak souvisí s mobilizací (lipomobilizací) tukových rezerv (ŠTOLCOVÁ, 2020). ). Z MK měly v prvním měsíci laktace nejvyšší zastoupení v mléčném tuku v pořadí k. olejová, palmitová a nejméně k. stearová. V období 61-100 dní laktace zvýšila svou koncentraci kyselina palmitová (nárůst o 7,9 %), naopak obsah kyseliny stearové se snížil o 25,09 % a obdobně o 29,12 % i obsah k. olejové. Zvýšený obsah C 18:0 a C18:1 v 1. měsíci jasně dokumentuje výraznou mobilizaci depotního tuku a energetických rezerv a

jejich pokles postupné vyrovnávání NEB. Nejnižší podíl na složení mléčného tuku vykazují polynenasycené MK (PUFA), jejichž průměrný obsah se pohyboval v rozmezí 7,08-7,47 % z celkového obsahu MK. Vyšší byl na počátku laktace (0,341 g/100 g tuku), nižší v posledních 61-100 dnech laktace (0,323 g/100 g tuku). Nejvyšší obsah měly nasycené MK (SAFA), u nichž byl zaznamenán i postupný vzestup z 2,868 g·100 g tuku<sup>-1</sup> (59,55 %) na 2,930 g·100 g tuku<sup>-1</sup> (64,6 %). Průměrný obsah mononenasycených MK (MUFA) byl v prvním měsíci laktace 1,607 g/100 g tuku a ve 3. měsíci (61-100 dní laktace) 1,283 g/100 g mléčného tuku. V případě MUFA jde o snížení podílu na celkovém obsahu MK o 5,09 %.

### **5.1.3 Zastoupení mastných kyselin v mléčném tuku v závislosti na obsahu ketolátek v mléce v prvních 100 dnech laktace**

Ve vzorcích mléka s obsahem BHB > 0,20 mmol/l byl oproti vzorkům s obsahem BHB do 0,20 respektive pod 0,10 mmol/l vyšší obsah MK se středním (MCFA) a zejména s dlouhým řetězcem (LCFA). V případě MCFA byl rozdíl vyjádřen v procentech 21,46 % a 27,90 %, v případě LCFA 22,50 % a 33,83 %. Obsah BHB neměl vliv na koncentraci MK s krátkým řetězcem (SCFA), jejich průměrná koncentrace se bez ohledu na obsah BHB pohybovala v rozmezí 0,44-0,45 g/100 g tuku. Uvedené rozdíly potvrzují i statisticky významné korelační koeficienty ( $p < 0,05$ ) mezi obsahem acetonu a BHB) v mléce a LCFA ( $r = 0,555$  a  $0,473$ ), obdobně MCFA ( $r = 0,254$  a  $0,290$ ).

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

Vliv BHB na vybrané MK (k. palmitová, stearová, olejová) je uveden v grafu 5.5. Nejvyšší závislost na obsahu BHB vykazuje k. olejová (C18:1), jejíž obsah ve vzorcích s BHB nad 0,20 mmol/l byl v procentech téměř o 32,6 % vyšší než u vzorků s obsahem BHB do 0,10 mmol/l. V případě k. stearové (C 18:0) byl rozdíl téměř 29 % a u k. palmitové (C 16:0) necelých 5,4 %. Vzhledem k tomu, že k. olejová i k. stearová patří mezi MK s dlouhým řetězcem, je jejich závislost na obsahu ketolátek v mléce obdobná jako u celé skupiny LCFA. Korelační koeficienty mezi obsahem acetonu v mléce a kyselinou stearovou i olejovou jsou vyšší než 0,53 a v případě BHB vyšší než 0,48 ( $p < 0,5$ ).



