



UTICAJ TOPLOTNOG STRESA NA KONCENTRACIJU PROGESTERONA TOKOM ESTRUSA KOD KRAVA

INFLUENCE OF HEAT STRESS ON PROGESTERONE DYNAMICS DURING THE BOVINE ESTROUS CYCLE

Igor Esmerov¹, Ljupco Angelovski¹, Sandra Angeleska¹, Martin Nikolovski¹,
Branko Atanasov¹, Zoran Dimitrovski¹, Ljupco Mickov¹

¹Ss. Cyril and Methodius University in Skopje, Faculty of Veterinary Medicine – Skopje,
Lazar Pop-Trajkov 5-7, 1000 Skopje, N. Macedonia

Kratak sadržaj

Toplotni stres predstavlja jedan od najozbiljnijih izazova spoljašnje sredine u mlečnoj proizvodnji, naročito u regionima sa produženim toplim letima. Kada vrednosti indeksa temperature i vlažnosti (THI) premaše termoneutralnu zonu za goveda, dolazi do poremećaja reproduktivne fiziologije, što rezultira smanjenom plodnošću i padom proizvodnje mleka. Cilj ove studije bio je da se ispita uticaj letnjeg toplotnog stresa na koncentracije progesterona (P4) tokom estrusnog ciklusa krava rase holštajn u Republici Severnoj Makedoniji. Ukupno 30 multiparnih krava sa 12 farmi bilo je uključeno u istraživanje, pri čemu su protokoli ishrane i držanja bili ujednačeni. Uzorci krvi prikupljeni su 0, 7, 14. i 21. dana estrusnog ciklusa, a koncentracije progesterona u plazmi analizirane su radioimunoesej metodom. Rezultati su pokazali značajno niže koncentracije progesterona u lutealnoj fazi pod uslovima toplotnog stresa u poređenju sa referentnim vrednostima u termoneutralnim uslovima. Toplotni stres je skratio lutealnu aktivnost, umanjio ekspresiju znakova estrusa, te bio povezan sa nižim stopama koncepcije i većim stepenom ranog embrionalnog uginuća. Ovi nalazi ukazuju na potrebu za uvođenjem strategija ublažavanja, kao što su sistemi za hlađenje, napredne reproduktivne tehnologije i upravljačke prakse na nivou stada, radi očuvanja plodnosti u uslovima globalnog zagrevanja.

Ključne reči: krave, progesteron, toplotni stres, estrusni ciklus

Summary

Heat stress represents one of the most significant environmental challenges for dairy production, especially in regions experiencing prolonged hot summers. When temperature-humidity index (THI) values exceed the thermoneutral zone

for cattle, reproductive physiology is disrupted, resulting in poor fertility and reduced milk yield. This study examined the effect of summer heat stress on progesterone (P4) concentrations during the estrous cycle of Holstein cows in North Macedonia. A total of 30 multiparous cows from 12 farms were monitored, with uniform feeding and housing protocols. Blood samples were collected on days 0, 7, 14, and 21 of the estrous cycle, and plasma progesterone was analyzed by radioimmunoassay. The results demonstrated significantly lower luteal-phase progesterone concentrations under heat stress conditions compared with reported thermo-neutral values. Heat stress shortened luteal activity, reduced estrous expression, and was associated with lower conception rates and higher early embryonic loss. These findings reinforce the critical need for mitigation strategies such as cooling systems, advanced reproductive technologies, and herd-level management practices to preserve fertility in warming climates.

