

# Analiza utjecaja fotoperioda i prolaktina na proizvodnju mlijeka i muzne karakteristike krava

---

Pomper, Filip

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:003442>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-04**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**ANALIZA UTJECAJA FOTOPERIODA I PROLAKTINA NA  
PROIZVODNJU MLIJEKA I MUZNE KARAKTERISTIKE  
KRAVA**

DIPLOMSKI RAD

Filip Pomper

Zagreb, rujan, 2022.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

Diplomski studij:

Genetika i oplemenjivanje životinja

**ANALIZA UTJECAJA FOTOPERIODA I PROLAKTINA NA  
PROIZVODNJU MLIJEKA I MUZNE KARAKTERISTIKE  
KRAVA**

DIPLOMSKI RAD

Filip Pomper

Mentor:

Prof.dr.sc. Alen Džidić

Zagreb, rujan, 2022.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA  
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Filip Pomper**, JMBAG 0178111042, rođen 17.04.1997. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradio diplomski rad pod naslovom:

**ANALIZA UTJECAJA FOTOPERIODA I PROLAKTINA NA PROIZVODNJU MLIJEKA I MUZNE**

**KARAKTERISTIKE KRAVA**

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
*Potpis studenta / studentice*

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZVJEŠĆE**

**O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA**

Diplomski rad studenta **Filipa Pompera**, JMBAG 017811042, naslova

**ANALIZA UTJECAJA FOTOPERIODA I PROLAKTINA NA PROIZVODNJU MLIJEKA I MUZNE**

**KARAKTERISTIKE KRAVA**

obranjen je i ocijenjen ocjenom \_\_\_\_\_, dana \_\_\_\_\_.

Povjerenstvo:

potpisi:

- |    |                                    |        |       |
|----|------------------------------------|--------|-------|
| 1. | Prof. dr. sc. Alen Džidić          | mentor | _____ |
| 2. | Prof. dr. sc. Krešimir Salajpal    | član   | _____ |
| 3. | Izv. prof. dr. sc. Dragica Šalamon | član   | _____ |

## **Zahvala**

Ovom prilikom želim zahvaliti svom mentoru. Alenu Džidiću za svu pomoć i vrijeme koje je izdvojio za mene i potrebe pisanja ovog diplomskog rada. Hvala kolegama iz Francuske što su ustupili podatke kako bi ja mogao napraviti svoj diplomski rad. Želim se zahvaliti i svojim roditeljima, ali i bratu što su omogućili moje školovanje. Bratu se dodatno zahvaljujem što je platio ostatak moje školarine kako bi mogao diplomirati u roku.

## Sadržaj

1.	Uvod .....	1
1.1.	Cilj rada.....	2
2.	Materijali i metode.....	3
2.1.	Životinje i dizajn istraživanja.....	3
2.1.1.	Uzorkovanje krvi i hormonska analiza .....	5
2.2.	Statistička analiza i podaci .....	6
2.2.1.	Koeficijent korelacije .....	7
2.2.2.	Proc GLIMMIX .....	7
3.	Rezultati .....	8
3.1.	Normalna distribucija i histogrami .....	8
3.2.	Rezultati Pearsonovog koeficijenta korelacije .....	8
3.3.	Rezultati metode najmanjih kvadrata .....	9
4.	Rasprava .....	12
5.	Zaključak .....	15
6.	Popis literature.....	16
	Životopis .....	21

## **Sažetak**

Diplomskog rada studenta **Filipa Pompera**, naslova

### **ANALIZA UTJECAJA FOTOPERIODA I PROLAKTINA NA PROIZVODNJU MLIJEKA I MUZNE**

#### **KARAKTERISTIKE KRAVA**

U natrag nekoliko desetljeća napravljena su mnoga istraživanja na temu utjecaja svjetlosnog perioda na proizvodne karakteristike krava. Više od nekoliko njih ide u prilog da svjetlost itekako ima utjecaja na proizvodnju mlijeka, pravilnom manipulacijom stočari bi u teoriji mogli utjecati na količinu mlijeka. Ovim istraživanjem se pokušalo potvrditi brojne radove i prihvatiti alternativnu hipotezu o utjecaju svijetla na proizvodnju mlijeka, kao i ispitati muzne karakteristike krava koje su bile izložene periodu dugog dana u odnosu na krave izložene periodu kratkoga dana. Također, ispitivan je i direktan utjecaj prolaktina na proizvodnju mlijeka i muzne karakteristike krava. Ovim istraživačkim radom se zaključilo da svjetlosni period nema utjecaja na proizvodnju mlijeka, kao ni na muzne karakteristike krava. S druge strane otkriveno je da prolaktin ima značajan utjecaj na maksimalni protok mlijeka, ali ne i na prinos mlijeka i ostale ispitivane varijable.

**Ključne riječi:** svjetlosni period, svijetlo, prolaktin, proizvodnja mlijeka



## Summary

Of the master's thesis – student **Filip Pomper**, entitled

### **Analysis of the influence of photoperiod and prolactin on milk production and milking characteristics of cows**

In the past few decades, many studies have been done on the topic of the influence of the light period on the production characteristics of cows. More than a few of them are in favor of the fact that light does indeed have an effect on milk production, with proper manipulation, livestock farmers could in theory influence the amount of milk. This research attempted to confirm numerous works and accept an alternative hypothesis about the influence of light on milk production, as well as examine the milking characteristics of cows exposed to a long day period compared to cows exposed to a shorter day period. Also, the direct influence of prolactin on milk production and milking characteristics of cows was investigated. This research work concluded that the light period has no influence on milk production, as well as on the milking characteristics of cows. On the other hand, it was discovered that prolactin has a significant influence on the maximum milk flow, but not on the milk yield and other investigated variables.

**Keywords:** light period, prolactin, milk production

# 1. Uvod

„Ljudska konzumacija životinjskog mlijeka datira u davnu povijest i predstavlja važan korak u evoluciji s obzirom na to da se pojavom enzima laktaze, rapidno širi i gen koji nosi poruku za izgradnju navedenog enzima“ (Tishkoff, 2021.). Najnovija znanstvena istraživanja s područja Kenije i Sudana upućuju na to da je čovjek konzumirao mlijeko ili neku vrstu mliječnog proizvoda već prije 6000 godina (Zhongming i sur., 2021.). Ovo istraživanje je ujedno i najraniji dokaz o konzumaciji mlijeka ili mliječnih proizvoda u Africi, ali i svijetu. Samim time ne čudi i činjenica što se razvojem tehnologije i industrijalizacije, razvija i potreba za znanstvenim istraživanjima koja će odgovoriti na pitanja što sve utječe na sastav, kvalitetu i proizvodnju mlijeka.