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

U vybrané skupiny dojnic ( $n = 24$ ) v období mezi 30. - 55. dnem laktace s průměrným denním nádojem 49,1 litrů mléka bylo metabolické hodnocení rozšířeno o vybrané parametry aktivity štítné žlázy. Průměrné hodnoty vybraných ukazatelů byly následující: tyroxin (T4)  $45,421 \pm 15,472$  mmol/l, volná frakce tyroxinu (FT4)  $14,336 \pm 1,683$  pmol/l a tyreotropin (TSH)  $2,673 \pm 2,245$  ng/ml (0,730 - 7,240 ng/ml). Relativně vysoké hodnoty TSH a nižší koncentrace T4 lze v souvislosti s fází laktace a produkcí považovat za parametry odpovídající snížené činnosti štítné žlázy (STEINHOFF, 2019; VASILEV *et al.*, 2021). Negativní korelační koeficienty mezi obsahem acetonu a BHB v mléce a obsahem T4 ( $r = -0,376, -0,387$ ) naznačují souvislost energetického deficitu a ketogeneze s činností štítné žlázy spojené s produkcí tyreohormonů. N V rámci rozmezí hodnot T4, FT4 a TSH u testované skupiny krav je možné odvodit, že vyšší produkce tyreohormonů (T4 a jeho volné frakce) podporuje zastoupení MK s krátkým a středním řetězcem (SCFA a MCFA), dále skupiny nasycených MK (SAFA), z nichž zejména kyseliny palmitové (C 16:0). Střední, respektive nižší závislost byla stanovena také mezi FT4 a monoenoovými mastnými kyselinami, například k. olejovou. Úroveň TSH spíše odráží regulační funkci ve vztahu ke štítné žláze. Záporné korelační koeficienty dokumentují, že vyšší koncentrace TSH, které souvisí se sníženou syntetickou činností štítné žlázy, jsou v našem sledování spojeny s tendencí nižšího zastoupením LCFA, MUFA a PUFA v mléčném tuku (DAWOOD *et al.*, 2021).

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

V souvislosti s vyšší metabolickou zátěží v prvních 30 dnech laktace nebyly zaznamenány vyšší koncentrace VMK ve srovnání s následujícím obdobím.

Dojnice s vyšším obsahem VMK ( $>1,5$  mmol·l<sup>-1</sup>) vykazovaly i nadprůměrný obsah ketolátek v mléce). Nejvyšší obsah acetonu v mléce byl  $0,194 \pm 0,091$  mmol/l a kyseliny  $\beta$ -hydroxymáselné (BHB) 0,079 mmol/l. Rozdíly uvedených parametrů mezi skupinou dojnic s obsahem VMK nad 1,5 mmol/100 g tuku a skupinou s obsahem pod 0,9 mmol/100 g tuku byly však nízké, u acetonu 6,7 %, u BHB 16,0 %. Pouze v případech, kdy obsah VMK odpovídal nebo převyšoval hodnotu 2,0 mmol/100 g tuku byl obsah ketolátek v mléce oproti skupině dojnic s obsahem VMK do 0,9 mmol/100 g tuku výrazněji vyšší (obsah acetonu o 45,9 % a BHB o 35,7 %). Počet dojnic, které vykazovaly souběžně vysoký obsah VMK v mléčném tuku ( $> 2,00$  mmol/100 g tuku) a ketolátek v mléce byl pouze 2,9 %. Korelační koeficienty vypočítané mezi obsahem VMK a parametry energetického deficitu a

užitkovostí byly velmi nízké a nepřevyšovaly hodnotu  $r = 0,1$ . V našem sledování obsah VMK nevykazoval jednoznačnou souvislost mezi energetickým deficitem a ketogenezí.

## **5.2 Metabolický a produkční účinek profylaxe energetického deficitu subklinických ketóz**

V rámci této části disertační práce byl sledován metabolický a antiketogenní účinek intraruminálního bolusu s obsahem 32,4 g monenzinu, který ovlivňuje bachorovou mikrobiální aktivitu ve prospěch bakterií produkující glukogenní kyselinu propionovou a zmírňující energetický deficit v období nástupu do laktace. V chovu Chyšná se uskutečnily 2 experimenty: v 1. experimentu bylo v pokusné skupině 22 krav a 6 prvotetek, v kontrolní skupině 23 krav a 8 prvotetek. V 2. experimentu bylo v pokusné skupině 25 a v kontrolní 26 dojnic. Monensin formou intraruminálního bolusu byl podáván jednorázově, 3 týdny před očekávaným porodem. Vzorky krve a mléka pro analýzu obsahu kyseliny  $\beta$ -hydroxymáselné (BHB) a další metabolická vyšetření byly v průběhu 1. a 2. pokusu odebrány ve 4týdenních cyklech od 2. do 18. měsíce laktace (celkem 5krát).

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

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

### **5.2.2 Účinek intraruminální aplikace monenzinu na obsah kyseliny $\beta$ -hydroxymáselné v mléce a krvi dojnic v chovu Chyšná**

V obou pokusech byly průměrné hodnoty kyseliny  $\beta$ -hydroxymáselné (BHB) nižší u skupiny krav ošetřených monenzinem (v 1. pokusu o 8,7 % a ve 2. o 14,5 %). Nižší byl i výskyt individuálních hodnot odpovídající nežádoucí ketogenezi. Koncentrace BHB v krvi nad 0,90 mmol/l byla ve skupině

pokusné v 1. pokusu u 7,40 % a u kontrolní skupiny u 18,5 % krav, ve 2. pokusu obdobné hodnoty dosahovaly úrovně 6,0 % a 17,4 %. Rozdíly mezi pokusnou a kontrolní skupinou nedosahovaly však ani v jednom z pokusů statistické významnosti.