Key words: cows, progesterone, heat stress, estrous cycle

UVOD

Reproduktivna efikasnost predstavlja osnovu ekonomske održivosti mlečne proizvodnje. Krave se moraju redovno teliti kako bi održale konzistentnu proizvodnju mleka, dok je neplodnost jedan od glavnih razloga izlučivanja grla iz zapata. Među brojnim faktorima koji utiču na plodnost, posebno mesto zauzima uticaj spoljašnjih uslova. Toplotni stres, definisan kao stanje u kojem opterećenje toplotom prevazilazi sposobnost životinje za disipaciju, naročito je štetan u mlečnim stadima (Wolfenson i sar., 2000). Fiziološke posledice toplotnog stresa prevazilaze smanjeni unos hrane i pad u proizvodnji mleka. Dolazi i do poremećaja reproduktivne endokrinologije: estrus postaje kraći i slabije izražen, narušava se razvoj folikula, kompromituje funkcija žutog tela, a povećava se embrionalna smrtnost (Roth, 2017). Ključni hormon u ovim poremećajima jeste progesteron, koji luči žuto telo i koji priprema endometrijum za implantaciju i održava ranu gravidnost. Smanjenje progesterona dovodi do kompromitovane održivosti embriona, što objašnjava sezonsku neplodnost tokom letnjih meseci. Prethodna istraživanja pokazala su da su koncentracije progesterona često snižene pod uslovima toplotnog stresa, ali terenski podaci ostaju oskudni za jugoistočnu Evropu, uključujući i Republiku Severnu Makedoniju. Stoga je cilj ove studije bio da se ispita profil progesterona tokom estrusnog ciklusa kod mlečnih krava izloženih visokim letnjim temperaturama, i da se hormonalne promene povežu sa reproduktivnim ishodima.

MATERIJAL I METODE

Životinje i uslovi držanja: Istraživanje je obuhvatilo 30 multiparnih krava holštajn-frizijske rase, smeštenih na 12 komercijalnih farmi u Republici Severnoj Makedoniji. Sve farme su imale slične protokole ishrane zasnovane na potpunim smešama (TMR) i praktikovale su sistem držanja u slobodnim boksevima, sa ograničenom infrastrukturom za hlađenje.

Klimatski uslovi: Podaci su prikupljeni tokom jula i avgusta, kada je prosečna dnevna temperatura prelazila 25 °C, a indeks temperature i vlažnosti (THI) bio iznad 72, što predstavlja prag za pojavu toplotnog stresa kod goveda.

Sinhronizacija estrusa i uzorkovanje: Radi standardizacije estrusnih ciklusa, krave su sinhronizovane prostaglandinom F2 α . Uzorci krvi uzimani su iz vratne (jugularne) vene na dan 0 (estrus), te 7, 14. i 21. dana ciklusa. Plazma je odvajana i čuvana na -20 °C do analize.

Hormonske analize: koncentracije progesterona određivane su validiranom radioimunoesej metodom (RIA). Osetljivost metode bila je 0,2 ng/mL, a koeficijenti varijacije unutar i između serija ispitivanja bili su ispod 10%.

Praćenje reproduktivnih parametara: stope koncepcije registrovane su nakon veštačkog osemenjavanja, dok je rana embrionalna smrtnost identifikovana na osnovu ponovnog ispoljavanja estrusa ili ultrazvučne dijagnostike. Ekspresija estrusa procenjena je na osnovu bihejvioralnih posmatranja koja su beležili zaposleni na farmama. Statistička analiza: koncentracije progesterona analizirane su primenom ANOVA za ponovljena merenja, pri čemu je nivo značajnosti postavljen na $p < 0,05$.

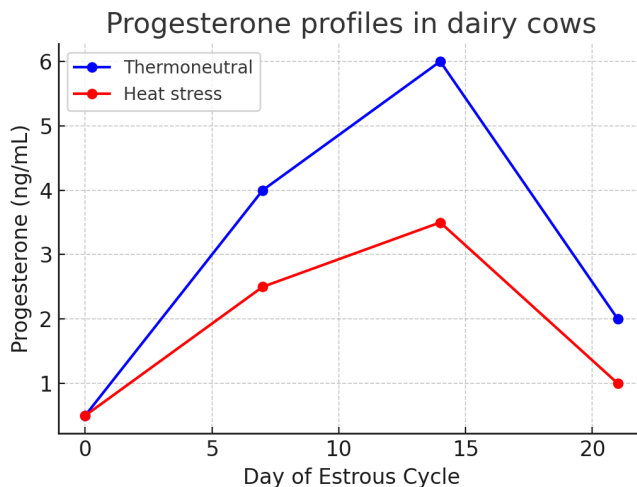
Table 1. Eksperimentalni dizajn i protokol uzorkovanja