Mlijeko sisavaca sintetizira se unutar mamarnih epitelnih stanica (MEC) mliječne žlijezde. Dok sami signal za sintezu mlijeka dolazi kao odgovor na gravidnost i rađanje ploda. Prinos i lučenje mlijeka određeno je metaboličkom aktivnošću i količinom stanica (MEC) unutar mliječne žlijezde (Capuco i sur. 2003.; Boutinaud i sur., 2004.). Količina MEC unutar mliječne žlijezde najviše ovisi o ravnoteži stanične proliferacije i apoptoze (Capuco i sur., 2003.), odnosno o sintezi ili stvaranju i odumiranju samih stanica. Pored toga, na sintezu i lučenje mlijeka, odnosno na procese povezane sa sintezom i lučenjem mlijeka pa samim time i na MEC djeluje fotoperiod (Dahl i sur., 2012.) i hormon prolaktin (Riddle i sur., 1933.) kao i hormoni oksitocin, kortizol i inzulinu sličnog faktora rasta – I (IGF-I) (Herve i sur., 2016.b).

Hormon prolaktin (PRL) je hormon kojeg izlučuje prednji režanj hipofize ili adenohipofize u krv te ima direktan utjecaj na sintezu mlijeka sisavaca. Na trag te spoznaje došli su gotovo prije 100 godina Stricker i Grueter (1929.) kada su uspješno inducirali rast i laktaciju mliječne žlijezde kod kunića ubrizgavanjem vodenog ekstrakta hipofize. Riddle i sur. (1933.) naknadno otkrivaju da na taj učinak direktno djeluje hormon prednjeg režnja hipofize koji su nazvali prolaktin. Prolaktin također sudjeluje u regulaciji čvrstih međustaničnih veza (engl. *tight junctions*) (Herve i sur., 2017.) jer PRL stimulira stvaranje čvrstih veza in vitro (Stelwagen i sur., 1999.) i smanjuje propusnost tih veza u mliječnim žlijezdama kunića i štakora (Linzell i sur., 1975.; Flint i Gardner, 1994.). Oksitocin i kortizol su dva hormona koji se otpuštaju neposredno

prije i/ili tijekom izlučivanja mlijeka. Dok je inzulinu sličan faktor rasta - 1, također nazvan somatomedin C, hormon jetre sličan po molekularnoj strukturi inzulinu (Jansen i sur., 1983.) te igra važnu fiziološku ulogu u regulaciji rasta, razvoja, metabolizmu i laktaciji te je uz prolaktin glavni galaktopoetski čimbenik kod krava (Daughaday i Rotwein, 1989.; Hossner i sur., 1997.; Lucy, 2008.).

Jedan od važnijih čimbenika u proizvodnji mlijeka je i fotoperiod (Dahl i sur., 2012.; Herve i sur., 2016.a). Prve dokaze u prilog tome su objavili Peters i suradnici (1978.), a kasnije je to potvrdio niz istraživača (Bilodeau i sur. 1989., Evans i Hacker 1989., Stanisiewski i sur., 1985.). Fotoperiod (grč. *φῶς, φωτός* - *fotos* = svjetlo + *περίοδος* - *periodos* = vremenski raspon) predstavlja relativno trajanje svjetla (prirodnog ili umjetnog) koje organizam iskusi unutar 24 satnog perioda (Dahl i sur., 2012.). Period dugog dana (engl. *long day period* = LDP) sadrži od 16 do 18 sati dnevnog svjetla te 6 do 8 sati tame unutar 24 sata. Period kratkog dana (engl. *short day period* = SDP) sadrži u prosjeku 8 sati svjetla te 16 sati tame. U prirodnim uvjetima omjeri svjetla i tame se izmjenjuju prema dobu godine u kojoj se nalazimo. Izmjena dana i noći te njihova količina određena vremenom diktiraju složene unutarnje procese kod živih bića kao što su reprodukcija, rast i laktacija (Dahl i sur., 2012.) kojima upravlja cirkadijarni ritam ili sat. Također, potvrđeno je da osim relativnog trajanja svjetla i intenzitet svjetla utječe na ponašanje i fiziologiju krava (Muthuramalingan i sur., 2006.).

## **1.1. Cilj rada**

Cilj ovog rada je utvrditi učinak fotoperioda i inhibicije prolaktina na proizvodnju mlijeka i muzne karakteristike krava.

## 2. Materijali i metode

Svi postupci i metode koje su korištene na životinjama su provedene u skladu s nadležnim etičkim tijelom za istraživanje na životinjama u Rennesu (Francuska) u skladu s francuskim propisima.

### 2.1. Životinje i dizajn istraživanja

Za potrebe ovog istraživanja korišteno je osam mliječnih krava holstein pasmine u ranoj laktaciji, prosječne proizvodnje mlijeka od  $42 \pm 3.7$  kg mlijeka na dan prije samog početka istraživanja. Istraživanje je provedeno na INRA ('Institut National de la Recherche Agronomique') eksperimentalnoj farmi u Francuskoj (Le Rheu). Istraživanje se provodilo ispitivanjem 4 tretmana koji su se sastojali od kombinacije fotoperioda, odnosno perioda dugog dana (16h svijetla po danu) i perioda kratkog dana (8h svijetla po danu) i farmakološkog tretmana korištenjem kabergolina i kontrolnog tretmana. Kabergolin (engl. *cabergoline*) je dopaminergični lijek (lijek koji utječe na djelovanje neurotransmitera dopamina) koji se kod ljudi koristi u liječenju visoke razine prolaktina, Parkinsonove bolesti i shizofrenije. Kabergolin je derivat ergotina i moćan agonist dopaminskih D<sub>2</sub> receptora (Elks i Ganellin, 1990.). U ovom istraživanju kabergolin služi za inhibiciju prolaktina. Svaki od tretmana je proveden u razdoblju od 20 dana prema 2 istovremena ponavljanja latinskog kvadrata (4x4) (vidi tablicu 2.1.1.). Dok je 21. dan služio kao prijelazni dan, odnosno dan tranzicije s jednog svjetlosnog režima na drugi. Životinje su nasumično odabrane te im je nasumično dodijeljen pripadajući tretman. Istraživanje je provedeno tijekom mjeseca veljače, ožujka i travnja 2016. godine