Obsah BHB v mléce vyšší než 0,200 mmol/l v období prvních 10 týdnů laktace dosahoval u pokusné i kontrolní skupiny 3,0 % a obsah v rozmezí 0,10-0,20 mmol/l u skupiny pokusné 25,8 % a kontrolní 29,2 %. Rozdíly nebyly statisticky významné. V 1. pokusu je zřetelný rozdíl mezi skupinami až do 10. týdne, nejvyšší 30,6 % byl v 10. týdnu, ve 2. pokusu byl rozdíl nejvyšší již v prvním odběru (43,12 %). V následujícím období se průměrné hodnoty BHB vyrovnaly. Aplikace monenzinu prokazatelně snížila výskyt subklinických ketóz jak u prvotetek, tak u krav na druhé a další laktaci a významně snížila výskyt pozitivních mléčných keton testů. Snížení obsahu kyseliny  $\beta$ -hydroxymáselné tak potvrzuje význam použité antiketogenní profylaxe.

### 5.2.3 Účinek intraruminální aplikace monenzinu na obsah stopových prvků v mléce dojníc

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

Průměrný obsah BHB v mléce dojníc v prvním experimentu u skupiny E pohyboval od 0,078 do 0,144 mmol/l, u kontrolní skupiny pak od 0,222 do 0,328 mmol/l ( $p < 0,01$ ). Koncentrace BHB nad 0,200 mmol/l v mléce dojníc v kontrolních skupinách již odpovídá subklinické ketóze (GEISHAUSER *et al.* 2000). V mléce dojníc v experimentálních skupinách byl zjištěn vyšší obsah mědi (o 15,8 – 28,2 %) a zinku (o 1,8 – 14,4 %) ve srovnání s kontrolními skupinami. Koncentrace jódu v mléce byla vyšší u dojníc ošetřených monenzinem až v průběhu druhého experimentu. Koncentrace mědi a zinku v mléce byla vyšší u pokusné skupiny ve všech třech pokusných obdobích mezi 2. a 4. týdnem ve srovnání s 5. a 8. týdnem laktace. Nejvýznamnější rozdíl v obsahu Cu a Zn (Cu: vyšší o 19 % až 41 %, Zn: vyšší o 3 % až 19 %) byl pozorován mezi 2. a 4. týdnem laktace. Obsah jódu v mléce nevykazoval podobné trendy.

Subklinická ketóza je spojena s významnými změnami nejen ve složení, ale i produkci mléka (SUTHAR *et al.*, 2013). Ketóza byla během daných experimentů doprovázena poklesem obsahu mědi a zinku v mléce u kontrolní skupiny. Tyto nižší hodnoty u kontrolních skupin mohou souviset s metabolickým přetížením jater v souvislosti s ketogenezí. Obsah jódu v mléce dojníc v kontrolních skupinách se nelišil od experimentálních skupin. Jód se koncentruje v těle mimo játra, zejména ve

štítné žláze (PEKSA *et al.*, 2013). Na rozdíl od mědi a zinku odpovídá koncentrace jódu v mléce jeho příjmu krmnou dávkou, to potvrzuje i TRÁVNÍČEK *et al.*, 2010. Vzhledem k tomu, že měď je součástí kaseinu, lze jeho pokles u kontrolních skupin spojovat s poklesem obsahu mléčných bílkovin v souvislosti s ketózou (O'NEILL *et al.*, 1989; SUTHAR *et al.*, 2013). Nižší produkce mléčných bílkovin během prvních 100 dnů laktace byla v našich experimentech také zjištěna u dojnic se subklinickou ketózou – kontrolní skupina. Pozitivní účinek monensinu měl za následek nižší hladinu kyseliny  $\beta$ -hydroxymáselné v mléce a vyšší obsah Cu (o 15,8 % až 28,2 % vyšší) a Zn (o 1,8 % až 14,4 % vyšší). V obsahu jódu (I) v mléce nebyl pozorován žádný rozdíl mezi pokusnou a kontrolní skupinou.

#### **5.2.4 Účinek intraruminální aplikace monenzinu na vybrané biochemické parametry krevní plazmy**

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

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

#### **5.2.5 Účinek intraruminální aplikace monenzinu na aktivitu štítné žlázy**

V obou pokusech byly u pokusných skupin zaznamenány vyšší koncentrace tyroxinu (T4), a to o 26,7 % a 4,5 % a trijódtyroninu (T3) o 7,0 a 14,8 %. Rozdíly však nedosahovaly statistické významnosti. Z výsledků je patrné, že i když rozdíly v koncentraci T4 a T3 mezi pokusnou a kontrolní skupinou

nebyly statisticky významné, byla koncentrace těchto hormonů vyšší u skupiny pokusné. Studie HUZSENICZI *et al.*, (2002) poukazuje na to, že nízké koncentrace hormonů štítné žlázy mají vliv na opožděný návrat do normálního reprodukčního cyklu po porodu.

