

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ
ΑΝΘΡΩΠΟΥ

&

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΖΩΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ &
ΥΔΑΤΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ

ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
“ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΓΑΛΑΚΤΟΣ
ΚΑΙ ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ”

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΟΣ ΔΙΑΚΟΠΗΣ ΤΗΣ ΑΜΕΛΕΗΣ
ΣΤΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ ΚΑΙ ΣΤΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ
ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΑ ΠΡΟΒΑΤΑ

ΑΡΜΑΟΥ Ν. ΕΥΡΥΔΙΚΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΣΙΜΙΤΖΗΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ, Λέκτορας ΓΠΑ

ΑΘΗΝΑ, ΜΑΪΟΣ 2017

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΜΕΛΕΤΗ
ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΔΙΑΣΤΗΜΑΤΟΣ ΔΙΑΚΟΠΗΣ ΤΗΣ ΑΜΕΛΕΗΣ
ΣΤΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ ΚΑΙ ΣΤΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΤΟΥ
ΓΑΛΑΚΤΟΣ ΣΤΑ ΠΡΟΒΑΤΑ

ΑΡΜΑΟΥ Ν. ΕΥΡΥΔΙΚΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΣΙΜΙΤΖΗΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ, Λέκτορας ΓΠΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Μασούρας Θεοφύλακτος, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

Κουτσούλη Παναγιώτα, Λέκτορας ΓΠΑ

Σιμιτζής Παναγιώτης, Λέκτορας ΓΠΑ

ΑΘΗΝΑ, ΜΑΪΟΣ 2017

Ευχαριστίες

Με την ολοκλήρωση της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους όσους βοήθησαν στην υλοποίησή της. Πρωτίστως οφείλω τις θερμές μου ευχαριστίες στον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Σιμιτζή Παναγιώτη για την καθοδήγηση, το συνεχές και αμέριστο ενδιαφέρον του καθώς όμως και τον χρόνο που μου αφιέρωσε κατά την εκτέλεση και συγγραφή της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά και τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής κ. Κουτσούλη Παναγιώτα και κ. Μασούρα Θεοφύλακτο για τη συμπαράσταση και τη συμβολή τους στην ολοκλήρωση της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης.

Από το Τμήμα Επιστήμης Ζωϊκής Παραγωγής και Υδατοκαλλιεργειών του ΓΠΑ θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Διευθυντή του Εργαστηρίου Γενικής και Ειδικής Ζωοτεχνίας, κ. Πολίτη Ιωάννη για τις εύστοχες παρατηρήσεις του, που έπαιξαν καθοριστικό ρόλο στην ορθή διεκπεραίωση του πειράματος. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Θεοδώρου Γεώργιο και την κ. Μπινιάρη Ευγενία για την καθοδήγηση και στήριξή τους στις εργαστηριακές αναλύσεις

Από το Εργαστήριο Γαλακτοκομίας του ΓΠΑ θα ήθελα να ευχαριστήσω την κ. Ζωΐδου Ευαγγελία και τον κ. Πάσχο Θεόδωρο για τη σημαντική συμβολή τους στις εργαστηριακές αναλύσεις.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επίκουρο καθηγήτρια του ΓΠΑ κ. Χαρισμιάδου Μαρία για τη στήριξή της και το ενδιαφέρον της για την πρόοδο της μεταπτυχιακής μου μελέτης.

Τέλος, ευχαριστώ από καρδιάς τους γονείς μου που μου έδωσαν τη δυνατότητα να πραγματοποιήσω τις μεταπτυχιακές μου σπουδές και για όλη τη στήριξη και ενθάρρυνσή τους καθόλη τη διάρκειά τους.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A/A		Σελίδα
	ΠΡΟΛΟΓΟΣ	1
A	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ	2
1	ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΠΡΟΒΕΙΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ	2
2	ΓΑΛΑΚΤΟΓΕΝΕΣΗ	4
2.1	Μηχανισμός της γαλακτογένεσης	4
2.2	Σύσταση πρόβειου γάλακτος	4
3	ΓΑΛΑΚΤΟΠΑΡΑΓΩΓΗ	12
3.1	Στάδια γαλακτοπαραγωγής των προβατινών	12
3.2	Διατήρηση γαλακτοπαραγωγής	14
3.3	Παράγοντες που επηρεάζουν τη γαλακτοπαραγωγική ικανότητα των προβατινών	15
3.3.1	Ο αριθμός των κυοφορούμενων εμβρύων	15
3.3.2	Ο αριθμός των γαλουχούμενων αρνιών	15
3.3.3	Το φύλο και το σωματικό βάρος στη γέννηση	15
3.3.4	Το σωματικό μέγεθος και η θρεπτική κατάσταση των προβατινών	16
3.3.5	Το στάδιο της γαλακτικής περιόδου	16
3.3.6	Ο αριθμός της γαλακτικής περιόδου	16
3.3.7	Ο αριθμός των αμέλξεων εντός ενός 24ώρου	17
3.3.8	Η διατροφή	17
3.3.9	Ο γονότυπος	17
3.3.10	Η εποχή του τοκετού	17
3.3.11	Η υγιεινή κατάσταση	18
3.3.12	Οι κλιματικοί παράγοντες	18
4	ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ	18
4.1	Ανάπτυξη του μαστού	18
4.2	Παλινδρόμηση του μαστού	21
5	ΣΥΣΤΗΜΑ ΠΛΑΣΜΙΝΗΣ-ΠΛΑΣΜΙΝΟΓΟΝΟΥ	26
5.1	Σύνθεση και λειτουργία του συστήματος πλασμίνης-πλασμινογόνου	26
5.2	Παράγοντες που επηρεάζουν το σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου	28
5.2.1	Το είδος και η φυλή	28
5.2.2	Το στάδιο και ο αριθμός της γαλακτικής περιόδου	29
5.2.3	Η εποχή	30
5.2.4	Η υγιεινή κατάσταση του μαστού	31
5.2.5	Οι συνθήκες επεξεργασίας του γάλακτος	33
5.2.5.1	Θερμική επεξεργασία	33
5.2.5.2	Συνθήκες τυροκόμησης	33
5.2.6	Το pH του γάλακτος	34

5.2.7	Οι συνθήκες συντήρησης του γάλακτος	34
5.2.7.1	Συντήρηση του γάλακτος στο ψυγείο	34
5.2.7.2	Συντήρηση του γάλακτος σε θερμοκρασία περιβάλλοντος	34
5.2.8	Οι βακτηριακές πρωτεάσες	35
5.3	Επίδραση του συστήματος πλασμίνης-πλασμινογόνου	35
5.3.1	Στο γάλα και τα παράγωγά του	35
5.3.2	Στον οργανισμό	36
6	ΔΙΑΚΟΠΗ ΤΗΣ ΑΜΕΛΞΗΣ ΣΤΑ ΜΗΡΥΚΑΣΤΙΚΑ	37
6.1	Επίδραση της διακοπής της άμελξης στην παραγωγή και σύσταση του γάλακτος των μηρυκαστικών	37
6.1.1	Στα βοοειδή	41
6.1.2	Στις αίγες	47
6.1.3	Στα πρόβατα	53
6.2	Επίδραση της διακοπής της άμελξης στον οργανισμό	53
6.2.1	Υγιεινή κατάσταση μαστού	53
6.2.2	Επίδραση στο αρνητικό ενεργειακό ισοζύγιο	55
6.2.3	Μεταβολές στην εκδήλωση της συμπεριφοράς	56
B	ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	59
7	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	59
7.1	Σκοπός	59
7.2	Ζωικό κεφάλαιο	59
7.3	Μετρήσεις	62
7.3.1	Προσδιορισμός γαλακτοπαραγωγής	62
7.3.2	Προσδιορισμός χημικής σύστασης του γάλακτος	62
7.3.3	Προσδιορισμός ανόργανων στοιχείων (Na, K) του γάλακτος	63
7.3.4	Προσδιορισμός ενεργότητας πλασμίνης-πλασμινογόνου	63
7.4	Στατιστική ανάλυση	64
8	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	65
8.1	Επίδραση του διαστήματος διακοπής της άμελξης στην παραγωγή και στη χημική σύσταση του γάλακτος γαλακτοπαραγωγών προβατινών	65
8.1.1	Γαλακτοπαραγωγή	65
8.1.2	Χημική Σύσταση	68
8.1.2.1	Λίπος	68
8.1.2.2	Πρωτεΐνη	72
8.1.2.3	Λακτόζη	77
8.1.2.4	Ολικά Στερεά	79
8.1.2.5	Στερεό υπόλειμμα άνευ λίπους (ΣΥΑΛ)	80
8.2	Επίδραση του διαστήματος διακοπής της άμελξης στα ανόργανα στοιχεία (Na, K) του γάλακτος γαλακτοπαραγωγών προβατινών	82

8.3	Επίδραση του διαστήματος διακοπής της άμελης στο σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου γαλακτοπαραγωγών προβατινών	87
8.3.1	Πλασμίνη (ΠΛ, PL)	87
8.3.2	Πλασμινογόνο (ΠΓ, PG)	88
8.3.3	Ενεργοποιητής πλασμινογόνου (ΕΠ, PA)	89
8.3.4	Άθροισμα ΠΛ+ΠΓ	90
8.3.5	Λόγος ΠΓ:ΠΛ	91
10	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	93
	ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	94
	ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	94

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η διακοπή της άμελξης, συνήθως ως αποτέλεσμα απρόβλεπτων παραγόντων, μπορεί να έχει επιπτώσεις στο ζώο, τόσο σε επίπεδο ευζωίας και φυσιολογίας, αλλά και στην παραγωγικότητά του, σύμφωνα με μελέτες που έχουν γίνει στις γαλακτοπαραγωγές αγελάδες. Στα πρόβατα δεν υπάρχουν πειραματικά δεδομένα σχετικά με την επίδραση που μπορεί να έχει η διακοπή της άμελξης για μικρά διαστήματα, μίας, δύο ή τριών ημερών στη φυσιολογία του μαστού, στην παραγόμενη ποσότητα και στη χημική σύσταση του πρόβειου γάλακτος. Σκοπός λοιπόν της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης ήταν να μελετηθεί η επίδραση του διαστήματος διακοπής της άμελξης (μία, δύο ή τρεις ημέρες) στην ανάκτηση της γαλακτοπαραγωγής, στα χαρακτηριστικά του πρόβειου γάλακτος, δηλαδή στη σύνθεση (λίπος, πρωτεΐνη, λακτόζη, ολικά στερεά), στην περιεκτικότητά του σε Na και K, καθώς και στη φυσιολογία του μαστού και στο σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου, αφού τα αυξημένα επίπεδα πλασμίνης και ενεργοποιητή του πλασμινογόνου στο γάλα των αγελάδων έχουν συνδεθεί με την παλινδρόμηση του μαστού.

Για τη διεξαγωγή του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν 36 προβατίνες, 20 της φυλής Χίου και 16 της Καραγκούνικης φυλής, οι οποίες χωρίστηκαν σε 4 ομάδες των 9 ζώων με βάση τα επίπεδα της γαλακτοπαραγωγής τους. Στην πρώτη ομάδα (ομάδα Α) εφαρμόστηκε διακοπή της άμελξης για 1 ημέρα, στη δεύτερη (ομάδα Β) για 2 ημέρες, στη τρίτη (ομάδα Γ) για 3 ημέρες, ενώ η τέταρτη ομάδα (ομάδα Δ) αποτέλεσε το μάρτυρα του πειράματος και δεν εφαρμόστηκε καμία διακοπή. Τα δείγματα λαμβάνονταν μετά από την ανάμιξη του γάλακτος που προέρχονταν από την πρωινή και απογευματινή άμελξη. Πραγματοποιήθηκαν 3 γαλακτομετρήσεις πριν από τη διακοπή της άμελξης (-10, -5 και -1 ημέρα), ενώ μετά τη διακοπή της άμελξης δείγματα γάλακτος συλλέχθηκαν κατά την 1η, 2η, 3η, 4η, 5η, 6η, 7η, 8η, 15η, 22η και 29η ημέρα. Στη συνέχεια έγιναν οι αναλύσεις της φυσικοχημικής σύστασης του γάλακτος (πριν τη διακοπή και την 1η, 8η, 15η, 22η και 29η ημέρα μετά την επανέναρξη της άμελξης), όπως και ο προσδιορισμός της ενεργότητας της πλασμίνης και του πλασμινογόνου και των επιπέδων Na και K (πριν τη διακοπή και την 1η, 2η και 5η ημέρα μετά την επανέναρξη της άμελξης). Η γαλακτοπαραγωγή αυξήθηκε σημαντικά κατά την επανέναρξη της άμελξης και στις 3 πειραματικές ομάδες (Α: 50% · Β: 60% · Γ: 50%) σε σχέση με αυτή του μάρτυρα και επέστρεψε στα ίδια επίπεδα με αυτά πριν τη διακοπή της άμελξης την 3η ημέρα, ενώ η λιποπεριεκτικότητα αυξήθηκε σημαντικά μία εβδομάδα μετά την επανέναρξη της άμελξης μόνο στις ομάδες Β και Γ (30%) σε σχέση με αυτή του μάρτυρα με επιστροφή στα προ της διακοπής επίπεδα την 3η εβδομάδα. Παρομοίως, τα ολικά στερεά αυξήθηκαν σημαντικά μία εβδομάδα μετά την επανέναρξη της άμελξης μόνο στις ομάδες Β (11,5%) και Γ (16%) σε σχέση με αυτά του μάρτυρα. Επίσης, η πρωτεΐνοπεριεκτικότητα αυξήθηκε σημαντικά κατά την επανέναρξη της άμελξης μόνο στις ομάδες Β (17%) και Γ (23%) σε σχέση με αυτή του μάρτυρα με επιστροφή στα προ της διακοπής επίπεδα την 3η εβδομάδα, ενώ τα επίπεδα της λακτόζης μειώθηκαν σημαντικά κατά την επανέναρξη της άμελξης μόνο στις ομάδες Β (18%) και Γ (28,7%) σε σχέση με αυτή του μάρτυρα και επέστρεψαν σε αυτά που ήταν πριν την εφαρμογή της διακοπής της άμελξης μία εβδομάδα μετά. Σε ότι αφορά τα ανόργανα συστατικά, κατά την επανέναρξη της άμελξης, η συγκέντρωση του νατρίου αυξήθηκε μόνο στις ομάδες Β (139,4%) και Γ (329,4%) και αυτή του καλίου μειώθηκε και στις 3 ομάδες (Α: 18%, Β: 37,5%, Γ: 17%) σε σχέση με αυτές του μάρτυρα, ενώ τα επίπεδα και των δύο στοιχείων επέστρεψαν στα ίδια περίπου επίπεδα με αυτά πριν την επέμβαση την 5η ημέρα. Κατά συνέπεια, ο λόγος των συγκεντρώσεων νατρίου-καλίου αυξήθηκε μόνο στις ομάδες Β (310%) και Γ (392%) σε σχέση με αυτόν του μάρτυρα, ενώ και στις δύο ομάδες ο λόγος επέστρεψε στα ίδια περίπου επίπεδα με αυτά πριν την επέμβαση την 5η ημέρα. Τέλος, η συγκέντρωση της πλασμίνης (23,5%), του πλασμινογόνου (22,5%), του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (18%), καθώς και του αθροίσματος πλασμίνης-πλασμινογόνου (23%) αυξήθηκαν σημαντικά κατά την επανέναρξη της άμελξης μόνο στην ομάδα Γ σε σχέση με αυτά των υπόλοιπων ομάδων και επέστρεψαν στα προ της διακοπής επίπεδα την 5η ημέρα. Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης έδειξαν ότι η διακοπή της άμελξης, κυρίως αυτή που εφαρμόστηκε

στις ομάδες Β και Γ, επηρέασε την παραγωγή και χημική σύσταση του γάλακτος, αλλά οι μεταβολές αυτές ήταν αναστρέψιμες σε σύντομο χρονικό διάστημα. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι το σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου συνδέεται με την παλινδρόμηση του μαστού των προβάτων, γεγονός που είναι πιο διακριτό στην ομάδα όπου εφαρμόστηκε διακοπή της άμελξης για τρεις ημέρες.

Λέξεις κλειδιά: διακοπή άμελξης· γαλακτοπαραγωγή· χημική σύσταση γάλακτος· νάτριο· κάλιο· σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου.

SUMMARY

Cessation of milking due to unpredictable factors may cause adverse effects on animal welfare, physiology and productivity, according to data from studies implemented in lactating cows. However, scarce experimental data exist on the effect of milking omission interval on mammary physiology, quantity and chemical composition of sheep milk. The purpose of this study was therefore to investigate the effect of an extended milking interval (one, two or three days) on recovery of milk yield, milk composition (fat, protein, lactose, total solids), plasminogen-plasmin system and milk Na and K concentration. Thirty-six dairy ewes from two Greek breeds, Chios (n=20) and Karagouniki (n=16), were allocated to four groups of nine animals each according to their milk yield. The first three groups; A, B and C were subjected to non-milking intervals of 1, 2 and 3 days, respectively, while no cessation of milking was applied in the 4th group (D) (control group). Milk samples were collected both from the morning and afternoon milking and mixed to obtain the milk sample of each experimental day. Milk yield was measured thrice before intervention (-10, -5 and -1 day), while during the re-milking period milk samples were collected at Day 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 15, 22 και 29. Milk samples were collected for measurement of milk composition (before cessation of milking and Day 1, 8, 15, 22 and 29 after re-milking), activity of plasmin and plasminogen and Na and K concentration in milk (before cessation of milking and Day 1, 2 and 5 after re-milking). These data indicated that the milk yield was significantly increased for the experimental groups (A:50%· B: 60%· C: 50% at the first day of re-milking after its cessation) and a full recovery of milk yield was observed at the 3d day after re-milking, while the lipid content was significantly increased only in the 2- and 3-day non-milked groups (B and C: 30%) one week after re-milking and a full recovery of lipid content was occurred during the third week after re-milking. Similarly, the total solids were significantly increased only for the 2- and 3-day non-milked groups (B: 11.5%· C: 16%) compared to the controls one week after re-milking. Furthermore, the protein content was significantly increased only for the 2- and 3-day non-milked groups (B: 17%· C: 23%) at the first day of re-milking after its cessation and a full recovery of protein content was occurred the third week after re-milking, while the lactose content was significantly decreased only in the 2- and 3-day non-milked groups (B: 18%· C: 28,7%) compared to the controls at the first day of re-milking after its cessation and a full recovery of lactose content was occurred during the 1st week after re-milking. In addition, the concentration of sodium (Na) was significantly increased only for the 2- and 3-day non-milked groups (B: 139.4%· C: 329.4%) compared to the controls at the first day of re-milking, while the concentration of potassium (K) was significantly decreased for the 1-, 2- and 3-day non-milked groups (A: 18%· B: 37.5%· C: 17%) at the first day of re-milking and a full recovery of both was occurred at the 5th day after re-milking. Consequently, the Na⁺/K⁺ ratio in the milk was significantly increased only for the 2- and 3-day non-milked groups (B: 310%· C: 392%) compared to the controls at the first day of re-milking and a full recovery of both groups was occurred at the 5th day after re-milking. Finally, the concentration of plasmin (23.5%), plasminogen (22.5%), plasminogen activator (18%) and the sum of plasmin and plasminogen (23%) were significantly increased only for the 3-day non-milked group (C) compared to the controls at the first day of re-milking after its cessation and a full recovery was occurred the 5th day after re-milking. In conclusion, the results of the present study indicate that cessation of milking mainly influences milk yield and milk composition of the 2- and 3-day non-milked groups, but these effects are reversible in a short period of time. Moreover, plasminogen-plasmin system is involved in the mammary gland involution in dairy ewes, which is more obvious in the 3-day non-milked group.

Key words: milking interval· milk yield· milk composition· sodium· potassium· plasminogen-plasmin system.

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

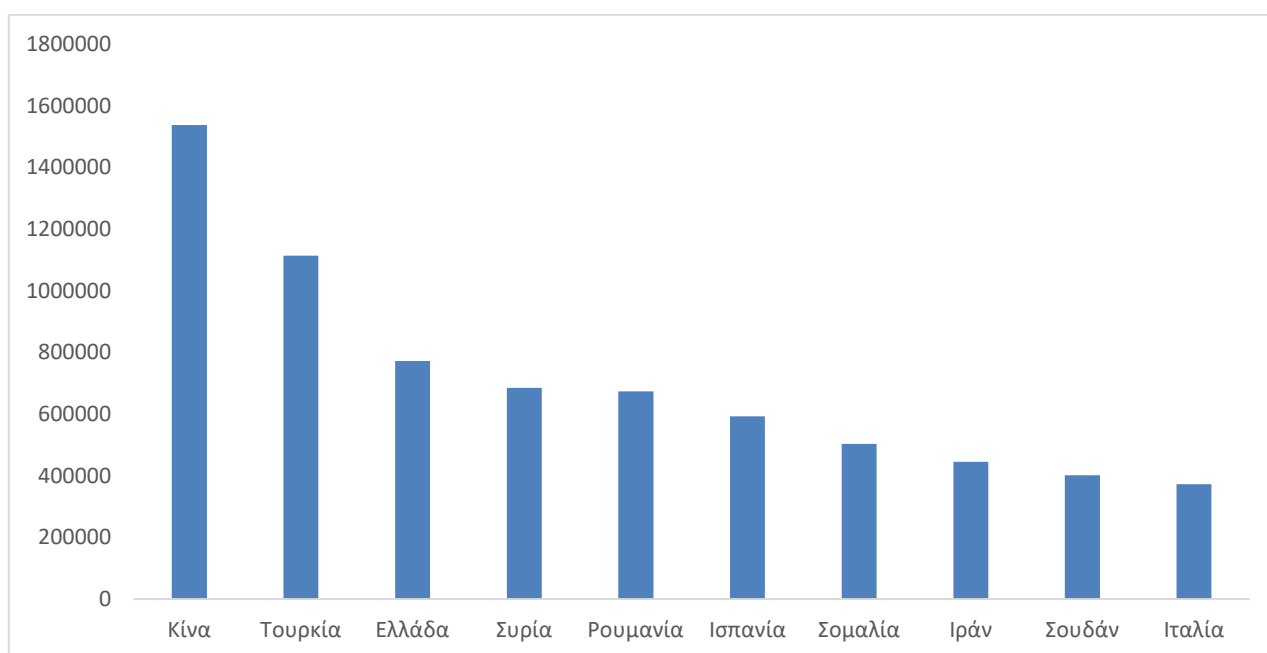
Η γαλακτοπαραγωγός προβατοτροφία αποτελεί σημαντικό κλάδο της κτηνοτροφίας στην Ελλάδα, αλλά και παγκοσμίως. Ειδικότερα στη χώρα μας, λόγω των ιδιαίτερων εδαφοκλιματικών συνθηκών που επικρατούν, το πρόβειο γάλα συμβάλλει στην παρασκευή γαλακτοκομικών προϊόντων, όπως η φέτα, με μεγάλη δυναμική στον κλάδο των εξαγωγών των κτηνοτροφικών προϊόντων, γεγονός που καθιστά την προβατοτροφία σημαντικό κλάδο για την εγχώρια αγροτική παραγωγή. Η παραγόμενη ποσότητα καθώς και η χημική σύσταση του γάλακτος των μηρυκαστικών εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από το σύστημα διαχείρισης της εκτροφής, που περιλαμβάνει τη διατροφή του ζώου και τη συχνότητα άμελξης του. Η διακοπή λοιπόν της άμελξης και η επίδρασή της στην παραγωγή και χημική σύσταση του γάλακτος, όπως και στη φυσιολογία του μαστού έχουν αποτελέσει αντικείμενο μελέτης στις αγελάδες και στις αίγες, ενώ δεν υπάρχουν επιστημονικές δημοσιεύσεις για τα πρόβατα.

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι να συμβάλλει στην κατεύθυνση αυτή, μελετώντας την επίδραση του διαστήματος διακοπής της άμελξης σε προβατίνες γαλακτοπαραγωγικού τύπου. Η μελέτη αφορά εκτός από την παραγόμενη ποσότητα γάλακτος και τη χημική του σύσταση, και στη σύνδεση του συστήματος πλασμίνης-πλασμινογόνου με το φαινόμενο της παλινδρόμησης του μαστού.

Α. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

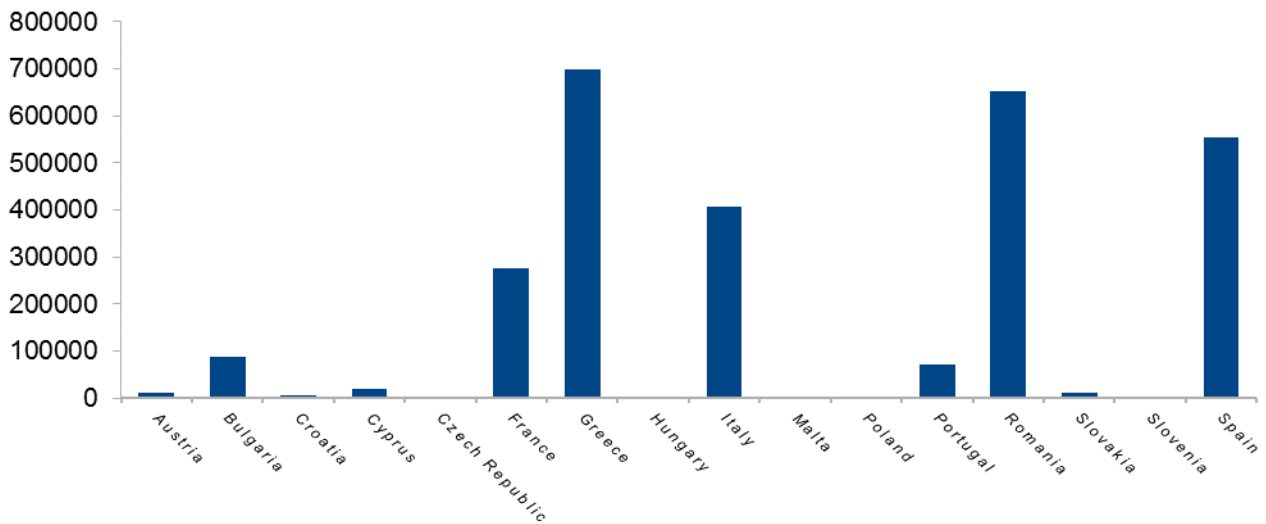
1. ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΠΡΟΒΕΙΟΥ ΓΑΛΑΚΤΟΣ

Σε ότι αφορά τις δέκα κορυφαίες χώρες παραγωγής πρόβειου γάλακτος το 2014, η Κίνα είναι η μεγαλύτερη παραγωγός πρόβειου γάλακτος στον κόσμο με παραγωγή 1.537.706 τόνων (Διάγραμμα 1). Η Τουρκία είναι η 2η μεγαλύτερη παραγωγός με παραγωγή 1.113.937 τόνων, ενώ η Ελλάδα καταλαμβάνει τη 3η θέση στην παγκόσμια κατάταξη, παράγοντας 772.072 τόνους. Ακολουθούν στη 4η θέση η Συρία με παραγωγή 685.191 τόνων, στην 5η θέση η Ρουμανία με 673.477 τόνους, στην 6η θέση η Ισπανία με 592.800 τόνους, στην 7η θέση η Σομαλία με 503.523 τόνους, στην 8η θέση το Ιράν με 445.000 τόνους, στην 9η θέση το Σουδάν με 402.000 τόνους και τέλος, τη 10η θέση καταλαμβάνει η Ιταλία με παραγωγή 372.526 τόνων.



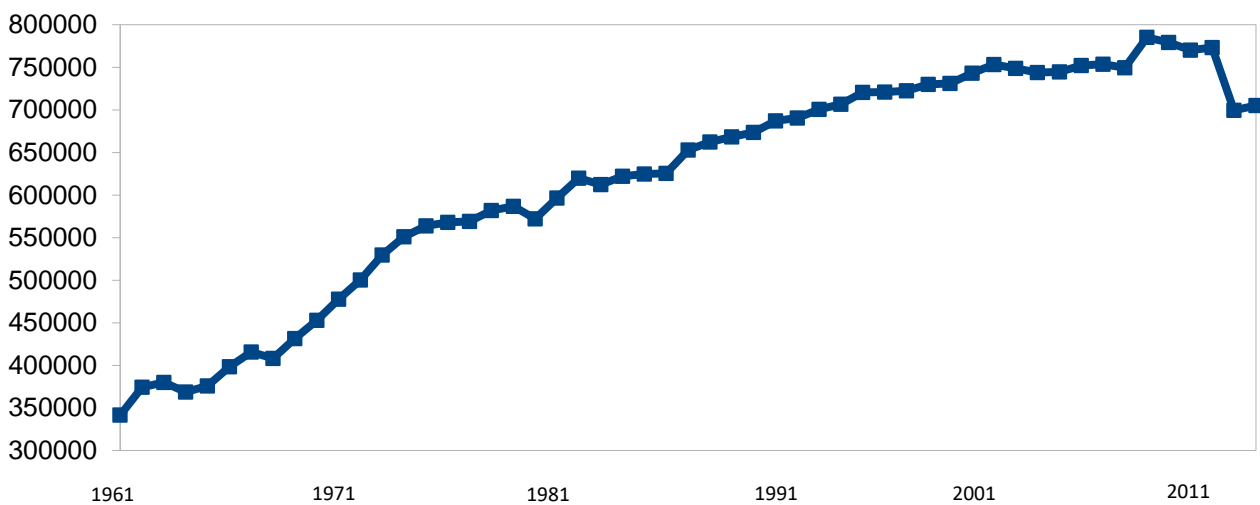
Διάγραμμα 1 Κατανομή χωρών με τη μεγαλύτερη παραγωγή πρόβειου γάλακτος παγκοσμίως για το 2014 (Πηγή: FAO, 2017)

Στο Διάγραμμα 2 παρατίθενται οι χώρες της Ε.Ε με τη μεγαλύτερη παραγωγή πρόβειου γάλακτος κατά το έτος 2012. Διαπιστώνεται λοιπόν ότι την 1η θέση καταλαμβάνει η Ελλάδα με παραγωγή γάλακτος 699.500 τόνους, ενώ στη 2η και 3η θέση βρίσκονται η Ρουμανία και η Ισπανία με παραγωγή 650.912 και 552.517 τόνους, αντίστοιχα. Στη συνέχεια ακολουθούν η Ιταλία (406.177 τόνους), η Γαλλία (274.686 τόνους), η Βουλγαρία (87.403 τόνους), η Πορτογαλία (71.485 τόνους) και η Κύπρος (19.500 τόνους).



Διάγραμμα 2 Στοιχεία χωρών με τη μεγαλύτερη παραγωγή πρόβειου γάλακτος στην Ε.Ε. για το 2012 (Πηγή: FAO, 2017)

Η παραγωγή πρόβειου γάλακτος στην Ελλάδα ανέρχεται στους 705.000 τόνους για το έτος 2013. Σύμφωνα με τα στοιχεία του FAO (2017), η παραγωγή πρόβειου γάλακτος στην Ελλάδα παρουσίασε σταδιακή αύξηση τις προηγούμενες δεκαετίες, ενώ τα τελευταία χρόνια μειώνεται, όπως απεικονίζεται και στο Διάγραμμα 3.



Διάγραμμα 3 Παραγόμενη ποσότητα πρόβειου γάλακτος στην Ελλάδα για το διάστημα 1961-2013 (Πηγή: FAO, 2017)

2. ΓΑΛΑΚΤΟΓΕΝΕΣΗ

2.1 Μηχανισμός της γαλακτογένεσης

Κατά τη γαλακτογένεση τα μαστικά κύτταρα διαφοροποιούνται και μετατρέπονται από μη εκκριτικά σε εκκριτικά, σε δύο φάσεις. Στην πρώτη φάση διαφοροποιείται το κυτταρόπλασμα και ενεργοποιείται το ενζυμικό σύστημα του κυττάρου με αποτέλεσμα τη μικρή έκκριση των συστατικών του γάλακτος, ενώ στη δεύτερη φάση, που αρχίζει λίγες ημέρες πριν από ή κατά τον τοκετό, λαμβάνει χώρα μαζική έκκριση του γάλακτος (Ρογδάκης, 2006).

Η έναρξη της γαλακτοπαραγωγής επηρεάζεται από διάφορους ορμονικούς παράγοντες, καθώς επίσης και από τη διαδικασία της άμελης. Πράγματι, τα επίπεδα συγκέντρωσης της προλακτίνης και των κορτικοστεροειδών αυξάνονται απότομα κατά τον τοκετό με αποτέλεσμα την εκκίνηση της γαλακτοπαραγωγής. Η γαλακτογόνο δράση της προλακτίνης εξασκείται αφού προηγουμένως στα γαλακτικά κύτταρα επιδράσουν τα κορτικοστεροειδή. Η προλακτίνη συνδέεται στους υποδοχείς της, που βρίσκονται στη βασική μοίρα του γαλακτικού κυττάρου και προκαλεί φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα STAT (*Signal Transducers and Activator of Transcription*), ο οποίος στη συνέχεια μεταναστεύει στον πυρήνα του κυττάρου όπου προσδένεται στους υποκινητές των γονιδίων των πρωτεϊνών του γάλακτος και προάγει τη μεταγραφή τους. Ακολουθεί αύξηση του ρυθμού σύνθεσης των πρωτεϊνών του γάλακτος και συγκεκριμένα της καζεΐνης και της α-γαλακταλβουμίνης. Όσο για τη γαλακτογόνο δράση των κορτικοστεροειδών ξεκινάει μετά την πτώση των επιπέδων συγκέντρωσης της προγεστερόνης στο αίμα, οπότε δεσμεύονται περισσότερο αποτελεσματικά στους υποδοχείς τους που παρουσιάζουν μεγάλη δεσμευτική συγγένεια προς την προγεστερόνη (Ρογδάκης, 2006).

Ο ρόλος, λοιπόν, της προγεστερόνης είναι αυτός του να αναχαιτίζει τη γαλακτογόνο δράση της προλακτίνης, να καταλαμβάνει τους υποδοχείς των κορτικοστεροειδών και να παρεμποδίζει την παραγωγή ενζύμων τα οποία είναι αναγκαία για τη σύνθεση των συστατικών του γάλακτος. Από έρευνες σε αίγες διαπιστώθηκε ότι ένας άλλος αναστολέας της δραστηριότητας των μαστικών εκκριτικών κυττάρων είναι η προσταγλανδίνη $PGF_{2\alpha}$. Η παραγωγή της $PGF_{2\alpha}$ είναι υψηλή πριν από τον τοκετό, ενώ μετά ο μαστός παύει να εκκρίνει την $PGF_{2\alpha}$ στο φλεβικό αίμα και την αποδομεί σε έναν ανενεργό μεταβολίτη. Με αυτό τον τρόπο η ορμόνη αυτή εξουδερώνεται πριν από τον τοκετό και καθίσταται εφικτή η εκκίνηση της γαλακτοπαραγωγής (Ρογδάκης, 2006).

Επιπλέον, τόσο η ινσουλίνη όσο και η αυξητική ορμόνη συμβάλλουν στην εκκίνηση της γαλακτοπαραγωγής, αν και ο ρόλος της τελευταίας δεν είναι ακόμα σαφής. Η ινσουλίνη είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη, τη βιωσιμότητα και τη λειτουργία των μαστικών εκκριτικών κυττάρων, καθώς επίσης ενισχύει τη δράση της προλακτίνης στην έκφραση των γονιδίων των καζεϊνών (Ρογδάκης, 2006).

2.2 Σύσταση του πρόβειου γάλακτος

Τα θηλυκά των μηρυκαστικών, όπως η αγελάδα, η προβατίνα και η αίγα, ξεκινούν τη γαλακτοπαραγωγή αμέσως μετά τη γέννηση του νεογνού (Zobel *et al.*, 2015). Το μαστικό έκκριμα που παράγεται τις πρώτες 3-5 ημέρες της γαλακτικής περιόδου λέγεται πρωτόγαλα και μετά ακολουθεί η προοδευτική αλλά πολύ γρήγορη μετάβαση στο γάλα, το οποίο έχει και διαφορετική

χημική σύσταση (Ζυγογιάννης, 2014). Το πύαρ ή πρωτόγαλα στα πρόβατα εμφανίζεται πλουσιότερο σε βασικά συστατικά από ότι το αγελαδινό (Πίνακας 1) (Anifantakis, 1986).

Πίνακας 1 Σύσταση πρωτογάλακτος (%) προβάτων και αγελάδων σε πρώιμο στάδιο μετά τον τοκετό

Σύσταση πρωτογάλακτος	Πρόβατο	Αγελάδα
Λίπος	13,0	5,1
Πρωτεΐνη	11,8	7,1
Λακτόζη	3,3	3,6
Ανόργανα συστατικά	0,9	0,9
Ολικά στερεά	28,9	15,6

(Πηγή: Anifantakis, 1986)

Παρομοίως, σε σχέση με τα υπόλοιπα μηρυκαστικά, το γάλα των προβάτων παρουσιάζει υψηλότερα ποσοστά σε ολικά στερεά καθώς επίσης και τα θρεπτικά του συστατικά είναι περισσότερα (Πίνακας 2) (Larson & Smith, 1974· Posati & Orr, 1976· Anifantakis, 1980· Jenness, 1980· Haenlein & Caccese, 1984· Banda, 1999· Aganga *et al.*, 2002). Θεωρείται λοιπόν τρόφιμο υψηλής διατροφικής αξίας (Devendra & McLeroy, 1988).

Πίνακας 2 Μέσες τιμές των βασικών συστατικών (%) του αίγειου, πρόβειου, αγελαδινού και ανθρώπινου γάλακτος

Σύσταση	Αίγα	Πρόβατο ^a	Αγελάδα	Άνθρωπος
Λίπος	3,8	7,9	3,6	4,0
Στερεό υπόλειμμα άνευ λίπους (ΣΥΑΛ)	8,9	12,0	9,0	8,9
Λακτόζη	4,1	4,9	4,7	6,9
Πρωτεΐνη	3,4	6,2	3,2	1,2
Καζεΐνη	2,4	4,2	2,6	0,4
Αλβουμίνη, γλοβουλίνη	0,6	1,0	0,6	0,7
Μη πρωτεϊνικά αζωτούχα συστατικά	0,4	0,8	0,2	0,5
Τέφρα	0,8	0,9	0,7	0,3
Θερμίδες/100 ml	70	105	69	68

(Πηγή: Posati & Orr, 1976· Jenness, 1980· Larson & Smith, 1974· Haenlein & Caccese, 1984· ^aAnifantakis *et al.*, 1980)

Επιπλέον, με βάση τα στοιχεία 86 αναφορών που συλλέχθηκαν κατά τη χρονική περίοδο 1973 έως 2005, οι ερευνητές Paccard & Lagriffoul (2006) δημιούργησαν έναν συγκεντρωτικό πίνακα με τις ελάχιστες, μέσες και μέγιστες τιμές των βασικών συστατικών του πρόβειου γάλακτος (Πίνακας 3).

Πίνακας 3 Βασικά συστατικά (g ανά 100g) του πρόβειου γάλακτος

	Ολικά στερεά (n = 36)	Λίπος (n = 68)	Πρωτεΐνες (n = 67)	Καζεΐνες (n = 18)	Λακτόζη (n = 30)
Μέσες τιμές	18,1	6,82	5,59	4,23	4,88
Ελάχιστες τιμές	14,4	3,60	4,75	3,72	4,11
Μέγιστες τιμές	20,7	9,97	7,20	5,01	5,51

(Πηγή: Paccard & Lagriffoul, 2006)

Το λίπος είναι το πιο σημαντικό συστατικό του γάλακτος όσον αφορά το κόστος, τη θρεπτική αξία και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά που προσδίδει στα γαλακτοκομικά προϊόντα (Park *et al.*, 2007). Επίσης, το λίπος είναι το πιο μεταβλητό, ποιοτικά και ποσοτικά, συστατικό του γάλακτος και εξαρτάται από το στάδιο της γαλακτοπαραγωγής, την εποχή, τη φυλή, τον γονότυπο και τη διατροφή (Raynal-Ljutovac *et al.*, 2008).