Tablica 2.1.1. Shema latinskog kvadrata 4x4

<b>Dugi dan-Kabergolin</b>	Dugi dan-Kontrola	Kratki dan-Kabergolin	Kratki dan-Kontrola
Dugi dan-Kontrola	<b>Dugi dan-Kabergolin</b>	Kratki dan-Kontrola	Kratki dan-Kabergolin
Kratki dan-Kabergolin	Kratki dan-Kontrola	<b>Dugi dan-Kabergolin</b>	Dugi dan-Kontrola
Kratki dan-Kontrola	Kratki dan-Kabergolin	Dugi dan-Kontrola	<b>Dugi dan-Kabergolin</b>

Tretman fotoperiodom primjenjivan je 20 dana, dok je 21. dana napravljena tranzicija s jednog svjetlosnog perioda na drugi. Farmakološki tretman se primjenjivao desetog dana od početka svjetlosnog tretmana, a sastojao se od jedne intramuskularne primjene aseptičke otopine (5 mL) u području vrata koja je sadržavala 5.6 mg kabergolina ili intramuskularne injekcije (5 mL) iste pomoćne tvari koja se koristila u otopini kabergolina kao njen nosioc (kontrolna skupina).

Tablica 2.1.2. Sastav krmnog obroka

<i>Sastojak obroka</i>	<i>Udio (%)</i>
Kukuruzna silaža	59
Soja	14,2
Koncentrat	12,7
Dehidrirana alfalfa	13,1
Minerali i vitamini	1

Svaka od 8 krava je držana u dvije komore, jedna komora za svaki fotoperiod te su rotirane iz komore u komoru prema shemi latinskog kvadrata. U svakoj komori prozori su bili prekriveni drvenim daskama kako vanjsko svjetlo ne bi ulazilo za vrijeme tretmana i remetilo rad epifize i samog cirkadijalnog ritma. Hranidba, mužnja i briga o životinjama se izvodila pod crvenim svjetlima niskog intenziteta. Izvor svjetla su bile isključivo metal-halidne lampe (MH lampe) kontrolirane automatskim mjeračem vremena. Za svaku kravu su korištene 4 lampe pravilno raspoređene od glave do repa na udaljenosti od 15 cm od kože kako bi se postigla vrijednost od 350 luksa. Krave su bile osvjetljene od 7 sati ujutro do 3 sata poslije popodne za period kratkog dana i od 5 sati ujutro do 9 sati navečer za period dugog dana. Temperatura unutar komora se održavala na 17 °C pomoću termostata i sustava grijanja. U komorama su krave bile smještene pojedinačno vezane unutar boksa sa zasebnim koritima i zasebnim posudama za vodu uz slobodan pristup vodi. Cijelo vrijeme tijekom istraživanja krave su hranjene pojedinačno u skladu s INRA smjernicama za hranidbu koja je formulirana da zadovolji hranidbene potrebe krava u laktaciji te se sastojala od kukuruzne silaže, soje, koncentrata, dehidrirane alfalfa i minerala i vitamina (vidi tablicu 2.1.2).

Strojna mužnja se provodila svakog dana u 7:30 i 17:30 te se bilježio prinos mlijeka za svaku kravu posebno.

### 2.1.1. Uzorkovanje krvi i hormonska analiza

Krave su kirurški opremljene trajnim kateterima umetnutim u jugularnu venu. Kateteri su umetnuti 4 dana prije početka istraživanja. Dvanaestog i devetnaestog dana svakog razdoblja uzorci krvi su prikupljeni 30 minuta prije jutarnje mužnje. Za prikupljanje uzoraka za mjerenje koncentracije IGF-I u plazmi korištene su S-Monovette obložene EDTA-om (Sarstedt, Nümbrecht, Njemačka) (vidi sliku 2.1.1.1.).

Slika 2.1.1.1. S-Monovette od proizvođača Sarstedt



Izvor: Sarstedt

Dodatni uzorci krvi prikupljeni su prije, tijekom i nakon jutarnje mužnje i to -5, -2, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10, 15, 25, 35 i 45 minuta u odnosu na priključak jedinice za mužnju. S-Monovette obložene natrijevim heparinom korištene su za prikupljanje uzoraka za mjerenje koncentracije laktoze u plazmi, S-Monovette obložene EDTA-om su također korištene i za prikupljanje uzoraka za mjerenje koncentracije prolaktina u plazmi. Plazma je odvajana centrifugiranjem na  $2,264 \times g$  tijekom 15 minuta na  $4^\circ\text{C}$  i pohranjena na  $-20^\circ\text{C}$  do analize. Koncentracije prolaktina u plazmi mjerene su ELISA testom. Za analizu prolaktina granice detekcije bile su  $0,89 \text{ ng/mL}$ , CV (koeficijent varijacije ili relativna standardna devijacija) unutar testa bio je  $4,6\%$ , a CV između testa bio je  $2,8\%$ . Također, određene su i koncentracije IGF – 1 u plazmi.

## 2.2. Statistička analiza i podaci

Nakon uređivanja i kreiranja gore navedenih tablica slijedila je statistička analiza u softveru SAS 9.4. Prije svega, kako bi znali koje statističke metode su najprimjerenije za provesti na navedenim setovima podataka i njihovim kontinuiranim varijablama, napravljeni su testovi s ciljem ispitivanja nul hipoteze normalne raspodjele podataka. Kao što je i ranije spomenuto, testovi su napravljeni na svim kontinuiranim varijablama unutar svih setova podataka. Procjenjivanje pretpostavke normalne raspodjele podataka zahtijeva većina statističkih procedura ili postupaka. Ako je pretpostavka normalnosti prekršena, tumačenje i zaključivanje možda neće biti pouzdano ili valjano (Razali i Wah, 2011.). Stoga je važno provjeriti ovu pretpostavku prije primjenjivanja bilo kojeg relevantnog statističkog postupka.