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

Volné formy hormonů byly u pokusné skupiny nevýznamně vyšší pouze v 1. pokusu. Ve druhém experimentu byly naopak o 6,3-7,3 % nižší. Při porovnání s údaji, které uvádí ASHKAR *et al.*, (2010), se koncentrace FT4 pohybovala na nižší úrovni. Nižší koncentrace volných frakcí (FT4 a FT3) lze vnímat u kontrolní, monenzinem neošetřené skupiny, jako projev funkční adaptace štítné žlázy.

## 6 ZÁVĚR

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

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

1. Nejvyšší obsah mastných kyselin (MK) v mléčném tuku byl v 1. měsíci laktace a následně se jejich obsah snižoval. K trvalému poklesu došlo u MK s dlouhým řetězcem (LCFA). MK s krátkým (SCFA) a středním řetězcem (MCFA) naopak vykazovaly postupný vzestup.
2. Nejvyšší obsah podle nasycení uhlíkatého řetězce vykazovaly nasycené MK (SAFA), přibližně 60 %, následně monoenové MK (MUFA), kolem 30 % a nejméně polyenové MK (PUFA), necelých 10 %. SAFA vykazovaly postupný vzestup, MUFA naopak pokles.
3. Z jednotlivých MK měly v prvním měsíci laktace nejvyšší zastoupení v mléčném tuku v pořadí kyselina olejová (C18:1) a kyselina palmitová (C16:0), nejméně kyselina stearová. (C18:0). Následně byl zaznamenán významný úbytek C18:1 a C18:0, mírný vzestup C16:0.
4. V souvislosti s ketogenezí a vzestupem ketolátek v mléce byl v mléčném tuku zaznamenán statisticky významný vzestup zejména MK s dlouhým řetězcem (LCFA) a následně se středním řetězcem (MCFA) a podle nasycenosti monoenových MK (MUFA). Z jednotlivých vyhodnocovaných MK nejvyšší závislost na obsahu acetonu a BHB vykazovala kyselina olejová (C18:1), následně kyselina palmitová (C16:0) a nejméně kyselina stearová (C18:0).
5. V souvislosti s ketogenezí a zvýšeným obsahem ketolátek v mléce a ukazateli energetického deficitu nebyl jednoznačně prokázán vzestup volných neesterifikovaných mastných kyselin (VMK) v mléčném tuku.
6. V rámci rozmezí hodnot T4, FT4 a TSH u testované skupiny krav lze odvodit, že zvýšená aktivita štítné žlázy podporuje v mléčném tuku zastoupení MK s krátkým a středním řetězcem (SCFA a MCFA), dále skupiny nasycených MK (SAFA), z nichž zejména kyseliny palmitové (C 16:0). Snížená aktivita štítné žlázy byla v našem sledování spojena s tendencí nižšího zastoupení LCFA, MUFA a PUFA v mléčném tuku.

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

1. Prokazatelné zvýšení užitkovosti, zejména produkce mléka za prvních 100 dní laktace a s tím i související vyšší produkce mléčného tuku a bílkovin. Vyšší dojivosti odpovídá i příznivější perzistence laktace.
2. Aplikace monenzinu prokazatelně snížila výskyt subklinických ketóz, jak u prvotetek, tak u krav na druhé a další laktaci. Snížení obsahu kyseliny  $\beta$ -hydroxymáselné v krvi a mléce potvrzuje význam použité antiketogenní profylaxe. U dojnic neošetřených monenzinem došlo k přechodnému zvýšení obsahu mléčného tuku související se zvýšenou lipomobilizací.

Propiogenní účinek monenzinu se pozitivně projevil na úrovni vybraných metabolických parametrů, zejména na vyšším obsahu glukózy, plazmatických bílkovin.