Τα λιπίδια βρίσκονται στο γάλα με μορφή σφαιριδίων και είναι ιδιαίτερα άφθονα στο πρόβειο και αίγιο γάλα (Mehaia, 1995· Attaie & Richter, 2000). Το μέγεθος των λιποσφαιριών είναι μικρότερο στο πρόβειο και αίγιο γάλα, με μέση διάμετρο 3,30 και 3,49 μm, αντίστοιχα, σε σχέση με τα λιποσφαίρια του αγελαδινού γάλακτος που παρουσιάζουν μέση διάμετρο 4,55 μm (Καμιναρίδης & Μοάτσου, 2009). Το γεγονός αυτό τα καθιστά πιο εύπεπτα και ο μεταβολισμός τους είναι πιο αποδοτικός σε αντιστοιχία με αυτόν των λιπιδίων του αγελαδινού γάλακτος (Park, 1994).

Τη μεγαλύτερη ομάδα των λιπιδίων αποτελούν τα τριγλυκερίδια (98%), στα οποία συμπεριλαμβάνεται ένας μεγάλος αριθμός εστεροποιημένων λιπαρών οξέων (Park, 2006· Haenlein & Wendorff, 2006). Σε σχέση με το αγελαδινό γάλα, στο πρόβειο και στο αίγιο απαντώνται υψηλά ποσοστά λιπαρών οξέων μικρής και μεσαίας αλυσίδας (Πίνακας 4), όπως το καπροϊκό (C6:0), το καπρυλικό (C8:0), το καπρικό (C10:0) και το λαουρικό (C12:0) (Alonso *et al.*, 1999· Goudjil *et al.*, 2004). Στα προαναφερόμενα λιπαρά οξέα οφείλονται τα ιδιαίτερα αρώματα και γεύσεις των τυριών, ενώ μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον έλεγχο της νοθείας στο γάλα από μίξη διαφορετικών ειδών γάλακτος (Park *et al.*, 2007).

Πίνακας 4 Κυριότερα λιπαρά οξέα μικρής και μεσαίας αλυσίδας (%) στο πρόβειο, αίγιο και αγελαδινό γάλα

Λιπαρά οξέα	Πρόβειο ^a	Αίγιο ^b	Αγελαδινό
καπροϊκό (C6:0)	2,9	2,4	1,6
καπρυλικό (C8:0)	2,6	2,7	1,3
καπρικό (C10:0)	7,8	10,0	3,0
λαουρικό (C12:0)	4,4	5,0	3,1

(Πηγή: ^a Goudjil *et al.*, 2004· ^b Alonso *et al.*, 1999· Park *et al.*, 2007)

Το πρόβειο γάλα περιέχει το υψηλότερο ποσοστό σε πρωτεΐνες συγκριτικά με το αίγιο και το αγελαδινό (Πίνακας 2). Αλλά και το περιεχόμενο των πρωτεϊνών ποικίλλει ανάλογα με τη φυλή, την ηλικία, το στάδιο της γαλακτοπαραγωγής, τη διατροφή, το κλίμα, το δείκτη πολυδυμίας, την εποχή και την κατάσταση υγείας του μαστού (Raynal-Ljutovac *et al.*, 2008· Park *et al.*, 2007).

Οι πρωτεΐνες του γάλακτος διαχωρίζονται σε δύο φάσεις, σε μια ασταθή φάση μικελλών που συνίσταται από τις καζεΐνες και σε μια διαλυτή φάση που συνίσταται από τις πρωτεΐνες του ορού (Anifantakis, 1986· Alichanidis & Polychroniadou, 1996· Ramos & Juarez, 2003). Οι καζεΐνες (α_1 -CN, α_2 -CN, β -CN και κ -CN) αποτελούν τις κυριότερες πρωτεΐνες του πρόβειου γάλακτος σε ποσοστό 76–83% των ολικών πρωτεϊνών, ενώ οι πρωτεΐνες του ορού αντιστοιχούν στο 17–22% των ολικών πρωτεϊνών, με σημαντικότερες τη β -λακτοσφαιρίνη και την α -λακταλβουμίνη (Park *et al.*, 2007). Στο γάλα οι καζεΐνες βρίσκονται συνδεδεμένες με το φωσφορικό ασβέστιο και με μικρά ποσοστά μαγνησίου, νατρίου, καλίου και κιτρικού άλατος, τα οποία διαχέουν το φως και προσδίδουν στο γάλα αδιαφανή άσπρη όψη (Anifantakis, 1986· Alichanidis & Polychroniadou, 1996· Ramos & Juarez, 2003). Η ετερογένεια που παρατηρείται στις καζεΐνες οφείλεται στην παρουσία γενετικών παραλλαγών καθώς και σε άλλους παράγοντες, όπως η φωσφορυλίωση, η διαφορετικής έκτασης

γλυκοζυλίωση της κ-CN, η συνύπαρξη πρωτεϊνών με αλυσίδες διαφορετικού μήκους (Park *et al.*, 2007).

Στο πρόβειο γάλα το 95% του συνολικού αζώτου είναι πρωτεϊνικής προέλευσης και το 5% μη πρωτεϊνικής, ενώ στο αίγειο γάλα είναι πιο υψηλό το ποσοστό του αζώτου μη πρωτεϊνικής προέλευσης και λιγότερο το άζωτο καζεϊνικής προέλευσης (Park *et al.*, 2007). Το γεγονός αυτό ευθύνεται για τις χαμηλές αποδόσεις του αίγειου γάλακτος σε τυρί και για την αδύναμη δομή και υφή του γιουρτιού του (Guo, 2003) εν αντιθέσει με το πρόβειο γάλα, που παρουσιάζει πολύ καλές πηκτικές ιδιότητες. Πράγματι, ο χρόνος πήξης του πρόβειου γάλακτος είναι μικρότερος και το πήγμα παρουσιάζεται πιο συνεκτικό (Grandison, 1986).

Η λακτόζη είναι ο μεγαλύτερος υδατάνθρακας στο γάλα των προβατινών, των αιγών και των αγελάδων (Park *et al.*, 2007) και συντίθεται στον μαστικό αδένα από την ένωση της γλυκόζης με τη γαλακτόζη (Park, 2006). Αποτελεί ένα πολύτιμο συστατικό για τον οργανισμό διότι ευνοεί την εντερική απορρόφηση του ασβεστίου, του μαγνησίου και του φωσφόρου, καθώς επίσης τη χρησιμοποίηση της βιταμίνης D (Campbell & Marshall, 1975). Ακόμα η λακτόζη συμβάλλει στη διατήρηση της ωσμωτικής ισορροπίας ανάμεσα στην κυκλοφορία του αίματος και στα κύτταρα των κυψελίδων του μαστικού αδένα κατά τη διάρκεια της σύνθεσης του γάλακτος και της έκκρισής του στις κοιλότητες των αδενοκυψελίδων και στο σύστημα των εκφορητικών αγωγών του μαστού (Larson & Smith, 1974).

Η λακτόζη στο πρόβειο γάλα και σε αυτό των υπόλοιπων μηρυκαστικών έχει χαμηλότερες τιμές στο πρωτόγαλα, στην αρχή δηλαδή της γαλακτοπαραγωγής, όπως και προς το τέλος της, σε αντίθεση με το λίπος και την πρωτεΐνη (Pulina & Bencini, 2004· Haenlein & Wendorff, 2006). Σε σχέση με το αγελαδινό γάλα, η λακτόζη στο πρόβειο γάλα βρίσκεται στα ίδια περίπου επίπεδα, ενώ τα επίπεδα του λίπους και της πρωτεΐνης είναι υψηλότερα (Πίνακας 2). Η λακτόζη λοιπόν σε αναλογία με τα ολικά στερεά του πρόβειου γάλακτος προκύπτει λιγότερη εν συγκρίσει με τα ολικά στερεά του αγελαδινού (22–27% προς 33–40%, αντίστοιχα) (Ramos & Juarez, 2003).

Το περιεχόμενο σε ανόργανα συστατικά του αίγειου και πρόβειου γάλακτος είναι υψηλότερο σε σχέση με του αγελαδινού (Πίνακας 5). Συγκεκριμένα, τα επίπεδα του ασβεστίου (Ca), φωσφόρου (P), μαγνησίου (Mg), ψευδάργυρου (Zn), σιδήρου (Fe) και χαλκού (Cu) είναι υψηλότερα στο πρόβειο γάλα σε σχέση με το αγελαδινό, ενώ παρατηρείται το αντίθετο για το κάλιο (K), νάτριο (Na) και μαγγάνιο (Mn) (Πίνακας 5). Το γάλα των προβάτων παρουσιάζει υψηλότερα ποσοστά Ca, Mg και P σε σχέση με το αίγειο γάλα, τα ποσοστά του Na είναι ίδια και στα δύο είδη, ενώ του K είναι υψηλότερα στο αίγειο γάλα (Πίνακας 5) (Aganga *et al.*, 2002). Επίσης, το ποσοστό σε τέφρα του πρόβειου γάλακτος (0.9%) είναι υψηλότερο συγκριτικά με το αγελαδινό (0.7%) και το αίγειο γάλα (0.8%) (Πίνακας 5). Γενικά, το περιεχόμενο σε ανόργανα συστατικά διαφοροποιείται περισσότερο στο πρόβειο γάλα σε σχέση με το αγελαδινό (Rincon *et al.*, 1994) και αυτό οφείλεται στη διαφορετική σύσταση του σιτηρεσίου και τις συνθήκες κατά τη διάρκεια του έτους (Park *et al.*, 2007).

Οι συγκεντρώσεις των ανόργανων συστατικών ανάμεσα στο γάλα και στο αίμα διαφέρουν κατά πολύ (Park *et al.*, 2007). Συγκεκριμένα, το κάλιο (K), το ασβέστιο (Ca) και ο φώσφορος (P) παρουσιάζονται σε υψηλότερα ποσοστά στο γάλα, ενώ το νάτριο (Na) και το χλώριο (Cl) παρουσιάζονται σε χαμηλότερα ποσοστά σε σχέση με το αίμα λόγω του ενεργού μηχανισμού άντλησης (Park *et al.*, 2007). Η αντλία του Na–K ρυθμίζει την ωσμωτικότητα του καλίου ανάμεσα

στο αίμα, το κυτταρόπλασμα του γαλακτικού κυττάρου και το γάλα, ενώ η αντλία του Ca μεταφέρει το ασβέστιο, για τη σύνθεση των καζεϊνικών μικελλών, από τη βασική μεμβράνη στο κυτταρόπλασμα και από εκεί στη συσκευή του Golgi των αδενοκυψελίδων του μαστού (Pulina & Bencini, 2004). Οι μετακινήσεις των ιόντων, της λακτόζης και του νερού ανάμεσα στο αίμα, τα ενδοκυτταρικά υγρά των αδενοκυψελίδων και το γάλα καθορίζουν την ωσμωτική ισορροπία στον υγιή μαστικό αδένα και σχετίζονται με το ύψος της γαλακτοπαραγωγής (Pulina & Bencini, 2004).

Πίνακας 5 Ανόργανα συστατικά (mg ανά 100g) του αίγειου, πρόβειου, αγελαδινού και ανθρώπινου γάλακτος

Ανόργανο συστατικό	Αίγα	Πρόβατο	Αγελάδα	Άνθρωπος
Ca	134	193	122	33
P	121	158	119	43
Mg	16	18	12	4
K	181	136	152	55
Na	41	44	58	15
Cl	150	160	100	60
S	28	29	32	14
Fe	0,07	0,08	0,08	0,20
Cu	0,05	0,04	0,06	0,06
Mn	0,032	0,007	0,02	0,07
Zn	0,56	0,57	0,53	0,38
I	0,022	0,020	0,021	0,007
Se (μg)	1,33	1,00	0,96	1,52
Al	μη διαθέσιμο	0,05–0,18	μη διαθέσιμο	0,06

(Πηγή: Posati and Orr, 1976· Park & Chukwu, 1988, 1989· Jenness, 1980· Haenlein & Caccese, 1984· Debski et al., 1987· Coni et al., 1999· Gebhardt & Matthews, 1991· Park, 2006)

Το πρόβειο γάλα σε σχέση με το αίγειο και το αγελαδινό περιέχει υψηλότερα ποσοστά βιταμινών (Πίνακας 6), με εξαίρεση το β-καροτένιο που υπολείπεται στο αίγειο και πρόβειο γάλα διότι μετατρέπεται εξ ολοκλήρου σε ρετινόλη (Raynal-Ljutovac *et al.*, 2008). Το αίγειο και το πρόβειο γάλα λοιπόν έχουν άσπρο χρώμα, ενώ το αγελαδινό γάλα αποκτά κίτρινο χρώμα λόγω της παρουσίας σε αυτό του καροτενίου (Saini & Gill, 1991). Πρέπει να σημειωθεί ότι στοιχεία ερευνών που αφορούν τις βιταμίνες στο πρόβειο γάλα είναι περιορισμένα (Park *et al.*, 2007).

Πίνακας 6 Βιταμίνες στο αίγειο, πρόβειο, αγελαδινό και ανθρώπινο γάλα

Βιταμίνες	Αίγα	Πρόβατο	Αγελάδα	Άνθρωπος
Βιταμίνη A (IU)	185	146	126	190
Βιταμίνη D (IU)	2,3	0,18	2,0	1,4
Θειαμίνη (mg)	0,068	0,08	0,045	0,017
Ριβοφλαβίνη (mg)	0,21	0,376	0,16	0,02
Νιασίνη (mg)	0,27	0,416	0,08	0,17
Πανθοθενικό οξύ (mg)	0,31	0,408	0,32	0,20
Βιταμίνη B6 (mg)	0,046	0,08	0,042	0,011
Φολικό οξύ (μg)	1,0	5,0	5,0	5,5
Βιοτίνη (μg)	1,5	0,93	2,0	0,4
Βιταμίνη B12 (μg)	0,065	0,712	0,357	0,03
Βιταμίνη C (mg)	1,29	4,16	0,94	5,00

(Πηγή: Posati and Orr, 1976· Park & Chukwu, 1988, 1989· Jenness, 1980· Haenlein & Caccese, 1984· Debski et al., 1987· Coni et al., 1999· Gebhardt & Matthews, 1991· Park, 2006)

Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη σύσταση του γάλακτος είναι η διατροφή, η φυλή, η ατομικότητα, ο δείκτης πολυδυμίας, η εποχή, η διαχείριση της εκτροφής, οι περιβαλλοντικές συνθήκες, η περιοχή, το στάδιο της γαλακτικής περιόδου και η υγιεινή κατάσταση του μαστού (Parkash & Jenness, 1968· Schmidt, 1971· Linzell & Peaker, 1971· Larson & Smith, 1974· Posati & Orr, 1976· Underwood, 1977· Jenness, 1980· Haenlein & Caccese, 1984· Juárez & Ramos, 1986· Park, 1991, 2006).

Ο κυριότερος παράγοντας που ρυθμίζει τη σύσταση των λιπαρών οξέων στο γάλα είναι η διατροφή, και συγκεκριμένα η προσθήκη σε αυτή λιπιδίων ως συμπλήρωμα, όπως διαπιστώθηκε από έρευνες στις αγελάδες (Jensen, 2002), στις αίγες (Chilliard *et al.*, 2003) και στα πρόβατα (Bocquier & Caja, 2001). Πράγματι, σε πείραμα των Chiofalo *et al.* (2004) όπου χορηγήθηκε σε πρόβατα ελαιοπλακούντας (*olive cake*) παρατηρήθηκε αύξηση των μονοακόρεστων λιπαρών οξέων.

Επίσης, από μελέτη των Aganga *et al.* (2002) στο γάλα των προβάτων και των αιγών της φυλής Tswana παρατηρήθηκε σταδιακή αύξηση των ολικών στερεών, της τέφρας, του λίπους και των πρωτεϊνών (πρωτεΐνης, καζεΐνης και αλβουμίνης) με την πρόοδο της γαλακτικής περιόδου μέχρι το τέλος της (Πίνακας 7).

Πίνακας 7 Συστατικά γάλακτος (g/100g) των προβάτων και αιγών της φυλής Tswana

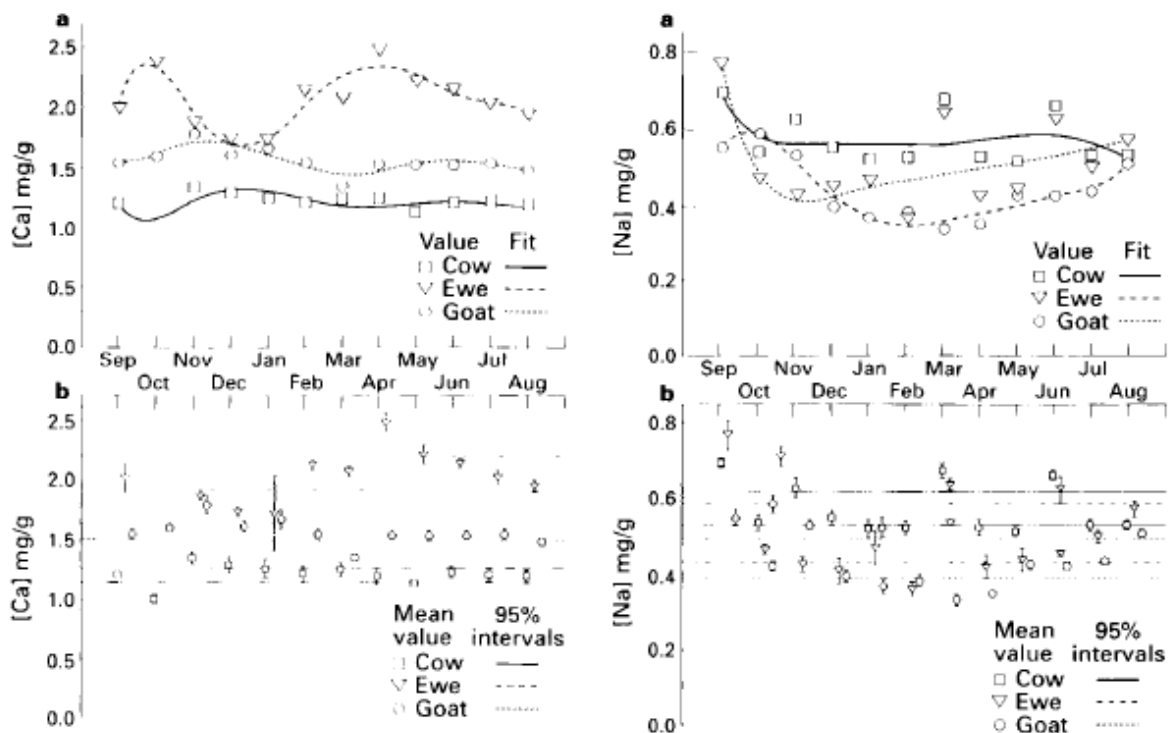
Συστατικά του γάλακτος	Στάδιο γαλακτικής περιόδου (ημέρες)	Πρόβατο	Αίγα
Ολικά στερεά	40	15,02 ± 0,12	12,10 ± 0,42
	166	21,34 ± 0,56	18,19 ± 0,09
Τέφρα	40	0,82 ± 0,008	0,72 ± 0,008
	166	0,97 ± 0,005	0,90 ± 0,004
Λίπος	40	3,67 ± 0,02	4,40 ± 0,04
	166	4,71 ± 0,02	5,42 ± 0,04
Πρωτεΐνη	40	4,27 ± 0,06	3,18 ± 0,04
	166	7,19 ± 0,02	6,97 ± 0,04
Καζεΐνη	40	2,66 ± 0,62	2,24 ± 0,19
	166	6,52 ± 0,23	4,01 ± 0,63
Αλβουμίνη	40	0,35 ± 0,002	0,29 ± 0,02
	166	0,48 ± 0,006	0,40 ± 0,005
Ca	40	1,39 ± 0,08	1,09 ± 0,05
	166	0,29 ± 0,02	0,38 ± 0,11
Mg	40	0,17 ± 0,02	0,14 ± 0,01
	166	0,03 ± 0,02	0,04 ± 0,03
P	40	0,43 ± 0,03	0,32 ± 0,02
	166	0,36 ± 0,07	0,25 ± 0,12
Na	40	0,03 ± 0,008	0,03 ± 0,004
	166	0,01 ± 0,003	0,02 ± 0,002
K	40	0,10 ± 0,04	0,11 ± 0,05
	166	0,25 ± 0,01	0,28 ± 0,03

(Πηγή: Aganga *et al.*, 2002)

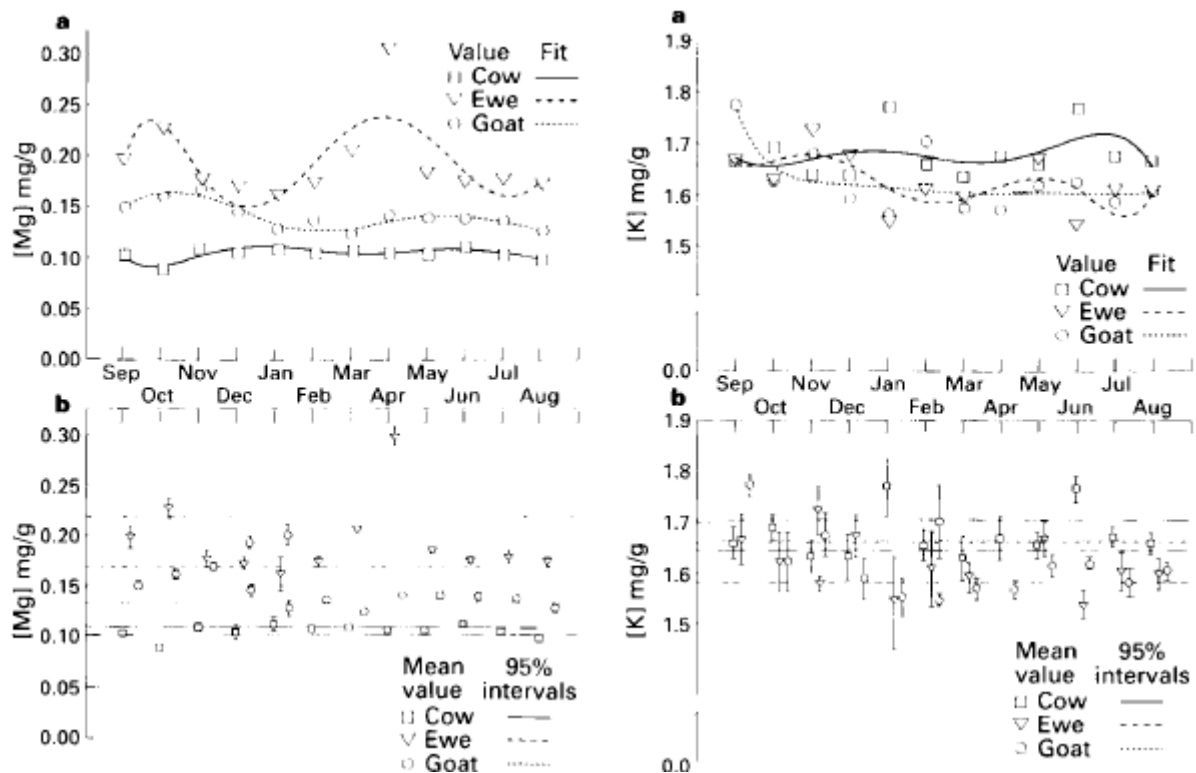
Οι συγκεντρώσεις της λακτόζης στο γάλα δεν διαφοροποιούνται υπερβολικά (Grandpierre *et al.*, 1988· Le Jaouen, 1990· Lopez *et al.*, 1999). Εντούτοις, στο αίγιο γάλα εν αντιθέσει με το αγελαδινό

παρατηρήθηκε ότι το περιεχόμενο της λακτόζης αυξάνεται με την προσθήκη των φυτικών ελαίων ως συμπλήρωμα διατροφής (Chilliard *et al.*, 2005).

Η μεταβλητότητα στο περιεχόμενο των ανόργανων συστατικών στο γάλα σχετίζεται κυρίως με τη γαλακτική περίοδο (Ford *et al.*, 1986). Από έρευνα των Moreno-Rojas *et al.* (1993) σε αγελαδινό, πρόβειο και αίγιο γάλα προέκυψε ότι κατά τις διαφορετικές εποχές του χρόνου το αγελαδινό γάλα υπέστη τις λιγότερες μεταβολές σε ότι αφορά τα ανόργανα συστατικά του, το οποίο κατά κανόνα παρουσιάζει τις χαμηλότερες τιμές σε σχέση με τους άλλους δύο τύπους γάλακτος. Αντίθετα, το πρόβειο γάλα υπέστη τις μεγαλύτερες μεταβολές στα ανόργανα συστατικά του καθόλη τη διάρκεια του έτους (Διάγραμμα 4 & 5). Στο πρόβειο γάλα λοιπόν παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης του νατρίου και μείωση της συγκέντρωσης του καλίου με την πρόοδο της γαλακτικής περιόδου, ενώ οι συγκεντρώσεις του ασβεστίου και μαγνησίου μεταβλήθηκαν ποικιλοτρόπως ανάλογα με τον μήνα του έτους.



Διάγραμμα 4 Μηνιαίες μεταβολές της συγκέντρωσης του Ασβεστίου (Ca) (αριστερά) και του Νατρίου (Na) (δεξιά) στο αγελαδινό, πρόβειο και αίγιο γάλα. (a) Γραμμή τάσης (b) Μέσες τιμές (Πηγή: Moreno-Rojas *et al.*, 1993)



Διάγραμμα 5 Μηνιαίες μεταβολές της συγκέντρωσης του Μαγνησίου (Mg) (αριστερά) και του Καλίου (K) (δεξιά) στο αγελαδινό, πρόβειο και αίγιο γάλα. (a) Γραμμή τάσης (b) Μέσες τιμές (Πηγή: Moreno-Rojas et al., 1993)

Η τάση του ασβεστίου και του μαγνησίου ήταν παρόμοια και στα τρία είδη, ενώ για το νάτριο και το κάλιο δεν παρατηρήθηκε κοινή τάση στα τρία είδη (Διάγραμμα 4 & 5). Οι συγκεντρώσεις του ασβεστίου και του μαγνησίου ήταν υψηλότερες στο πρόβειο και αίγιο γάλα σε σχέση με το αγελαδινό, ενώ το περιεχόμενο σε νάτριο και κάλιο ήταν παρόμοιο και στα τρία είδη (Πίνακας 8). Οι μεγαλύτερες διακυμάνσεις που παρατηρούνται στο αίγιο και πρόβειο γάλα καθόλη τη διάρκεια του έτους οφείλονται κυρίως σε μεταβολές στη διατροφή κατά τις διαφορετικές εποχές (Ford *et al.*, 1986).

Πίνακας 8 Περιεχόμενο σε ανόργανα συστατικά (mg/g) του αγελαδινού, πρόβειο και αίγιου γάλακτος

	Ασβέστιο	Μαγνήσιο	Νάτριο	Κάλιο
Αγελάδα	1,20 ± 0,11	0,105 ± 0,007	0,58 ± 0,07	1,68 ± 0,07
Πρόβατο	2,06 ± 0,27	0,194 ± 0,040	0,51 ± 0,12	1,57 ± 0,20
Αίγα	1,55 ± 0,12	0,142 ± 0,014	0,44 ± 0,08	1,63 ± 0,08

(Πηγή: Moreno-Rojas et al., 1993)

Επίσης, σε έρευνα των Polychroniadou & Vaforoulou (1985), που πραγματοποιήθηκε σε δύο εγχώριες φυλές προβάτων, την Καραγκούνικη και των Σερρών, διαπιστώθηκε ότι η επίδραση του σταδίου της γαλακτοπαραγωγής στο περιεχόμενο του μαγνησίου και του λίπους ήταν σημαντική και για τις δύο φυλές, ενώ η επίδρασή της στο περιεχόμενο του καλίου και της λακτόζης ήταν σημαντική μόνο για την Καραγκούνικη φυλή. Συγκεκριμένα, με εξαίρεση τη συγκέντρωση του λίπους, η οποία αυξήθηκε κατά το τέλος της γαλακτικής περιόδου, το μοναδικό συστατικό του γάλακτος που επηρεάστηκε σημαντικά από το στάδιο της γαλακτικής περιόδου ($P < 0,05$) ήταν η λακτόζη στη

Καραγκούνικη φυλή προβάτων. Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν από τις έρευνες των Ridha *et al.* (1982) στο πρόβειο γάλα της φυλής Karadi.

Πίνακας 9 Συγκεντρώσεις των κύριων ανοργάνων στοιχείων (mg/100g) στο πρόβειο γάλα της Καραγκούνικης φυλής και της φυλής Σερρών

Φυλές	Αριθμός δειγμάτων	Στάδιο γαλακτικής περιόδου (εβδομάδες)	K	Na	Ca	Mg	P	Κιτρικά	Ολικά άλατα
Καραγκούνικη	8	7-10	125	46	210	7,3	160	183	731,3
	8	11-14	126	51	209	9,2	157	208	760,2
	10	15-19	115	50	203	8,8	153	183	712,8
	8	20-23	115	50	207	9,9	150	175	706,9
	8	24-27	106	55	215	10,3	143	177	706,3
Σερρών	8	7-10	107	48	199	6,4	162	165	687,4
	8	11-14	112	52	205	8,4	155	187	719,4
	10	15-19	106	50	204	9,2	143	207	719,2
	8	20-23	106	53	197	10,9	143	166	675,9

(Πηγή: Polychroniadou & Vaforoulou, 1985)

Το περιεχόμενο του νατρίου αυξήθηκε με αργό ρυθμό καθόλη τη διάρκεια της γαλακτικής περιόδου, ενώ ταυτόχρονα σημειώθηκε μείωση του περιεχομένου του καλίου μετά τη 14^η εβδομάδα, η οποία ήταν σημαντική ($P < 0,05$) μόνο στο γάλα της Καραγκούνικης φυλής (Πίνακας 9). Αντίθετα, στην έρευνα των Aganga *et al.* (2002) το Ca, Mg, P και Na μειώθηκαν με την πρόοδο της γαλακτικής περιόδου, με εξαίρεση το K που αυξήθηκε.

Επιπλέον, στη ίδια έρευνα των Polychroniadou & Vaforoulou (1985) παρατηρήθηκε δυνατή αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στο κάλιο και το νάτριο του γάλακτος της Καραγκούνικης φυλής ($r = -0,566$, $n = 42$, $P < 0,01$), ενώ η συσχέτιση αυτή ήταν αδύναμη για το γάλα της φυλής Σερρών ($r = -0,235$, $n = 34$, $P > 0,5$). Σε ότι αφορά τη λακτόζη και το κάλιο παρατηρήθηκε θετική συσχέτιση ανάμεσά τους ($r = 0,551$, $n = 42$, $P < 0,01$ για τη Καραγκούνικη φυλή και $r = 0,443$, $n = 34$, $P < 0,05$ για τη φυλή Σερρών). Ωστόσο, σε έρευνα των Konar *et al.* (1971) που πραγματοποιήθηκε σε πρόβατα της φυλής Masham διαπιστώθηκε αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στη λακτόζη και στο κάλιο.

3. ΓΑΛΑΚΤΟΠΑΡΑΓΩΓΗ

3.1 Στάδια γαλακτοπαραγωγής των προβατινών

Γαλακτική περίοδος ορίζεται το χρονικό διάστημα κατά το οποίο ο μαστός παράγει γάλα, δηλαδή ως σημείο έναρξης της περιόδου είναι ο τοκετός και σημείο λήξης της θεωρείται η παύση της γαλακτοπαραγωγής. Η καμπύλη της γαλακτοπαραγωγής ακολουθεί ένα πρότυπο της ίδιας γενικής μορφής για όλες τις προβατίνες, ανεξάρτητα από την παραγωγική τους κατεύθυνση και την ηλικία τους, με την προϋπόθεση ότι διατρέφονται ικανοποιητικά και είναι υγιείς. Παρατηρείται λοιπόν προοδευτική αλλά γρήγορη αύξηση της γαλακτοπαραγωγής από τον τοκετό μέχρι την 3^η-5^η εβδομάδα της γαλακτικής περιόδου, ακολουθεί ένα χρονικό διάστημα που ποικίλλει πολύ και στο οποίο η γαλακτοπαραγωγή παραμένει σταθερή, και στη συνέχεια η παραγωγή μειώνεται προοδευτικά

μέχρι την παύση της. Το μέγιστο της γαλακτοπαραγωγής φτάνουν νωρίτερα τόσο οι προβατίνες χαμηλής γαλακτοπαραγωγικής ικανότητας όσο και οι προβατίνες που γαλουχούν περισσότερα από ένα αρνιά. Επιπλέον, οι προβατίνες χαμηλής γαλακτοπαραγωγικής ικανότητας παρουσιάζουν χαμηλό δείκτη εμμονής στη γαλακτοπαραγωγή, καθώς επίσης η διάρκεια της γαλακτικής περιόδου τους είναι μικρότερη. Γενικά, ο δείκτης εμμονής στη γαλακτοπαραγωγή διαφέρει από προβατίνα σε προβατίνα και από τη μια γαλακτική περίοδο στην άλλη, σε σχέση με το γονότυπο και τη διατροφή (Ζυγογιάννης, 2014).

Η διάρκεια της γαλακτικής περιόδου εξαρτάται από τον παραγωγικό τύπο στον οποίο ανήκει η προβατίνα, δηλαδή διακρίνουμε τις προβατίνες σε μη αρμεγόμενες (κρεοπαραγωγός, εριοπαραγωγός και κρεοπαραγωγός-εριοπαραγωγός τύπος) και αρμεγόμενες (γαλακτοπαραγωγός τύπος). Στην πρώτη κατηγορία, η διάρκεια της γαλακτικής περιόδου ισοδυναμεί με αυτή της γαλουχίας και αμέσως μετά τον απογαλακτισμό των αρνιών η προβατίνα σταματά να παράγει γάλα. Συγκεκριμένα, η διάρκεια της γαλακτικής περιόδου κυμαίνεται από 60 έως 150 ημέρες, ανάλογα με το σύστημα εκτροφής που εφαρμόζεται, ενώ το 70% της συνολικής ποσότητας γάλακτος παράγεται μέχρι την 5^η ή την 6^η εβδομάδα της γαλακτικής περιόδου. Επίσης, τα αρνιά απογαλακτίζονται πριν η προβατίνα σταματήσει πλήρως την παραγωγή γάλακτος (αυτοαπογαλακτίζονται) και αυτό γιατί οι προβατίνες παύουν να είναι δεκτικές στο θηλασμό όσο προοδεύει η γαλακτική περίοδος. Στη δεύτερη κατηγορία, η διάρκεια της γαλακτικής περιόδου είναι μεγαλύτερη και χωρίζεται σε δύο στάδια, στην περίοδο γαλουχίας που διαρκεί από 30 έως 60 ημέρες και στην περίοδο άμελξης που διαρκεί από 4 έως 8 ή και περισσότερους μήνες. Παρατηρείται λοιπόν μεγάλη παραλλακτικότητα στη διάρκεια της γαλακτικής περιόδου των αρμεγόμενων προβατινών γεγονός που αποδίδεται κυρίως στο γονότυπο. Η ποσότητα επίσης του αρμεγόμενου γάλακτος καθορίζεται από τον γονότυπο και κυμαίνεται από 50 έως 600 ή και περισσότερα kg. Γενικά, η απόδοση σε γάλα των γαλακτοπαραγωγών προβατινών που διατρέφονται ικανοποιητικά κυμαίνεται από 250 έως 500 kg γάλακτος ανά γαλακτική περίοδο, ενώ για τις εγχώριες ελληνικές φυλές προβάτων γαλακτοπαραγωγικού τύπου, η απόδοση σε γάλα κυμαίνεται από 150 έως 250 kg (Ζυγογιάννης, 2014).

Η καμπύλη της γαλακτοπαραγωγής των αρμεγόμενων προβατινών ως γενική μορφή είναι ανάλογη με εκείνη των προβατινών που δεν αρμέγονται, αλλά διαφέρει στο μήκος της που είναι πολύ μεγαλύτερο. Επίσης, παρατηρούνται χαρακτηριστικές μεταβολές εξαιτίας των επιδράσεων του απογαλακτισμού των αρνιών και του αριθμού τους. Πράγματι, ο απογαλακτισμός των αρνιών προκαλεί απότομη μείωση της γαλακτοπαραγωγής μέχρι 30% σε σχέση με την ποσότητα γάλακτος την οποία κατανάλωσαν τα αρνιά κατά το τελευταίο 24ωρο της γαλουχίας τους και το γεγονός αυτό συνδέεται με την απουσία του δεύτερου κύματος έκκρισης της ωκυτοκίνης στις προβατίνες με υψηλή γαλακτοπαραγωγική ικανότητα. Έντονη επίσης μείωση της γαλακτοπαραγωγής μετά τον απογαλακτισμό των αρνιών παρατηρείται και στις προβατίνες με ανεπτυγμένο “μητρικό ένστικτο”. Αν όμως εφαρμοστούν μετά τον απογαλακτισμό 3 αμέλξεις το 24ωρο κάθε 8 ώρες, η γαλακτοπαραγωγή επανέρχεται σε υψηλά επίπεδα χωρίς όμως ποτέ να φτάσει αυτά των τελευταίων ημερών της γαλουχίας και η επάνοδος αυτή διαρκεί για 7 έως 10 ημέρες. Μείωση επίσης της γαλακτοπαραγωγής παρατηρείται και όταν μέσα στο 24ωρο μειωθεί ο αριθμός των αμέλξεων από 3 σε 2. Η μείωση όμως αυτή σε σχέση με αυτή του απογαλακτισμού είναι αναλογικά πολύ μικρότερη διότι η αλλαγή του αριθμού των αμέλξεων εφαρμόζεται σε προχωρημένο στάδιο της γαλακτικής περιόδου (Ζυγογιάννης, 2014).

3.2 Διατήρηση της γαλακτοπαραγωγής

Η ποσότητα του γάλακτος που παράγεται σχετίζεται με τον αριθμό και την εκκριτική δραστηριότητα των γαλακτικών κυττάρων. Πράγματι, η αύξηση της γαλακτοπαραγωγής κατά το πρώτο στάδιο της γαλακτικής περιόδου στην αίγα οφείλεται στην αύξηση του αριθμού των γαλακτικών κυττάρων αρχικά και στη συνέχεια στην αύξηση της εκκριτικής δραστηριότητάς τους, ενώ στην αγελάδα οφείλεται μόνο στην αύξηση της εκκριτικής δραστηριότητας των γαλακτικών κυττάρων αφού δεν παρατηρείται αύξηση του αριθμού τους. Μετά τη μέγιστη γαλακτοπαραγωγή, η πτώση της γαλακτοπαραγωγής στην αίγα και στην αγελάδα οφείλεται στη μείωση του αριθμού των γαλακτικών κυττάρων (Ρογδάκης, 2006).

Η διατήρηση της γαλακτοπαραγωγής εξαρτάται από ορμονικούς παράγοντες που ρυθμίζουν τον αριθμό και την εκκριτική δραστηριότητα των γαλακτικών κυττάρων. Ωστόσο, ο θηλασμός ή η άμελξη και κατά συνέπεια η συχνή εκκένωση του μαστού αποτελούν βασική προϋπόθεση για τη διατήρησή της ακόμα και αν η ορμονική υποστήριξη είναι επαρκής. Πράγματι, η μη συχνή εκκένωση του μαστού προκαλεί τη συσσώρευση του γάλακτος στο μαστό αυξάνοντας την ενδομαστική πίεση. Το γεγονός αυτό προκαλεί τη διέγερση των συμπαθητικών νευρών του μαστού, τα οποία δρουν περιφερικά και ελαττώνουν τη ροή του αίματος προς το μαστό και κατά συνέπεια την προμήθειά του με ορμόνες και θρεπτικά στοιχεία. Επίσης, η μη εκκένωση του μαστού επιφέρει την αύξηση της συγκέντρωσης του FIL (*Feedback Inhibitor of Lactation*) στις κοιλότητες των αδενοκυψελίδων οπότε αναστέλλεται η περαιτέρω σύνθεση και η έκκριση του γάλακτος. Ο FIL παράγεται από τα γαλακτικά κύτταρα και η δράση του είναι αντιστρεπτή και εξαρτώμενη από τη συγκέντρωσή του (Ρογδάκης, 2006).