U statističkoj literaturi dostupno je gotovo 40 testova normalnosti (Dufour i sur., 1998.), međutim najčešće korišteni su Shapiro-Wilk (SW test), Kolmogorov-Smirnov (KS test), Anderson-Darling (AD test) i Cramer-von Mises testovi. Neki od ovih testova su primjereni jedino pod određenim uvjetima ili pretpostavkama. Za potrebe ovog istraživanja korišteni su SW i KS test.

Shapiro-Wilk test je korišten kod varijabli koje su imale mali broj mjerenja, dok je Kolmogorov-Smirnov test korišten u slučaju velikog broja mjerenja određene varijable (>2000). Oba testa pretpostavljaju normalnu distribuciju podataka te im nul hipoteza glasi da nema značajnih odstupanja podatka unutar istraživane populacije (Thode, 2002.). Ako je p vrijednost veća od utvrđene  $\alpha$  razine značajnosti, ne odbacujemo nul hipotezu te pretpostavljamo da podaci prate normalnu distribuciju unutar populacije, a ako je p vrijednost manja od  $\alpha$  razine značajnosti odbacujemo nul hipotezu i pretpostavljamo da nema normalne distribucije podataka (npr. ako je  $\alpha=0,05$ , a  $p<0,002$ ,  $H_0\neq H$ ). Uz do sada navedene testove i koeficijente, napravljen je i histogram radi lakše vizualizacije raspodjele podataka i utvrđivanja pravilnosti ili nepravilnosti distribucije podataka.

### 2.2.1. Koeficijent korelacije

Kako bi ustvrdili postoje li korelacije između količine otpuštenih hormona i podataka prikupljenih tijekom mužnje kao što su protok mlijeka, prosječan protok mlijeka, prinos mlijeka i slično, nacrtani su g plotovi između varijabli te je izračunat i Pearsonov koeficijent korelacije između varijabli. Pearsonov koeficijent korelacije nam govori o mjeri povezanosti i smjeru linearne veze između dvije varijable. Korelacija može biti pozitivna ili negativna te poprima vrijednosti od -1 do 1. Ovdje su najviše gledani međusobni odnosi ukupno otpuštenih hormona, kao i dinamika otpuštenih hormona s muznim karakteristikama krava. Za usporedbu rezultata korišten je i Spearmanov koeficijent korelacije. Prilikom računanja koeficijenta korelacije korištena je SAS procedura *Proc corr* dok je za crtanje plotova korištena naredba *Proc gplot*.

### 2.2.2. Proc GLIMMIX

Zadnje korištena metoda je procjena prosjeka najmanjih kvadrata u svrhu zaključivanja ima li razlike između tretmana i muznih karakteristika krava te u svrhu dodatnog utvrđivanja imaju li ostali efekti, kao što je prolaktin, utjecaj na muzne karakteristike krava. Za potrebe izračunavanja korištena je *Proc GLIMMIX* metoda programa SAS. To je procedura unutar programa SAS koja koristi uopćeni linearni mješoviti model (GLMM – *Generalized Linear Mixed Model*). GLMM je produžetak uopćenih linearnih modela kod kojega linearni prediktor sadrži i slučajne utjecaje (Matanović, 2016.). Također, GLMM je prikladan za korištenje na normalno distribuiranim podacima, ali i na onima koji nisu normalno distribuirani (Davis, 2018.).



### **3. Rezultati**

Nakon svih statističkih metoda provedenih u programu SAS 9.4, slijede rezultati navedenih analiza.

#### **3.1. Normalna distribucija i histogrami**

Test normalne distribucije je proveden za sve varijable unutar svih setova podataka. Testovi normalnosti su uključivali rezultate za Shapiro-Wilk i Kolmogorov-Smirnov test, ako je broj uzoraka bio malen, gledao se Shapiro-Wilk test. Kako bi zadovoljili hipotezu normalne distribucije, p vrijednost testova za normalnu distribuciju podataka u ovom slučaju ne bi trebala prelaziti  $\alpha$  razinu značajnosti od 0,05. Sve promatrane varijable su bile normalno distribuirane tako da su se na njima mogle primijeniti parametrijske analize.

#### **3.2. Rezultati Pearsonovog koeficijenta korelacije**

Koeficijenti korelacije između svih varijabli unutar svih setova podataka analizirani su u Tablici 3.2.1.. S obzirom na to da je za glavnu analizu korišten skup podataka koji sadrži statičke varijable, odnosno varijable kao što su ukupan prinos, ukupna količina izlučenih hormona te prosječan i maksimalan protok mlijeka, ovdje će se isključivo prezentirati rezultati koeficijenta korelacije između varijabli unutar navedenog skupa podataka. Iz Tablice 3.2.1. vidljivo je prije svega da su hormoni prolaktin i inzulinu sličan faktor rasta 1 (IGF-1) u umjereno jakoj korelaciji ( $p < 0,05$ ) što i ne čudi s obzirom da ih se smatra glavnim galaktopoetskim čimbenicima kod krava (Daughaday i Rotwein, 1989.; Hossner i sur., 1997.; Lucy, 2008.). Također, postoje naznake o korelaciji između prolaktina i prosječnog protoka mlijeka, ali potreban je veći broj mjerenja kako bi sa sigurnošću mogli zaključiti da postoji korelacija. Korelacija između prolaktina ili IGF-1 sa ostalim varijablama nije dovoljno jaka i/ili značajna. Postoji jasna pozitivna korelacija između trajanja mužnje i ukupnog prinosa mlijeka kao i negativna korelacija između trajanja mužnje i prosječnog protoka mlijeka (vidi tablicu 3.2.1.)