## 7 POUŽITÁ LITERATURA

1. AKERS, R. M., DENBOW, D. M. (2013): Anatomy and physiology of domestic animals. Wiley Blackwell, 2013, s. 680, ISBN 978-1-118-35638-8
2. BENEDET, A., FRANZOI, M., PENASA, M., PELLATTIERO, E., DE MARCHI, E. (2019): Prediction of blood metabolites from milkmid-infraredspectra in early-lactation cows. *JournalofDairy Science*. Volume 102. Issue 12, December 2019, Pages 11298–11307
3. BILAL, G., CUE, R. I., MUSTAFA, A. F., HAYES, J. F. (2014): Effects of parity, age at calving and stage of lactation on fatty acid composition of milk in Canadian Holsteins. *Canadian Journal of Animal Science*. 2014. 94(3): 401-410.
4. BUCEK, P. (2007): Ketóza krav dojených plemen skotu. Českomoravská společnost chovatelů, a.s. 4 s. ([www.cmsch.cz/store/2007-ketozy1.pdf](http://www.cmsch.cz/store/2007-ketozy1.pdf))
5. Butler, S. T., Pelton, S. H., Knight, P. G., Butler, W. R. 2008. Follicle-stimulating hormone isoforms and plasma concentrations of estradiol and inhibin A in dairy cows with ovulatory and non-ovulatory follicles during the first postpartum follicle wave. *Domestic Animal Endocrinology*. 35, 112 – 119.
6. CUNINGHAM, J. G., KLEIN, B. G. (2007): Veterinary physiology. Elsevier, s. 700, ISBN 978-1-416-03610-4
7. DAWOOD, M., KRAMER, L. M., SHABBIR, M. I., & REECY, J. M. (2021). Genome-Wide Association Study for Fatty Acid Composition in American Angus Cattle. *Animals*, 11(8), 2424.
8. DJOKOVIĆ, R., CICNOVIĆ, M., KURČUBIĆ, V., PETROVIĆ, M., LALOVIĆ, M., JAŠOVIĆ, B., STANIMIROVIC, Z. (2014): Endocrine and Metabolic Status of Dairy Cowsduring Transition Period. *Thai Journal of Veterinary Medicine*, 44 (1): s. 59-56
9. DUFFIELD T.F., LISSEMORE, K. D., MCBRIDE, B. W., LESLIE, K. E. (2009): Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. *J. DairySci*. 92: 571-580.
10. DUFFIELD, T. F. (2000): Subclinical ketosis in lactating cattle. *Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract*. 16: 231-253
11. DUFFIELD, T. F., RABIEE, A. R., LEAN, I.J. (2008): A meta-analysisof the impact of monensin in lactating dairy cattle. Part 2. Production effects. *J. DairySci*. 91:1347-1360.
12. DUCHÁČEK, J., STÁDNÍK, L., PTÁČEK, M., BERAN, J., OKROUHLÁ, M., ČÍTEK, J., AND STUPKA, R. (2014): Effect of cow energy status on the hypercholesterol aemic fatty acid proportion in raw milk, *Czech. J. Food. Sci.*, 32, 273–279, 2014



13. EDDY, R.G. (2004): Major metabolic disorders. In: ANDREWS, A. H., BLOWEY, R., BOYD, H., EDDY, R. G: Bovine medicine: Diseases and husbandry of cattle. Oxford, BlackwellSci. 2004, 781-803
14. GEISHAUSER, T., LESLIE, K., TENHAG, J. (2000). Evaluation of Eight Cow-side Ketone Tests in Milk for Detection of Subclinical Ketosis in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 83: 296–299.
15. GORDON, J. L., LEBLANC, S. J., DUFFIELD, T. F. (2013): Ketosis treatment in lactating dairy cattle. *Veterinary Clinics of North America – Food Animal Practice*, 29: 433-445.
16. Green B. L., McBride B.W., Sandals D., Leslie K.E., Bagg R., Dick P. (1999): The impact of a monensin controlled-release capsule on subclinical ketosis in the transition dairy cow. *J. DairySci.* 82:333-42. Gustafsson, Emanuelson
17. GUSTAFSSON, A. H., EMANUELSON, U. (1996): Milk acetone concentration as an indicator of hyperketonaemia in dairy cows: the critical value revised. *Anim. Sci.*, 63, s. 183-188.
18. HANUŠ, O., SKYVA, J., TRAJLINEK, J. (2002): Ketózy, vážný problém vysoce dojných stád. ([naschov.cz/ketozy-vazny-problem-vysoce-dojnych-stad/](http://naschov.cz/ketozy-vazny-problem-vysoce-dojnych-stad/))
19. HANUŠ, O., GENČUROVÁ, V., VYLETĚLOVÁ, M., MANGA, I. (2013): Stanovení a interpretace koncentrace ketonů v mléce. *Mlékařské listy – Zpravodaj*, 119, 22-25.
20. HEINRICHS J., JONES C., BAILEY K. (2005): Milk components: Understanding the causes and importance of milk fat and protein variation in your dairy herd. *Dairy and Animal Science*, 2005, 5 (97): 1–8.
21. HOFÍREK, B. A PECHOVÁ, A. (2004): Produkční a preventivní medicína v chovech mléčného skotu. VFU Brno. 184 s.
22. HUSZENICZA GY, KULCSAR M, RUDAS P. (2002): Clinical endocrinology of thyroid gland function in ruminants. *Vet Med Czech* 47: 199–210
23. CHAPINAL, N., LEBLANC, S. J., CARSON, M. E., OVERTON, M. W., DUFFIELD, T. F. (2012): Metabolic parameters in transition cows as indicator for early-lactation culling risk. *J. DairySci.* 95: 3057-3063
24. CHILLIARD, Y., FERLAY, A., MANSBRIDGE, R.M., DOREAU, M. (2000): Ruminant milk fat plasticity: nutritional control of saturated, polyunsaturated, trans and conjugated fatty acids. *Ann. Zootech.* 49:181-205.