Η ορμόνη που δρα καθοριστικά στη διατήρηση της γαλακτοπαραγωγής είναι η αυξητική ορμόνη, η οποία μετέχει στη ρύθμιση της κατανομής των θρεπτικών στοιχείων ανάμεσα στο μαστό και στα άλλα όργανα του οργανισμού και περιορίζει τη χρησιμοποίησή τους στα περιφερικά όργανα. Επίσης, προάγει την ανανέωση των μαστικών κυττάρων και αυξάνει την εμμονή της γαλακτοπαραγωγής. Τέλος, επηρεάζει άμεσα τη λειτουργία του μαστού, γεγονός που αποδεικνύεται από την ύπαρξη υποδοχέων για την αυξητική ορμόνη σε αυτόν. Οι επιδράσεις της αυξητικής ορμόνης στο μαστό διαβιβάζονται μέσω του IGF-I (*Insulin-Like Growth Factor I*), ο οποίος προάγει τη σύνθεση του γάλακτος, ενώ η αυξητική ορμόνη αυξάνει την ποσότητα του mRNA για την β-καζεΐνη. Αντίθετα, η συγκέντρωση της ινσουλίνης στο αίμα της αγελάδας και της προβατίνας σχετίζεται αρνητικά με τη συγκέντρωση της αυξητικής ορμόνης. Πράγματι, στην αρχή της γαλακτικής περιόδου η συγκέντρωση της αυξητικής ορμόνης είναι υψηλή και της ινσουλίνης χαμηλή, ενώ μετά το μέγιστο της γαλακτοπαραγωγής συμβαίνει το αντίθετο (Ρογδάκης, 2006).

Σε ότι αφορά τις ορμόνες του θυρεοειδούς αδένα έχει παρατηρηθεί ότι αυξάνουν τη γαλακτοπαραγωγή και διατηρούν τη βιοσυνθετική ικανότητα του μαστού, ενώ τα κορτικοστεροειδή πιθανολογείται ότι δρουν συνεργιστικά με αυτές. Ωστόσο, η γαλακτοπαραγωγή μπορεί να ανασταλεί από την υπερπαραγωγή των κορτικοστεροειδών. Τέλος, η προλακτίνη είναι απαραίτητη για την έναρξη της γαλακτοπαραγωγής και δε συμβάλλει καθοριστικά στη διατήρησή της. Από *in vitro* πειράματα όμως έχει αποδειχθεί ότι είναι αναγκαίες μικρές ποσότητες προλακτίνης για να διατηρήσει το γαλακτικό κύτταρο την ικανότητά του να συνθέτει καζεΐνη. Επιπλέον, ο θηλασμός ή η άμελξη αποτελούν ερέθισμα για την έκκριση της προλακτίνης. Πράγματι, αυξάνοντας τη συχνότητα των

αμέλξεων αυξάνεται ο αριθμός των γαλακτικών κυττάρων και η γαλακτοπαραγωγή καθώς επίσης η συγκέντρωση της προλακτίνης στο αίμα και η έκφραση των υποδοχέων της στο μαστό (Ρογδάκης, 2006).

3.3 Παράγοντες που επηρεάζουν τη γαλακτοπαραγωγική ικανότητα των προβατινών

Η γαλακτοπαραγωγική ικανότητα των προβατινών επηρεάζεται από φυσιολογικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες, μεταξύ των οποίων υπάρχουν και αλληλεπιδράσεις, οι κυριότεροι από τους οποίους αναφέρονται παρακάτω (Ζυγογιάννης, 2014):

3.3.1. Ο αριθμός των κυοφορούμενων εμβρύων

Στο τέλος της κυοφορίας, οι προβατίνες που κυοφορούν περισσότερα από ένα έμβρυα παρουσιάζουν μαστούς πιο αναπτυγμένους από αυτές που κυοφορούν ένα μόνο. Το ίδιο, αλλά σε πολύ μικρότερη έκταση, ισχύει στις περιπτώσεις των προβατινών που κυοφορούν ένα μόνο έμβρυο με υψηλό όμως σωματικό βάρος. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι η εκκριτική μοίρα του μαστού είναι πιο αναπτυγμένη λόγω της έκκρισης από τον πλακούντα μεγαλύτερων ποσοτήτων γαλακτογόνου ορμόνης. Συνεπώς, η γαλακτοπαραγωγική ικανότητα της προβατίνας είναι στενά συνδεδεμένη με την ανάπτυξη της εκκριτικής μοίρας του μαστού.

3.3.2. Ο αριθμός των γαλουχούμενων αρνιών

Ανάλογα με τον αριθμό των γαλουχούμενων αρνιών παρατηρείται αύξηση της γαλακτοπαραγωγής κατά 40% στις προβατίνες που γεννούν και γαλουχούν δίδυμα αρνιά σε σχέση με αυτές που γεννούν και γαλουχούν ένα μόνο αρνί, ενώ στις προβατίνες που γεννούν και γαλουχούν τρίδυμα και τετράδυμα η αύξηση της γαλακτοπαραγωγής μπορεί να φτάσει μέχρι και το 100%. Παρομοίως αυξάνεται η γαλακτοπαραγωγή στις προβατίνες που δεν γέννησαν, αλλά μόνο γαλούχησαν δύο αρνιά. Ο λόγος της παρατηρούμενης αύξησης της γαλακτοπαραγωγής είναι ότι τα πολύδυμα αρνιά έχουν περισσότερες ανάγκες από τα μονόδυμα, οπότε η διαδικασία του θηλασμού γίνεται συχνότερα και το άδειασμα του μαστού είναι ολοκληρωτικό, και κατά συνέπεια η διέγερση της γαλακτοσύνθεσης είναι μεγαλύτερη.

3.3.3. Το φύλο και το σωματικό βάρος στη γέννηση

Σε ότι αφορά το φύλο του αρνιού, δεν υπάρχουν σαφή στοιχεία της συσχέτισής του με τις διαφορές στην παραγόμενη ποσότητα γάλακτος. Ωστόσο, κατά γενικό κανόνα, το σωματικό βάρος των αρσενικών αρνιών στη γέννησή τους είναι μεγαλύτερο από αυτό των θηλυκών. Το υψηλό σωματικό βάρος των γαλουχούμενων αρνιών συνδέεται με την αύξηση της γαλακτοπαραγωγής έως και 10%. Το γεγονός αυτό οφείλεται σε έναν συνδυασμό παραγόντων όπως είναι η διατροφή της προβατίνας κατά το τελευταίο στάδιο της κυοφορίας, οι αυξημένες θρεπτικές ανάγκες του μεγαλόσωμου νεογέννητου που κατά συνέπεια θηλάζει συχνότερα καθώς επίσης και η αλληλεπίδραση ζωτικότητας αρνιού και γαλακτοπαραγωγής της προβατίνας. Επιπλέον, τα αρνιά με χαμηλό σωματικό βάρος κατά το θηλασμό δεν αδειάζουν τελείως το μαστό σε αντίθεση με αυτά που έχουν υψηλό σωματικό βάρος, γεγονός που επιδρά αρνητικά στο επίπεδο της γαλακτοπαραγωγής.

3.3.4. Το σωματικό μέγεθος και η θρεπτική κατάσταση των προβατινών

Η γαλακτοπαραγωγή είναι αυξημένη στις μεγαλόσωμες προβατίνες καθώς επίσης και σε αυτές του ίδιου γονοτύπου που βρίσκονται στην κατάλληλη σωματική κατάσταση. Επιπλέον, το είδος του σιτηρεσίου που καταναλώνουν οι προβατίνες σχετίζεται με τη σωματική τους κατάσταση και καθορίζει το ύψος της παραγόμενης ποσότητας γάλακτος.

3.3.5. Το στάδιο της γαλακτικής περιόδου

Η εξέλιξη της γαλακτοπαραγωγής κατά τη διάρκεια της γαλακτικής περιόδου ονομάζεται καμπύλη γαλακτοπαραγωγής και παρουσιάζεται στο πρόβατο αλλά και στην αίγα με την ίδια μορφή με αυτή των αγελάδων, αν και τροποποιείται από πολλούς παράγοντες, όπως για παράδειγμα την εποχή των τοκετών, τον αριθμό των αμνών ή εριφίων που θηλάζουν, την ηλικία απογαλακτισμού. Η μορφή της γαλακτικής καμπύλης έχει μεγάλη σημασία τόσο από φυσιολογική όσο και από οικονομική άποψη διότι η παραγωγή της ίδια ποσότητας γάλακτος είναι δυνατόν να παραχθεί με υψηλή ημερήσια γαλακτοπαραγωγή κατά τις πρώτες εβδομάδες της γαλακτικής περιόδου και ταχεία πτώση στη συνέχεια ή, αντίθετως, με μέσες αποδόσεις κατά τις πρώτες εβδομάδες και μικρή πτώση έκτοτε. Εκτός από τη γαλακτοπαραγωγή, μεταβολές κατά τη διάρκεια της γαλακτικής περιόδου υφίσταται και η περιεκτικότητα του παραγόμενου γάλακτος σε λίπος και πρωτεΐνη. Η περιεκτικότητα του γάλακτος σε λίπος και πρωτεΐνη ακολουθεί αντίθετη πορεία με τη γαλακτοπαραγωγή, δηλαδή η λιποπεριεκτικότητα μειώνεται αρχικά έως το στάδιο της μέγιστης γαλακτοπαραγωγής και αυξάνεται έκτοτε προοδευτικά έως το τέλος της γαλακτικής περιόδου. Με ανάλογο τρόπο μεταβάλλεται και η πρωτεϊνοπεριεκτικότητα (Ρογδάκης, 2006).

3.3.6. Ο αριθμός της γαλακτικής περιόδου

Η γαλακτοπαραγωγή σε κάθε γαλακτική περίοδο αυξάνεται ταυτόχρονα με την πάροδο της ηλικίας της προβατίνας και φτάνει σε ένα μέγιστο σημείο που είναι την 3^η γαλακτική περίοδο. Σε αυτό το επίπεδο παραμένει μέχρι και την 6^η γαλακτική περίοδο, ενώ στη συνέχεια μειώνεται. Ανάμεσα στην 1^η και στη 2^η γαλακτική περίοδο η διαφορά του ύψους της γαλακτοπαραγωγής κυμαίνεται από 10 έως 20%. Η διαφορά στην παραγόμενη ποσότητα γάλακτος ανάμεσα στην 1^η και στη 3^η γαλακτική περίοδο είναι τόσο μεγαλύτερη όσο μικρότερη είναι η ηλικία στην οποία πραγματοποιείται ο 1^{ος} τοκετός, δηλαδή είναι ανάλογη με την πρωιμότητα του ζώου. Επομένως, οι πρώιμες προβατίνες ολοκληρώνουν την ανάπτυξή τους σε μικρότερη ηλικία και ο ανταγωνισμός μεταξύ θρεπτικών αναγκών που προορίζονται για την ανάπτυξη του ζώου και αυτές που χρειάζονται για την γαλακτοπαραγωγή είναι μικρότερος. Επίσης, η κατάσταση στην οποία βρίσκονται οι κοπτήρες των προβατινών είναι συνυφασμένη με την κάλυψη των θρεπτικών αναγκών για γαλακτοπαραγωγή και κατά συνέπεια με το επίπεδό της. Η γαλακτοπαραγωγή μειώνεται όταν η κατανάλωση της τροφής μειώνεται εξαιτίας της πτώσης των κοπτήρων που παρατηρείται τόσο στα ηλικιωμένα ζώα, λόγω της φυσικής τους φθοράς όσο και σε νεαρά ζώα, όπως στις μηλιόρες, όπου η πτώση συμπίπτει με την αντικατάσταση των μέσων και παράμεσων νεογιλών κοπτήρων. Το πρόβλημα μπορεί να περιοριστεί με τη χορήγηση εύληπτου σιτηρεσίου και τα υψηλά επίπεδα γαλακτοπαραγωγής που παρατηρούνται στις μηλιόρες μπορεί να διατηρηθούν μέχρι την ηλικία των 12 έως 14 ετών.

3.3.7. Ο αριθμός των αμέλξεων εντός ενός 24ώρου

Αν και η συχνότερη άμελξη μπορεί να επιφέρει αύξηση της γαλακτοπαραγωγής, για λόγους οργάνωσης και κόστους παραγωγής οι προβατίνες δεν αρμέγονται 3, αλλά μόνο 2 φορές την ημέρα. Έχει παρατηρηθεί ότι η επαναληπτική άμελξη του ποιμνίου που πραγματοποιείται μετά το τελείωμα της κανονικής πρωινής άμελξης αυξάνει ελάχιστα τη συνολική ποσότητα του γάλακτος που παράγεται. Επίσης, το γάλα της πρωινής άμελξης έχει αυξημένη λιποπεριεκτικότητα και η παραγόμενη ποσότητα είναι περισσότερη σε σχέση με αυτή της απογευματινής άμελξης.

3.3.8. Η διατροφή

Η διατροφή επηρεάζει τη γαλακτοπαραγωγική ικανότητα των προβατινών από το τελευταίο στάδιο της κυοφορίας όπου αναπτύσσεται η εκκριτική μοίρα του μαστικού αδένου μέχρι το τελευταίο στάδιο της γαλακτικής περιόδου. Η διατροφή λοιπόν καθορίζει τη διάρκεια της γαλακτικής περιόδου, το ύψος της γαλακτοπαραγωγής καθώς επίσης και τη σύσταση του παραγόμενου γάλακτος. Στο τελευταίο στάδιο της κυοφορίας, η χορήγηση στις προβατίνες συμπληρωματικών ζωοτροφών είναι αναγκαία ώστε να αναπτυχθεί ικανοποιητικά ο μαστός και τα αρνιά που θα γεννηθούν να έχουν ικανοποιητικό σωματικό βάρος και ζωτικότητα. Σε αντίθετη περίπτωση, όταν το σωματικό βάρος του αρνιού είναι κατώτερο από το κανονικό τότε και η γαλακτοπαραγωγή είναι χαμηλή. Επίσης, στους πρώτους 2 μήνες της γαλακτικής περιόδου, οι θρεπτικές ανάγκες των προβατινών είναι αυξημένες και η ορεξή τους μειωμένη οπότε αναγκαστικά χρησιμοποιούν τα θρεπτικά τους αποθέματα με ταυτόχρονη ελάττωση του σωματικού τους βάρους. Για τη χρησιμοποίηση όμως των θρεπτικών αποθεμάτων προς όφελος της γαλακτοπαραγωγής, το σιτηρέσιο πρέπει να περιέχει τα κατάλληλα θρεπτικά συστατικά, τόσο από άποψης ποσότητας όσο και ποιότητας. Τέλος, η σύσταση του γάλακτος επηρεάζεται από τη χημική σύνθεση του σιτηρεσίου. Πράγματι, σιτηρέσια με χαμηλή περιεκτικότητα σε ενέργεια ή πρωτεΐνες μειώνουν τη γαλακτοπαραγωγή και την ενεργειακή αξία του γάλακτος, ενώ σιτηρέσια στα οποία υπάρχει έλλειψη ινωδών ουσιών μειώνουν την περιεκτικότητα σε λίπος του γάλακτος.

3.3.9. Ο γονότυπος

Ο γονότυπος καθορίζει τη δραστηριότητα των θυρεοειδών αδένων των προβατινών και κατά συνέπεια τη γαλακτοπαραγωγή τους. Οι διασταυρώσεις μεταξύ διαφορετικών φυλών προβάτων και η γονοτυπική αλλαγή που προκαλούν μπορούν να αυξήσουν τη γαλακτοπαραγωγή των προβατινών. Παρομοίως, αύξηση της γαλακτοπαραγωγής παρατηρείται στη γαλουχία διασταυρωμένων αρνιών που έχουν έμφυτη την ανάγκη για μεγαλύτερη κατανάλωση γάλακτος καθώς επίσης θηλάζουν συχνότερα και εντονότερα τις μητέρες τους.

3.3.10. Η εποχή του τοκετού

Στα μικρά μηρυκαστικά η εποχή των τοκετών μαζί με άλλους παράγοντες, όπως το σύστημα διατροφής των ζώων, η περιοχή, το έτος, ο αριθμός της γαλακτικής περιόδου και το γενετικό δυναμικό του ζώου επηρεάζουν το ύψος της γαλακτοπαραγωγής. Επίσης, η εποχή των τοκετών στα μικρά μηρυκαστικά καθορίζει σε σημαντικό βαθμό τη διάρκεια άμελξης των ζώων και εξασκεί μέσω του παράγοντα αυτού σημαντική επίδραση στο ύψος της γαλακτοπαραγωγής. Από έρευνες στο Καραγκούνικο πρόβατο διαπιστώθηκε ότι όσο πιο πρώιμα γεννούν οι προβατίνες, τόσο μεγαλύτερη είναι η διάρκεια της γαλακτικής περιόδου και υψηλότερη η γαλακτοπαραγωγή. Η επίδραση λοιπόν

της εποχής των τοκετών στη γαλακτοπαραγωγή εξασκείται κυρίως μέσω της επίδρασής της στη διάρκεια της γαλακτικής περιόδου (Ρογδάκης, 2006).

Επίσης, σε πολλές φυλές, όπως για παράδειγμα στη φυλή Άρτας και στην Ορεινή Ηπείρου διαπιστώθηκε ότι οι πολύ πρώιμοι τοκετοί επηρεάζουν αρνητικά το ύψος της γαλακτοπαραγωγής. Πιθανολογείται ότι η επίδραση αυτή σχετίζεται με τις εποχικές συνθήκες εκτροφής και συγκεκριμένα με τη διατροφή κατά το τελευταίο στάδιο της κυοφορίας, η οποία επηρεάζει την ανάπτυξη του μαστού. Επιπλέον, τα ζώα κατά το πρώτο στάδιο της γαλακτικής περιόδου παρουσιάζουν αυξημένες ανάγκες σε θρεπτικά στοιχεία. Κατά τους πολύ πρώιμους τοκετούς τα στάδια αυτά συμπίπτουν με την κακή κατάσταση των θερινών βοσκοτόπων. Τέλος, αλληλεπιδράσεις της εποχής των τοκετών με το ποίμνιο και το έτος έχουν διαπιστωθεί στις αγελάδες και στα μικρά μηρυκαστικά (Ρογδάκης, 2006).

3.3.11. Η υγιεινή κατάσταση

Η γαλακτοπαραγωγή μειώνεται όταν το ζώο νοσεί και ο βαθμός της μείωσής της είναι ανάλογος με τη σοβαρότητα του νοσήματος. Η μαστίτιδα αποτελεί επικίνδυνο νόσημα από τη στιγμή που προκαλεί παύση της γαλακτοπαραγωγής ή απώλεια του μαστικού αδένου στην οξεία μορφή της, ενώ στην υποκλινική της μορφή το γάλα που παράγεται είναι ακατάλληλο.

3.3.12. Οι κλιματικοί παράγοντες

Ο οργανισμός του ζώου διατηρεί τη θερμοκρασία του σώματος σταθερή μέσα σε ένα εύρος θερμοκρασιών χωρίς να πραγματοποιούνται αλλαγές στο βασικό του μεταβολισμό, και αυτό το εύρος ονομάζεται θερμοουδέτερη ζώνη. Στη θερμοουδέτερη αυτή ζώνη εξασφαλίζεται η ομοιοθερμία χωρίς την κινητοποίηση θερμορρυθμιστικών μηχανισμών και η γαλακτοπαραγωγή είναι μέγιστη. Αντίθετα, θερμοκρασίες του περιβάλλοντος εκτός της θερμοουδέτερης ζώνης αυξάνουν τις ανάγκες συντήρησης των ζώων. Οι χαμηλές θερμοκρασίες αυξάνουν την κατανάλωση τροφής, η οποία αντισταθμίζει τις αυξημένες ανάγκες συντήρησης, με αποτέλεσμα η γαλακτοπαραγωγή των αγελάδων να παραμένει αμετάβλητη έως περίπου τους -5°C . Αντιθέτως, οι υψηλές θερμοκρασίες ελαττώνουν την κατανάλωση τροφής και προκαλούν μείωση της γαλακτοπαραγωγής, καθώς οι αυξημένες ανάγκες συντήρησης συνοδεύονται από μειωμένη κατανάλωση τροφής. Η αντίδραση των γαλακτοπαραγωγών ζώων στις υψηλές θερμοκρασίες καθορίζεται και γενετικά, δηλαδή η θέση και το εύρος της ζώνης ομοιοθερμίας εμφανίζει σημαντική γενετική παραλλακτικότητα (Ρογδάκης, 2006).

4. ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ

4.1 Ανάπτυξη του μαστού

Στα πρόβατα, μαστό φέρουν και τα δύο φύλα, μόνο που στο αρσενικό οι μαστικοί αδένες, που βρίσκονται ένας σε κάθε πλευρά της βάσης του οσχέου, είναι υποτυπώδεις και δεν αναπτύσσονται (Ζυγογιάννης, 2014). Στην προβατίνα, όπως και στην αίγα, οι μαστικοί αδένες είναι δύο και εντοπίζονται στη βουβωνική χώρα, ενώ στην αγελάδα είναι τέσσερις και βρίσκονται κατά το μεγαλύτερο μέρος τους στην περινεϊκή χώρα και επεκτείνονται μέχρι τη βουβωνική. Το σχήμα των μαστών του προβάτου είναι σφαιροειδές και παρουσιάζουν μικρότερες θηλές από αυτές της αίγας που είναι ογκώδεις και έχουν σχήμα απιοειδές (Reece, 2015).

Ο μαστός αναπτύσσεται κατά ασυνεχή τρόπο κατά τη διάρκεια της ζωής του ζώου, διακρίνονται δηλαδή διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του μαστού κατά την εμβρυϊκή περίοδο, την ήβη, την κυοφορία και την έναρξη της γαλακτοπαραγωγής. Κατά την εμβρυϊκή περίοδο η αρχική ανάπτυξη του μαστού δεν επηρεάζεται από ορμονικούς παράγοντες, αλλά βασίζεται στο ερειστικό στρώμα το οποίο προμηθεύει αυξητικούς παράγοντες καθώς επίσης εξασφαλίζει μηχανική υποστήριξη για την ανάπτυξη των παρεγχυματικών στοιχείων που προέρχονται από το εκτόδερμα. Στα επόμενα στάδια η ανάπτυξη του μαστού επηρεάζεται και από ορμονικούς παράγοντες (Σμοκοβίτης, 2013). Στα θηλυκά πρόβατα, η ανάπτυξη του μαστού από τη γέννηση μέχρι την ήβη είναι πολύ αργή και αφορά την εκφορητική μοίρα, τον συνδετικό και λιπώδη ιστό (Ζυγογιάννης, 2014).

Κατά την ήβη, η ανάπτυξη του μαστικού αδένου οφείλεται σε ορμονικούς παράγοντες, όπως τα οιστρογόνα, τα γλυκοκορτικοειδή, η αυξητική ορμόνη, η ινσουλίνη και οι ορμόνες του θυροειδούς αδένου, καθώς και σε αυξητικούς παράγοντες, όπως ο παρόμοιος της ινσουλίνης (IGF-1), ο μεσεγχυματικός, ο επιδερμικός (EGF), ο ινοβλαστικός, ο αιμοπεταλιακός, ο υποφυσικός και οι μεταμορφωτικοί (TGF) α και β. Οι IGFs έχουν διπλή δράση, διαμεσολαβούν δηλαδή στην επίδραση της αυξητικής ορμόνης στο μαστό καθώς επίσης παράγονται και τοπικά συμβάλλοντας στη διέγερση του πολλαπλασιασμού των εκκριτικών κυττάρων, στην κυτταρική διαφοροποίηση και στην πρόληψη της απόπτωσης (Reece, 2015). Επίσης, η ανάπτυξη του μαστού εναλλάσσεται με την παλινδρόμησή του ανάλογα με τις μεταβολές που παρατηρούνται στη συγκέντρωση των στεροειδών στο αίμα κατά τους διαδοχικούς οιστρικούς κύκλους (Σμοκοβίτης, 2013). Μετά την εκδήλωση των οίστρων, η ανάπτυξη του μαστού είναι αλλομετρική σε σχέση με το μέγεθος του ζώου και τη συνολική ανάπτυξη του σώματός του, ενώ μέχρι την εμφάνιση της ήβης η ανάπτυξη του μαστού είναι ισομετρική (Ζυγογιάννης, 2014).

Η μέγιστη ανάπτυξη του μαστικού αδένου επιτυγχάνεται μόνο μετά την ήβη, κατά την κυοφορία και την έναρξη της γαλακτοπαραγωγής. Συγκεκριμένα, πριν την κυοφορία ο μαστικός αδένος περιέχει μικρό αριθμό εκκριτικών κυττάρων, ενώ κατά την κυοφορία και το αρχικό στάδιο της γαλακτοπαραγωγής παρατηρείται πολλαπλασιασμός των κυττάρων αυτών, ώστε να επιτευχθεί ο σχηματισμός των αδενοκυψελίδων και διαφοροποίησή τους για τη σύνθεση και έκκριση του γάλακτος (Σμοκοβίτης, 2013). Ο λιπώδης ιστός βαθμιαία μειώνεται και αντικαθίσταται από το αδενώδες παρέγχυμα (Reece, 2015). Στην αίγα η αύξηση του αριθμού των εκκριτικών κυττάρων συνεχίζεται κατά τις πρώτες ημέρες ή πρώτες δυο εβδομάδες μετά τον τοκετό (Σμοκοβίτης, 2013). Παρομοίως, και στις προβατίνες παρατηρείται ανάπτυξη της εκκριτικής μοίρας και μετά τον τοκετό, η οποία αντιστοιχεί στο 20% της συνολικής ανάπτυξης του μαστού, ενώ το 25% της ανάπτυξης πραγματοποιείται από τη γέννηση μέχρι την κυοφορία και το 55% κατά την κυοφορία (Ζυγογιάννης, 2014).

Το μέγιστο της ανάπτυξης του μαστικού αδένου επιτυγχάνεται τόσο στα πρόβατα όσο και στα βοοειδή και στις αίγες κατά το τελευταίο τρίτο της κυοφορίας τους. Εν συγκρίσει με την πρώτη κυοφορία ο όγκος και ο ρυθμός ανάπτυξης του εκκριτικού ιστού είναι μεγαλύτερος κατά τη δεύτερη κυοφορία. Οι ορμόνες που συμβάλλουν στην ανάπτυξη του μαστικού αδένου κατά την κυοφορία είναι κυρίως τα οιστρογόνα και η προγεστερόνη και ιδιαίτερα η αναλογία τους, η οποία ποικίλλει στα διάφορα είδη ζώων. Γενικά, τα οιστρογόνα διεγείρουν την ανάπτυξη του εκφορητικού συστήματος του μαστικού αδένου και η προγεστερόνη σε συνεργασία με τα οιστρογόνα προάγει την ανάπτυξη της εκκριτικής μοίρας του μαστικού αδένου. Στα βοοειδή, στα μικρά μηρυκαστικά, στο χοίρο και στα ιπποειδή η

διέγερση της ανάπτυξης τόσο του εκφορητικού όσο και του εκκριτικού συστήματος του μαστικού αδένου πραγματοποιείται από τα οιστρογόνα χωρίς τη συνεργασία της προγεστερόνης. Εντούτοις, στα μηρυκαστικά η ανάπτυξη των αδενοκυψελίδων επιτυγχάνεται καλύτερα με την παρουσία της προγεστερόνης (Σμοκοβίτης, 2013).

Άλλες ορμόνες που εμπλέκονται στην ανάπτυξη του μαστού είναι οι ορμόνες που προέρχονται από το σύστημα υποθάλαμου-υπόφυσης, το οποίο ελέγχει τα οιστρογόνα και την προγεστερόνη, δηλαδή η απελευθερωτική ορμόνη των γοναδοτρόπων ορμονών (GnRH, *Gonadotropin Releasing Hormone*) και οι γοναδοτρόπες ορμόνες, η ωχρινοποιητική ορμόνη (LH, *Luteinizing Hormone*) και η ωοθυλακιοτρόπος ορμόνη (FSH, *Follicle-Stimulating Hormone*). Επίσης, άλλες ορμόνες της υπόφυσης, όπως η αυξητική ορμόνη και η προλακτίνη συμβάλλουν στην επίδραση των οιστρογόνων και της προγεστερόνης στο μαστικό αδένου (Σμοκοβίτης, 2013). Στα μηρυκαστικά η προλακτίνη δεν είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη του μαστικού αδένου κατά την κυοφορία και τον ρόλο της στο πρόβατο και στην αίγα τον αναλαμβάνει η πλακούντια γαλακτογόνος ορμόνη (hPL) που συμβάλλει στην ανάπτυξη της εκκριτικής μοίρας του μαστού (Ζυγογιάννης, 2014). Εντούτοις, στην αίγα διαπιστώθηκε ότι η αναστολή της έκκρισης της προλακτίνης επιφέρει μείωση της ανάπτυξης του μαστικού αδένου (Σμοκοβίτης, 2013).

Η πλακούντια γαλακτογόνος ορμόνη δρα επομένως όπως η αυξητική ορμόνη και η προλακτίνη στο πρόβατο και στην αίγα, ενώ στα βοοειδή η συγκέντρωσή της στο αίμα είναι χαμηλή, οπότε και ο ρόλος της πιθανόν να είναι περιορισμένος (Σμοκοβίτης, 2013· Reece, 2015). Ωστόσο, από έρευνες στα βοοειδή έχει παρατηρηθεί ότι η βόεια πλακούντια ορμόνη προκαλεί την αύξηση της σύνθεσης του DNA στο μαστικό αδένου. Επίσης, η αύξηση της πλακούντιας γαλακτογόνου ορμόνης κατά το τελευταίο τρίτο της κυοφορίας συμπίπτει με την ταχύτερη ανάπτυξη του μαστού των βοοειδών και των προβάτων στο στάδιο αυτό (Σμοκοβίτης, 2013· Reece, 2015). Η πλακούντια γαλακτογόνος ορμόνη συντίθεται στην εμβρυική μοίρα του πλακούντα και η συγκέντρωσή της στο αίμα συνδέεται με το μέγεθος του πλακούντα, το στάδιο της κυοφορίας, τον αριθμό των κυοφορούμενων εμβρύων καθώς και με το είδος του ζώου (Ζυγογιάννης, 2014· Reece, 2015).

Η αυξητική ορμόνη σε όλα τα είδη συντελεί στην ανάπτυξη του μαστικού αδένου και συγκεκριμένα στις αγελάδες και στα πρόβατα διαπιστώθηκε ότι ο όγκος του παρεγχύματος του μαστικού αδένου αυξήθηκε κατά 50% μετά από τη χορήγησή της. Στα πρόβατα παρατηρήθηκε ότι η χορήγηση της αυξητικής ορμόνης κατά το τέλος της κυοφορίας προκάλεσε αύξηση της γαλακτοπαραγωγής κατά 42%. Παρόμοια αποτελέσματα διαπιστώθηκαν και σε αγελάδες γαλακτοπαραγωγικού τύπου (Σμοκοβίτης, 2013).

Στην ανάπτυξη του μαστού συμβάλλουν επικουρικά και τα γλυκοκορτικοειδή, όπως η αδρενοκορτικοτρόπος ορμόνη (ACTH), η ρελαξίνη, καθώς επίσης και η ινσουλίνη σε συνδυασμό με τις ορμόνες του θυρεοειδούς αδένου (Σμοκοβίτης, 2013· Reece, 2015). Στα πρόβατα διαπιστώθηκε ότι η ινσουλίνη αυξάνει τη σύνθεση του DNA των κυττάρων του μαστικού αδένου ακόμη και σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις (Σμοκοβίτης, 2013).

Στο τελικό στάδιο της γαλακτικής περιόδου εμφανίζεται η παλινδρόμηση του μαστού όπου ο αδένος επανέρχεται στην πρότερη μη διαφοροποιημένη λειτουργική του κατάσταση. Σε όλη συνεπώς την αναπαραγωγική ζωή του ζώου και σε κάθε νέα κυοφορία-γαλακτοπαραγωγή παρατηρείται

επανάληψη των κύκλων ανάπτυξης, λειτουργικής διαφοροποίησης και παλινδρόμησης του μαστού (Σμοκοβίτης, 2013).

4.2 Παλινδρόμηση του μαστού

Παλινδρόμηση του μαστού ορίζεται ως η διαδικασία κατά την οποία ο αδένας μεταβαίνει από το στάδιο έναρξης της γαλακτοπαραγωγής στο στάδιο της διακοπής της. Η παλινδρόμηση παρατηρείται σε όλα τα θηλαστικά που γαλουχούν και διακρίνονται 3 κύριοι τύποι της: η βαθμιαία, αυτή που σχετίζεται με την αυξημένη ηλικία και η οξεία παλινδρόμηση (Zobel *et al.*, 2015a).

Η βαθμιαία παλινδρόμηση εμφανίζεται νωρίς κατά τη φυσιολογική γαλακτική περίοδο και οδηγεί σε βαθμιαία μείωση της γαλακτοπαραγωγής (Wilde *et al.*, 1999). Η χρονική στιγμή κατά την οποία εμφανίζεται η βαθμιαία παλινδρόμηση εξαρτάται από το μέγιστο σημείο της γαλακτοπαραγωγής και ανάλογα με το είδος αντιστοιχεί στη 12η ημέρα στους αρουραίους (DeSantiago *et al.*, 1998) και στη 40η ημέρα στους ανθρώπους (Butte *et al.*, 2002), ενώ κυμαίνεται από τη 45η έως την 90η ημέρα στις αγελάδες (Stanton *et al.*, 1992· Khorshidie *et al.*, 2012), από τη 35η έως τη 40η ημέρα στις προβατίνες (Pollott & Gootwine, 2000· Ruiz *et al.*, 2000) και από την 50η έως την 124η ημέρα στις αίγες (Gipson & Grossman, 1990). Επίσης, η χρονική στιγμή εμφάνισης της βαθμιαίας παλινδρόμησης ποικίλλει μέσα στο ίδιο είδος και ανάλογα με τη φυλή (Zobel *et al.*, 2015a).

Στη δεύτερη κατηγορία παλινδρόμησης παρατηρείται μείωση της γαλακτοπαραγωγικής ικανότητας του μαστικού αδένος σε συνάρτηση με την ηλικία (Zobel *et al.*, 2015a). Στα συστήματα εντατικής εκτροφής τα ζώα απομακρύνονται από το κοπάδι σε μικρή ηλικία λόγω των υψηλών ποσοστών αντικατάστασης ή απομάκρυνσης (Oltencu & Algers, 2005) και κατά συνέπεια δεν παρατηρείται. Αυτός ο τύπος παλινδρόμησης έχει μελετηθεί κυρίως στους ανθρώπους (Neville, 1983· Silanikove, 2014).

Η οξεία παλινδρόμηση εμφανίζεται όταν σταματά η απομάκρυνση του γάλακτος από τον μαστικό αδένος είτε με φυσικό τρόπο, όπως σε περίπτωση θανάτου του νεογνού είτε με τεχνητό τρόπο, όταν δηλαδή διακόπτεται ξαφνικά η γαλακτοπαραγωγή πριν τη γέννηση του νεογνού και το ζώο εισέρχεται στην ξηρά περίοδο (Zobel *et al.*, 2015a). Το φαινόμενο λοιπόν της οξείας παλινδρόμησης είναι σπάνιο στη φύση και αποτελεί διαχειριστική τακτική στα γαλακτοπαραγωγικά συστήματα κυρίως των αγελάδων, αλλά και των αιγών (Zobel *et al.*, 2015a). Η απότομη διακοπή της άμελης επιφέρει τη συσσώρευση του γάλακτος στους αγωγούς και στις κυψελίδες του μαστού αυξάνοντας την ενδομαστική πίεση (Oliver & Sordillo, 1989). Αυτές οι τοπικές αλλαγές δίνουν το έναυσμα για την έναρξη της παλινδρόμησης (Wilde *et al.*, 1997). Επίσης, η απόπτωση ή ο προγραμματισμένος κυτταρικός θάνατος σχετίζεται αρνητικά με την παρουσία των ορμονών που προάγουν τη γαλακτοπαραγωγή, όπως η προλακτίνη (Wilde *et al.*, 1997). Όταν λοιπόν η απομάκρυνση του γάλακτος από τον μαστικό αδένος διακόπτεται, η προλακτίνη δεν παράγεται πλέον, προκαλώντας την απόπτωση. Η απόπτωση εμφανίζεται και στους 3 τύπους της παλινδρόμησης, αλλά τα υψηλότερα ποσοστά απόπτωσης συνδέονται με την οξεία παλινδρόμηση (Zobel *et al.*, 2015a).

Στη γαλακτοπαραγωγό αγελάδα η διάρκεια της γαλακτοπαραγωγής είναι 305 ημέρες, ενώ πραγματοποιείται διακοπή της άμελης περίπου 60 ημέρες πριν από τον τοκετό και το διάστημα αυτό ονομάζεται ξηρά περίοδος (Ρογδάκης, 2006). Στα πρόβατα η συνιστώμενη διάρκεια της ξηράς

περιόδου κυμαίνεται από 30 έως 60 ημέρες (Hernandez *et al.*, 2012), ενώ στις αίγες οι κτηνοτρόφοι επιλέγουν να μην την εφαρμόσουν, θεωρώντας ότι δρα αρνητικά στο ενεργειακό ισοζύγιο και στη μακροζωία του ζώου (Zobel *et al.*, 2015b).

Η μείωση της χρονικής διάρκειας της ξηράς περιόδου σε 30 ημέρες ή λιγότερο επιδρά αρνητικά στη γαλακτοπαραγωγή των επόμενων γαλακτικών περιόδων στις αγελάδες (Bernier-Dodier *et al.*, 2011· Steeneveld *et al.*, 2013) και στα πρόβατα (Hernandez *et al.*, 2012), ενώ στις αίγες η διάρκεια της ξηράς περιόδου συνδέεται με τη διατήρηση της γαλακτοπαραγωγής (Knight & Wilde, 1988· Caja *et al.*, 2006). Πράγματι, μολονότι στις αίγες ο αριθμός των μαστικών επιθηλιακών κυττάρων μειώνεται μετά το μέγιστο σημείο γαλακτοπαραγωγής, τα κύτταρα παραμένουν σε υψηλό βαθμό διαφοροποιημένα σε ότι αφορά την εκκριτική τους δραστηριότητα (Wilde *et al.*, 1997) και η γαλακτοπαραγωγή διατηρείται ακόμα και στα ζώα που κνοφορούν (Knight & Wilde, 1988). Επίσης, από έρευνες σε αγελάδες προκύπτει ότι η γαλακτοπαραγωγή τους δεν επηρεάζεται από τη μείωση της διάρκειας της ξηράς περιόδου σε 30 ημέρες (Bachman, 2002· Gulay *et al.*, 2003) ή ότι η μείωση αυτή επηρεάζει αρνητικά τη γαλακτοπαραγωγή μόνο των πρωτότοκων αγελάδων (Pezeshki *et al.*, 2007· Santschi *et al.*, 2011) και όταν αυτή αυξηθεί στις 45 ημέρες η αρνητική επίδραση αναιρείται (Kuhn *et al.*, 2006).