Tablica 3.2.1. Koeficijent korelacije statičkih podataka

Pearsonov koeficijent korelacije p vrijednost ( $\alpha=0,05$ ) Broj opažanja (N)						
	<i>Prolaktin</i>	<i>IGF – 1</i>	<i>Ukupan prinos</i>	<i>Maksimalni protok</i>	<i>Prosječan protok</i>	<i>Trajanje mužnje</i>
<i>Prolaktin</i>	1,00 . 31	0,51 0,04 16	0,24 0,17 31	0,05 0,78 31	0,33 0,06 31	-0,20 0,27 31
<i>IGF – 1</i>	0,51 0,04 16	1,00 . 16	0,33 0,20 16	0,11 0,67 16	0,26 0,32 16	-0,11 0,66 16
<i>Ukupan prinos</i>	0,24 0,17 31	0,33 0,20 16	1,00 . 54	0,09 0,49 54	0,14 0,30 54	0,62 <,0001 54
<i>Maksimalni protok</i>	0,05 0,78 31	0,11 0,67 16	0,09 0,49 54	1,00 . 54	0,62 <,0001 54	-0,37 0,005 54
<i>Prosječan protok</i>	0,33 0,06 31	0,26 0,32 16	0,14 0,30 54	0,62 <,0001 54	1,00 . 54	-0,63 <,0001 54
<i>Trajanje mužnje</i>	-0,20 0,27 31	-0,12 0,66 16	0,62 <,0001 54	-0,37 0,004 54	-0,63 <,0001 54	1,00 . 54

### 3.3. Rezultati metode najmanjih kvadrata

Kako bi se procijenila razina utjecaja tretmana, odnosno njihove kombinacije i razine utjecaja pojedinih efekata na muzne karakteristike krava korištena je metoda procjene najmanjih kvadrata (LSM – *least square means*) postupkom ograničene maksimalne vjerojatnosti (*restricted maximum likelihood*). Ovdje je gledano kako je dvostruka interakcija fotoperioda i farmakološkog tretmana djelovala na muzne karakteristike krava te postoji li značajna razlika između tretmana. Također, promatrano je u kojoj mjeri pojedini efekti kao što su prolaktin, IGF – 1, duljina dana i farmakološki tretman, utječu na muzne karakteristike krava. Promatrana je značajnost djelovanja efekata na varijable kao što su maksimalni protok, prosječni protok, ukupan prinos i trajanje mužnje. U sljedećim tablicama su prikazani

rezultati po pojedinim varijablama, tablica 3.3.1. sadrži vrijednosti procjene najmanjih kvadrata kao i standardnu grešku za sve kombinacije tretmana, također, u superscriptu je dodatno slovima označeno postojanje značajne razlike između tretmana. Iz navedene tablice vidljivo je kako na svim analiziranim varijablama nema značajne razlike između kombinacije tretmana osim na varijabli maksimalni protok mlijeka. Razlika je značajna između kombinacije tretmana dugog dana (16h svjetla) i kabergolina u odnosu na kratki (8h svjetla) i dugi dan u kontrolnoj skupini, odnosno skupini koja nije primala tretman kabergolinom, uz alfa razinu značajnosti od 0,05.

Tablica 3.3.1. Prosjeci kvadrata i standardne greške muznih karakteristika i prinosa mlijeka krava za različite kombinacije svjetlosnog perioda i farmakološkog tretmana

Varijabla	TRETMAN (duljina dana x farmakološki tretman)			
	kratki dan (8h) x kabergolin	dugi dan (16h) x kabergolin	kratki dan (8h) x kontrola	dugi dan (16h) x kontrola
Prosječni protok mlijeka	2,37 ± 0,49 <sup>a</sup>	2,53 ± 0,48 <sup>a</sup>	2,84 ± 0,51 <sup>a</sup>	2,67 ± 0,45 <sup>a</sup>
Ukupni prinos mlijeka	23,47 ± 2,60 <sup>a</sup>	24,82 ± 2,55 <sup>a</sup>	25,12 ± 2,75 <sup>a</sup>	24,73 ± 2,39 <sup>a</sup>
Trajanje mužnje	651,43 ± 110,45 <sup>a</sup>	647,41 ± 108,31 <sup>a</sup>	524,11 ± 116,58 <sup>a</sup>	567,95 ± 101,34 <sup>a</sup>
Maksimalni protok mlijeka	3,38 ± 0,60 <sup>ab</sup>	3,72 ± 0,62 <sup>a</sup>	6,56 ± 0,57 <sup>b</sup>	6,88 ± 0,65 <sup>b</sup>

<sup>a, b</sup> Prosjeci kvadrata unutar reda statistički su značajno različiti (P<0,05)

S obzirom na spomenute rezultate, u nastavku su predstavljeni i rezultati zasebnih utjecaja pojedinog efekta na prinos mlijeka i muzne karakteristike krava kako bi lakše interpretirali dobivene rezultate (vidi tablicu 3.3.2.). Iz tablice je vidljivo da su jedino prolaktin i farmakološki tretman značajno utjecali na jednu varijablu, maksimalni protok mlijeka. Što ide u prilog gore spomenutim rezultatima gdje je primijećena najveća razlika kombinacije tretmana dugog dana i kabergolina u odnosu na oba tipa fotoperioda u kontrolnoj skupini na maksimalni protok mlijeka. Ostali efekti nemaju značajan utjecaj na maksimalni protok mlijeka. Svi efekti uključujući i PRL i IGF-1 promatrani na ostalim varijablama nemaju značajan utjecaj na njih.

Tablica 3.3.2. Test fiksiranih efekata na muzne karakteristike krava i prinos mlijeka

Varijabla	Prosječan protok mlijeka		Ukupan prinos mlijeka		Ukupno trajanje mužnje		Maksimalni protok mlijeka	
	F vrijednost	p vrijednost	F vrijednost	p vrijednost	F vrijednost	p vrijednost	F vrijednost	p vrijednost
<i>IGF 1</i>	0,07	0,79	0,50	0,49	0,00	0,95	0,62	0,45
<i>Prolaktin</i>	0,10	0,76	0,04	0,83	0,01	0,91	6,51	<b>0,02</b>
<i>Injeksija</i>	0,16	0,69	0,04	0,85	0,36	0,56	10,82	<b>0,01</b>
<i>Foto</i>	0,00	0,98	0,07	0,80	0,06	0,80	0,55	0,47
<i>Inj x foto</i>	0,21	0,65	0,21	0,65	0,09	0,74	0,00	0,99