25. CHILLIARD, Y., CHABOSSEAU, J.M., ROUEL, J., CAPITAN, P., GOMINARD, C., GABORIT, P., JUANEDA, P., FERLAY, A. (2002): Interactions between forage and sunflower or linseed oil supplementation on goat milk fatty acids of interest for human nutrition. In: J.L. Durand, J.C. Emile, C. Huyghe, G. Lemaire (eds.), *GrasslandSci. in Europe. Proc. 19th Gen. Meet. Europ. Grassland Fed.*, Reading, UK, 7:548-549
26. ILLEK, J. (2013): Poruchy metabolismu skotu. *Veterinářství*. 63: 354.
27. KARAGUL, H., ALTINTAS, A., FIDANCI, U. R., SEL, T. (1998): *Basic Biochemistry Applications*. Medisan Yayin Serisi, Ankara, Turkey, 1999, 38.
28. LERCH, S., PIERES, J.A.A., DEALAVAUD, C., SHINGFIELD, K. J., POMIES, D., MARTIN., FERLAY, A. (2015): Rapeseed or linseed in dairy cow diet over 2 consecutive lactations: Effects on adipose fatty acid profile and carry-over effects on milk fat composition in subsequent early lactation. *Journal of dairy science*, 98(2), 1005-1018
29. LINDMARK-MÅNSSON, HELENA & FONDÉN, RANGNE & PETTERSSON, HANS-ERIK. (2003): Composition of Swedish dairy milk. *International Dairy Journal*. 13. 409-425. 10.1016/S0958-6946(03)00032-3.
30. LITHERLAND, N., DANN, H., DRACKLEY, J. (2011): Prepartum nutrient intake alters palmitate metabolism by liver slices from periparturient dairy cows. *J DairySci*. 94: 1928-1940.
31. LITHERLAND, N. B., DANN, H. M., DRACKLEY, J. K. (2011): Prepartum nutrient intake alters palmitate metabolism by liver slices from periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science*. 94, 1928–1940.
32. MERT, N. (1996): *Veterinary Clinic Biochemistry*. Ceylan Press, Bursa, Turkey, 1996, 280–288.
33. MIETTINEN, P.V.A. (1994): Relationship between Milk Acetone and Milk Yield in Individual Cows. *Journal of Veterinary Medicine Series A*. 41: 102-109.
34. MOATE PJ, CHALUPA W, BOSTON RC & LEAN IJ (2007): Milk fatty acids. I. Variation in the concentration of individual fatty acids in bovine milk. *Journal of Dairy Science* 90 4730–4739
35. NANTAPO, C. T. W., MUCHENJE, V., & HUGO, A. (2014): Atherogenicity index and health-related fatty acids in different stages of lactation from Friesian, Jersey and Friesian × Jersey cross cow milk under a pasture-based dairy system. *Food Chemistry*, 146, 127-133.