Dan ciklusa	Procedura	Analize
0	Estrus (sinhronizacija)	Baseline progesterone
7	Lutealna faza – uzorkovanje	Progesterone RIA
14	Pik lutealne aktivnosti	Progesterone RIA
21	Kasna lutealna faza	Progesterone RIA

REZULTATI

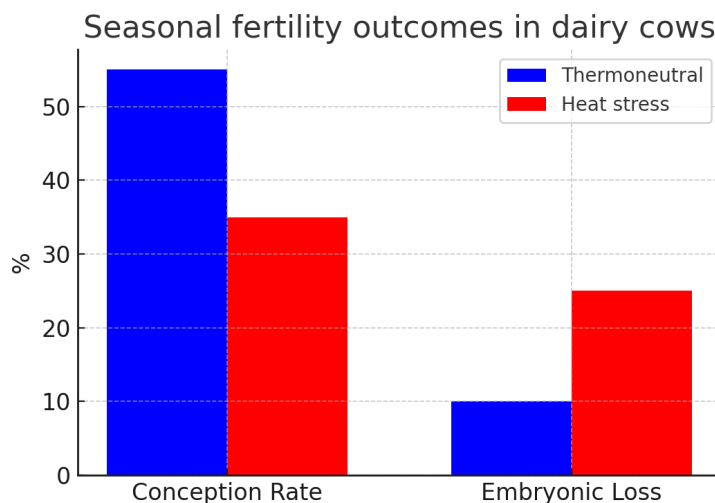
Koncentracije progesterona u plazmi bile su snižene kod krava izloženih toplotnom stresu u poređenju sa referentnim vrednostima u termoneutralnim uslovima, kako je navedeno u literaturi.

- 7. dan: prosečna koncentracija P4 iznosila je 2,5 ng/mL pod uslovima toplotnog stresa, naspram približno 4,0 ng/mL u termoneutralnim uslovima.
- 14. dan: lutealni vrhunac bio je snižen na 3,5 ng/mL pod toplotnim stresom, u poređenju sa približno 6,0 ng/mL zabeleženih u hladnijim sezonama.
- 21. dan: koncentracije progesterona ranije su opadale kod krava izloženih toplotnom stresu, što odražava skraćenu lutealnu aktivnost.



Slika 1. Prosečne koncentracije progesterona u plazmi u različitim fazama estrusnog ciklusa kod mlečnih krava u termoneutralnim uslovima i pod uticajem toplotnog stresa.

Ekspresija estrusa bila je slabije izražena, sa smanjenom aktivnošću naskakivanja i kraćim trajanjem estrusa. Reproductivni ishodi pokazali su da su stope koncepcije iznosile 35% pod uslovima toplotnog stresa, naspram približno 55% u hladnijim uslovima. Rana embrionalna smrtnost povećana je na 25% tokom toplotnog stresa, u poređenju sa 10% u termoneutralnim periodima.



Slika 2. Sezonski reproduktivni ishodi kod mlečnih krava u termoneutralnim uslovima i pod uticajem toplotnog stresa. Stubovi prikazuju stopu koncepcije i embrionalni gubitak.