$\alpha$  razina značajnosti= 0,05

## 4. Rasprava

Fotoperiod ili svjetlosni period ima jasne fiziološke odgovore u reprodukciji, rastu, laktaciji i zdravlju jedinke (Reksen i sur., 1999.). Još od prvih rezultata istraživanja provedenog 1978. godine (Peters) o galaktopoetskim učincima fotoperioda u trajanju od 16 sati svjetla-8 sati tame, brojna su istraživanja potvrdila stimulaciju dugog dana na prinos mlijeka. Tako je Peters (1978.) ustvrdio da dolazi do značajnog galaktopoetskog odgovora već nakon 10 dana primjene umjetnog svjetla. Reksen i suradnici (1999.) su zaključili kako izlaganje krava svjetlu u trajanju od 12 sati stimulira veću proizvodnju mlijeka u odnosu na krave koje su izložene svjetlu manje od 12 sati na dan. Uglavnom, dokazi podupiru teoriju da dugi dani imaju galaktopoetski učinak kod goveda (Dahl i sur., 2000.) (vidi tablicu 4.1.). Endokrini učinak koji stoji iza povećanog prinos mlijeka i dalje nije sa sigurnošću identificiran, stoga se uz učinak svjetlosnog perioda promatrao i zaseban učinak prolaktina na prinos i muzne karakteristike krava. Nakon svih analiza i rezultata u svrhu procjene utjecaja fotoperioda i prolaktina na prinos mlijeka i muzne karakteristike krava i uzevši u obzir da je nekoliko istraživanja potvrdilo povećanje prinosa mlijeka od 1,4 do 3,3 kg/dan prilikom manipulacije svjetlosnim periodom kod krava, vidljivo je kako suprotno od očekivanog, nema značajne razlike utjecaja tretmana nakon tri tjedna primjene svakog od tretmana. S obzirom na to da je u ovom istraživanju izostao očekivani učinak, treba svakako uzeti i u obzir istraživanje iz 2003. godine (Dahl i Petitclerc) u kojem je zaključeno da je odgovor endokrinog sustava postepen i značajan tek nakon 3-4 tjedna izlaganja dugom svjetlosnom periodu. Za potrebe ovog istraživanja primjena tretmana je trajala ukupno tri tjedna te je po završetku trećeg tjedna napravljena tranzicija između tretmana. Uzevši to u obzir kada promatramo ranije spomenutu tezu i rezultate ovog istraživanja, lako moguće da je tretman prekinut u trenutku kada se očekivao značajniji odgovor endokrinog sustava. Također, postoje određene sumnje kako endokrini sustav životinja životinje neće reagirati na stimulatívne učinke dugog dana ako su vanjske temperature ispod 0 °C (Peters i sur., 1980.), no s obzirom na to da se istraživanje provodilo pri kraju zime-početkom jeseni 2016. godine, u kontroliranim i zatvorenim uvjetima, uz jednu od najtoplijih zima u Francuskoj ikada (Erdman, 2016.), možemo sa sigurnošću odbaciti tu sumnju.

Tablica 4.1. Sažetak različitih istraživanja svjetlosnog perioda na prinos mlijeka

Autor(i)	Tip svjetla	Odgovor na dugi sv. period	
		Povećanje	prinos mlijeka (kg/d)
Peters i sur. (33)	Flourescentno		2,0
Peters i sur. (32)	Flourescentno		1,4
Stanisiewski i sur. (40)	Flourescentno		2,2
Bilodeau i sur. (1)	Flourescentno		2,0
Evans i Hacker (13)	Flourescentno		2,8
Phillips i Schofield (34)	Flourescentno		3,3
Dahl i sur. (6)	Metal-halidno		2,2
Miller i sur. (27)	Metal-halidno		1,9

Izvor: G. E. Dahl

\*brojevi u zagradama se odnose na redne brojeve u poglavlju Literatura

Kako bi se dodatno proučio utjecaj svjetla na prinos mlijeka, promatrane su i varijable vezane za muzne karakteristike krava koje naposljetku utječu i na sami prinos mlijeka (maksimalni protok, prosječni protok, trajanje mužnje) kako bi s većom sigurnošću potvrdili ranije spomenute teorije. S obzirom na to da nekoliko prijašnjih istraživanja sugerira kako je prinos mlijeka u prosjeku veći kod krava u kojih je trajanje mužnje dulje (Sandrucci i sur., 2007; Gray i sur., 2011.), trajanje mužnje je dakako bila jedna od varijabli od interesa. Također, ovim istraživanjem se ustanovila relativno jaka pozitivna linearna veza između trajanja mužnje i ukupnog prinosa (tablica 3.2.1.) mlijeka. Međutim, ovim istraživanjem je ustanovljeno kako svjetlosni period nema učinak ni na ukupno trajanje mužnje, samim time niti na ukupan prinos mlijeka, kao niti na prosječni i maksimalni protok mlijeka (tablica 3.3.1.). Svakako bi trebalo ponoviti istraživanje s duljim vremenskim periodom kako bi s još većom sigurnošću mogli potvrditi ili odbaciti dobivene rezultate.

Uzevši u obzir da je uz primjenu svjetlosnog perioda, primjenjivan i farmakološki tretman, ovdje nailazimo na jedinu značajnu razliku između primjenjivanih tretmana, a to je značajna razlika između utjecaja kabergolina i dugog svjetlosnog perioda na maksimalni protok mlijeka u odnosu na ostale tretmane koji nisu uključivali kabergolin (tablica 3.3.1.). Kako bi lakše shvatili uočenu razliku između tretmana i dodatno ispitali utjecaj prolaktina i IGF – 1 na prinos

i muzne karakteristike krava, u Tablici 3.3.2. prezentirani su i rezultati utjecaja pojedinih efekata na svaku od 4 varijabli (prinos mlijeka, maksimalni protok, prosječni protok i duljinu trajanja mužnje). Efekti za koje su ispitivani pojedinačni utjecaji na varijable su redom: duljina dana, farmakološki tretman, prolaktin i IGF-1 kao i sama interakcija fotoperioda i farmakološkog tretmana. Poznato je kako prolaktin utječe na prinos mlijeka utječući u isto vrijeme na metaboličku aktivnost MEC-a i broj tih stanica u mamarnom tkivu (Lacasse i sur., 2016.). No, iz priloženog (tablica 3.3.3.) je vidljivo kako najznačajniji i jedini utjecaj ima farmakološki tretman na maksimalni protok mlijeka, kao i prolaktin. S obzirom na to da je kabergolin imao ulogu inhibicije prolaktina, možemo s opravdanom sumnjom pripisati razliku između tretmana farmakološkoj primjeni kabergolina. Isto tako možemo povezati veće količine prolaktina s većim maksimalnim protokom mlijeka. Uzevši u obzir da se prolaktin izlučuje kao odgovor na sami čin mužnje kako bi se laktacija nastavila uspješno održavati (Ostrom, 1990.). Zanimljivo je i kako osim maksimalnog protoka mlijeka, prolaktin nije značajno utjecao ni na jednu drugu varijablu kao što su prinos mlijeka, trajanje mužnje i prosječni protok mlijeka. Ti rezultati idu u prilog istraživanja Plauta i suradnika (1987.), koji su ustvrdili kako primjena egzogenog prolaktina nema utjecaj na prinos mlijeka. Ipak, te rezultate treba uzeti sa zadržkom kada ih se interpretira u odnosu sa svjetlosnim periodom jer je istraživanje prekinuto, odnosno završeno u trenutku kada se učinci dugog svjetlosnog perioda tek počinju pojavljivati (Dahl i sur., 2000.). Svi ostali čimbenici kao što su duljina dana, IGF – 1 i interakcija dvaju tretmana nemaju značajan utjecaj na maksimalni protok mlijeka, kao ni na ostale varijable.