36. NAVRÁTILOVÁ, P., KRÁLOVÁ, M., JANŠTOVÁ, B., PŘIDALOVÁ, H., CUPÁKOVÁ, Š., & VORLOVÁ, L. (2012): Hygiena produkce mléka. Brno. ČR: Veterinární a farmaceutická univerzita.
37. O'NEILL, N.C., TANNER, M.S. (1989): Uptake of copper from brassvessels by bovine milk and its relevance to Indian childhood cirrhosis. *Journal of Pediatric Gastroenterology Nutrition*, 9(2): 167–172.
38. PADILLA, L., MATSUI, T., KEN-ICHI, S., KATAMOTO, H., YANO, H.(2007): Relationship between Plasma Vitamin C and Serum Diagnostic Biochemical Markers in Lactating Cows. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 2007, 69 (9), 909–913.
39. PECHOVÁ, A. (2009): Kontrola produkce a složení mléka. In: Hofírek, B., Dvořák, R., Němeček, L., Doležal, R., Pospíšil Z. et al. (2009): Nemoci skotu. Brno: Noviko, 2009, s. 1035-1039. ISBN: 978-80-86542-19-5.
40. PECHOVÁ, A. et al. (2003): Diagnostika a výskyt hepatopatií u dojnic. Zdravotní problematika přežvýkavců: produkční a metabolické choroby skotu. Brno, 2003, 80
41. PEKSA, Z., TRÁVNÍČEK, J., KONEČNÝ, R., JELÍNEK, F., DUŠOVÁ, H., HASOŇOVÁ, L., PÁLKA, V. (2013): Histometric and biochemical parameters of thyroid gland in sheep with high iodine supplementation. *Acta Veterinaria Brno*, 82(4): 405–409.
42. PILARCZYK, R., WOJCIK, J., SABLÍK, P., & CZERNIAK, P. (2015): Fatty acid profile and health lipid indices in the raw milk of Simmental and Holstein-Friesian cows from anorganic farm. *South African Journal of Animal Science*, 45(1), 30-38.
43. PLAIZIER, J.C., FAIRFIELD, A. M., AZEVEDO, P.A., NIKKHAH, A., DUFFIELD, T.F., CROW1, G.H., BAGG, R., DICK, P, MCBRIDE, B.W. (2005): Effectsof Monensin and Stage of Lactation on Variation of Blood Metabolites Within Twenty-Four Hours in Dairy Cows. *J. DairySci.* 88: 3595-3602.
44. POLAT, U., GENCOGLU, H., TURKMEN, I. (2009): The effects of partial replacement of cornsilage on biochemical blood parameters in lactating primiparous dairy cows. *Veterinární Medicína*, 2009, 54, 9, 407 - 411.
45. RASOOLI, A., NOURI, M., KHAJEH, G. H., RASEKH, A. (2004): The influence of seasonal variations on thyroid activity and some biochemical parameters of cattle. *Iranian Journal Veterinary Research*, University of Shiraz. 5. s. 1383-1391.

46. SAMKOVÁ, E., ČERTÍKOVÁ, J., ŠPIČKA, J., HANUS, O., PELIKÁNOVÁ, T., & KVÁČ, M. (2014): Eighteen-carbonfattyacids in milk fat of Czech Fleckvieh and Holstein cows following feeding withfresh lucerne (*Medicago sativa* L.). *Animal Science Papers and Reports*, 32(3), 209-218.
47. SANTSCI, D., LACROIX, R., DUROCHER, J., DUPLESSIS, M., MOORE, R., LEFEBVRE, D. (2016): Prevalence of elevated milk  $\beta$ -hydroxybutyrate concentrations in Holstein cows measured by Fourier-traform infared analysis in dairy herd improvement milk samples and association with milk yield and components. *Journal of Dairy Science*, 99. 2016: 9263-9270.
48. SECCHIARI, P., MELE, M., SERRA, A., BUCCIONI, A., PAOLETTI, F., ANTONGIOVANNI, M. (2011): Effectofbreed, parity and stageoflactation on milkconjugatedlinoleic acid content in ItalianFriedianandReggianacows. *ItalianJournalof Animal Science*, 2(1S), 269-271.
49. SPEK, J.W., DIJKSTRA, J., G.C VAN DEN BORNE, BANNINK, A. (2012): Assessing urea transport frommilk to blood in dairycows. *Journal of Dairy Science* (2012) 95, 6536-6541
50. STÁDNÍK, L., DUCHÁČEK, J., BERAN, J., TOUŠOVÁ, R., AND PTÁČEK, M. (2015): Relationshipsbetweenmilkfattyacidscomposition in early lactation and subsequentreproductive performance in Czech Fleckviehcows, *Anim. Reprod. Sci.*, 155, 75–79, 2015.
51. STEINHOFF, L. (2019): Thyroid hormone profiles and TSH evaluation during early pregnancy and the transition period in dairy cows. *Theriogenology*, 2019, 129: 23-28.
52. SUTHAR, V.S., CANELAS-RAPOSO, J., DENITZ, A., HEUWIESER, W. (2013): Prevalence ofsubclinicalketosis and relationshipswithpostpartumdiseases in Europeandairy cows. *JournalofDairy Science*, 96(5): 2925–2938.
53. ŠLOSÁRKOVÁ, S., FLEISCHER, P., SKŘIVÁNEK, M. (2015): Ketóza. In: *Produkční choroby dojnic v trazitním období. Praktická příručka. Náš Chov*. s. 6-8.
54. ŠTOLCOVÁ, M. (2020): Mastné kyseliny v kravském mléce: význam, syntéza, metabolismus a vztah k energetické bilanci dojnic. Výzkumný ústav živočišné výroby. Online. Dostupné na: <https://www.ctpz.cz/vyzkum/mastne-kyseliny-v-kravskem-mlece-vyznam-synteza-metabolizmus-a-vztah-k-energeticke-bilanci-dojnic-1042>
55. TEDESCO, D., STEINER, S., GALLETI, M. (2004): EfficacyofSilymarin-PhospolipidComplex in ReducingThe Toxicity of Aflatoxin B1 in BroilerChicks. *PoultrySci*. 83:1839-1843.