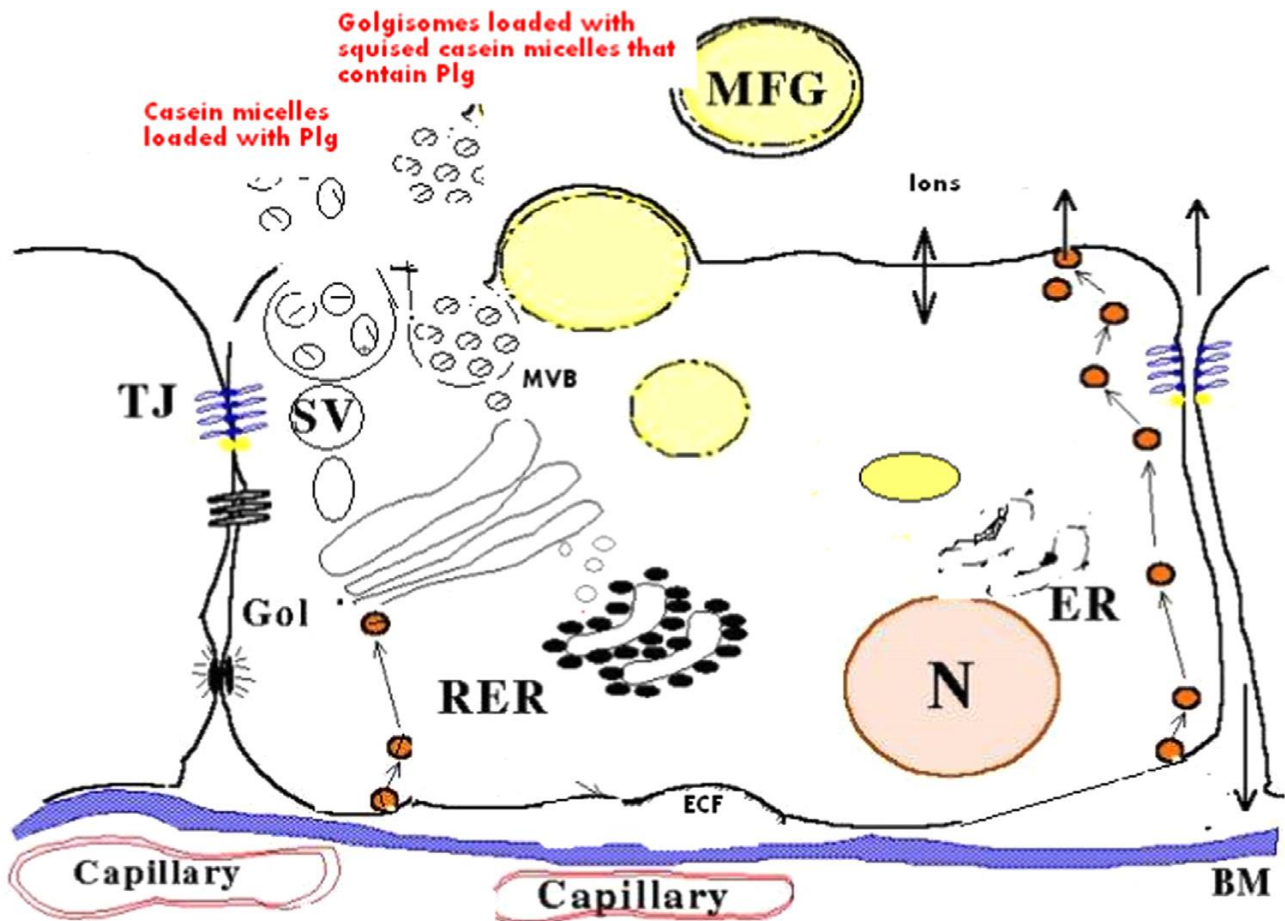
Στην περίπτωση επίσης, που δεν εφαρμοστεί η ξηρά περίοδος στις αγελάδες, η γαλακτοπαραγωγή της επόμενης γαλακτικής περιόδου είναι μειωμένη (Bachman & Schairer, 2003). Η παλινδρόμηση λοιπόν αποτελεί σημαντικό στάδιο για τις αγελάδες και τις προβατίνες, ενώ είναι λιγότερο ξεκάθαρο ότι αυτό ισχύει για τις αίγες. Πράγματι, σε πείραμα των Safayi *et al.* (2010) στις αίγες διαπιστώθηκε ότι παρότι η παράλειψη της ξηράς περιόδου μείωσε την ανανέωση των κυττάρων του μαστικού αδένου, ο αυξημένος αριθμός των διαφοροποιημένων μαστικών επιθηλιακών κυττάρων που υποδεικνύει χαμηλή κυτταρική αντικατάσταση δεν μείωσε το επίπεδο γαλακτοπαραγωγής της επόμενης γαλακτικής περιόδου. Το ίδιο αποτέλεσμα παρατηρήθηκε και στο πείραμα των Fowler *et al.* (1991), ενώ μόνο στο πείραμα των Caja *et al.* (2006) διαπιστώθηκε αρνητική συσχέτιση της γαλακτοπαραγωγής με την παράλειψη της ξηράς περιόδου. Πιθανολογείται ότι στις αίγες η διάρκεια ζωής των μαστικών επιθηλιακών κυττάρων είναι μεγαλύτερη σε σχέση με αυτή των αγελάδων, γεγονός που επιτρέπει σε γερασμένα κύτταρα να διατηρήσουν τη γαλακτοπαραγωγική τους ικανότητα για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (Zobel *et al.*, 2015a).

Η εφαρμογή λοιπόν της ξηράς περιόδου στα μηρυκαστικά είναι σημαντική διότι κατά την παλινδρόμηση προάγεται η απομάκρυνση των γερασμένων ή μη διαιρεμένων μαστικών επιθηλιακών κυττάρων και η δημιουργία καινούργιων (Capuco *et al.*, 1997). Το επίπεδο της κυτταρικής αντικατάστασης (*turnover*) εκτιμάται με βάση την παρουσία ή την απουσία υψηλά διαφοροποιημένων κυττάρων και θεωρείται υψηλότερο όσο περισσότερα στάδια διαφοροποίησης παρατηρούνται (Zobel *et al.*, 2015a). Τα μαστικά επιθηλιακά κύτταρα πρέπει να διαφοροποιηθούν για να αποκτήσουν εκκριτική ικανότητα και το επίπεδο της διαφοροποίησής τους είναι ανάλογο της ηλικίας τους. Τα γηραιότερα μαστικά επιθηλιακά κύτταρα έχουν μειωμένη εκκριτική ικανότητα εξαιτίας της τάσης τους να μη διαφοροποιούνται με το πέρασμα της ηλικίας (Wilde *et al.*, 1997· Capuco & Akers, 1999). Κατά συνέπεια η αντικατάσταση των μαστικών κυττάρων διασφαλίζει τη διαφοροποίησή τους, όσο πλησιάζει ο τοκετός καθώς και τη βέλτιστη γαλακτοπαραγωγή της επόμενης γαλακτικής περιόδου (Zobel *et al.*, 2015a).

Κατά την ξηρά περίοδο ο μαστός των αγελάδων διέρχεται σε τρεις φάσεις: 1) τη φάση της ενεργητικής παλινδρόμησης, που ξεκινά αμέσως μετά τη διακοπή της άμελης και ολοκληρώνεται τρεις έως τέσσερις εβδομάδες μεταγενέστερα, 2) τη φάση δυναμικής ισορροπίας, κατά την οποία ο μαστός βρίσκεται σε κατάσταση πλήρους παλινδρόμησης και 3) τη φάση της πρωτογαλακτογένεσης και εκκίνησης της γαλακτοπαραγωγής, η οποία αρχίζει λίγο πριν από ή κατά τον τοκετό (Ρογδάκης, 2006).

Η φάση της ενεργητικής παλινδρόμησης του μαστού των αγελάδων διαρκεί τρεις έως τέσσερις εβδομάδες μετά τη διακοπή της άμελης. Στην αρχή, και συγκεκριμένα μεταξύ της 21ης και 30ης ημέρας μετά την τελευταία άμελη, εμφανίζονται λίγα επιθηλιακά κύτταρα που περιέχουν κενοτόπια και είναι στένα συνδεδεμένα με τη βασική μεμβράνη, ενώ οι στενοσύνδεσμοι μεταξύ των επιθηλιακών κυττάρων είναι άφθονοι. Επομένως, κατά την 30η ημέρα μετά τη διακοπή της άμελης, ο μαστός της αγελάδας φαίνεται ότι έχει διέλθει σε ένα στάδιο διαφοροποίησης με τη δυναμικότητα αναδημιουργίας του δικτύου των αγωγών οδών και των αδενοκυψελίδων. Κατά το στάδιο της δυναμικής ισορροπίας του μαστού δεν παρατηρούνται ουσιώδεις μεταβολές στη μορφολογία και στη σύσταση του εκκρίματός του και ο φυσιολογικός ρόλος της περιόδου αυτής παραμένει αδιευκρίνιστος. Υπάρχουν ενδείξεις ότι μία ελάχιστη διάρκεια της φάσης αυτής είναι αναγκαία για την άριστη δράση του γαλακτογόνου ορμονικού συμπλέγματος στην εκκίνηση της γαλακτοπαραγωγής. Αντίθετα, σημαντικές αλλαγές στο μαστό παρατηρούνται ξανά λίγο πριν τον τοκετό. Κατά την περιγεννητική περίοδο λοιπόν συμβαίνουν στο μαστό τα αντίθετα γεγονότα από αυτά της ενεργητικής παλινδρόμησης. Στο στάδιο αυτό αρχίζει η πρωτογαλακτογένεση που χωρίζεται σε δύο φάσεις: στην πρώτη φάση οι κυτταρολογικές και ενζυμικές διαφοροποιήσεις που πραγματοποιούνται, συνοδεύονται από μικρή παραγωγή εκκρίματος, ενώ η δεύτερη φάση που αρχίζει λίγο πριν ή κατά τον τοκετό χαρακτηρίζεται από μαζική έκκριση γάλακτος (Ρογδάκης, 2006).

Η σύσταση του γάλακτος κατά την παλινδρόμηση μεταβάλλεται, παρατηρείται δηλαδή μείωση των συστατικών που συντίθενται στο μαστό, ενώ αυξάνονται τα συστατικά που προέρχονται από το αίμα. Συγκεκριμένα, η συγκέντρωση της λακτόζης μειώνεται απότομα τις πρώτες ημέρες μετά τη διακοπή της άμελης, γεγονός που συμβαδίζει με την ταυτόχρονη μείωση της ενεργότητας της συνθετάσης της λακτόζης. Μείωση παρατηρείται και στα επίπεδα συγκέντρωσης του λίπους καθώς επίσης, στην αναλογία των μικρών και μέσου μήκους λιπαρών οξέων στα τριγλυκερίδια του γάλακτος (Ρογδάκης, 2006). Σε ότι αφορά τις πρωτεΐνες, μειώνεται η σύνθεση στο μαστό της α -γαλακταλβουμίνης (α -LA), της β -γαλακτοσφαιρίνης (β -LG) και της καζεΐνης, ενώ λόγω της αυξημένης μετακίνησης της ανοσογλοβουλίνης G (IgG), της αλβουμίνης βοείου ορού (BSA) και της γαλακτοφερίνης από το αίμα στο γάλα παρατηρείται αύξηση της συγκέντρωσης της ολικής πρωτεΐνης του γάλακτος (Wheelock *et al.*, 1967· Hurley, 1989· Politis *et al.*, 1989b· Ρογδάκης, 2006). Επίσης, κατά την παλινδρόμηση παρατηρείται αυξημένη μετακίνηση της πλασμίνης και των σωματικών κυττάρων από το αίμα στο γάλα (Hurley, 1989· Politis *et al.*, 1989b).



BM: βασική μεμβράνη· ECF: εξωκυτταρικό υγρό· N: πυρήνας· ER: ενδοπλασματικό δίκτυο· RER: αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο· Gol: σύστημα Golgi· SV: εκκρηκτικά κυστίδια· MVB: πολυκυστικό σώμα· TJ: στενοσύνδεσμος των επιθηλιακών κυττάρων· MFG: λιποσφαιρίδιο του γάλακτος· Plg: πλασμινογόνο· Capillary: τριχοειδές αγγείο.

Εικόνα 1 Αναπαράσταση της διαδρομής που ακολουθούν τα συστατικά του γάλακτος διαμέσου των επιθηλιακών μαστικών κυττάρων (Πηγή: Silanikove, 2016)

Γενικά, η συγκέντρωση των συστατικών του γάλακτος εξαρτάται από τη βιοσυνθετική δραστηριότητα του μαστικού επιθηλίου και άλλων τύπων κυττάρων και την έκκριση των συντιθέμενων προϊόντων στις κοιλότητες των αδενοκυψελίδων, τη διακυτταρική μεταφορά τους, τη μεσοκυτταρική διάχυση, λόγω της χαλάρωσης των συνδετικών συμπλεγμάτων μεταξύ των επιθηλιακών κυττάρων και την είσοδο των διαχεόμενων ουσιών στις κοιλότητες των αδενοκυψελίδων, καθώς επίσης, από την απορρόφησή τους από τα επιθηλιακά κύτταρα, τη φαγοκυττάρωσή τους και την πέψη τους από διαλυτά ένζυμα στις κοιλότητες των αδενοκυψελίδων (Ρογδάκης, 2006).

Ο στενοσύνδεσμος των επιθηλιακών κυττάρων (*tight junction*) αποτελεί το πιο ακραίο σημείο του συνδετικού συμπλέγματος μέσω του οποίου τα γειτονικά επιθηλιακά κύτταρα έρχονται σε επαφή μεταξύ τους (Εικόνα 1). Ο σύνδεσμος αυτός περιβάλλει τα κύτταρα εμποδίζοντας τη μετακίνηση ιόντων και μικρών μορίων ανάμεσα σε γειτονικά κύτταρα (Stelwagen *et al.*, 1999). Στο μαστικό επιθήλιο οι στενοσύνδεσμοι σχηματίζονται κατά τη γαλακτογένεση, αμέσως πριν την έναρξη της έκκρισης από το μαστικό αδέν (Linzell & Peaker, 1974), ενώ παρατηρείται η χαλάρωσή τους κατά

τη διάρκεια της παλινδρόμησης του μαστού (Fleet & Peaker, 1978). Στις αίγες, η χαλάρωση των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων του μαστού παρουσιάζεται όταν η διακοπή της άμελης υπερβεί τις 18 ώρες (Stelwagen *et al.*, 1994b, 1995).

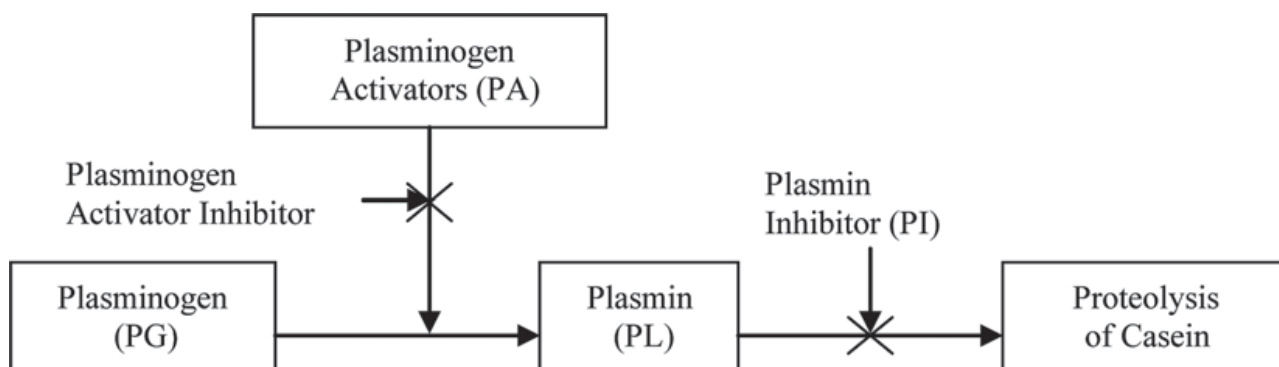
Χαρακτηριστικό της χαλάρωσης των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων του μαστού είναι η αύξηση της συγκέντρωσης του νατρίου και η μείωση της συγκέντρωσης του καλίου στο γάλα (Allen, 1990· Stelwagen *et al.*, 1994b, 1995) και κατά συνέπεια η αύξηση της αναλογίας Na προς K σε αυτό. Λόγω της ελεύθερης μετακίνησης του Na και του K από την κορυφή της μεμβράνης του κυττάρου (Peaker, 1978· Allen, 1988), οι μεταβολές στις συγκεντρώσεις των ιόντων αυτών στο γάλα προκαλούν αντίστοιχες ενδοκυτταρικές μεταβολές (Linzell & Peaker, 1971· Allen, 1988), όπως μείωση της σύνθεσης των πρωτεϊνών, των λιπαρών οξέων και της λακτόζης (Stelwagen *et al.*, 1999). Οι αρνητικές επιπτώσεις στις ενδοκυτταρικές λειτουργίες λόγω της αύξησης της αναλογίας Na προς K οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι η αύξηση της αναλογίας αυτής, ευθύνεται εν μέρει για τη μείωση της έκκρισης γάλακτος, λόγω της χαλάρωσης των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων του μαστού (Allen, 1990). Στο ίδιο συμπέρασμα καταλήγουν και οι έρευνες των Stelwagen *et al.* (1999) όπου διαπιστώθηκε ότι η αναλογία Na προς K, ευθύνεται για τη μείωση της έκκρισης του γάλακτος και όχι η αύξηση της ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης του Na.

Σε έρευνες των Fanning *et al.* (1996) διαπιστώθηκε ότι οι στενοσύνδεσμοι των επιθηλιακών κυττάρων είναι στενά συνδεδεμένοι με τον κυτταρικό σκελετό, ο οποίος παίζει σημαντικό ρόλο στη λειτουργία του κυττάρου. Οι αλλαγές στον κυτταροσκελετό προκαλούν τη μείωση της σύνθεσης της λακτόζης (Allen, 1990· Stelwagen *et al.*, 1997), γεγονός που ευθύνεται εν μέρει για τη μείωση της γαλακτοπαραγωγής όταν οι στενοσύνδεσμοι χαλαρώνουν (Stelwagen *et al.*, 1999). Συγκεκριμένα, η μείωση της σύνθεσης των πρωτεϊνών, λόγω της αύξησης της αναλογίας Na προς K έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση των ενζύμων που εμπλέκονται στη σύνθεση της λακτόζης. Η λακτόζη είναι η σημαντικότερη οσμωτική ουσία που καθορίζει τον όγκο του γάλακτος και κατά συνέπεια η μείωση της συγκέντρωσής της σε αυτό προκαλεί μείωση της έκκρισής του (Stelwagen *et al.*, 1999).

5. ΣΥΣΤΗΜΑ ΠΛΑΣΜΙΝΗΣ-ΠΛΑΣΜΙΝΟΓΟΝΟΥ

5.1 Σύνθεση και λειτουργία του συστήματος πλασμίνης-πλασμινογόνου

Το σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου είναι ένα σύνθετο σύστημα που συναντάται στο γάλα, το οποίο αποτελείται από την πλασμίνη (ΠΛ, PL), το πλασμινογόνο (ΠΓ, PG), τον ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (ΕΠ, PA) μαζί με τους αντίστοιχους αναστολείς της πλασμίνης (ΑΠ, PI) και του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (ΑΕΠ, PAI) (Διάγραμμα 6) (Haque *et al.*, 2015).



Διάγραμμα 6 Σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου στο αγελαδινό γάλα (Πηγή: Ismail & Nielsen, 2010)

Η πλασμίνη (ΠΛ, PL) στο γάλα είναι το κυριότερο πρωτεολυτικό ένζυμο και συναντάται κατά κύριο λόγο στην ανενεργή ή ζυμογόνα της μορφή που είναι το πλασμινογόνο (Haque *et al.*, 2015). Η συγκέντρωση της πλασμίνης στο φρέσκο γάλα είναι χαμηλή (Bastian *et al.*, 1991) και συγκεκριμένα στο πρόβειο γάλα κυμαίνεται από 0,84-1,48 mg/L ανάλογα με το στάδιο γαλακτοπαραγωγής, ενώ ο λόγος πλασμινογόνου προς πλασμίνη κυμαίνεται από 0,76-1,31 ανάλογα με το στάδιο γαλακτοπαραγωγής (Πίνακας 10). Επίσης, η πλασμίνη παρουσιάζεται περισσότερο ενεργή σε εύρος pH 7,5-8,0 και σε θερμοκρασία 37°C (Fox, 1981).

Πίνακας 10 Οι μέσες τιμές ελαχίστων τετραγώνων (mg/L) της πλασμίνης, του πλασμινογόνου, της αναλογίας πλασμινογόνου/πλασμίνης, του ολικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου, της ελαστάσης και της κατεψίνης D στο πρόβειο γάλα κατά τη διάρκεια της γαλακτικής περιόδου

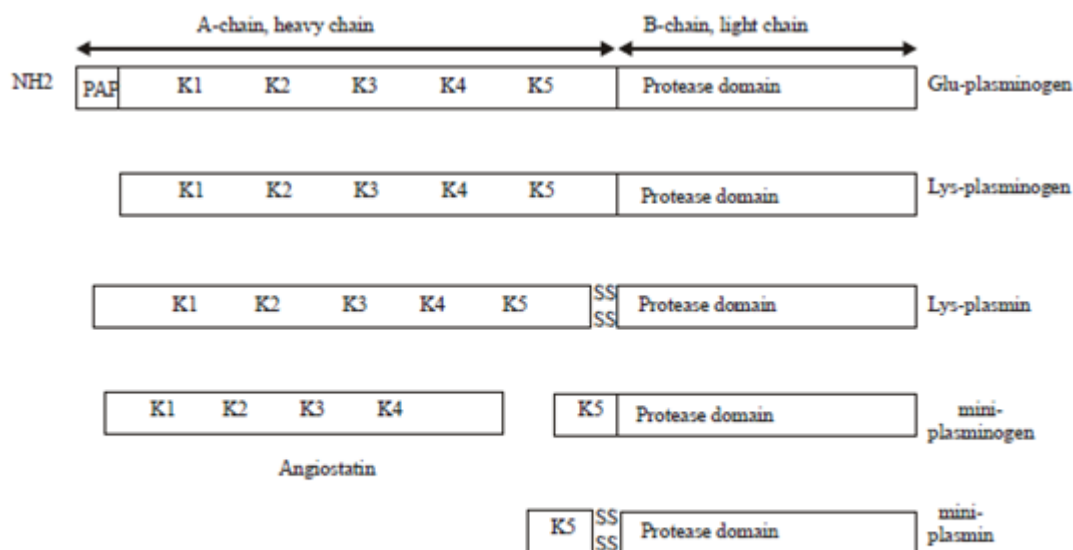
Παράμετροι	Στάδιο γαλακτοπαραγωγής			Τ.Σ.	Επίδραση
	Αρχικό	Μεσαίο	Τελικό		
Πλασμίνη	0,84	1,32	1,48	0,18	Μη Σημαντική
Πλασμινογόνο	1,34	1,24	1,87	0,18	Μη Σημαντική
Πλασμινογόνο/πλασμίνη	0,76	0,80	1,31	0,17	Μη Σημαντική
Ενεργοποιητής του πλασμινογόνου	2,27	2,59	2,80	0,14	Μη Σημαντική
Ελαστάση	0,10a	0,19b	0,95c	0,09	**
Κατεψίνη D	2,41b	3,24c	2,04a	0,06	***

(Πηγή: Albenzio *et al.*, 2009)

Σε ότι αφορά τη δράση της πλασμίνης, είναι μια θερμοανθεκτική αλκαλική πρωτεΐνωση που σχηματίζεται από αμινοξέα σερίνης και έχει δράση παρόμοια με αυτή της θρυψίνης (Haque *et al.*, 2015). Συγκεκριμένα, στις πολυπεπτιδικές αλυσίδες η πλασμίνη διασπά ως επί το πλείστον τους δεσμούς στους οποίους συμμετέχει η λυσίνη (Lys-X) και σε λιγότερο βαθμό αυτούς που δημιουργούνται από την αργινίνη (Arg-X) (Ueshima *et al.*, 1996). Η πλασμίνη προέρχεται από το

αίμα και εισέρχεται στο γάλα σε διαλυτή μορφή, όπου συνδέεται με τις καζεϊνικές μικέλλες (Haque *et al.*, 2015). Στο γάλα η πλασμίνη υδρολύει κατά προτίμηση τις β-καζεΐνες (β-CN) παράγοντας τις γ-καζεΐνες (γ₁-, γ₂-, γ₃-CN) και το συμπληρωματικό τους αμινοτελικό θερμοανθεκτικό πεπτίδιο, την πρωτεόζη-πεπτόνη (Andrews, 1983). Παρομοίως, η αS₁-καζεΐνη (McSweeney *et al.*, 1993) και η αS₂-καζεΐνη (Le Bars & Gripon, 1989) είναι επιρρεπείς στην πρωτεολυτική δράση της πλασμίνης, ενώ αντίθετα η κ-καζεΐνη είναι ανθεκτική (Diaz *et al.*, 1996).

Το πλασμινογόνο (ΠΓ, PG) είναι μια γλυκοπρωτεΐνη μονής αλυσίδας με μοριακό βάρος ~92 kDa, η οποία αποτελείται από ένα αμινοτελικό άκρο, το προ-ενεργοποιημένο πεπτίδιο (PAP) ακολουθούμενο από πέντε χαρακτηριστικά δομικά μοτίβα (*kringle*) και μια πρωτεΐνάση σχηματιζόμενη από αμινοξέα σερίνης που περιέχει τη τριάδα με την καταλυτική δράση (Διάγραμμα 7) (Sottrup-Jensen *et al.*, 1978). Η σύνθεση του πλασμινογόνου πραγματοποιείται κυρίως στο συκώτι και η ανενεργή αυτή μορφή συναντάται στο κυκλοφορικό σύστημα καθώς και σε άλλα υγρά του οργανισμού (Haque *et al.*, 2015). Η συγκέντρωση του πλασμινογόνου στο φρέσκο πρόβειο γάλα κυμαίνεται από 1,24-1,87 mg/L ανάλογα με το στάδιο γαλακτοπαραγωγής (Πίνακας 10).



PAP: προ-ενεργοποιημένο πεπτίδιο, **K:** δομικό μοτίβο, **Glu:** Γλουταμινικό οξύ, **Lys:** Λυσίνη

Διάγραμμα 7 Σχηματική παρουσίαση του πλασμινογόνου και της διάσπασής του σε επιμέρους προϊόντα (Πηγή: Haque *et al.*, 2015)

Ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου (ΕΠ, PA) ευθύνεται για τη μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη (Heegaard *et al.*, 1994) και η συγκέντρωσή του στο φρέσκο πρόβειο γάλα κυμαίνεται από 2,27-2,80 mg/L ανάλογα με το στάδιο γαλακτοπαραγωγής (Πίνακας 10). Στα θηλαστικά παρατηρούνται δυο τύποι του ενεργοποιητή, τύπου ουροκινάσης (u-PA) και ιστικού τύπου (t-PA) (Heegaard *et al.*, 1994a). Η πλασμίνη, το πλασμινογόνο και ο ενεργοποιητής τύπου t-PA είναι στενά συνδεδεμένα με τις καζεϊνικές μικέλλες, ενώ ο ενεργοποιητής τύπου u-PA είναι συνδεδεμένος με τα ουδετερόφιλα (Politis *et al.*, 2002· 2003). Η σύνδεση του t-PA με τις καζεϊνικές μικέλλες υποδηλώνει τον πρωταρχικό ρόλο που έχει ο ενεργοποιητής αυτός στη ρύθμιση της δράσης της πλασμίνης κάτω

από μη παθολογικές συνθήκες, ενώ κατά τη διάρκεια βακτηριακών λοιμώξεων παρατηρείται αύξηση του αριθμού των ουδετερόφιλων και της δράσης του u-PA στο μαστικό αδένιο (Leitner *et al.*, 2004).

Ο αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (ΑΕΠ, PAI) επιβραδύνει τη μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη. Παρομοίως, η πρωτεόλυση των καζεϊνών από την πλασμίνη επιβραδύνεται από τον αναστολέα της πλασμίνης (ΑΠ, PI). Ο αναστολέας της πλασμίνης και ο αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου βρίσκονται κυρίως στον ορό του γάλακτος και η δράση τους επηρεάζεται από τις διακυμάνσεις του pH καθώς και από τη θερμική επεξεργασία (Precetti *et al.*, 1997). Σε αντίθεση με την πλασμίνη, το πλασμινογόνο και τον ενεργοποιητή του πλασμινογόνου, το σύστημα των αναστολέων είναι θερμοασταθές (Richardson, 1983a). Πράγματι, από έρευνες του Richardson (1983a) προέκυψε ότι ο αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου αδρανοποιείται σε μεσαίου βαθμού θερμική επεξεργασία, όπως αυτή της παστερίωσης, ενώ ένας περιορισμένος αριθμός ενεργοποιητών του πλασμινογόνου παραμένει ακόμα ενεργός.

5.2 Παράγοντες που επηρεάζουν το σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου

Η κινητική του συστήματος πλασμίνης-πλασμινογόνου σχετίζεται με τις ιδιότητες των ενζύμων και συγκεκριμένα με την αποδοτικότητα και την ταχύτητα της δράσης τους κατά τη διάρκεια χημικών αντιδράσεων, όπως η υδρόλυση των καζεϊνών που οφείλεται στη δράση της πλασμίνης καθώς και η μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη που οφείλεται στη δράση του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (Ismail & Nielsen, 2010). Οι παράγοντες που επηρεάζουν την κινητική του συστήματος πλασμίνης-πλασμινογόνου αναφέρονται παρακάτω:

5.2.1. Το είδος και η φυλή

Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα διαφόρων ερευνών για την αναλογία PG:PL (Πίνακας 11) προκύπτει ότι η μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη είναι πιο αποδοτική στο πρόβιο γάλα σε σχέση με το γάλα άλλων γαλακτοπαραγωγικών ειδών (Theodorou *et al.*, 2007). Πράγματι, με βάση τις έρευνες των Theodorou *et al.* (2007), Bianchi *et al.* (2004), Albenzio *et al.* (2004) και Leitner *et al.* (2004), η αναλογία PG:PL στο πρόβιο γάλα ήταν χαμηλή, ενώ στις έρευνες των Lacy-Hulbert *et al.* (1999), Baldi *et al.* (1996), Stelwagen *et al.* (1994a) και Politis *et al.* (1990), η αναλογία PG:PL στο αγελαδινό γάλα ήταν υψηλή. Πρέπει να σημειωθεί ότι στο αγελαδινό γάλα το μεγαλύτερο ποσοστό του ενζύμου βρίσκεται στην ανενεργή του μορφή, δηλαδή ως πλασμινογόνο (Theodorou *et al.*, 2007). Επιπλέον, σε δείγματα αγελαδινού γάλακτος από τη Νέα Ζηλανδία παρατηρήθηκαν πολύ χαμηλά επίπεδα πλασμίνης (Stelwagen *et al.*, 1994a· Lacy-Hulbert *et al.*, 1999).

Σε πείραμα των Theodorou *et al.* (2007) που πραγματοποιήθηκε σε 3 ελληνικές φυλές προβατινών (Χίου, Μπούτσικου και μια προερχόμενη από διασταύρωση 50% Μπούτσικου, 25% Άρτας και 25% Χίου) διαπιστώθηκε ότι οι δραστηριότητες της πλασμίνης και του πλασμινογόνου ήταν ίδιες και στις 3 φυλές, κατά συνέπεια η φυλή δεν επηρέασε το σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου.

Πίνακας 11 Μέσες τιμές της αναλογίας παλσμιογόνου πλασμίνης (PG:PL) σε πρόβειο και αγελαδινό γάλα

PG:PL	Είδος	Αναφορές
0,98 (Μπούτσικο) – 1,75 (Χίου) 1,43 (αρχική φάση της γαλακτικής περιόδου) – 0,91 (τελική φάση της γαλακτικής περιόδου)	Προβατίνες φυλής Χίου, Μπούτσικου και διασταύρωσης (50% Μπούτσικου, 25% Άρτας, 25% Χίου)	Theodorou et al. (2007)
1,08-2,40	Πολύτοκες προβατίνες φυλής Σαρδηνίας	Bianchi et al. (2004)
<1 (σε όλες τις φάσεις της γαλακτικής περιόδου, με εξαιρέση τη μεσαία)	Προβατίνες φυλής Κομισάνα	Albenzio et al. (2004)
3,45 (αφορά μη μολυσμένους μαστικούς αδένες)	Προβατίνες φυλής Assaf	Leitner et al. (2004)
6,3 (αρχική φάση της γαλακτικής περιόδου) -3,6 (τελική φάση της γαλακτικής περιόδου)	Αγελάδες φυλής Holstein	Politis et al. (1990)
2,4-6	Αγελάδες φυλής Friesian	Baldi et al. (1996)
31,29-81,2 (τελική φάση της γαλακτικής περιόδου)	Αγελάδες φυλής Friesian	Stelwagen et al. (1994a)· Lacy- Hulbert et al. (1999)

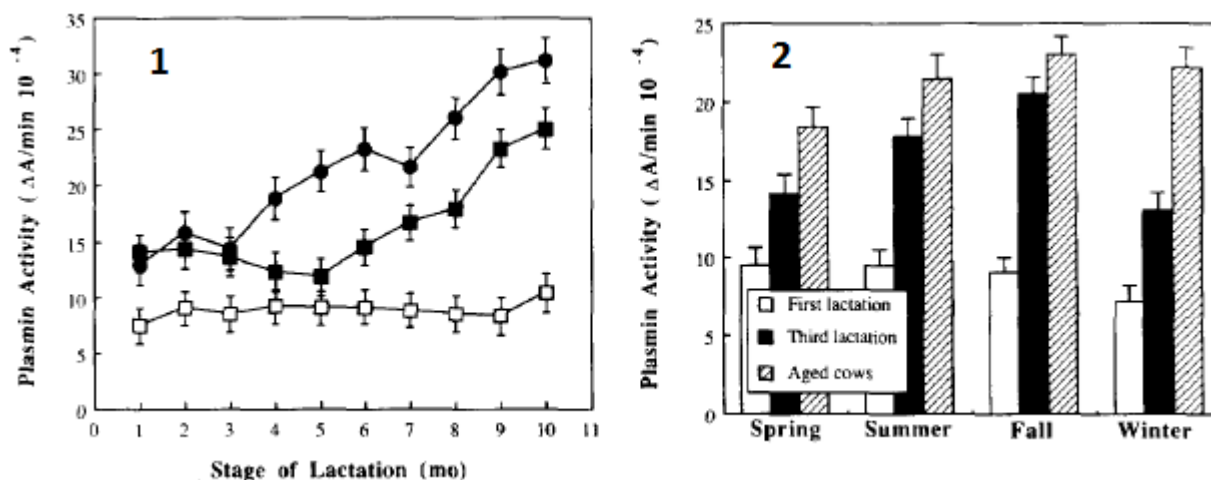
5.2.2. Το στάδιο και ο αριθμός της γαλακτικής περιόδου

Το στάδιο της γαλακτικής περιόδου επηρεάζει το σύστημα πλασμίνης-πλασμιογόνου στο πρόβειο γάλα, αλλά τα αποτελέσματα που υπάρχουν στη βιβλιογραφία είναι αντικρουόμενα. Σε προβατίνες που ανήκουν στη φυλή Σαρδηνίας παρατηρήθηκαν υψηλές συγκεντρώσεις της πλασμίνης και του ενεργοποιητή του πλασμιογόνου κατά το τέλος της γαλακτικής περιόδου (Bianchi *et al.*, 2004). Ο Richardson (1983b) υποστηρίζει ότι η αυξημένη δράση της πλασμίνης κατά το τέλος της γαλακτικής περιόδου οφείλεται στο γεγονός ότι περνάει περισσότερη πλασμίνη από το αίμα στο γάλα και όχι λόγω της αυξημένης ενεργοποίησης του πλασμιογόνου. Αντίθετα, σε προβατίνες που ανήκουν στη φυλή *Comisana* παρατηρήθηκε υψηλή δραστηριότητα της πλασμίνης και του πλασμιογόνου στην αρχική φάση της γαλακτοπαραγωγής και χαμηλή κατά το τέλος της (Albenzio *et al.*, 2004· 2005).

Τα αποτελέσματα του πειράματος των Theodorou *et al.* (2007) σε 3 ελληνικές φυλές προβατινών έδειξαν ότι οι δραστηριότητες της πλασμίνης, του πλασμιογόνου και του ενεργοποιητή του πλασμιογόνου, καθώς και η αναλογία PG:PL και το άθροισμα PL+PG δεν διαφοροποιούνται κατά την αρχική (1^{ος} έως 2^{ος} μήνας) και μεσαία (3^{ος} έως 4^{ος} μήνας) φάση της γαλακτικής περιόδου. Ωστόσο, κατά την τελική φάση (5^{ος} έως 6^{ος} μήνας), οι δραστηριότητες του πλασμιογόνου και του ενεργοποιητή του πλασμιογόνου, καθώς και η αναλογία PG:PL και το άθροισμα PL+PG ήταν χαμηλότερα εν συγκρίσει με αυτά της αρχικής και μεσαίας φάσης της γαλακτικής περιόδου. Η μεταβολή στην αναλογία PG:PL υποδηλώνει υψηλή μετατροπή του πλασμιογόνου σε πλασμίνη κατά την τελική φάση της γαλακτικής περιόδου.

Σε ότι αφορά τον αριθμό της γαλακτικής περιόδου, έρευνες των Bastian *et al.* (1991) έδειξαν ότι η δράση της πλασμίνης στο γάλα αυξήθηκε στις αγελάδες που βρίσκονταν στην 3^η και ≥4^η γαλακτική περίοδο, ενώ παρέμεινε σταθερή στις αγελάδες που βρίσκονταν στην 1^η γαλακτική περίοδο

(Διάγραμμα 8.1). Παρομοίως, στην έρευνα των Schaar & Funke (1986) διαπιστώθηκε ότι η δράση της πλασμίνης αυξήθηκε σε συνάρτηση με τον αριθμό και το στάδιο της γαλακτικής περιόδου.



Διάγραμμα 8 Μηνιαίες (1) και Εποχικές (2) μέσες τιμές της δραστηριότητας της πλασμίνης σε τρεις διαφορετικές ηλικιακά ομάδες αγελάδων που βρίσκονται στην 1^η (□), 3^η (■) και ≥ 4^η (●) ή (●) γαλακτική περίοδο (Πηγή: Bastian et al., 1991)

Επίσης, στο πείραμα των Politis *et al.* (1989a) παρατηρήθηκε ότι η δραστηριότητα της πλασμίνης στο αγελαδινό γάλα δεν διέφερε ανάμεσα στις 3 πρώτες γαλακτικές περιόδους, ενώ από μη δημοσιευμένα στοιχεία του εργαστηρίου Ζωοτεχνίας του ΓΠΑ προκύπτει ότι οι δραστηριότητες της πλασμίνης, του πλασμινογόνου και του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου δεν διαφέρουν στις 4 πρώτες γαλακτικές περιόδους στο πρόβειο γάλα. Ωστόσο, στο πείραμα των Theodorou *et al.* (2007) οι διαφορές που παρατηρήθηκαν ανάμεσα στις προβατίνες που ανήκαν στη φυλή Χίου (βρίσκονταν στη 2^η και 3^η γαλακτική περίοδο) και σε αυτές που ανήκαν στη φυλή Μπούτσικου και σε μια διασταύρωση των φυλών αυτών (βρίσκονταν στην 1^η γαλακτική περίοδο) θα μπορούσαν να αποδοθούν και στον διαφορετικό αριθμό της γαλακτικής τους περιόδου.