## 5. Zaključak

- Uzevši u obzir sve rezultate i sve analize, sa sigurnošću možemo zaključiti kako duljina dana, odnosno broj sati provedenih na svjetlu ili suncu ne utječe na muzne karakteristike krava, kao niti na prinos mlijeka.
- Izuzetak je maksimalni protok mlijeka koji je bio značajno najmanji kod tretmana sa dugim danom (16h) i injekcijom kabergolina



## 6. Popis literature

1. Bilodeau P. P., Petitclerc D., St. Pierre N., Pelletier G., St. Lauernt G. J. (1989). Effects of Photoperiod and Pair-Feeding on Lactation of Cows Fed Corn or Barley Grain in Total Mixed Rations. *J Dairy Sci* 72(11): 2999-30005. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(89)79452-2
2. Boutinaud M., Guinard-Flament J., Jammes H. (2004). The number and activity of mammary epithelial cells, determining factors for milk production. *Reprod Nutr Dev* 44: 499-508. doi: 10.1051/rnd:2004054
3. Capuco A. V., Ellis S. E., Hale S. A., Long E., Erdman R. A., Zhao X., Paape M. J. (2003). Lactation persistency: Insights from mammary cell proliferation studies. *J Anim Sci* 81(3): 18-31
4. Dahl G. E., Bauchanan B. A., Tucker H. A. (2000). Photoperiodic effects on dairy cattle: a review. *J Dairy Sci* 83(4): 885-93. doi: 10.3168/jds.S0022-0,02(00)74952-6
5. Dahl G. E., Elsasser T. H., Capuco A. V., Erdman R. A., Peters R. R. (1997). Effects of a Long Daily Photoperiod on Milk Yield and Circulating Concentrations of Insulin-Like Growth Factor-I<sup>1</sup>. *J Dairy Sci* 80: 2784–2789
6. Dahl G. E., Petitclerc D. (2003). Managment of photoperiod in the dairy herd for improved production and health. *Journal of Animal Science* 81(15): 11-17. doi: 10.2527/2003.81suppl\_311x
7. Dahl G. E., Tao S., Thompson I. M. (2012). Lactation biology symposium: Effects of photoperiod on mammary gland development and lactation. *Journal of Animal Science*, 90(3): 755760. doi: 10.2527/jas.2011-4630
8. Daughaday W. H., Rotwein P. (1989). Insulin-like growth factors I and II. Peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum, and tissue concentrations. *Endocr Rev*, 10(1): 68-91. doi: 10.1210/edrv-10-1-68
9. Davis J. W. (2018). *Introduction to Generalized Linear Mixed Models*. University of Georgia, Griffin Campus
10. Dufour J. M., Farhat A., Gardiol L., Khalaf L. (1998). *Econometrics Journal*. Blackwell Publishers Ltd, 108 Cowley Road, Oxford OX4 1JF, United Kingdom pp. 154-173
11. Elks J., Ganellin C. R. (1990). *The Dictionary of Drugs: Chemical Dana: Chemical Dana, Structures and Bibliographies*. Springer pp. 204-

12. Erdman J. (2016). Abnormally Warm Month Ever Recorded, NOAA and NASA Say.  
Dostupno na: <https://weather.com/news/climate/news/record-warmest-february-global-2016>
13. Evans N. M., Hacker R. R. (1989). Effect of Chronobiological Manipulation of Lactation in the Dairy Cow. *J Dairy Sci* 72(11): 2921-2927. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(89)79443-1
14. Flind D. J., Gardner M. (1994). Evidence that growth hormone stimulates milk synthesis by direct action on the mammary gland and that prolactin exerts effects on milk secretion by maintenance of mammary deoxyribonucleic acid content and tight junction status. *Endocrinology*, 135(3): 1119-24. doi:10.1210/endo.135.3.8070355
15. Flint D. J., Gardner M. (1994). Evidence that growth hormone stimulates milk synthesis by direct action on the mammary gland and that prolactin exerts effects on milk secretion by maintenance of mammary deoxyribonucleic acid content and tight junction status. *Endocrinology* 135(3): 1119-1124. doi: 10.1210/endo.135.3.8070355
16. Gray K. A., Vacirca F., Bagnato A., Samoer A. B., Rossoni A., Maltecca C. (2011). Genetic evaluations for measures of the milk-flow curve in the Italian Brown Swiss population. *J Dairy Sci* 94: 960-970. doi: 10.3168/jds.2009-2759
17. Herve L., Lollivier V., Quesnel H., Bruckmaier R. M., Boutinaud M. (2016a) Effect of day length and inhibition of prolactin on the mammary epithelial cell exfoliation process.
18. Herve L., Quesnel H., Lollivier V., Portanguen J., Bruckmaier R. M., Boutinaud M. (2017). Mammary epithelium disruption and mammary epithelial cell exfoliation during milking in dairy cows. *J Dairy Sci* 100: 9824-9834. doi: 10.3168/jds.2017-13166
19. Herve L., Quesnel H., Lollivier V., Boutinaud M. (2016b). Regulation of cell number in mammary gland by controlling the exfoliation process in milk ruminants. *J Dairy Sci* 99: 854-863. doi: 10.3168/jds.2015-9964
20. Herve L., Lollivier V., Quesnel H., Boutinaud M. (2018). Oxytocin Induces Mammary Epithelium Disruption and Could Stimulate Epithelial Cell Exfoliation. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* 23(3): 139-147. doi: 10.1007/s10911-018-9400-8.