56. TRAVNÍČEK, J., KROUPOVÁ, V., KONEČNÝ, R., STAŇKOVÁ, M., ŠŤASTNÁ, J., HASOŇOVÁ, L., MIKULOVÁ, M. (2010): Iodine status in ewes with the intake of iodine enriched alga *Chlorella*. *Czech Journal of Animal Science*, 55(2): 58–65.
57. VASILEV, R., VASILEVA, I., YUGATOVA, N., TROSHIN, E. (2020): DAFS-25k impact on cattle's thyroid hormonal status. In *BIO web of conferences* (Vol. 17, p. 00214). EDP Sciences.
58. VRANKOVIC, L., ALADROVIC, J., OCTENJAK, D., BIJELIC, D., CVETNIC, L., STOJEVIC, Z. (2017): Milkfatty acid composition as an indicator of energy status in Holstein dairy cows. *Arch. Anim. Breed.*, 60, 205–212, 2017

## 8 SEZNAM PUBLIKOVANÝCH VÝSLEDKŮ

### VĚDECKÉ ČASOPISY – IMPAKTOVANÉ:

1. ROMAN KONEČNÝ, ZUZANA KŘÍŽOVÁ, JAN HLADKÝ, JITKA KAUTSKÁ, LUCIE HASOŇOVÁ, EVA SAMKOVÁ, KRISTÝNA ŠIMÁK LÍBALOVÁ, JAN TRÁVNÍČEK. (2019): Iodine content development in raw cow's milk in three regions of the Czech Republic between the years 2008 and 2018, ACTA VET. BRNO 2019, 88: 265–270; <https://doi.org/10.2754/avb201988030265>
2. HLADKÝ, J., TRÁVNÍČEK, J., HASOŇOVÁ, L., KŘÍŽOVÁ, Z., KONEČNÝ, R., SAMKOVÁ, E., KAUTSKÁ, J., KALA, R.: Effect of monensin on milk production and metabolism of dairy cows. In: MendelNet 2016: 23th International PhD Students Conference. Brno: Mendel University in Brno, Faculty of Agri Sciences, Czech Republic, Nov 9-10, 2016, s. 205-209.
3. KAUTSKÁ, J., TRÁVNÍČEK, J., KONEČNÝ, R., KŘÍŽOVÁ, Z., SAMKOVÁ, E., HASOŇOVÁ, L., HANUŠ, O., STAŇKOVÁ, M. (2017): Effect of monensin on the copper, zinc and iodine contents in milk of dairy cows. In MendelNet 2017: 24<sup>th</sup> International PhD Students Conference. Brno: Mendel University in Brno, Faculty of Agricultural Sciences, Czech Republic, Nov 8-9, 2016, 214-218p., ISBN 978-80-7509-529-9.
4. KŘÍŽOVÁ, Z., KAŇKA, V., TRÁVNÍČEK, J., KONEČNÝ, R., HLADKÝ, J., KAUTSKÁ, J. (2016): Účinek monenzinu na mléčnou produkci a obsah kyseliny  $\beta$ -hydroxymáselné. Mlékařské listy, MILCOM a.s., Vol. 27, No.: 05, 158, ISSN 1212-950
5. KŘÍŽOVÁ, Z., KONEČNÝ, R., HLADKÝ, H., KAUTSKÁ, J., FREJLACH, T., TRÁVNÍČEK, J. (2017): Dynamika hormonů štítné žlázy u březích a laktujících ovcí plemene Suffolk. In: Zootechnika 2017: Sborník z konference mladých vědeckých pracovníků. Zemědělská fakulta, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, s. 80-86. ISBN 978-80-7394-641-8.
6. KAUTSKÁ JITKA, KŘÍŽOVÁ ZUZANA, SAMKOVÁ EVA, KONEČNÝ ROMAN, TRÁVNÍČEK JAN. (2018): Vztah obsahu volných mastných kyselin v mléce a ukazatelů energetického deficitu u dojnic v první fázi laktace. Mlékařské listy, MILCOM a.s., 169, Vol. 29, No. 4, s. 5-7.