5.2.3. Η εποχή

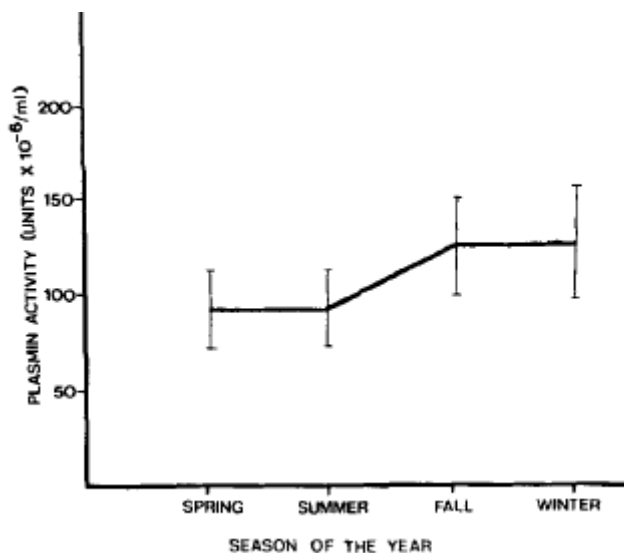
Στο πείραμα των Bastian *et al.* (1991), η δράση της πλασμίνης στο γάλα των αγελάδων που βρίσκονταν στην 3η γαλακτική περίοδο ήταν υψηλότερη το καλοκαίρι και το φθινόπωρο εν συγκρίσει με την άνοιξη και τον χειμώνα, ενώ η δράση της πλασμίνης στις αγελάδες που βρίσκονταν στην ≥4η γαλακτική περίοδο ήταν χαμηλή μόνο την άνοιξη (Διάγραμμα 8.2). Επίσης, το πλασμινογόνο καθώς και η συνολική δράση του συστήματος (PL+PG) παρουσίασαν τις υψηλότερες τιμές τους το φθινόπωρο και τον χειμώνα (Πίνακας 12).

Πίνακας 12 Μέσες τιμές πλασμινογόνου, συνολικής δράσης του συστήματος (total= PL+PG) και % πλασμίνης (PL/total)

Εποχή	Πλασμινογόνο	Total	% Πλασμίνης
Άνοιξη	78 ± 2,4	92 ± 2,6	15,6 ± 0,70
Καλοκαίρι	73 ± 2,4	89 ± 2,6	18,8 ± 0,71
Φθινόπωρο	85 ± 1,9	103 ± 2,1	17,3 ± 0,57
Χειμώνας	87 ± 2,3	101 ± 2,5	15,5 ± 0,65

(Πηγή: Bastian et al., 1991)

Αντίθετα, στις έρευνες των Politis *et al.* (1989a) παρόλο που παρατηρήθηκε αύξηση της δραστηριότητας της πλασμίνης στο αγελαδινό γάλα κατά 20% το φθινόπωρο και τον χειμώνα σε σχέση με το καλοκαίρι και την άνοιξη, οι διαφορές αυτές δεν ήταν σημαντικές ($P < 0,05$) (Διάγραμμα 9). Ο αριθμός και το στάδιο της γαλακτικής περιόδου ήταν οι παράγοντες που επηρέασαν περισσότερο σημαντικά τη δράση της πλασμίνης σε σχέση με την εποχή (Politis *et al.*, 1989a).



Διάγραμμα 9 Επίδραση της εποχής στη δράση της πλασμίνης (Πηγή: Politis *et al.*, 1989a)

5.2.4. Η υγιεινή κατάσταση του μαστού

Το σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου στο πρόβειο γάλα επηρεάζεται από την υγιεινή κατάσταση του μαστού. Η μαστίτιδα προκαλεί αύξηση της διαπερατότητας του μαστικού επιθηλίου και κατά συνέπεια αυξάνεται το ποσοστό των συστατικών που διαχέονται από το αίμα στο γάλα (Munro *et al.*, 1984), όπως η πλασμίνη και το πλασμινογόνο (Politis *et al.*, 1989a). Επίσης, η αυξημένη δράση της πλασμίνης, που παρατηρείται στο μαστιτικό γάλα οφείλεται στην παρουσία ενεργοποιητών του πλασμινογόνου οι οποίοι παράγονται από τα μακροφάγα (Mullins & Rohrlach, 1983), τα οποία αποτελούν το πλειοψηφικό είδος κυττάρων για αρκετές μέρες μετά τη μόλυνση (Politis *et al.*, 1989a).

Συγκεκριμένα, η δραστηριότητα της πλασμίνης και του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου αυξάνονται κατά 74 και 139%, αντίστοιχα, σε μολυσμένο μαστικό αδένιο σε σχέση με έναν μη μολυσμένο (Leitner *et al.*, 2004). Παρομοίως, σε έρευνα των Charismiadiou *et al.* (2015) παρατηρήθηκε ότι στις ομάδες, όπου ο αριθμός των σωματικών τους κυττάρων ήταν $< 300,000/\text{mL}$ ή κυμαινόταν από $300,000-1,000,000/\text{mL}$, η δραστηριότητα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου στο γάλα τετραπλασιάστηκε, ενώ δεκαπλασιάστηκε όταν ο αριθμός τους αυξήθηκε $> 1,000,000/\text{mL}$ σε σχέση με την ομάδα με τον χαμηλότερο αριθμό σωματικών κυττάρων ($< 300,000/\text{mL}$). Επιπλέον, από έρευνες των Bianchi *et al.* (2004) διαπιστώθηκε ότι η αύξηση των σωματικών κυττάρων συνδέεται με αύξηση της δραστηριότητας της πλασμίνης κατά 18%, μείωση της δραστηριότητας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου κατά 23%, ενώ δεν παρατηρήθηκε μεταβολή στη δραστηριότητα του πλασμινογόνου. Ακόμα, σε έρευνες των Albenzio *et al.* (2004) παρατηρήθηκε αύξηση της

δραστηριότητας της πλασμίνης σε δείγματα όπου παρουσίαζαν υψηλά ποσοστά σωματικών κυττάρων (>1,000,000/mL), σε σχέση με αυτά που παρουσίαζαν χαμηλά ποσοστά (<500,000/mL). Επίσης, παρατηρήθηκε αύξηση της δραστηριότητας του πλασμινογόνου σε δείγματα με υψηλό ποσοστό σωματικών κυττάρων έναντι αυτών με χαμηλό ποσοστό, όμως μόνο κατά τη διάρκεια της μέσης γαλακτικής περιόδου (από την 110^η έως την 130^η ημέρα της γαλακτοπαραγωγής).

Σε παρόμοια αποτελέσματα κατέληξαν και οι έρευνες των Theodorou *et al.* (2007) στις οποίες παρατηρήθηκε αυξημένη δραστηριότητα της πλασμίνης, του πλασμινογόνου και του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου στα δείγματα πρόβειου γάλακτος που παρουσίαζαν υψηλά ποσοστά σωματικών κυττάρων (>300,000 cells/mL), εν συγκρίσει με αυτά που παρουσίαζαν χαμηλά ποσοστά (<300,000 cells/mL). Επιπλέον, η αναλογία PG:PL ήταν μικρότερη, ενώ το άθροισμα PG+PL μεγαλύτερο στα δείγματα με υψηλά ποσοστά σωματικών κυττάρων σε σχέση με αυτά με τα χαμηλά ποσοστά.

Κατά την περιγεννητική περίοδο, παρατηρείται εξασθένηση του ανοσοποιητικού συστήματος και το γεγονός αυτό συμβάλλει στην αύξηση των ποσοστών μαστίτιδας στα γαλακτοπαραγωγά ζώα. Σε έρευνες των Weiss *et al.* (1990), Politis *et al.* (1996) και Smith *et al.* (1997) διαπιστώθηκε ότι η χορήγηση της βιταμίνης Ε ως συμπλήρωμα διατροφής στις αγελάδες γαλακτοπαραγωγού τύπου προλαμβάνει αυτήν την εξασθένηση και την εμφάνιση περιστατικών μαστίτιδας. Πράγματι, η χορήγηση της βιταμίνης Ε προκάλεσε αύξηση της εισροής των ουδετερόφιλων στον μαστικό αδένα με ταυτόχρονη αύξηση της φαγοκυττάρωσης και της παραγωγής υπεροξειδίου από τη δράση τους (Politis *et al.*, 1996· Smith *et al.*, 1997). Οι δεσμοί που σχηματίζει ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου τύπου ουροκινάσης (u-PA) με τους υποδοχείς του, που βρίσκονται στη μεμβράνη των ουδετερόφιλων, ευνοούν τη μετακίνησή του στον μαστικό αδένα και η χορήγηση βιταμίνης Ε στις αγελάδες και στα πρόβατα αυξάνει τα ποσοστά των δεσμών αυτών (Politis *et al.*, 2001· 2003· 2004). Συγκεκριμένα, από έρευνες των Politis *et al.* (2003) σε πρόβατα της φυλής Χίου διαπιστώθηκε ότι η χορήγηση της βιταμίνης Ε με την εστεροποιημένη μορφή της με ηλεκτρικό οξύ (α -TS) προκάλεσε την αύξηση των δεσμών του u-PA εν συγκρίσει με τις άλλες μορφές που χορηγήθηκαν, δηλαδή την α -Τοκοφερόλη (α -T) και την εστεροποιημένη μορφή της με οξικό οξύ (α -TA).

Επιπλέον, η χορήγηση της βιταμίνης Ε ως συμπλήρωμα διατροφής στις αγελάδες γαλακτοπαραγωγού τύπου προκάλεσε τη μείωση της δραστηριότητας της πλασμίνης στο γάλα κατά 30%, ενώ δεν επηρέασε τη δραστηριότητα του πλασμινογόνου. Συνεπώς, η αναλογία PG:PL ήταν χαμηλότερη, δηλαδή η βιταμίνη Ε ενεπλάκη στη μετατροπή του ανενεργού πλασμινογόνου σε ενεργή πλασμίνη (Politis *et al.*, 2004). Η πιθανή εξήγηση για την παρατηρούμενη μείωση της πλασμίνης στο γάλα είναι ότι ακολουθεί την ταυτόχρονη μείωση των σωματικών κυττάρων που πραγματοποιείται σε αυτό, λόγω της χορήγησης της βιταμίνης Ε (Baldi *et al.*, 2000· Politis *et al.*, 1995, 2004). Τα σωματικά κύτταρα στο γάλα περιέχουν τους ενεργοποιητές του πλασμινογόνου (Heegard *et al.*, 1994b), οπότε η μείωσή τους σε αυτό, επιφέρει τη μείωση των ποσοστών μετατροπής του πλασμινογόνου σε πλασμίνη (Politis *et al.*, 2004). Η χορήγηση λοιπόν της βιταμίνης Ε στη διατροφή επηρεάζει θετικά την ποιότητα του γάλακτος και επιτρέπει την καλύτερη τυροκόμησή του, αυξάνοντας τις πηκτικές του ιδιότητες και τα ποσοστά παραγόμενου τυριού καλύτερης ποιότητας (Politis *et al.*, 2004).

5.2.5. Οι συνθήκες επεξεργασίας του γάλακτος

5.2.5.1. Θερμική επεξεργασία

Η επιλογή του τύπου της θερμικής επεξεργασίας που θα υποστεί το γάλα εξαρτάται από την τελική του χρήση (Ismail & Nielsen, 2010). Σε γενικές γραμμές, το γάλα μπορεί να ακολουθήσει τη διαδικασία της παστερίωσης (στους 65–75°C για 15–30 δευτερόλεπτα) ή της αποστείρωσης, διαμέσου της θερμικής επεξεργασίας σε άκρως υψηλή θερμοκρασία (UHT, *Ultra-high-temperature*) (στους 135–150°C για λίγα δευτερόλεπτα) (Καμιναρίδης & Μοάτσου, 2009· Ismail & Nielsen, 2010). Επίσης, για τη δημιουργία προϊόντων με αποβουτυρωμένο γάλα σε σκόνη (NFDM, *Non-fat Dried Milk*), το γάλα προθερμαίνεται σε χαμηλή θερμοκρασία (στους 75°C για 15 δευτερόλεπτα), σε μεσαία θερμοκρασία (στους 75°C για 1–3 λεπτά), σε υψηλή θερμοκρασία (στους 80°C για 30 λεπτά) ή σε άκρως υψηλή UHT θερμοκρασία (στους 120°C για 1 λεπτό) (Καμιναρίδης & Μοάτσου, 2009· Ismail & Nielsen, 2010).

Σε ότι αφορά την παστερίωση, έρευνες έδειξαν αρχική αύξηση των επιπέδων της πλασμίνης και του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου, ενώ η περαιτέρω θερμική επεξεργασία προκάλεσε τη μείωση των επιπέδων της πλασμίνης. Η αρχική αύξηση των επιπέδων της πλασμίνης αποδόθηκε στην απενεργοποίηση των αναστολέων της πλασμίνης και του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου, όπως επίσης σχετίστηκε με τη θερμική σταθερότητα των ενεργοποιητών του πλασμινογόνου t-PA και u-PA ή με τη βελτιωμένη δράση του μετουσιωμένου πλασμινογόνου. Αντίθετα, η μείωση των επιπέδων της πλασμίνης που προκλήθηκε από την περαιτέρω θερμική επεξεργασία αποδόθηκε σε αλληλεπιδράσεις της πλασμίνης, του πλασμινογόνου ή του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου με τις μετουσιωμένες πρωτεΐνες του ορού (Ismail & Nielsen, 2010).

Για την παραγωγή του UHT γάλακτος, το μη επεξεργασμένο γάλα προθερμαίνεται (στους 80–95°C για 30–60 δευτερόλεπτα) πριν ακολουθήσει η επεξεργασία του σε υψηλή θερμοκρασία. Με αυτό τον τρόπο αποφεύγεται η δημιουργία συμπλεγμάτων ανάμεσα στις πρωτεΐνες του ορού και τις καζεΐνες, ενώ το σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου δεν απενεργοποιείται εντελώς και παρατηρείται επιβράδυνση στην πήξη του γάλακτος. Τέλος, στα προϊόντα που περιέχουν αποβουτυρωμένο γάλα σε σκόνη (NFDM), η πλασμίνη, το πλασμινογόνο και ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου διατηρούνται συνδεδεμένα στις μικέλλες, γεγονός που προκαλεί την εμφάνιση μη επιθυμητής πρωτεόλυσης, επηρεάζοντας τις λειτουργικές ιδιότητες και την ποιότητα των προϊόντων (Ismail & Nielsen, 2010).

5.2.5.2. Συνθήκες τυροκόμησης

Οι θερμοκρασίες που εφαρμόζονται κατά την τυροκόμηση και συγκεκριμένα για την επεξεργασία του τυροπήγματος επηρεάζουν την ενεργότητα της πλασμίνης. Για παράδειγμα, η υψηλότερη θερμοκρασία που χρησιμοποιείται για την παρασκευή του ελβετικού τυριού (50°C) σε σχέση με αυτή του τυριού *Cheddar* (37°C) απενεργοποιεί την πυτιά, με αποτέλεσμα η ωρίμανση του τυριού να στηρίζεται στη δράση της πλασμίνης (Farkye & Fox, 1990). Κατά συνέπεια, παρατηρούνται υψηλότερα επίπεδα πλασμίνης στο ελβετικό τυρί σε σχέση με αυτά του τυριού *Cheddar* (Richardson & Pearce, 1981· Farkye & Fox, 1990). Επιπλέον, από έρευνες των Somers & Kelly (2002) προέκυψε ότι σε υψηλές θερμοκρασίες τυροκόμησης αυξάνεται η δραστηριότητα της πλασμίνης, γεγονός που οφείλεται στην ενεργοποίηση του πλασμινογόνου. Τέλος, οι δραστηριότητες της πλασμίνης, του

πλασμινογόνου και του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου u-PA είναι μειωμένες σε θερμοκρασία 21°C σε σχέση με τις θερμοκρασίες 37°C ή 55°C (Choi *et al.*, 2006).

Σε ότι αφορά το αλάτισμα κατά τη διαδικασία της τυροκόμησης, έρευνες των Farkye & Fox (1990) έδειξαν ότι η συγκέντρωση του αλατιού επηρεάζει ελάχιστα έως και καθόλου τη δραστηριότητα της πλασμίνης. Εντούτοις, από έρευνες των Fox *et al.* (2000) προέκυψε ότι σε χαμηλή συγκέντρωση αλατίσματος (μέχρι 2% NaCl) αυξάνεται ελάχιστα η δράση της πλασμίνης, ενώ σε υψηλότερες συγκεντρώσεις αλατίσματος (8% NaCl) μειώνεται η δραστηριότητά της. Επίσης, σε κανονικές συγκεντρώσεις NaCl (0.15 M), η δράση του πλασμινογόνου παρεμποδίζεται στα κύτταρα διαφόρων ειδών θηλαστικών (Aggeler *et al.*, 1981), ενώ η δραστηριότητα της πλασμίνης και του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου t-PA αυξάνεται (Choi *et al.*, 2006).

5.2.6. Το pH του γάλακτος

Η πλασμίνη εμφανίζεται περισσότερο ενεργή σε pH 7.5-8.0 και σε θερμοκρασία 37°C (Fox, 1981), αλλά μπορεί να διατηρήσει την ενεργότητά της και σε μια ευρύτερη κλίμακα τιμών του pH (Bastian & Brown, 1996). Σε χαμηλότερες τιμές του pH που εφαρμόζονται για την παρασκευή τυριών και γιαουρτίς παρατηρείται η καθίζηση των καζεϊνών και η διάσπαση των μικελλών τους με ταυτόχρονη αποσύνδεση της πλασμίνης και του πλασμινογόνου από αυτά. Σε ότι αφορά τον ενεργοποιητή του πλασμινογόνου και την επίδραση του pH σε αυτό δεν υπάρχουν επαρκείς έρευνες (Ismail & Nielsen, 2010).

5.2.7. Οι συνθήκες συντήρησης του γάλακτος

5.2.7.1. Συντήρηση του γάλακτος στο ψυγείο

Η συντήρηση του μη επεξεργασμένου ή παστεριωμένου γάλακτος στο ψυγείο (στους 2 έως 5°C) για μακρύ χρονικό διάστημα επηρεάζει την ποιότητά του (Crudden *et al.*, 2005). Πράγματι, η συντήρηση του γάλακτος στο ψυγείο επιτρέπει την ανάπτυξη των ψυχρότροφων μικροοργανισμών καθώς επίσης επηρεάζει και το σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου. Συγκεκριμένα, σε θερμοκρασία ψύξης, η πλασμίνη και το πλασμινογόνο παραμένουν ενεργά, παρόλο που η άριστη θερμοκρασία δράσης τους είναι στους 37°C. Επιπλέον, σε χαμηλές θερμοκρασίες παρατηρούνται μεταβολές στις καζεϊνικές μικέλλες, δηλαδή οι β-καζεΐνες γίνονται πιο διαλυτές, γεγονός που διευκολύνει την πρόσβαση της πλασμίνης και κατά συνέπεια την πρωτεόλυσή τους (Ismail & Nielsen, 2010).

5.2.7.2. Συντήρηση του γάλακτος σε θερμοκρασία περιβάλλοντος

Το γάλα άκρως υψηλής θερμικής επεξεργασίας (UHT) και το αποβουτυρωμένο γάλα σε σκόνη (NFDM) συντηρούνται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Όταν η διάρκεια συντήρησης είναι παρατεταμένη, η πλασμίνη υφίσταται αυτόλυση χάνοντας έτσι ένα μέρος από τη δραστηριότητά της. Ωστόσο, οι πιθανότητες ενεργοποίησης του πλασμινογόνου είναι υψηλές διότι η θερμοκρασία περιβάλλοντος (22–25°C) πλησιάζει την άριστη θερμοκρασία δράσης του (37°C) και ο αναστολέας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου καταστέλλεται από τη θερμική επεξεργασία που εφαρμόζεται στις παραπάνω κατηγορίες γάλακτος. Έτσι παρατηρείται υδρόλυση των καζεϊνών που συνεπάγεται πηκτωματοποίηση του UHT γάλακτος και ύπαρξη πρωτεϊνών χαμηλής ποιότητας NFDM γάλα, το οποίο χρησιμοποιείται σε πολλά τρόφιμα σαν λειτουργικό συστατικό (Ismail & Nielsen, 2010).

5.2.8. Οι βακτηριακές πρωτεάσες

Τα ψυχρότροφα βακτήρια που επιμολύνουν το φρέσκο μη επεξεργασμένο γάλα ανήκουν στην κατηγορία των *Gram* αρνητικών μικροοργανισμών, με κυρίαρχα τα *Pseudomonas sp.*, ενώ το παστεριωμένο γάλα επιμολύνεται είτε από *gram* αρνητικούς μικροοργανισμούς που ξαναμολύνουν το γάλα μετά την παστερίωσή του είτε από *Gram* θετικούς μικροοργανισμούς που επιζούν της παστερίωσης με κυρίαρχα τα *Bacillus sp.* (Cousin, 1982· Sørhaug & Stepaniak, 1997). Κατά τη διάρκεια της συντήρησης του γάλακτος στο ψυγείο αναπτύσσονται ψυχρότροφοι μικροοργανισμοί, οι οποίοι παράγουν μεταλλοπρωτεάσες (Cousin, 1982) που παρουσιάζουν σταθερότητα στη θερμότητα και προκαλούν αποσταθεροποίηση των καζεϊνικών μικελλών μέσω της υδρόλυσης της κ-καζεΐνης (Ewings *et al.*, 1984· Mitchell & Marshall, 1989· Cromie, 1992). Η πρωτεόλυση του γάλακτος που οφείλεται στις βακτηριακές πρωτεάσες έχει σαν αποτέλεσμα την υποβάθμιση της ποιότητας των τυριών, τη δημιουργία μικρών πεπτιδίων, τα οποία προσδίδουν στο προϊόν πικρή γεύση, την πηκτωματοποίηση του γάλακτος UHT, καθώς επίσης τη μόλυνση των εναλλακτών θερμότητας κατά τη θερμική επεξεργασία του γάλακτος (Grufferty & Fox, 1988· Champagne *et al.*, 1994).

Από διάφορες έρευνες προκύπτει ότι οι βακτηριακές πρωτεάσες μπορούν να επηρεάσουν το σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου προκαλώντας τη μείωση της δραστηριότητας της πλασμίνης (Guinot-Thomas *et al.*, 1995· Fajardo-Lira & Nielsen, 1998· Fajardo-Lira *et al.*, 2000). Αντίθετα, κατά τη διάρκεια άλλων μελετών διαπιστώθηκε ότι οι βακτηριακές πρωτεάσες αυξάνουν τη δραστηριότητα της πλασμίνης μέσω της βελτίωσης της δραστηριότητας του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου ή της προσομοίωσης της δράσης του (Frohbieter *et al.*, 2005· Larson *et al.*, 2006). Συνεπώς, από τις έρευνες αυτές προκύπτει ότι το σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου αλληλεπιδρά και συνεργάζεται με τις μεταλλοπρωτεάσες προκαλώντας εξωκυτταρικές πρωτεολύσεις. Για το λόγο αυτό είναι απαραίτητο όταν μελετάται η ενεργότητα του συστήματος πλασμίνης-πλασμινογόνου στο γάλα, να μειώνονται ή να εξουδετερώνονται οι βακτηριακές πρωτεάσες που περιέχονται σε αυτό, προσθέτοντας έναν αναστολέα τους, όπως είναι το αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ (EDTA) (Ismail & Nielsen, 2010).

5.3 Επίδραση του συστήματος πλασμίνης-πλασμινογόνου

5.3.1. Στο γάλα και τα παράγωγά του

Η αυξημένη δράση της πλασμίνης και του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου συνδέεται με την υποβάθμιση των πηκτικών ιδιοτήτων του γάλακτος, λόγω της πρωτεόλυσης των καζεϊνών μέσω της πλασμίνης (Srinivasan & Lucey, 2002). Από έρευνες σε γάλα, που περιείχε υψηλές συγκεντρώσεις πλασμίνης, διαπιστώθηκε ότι η υδρόλυση των καζεϊνών που προκαλεί η πλασμίνη δεν επηρεάζει τόσο τον χρόνο που χρειάζεται η πτυιά για να πήξει το γάλα κατά την τυροκόμηση όσο τη συνεκτικότητα των πηγμάτων (Bastian & Brown, 1996). Κατά την ωρίμανση του τυριού η πρωτεόλυση προκαλεί μεταβολές στην υφή του τυριού, αύξηση του pH του, λόγω απελευθέρωσης της αμμωνίας (NH₃) και δημιουργία χαρακτηριστικών γεύσεων και αρωμάτων (Fox *et al.*, 1993). Σε μελέτες των Bastian & Brown (1996) προέκυψε ότι η πλασμίνη επιταχύνει την ωρίμανση των τυριών και βελτιώνει τα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά. Το γεγονός αυτό είναι πολύ σημαντικό διότι η ωρίμανση είναι ένα χρονοβόρο στάδιο (Webster & Frye, 1987), οπότε η επιτάχυνσή του αποτελεί

πλεονέκτημα στο χρόνο και στο κόστος παραγωγής (Ismail & Nielsen, 2010). Αντίθετα, η παρουσία του συστήματος πλασμίνης-πλασμινογόνου στο παστεριωμένο γάλα, στο γάλα UHT ή στο NFDM γάλα προκαλεί την εμφάνιση μη επιθυμητών πρωτεολυτικών αντιδράσεων που συνδέονται με την κατακρήμνιση των πρωτεϊνών ή την πηκτωματοποίησή του, με αρνητικές επιπτώσεις στην ποιότητα των προϊόντων αυτών (Kohlmann *et al.*, 1991b· Enright *et al.*, 1999· Newstead *et al.*, 2006· Nielsen, 2002).

5.3.2. Στον οργανισμό

Στο κυκλοφορικό σύστημα, το σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου παρουσιάζει δύο κύριους ρόλους (Silanikone, 2016). Πρώτον, η πλασμίνη συμβάλλει στη λύση των θρόμβων στο αίμα (Sidelmann *et al.*, 2000), αποτρέποντας την αιμόσταση και διατηρώντας τη ροή του αίματος στα αγγεία (Plow *et al.*, 1995). Δεύτερον, το σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου αποδομεί τις βασικές μεμβράνες, ευνοώντας τη διεπιθηλιακή μετακίνηση των κυττάρων (Plow *et al.*, 1995). Οι ιδιότητες αυτές του συστήματος είναι σημαντικές σε πολλά στάδια ανάπτυξης εσωτερικών οργάνων, όπως στην παλινδρόμηση του μαστού (Lund *et al.*, 2000· Green *et al.*, 2006).

Σε ότι αφορά τον μαστικό αδένα, το σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου ως αυτοκρινής παράγοντας επιδρά στη διαφοροποίηση των μαστικών κυττάρων, καθορίζοντας τον αριθμό των υποδοχέων για την προλακτίνη στην επιφάνειά τους (Wilde & Peaker, 1990).

Επίσης, το σύστημα αυτό συνδέεται στενά με την παλινδρόμηση του μαστού, που συμπίπτει με την πτώση της γαλακτοπαραγωγής (Haque *et al.*, 2015· Politis *et al.*, 1989b). Πράγματι, τα ποσοστά της γ-καζεΐνης (Brown *et al.*, 1995) και του ομόλογού της αμινοτελικού άκρου της β-καζεΐνης f (1-28) (Silanikone *et al.*, 2000), που παρουσιάζονται κατά την πτωτική φάση της γαλακτοπαραγωγής, συνδέονται αρνητικά με τη γαλακτοπαραγωγή και αντικατοπτρίζουν τη σταδιακή παλινδρόμηση του μαστού. Επιπλέον, η β-καζεΐνη f (1-28) είναι ανθεκτική στην περαιτέρω διάσπασή της από την πλασμίνη (Andrews, 1983) και το γεγονός ότι δεν υπόκειται σε γενετικές αλλαγές, την καθιστά ιδανική για τον έλεγχο του μηχανισμού της αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης (*feedback*) της γαλακτοπαραγωγής (Haque *et al.*, 2015).

Παρομοίως, οι ερευνητές Ossowski *et al.* (1979) συνδέουν τη σημαντική αύξηση της δραστηριότητας της πλασμίνης κατά το τέλος της γαλακτικής περιόδου με την παλινδρόμηση του μαστού. Συγκεκριμένα, υποστηρίζουν ότι η πλασμίνη μπορεί να προκαλέσει πρωτεόλυση της επιφάνειας του επιθηλίου των κυψελίδων του μαστού με αποτέλεσμα την καταστροφή των ορμονικών υποδοχέων, διάφορες μεταβολές στην διαπερατότητα της πλασματικής μεμβράνης, ακόμα και την καταστροφή των κυττάρων (Ossowski *et al.*, 1979). Το γεγονός αυτό λοιπόν εξηγεί μερικώς τη μείωση της γαλακτοπαραγωγής που παρατηρείται κατά το τέλος της γαλακτικής περιόδου (Munro *et al.*, 1984· Ng Kwai Hang *et al.*, 1984).

Η πλασμίνη λοιπόν μπορεί να αποτελέσει δείκτη του φαινομένου της παλινδρόμησης του μαστού. Το γάλα που λαμβάνεται κατά τη διάρκεια των πρώτων 5-6 μηνών της γαλακτικής περιόδου περιέχει χαμηλά ποσοστά πλασμίνης και πλασμινογόνου, ενώ τα ποσοστά τους αυξάνουν προς το τέλος της (Politis *et al.*, 1989b). Παρομοίως, ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου βρίσκεται σε υψηλότερα ποσοστά κατά το τελικό από ότι στο αρχικό στάδιο της γαλακτοπαραγωγής (Gilmore *et al.*, 1995). Επίσης, η αναλογία PG:PL δεν επηρεάζεται από τον όγκο του γάλακτος, αλλά μειώνεται με την

πρόοδο της γαλακτοπαραγωγής, γεγονός που υποδηλώνει την αυξημένη μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη προς το τέλος της γαλακτικής περιόδου (Politis *et al.*, 1989b).

Ωστόσο, σε έρευνες των Theodorou *et al.* (2007) και Koutsouli *et al.* (2015) διαπιστώθηκε ότι η πλασμίνη ήταν σε χαμηλά επίπεδα κατά την τελική φάση της γαλακτικής περιόδου. Το αποτέλεσμα αυτό υποδηλώνει ότι η πλασμίνη δεν μπορεί να αποτελέσει δείκτη της βαθμιαίας παλινδρόμησης του μαστού στις 3 ελληνικές φυλές προβάτων που εξετάστηκαν (Χίου, Μπούτσικου και μια προερχόμενη από διασταύρωση 50% Μπούτσικου, 25% Άρτας και 25% Χίου).

6. ΔΙΑΚΟΠΗ ΤΗΣ ΑΜΕΛΞΗΣ ΣΤΑ ΜΗΡΥΚΑΣΤΙΚΑ

6.1 Επίδραση της διακοπής της άμελξης στην παραγωγή και σύσταση του γάλακτος των μηρυκαστικών

Η γαλακτοπαραγωγή στα μηρυκαστικά είτε αναστέλεται μέσω της διακοπής της άμελξης ή του θηλασμού, είτε μειώνεται προοδευτικά και περιορίζεται στην παραγωγή ελάχιστης ποσότητας γάλακτος λόγω της παλινδρόμησης του μαστού. Στη φύση τα θηλαστικά εισέρχονται στη φυσική ξηρά περίοδο ως επακόλουθο του απογαλακτισμού του νεογέννητου και της προοδευτικής διακοπής της γαλακτοπαραγωγής. Επίσης, επιπρόσθετη μείωση της γαλακτοπαραγωγής παρατηρείται στις αγελάδες (Olori *et al.*, 1997), στα πρόβατα (Pollott & Gootwine, 2004) και στις αίγες (Knight & Wilde, 1988), όταν κνοφορούν. Η διάρκεια της γαλουχίας του νεογέννητου είναι ανάλογη του ρυθμού ανάπτυξής του και κυρίως της ωρίμανσης του πεπτικού του συστήματος. Πράγματι, το νεογέννητο όταν είναι ικανό να καταναλώσει τη συγκεκριμένη για το είδος τροφή, σταματάει να έλκεται από το γάλα, το οποίο δεν είναι επαρκές πλέον να καλύψει τις θρεπτικές του ανάγκες καθώς επίσης να δημιουργήσει το κατάλληλο στομαχικό φορτίο που θα του ικανοποιήσει το αίσθημα της πείνας. Κατά συνέπεια το νεαρό ζώο αποθαρρύνεται από τον θηλασμό αλλά και από τη μητέρα του, η οποία δυσανασχετεί λόγω του πόνου που οφείλεται στον τραυματισμό του μαστού της από τα δόντια του νεογέννητου που έχουν πια αναπτυχθεί πλήρως (Reece, 2015).

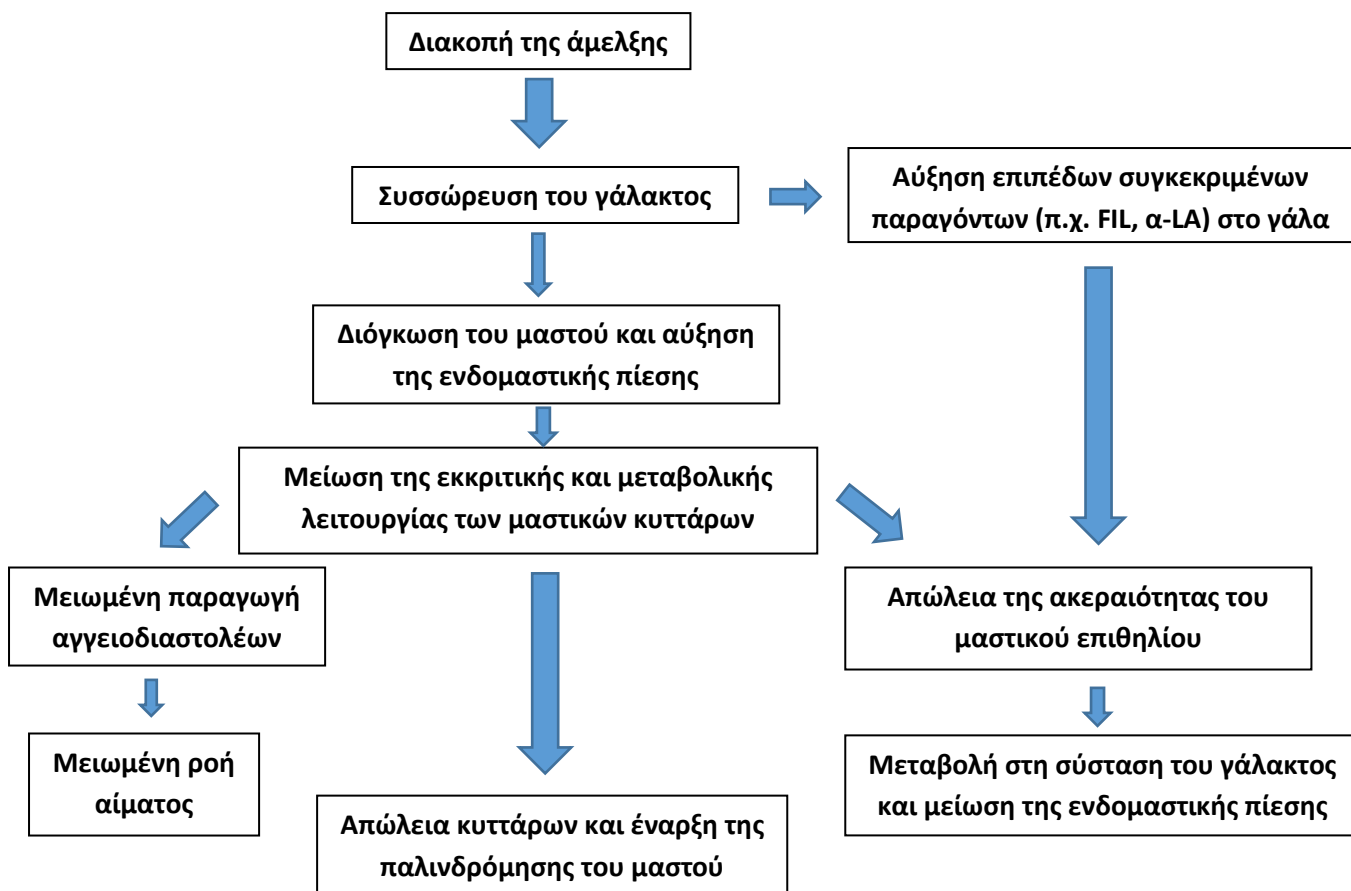
Η τεχνητή διακοπή της άμελξης στα μηρυκαστικά γαλακτοπαραγωγικού τύπου αποτελεί συνήθη πρακτική και σηματοδοτεί την έναρξη της ξηράς περιόδου (Zobel *et al.*, 2015a). Οι μέθοδοι τεχνητής διακοπής της γαλακτοπαραγωγής που απαντώνται είναι η διαλείπουσα, η ατελής και η αιφνίδια, που είναι η πιο διαδεδομένη. Στη διαλείπουσα τεχνική, η άμελξη του μαστού πραγματοποιείται ανά 2 έως 3 ημέρες και προοδευτικά διακόπτεται, στην ατελή μέθοδο η άμελξη είναι τακτική αλλά όχι πλήρης, ενώ στην αιφνίδια η διακοπή είναι απότομη και πλήρης (Reece, 2015).

Στο Διάγραμμα 10 αποτυπώνονται οι μεταβολές στη λειτουργία του μαστού των αιγών μετά από τη διακοπή της άμελξης στο τέλος της γαλακτικής περιόδου. Η διακοπή επομένως της άμελξης επιφέρει τη συσσώρευση του γάλακτος και κατά συνέπεια τη διόγκωση του μαστού, καθώς επίσης και την αύξηση της ενδομαστικής πίεσης (Διάγραμμα 10) (Fleet & Peaker, 1978· Peaker, 1980· Green & Streuli, 2004). Η συσσώρευση επίσης του γάλακτος προκαλεί τη δημιουργία σε αυτό ουσιών, οι οποίες συμβάλλουν στην απώλεια της ακεραιότητας του μαστικού επιθηλίου με άμεση συνέπεια τη μεταβολή της σύστασης του γάλακτος και τη μείωση της ενδομαστικής πίεσης (Διάγραμμα 10).

Η διόγκωση του μαστού και η αύξηση της ενδομαστικής πίεσης προκαλούν τη μείωση της εκκριτικής και μεταβολικής λειτουργίας των κυττάρων, γεγονός που οδηγεί στην απώλειά τους και την έναρξη της παλινδρόμησης του μαστού (Διάγραμμα 10). Το ενδοκυτταρικό αποπτωτικό σήμα επίσης δίνεται και από την ενεργοποίηση μηχανικών αισθητήρων λόγω έκτασης του μαστικού επιθηλίου, που προκαλείται από την αύξηση της ενδομαστικής πίεσης (Ben Chedly *et al.*, 2009). Ταυτόχρονα, η χαλάρωση των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων προκαλεί την αποσύνδεση του μαστικού επιθηλίου και κατά συνέπεια την απώλεια της κυτταρικής επικοινωνίας ανάμεσα στην εξωκυττάρια θεμέλια ουσία και τα γειτονικά κύτταρα, γεγονός που προάγει την απόπτωση (Pullan *et al.*, 1996).