21. Hossner K., McCusker R., Dodson M. (1997). Insulin-like growth factors and their binding proteins in domestic animals. *Animal Science*, 64(1): 1-15. doi: 10.1017/S1357729800015502
22. Jansen M., van Schaik F. M. A., Ricker A. T., Bullock B., Woods D. E., Gabbay D. E., Nussbaum A. L., Sussenbach J. S., Van den Brande J. L. (1983). Sequence of cDNA encoding human insulin-like growth factor I precursors. *Nature*, 306: 609-611. doi: 10.1038/306609a0
23. Lacasse P., Ollier S., Lollivier V., Boutinaud M. (2016). New insights into the importance of prolactin in dairy ruminants. *J Dairy Sci* 99: 864-874. doi: 10.3168/jds.2015-10035
24. Linzell J. L., Peaker M., Taylor J. C. (1975). The effects of prolactin and oxytocin on milk secretion and on the permeability of the mammary epithelium in the rabbit. *The Journal of Physiology*, 253(2): 547-563. doi:10.113/jphysiol.1975.sp011206
25. Lucy M. C. (2008). Functional Differences in the Growth Hormone and Insulin-like Growth Factor Axis in Cattle and Pigs: Implications for Post-partum Nutrition and Reproduction. *Reproduction in Domestic Animals*, 43: 31-39. doi: 10.1111/j.14390531.2008.01440.x
26. Matanović S. (2016). Estimation of genetic parameters of a binomial variable using the GLIMMIX SAS procedure. Master's thesis. University of Zagreb, Faculty of Agriculture, Zagreb
27. Miller A. R. E., Stanisiewski E. P., Erdman R. A., Douglass L. W., Dahl G. E. (1999). Effects of long daily photoperiod and bovine somatotropin (Trobtest) on milk yield in cows. *J Dairy Sci* 82: 1716-1722.
28. Muthuramalingam P., Kennedy A. D., Berry R. J. (2006). Plasma melatonin and insulin-like growth factor-1 responses to dim light at night in dairy heifers. *Journal of pineal research*. Doi: 10.1111/j.1600-079X.2005.00303.x
29. Ostrom K. M. (1990). A review of the hormone prolactin during lactation. *Prog Food Nutr Sci* 14(1): 1-43
30. Peters R. R., Chapin L. T., Emery R. S., Tucker H. A. (1980). Growth and hormonal response of heifers to various photoperiods. *J Anim Sci* 51(5): 1148-53. doi: 10.2527/jas1980.5151148x.

31. Peters R. R., Chapin L. T., Emery R. S., Tucker H. A. (1981). Milk yield, feed intake, prolactin, growth hormone, and glucocorticoid response of cows to supplemental light. *J Dairy Sci* 64: 1671-1678.
32. Peters R. R., Chapin L. T., Leining K. B., Tucker H. A. (1978). Supplemental lighting stimulates growth and lactation in cattle. *Science* 199: 911-912
33. Peters R. R., Tucker H. A. (1978). Prolactin and growth hormone responses to photoperiod in heifers. *Endocrinology* 103: 229-234.
34. Phillips C. J. C., Schofield S. A. (1989). The effect of supplementary light on the production and behavior of dairy cows. *Anim Prod* 48: 293-303.
35. Plaut K., Bauman D. E., Agergaard N., Akers R. M. (1987). Effect of exogenous prolactin administration on lactational performance of dairy cows. *Domest Anim Endocrinol* 4: 279-290
36. Razali N. M., Wah Y. B. (2011), Power comparisons of Shapiro-Wilk, Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors and Anderson-Darling tests. *Journal of Statistical Modeling and Analytics*. Vol.2 No.1, 21-33
37. Reksen O., Tverdal A., Landsverk K., Kommisrud E., Boe K. E., Ropstad E. (1999). Effects of photointensity and photoperiod on milk yield and reproductive performance of Norwegian Red Cattle. *J Dairy Sci* 82: 810-816
38. Riddle O., Bates R. W., Dykshorn S. W. (1933). The preparation, identification and assay of prolactin – a hormone of the anterior pituitary. *American journal of physiology*. doi: 10.1152/ajplegacy.1933.105.1.191
39. Sandrucci A., Tamburini A., Bava L., Zucali M. (2007). Factors affecting milk flow traits in dairy cows: results of a field study. *J Dairy Sci* 90(3): 1159-1167. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(07)71602-8
40. Stanisiewski E. P., Mellenberger R. W., Anderson C. R., Tucker H. A. (1985). Effect of Photoperiod on Milk Yield and Milk Fat in Commercial Dairy Herds. *J Dairy Sci* 68(5): 1134-1140. doi: 10.3168/jds.S022-0302(85)80939-5
41. Stelwagen K., McFadden H. A., Demmer J. (1999). Molecular and cellular endocrinology. Vol. 156, pp 55-61
42. Stricker P., Grueter F. (1929). Action of the anterior lobe of the pituitary on the milk rise. Argosy Book store, ABAA, ILAB, New York, U.S.A. (na francuskom)

43. Thode H. (2002). *Testing for normality*, 1st edition. CRC Press, Boca Raton. Dostupno na: <https://doi.org/10.1201/9780203910894>
44. Tishkoff S., (2021). Human were drinking milk before the coul digest it. Web article. Dostupno na: <https://www.science.org/content/article/humans-were-drinking-milk-they-could-digest-it>
45. Zhongming Z., Linong L., Xiaona Y., Wangqiang Z., Wie L. (2021). Humans were drinking milk before they could digest it. *Science*. doi: 10.1126/science.abg7697

## Životopis

Filip Pomper, rođen u Zagrebu, 17. 04. 1997., završio je svoje formalno srednje-školsko obrazovanje u periodu od 2012 do 2016. Završivši opću gimnaziju u Zagrebu upisuje Agronomski fakultet u Zagrebu, smjer animalne znanosti. Nakon završene 3 godine preddiplomskog studija i dobivanja titule prvostupnika animalnih znanosti na temelju rada Domestikacija goveda, nove spoznaje i primjena genomike, mentor Ino Ćurik. Upisuje diplomski studij animalne genetike i oplemenjivanja životinja na Agronomskom fakultetu u Zagrebu.