DISKUSIJA

Ovo istraživanje pokazuje da toplotni stres značajno menja profile progesterona tokom estrusnog ciklusa, što potvrđuje ranije nalaze o suprimovanoj lutealnoj funkciji pri visokim ambijentalnim temperaturama (Wolfenson & Roth, 2019). Smanjenje progesterona narušava receptivnost endometrijuma i preživljavanje embriona, što dovodi do povećane neplodnosti tokom letnjih meseci. Iako programi sinhronizacije estrusa i veštačkog osemenjavanja u tačno određeno vreme smanjuju zavisnost od detekcije bihevioralnog estrusa, oni ne mogu u potpunosti da neutrališu hormonsku supresiju izazvanu toplotnim stresom (De Rensis & Scaramuzzi, 2003). Kontinuirana rešenja za hlađenje — kao što su senke, ventilatori, orošavanje i evaporativno hlađenje — ostaju od ključnog značaja. Napredniji pristupi uključuju embriotransfer, indukciju dodatnih corpora lutea i upotrebu ukrštanja sa termotolerantnim rasama, mada ove strategije predstavljaju ekonomski i praktični izazov.

ZAKLJUČAK

Toplotni stres suprimuje sekreciju progesterona i skraćuje lutealnu funkciju tokom estrusnog ciklusa, što doprinosi smanjenju fertiliteta u mlečnim stadima. U regionima poput Republike Severne Makedonije, gde su leta sve toplija, primena integrisanih sistema za hlađenje i reproduktivnih tehnologija biće neophodna za očuvanje reproduktivne efikasnosti. Buduća istraživanja trebalo bi da se fokusiraju na longitudinalno praćenje dinamike progesterona, uz uključivanje hormonskih i genetskih pristupa, kako bi se bolje predvideli i ublažili reproduktivni poremećaji.

REFERENCES

1. Badinga, L., Thatcher, W. W., Diaz, T., Drost, M., & Wolfenson, D. (1985). Effect of environmental heat stress on follicular development and estrous behavior in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 68(7), 1555–1563.
2. Bohmanova, J., Misztal, I. and Cole, J.B. (2007) Temperature-humidity indices as indicators of milk production losses due to heat stress. *J. Dairy Sci.*, 90: 1947-1956
3. De Rensis, F., & Scaramuzzi, R. J. (2003). Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow — a review. *Theriogenology*, 60(6), 1139–1151.
4. El-Tarabany, A.A. (2015) Impact of thermal stress on the efficiency of ovulation synchronization protocols in Holstein cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 160: 138-145
5. Hansen, P. J. (2020). Reproductive physiology of the heat-stressed dairy cow: Implications for fertility and assisted reproduction. *Animal Reproduction*, 17(3), e20190102.
6. Pereira, M. H. C., Wiltbank, M. C., & Vasconcelos, J. L. M. (2016). Expression of estrus improves fertility and decreases pregnancy loss in lactating dairy cows subjected to timed artificial insemination. *Biology of Reproduction*, 94(4), 87.
7. Roth, Z. (2017). Physiology and endocrinology of the stress response associated with heat stress in dairy cows. *Animal*, 11(1), 124–133.
8. Schuller, L.K., Burfeind, O. and Heuwieser, W. (2014) Impact of heat stress on conception rate of dairy cows in the moderate climate considering different temperature humidity index thresholds, periods relative to breeding, and heat load indices. *Theriogenology*, 81: 1050-1057.

16. Naučni simpozijum “Reprodukcija životinja”

9. Walsh, S. W., Williams, E. J., & Evans, A. C. O. (2011). A review of the causes of poor fertility in high milk producing dairy cows. *Animal Reproduction Science*, 123(3–4), 127–138.
10. Wiltbank, M. C., Baez, G. M., Garcia-Guerra, A., Sartori, R., & Souza, A. H. (2014). Physiological and practical effects of progesterone on reproduction in dairy cattle. *Animal*, 8(s1), 70–81.
11. Wolfenson, D., & Roth, Z. (2019). Impact of heat stress on cow reproduction and fertility. *Animal Frontiers*, 9(1), 32–38.
12. Wolfenson, D., Thatcher, W. W., Badinga, L., Savio, J. D., Meidan, R., Lew, B. J., ... & Braw-Tal, R. (2000). Effect of heat stress on follicular development during the estrous cycle in lactating dairy cattle. *Biology of Reproduction*, 52(1), 1106–1113.