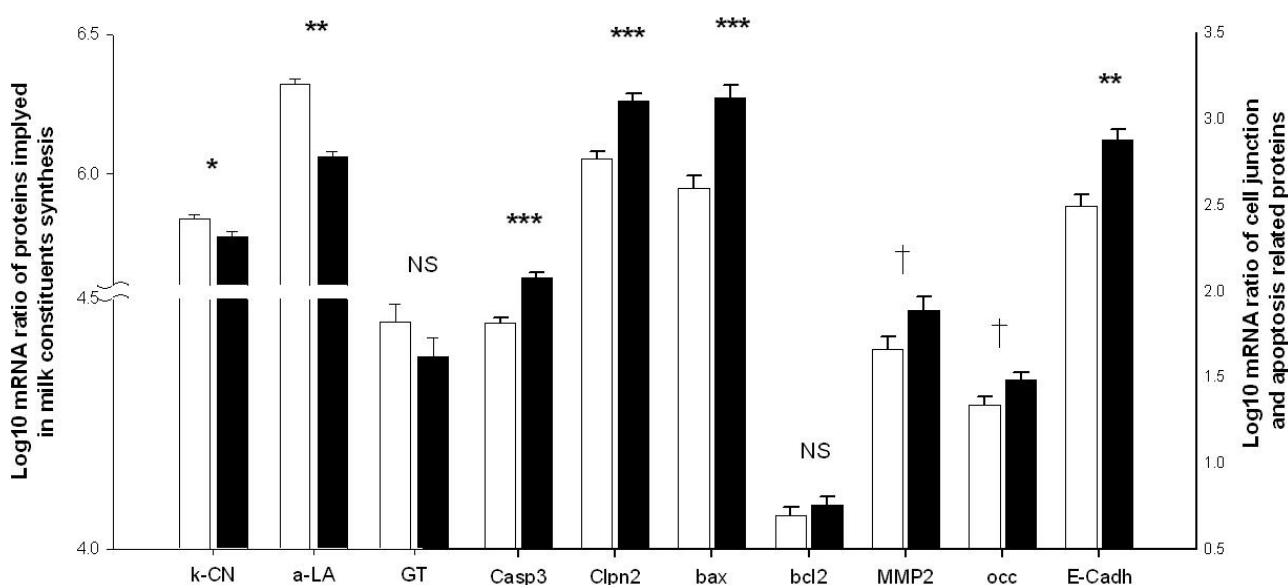
Επιπλέον, η μείωση της εκκριτικής και μεταβολικής λειτουργίας των κυττάρων επιφέρει τη μειωμένη παραγωγή αγγειοδιαστολέων και κατά συνέπεια τη μείωση της ροής του αίματος στον μαστό (Διάγραμμα 10). Τέλος, από τη μείωση της εκκριτικής και μεταβολικής λειτουργίας των κυττάρων παρατηρείται απώλεια της ακεραιότητας του μαστικού επιθηλίου και κατά συνέπεια μεταβολή στη σύσταση του γάλακτος και μείωση της ενδομαστικής πίεσης (Διάγραμμα 10).

Όταν τα κύτταρα είναι ανενεργά και βρίσκονται πλέον στο στάδιο της παλινδρόμησης, ότι αλλαγές έχουν προκληθεί από τη διόγκωση του μαστού είναι δύσκολα αναστρέψιμες, γεγονός που αποτυπώνεται από την αδυναμία επανέναρξης της εκκριτικής τους λειτουργίας κατά τη σταδιακή μείωση της διόγκωσης που ακολουθεί την απώλεια της ακεραιότητας του μαστικού επιθηλίου (Fleet & Peaker, 1978).



Διάγραμμα 10 Μεταβολές στη λειτουργία του μαστού μετά από διακοπή της άμελης στις αίγες (Πηγή: Fleet & Peaker, 1978· Peaker, 1980· Ben Chedly *et al.*, 2009)

Η συσσώρευση γάλακτος στο μαστό προκαλεί τη μείωση της συνθετικής ικανότητας των μαστικών επιθηλιακών κυττάρων. Σε πείραμα των Ben Chedly *et al.* (2009) διαπιστώθηκε ότι οι αίγες της φυλής *Alpine* που υπέστησαν διακοπή της άμελξης για 36 ώρες σε σχέση με τις αίγες που αρμέγονταν ανά 12 ώρες παρουσίασαν αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση (*down-regulation*) της μεταγραφής ορισμένων γονιδίων που συμμετέχουν στη σύνθεση του γάλακτος, ενώ παρατηρήθηκε θετική παλίνδρομη ρύθμιση (*up-regulation*) της μεταγραφής γονιδίων που εκφράζονται σε προ-αποπτωτικές πρωτεΐνες ($P < 0,01$), όπως η κασπάση-3 (*caspase-3*), η πρωτεΐνη *Bax* και η καλπαΐνη-2 (*calpain-2*). Συγκεκριμένα, παρατηρήθηκε μείωση των επιπέδων του ριβοζονουκλεϊκού αγγελιοφόρου (mRNA, *messenger RNA*) για τις πρωτεΐνες κ-καζεΐνη (κ-CN, *κ-casein*) και α-λακταλβουμίνη (α-LA, *α-lactalbumin*) σε ποσοστά 13% ($P = 0,02$) και 45% ($P < 0,01$) αντίστοιχα, ενώ δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές αλλαγές στα επίπεδα του mRNA της γαλακτοζύλ-τρανσφεράσης (GT, *galactosyl-transferase*) (Διάγραμμα 11).



κ-CN: κ-καζεΐνη· α-LA: α-λακταλβουμίνη· GT: γαλακτοζύλ-τρανσφεράση· Casp3: κασπάση-3· Clpn2: καλπαΐνη-2· Bax· bcl2: μεταλλοπρωτεάση MMP2· Occ: οκκλουδίνη· E-cadh: E-καντερίνη

Διάγραμμα 11 Αναλογίες mRNA (γονίδιο στόχος /γονίδια αναφοράς) των πρωτεϊνών που συμμετέχουν στη σύνθεση των συστατικών του γάλακτος, στις κυτταρικές συνδέσεις και στον μηχανισμό της απόπτωσης (n=16). □ μαστοί που αμέλχθηκαν ανά 12 ώρες (h), ■ μαστοί που αμέλχθηκαν μετά από 36 ώρες (h) (*: $P < 0,001$ · **: $P < 0,01$ · *: $P < 0,05$ · †: $P < 0,10$ και NS: μη σημαντικές διαφορές) (Πηγή: Ben Chedly *et al.*, 2009)**

Παράλληλα, στο μαστό των αιγών που αρμέχθηκαν μετά από διακοπή 36 ωρών (Ben Chedly *et al.*, 2009), όπως και στο μαστό των ποντικών όπου προκλήθηκε χαλάρωση των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων μετά από μείωση των επιπέδων του ασβεστίου στα μαστικά κύτταρα (Stelwagen & Callaghan, 2003), παρατηρήθηκε στα αρχικά στάδια αύξηση των επιπέδων του mRNA για τις πρωτεΐνες οκκλουδίνη και E-καντερίνη με σκοπό την ενδυνάμωση των χαλαρών στενοσυνδέσμων.

Η εγκαθίδρυση της απόπτωσης μέσα σε 36 ώρες από τη συσσώρευση του γάλακτος στο μαστό των αιγών οφείλεται στην αύξηση των επιπέδων του mRNA των προ-αποπτωτικών γονιδίων (Ben Chedly *et al.*, 2009). Το ίδιο φαινόμενο παρατηρείται μετά από 24 έως 48 ώρες συσσώρευσης του γάλακτος

στον μαστό των αγελάδων (Furth, 1999· Stein *et al.*, 2007· Singh *et al.*, 2008), όπως επίσης μετά από 6 ώρες συσσώρευσης του γάλακτος στον μαστό των ποντικών (Heermeier *et al.*, 1996). Η αύξηση των αποπτωτικών κυττάρων στον μαστικό αδένα των αιγών που παρατηρείται μετά από 36ωρη διακοπή της άμελξης (Ben Chedly *et al.*, 2009) έρχεται σε συμφωνία με προγενέστερα πειράματα, όπου πραγματοποιήθηκε συσσώρευση του γάλακτος στον μαστό για 72 ώρες στις αγελάδες (Singh *et al.*, 2005), για 48 ώρες στα πρόβατα (Tatarczuch *et al.*, 1997) και για 6 ώρες στους αρουραίους (Phyn *et al.*, 2006a· 2006b).

Παράλληλα με την απόπτωση που εγκαθιδρύεται μέσα σε 36 ώρες από τη συσσώρευση του γάλακτος στον μαστό των αιγών παρατηρείται και μείωση του πολλαπλασιασμού των μαστικών κυττάρων που συνεπάγεται μείωση της ανανέωσής τους (Ben Chedly *et al.*, 2009). Το ίδιο φαινόμενο παρατηρείται μετά από 24 έως 72 ώρες συσσώρευσης του γάλακτος στον μαστικό αδένα των χοίρων (Theil *et al.*, 2005).

Η μείωση του ποσοστού της λακτόζης στο γάλα αποδίδεται στη χαλάρωση των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων που οφείλεται στη συσσώρευση του γάλακτος στο μαστό και στη μετακίνησή της στο αίμα (Stelwagen *et al.*, 1997). Εντούτοις, η χαλάρωση των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων σε αγελάδες που βρίσκονταν στην αρχή της γαλακτικής περιόδου και ο αριθμός αμέλξεών τους μειώθηκε από δύο σε μία, εμφανίστηκε μετά από 18 ώρες συσσώρευσης του γάλακτος στον μαστό, ενώ οι σύνδεσμοι επανασυνδέθηκαν σε μικρό διάστημα μετά την έναρξη της άμελξης (Stelwagen *et al.*, 1997). Η μείωση λοιπόν του ποσοστού της λακτόζης στο γάλα δεν οφείλεται αποκλειστικά στη χαλάρωση των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων διότι το φαινόμενο αυτό είναι παροδικό, αλλά αποδίδεται κυρίως στη μείωση των επιπέδων του mRNA για την πρωτεΐνη α -LA και κατά συνέπεια στη μείωση της ίδιας της πρωτεΐνης (Boutinaud *et al.*, 2008· Singh *et al.*, 2008· Ben Chedly *et al.*, 2009). Η πρωτεΐνη α -LA ελέγχει τη σύνθεση της λακτόζης στο γάλα (Boston *et al.*, 2001) και συγκεκριμένα συμβάλλει μαζί με τη GT στο σχηματισμό του ενζύμου σύνθεσης της λακτόζης (Καμιναρίδης & Μοάτσου, 2009).

Η αύξηση της συγκέντρωσης της λακτόζης στο αίμα καθώς και η αύξηση της αναλογίας Na^+/K^+ στο γάλα αποτελούν δείκτες της χαλάρωσης των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων στον μαστικό αδένα (Ben Chedly *et al.*, 2009). Στις αίγες η χαλάρωση των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων του μαστικού τους αδένα εμφανίζεται μετά από 21 ώρες συσσώρευσης του γάλακτος (Stelwagen *et al.*, 1994b).

Επίσης, παρατηρείται μείωση του ποσοστού των πρωτεϊνών στο γάλα, η οποία εν μέρει αποδίδεται στη μετακίνηση των πρωτεϊνών του ορού στο αίμα λόγω της χαλάρωσης των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων. Εντούτοις, η χαλάρωση των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων επιτρέπει και τη μετακίνηση των πρωτεϊνών από το αίμα στο γάλα, γεγονός που δεν ερμηνεύει τη συνολική μείωση των πρωτεϊνών στο γάλα (Ben Chedly *et al.*, 2009). Με βάση το πείραμα των Ben Chedly *et al.* (2009) η συσσώρευση του γάλακτος στον μαστό επιδρά στη σύνθεση των πρωτεϊνών, μειώνοντας τη μεταγραφή των καζεϊνών, συγκεκριμένα της κ-καζεΐνης, λόγω της μείωσης των επιπέδων του mRNA. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν για τις καζεΐνες α 1-, β - και κ - μετά από 36ωρη διακοπή της άμελξης σε αγελάδες (Singh *et al.*, 2008).

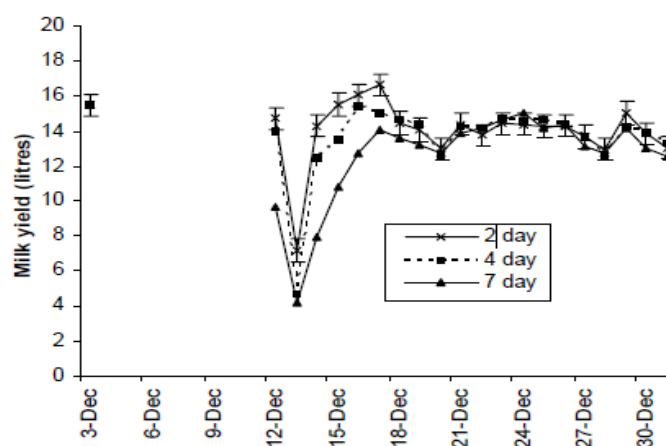
Τέλος, η μείωση της γαλακτοπαραγωγής που παρατηρείται κατά τη συσσώρευση του γάλακτος στον μαστό οφείλεται τόσο στην απόπτωση και στην μείωση του πολλαπλασιασμού των μαστικών

κυττάρων (Ben Chedly *et al.*, 2009), όσο και στην παρουσία στο γάλα ενός βιοχημικού παράγοντα με κατασταλτική δράση, του παλίνδρομου αναστολέα της γαλακτοπαραγωγής (FIL, *Feed-back Inhibitor of Lactation*) (Wilde *et al.*, 1995) καθώς επίσης και συστατικών του γάλακτος που προκαλούν την απόπτωση στην εξωκυττάρια θεμέλια ουσία, όπως η α -LA (Riley *et al.*, 2008).

6.1.1. Βοοειδή

Η διακοπή της άμελξης στα βοοειδή προκαλεί την έναρξη της παλινδρόμησης του μαστού, όπου παρατηρούνται διαδοχικά διακοπή της έκκρισης του γάλακτος, μεταβολές στη σύνθεσή του και στη δομή του μαστού, και εν τέλει ο μαστικός αδένας αναδιαμορφώνεται ώστε να προετοιμαστεί για την επόμενη γαλακτική περίοδο (Caruco & Akers, 1999). Συγκεκριμένα, στην πρώτη φάση αμέσως μετά τη διακοπή της άμελξης ο μαστός γεμίζει πλήρως με γάλα και η έκκρισή του διακόπτεται μέσα σε 24 έως 36 ώρες από τη τελευταία άμελξη (Davis *et al.*, 1998). Μετά από 3 ημέρες από τη διόγκωση του μαστού οι ενδοκυτταρικοί δεσμοί καταστρέφονται και το γάλα αναμιγνύεται με τα υγρά του ενδιάμεσου χώρου (*interstitial*), ξεκινώντας έτσι η διαδικασία της επαναρρόφησης του γάλακτος (Hurley, 1989). Στην περίοδο που ακολουθεί παρατηρούνται κυτταρικές μεταβολές, όπως ο κυτταρικός θάνατος και η αναδιαμόρφωση του ιστού (Caruco & Akers, 1999). Η παραπάνω διαδικασία στις αγελάδες διαρκεί πάνω από 30 ημέρες (Hurley, 1989).

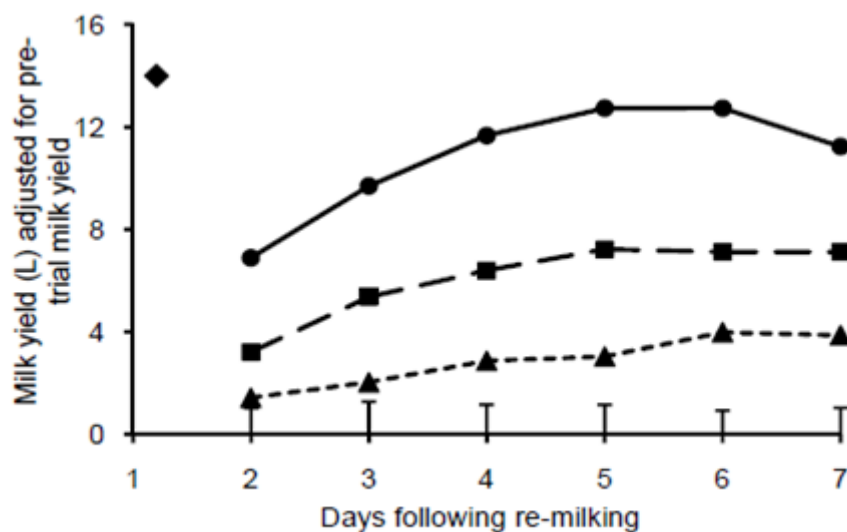
Σε πείραμα των Dalley & Davis (2006) πραγματοποιήθηκε διακοπή της άμελξης σε αγελάδες στα μέσα της γαλακτικής τους περιόδου για 2, 4 και 7 ημέρες (Διάγραμμα 12). Οι αγελάδες στις οποίες διεκόπη η άμελξη για 2 και 4 ημέρες παρουσίασαν την ημέρα έναρξης της άμελξης σημαντικά υψηλότερα επίπεδα γάλακτος ($P < 0,001$) σε σχέση με αυτές στις οποίες διεκόπη η άμελξη για 7 ημέρες. Στις 24 ώρες που ακολούθησαν τα επίπεδα γαλακτοπαραγωγής μειώθηκαν και στις 3 ομάδες. Η μείωση της γαλακτοπαραγωγής ήταν σημαντική ($P < 0,001$) στις αγελάδες στις οποίες διεκόπη η άμελξη για 7 ημέρες και διατηρήθηκε μειωμένη για 6 συνεχόμενες ημέρες, ενώ μετά η γαλακτοπαραγωγή επέστρεψε πλήρως στα επίπεδα που είχε πριν τη διακοπή. Τα επίπεδα γαλακτοπαραγωγής των αγελάδων στις οποίες διεκόπη η άμελξη για 2 και 4 ημέρες επέστρεψαν πλήρως στα επίπεδα που είχαν πριν τη διακοπή μετά από 3 και 4 ημέρες, αντίστοιχα.



Διάγραμμα 12 Η επαναφορά της γαλακτοπαραγωγής μετά από 2, 4 και 7 ημέρες συσσώρευσης του γάλακτος στο μαστό (η διακοπή της άμελξης για 2, 4 και 7 ημέρες πραγματοποιήθηκε στις 11, 9 και 6 του Δεκέμβρη αντίστοιχα) (Πηγή: Dalley & Davis, 2006)

Εντούτοις, σε πείραμα των Noble & Hurley (1999), όπου πραγματοποιήθηκε διακοπή της άμελξης για 11 ημέρες σε αγελάδες της φυλής *Holstein* στο τέλος της γαλακτικής τους περιόδου, η γαλακτοπαραγωγή ανακτήθηκε εν μέρει στις τρεις ημέρες που ακολούθησαν την έναρξη της άμελξης. Πιθανολογείται ότι στο συγκεκριμένο πείραμα ο χρόνος για την πλήρη ανάκτηση της γαλακτοπαραγωγής δεν ήταν επαρκής, καθώς επίσης οι κυψελίδες του μαστού ήταν ήδη στο στάδιο της παλινδρόμησης οπότε δεν ήταν λειτουργικές.

Παρομοίως, στο πείραμα των Singh *et al.* (2012), όπου πραγματοποιήθηκε διακοπή της άμελξης για 7, 14 και 28 ημέρες σε πρωτότοκες αγελάδες της φυλής *Friesian*, στα μέσα της γαλακτικής τους περιόδου, διαπιστώθηκε ότι η ανάκτηση της γαλακτοπαραγωγής ήταν πλήρης στις αγελάδες όπου διεκόπη η άμελξη για 7 ημέρες και μερική στις αγελάδες όπου διεκόπη η άμελξη για 14 και 28 ημέρες (Διάγραμμα 13). Πράγματι, σε ορισμένες αγελάδες, η γαλακτοπαραγωγή ήταν αμελητέα την ημέρα έναρξης της άμελξης μετά τη διακοπή. Τη 2η ημέρα άμελξης, οι αγελάδες στις οποίες πραγματοποιήθηκε διακοπή της άμελξης για 7 ημέρες είχαν σημαντικά υψηλότερα ποσοστά γαλακτοπαραγωγής ($P < 0,05$) σε σχέση με τις αγελάδες όπου διεκόπη η άμελξη τους για 14 και 28 ημέρες. Από τη 3η ημέρα και μετά, τα επίπεδα γαλακτοπαραγωγής διέφεραν ($P < 0,05$) και στις 3 ομάδες, ενώ την 6η ημέρα άμελξης η γαλακτοπαραγωγή ανακτήθηκε κατά 91, 51 και 29% στις ομάδες όπου διεκόπη η άμελξη για 7, 14 και 28 ημέρες, αντίστοιχα. Μόνο λοιπόν στην ομάδα όπου πραγματοποιήθηκε διακοπή της άμελξης για 7 ημέρες δε διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές στη γαλακτοπαραγωγή της ($P = 0,11$) σε σχέση με τα επίπεδα που είχε πριν τη διακοπή. Κατά συνέπεια, οι απώλειες στη γαλακτοπαραγωγή αυξάνουν όσο αυξάνεται το διάστημα της διακοπής της άμελξης.



Διάγραμμα 13 Η πορεία της γαλακτοπαραγωγής αγελάδων που αρμέχθηκαν για 7 ημέρες μετά από διακοπή της άμελξης τους για 7 (●), 14 (■) και 28 (▲) ημέρες ($n = 6$ ζώα ανά ομάδα) στα μέσα της γαλακτικής τους περιόδου. Το επίπεδο της γαλακτοπαραγωγής πριν τη διακοπή (♦) αποτελεί μέσο όρο των αποδόσεων 7 ημερών πριν τη διακοπή της άμελξης (Πηγή: Singh *et al.*, 2012)

Επιπλέον, σε πείραμα των Farr *et al.* (1998) διαπιστώθηκε ότι η παλινδρόμηση του μαστού στις αγελάδες στις οποίες πραγματοποιήθηκε διακοπή της άμελξης για 40 ώρες ήταν αναστρέψιμη σε σύντομο χρονικό διάστημα, δηλαδή το 80% της γαλακτοπαραγωγής ανακτήθηκε μετά από 24 ώρες σε σχέση με την έναρξη της άμελξης.

Τέλος, στο πείραμα των Stelwagen *et al.* (2008), όπου πραγματοποιήθηκε διακοπή της άμελξης για 6, 12, 18, 24 και 30 ώρες σε πολύτοκες αγελάδες της φυλής *Friesian* και *Jersey* που βρίσκονταν στην αρχή και στο μέσο της γαλακτικής τους περιόδου παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις ως προς το επίπεδο της γαλακτοπαραγωγής μεταξύ των διαφορετικών διαστημάτων διακοπής της άμελξης (Πίνακας 13).

Πίνακας 13 Επίπεδα γαλακτοπαραγωγής αγελάδων πριν και μετά από διακοπή της άμελξης για διαφορετικά χρονικά διαστήματα και μετά από μια περίοδο αποκατάστασης διάρκειας 24 ωρών με αμέλξεις ανά 6 ώρες (Πηγή: Stelwagen *et al.*, 2008)

Παράμετροι	Διάρκεια διακοπής της άμελξης (ώρες)					Τυπικό σφάλμα
	6	12	18	24	30	
Γαλακτοπαραγωγή μετά από διακοπή της άμελξης (kg/ημέρα)	4,6a	8,2b	11,4c	14,1d	16,3e	0,4
Ρυθμός έκκρισης του γάλακτος κατά τη διάρκεια της διακοπής της άμελξης (kg/ώρα)	0,75a	0,71ab	0,63bc	0,59c	0,56c	0,04
Γαλακτοπαραγωγή μετά από 24 ώρες αποκατάστασης (kg/ημέρα) (A)	17,5a	16,9ab	16,4bc	15,8c	15,6c	0,4
Γαλακτοπαραγωγή πριν τη διακοπή της άμελξης (kg/ημέρα) (B)	15,2	15,6	15,3	15,6	14,6	0,8
A-B (kg)*	2,0 **	1,5 **	0,9 **	0,4	0,1	0,4
Ρυθμός αποκατάστασης της γαλακτοπαραγωγής μετά από διακοπή της άμελξης (kg/ώρα)	0,72a	0,70ab	0,68bc	0,67bc	0,64c	0,02

abcde Διαφορετικοί εκθέτες εντός των σειρών υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων τιμών ($P < 0,05$)

* Ο υπολογισμένος μέσος όρος της διαφοράς των τιμών A και B της κάθε αγελάδας

** Τα επίπεδα γαλακτοπαραγωγής μετά από την περίοδο αποκατάστασης διαφέρουν από αυτά πριν από την έναρξη του πειράματος ($P < 0,05$)

Το επίπεδο της γαλακτοπαραγωγής μετά την επανέναρξη της άμελξης αυξήθηκε γραμμικά μέχρι την ομάδα που υπέστη 18 ώρες διακοπή της άμελξης, ενώ για τις ομάδες στις οποίες εφαρμόστηκε διακοπή της άμελξης για 24 και 30 ώρες, η αύξησή της ήταν μικρότερη (Πίνακας 13). Η γραμμική αύξηση της γαλακτοπαραγωγής κατά τη διάρκεια των πρώτων 16-20 ωρών παρατηρήθηκε και σε προγενέστερα πειράματα των McMeekan & Brumby (1956) και Schmidt (1960). Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι απαιτούνται 16 με 18 ώρες για να γεμίσουν πλήρως οι αδενοκυψελίδες του μαστού (Davis *et al.*, 1998).

Τα επίπεδα γαλακτοπαραγωγής μετά τη διακοπή της άμελξης μειώθηκαν (Stelwagen, 2001) σε όλα τα χρονικά διαστήματα με εξαίρεση τις 30 ώρες όπου παρατηρήθηκε αύξηση συγκριτικά με τα επίπεδα γαλακτοπαραγωγής πριν τη διακοπή (Πίνακας 13), ενώ απώλεια της γαλακτοπαραγωγής 10% αντιστοιχεί σε διακοπή της άμελξης για 24 ώρες και συμπίπτει με τις τιμές που προέκυψαν στο πείραμα των Davis *et al.* (1999).

Ο ρυθμός έκκρισης του γάλακτος παρέμεινε σταθερός μέχρι τις 12 ώρες διακοπής της άμελξης με μια τάση μείωσής του στις 18 ώρες διακοπής, ενώ μετά μειώθηκε αισθητά (Πίνακας 13). Κατά την αποκατάσταση της γαλακτοπαραγωγής, οι αγελάδες αμέλχθηκαν ανά 6 ώρες για 24 ώρες μετά τη διακοπή με αποτέλεσμα να σημειωθούν υψηλότερα επίπεδα γαλακτοπαραγωγής σε σχέση με αυτά πριν τη διακοπή στις ομάδες όπου διεκόπηκε η άμελξη για 6, 12 και 18 ώρες (Πίνακας 13). Γενικά, η συχνή άμελξη, 3 ή περισσότερες φορές την ημέρα, αυξάνει σημαντικά τη γαλακτοπαραγωγή (Stelwagen, 2001). Όπως ήδη αναφέρθηκε, ο ρυθμός έκκρισης του γάλακτος μετά την αποκατάσταση παρατηρήθηκε αισθητά μειωμένος στις ομάδες όπου διεκόπη η άμελξη για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (Πίνακας 13). Αυτό σημαίνει ότι οι συχνές αμέλξεις συμβάλλουν στην αποκατάσταση της γαλακτοπαραγωγής, αλλά είναι αναγκαία χρονικά διαστήματα άνω των 30 ωρών για να φτάσουν τα επίπεδα γαλακτοπαραγωγής σε αυτά που ήταν πριν τη διακοπή (Stelwagen *et al.*, 2008).

Η δυνατότητα που παρουσιάζει ο μαστός των βοοειδών που βρίσκεται σε κατάσταση παλινδρόμησης να ανακτήσει τη γαλακτοπαραγωγική του ικανότητα, υποδηλώνει ένα συγκεκριμένο βαθμό ευελιξίας του μαστικού αδένα (Dalley & Davis, 2006). Επίσης, η επαναλειτουργία αυτή του μαστού πιθανολογείται ότι οφείλεται στην ανομοιογένεια που παρουσιάζουν οι κυψελίδες, όπου ένα μικρό ποσοστό τους βρίσκεται στο στάδιο της παλινδρόμησης και ένα άλλο διατηρεί τη δραστηριότητά του, παράγοντας ενεργά πρωτεΐνες του γάλακτος (Molenaar *et al.*, 1992). Η χρονική στιγμή κατά την οποία η παλινδρόμηση του μαστού γίνεται μη αναστρέψιμη πρέπει ακόμα να καθοριστεί (Dalley & Davis, 2006).

Σε ότι αφορά τη σύσταση του γάλακτος, στο πείραμα των Singh *et al.* (2012) όπου πραγματοποιήθηκε σε αγελάδες στα μέσα της γαλακτικής τους περιόδου, διακοπή της άμελξης για 7, 14 και 28 ημέρες, διαπιστώθηκε ότι η συγκέντρωση του λίπους σε δείγματα γάλακτος που συλλέχθηκαν για μία εβδομάδα μετά την επανέναρξη της άμελξης ήταν χαμηλότερη στην ομάδα όπου διεκόπηκε η άμελξη για 28 ημέρες σε σχέση με αυτή πριν τη διακοπή καθώς και με αυτή των ομάδων όπου διεκόπη η άμελξή τους για 7 και 14 ημέρες, με στατιστικά σημαντική διαφορά μόνο με την τελευταία (Πίνακας 14). Η συγκέντρωση της πρωτεΐνης ήταν σημαντικά υψηλότερη ($P < 0,001$) και στις 3 ομάδες σε σχέση με τη συγκέντρωσή της πριν τη διακοπή. Ωστόσο, παρατηρήθηκε ότι στην ομάδα όπου διεκόπη η άμελξη για 7 ημέρες, η συγκέντρωση της πρωτεΐνης ήταν σημαντικά χαμηλότερη ($P < 0,05$) σε σχέση με αυτή των ομάδων στις οποίες πραγματοποιήθηκε διακοπή της άμελξης για 14 και 28 ημέρες. Τέλος, η συγκέντρωση της λακτόζης σε σχέση με αυτή πριν τη διακοπή ήταν σημαντικά χαμηλότερη στις ομάδες όπου διεκόπη η άμελξη για 14 ($P < 0,01$) και 28 ημέρες ($P < 0,05$), ενώ δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές στην ομάδα όπου διεκόπη η άμελξη για 7 ημέρες ($P = 0,08$). Επιπλέον, η ομάδα όπου διεκόπη η άμελξη για 28 ημέρες παρουσίασε τα χαμηλότερα ποσοστά συγκέντρωσης της λακτόζης ($P < 0,05$) συγκριτικά με τις άλλες δύο ομάδες.

Πίνακας 14 Σύσταση του γάλακτος (%) των αγελάδων σε δείγματα που συλλέχθηκαν για μία εβδομάδα μετά την επανέναρξη της άμελης και αφού προηγήθηκε διακοπή της άμελης για 7, 14 και 28 ημέρες (Πηγή: Singh et al., 2012)

Σύσταση γάλακτος (%)	Πριν τη διακοπή	Διακοπή της άμελης		
		7 ημέρες	14 ημέρες	28 ημέρες
Λίπος	3,9 ± 0,5ab	4,1 ± 0,6ab	4,3 ± 0,6a	3,0 ± 0,6b
Πρωτεΐνη	3,5 ± 0,2c	3,9 ± 0,1a	4,2 ± 0,1b	4,2 ± 0,1b
Λακτόζη	5,0 ± 0,2c	4,8 ± 0,2ac	4,6 ± 0,2a	3,8 ± 0,2b

abc Διαφορετικοί εκθέτες εντός των σειρών υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων τιμών (P<0,05)

Η συγκέντρωση των πρωτεϊνών παρέμεινε υψηλή και στις 3 ομάδες, παρόλο που η έκφραση των πρωτεϊνών μειώνεται κατά τη διάρκεια της παλινδρόμησης. Η αύξηση αυτή των πρωτεϊνών στο μαστό οφείλεται στην αυξημένη εισροή των πρωτεϊνών από τον ορό του αίματος, καθώς επίσης και στην εκ νέου σύνθεση της λακτοφερίνης (Hurley, 1989). Τα χαμηλά ποσοστά της λακτόζης που παρατηρήθηκαν στις αγελάδες όπου η άμελξή τους διεκόπη για 14 και 28 ημέρες, όπως επίσης τα χαμηλά ποσοστά λίπους που παρατηρήθηκαν στις αγελάδες όπου η άμελξή τους διεκόπη για 28 ημέρες, οφείλονται στη μειωμένη δράση των ενζύμων που συμμετέχουν στη σύνθεση της λακτόζης και του λίπους στο μαστό κατά τη διάρκεια της παλινδρόμησης (Hurley, 1989). Οι αλλαγές λοιπόν στη σύσταση του γάλακτος οφείλονται στην πτώση της εκκριτικής ικανότητας του μαστού λόγω της παρατεταμένης διακοπής της άμελης.

Πίνακας 15 Σύσταση του γάλακτος και μέτρηση σωματικών κυττάρων (SCC, Somatic cell count) μετά από διαφορετικά χρονικά διαστήματα διακοπής της άμελης (Πηγή: Stelwagen et al., 2008)

Συστατικά γάλακτος	Διάρκεια διακοπής της άμελης (ώρες)					Τυπικό Σφάλμα
	6	12	18	24	30	
Λίπος (%)	6,08a	4,96b	4,88b	5,04b	4,56b	0,22
Πρωτεΐνη (%)	3,74a	4,00b	3,98b	4,04b	4,02b	0,05
Λακτόζη (%)	4,68a	4,70a	4,85bc	4,89b	4,76ac	0,04
Αλβουμίνη ορού (μg/ml)	184,4ab	146,3b	210,8bc	234,7c	234,0c	19,0
SCC* μετά από διακοπή της άμελης X1000	4,2	3,3	3,3	3,8	4,0	0,4
SCC* μετά από 24 ώρες αποκατάστασης X1000	4,0a	4,1a	4,4a	5,0b	5,1b	0,2

abc Διαφορετικοί εκθέτες εντός των σειρών υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων τιμών (P<0,05)

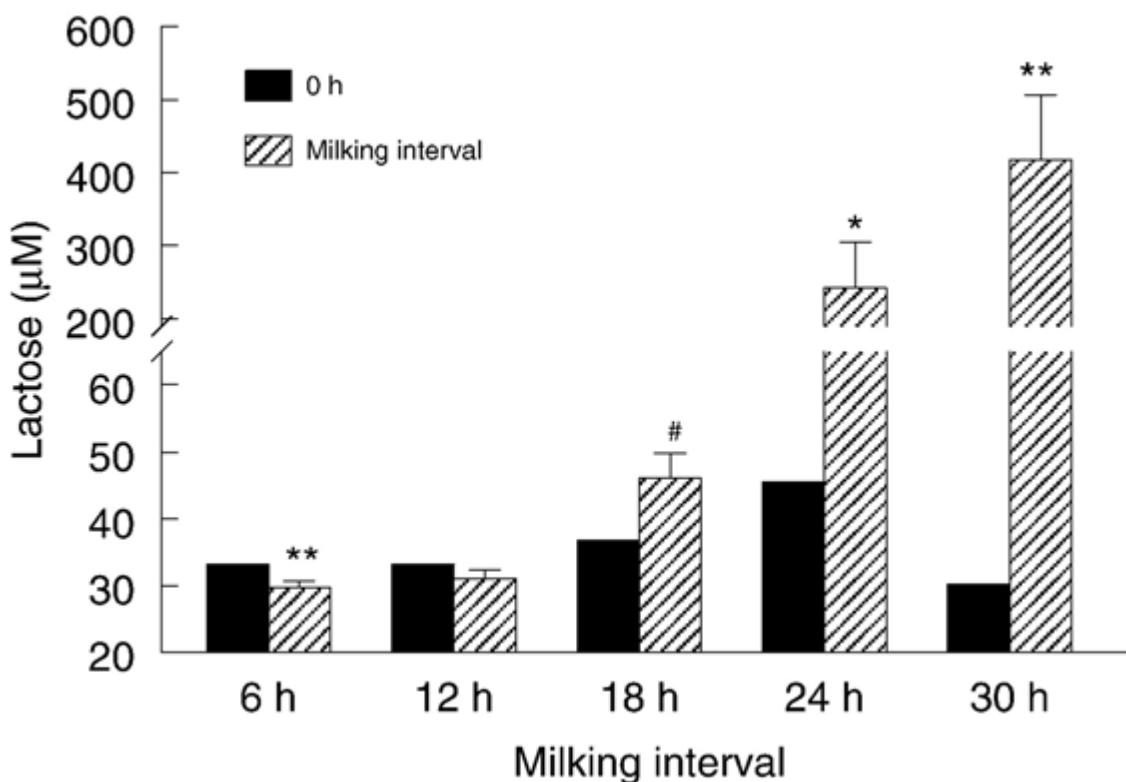
* Λογαριθμοποιημένοι μέσοι (ln)

Σε παρόμοια αποτελέσματα για τη σύσταση του γάλακτος κατέληξαν και οι έρευνες των Stelwagen *et al.* (2008). Πιο αναλυτικά, η διακοπή της άμελης δεν επηρέασε τα ποσοστά του λίπους και της πρωτεΐνης στο γάλα, με εξαίρεση τα ποσοστά λίπους και πρωτεΐνης που αυξήθηκαν και μειώθηκαν αντίστοιχα σημαντικά στην ομάδα όπου έγινε διακοπή της άμελης για 6 ώρες (Πίνακας 15). Το ίδιο παρατηρήθηκε και στις έρευνες του Schmidt (1960) μετά από διακοπή της άμελης για 4 ώρες και

των Stelwagen *et al.* (1996) μετά από συνεχή αποστράγγιση του γάλακτος μέσω καθετήρα στη θηλή του μαστού. Το γεγονός αυτό οφείλεται στο ότι μετά την άμελξη το γάλα που απομένει στον μαστό περιέχει υψηλό ποσοστό λίπους και αν επαναληφθεί η άμελξη μέσα σε σύντομο χρονικό διάστημα δεν υπάρχει πλέον αρκετό γάλα στο μαστό για να αραιώσει το υψηλό ποσοστό λίπους και να το επαναφέρει στα κανονικά του επίπεδα (Stelwagen *et al.*, 2008). Επιπλέον, το υψηλό ποσοστό λίπους πιθανόν να αραιώσει το περιεχόμενο του γάλακτος σε πρωτεΐνη και λακτόζη τη συγκεκριμένη στιγμή (Stelwagen *et al.*, 2008). Πράγματι, και το ποσοστό της λακτόζης προκύπτει μειωμένο στην ομάδα όπου διεκόπη η άμελξη για 6 ώρες αλλά όχι σημαντικά (Πίνακας 15).

Επίσης, παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης της λακτόζης στο αίμα στις 18 ώρες διακοπής της άμελξης (Διάγραμμα 14), λόγω του ότι μετά από διακοπή της άμελξης 18 ωρών η λακτόζη και οι πρωτεΐνες του ορού μεταφέρονται από το γάλα στο αίμα και αντίστροφα οι πρωτεΐνες του αίματος, όπως η αλβουμίνη του ορού μεταφέρονται στο γάλα εξαιτίας της χαλάρωσης των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων (Stelwagen *et al.*, 1997). Πράγματι, παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης της αλβουμίνης του ορού στο γάλα μετά από 18 ώρες διακοπής της άμελξης (Πίνακας 15), ενώ δεν ερμηνεύονται τα υψηλά επίπεδά της κατά τη διακοπή της άμελξης για 6 ώρες. Πιθανόν η αλβουμίνη του ορού να προσκολληθήκε στο λίπος του γάλακτος που βρισκόταν σε υψηλά επίπεδα στην περίπτωση της διακοπής της άμελξης για 6 ώρες (Stelwagen *et al.*, 2008).

Επιπλέον, διαπιστώθηκε μια μικρή, αλλά σημαντική μείωση της συγκέντρωσης της λακτόζης στον ορό του αίματος κατά τη διακοπή της άμελξης για 6 ώρες (Διάγραμμα 14), λόγω του ότι σε διακοπές της άμελξης μικρής διάρκειας οι στενοσύνδεσμοι των επιθηλιακών κυττάρων αντί να χαλαρώνουν συσφίγγονται (Sorensen *et al.*, 2001).



Διάγραμμα 14 Συγκέντρωση της λακτόζης στον ορό του αίματος αγελάδων αμέσως πριν (0 h) και μετά τη διακοπή της άμελξης (# $P < 0,07$ · * $P < 0,05$ · ** $P < 0,01$) (Πηγή: Stelwagen *et al.*, 2008)

Σε ότι αφορά τα σωματικά κύτταρα στο γάλα δεν επηρεάστηκαν από κανένα χρονικό διάστημα διακοπής της άμελξης (Πίνακας 15). Στο πείραμα των Stelwagen & Lacy-Hulbert (1996) διαπιστώθηκε ότι χρειάζονται τουλάχιστον 24 ώρες για να αυξηθούν τα σωματικά κύτταρα λόγω της εισροής των ουδετερόφιλων στο γάλα. Με βάση αυτή τη διαπίστωση εξηγείται και η αύξηση των σωματικών κυττάρων που παρατηρείται κατά τη διάρκεια της αποκατάστασης στο γάλα των αγελάδων όπου διεκόπη η άμελξη για 24 και 30 ώρες (Πίνακας 15).

Τέλος, η χαλάρωση των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων του μαστού πιθανολογείται πως συνδέεται με την αύξηση της πρωτεολυτικής δράσης των ενζύμων του γάλακτος διότι όπως διαπιστώνεται από τον Πίνακα 16, ενώ η δράση της πλασμίνης δεν αυξήθηκε σημαντικά με την αύξηση του διαστήματος διακοπής της άμελξης, η δράση του πλασμινογόνου παρουσίασε αύξηση μετά από 18 ώρες διακοπής της άμελξης.

Πίνακας 16 Πρωτεολυτική δράση στο γάλα μετά από διαφορετικά χρονικά διαστήματα διακοπής της άμελξης (Πηγή: Stelwagen et al., 2008)

Παράμετροι	Διάρκεια διακοπής της άμελξης (ώρες)					Τυπικό σφάλμα
	6	12	18	24	30	
Πλασμίνη (units*/ml)	1,1a	1,4ab	1,8b	1,4ab	1,5ab	0,2
Πλασμινογόνο (units/ml)	53a	57a	58a	72b	77b	2
γ-καζεΐνη:β-καζεΐνη	0,48a	0,50ab	0,65bc	0,74c	0,62abc	0,06

abc Διαφορετικοί εκθέτες εντός των σειρών υποδεικνύουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων τιμών ($P < 0,05$)

* Μονάδα ενεργότητας (unit) ορίζεται η ποσότητα του ενζύμου που απαιτείται για να προκαλέσει μεταβολή της απορρόφησης κατά 0,0001 σε μήκος κύματος 405 nm εντός 1 λεπτού από την απελευθέρωση της π-νιτροανιλίδης στο διάλυμα της αντίδρασης

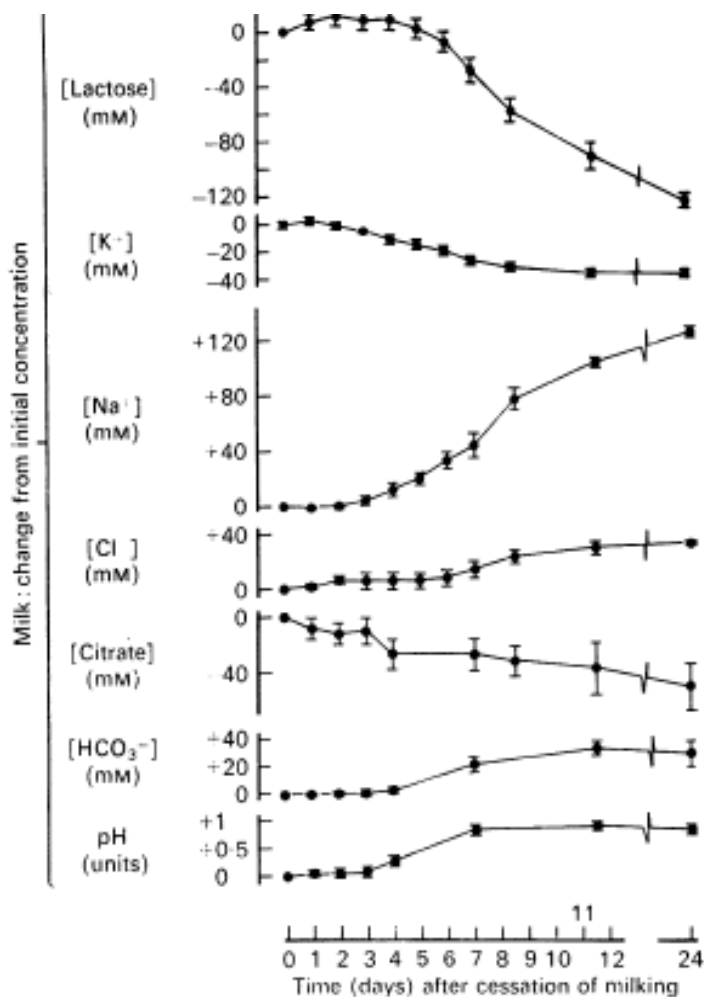
Επιπλέον, η αναλογία των γ- και β-καζεΐνων αυξάνεται όσο μεγαλώνει ο χρόνος διακοπής της άμελξης (Πίνακας 16). Παρόμοια αποτελέσματα συναντιούνται και στις έρευνες των Stelwagen *et al.* (1994a) και O'Brien *et al.* (2002) όπου μακράς διάρκειας διαστήματα διακοπής της άμελξης επιφέρουν αύξηση της πρωτεολυτικής δράσης στο γάλα χωρίς να επηρεαστούν αρνητικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του (O'Brien *et al.*, 2002).

6.1.2. Αίγες

Σε έρευνα των Fleet & Peaker (1978) πραγματοποιήθηκε διακοπή της άμελξης σε αίγες κατά το τέλος της γαλακτικής περιόδου τους και διαπιστώθηκε ότι την 1^η ημέρα μετά τη διακοπή ο ρυθμός έκκρισης του γάλακτος δεν παρουσίασε σημαντικές αλλαγές, ο μαστός δηλαδή περιείχε όγκο γάλακτος ίδιο με αυτόν της καθημερινής γαλακτοπαραγωγής, ενώ ο ρυθμός έκκρισης μειώθηκε κατά 43% και 22% την 2^η και 3^η ημέρα μετά τη διακοπή, αντίστοιχα. Η μέγιστη διόγκωση του μαστικού αδένου παρατηρήθηκε την 3η ημέρα μετά τη διακοπή της άμελξης, ενώ μετά μειώθηκε και η μείωση αυτή συνέπεσε με τις αλλαγές στη σύσταση του γάλακτος και το στάδιο της παλινδρόμησης του μαστού.

Αντίθετα με τον ρυθμό έκκρισης του γάλακτος, οι μεταβολές στη σύσταση του γάλακτος εμφανίστηκαν αργότερα κατά την 3^η ή 4^η ημέρα μετά τη διακοπή της άμελξης. Παρατηρήθηκε λοιπόν

ότι η συγκέντρωση του νατρίου $[Na^+]$ αυξήθηκε και του καλίου $[K^+]$ μειώθηκε, ενώ η συγκέντρωση του χλωρίου $[Cl^-]$, η συγκέντρωση των διττανθρακικών αλάτων $[HCO_3^-]$, το pH και η συγκέντρωση των πρωτεϊνών αυξήθηκαν και οι συγκεντρώσεις της λακτόζης και των κιτρικών μειώθηκαν (Διάγραμμα 15). Επίσης, η συγκέντρωση του μαγνησίου $[Mg^+]$ μεταβλήθηκε ελάχιστα, ενώ η συγκέντρωση του ασβεστίου $[Ca^+]$ αυξήθηκε και του διαλυτού φωσφόρου $[P^+]$ μειώθηκε. Η απώλεια της ακεραιότητας του επιθηλίου του μαστικού αδένος και η χαλάρωση των συνδετικών συμπλεγμάτων μεταξύ των επιθηλιακών κυττάρων κατά το στάδιο της παλινδρόμησης του μαστού επέτρεψαν την μετακίνηση των ιόντων Na^+ , Cl^- και HCO_3^- στο γάλα και την αύξηση της συγκέντρωσής τους σε αυτό, ενώ οι συγκεντρώσεις της λακτόζης και $[K^+]$ μειώθηκαν λόγω διαρροής από το επιθήλιο και επαναρρόφησής τους από το γάλα (Fleet & Peaker, 1978).



Διάγραμμα 15 Μεταβολές στη σύσταση του γάλακτος μετά από διακοπή της άμελης σε αίγες (Πηγή: Fleet & Peaker, 1978)

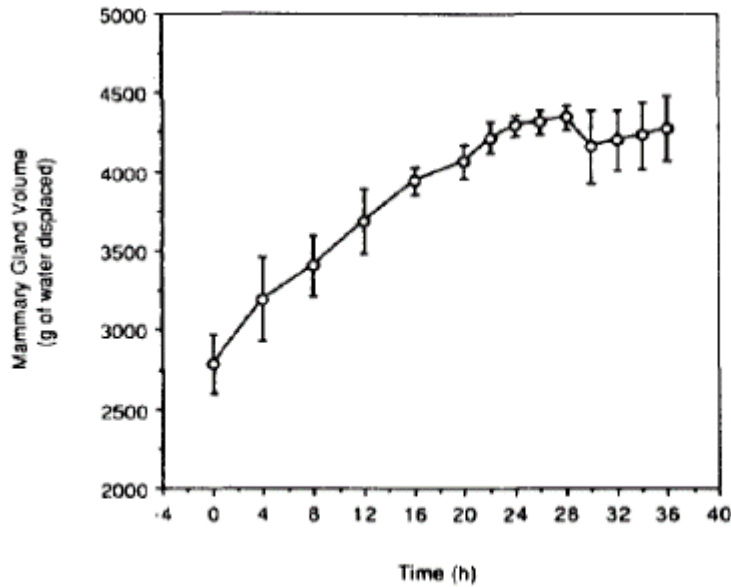
Επιπλέον, παρατηρήθηκε σημαντικά αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στη συγκέντρωση της λακτόζης και του $[Na^+]$ καθώς και ανάμεσα στη συγκέντρωση της λακτόζης και του $[Cl^-]$, ενώ η συσχέτιση ανάμεσα στη συγκέντρωση της λακτόζης και του $[K^+]$ ήταν θετική (Fleet & Peaker, 1978). Οι συγκεντρώσεις των ιόντων Na^+ , K^+ και Cl^- μεταβλήθηκαν κατά τον ίδιο τρόπο στα πειράματα των Faulkner *et al.* (1982) και Stelwagen *et al.* (1994b).

Πίνακας 17 Επίδραση της διακοπής της άμελξης για 36 ώρες (h) στη γαλακτοπαραγωγή και στη σύσταση του γάλακτος των αιγών φυλής Αλπίν (n=16)

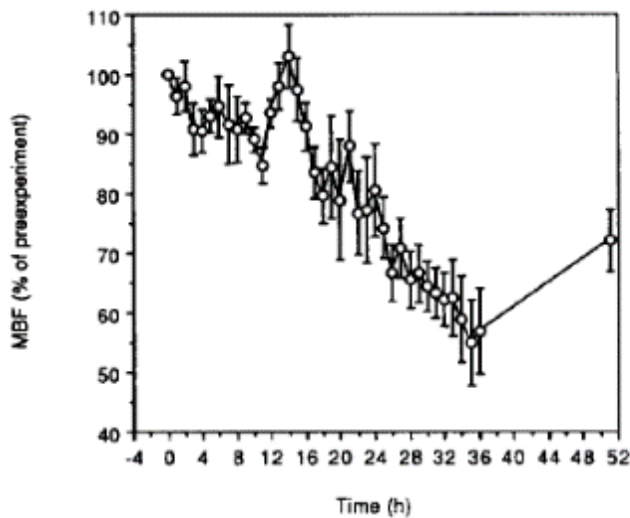
	Διάστημα διακοπής της άμελξης (ώρες)		Τυπικό σφάλμα	Πιθανότητα	
	12	36			
Επίπεδα γαλακτοπαραγωγής μετά από 36 ώρες (kg)	2,54	1,33	0,16	0,002	
Λακτόζη	g/kg	46,4	46,7	0,3	0,53
	g/36 ώρες	117,5	62,1	7,7	0,002
Πρωτεΐνη	g/kg	29,4	30,7	0,2	0,005
	g/36 ώρες	73,9	40,0	4,7	0,003
Λίπος	g/kg	30,6	13,2	1,4	0,0001
	g/36 ώρες	76,0	17,8	4,2	<0,0001

(Πηγή: Ben Chedly et al., 2009)

Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν στο πείραμα των Ben Chedly *et al.* (2009) όπου πραγματοποιήθηκε διακοπή της άμελξης για 36 ώρες του δεξιού μαστικού αδένου των αιγών φυλής *Alpine*, ενώ ο αριστερός αμελγόταν ανά 12 ώρες κατά το ίδιο χρονικό διάστημα. Σε σχέση λοιπόν με τον μαστικό αδένου που αρμεγόταν ανά διαστήματα 12 ωρών, ο μαστός που αρμέχθηκε μετά από 36 ώρες παρουσίασε μείωση της γαλακτοπαραγωγής κατά 47% (P=0,002) (Πίνακας 17), ενώ η μείωση της γαλακτοπαραγωγής μετά από διακοπή της άμελξης 36 ωρών κυμάνθηκε από 17% έως 83%. Η ευρεία αυτή διακύμανση των απωλειών της γαλακτοπαραγωγής ανάμεσα στις αίγες οφείλεται σε διαφοροποιήσεις του όγκου του μαστικού αδένου, όπως διαπιστώθηκε και στις αγελάδες γαλακτοπαραγωγής (Stelwagen & Knight, 1997· Remond & Pomies, 2005· Marnet & Komara, 2008). Σε παρόμοια αποτελέσματα μείωσης της γαλακτοπαραγωγής κατέληξαν και οι Stelwagen *et al.* (1994b). Συγκεκριμένα, πραγματοποιήθηκε διακοπή της άμελξης για 36 ώρες στον ένα μαστικό αδένου των αιγών φυλής Saanen που ήταν πολύτοκες και βρίσκονταν στα μέσα της γαλακτικής τους περιόδου και παρατηρήθηκε μείωση της γαλακτοπαραγωγής μετά από 19 ώρες διακοπής της άμελξης και αυτό το γεγονός συνέπεσε με τη χαλάρωση των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων του μαστού και τη μείωση της ροής του αίματος στο μαστό (MBF, *Mammary Blood Flow*) που παρατηρήθηκαν μετά από 21 ώρες. Στο Διάγραμμα 16 παρουσιάζεται ο μέσος όγκος του μαστικού αδένου των αιγών που φτάνει σε ένα μέγιστο επίπεδο (*plateau*) μετά από περίπου 19 ώρες διακοπής της άμελξης και το οποίο θεωρείται και το σημείο παύσης της εκκριτικής δραστηριότητας του μαστού και έναρξης της μείωσης της γαλακτοπαραγωγής, ενώ στο Διάγραμμα 17 παρατηρείται μείωση της ροής του αίματος κατά το ήμισυ στις 36 ώρες διακοπής της άμελξης σε σχέση με τη τιμή της ροής πριν τη διακοπή. Πιο αναλυτικά, η ροή του αίματος παρέμεινε για 12 ώρες στα ίδια επίπεδα (90-100%) με αυτά της ροής πριν τη διακοπή, ακολούθησε αύξησή της για ένα σύντομο χρονικό διάστημα πιθανόν ως αποτέλεσμα του ταΐσματος των ζώων και μετά παρατηρήθηκε μείωσή της την 21^η ώρα της διακοπής. Μετά από 36 ώρες η τιμή της ροής του αίματος έχει μειωθεί κατά το ήμισυ σε σχέση με την αρχική και δεν επιστρέφει στα αρχικά επίπεδα κατά την έναρξη της άμελξης.



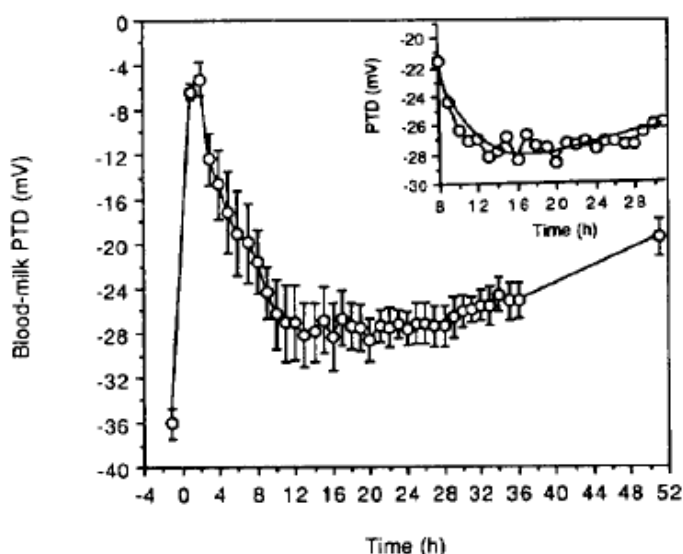
Διάγραμμα 16 Μέσος όγκος του μαστικού αδένος 6 αιγών μετά από διακοπή της άμελξης 36 ωρών (h) (Πηγή: Stelwagen et al., 1994b)



Διάγραμμα 17 Μέση ροή αίματος στο μαστό (Mammary Blood Flow, MBF) 6 αιγών μετά από διακοπή της άμελξης 36 ωρών (h) (Πηγή: Stelwagen et al., 1994b)

Ως δείκτης για την επίτευξη της χαλάρωσης των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων του μαστού μπορεί να μετρηθεί η διεπιθηλιακή διαφορά δυναμικού (PTD, *Transepithelial Potential Difference*) διότι οι στενοσύνδεσμοι διατηρούν μια μικρή διεπιθηλιακή διαφορά δυναμικού ανάμεσα στο αίμα και στο γάλα. Σε πείραμα των Stelwagen *et al.* (1994b), αρχικά η διεπιθηλιακή διαφορά δυναμικού κυμαινόταν από -31 έως -40 mV με μέσο όρο -36,1 mV (το γάλα είναι αρνητικά φορτισμένο σε σχέση με το αίμα) και μέσα σε 1 ώρα από τη διακοπή της άμελξης μειώθηκε και

έφτασε τη τιμή των $-6,4$ mV, ενώ μετά αυξήθηκε σταθερά μέχρι να φτάσει τη μέγιστη αρνητική του τιμή στις 21 ώρες όπου παρέμεινε σε αυτά τα χαμηλά επίπεδα τιμών μέχρι την 51η ώρα (Διάγραμμα 18).



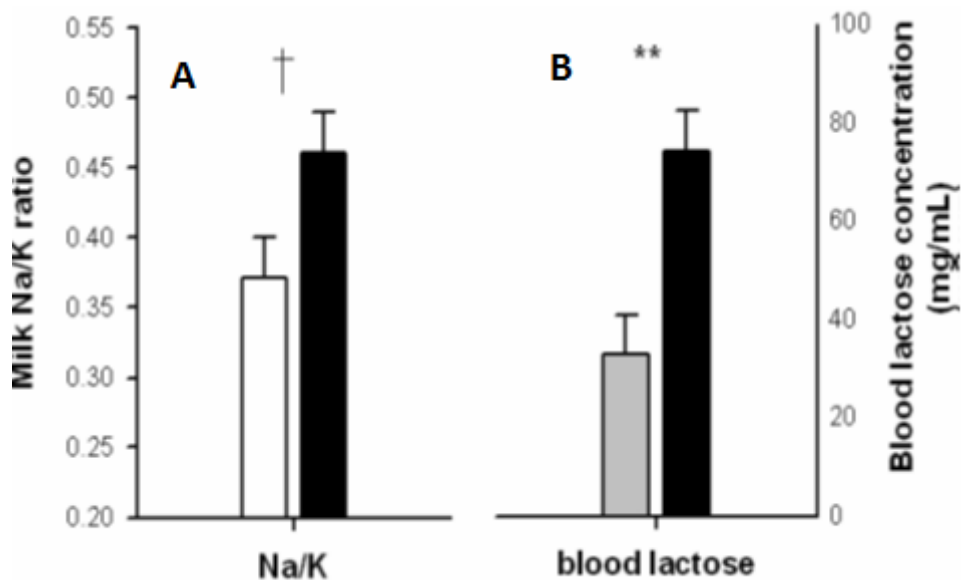
Διάγραμμα 18 Διεπιθηλιακή διαφορά δυναμικού (Trans epithelial Potential Difference, PTD) ανάμεσα στο αίμα και στο γάλα 6 αιγών μετά από διακοπή της άμελξης 36 ωρών (h) (Αίμα=0 mV) (Πηγή: Stelwagen et al., 1994b)

Η μείωση της διεπιθηλιακής διαφοράς δυναμικού που παρατηρήθηκε στην 1η ώρα από τη διακοπή της άμελξης έχει μικρή σημασία από άποψη φυσιολογίας και αποδίδεται σε δυο παράγοντες: 1) τη σχετικά υψηλή δόση ωκυτοκίνης (600 mIU) που χορηγήθηκε για το άδειασμα των αδενοκυψελίδων από το γάλα, η οποία πιθανόν να προκάλεσε προσωρινή χαλάρωση των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων του μαστού και 2) του γεγονότος ότι για τη μέτρηση της διεπιθηλιακής διαφοράς δυναμικού είναι αναγκαία η παρεμβολή μιας συνεχούς στήλης γάλακτος ανάμεσα στις αδενοκυψελίδες και στις άκρες των ηλεκτροδίων που τοποθετούνται στη θηλή, η οποία εγκαθιδρύεται μετά από ώρες. Η αύξηση λοιπόν της λακτόζης στο αίμα μαζί με τη σημαντική μείωση της διεπιθηλιακής διαφοράς δυναμικού ανάμεσα στο αίμα και στο γάλα υποδηλώνουν τη χαλάρωση των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων του μαστού μετά από διακοπή της άμελξης.

Σε ότι αφορά τα συστατικά του γάλακτος, στο πείραμα των Ben Chedly *et al.* (2009) το ποσοστό της λακτόζης ήταν παρόμοιο και στις δύο περιπτώσεις, ενώ το ποσοστό της πρωτεΐνης αυξήθηκε ($P < 0,001$) και του λίπους μειώθηκε στο μαστό όπου διεκόπη η άμελξη για 36 ώρες συγκριτικά με τον μαστό που αρμεγόταν ανά 12 ώρες. Συγκεκριμένα η συνολική ποσότητα (g/36 h) της λακτόζης, του λίπους και της πρωτεΐνης μειώθηκαν κατά 47%, 76% και 45% αντίστοιχα ($P < 0,01$) στο μαστό που αρμέχθηκε μετά από 36 ώρες (Πίνακας 17).

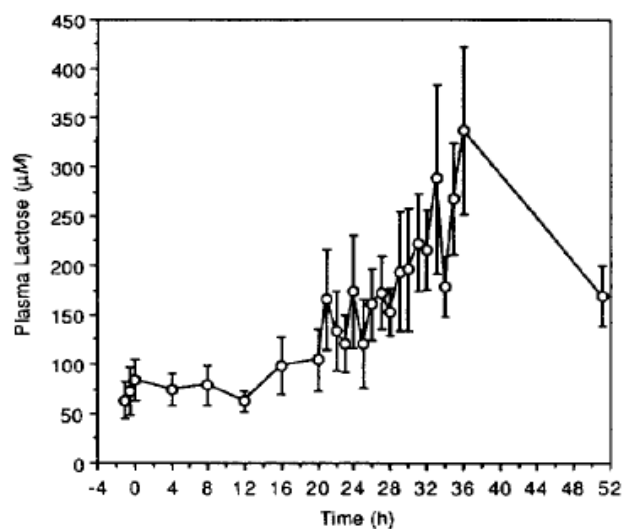
Επιπλέον, παρατηρήθηκε σταδιακή αύξηση της λακτόζης στο αίμα από την έναρξη του πειράματος μέχρι το τέλος των 36 ωρών από τη διακοπή της άμελξης ($P = 0,008$), καθώς επίσης αύξηση της αναλογίας Na^+/K^+ στο γάλα στην περίπτωση της διακοπής της άμελξης για 36 ώρες σε σχέση με την

άμελξη του μαστού ανά 12 ώρες ($P=0,06$) (Διάγραμμα 19). Οι παραπάνω μετρήσεις αποτελούν δείκτες της ακεραιότητας του μαστικού επιθηλίου και η αύξησή τους αποδεικνύει την ύπαρξη χαλάρωσης των κυτταρικών συνδέσμων.



Διάγραμμα 19 Δείκτες χαλάρωσης των κυτταρικών συνδέσμων. (A): αναλογία Na/K: □ άμελξη των μαστών ανά 12 ώρες (h), ■ άμελξη των μαστών ανά 36 ώρες (h), n=16. (B): επίπεδα λακτόζης στο αίμα: □ πριν τη διαφοροποίηση των αμέλξεων, ■ μετά από διακοπή άμελξης 36 ωρών (h), n=8 (**: $P<0,01$, †: $P<0,10$) (Πηγή: Ben Chedly et al., 2009)

Στο πείραμα των Stelwagen *et al.* (1994b) η συγκέντρωση της λακτόζης στον ορό του αίματος παρέμεινε σταθερή μέχρι την 21^η ώρα μετά τη διακοπή της άμελξης, ενώ μετά από αυτό το χρονικό διάστημα αυξήθηκε ραγδαία σε ποσοστό πενταπλάσιο σε σχέση με τη συγκέντρωσή της πριν τη διακοπή και παρέμεινε αυξημένη μέχρι την 51^η ώρα (Διάγραμμα 20).



Διάγραμμα 20 Μέση συγκέντρωση της λακτόζης στον ορό του αίματος 6 αγών μετά από από διακοπή της άμελξης 36 ωρών (h) (Πηγή: Stelwagen et al., 1994b)

6.1.3. Πρόβατα

Αν και υπάρχουν κάποιες δημοσιευμένες εργασίες, οι οποίες περιγράφουν τις επιδράσεις της μείωσης της συχνότητας άμελξης στη φυσιολογία του μαστού και στη σύσταση του γάλακτος (Davis *et al.*, 1999· Salama *et al.*, 2003· Hervás *et al.*, 2006· Rémond & Pomiès, 2007· Komara *et al.*, 2009· Koutsouli *et al.*, 2017) δεν υπάρχουν πειραματικά δεδομένα σε ότι αφορά την επίδραση του διαστήματος της διακοπής της άμελξης στα παραπάνω χαρακτηριστικά. Αποτελεί λοιπόν αντικείμενο μελέτης του παρόντος πειράματος.

6.2 Επίδραση της διακοπής της άμελξης στον οργανισμό

6.2.1. Υγιεινή κατάσταση μαστού

Παρόλο που η ενδομαστική λοίμωξη μπορεί να εμφανιστεί σε οποιοδήποτε στάδιο της γαλακτικής περιόδου, έρευνες στις αγελάδες έδειξαν ότι η ξηρά περίοδος είναι το στάδιο με τον υψηλότερο κίνδυνο εμφάνισης της λοίμωξης αυτής (Dingwell *et al.*, 2003· Bradley & Green, 2004). Σε παρόμοιο συμπέρασμα καταλήγουν και οι λιγοστές έρευνες σε πρόβατα (Watson & Buswell, 1984· Gonzalo *et al.*, 2004) και αίγες (Leitner *et al.*, 2007).

Καινούργιες επίσης ενδομαστικές λοιμώξεις μπορούν να εμφανιστούν από 1 έως 2 φορές μέσα στην ίδια ξηρά περίοδο (Zobel *et al.*, 2015a). Συγκεκριμένα η πρώτη μπορεί να εμφανισθεί κατά το αρχικό στάδιο της ξηράς περιόδου, καθώς ο μαστός μεταβαίνει από το στάδιο γαλακτοπαραγωγής στην παλινδρόμηση (Zobel *et al.*, 2015a). Είναι απίθανο να εμφανιστεί ενδομαστική λοίμωξη όταν στο μαστό έχει εγκαθιδρυθεί πλήρως η παλινδρόμηση (Bradley & Green, 2004) διότι ταυτόχρονα με την εγκαθίδρυση της παλινδρόμησης πραγματοποιούνται αλλαγές στο μαστό για την πρόληψη της λοίμωξης. Πράγματι, πρώτα αυξάνεται η δράση της λακτοφερίνης στο μαστικό αδένα, η οποία εμποδίζει την ανάπτυξη των βακτηρίων μέσω της πρόσδεσης σε αυτή του σιδήρου που διαφορετικά θα το χρησιμοποιούσαν ορισμένα παθογόνα (Sordillo *et al.*, 1997). Δεύτερον, η λακτοφερίνη σε συνδυασμό με την αύξηση των επιπέδων των ανοσοσφαιρινών (IgG) δρουν ενάντια των περισσότερων *Gram*-αρνητικών βακτηρίων (Bushe & Oliver, 1987). Τρίτον, όσο μειώνεται η συγκέντρωση των λιποσφαιρίων και των καζεϊνών τόσο αυξάνεται η συγκέντρωση και η δράση των λευκοκυττάρων, τα οποία ενισχύουν την ικανότητα του μαστικού αδένα να αντιστέκεται στις λοιμώξεις (Zobel *et al.*, 2015a). Σε πρόσφατες έρευνες διαπιστώθηκε ότι τα επίπεδα της γαλακτοπαραγωγής επηρεάζουν τον πληθυσμό των λευκοκυττάρων. Συγκεκριμένα, σε έρευνα των Silanikove *et al.* (2013) παρατηρήθηκε ότι οι αγελάδες που εισήλθαν στην ξηρά περίοδο με επίπεδα γαλακτοπαραγωγής λιγότερα των 14 kg την ημέρα παρήγαγαν μεγαλύτερο αριθμό λεμφοκυττάρων και μακροφάγων καθιστώντας τον μαστικό αδένα πιο αποτελεσματικό στην αντιμετώπιση των βακτηρίων σε σχέση με τις αγελάδες που παρήγαγαν περισσότερα από 25 kg γάλα ανά ημέρα. Συνεπώς, η έναρξη της ξηράς περιόδου παρουσιάζει υψηλά ποσοστά επικινδυνότητας για ότι αφορά τις ενδομαστικές λοιμώξεις, τα οποία όμως δύναται να μειωθούν εάν μειωθούν τα επίπεδα γαλακτοπαραγωγής του μηρυκαστικού πριν την εισαγωγή του σε αυτή (Zobel *et al.*, 2015a).

Η δεύτερη περίπτωση μέσα στην ξηρά περίοδο όπου παρατηρείται μεγαλύτερος κίνδυνος για ενδομαστική λοίμωξη είναι όταν ο μαστικός αδένας μεταβαίνει από το στάδιο παύσης της γαλακτοπαραγωγής σε στάδιο έναρξης της κατά το τέλος της ξηράς περιόδου, δηλαδή κατά το στάδιο

παραγωγής του πρωτογάλακτος (Zobel *et al.*, 2015a). Η περίοδος αυτή ξεκινάει περίπου 1 εβδομάδα πριν τον τοκετό (Oliver & Mitchell, 1983), καθώς τότε οι κυριότεροι αμυντικοί μηχανισμοί του μαστικού αδένος ατονούν (Bradley & Green, 2004). Συγκεκριμένα, ο γαλακτοφόρος κόλπος της θηλής του μαστού αρχίζει να διαστέλλεται και το προστατευτικό στρώμα κερατίνης διασπάται, επιτρέποντας την εισχώρηση των παθογόνων μικροοργανισμών (Oldham *et al.*, 1991). Επιπλέον, η αύξηση της εκκριτικής δραστηριότητας των μαστικών επιθηλιακών κυττάρων περιορίζει τη δραστηριότητα της λακτοφερίνης, των ανοσοσφαιρινών (IgG) και των λευκοκυττάρων (Sordillo & Nickerson, 1988).

Οι μέθοδοι ελέγχου και ταυτοποίησης των ενδομαστικών λοιμώξεων είναι η μέτρηση των σωματικών κυττάρων (SCC, *Somatic cell count*) στο γάλα (Dohoo & Leslie, 1991), το *California Mastitis Test* (Sanford *et al.*, 2006· Bhutto *et al.*, 2012) καθώς και η επιτόπια βακτηριολογική εξέταση στο στάβλο (Cameron *et al.*, 2013, 2014). Οι μέθοδοι αυτοί ελέγχου της μαστίτιδας δεν είναι το ίδιο λειτουργικοί στα μικρά μηρυκαστικά όπως είναι στις αγελάδες (Paape *et al.*, 2001· Raynalljutovac *et al.*, 2007) και αυτό γιατί ο αριθμός των σωματικών κυττάρων στα μικρά μηρυκαστικά επηρεάζεται όχι μόνο από την παρουσία των βακτηρίων (Koop *et al.*, 2012), αλλά και από την ηλικία και το στάδιο γαλακτοπαραγωγής (Luengo *et al.*, 2004· Paape *et al.*, 2007· Kern *et al.*, 2013· Persson *et al.*, 2014).

Η πρόληψη των ενδομαστικών λοιμώξεων περιλαμβάνει τον εμβολιασμό των αγελάδων γαλακτοπαραγωγής (Middleton *et al.*, 2009) και την υποδόρια χορήγηση αντιβιοτικών στα πρόβατα κατά τη γαλακτική περίοδο που ακολουθεί (Croft *et al.*, 2000). Η συχνότερη όμως μέθοδος πρόληψης της μαστίτιδας των μηρυκαστικών (*dry-off therapy*) αποτελεί η ενδομαστική χορήγηση αντιβιοτικών μακράς διάρκειας, η οποία προλαμβάνει τις καινούργιες λοιμώξεις και θεραπεύει τις ήδη υπάρχουσες που οφείλονται σε *Gram*-θετικά βακτήρια (Bradley & Green, 2004· Halasa *et al.*, 2009· Dufour *et al.*, 2011). Παρότι η χρήση αντιβιοτικών κατά την ξηρά περίοδο σε πρόβατα (Gonzalo *et al.*, 2004· Linage & Gonzalo, 2008· Spanu *et al.*, 2011) και αίγες (Plommet & Bézard, 1974· Fox *et al.*, 1992· Routrel *et al.*, 1997· McDougall & Anniss, 2005) έχει μελετηθεί, δεν υπάρχουν αναφορές ότι εφαρμόζεται στην πράξη (Zobel *et al.*, 2015a). Το γεγονός αυτό οφείλεται τόσο στην αμφισβητούμενη αποτελεσματικότητα της θεραπείας, όσο και στην αμφισβητούμενη αναγκαιότητά της, ιδιαίτερα στις αίγες (Zobel *et al.*, 2015a). Μερικοί ερευνητές υποστηρίζουν ότι η χορήγηση αντιβιοτικών κατά την ξηρά περίοδο στις αίγες δεν είναι αναγκαία λόγω της έμφυτης τάσης των αιγών να αυτοθεραπεύονται (Paape *et al.*, 2001· Bergonier *et al.*, 2003). Άλλοι πάλι διαφωνούν ως προς το εύρος της χορήγησης των αντιβιοτικών κατά την ξηρά περίοδο. Ορισμένοι συντάσσονται με την επιλεκτική χορήγηση, δηλαδή μόνο σε μολυσμένα ζώα (Fox *et al.*, 1992· McDougall & Anniss, 2005), ενώ άλλοι με αυτή της ευρείας κλίμακας, χορήγηση δηλαδή σε όλα τα ζώα της εκτροφής ανεξαιρέτως (Routrel *et al.*, 1997). Παρότι η χρησιμότητα των αντιβιοτικών για θεραπεία των ήδη υπάρχουσών λοιμώξεων είναι αδιαμφισβήτητη, παραμένει αδιευκρίνιστη η χρησιμότητά τους για την πρόληψη των καινούργιων λοιμώξεων στα πρόβατα (Gonzalo *et al.*, 2004· Linage & Gonzalo, 2008· Spanu *et al.*, 2011) και στις αίγες (Paape *et al.*, 2001· McDougall & Anniss, 2005). Ακόμα και στις αγελάδες, η αποδεδειγμένη αποτελεσματικότητα και η ευρεία χρήση των αντιβιοτικών κατά την ξηρά περίοδο έχει περιορισμούς (Zobel *et al.*, 2015a). Καταρχήν, η αποτελεσματικότητα των αντιβιοτικών μειώνεται με την πάροδο του χρόνου, επομένως η χρήση τους είναι αναποτελεσματική στο τέλος της ξηράς περιόδου (Oliver *et al.*, 1990· Pinedo *et al.*, 2012). Και αυτό γιατί ο μαστικός αδένος εισέρχεται σε ένα στάδιο όπου είναι από τη φύση του πιο ευαίσθητος στη μόλυνση από *Gram*-θετικά βακτήρια, τα οποία υπάρχουν στο περιβάλλον (Zobel *et al.*, 2015a). Δεύτερον, οι αγελάδες είναι επιρρεπείς στις

μολύνσεις από *Gram*-αρνητικά βακτήρια που βρίσκονται στο περιβάλλον έναντι των οποίων η πλειοψηφία των αντιβιοτικών που χρησιμοποιούνται κατά την ξηρά περίοδο έχουν περιορισμένη αποτελεσματικότητα (Zobel *et al.*, 2015a). Πράγματι, εξαιτίας της ευρείας χρήσης των αντιβιοτικών κατά την ξηρά περίοδο, τα βακτήρια που βρίσκονται στο περιβάλλον αποτελούν την πιο συχνή αιτία των καινούργιων ενδομαστικών λοιμώξεων που εμφανίζονται κατά την περίοδο αυτή (Bradley & Green, 2004). Παρότι στην αγορά υπάρχουν αντιβιοτικά για την αντιμετώπιση των βακτηρίων αυτών, η αποτελεσματικότητά τους είναι ακόμα υπό διερεύνηση (Arruda *et al.*, 2013).

Άλλο μέτρο πρόληψης των ενδομαστικών λοιμώξεων αποτελεί η χρήση εσωτερικού και εξωτερικού μονωτικού-σφραγιστικού υλικού (*internal teat sealers-external sealants*) στις θηλές του μαστού με σκοπό την αποτροπή εισόδου των παθογόνων βακτηρίων στο κανάλι της θηλής (Rabiee & Lean, 2013). Αυτό γιατί παρότι κατά την παλινδρόμηση σχηματίζεται ένα προστατευτικό στρώμα κερατίνης, τα κανάλια της θηλής παραμένουν ανοιχτά σε ορισμένα ζώα (Dingwell *et al.*, 2003). Η αποτελεσματικότητα της χρήσης των μονωτικών υλικών στις θηλές του μαστού έχει ερευνηθεί εκτενώς και έχει αποδειχθεί στις αγελάδες με (Godden *et al.*, 2003) ή χωρίς (Huxley *et al.*, 2002· Bhutto *et al.*, 2011) τη συνδιαστική χρήση αντιβιοτικών, ενώ δεν έχουν πραγματοποιηθεί έρευνες για την αποτελεσματικότητα των προϊόντων αυτών στα πρόβατα και στις αίγες (Zobel *et al.*, 2015a).

Τέλος, η πρόληψη των ενδομαστικών λοιμώξεων κατά το αρχικό στάδιο της ξηράς περιόδου μπορεί να επιτευχθεί με τη μείωση της γαλακτοπαραγωγής πριν την είσοδο του ζώου στην ξηρά περίοδο (Bushe & Oliver, 1987). Πράγματι, παρατηρήθηκε ότι αγελάδες που εισήλθαν στην ξηρά περίοδο με υψηλές αποδόσεις γάλακτος ήταν πιο επιρρεπείς στις ενδομαστικές λοιμώξεις (Rajala-Schultz *et al.*, 2005). Επιπλέον, οι αγελάδες υψηλών αποδόσεων παρουσίασαν μεγαλύτερες απώλειες γάλακτος σε συνάρτηση με την ηλικία, καθυστέρηση στον σχηματισμό του προστατευτικού στρώματος κερατίνης στο κανάλι της θηλής του μαστού καθώς επίσης διαφορές στην αντιμετώπιση των λοιμώξεων από τον μαστικό αδένα (Bertulat *et al.*, 2013· Silanikove *et al.*, 2013).

6.2.2. Επίδραση στο αρνητικό ενεργειακό ισοζύγιο

Το αρνητικό ενεργειακό ισοζύγιο εμφανίζεται στις αγελάδες μετά τον τοκετό λόγω των μεταβολικών απαιτήσεων της γαλακτοπαραγωγής (Butler & Smith, 1989), ενώ στις αίγες και στα πρόβατα εμφανίζεται πιο συχνά πριν τον τοκετό ως αποτέλεσμα των ενεργειακών απαιτήσεων του εμβρύου που αναπτύσσεται (Marteniuk & Herdt, 1988· Edmondson & Pugh, 2004). Πολλά ζώα είναι ικανά να αντιμετωπίσουν αυτές τις ενεργειακές ανάγκες μεταβολίζοντας τα αποθέματα λίπους σε μη εστεροποιημένα λιπαρά οξέα (NEFA, *Non Esterified Fatty Acid*) και γλυκερόλη. Στην περίπτωση που παραχθούν υψηλές ποσότητες NEFA υπερφορτώνουν το ήπαρ με αποτέλεσμα την εμφάνιση της ηπατικής λιπίδωσης (Van Saun, 2000· Mulligan & Doherty, 2008) και την απελευθέρωση υπερβολικής ποσότητας κετονικών σωμάτων (Harmeyer & Schlumbohm, 2006). Εάν το ζώο δε θεραπευθεί μπορεί να οδηγηθεί σε θάνατο λόγω της εμφάνισης τοξιναιμίας της κνοφορίας πριν από τον τοκετό ή κέτωσης μετά τον τοκετό (Zobel *et al.*, 2015a).

Στην περίπτωση που η ξηρά περίοδος στις αγελάδες είναι μικρής διάρκειας ή παραλειφθεί, ένα μέρος της γαλακτοπαραγωγής μετατοπίζεται στη προγεννητική περίοδο, ενώ στην επόμενη γαλακτική περίοδο η γαλακτοπαραγωγή μειώνεται (Bachman & Schairer, 2003· Collier *et al.*, 2004), γεγονός που έχει αρνητικές επιπτώσεις για την γαλακτοπαραγωγική ικανότητα του ζώου (Zobel *et al.*, 2015a). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα προηγούμενων μελετών, η κατανάλωση της τροφής και κατ' επέκταση

το θετικό ενεργειακό ισοζύγιο επιτυγχάνεται με την αύξηση της διάρκειας της γαλακτικής περιόδου (Rastani *et al.*, 2005· Pezeshki *et al.*, 2007· de Feu *et al.*, 2009· Jolicoeur *et al.*, 2014). Εντούτοις, σε έρευνα των Gulay *et al.* (2003) δε διαπιστώθηκε βελτίωση του ενεργειακού ισοζυγίου αυξάνοντας τη διάρκεια της γαλακτικής περιόδου.

Σε ότι αφορά τα μικρά μηρυκαστικά οι έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί πάνω στο θέμα είναι ελάχιστες (Zobel *et al.*, 2015a). Μετά από έρευνα 5 χρόνων οι Hernandez *et al.* (2012) κατέληξαν ότι η συνιστώμενη διάρκεια της ξηράς περιόδου για τα πρόβατα κυμαίνεται από 30 έως 60 ημέρες, λαμβάνοντας υπόψιν μόνο τα επίπεδα γαλακτοπαραγωγής και του αριθμού τοκετών και όχι την επίδραση που έχει αυτή στον μεταβολισμό του ζώου. Στις αίγες δεν υπάρχουν δημοσιευμένες έρευνες επί του θέματος μόνο μαρτυρίες κτηνοτρόφων που υποστηρίζουν ότι η τεχνητή διακοπή της άμελξης δρα αρνητικά στο ενεργειακό ισοζύγιο και στη μακροζωΐα και για το λόγο αυτό επιλέγουν τη διατήρηση της άμελξης (Zobel *et al.*, 2015b). Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξαν και οι Salama *et al.* (2005), οι οποίοι υποστηρίζουν ότι μια εναλλακτική διαχείριση των αιγών για βελτίωση της μακροζωΐας και επιμήκυνσης της γαλακτοπαραγωγής τους είναι η αποφυγή συχνών τοκετών από τη στιγμή που η κυοφορία φυσιολογικά επιφέρει μείωση της γαλακτοπαραγωγής. Επίσης, τα χαμηλά ποσοστά κέτωσης στις αίγες (Melby *et al.*, 1986· Zobel *et al.*, 2015b) σε σχέση με αυτά των αγελάδων (McArt *et al.*, 2012) αποδίδονται στη συνεχή άμελξη των αιγών για μεγάλο χρονικό διάστημα (Zobel *et al.*, 2015b)

6.2.3. Μεταβολές στην εκδήλωση της συμπεριφοράς

Όλα τα ζώα γαλακτοπαραγωγικού τύπου εισέρχονται στην ξηρά περίοδο μετά από μια σειρά αλλαγών ρουτίνας στη διαχείριση της εκτροφής τους, μερικές από τις οποίες επηρεάζουν αρνητικά τη συμπεριφορά του ζώου (αίσθημα πείνας, πόνου και ενόχλησης) (Zobel *et al.*, 2015a).

Πριν από την εφαρμογή της προληπτικής θεραπείας κατά την ξηρά περίοδο, τα ζώα εισέρχονταν στην περίοδο αυτή μετά από μείωση της συχνότητας άμελξής τους (Natzke *et al.*, 1975) και χορήγηση διατροφής χαμηλότερης ενεργειακής αξίας, μειώνοντας κατά αυτό τον τρόπο την γαλακτοπαραγωγή τους και τον κίνδυνο ενδομαστικής λοίμωξης (Bushe & Oliver, 1987). Μετά από την ένταξη της προληπτικής θεραπείας στο πρωτόκολλο της ξηράς περιόδου (NMC, 2006), η διακοπή της άμελξης πραγματοποιείται πλέον απότομα χωρίς να λαμβάνεται υπόψη η επίδραση της πρακτικής αυτής στη συμπεριφορά του ζώου (Zobel *et al.*, 2015a).

Στις αγελάδες γαλακτοπαραγωγής οι αποδόσεις τους σε γάλα κατά το τέλος της γαλακτικής τους περιόδου είναι υψηλότερες (24 kg την ημέρα· Chapinal *et al.*, 2014) συγκριτικά με αυτές των προηγούμενων δεκαετιών (κάτω από 9 kg την ημέρα· Natzke *et al.*, 1975) και παρατηρούνται συμπεριφορές που συνδέονται με την αίσθηση του πόνου εάν η γαλακτοπαραγωγή τους δε μειωθεί πριν την εισαγωγή τους στην ξηρά περίοδο (Bertulat *et al.*, 2013· Silanikove *et al.*, 2013). Πόνος ορίζεται το δυσάρεστο αίσθημα και η συναισθηματική εμπειρία που συνδέεται με μια πραγματική ή πιθανή βλάβη ενός ιστού (IASP, 1994). Πράγματι, η διακοπή της άμελξης επιφέρει τη συσσώρευση γάλακτος στον μαστό, αυξάνοντας την ενδομαστική πίεση (Peaker, 1980), η οποία προκαλεί βλάβη στον ιστό και κατά συνέπεια πόνο (Bertulat *et al.*, 2013· Silanikove *et al.*, 2013). Ο μαστός των αγελάδων (Davis *et al.*, 1998), των προβάτων (Ruberte *et al.*, 1994) και των αιγών (Salama *et al.*, 2004) παρουσιάζει μεγαλύτερη χωρητικότητα και ικανότητα συσσώρευσης γάλακτος σε σχέση με αυτόν των ανθρώπων (Ramsay *et al.*, 2005), στους οποίους δεν ενδείκνυται η απότομη διακοπή του

θηλασμού και λόγω της αίσθησης του πόνου (Betzold, 2007· Lawrence & Lawrence, 2011) και του αυξημένου κινδύνου να παρουσιάσουν καρκίνο του μαστού (Silanikove, 2014). Εντούτοις, εάν η χωρητικότητα του μαστού φτάσει το ανώτατο όριο, όπως συμβαίνει στις αγελάδες, στα πρόβατα και στις αίγες υψηλής γαλακτοπαραγωγής, παρατηρείται βλάβη του ιστού και αίσθηση του πόνου (Zobel *et al.*, 2015a).

Ο πόνος εκδηλώνεται είτε μέσω αύξησης των φωνητικών μηνυμάτων (*vocalizations*) (Silanikove *et al.*, 2013) είτε μέσω αλλαγών στη συμπεριφορά της κατάκλισης. Συγκεκριμένα, η διακοπή (O'Driscoll *et al.*, 2011) και η μείωση της συχνότητας άμελξης (Österman & Redbo, 2001) μειώνουν τον χρόνο κατάκλισης των αγελάδων που βρίσκονται στο στάδιο γαλακτοπαραγωγής, λόγω της ενδομαστικής πίεσης που εμφανίζεται μετά τη συσσώρευση του γάλακτος. Αντίθετα, η συμπεριφορά της κατάκλισης στις αγελάδες που βρίσκονται στην ξηρά περίοδο δεν είναι ξεκάθαρη (Zobel *et al.*, 2015a). Σε πείραμα των Tucker *et al.* (2009) όπου διεκόπη απότομα η άμελξη σε αγελάδες με μέση γαλακτοπαραγωγή κάτω των 10 kg την ημέρα δεν παρατηρήθηκε καμία αλλαγή στους χρόνους κατάκλισης, όπως επίσης η σκληρότητα του μαστού αυξήθηκε ελάχιστα, ενώ στο πείραμα των Chapinal *et al.* (2014) παρουσίασαν αλλαγή στη συμπεριφορά της κατάκλισης μόνο οι πρωτότοκες αγελάδες προς το τέλος της πρώτης γαλακτικής τους περιόδου. Στα μικρά μηρυκαστικά υπάρχει έλλειψη στοιχείων σε ότι αφορά τη συμπεριφορά τους μετά από διακοπή της άμελξης (Zobel *et al.*, 2015a).

Παράλληλα, η μείωση της γαλακτοπαραγωγής στις αγελάδες που εφαρμόζεται πριν την ξηρά περίοδο μέσω της ελάττωσης ή της εξάλειψης της τροφής προκαλεί το αίσθημα της πείνας (Valizahneh *et al.*, 2008) λόγω της μη επίτευξης του κορεσμού (D'Eath *et al.*, 2009). Έχει παρατηρηθεί ότι τα υψηλά ποσοστά πρωτεΐνης στη τροφή προάγουν το αίσθημα του κορεσμού και προλαμβάνουν αυτό της πείνας (Veldhorst *et al.*, 2008· Valizahneh *et al.*, 2008· Johnstone, 2013). Σε ότι αφορά τη μείωση της ενέργειας που προσλαμβάνει το ζώο στην ξηρά περίοδο, μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω της χορήγησης μικτού σιτηρεσίου που συνδυάζει ζωοτροφές χαμηλής ενεργειακής πυκνότητας, στις οποίες μειώνονται οι συμπυκνωμένες, με ταυτόχρονη αύξηση της λιγότερο εύγευστης χορτονομής ή χορηγώντας του μόνο χονδροειδείς ζωοτροφές (Zobel *et al.*, 2015a). Στην περίπτωση των ζώων γαλακτοπαραγωγής το αίσθημα της πείνας κατά την ξηρά περίοδο έχει μικρής διάρκειας αποτελέσματα και αναγνωρίζεται μέσω χαρακτηριστικών εκδηλώσεων συμπεριφοράς (D'Eath *et al.*, 2009). Στις ενήλικες αγελάδες, τα φωνητικά μηνύματα συνδέονται με καταστάσεις άγχους (*distress*), όπου το ζώο απομονώνεται και αισθάνεται πόνο και πείνα (Watts & Stookey, 2000· Tucker *et al.*, 2009).

Τέλος, οι μελετητές Keeling *et al.* (2008) υποστηρίζουν ότι όταν ένα ζώο έχει το κίνητρο να αποκτήσει κάτι, ξεκινάει ένας κύκλος επιβράβευσης, όπου η κατάσταση της μέγιστης ευεξίας στο ζώο εμφανίζεται με την πραγματοποίηση της απόκτησής του. Κατ'επέκταση όταν μια αγελάδα έχει συνηθίσει να αρμέγεται με συγκεκριμένη συχνότητα και εμποδίζεται το κίνητρο να αρμεχθεί τις συγκεκριμένες φορές, όπως στη διακοπή της άμελξης, τότε παρεμποδίζεται και η ολοκλήρωση του κύκλου επιβράβευσης (Zobel *et al.*, 2015a). Στην περίπτωση αυτή τα ζώα επιδεικνύουν μη φυσιολογικές συμπεριφορές, οι οποίες αποτελούν και δείκτη ενόχλησης λόγω της μη εκτέλεσης αυτού για το οποίο έχουν κίνητρο να πράξουν (Dawkins, 1988). Στις μέχρι τώρα ελάχιστες έρευνες η εκδήλωση της ενόχλησης του ζώου συνδέθηκε με τη συμπεριφορά της ορθοστασίας (Zobel *et al.*, 2015a). Πράγματι, σε έρευνα των Stefanowska *et al.* (2000) παρατηρήθηκε αύξηση του αριθμού των

αγελάδων που στέκονταν όρθιες στην πύλη εξόδου της εκτροφής κατά τη διακοπή της άμελξής τους. Παρομοίως, στις έρευνες των Zobel *et al.* (2013) σε αγελάδες διαπιστώθηκε ότι μετά από απότομη διακοπή της άμελξης, η αναμονή στην πύλη ήταν 5 φορές μεγαλύτερη σε σχέση με πριν τη διακοπή, ενώ δεν παρατηρήθηκε αύξηση της αναμονής σε αγελάδες όπου εφαρμόστηκε μια σειρά παραλήψεων των αμέλξεων. Η αύξηση της αναμονής είναι μια εκδήλωση της ενόχλησης που αισθάνεται το ζώο λόγω της αλλαγής στους χειρισμούς ρουτίνας της εκτροφής και του πόνου που προκαλείται από τη συσσώρευση του γάλακτος στο μαστό.

B. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

7. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

7.1 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας μελέτης αποτέλεσε η διερεύνηση της επίδρασης του διαστήματος διακοπής της άμελξης (1, 2 ή 3 ημέρες) στη φυσιολογία του μαστού και στη σύσταση του γάλακτος σε πρόβατα της φυλής Χίου και της Καραγκούνικης φυλής. Συγκεκριμένα, μελετήθηκαν οι επιδράσεις της διακοπής στα επίπεδα γαλακτοπαραγωγής και στη χημική σύσταση του γάλακτος, καθώς επίσης και στις συγκεντρώσεις των ανόργανων στοιχείων (Na, K) και του συστήματος πλασμίνης-πλασμινογόνου στο γάλα.

7.2 Ζωικό κεφάλαιο

Η πειραματική μελέτη διεξήχθη στο Κτηνοτροφείο του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών κατά τους μήνες Μάιο-Ιούνιο του 2015, αφού πρώτα εγκρίθηκε από την επιτροπή Βιοηθικής του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, σύμφωνα με την Οδηγία του Συμβουλίου 86/609/EEC, σχετικά με την προστασία των ζώων που χρησιμοποιούνται για πειραματικούς και άλλους επιστημονικούς σκοπούς. Για την πραγματοποίηση του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν 36 γαλακτοπαραγωγές προβατίνες, των φυλών Χίου (n=20) και Καραγκούνικης (n=16) (Εικόνα 2), οι οποίες βρίσκονταν στη 2η-4η γαλακτική περίοδο και περίπου στη 210η ημέρα μετά τον τοκετό. Οι προβατίνες χωρίστηκαν σε 4 ισοδύναμες ομάδες (n=9) με βάση τη μέση ημερήσια τους ατομική γαλακτοπαραγωγή. Πριν την επέμβαση, οι ομάδες Α (διακοπή άμελξης για 1 ημέρα), Β (διακοπή άμελξης για 2 ημέρες), Γ (διακοπή άμελξης για 3 ημέρες) και Δ (μάρτυρας) είχαν μέση ημερήσια γαλακτοπαραγωγή 1094 ± 63 , 1035 ± 107 , 1060 ± 94 και 970 ± 101 mL, αντίστοιχα.



Εικόνα 2 Προβατίνες των φυλών Χίου και Καραγκούνικης, αντίστοιχα.

Πριν την επέμβαση πραγματοποιήθηκαν 3 γαλακτομετρήσεις, όπου αθροίζονταν η πρωινή και η απογευματινή άμελξη (10, 5 και 1 ημέρα πριν την επέμβαση) και 1 δειγματοληψία για την εκτίμηση της χημικής σύστασης του γάλακτος (10 ημέρες πριν την επέμβαση). Στη συνέχεια εφαρμόστηκε διακοπή άμελξης για 1 ημέρα στην ομάδα Α, για 2 ημέρες στην ομάδα Β και για 3 ημέρες στην ομάδα Γ, ενώ η ομάδα Δ αποτέλεσε το μάρτυρα του πειράματος και δεν εφαρμόστηκε καμία διακοπή. Μετά την επανέναρξη της άμελξης, οι γαλακτομετρήσεις έλαβαν μέρος τις ημέρες 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 15, 22 και 29 της πειραματικής διαδικασίας, ενώ πραγματοποιήθηκαν και δειγματοληψίες τις ημέρες 1, 8, 15, 22 και 29.

Στα πλαίσια του πειράματος, οι προβατίνες διατρέφονταν καθημερινά με 1 kg χόρτου μηδικής και 1,2 kg μίγματος συμπυκνωμένων ζωοτροφών που αποτελούνταν από 900 g μίγματος γαλακτοπαραγωγής και 300 g βασικού μίγματος. Στους Πίνακες 18, 19, 20 και 21 που ακολουθούν, παρουσιάζεται η ποσοστιαία αναλογία του βασικού μίγματος και του μίγματος γαλακτοπαραγωγής, καθώς και η χημική σύσταση του χόρτου μηδικής και των παραπάνω μιγμάτων.

Πίνακας 18 Ποσοστιαία αναλογία βασικού μίγματος και μίγματος γαλακτοπαραγωγής

ΠΡΩΤΕΣ ΥΛΕΣ	ΒΑΣΙΚΟ	ΓΑΛΑΚΤΟΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
Καλαμπόκι	57,7	46,5
Σιτάρι	12	12
Πίτυρα	18	4
Σογιάλευρο γενετικά τροποποιημένο	-	21
Ηλιάλευρο	2	5
Μηδικάλευρο	3	3
Μελάσα	2	1,5
Φυτικό λίπος	-	2,5
Ανθρακικό ασβέστιο	2	1,8
Φωσφορικό μονοασβέστιο	2	1,4
Αλάτι	0,9	0,9
Βιταμίνες και ιχνοστοιχεία	0,4	0,4

Το μίγμα γαλακτοπαραγωγής περιείχε δημητριακούς καρπούς (καλαμπόκι και σιτάρι), γενετικά τροποποιημένο σογιάλευρο, υποπροϊόντα δημητριακών (πίτυρα), ηλιάλευρο, μηδικάλευρο, φυτικό λίπος, μελάσα, ανθρακικό ασβέστιο, φωσφορικό μονο-ασβέστιο, αλάτι, βιταμίνες και ιχνοστοιχεία. Αντίστοιχα, το βασικό μίγμα περιείχε δημητριακούς καρπούς (καλαμπόκι και σιτάρι), υποπροϊόντα δημητριακών (πίτυρα), ηλιάλευρο, μηδικάλευρο, μελάσα, ανθρακικό ασβέστιο, φωσφορικό μονο-ασβέστιο, αλάτι, βιταμίνες και ιχνοστοιχεία (Πίνακας 18).

Πίνακας 19 Χημική σύσταση σιτηρεσίου

ΑΝΑΛΥΣΗ	ΒΑΣΙΚΟ ΜΙΓΜΑ	ΜΙΓΜΑ ΓΑΛΑΚΤΟΠΑΡΑΓΩΓΗΣ	ΧΟΡΤΟ ΜΗΛΙΚΗΣ
Καθαρή ενέργεια (MJ/kg)	7	7,3	4,17
Λιπαρές ουσίες (%)	5,1	5	-
Ολικές αζωτούχες (%)	10	17	16,8
Ινώδεις ουσίες (%)	5,4	5,4	30,4
Υγρασία (%)	12	12	11,9
Τέφρα (%)	8	8	9,78
Ασβέστιο (%)	1,2	1	-
Ολικός φώσφορος (%)	0,9	0,7	-

Πίνακας 20 Χημική σύσταση μίγματος γαλακτοπαραγωγής

Συστατικό	Αναλογία (%)	Συστατικό	Αναλογία (%)
<i>Βασικά συστατικά</i>		<i>Πρόσθετες ύλες/ kg (συνέχεια)</i>	
Ολικές αζωτούχες ουσίες	17,00	Νιασίνη (νικοτινικό οξύ)	12,50 mg
Ολικά λιπαρά	5,00	Παντοθενικό οξύ	1,6 mg
Ολικές ινώδεις ουσίες	5,40	Φολικό οξύ	0,15 mg
Υγρασία	12,00	Βιοτίνη	0,15 mg
Ολική τέφρα	8,00	Μαγνήσιο: Mg(II) oxide	150 mg
Ασβέστιο (Ca)	1,00	Ψευδάργυρος: Zn(II) oxide	50 mg
Φωσφόρος (P)	0,70	Ψευδάργυρος: Zn χηλικός	10 mg
Νάτριο (Na)	0,40	Μαγγάνιο: Mn(II) oxide	30 mg
<i>Πρόσθετες ύλες/ kg</i>		Μαγγάνιο: Mn χηλικό	5 mg
Βιταμίνη A (ρετινόλη)	15,000 i.u.	Σίδηρος: Fe(II) sulphate	50 mg
Βιταμίνη D3	2,000 i.u.	Ιώδιο: K-iodide	1,25 mg
Βιταμίνη E (α-τοκοφερόλη)	25 mg	Κοβάλτιο: Co(II) carbonate	0,75 mg
Βιταμίνη B1 (Θειαμίνη)	0,63 mg	Σελήνιο: Na-Selenide	0,38 mg
Βιταμίνη B2 (Ριβοφλαβίνη)	0,50 mg	Σελήνιο: Se (protect)	0,38 mg
Βιταμίνη B6 (Πυριδοξίνη)	0,13 mg	ΚΑΘΑΡΗ ΕΝΕΡΓΕΙΑ	7,3 MJ/kg

Πίνακας 21 Χημική σύσταση βασικού μίγματος σιτηρεσίου

Συστατικό	Αναλογία	Συστατικό	Αναλογία
<i>Βασικά συστατικά (%)</i>		<i>Πρόσθετες ύλες/ kg (συνέχεια)</i>	
Ολικές αζωτούχες ουσίες	10,00	Νιασίνη (νικοτινικό οξύ)	12,50 mg
Ολικά λιπαρά	6,10	Παντοθενικό οξύ	1,63 mg
Ολικές ινώδεις ουσίες	5,40	Φολικό οξύ	0,13 mg
Υγρασία	12,00	Βιοτίνη	0,25 mg
Ολική τέφρα	8,00	Μαγνήσιο: Mg(II) oxide	150 mg
Ασβέστιο (Ca)	1,20	Ψευδάργυρος: Zn(II) oxide	50 mg
Φωσφόρος (P)	0,90	Ψευδάργυρος: Zn χηλικός	10 mg
Νάτριο (Na)	0,40	Μαγγάνιο: Mn(II) oxide	30 mg
<i>Πρόσθετες ύλες/ kg</i>		Μαγγάνιο: Mn χηλικό	3 mg
Βιταμίνη Α (ρετινόλη)	15,000 i.U.	Σίδηρος: Fe(II) sulphate	50 mg
Βιταμίνη D3 (χολοκαλσιφερόλη)	2,000 i.U.	Ιώδιο: K-iodide	1,25 mg
Βιταμίνη E (α-τοκοφερόλη)	25 mg	Κοβάλτιο: Co(II) carbonate	0,75 mg
Βιταμίνη B1 (Θειαμίνη)	0,63 mg	Σελήνιο: Na-Selenide	0,38 mg
Βιταμίνη B2 (Ριβοφλαβίνη)	0,50 mg	Σελήνιο: Se (protect)	0,38 mg
Βιταμίνη B6 (Πυριδοξίνη)	0,43 mg	ΚΑΘΑΡΗ ΕΝΕΡΓΕΙΑ	7 MJ/kg

7.3 Μετρήσεις

7.3.1. Προσδιορισμός γαλακτοπαραγωγής

Τα επίπεδα της γαλακτοπαραγωγής προσδιορίστηκαν με βάση τις γαλακτομετρήσεις που έγιναν 10, 5 και 1 ημέρα πριν την επέμβαση, καθώς και από τις δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν αμέσως μετά την επανέναρξη της άμελης τις ημέρες 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 15, 22 και 29 της πειραματικής διαδικασίας.

7.3.2. Προσδιορισμός χημικής σύστασης του γάλακτος

Οι δειγματοληψίες για τον προσδιορισμό της χημικής σύστασης του γάλακτος έλαβαν μέρος τη 10η ημέρα πριν την επέμβαση, καθώς και τις ημέρες 1, 8, 15, 22 και 29 της πειραματικής διαδικασίας. Τα ατομικά δείγματα γάλακτος προέρχονταν από την πρωινή άμελη και αμέσως μετά τη συλλογή τους μεταφέρονταν στο εργαστήριο της Γαλακτοκομίας του Γ.Π.Α., με σκοπό τον άμεσο προσδιορισμό της χημικής σύστασής τους, δηλαδή της συγκέντρωσης λίπους, πρωτεΐνης, λακτόζης, ολικών στερεών και στερεού υπολείμματος άνευ λίπους (ΣΥΑΛ). Πριν από τις αναλύσεις γινόταν διήθηση του γάλακτος μέσω φαρμακευτικής γάζας, ώστε να απομονωθούν τυχόν ξένα στερεά σωματίδια που

περιέχονταν σε αυτό και ένα μέρος του δείγματος διατηρούνταν στους -20°C για τον μετέπειτα προσδιορισμό της συγκέντρωσης του σε ανόργανα στοιχεία (Na, K) και της ενεργότητας της πλασμίνης και του πλασμινογόνου. Ο προσδιορισμός της χημικής σύστασης των δειγμάτων γινόταν με φασματοφωτόμετρο υπερύθρου (Milkoscan 133, Foss Electric, Denmark).

7.3.3. Προσδιορισμός ανόργανων στοιχείων (Na, K) του γάλακτος

Για τον προσδιορισμό των ανόργανων στοιχείων (Na, K) του γάλακτος χρησιμοποιήθηκαν τα δείγματα γάλακτος που συλλέχθηκαν τη 10η ημέρα πριν την επέμβαση, καθώς και την 1η, 2η και 5η ημέρα μετά την επανέναρξη της άμελξης. Από το δείγμα γάλακτος που διατηρήθηκε στους -20°C , 3 mL χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό τέφρας σε φούρνο αποτέφρωσης στους 550°C για 5,5 ώρες. Όλες οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν εις τριπλούν. Ακολούθησε ο προσδιορισμός των ανόργανων στοιχείων μέσω φασματομέτρου ατομικής απορρόφησης με φλόγα (AAS-6800 Atomic Absorption Spectrometer, SHIMADZU) με βάση την πρότυπη μέθοδο IDF Standard 119 (IDF, 2007). Πιο αναλυτικά, η τέφρα (0,025 g) από κάθε δείγμα ζυγίστηκε σε ποτήρι ζέσεως σε ζυγό ακριβείας. Στη συνέχεια η ποσότητα αυτή διαλυτοποιήθηκε με 1ml διαλύματος νιτρικού οξέος 25% (v/v) και μεταφέρθηκε σε ογκομετρικές φιάλες των 100ml. Οι ογκομετρικές φιάλες συμπληρώθηκαν με δισαπεσταγμένο νερό μέχρι τη χαραγή και έγινε καλή ανακίνηση, ώστε να μην υπάρχει αδιάλυτη τέφρα και το περιεχόμενο της ογκομετρικής φιάλης να είναι ομοιογενές. Το διάλυμα αυτό αποτέλεσε το μητρικό διάλυμα για κάθε δείγμα. Από αυτό συνεχίστηκαν οι αραιώσεις που έγιναν για κάθε ιόν. Στην τελική αραιώση, αυτή δηλαδή που χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση, προστέθηκαν με πιπέτα 10 ml διαλύματος τριχλωριούχου λανθανίου $[(\text{LaCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O})=27\text{g/l}]$, που αποτελεί το 10% του τελικού όγκου του διαλύματος μέτρησης, 2,5 ml μητρικού διαλύματος και η ογκομετρική φιάλη συμπληρώθηκε με δισαπεσταγμένο νερό μέχρι τη χαραγή και έγινε καλή ανακίνηση. Τα δείγματα και τα πρότυπα διαλύματα ατομοποιήθηκαν μέσω φλόγας αέρα-ασετιλίνης που φέρει το φασματοφωτόμετρο ατομικής απορρόφησης. Η απορρόφηση κάθε στοιχείου μετρήθηκε στο κατάλληλο μήκος κύματος.

Είναι πολύ σημαντικό τα σκεύη που χρησιμοποιούνται σε αυτή την ανάλυση να είναι καθαρά και απαλλαγμένα από άλατα που περιέχει το νερό του δικτύου. Αρχικά, λοιπόν, τα χρησιμοποιούμενα σκεύη (φιάλες, ποτήρια ζέσεως, υποδοχείς) πλένονται με απορρυπαντικό και ξεβγάζονται καλά με νερό. Στη συνέχεια πραγματοποιείται καλό ξέπλυμα με δισαπεσταγμένο νερό και μετά τα σκεύη βυθίζονται σε λουτρό με νιτρικό οξύ 0,1N και παραμένουν εκεί για 24h, ώστε να κατακρημνιστούν τα άλατα. Έπειτα απομακρύνεται το οξύ από τα σκεύη και ξεπλένονται πολύ καλά με δισαπεσταγμένο νερό. Ακολουθεί καλό στέγνωμα όλων των σκευών.

7.3.4. Προσδιορισμός ενεργότητας πλασμίνης-πλασμινογόνου

Τα δείγματα γάλακτος που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό της ενεργότητας πλασμίνης-πλασμινογόνου στο γάλα συλλέχθηκαν τη 10η ημέρα πριν την επέμβαση, καθώς και την 1η, 2η και 5η ημέρα από την επανέναρξη της άμελξης. Ο προσδιορισμός της ενεργότητας της πλασμίνης και του πλασμινογόνου στο γάλα έγινε με βάση τις μεθόδους που περιγράφηκαν από τους Politis *et al.* (1989a· 1989b). Συγκεκριμένα, 3 mL γάλακτος αναμίχθηκαν με 1 mL κιτρικού νατρίου συγκέντρωσης 0,4 M και ακολούθησε φυγοκέντρωση στα $50.000 \times g$ για 20 λεπτά στους 4°C . Στη συνέχεια συλλέχθηκε το υπερκείμενο υγρό και χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της πλασμίνης και του πλασμινογόνου. Οι μετρήσεις έγιναν σε 250 μL ρυθμιστικού διαλύματος Tris-

HCl συγκέντρωσης 0,1 M (PH 7,4), το οποίο περιείχε 0,6 mM βαλίνης-λευκίνης-λυσίνης-π-νιτροανιλίνης (Sigma Chemical Co., St Louis, MO) και 30 μ L του υπερκείμενου υγρού μετά τη φυγοκέντρηση. Ως ενεργότητα του πλασμινογόνου ορίζεται η ενεργότητα της πλασμίνης μετά την ενεργοποίηση του ανενεργού προενζύμου πλασμινογόνου με την προσθήκη εξωγενούς ΕΠ-Ο. Για τον προσδιορισμό λοιπόν της ενεργότητας του πλασμινογόνου στο μίγμα προστέθηκαν επιπλέον 30 μονάδες Plough (2,5 μ L) ΕΠ-Ο (Sigma).

Το μίγμα αντίδρασης επώαστηκε στους 37°C και η απορρόφηση του φωτός στα 405 nm καταγραφόταν ανά μία ώρα. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην υδρόλυση της βαλίνης-λευκίνης-λυσίνης-π-νιτροανιλίνης από την πλασμίνη, η οποία απελευθερώνει την π-νιτροανιλίνη. Το υπόστρωμα βαλίνης-λευκίνης-λυσίνης-π-νιτροανιλίνης στη μη διασπασθείσα μορφή δεν απορροφά το φως στα 405 nm. Αντιθέτως, η ελεύθερη π-νιτροανιλίνη απορροφά το φως και η απορρόφηση μπορεί να μετρηθεί στα 405 nm. Ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν δείγματα χωρίς υπερκείμενο υγρό για την ανίχνευση της αυτόματης διάσπασης του υποστρώματος. Σε όλες τις περιπτώσεις, η αυτόματη διάσπαση ήταν αμελητέα.

Οι ενεργότητες της πλασμίνης και του πλασμινογόνου υπολογίστηκαν από το γραμμικό τμήμα της καμπύλης της απορρόφησης σε σχέση με το χρόνο. Η μονάδα ενεργότητας της πλασμίνης και του πλασμινογόνου ορίζεται ως η ποσότητα του ενζύμου, η οποία προκαλεί την αλλαγή της απορρόφησης στα 405 nm κατά 0,1 μέσα σε 60 λεπτά.

7.4 Στατιστική ανάλυση

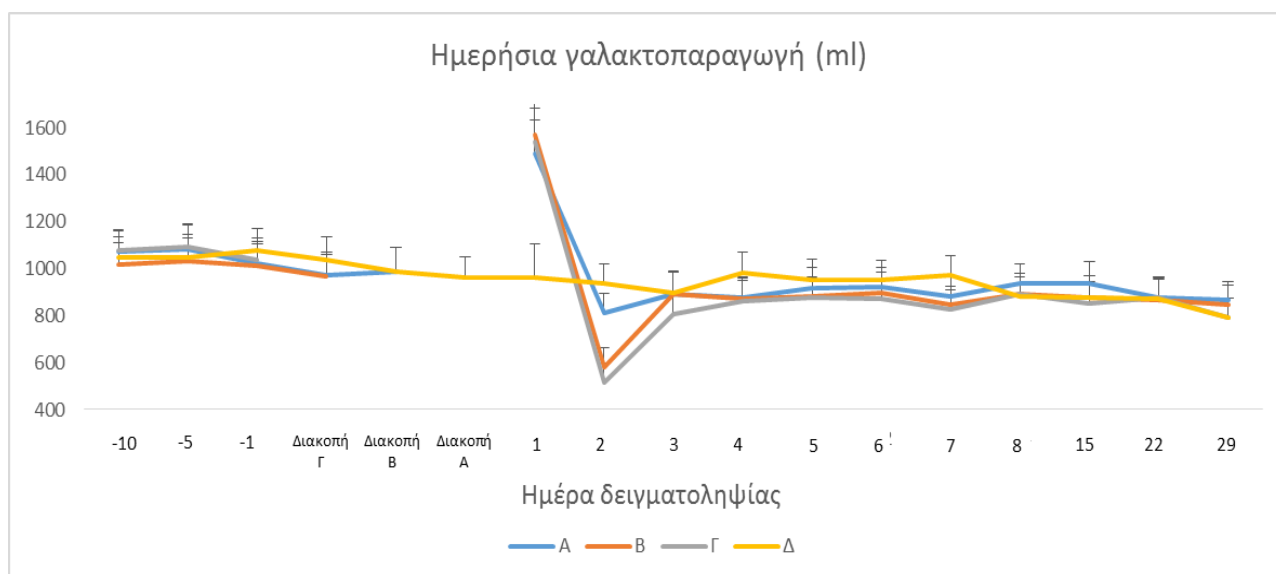
Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό πακέτο SPSS 22.0. Συγκεκριμένα, η ανάλυση έγινε με τη χρήση ενός μεικτού γραμμικού μοντέλου με 3 σταθερούς παράγοντες: τη φυλή, την πειραματική ομάδα (επέμβαση διακοπής άμελξης) και την ημέρα δειγματοληψίας. Στο μοντέλο αυτό λήφθηκαν υπόψη όλες οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των σταθερών παραγόντων. Η προβατίνα θεωρήθηκε τυχαίος παράγοντας εντός της επέμβασης. Πιθανές διαφορές μεταξύ των ομάδων εξετάστηκαν με τον έλεγχο Bonferroni.

8. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

8.1 Επίδραση του διαστήματος διακοπής της άμελξης στην παραγωγή και στη χημική σύσταση του γάλακτος γαλακτοπαραγωγών προβατινών

8.1.1. Γαλακτοπαραγωγή

Από το Διάγραμμα 21, όπου παρουσιάζεται η εξέλιξη της γαλακτοπαραγωγής προκύπτει ότι κατά τις γαλακτομετρήσεις πριν την επέμβαση (διακοπή της άμελξης), οι τιμές της ημερήσιας γαλακτοπαραγωγής ήταν παρόμοιες και στις 4 πειραματικές ομάδες και κυμαίνονταν κατά μέσο όρο στα 1000-1100 mL. Κατά την 1η ημέρα της επανέναρξης της άμελξης παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της γαλακτοπαραγωγής (περίπου στα 1500 mL) και στις 3 πειραματικές ομάδες (Α, Β, Γ) σε σχέση με τα επίπεδα της γαλακτοπαραγωγής τους πριν την επέμβαση και τον μάρτυρα (Δ). Συγκεκριμένα, καταγράφηκε αύξηση της ημερήσιας γαλακτοπαραγωγής της τάξεως του +50% για την ομάδα Α, +60% για την ομάδα Β και +50% για την ομάδα Γ. Τη 2η ημέρα από την επανέναρξη της άμελξης διαπιστώθηκε σημαντική μείωση της ημερήσιας γαλακτοπαραγωγής (περίπου 500 mL) στις ομάδες Β και Γ σε σχέση με τον μάρτυρα, ενώ η μείωση της γαλακτοπαραγωγής στην ομάδα Α ήταν στατιστικά μη σημαντική. Συγκεκριμένα, καταγράφηκε μείωση της ημερήσιας γαλακτοπαραγωγής της τάξεως του -50% για την ομάδα Γ και -45% για την ομάδα Β, ενώ η ημερήσια γαλακτοπαραγωγή της ομάδας Α ήταν μόνο κατά -18% μικρότερη. Τη 3η ημέρα από την επανέναρξη της άμελξης, η ημερήσια γαλακτοπαραγωγή επέστρεψε στα ίδια περίπου επίπεδα με αυτά πριν την επέμβαση (μέσο όρο 800 mL) και στις 3 πειραματικές ομάδες σε σχέση με τον μάρτυρα. Ακολούθησε σταδιακή μείωση της γαλακτοπαραγωγής και στις 4 πειραματικές ομάδες λόγω του ότι οι προβατίνες βρίσκονταν στο τέλος της γαλακτικής τους περιόδου, όπως έχει παρατηρηθεί και σε άλλες πειραματικές μελέτες (Ploumi *et al.*, 1998· Ζυγογιάννης, 2014).



Διάγραμμα 21 Αλληλεπίδραση μεταξύ «πειραματικής ομάδας» και «ημέρας δειγματοληψίας» στα επίπεδα της ημερήσιας γαλακτοπαραγωγής (ml)

-10, -15, -1: ημέρες γαλακτομέτρησης πριν την επέμβαση, Ομάδα Α: διακοπή άμελξης 1 ημέρα, Ομάδα Β: διακοπή άμελξης 2 ημέρες, Ομάδα Γ: διακοπή άμελξης 3 ημέρες, Ομάδα Δ: Μάρτυρας – χωρίς διακοπή, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 15, 22 και 29: ημέρες γαλακτομέτρησης μετά την επέμβαση

Η αύξηση της ημερήσιας γαλακτοπαραγωγής που παρατηρείται και στις 3 ομάδες (Α, Β, Γ) την ημέρα επανέναρξης της άμελξης είναι σημαντική ($P \leq 0,001$) και οφείλεται στη συσσώρευση του γάλακτος στον μαστικό αδένα λόγω της προηγηθείσας διακοπής της άμελξης. Στις αγελάδες έχει παρατηρηθεί, ότι στην πρώτη φάση αμέσως μετά τη διακοπή της άμελξης, ο μαστός γεμίζει πλήρως με γάλα, ενώ η έκκρισή του διακόπτεται εντός 24 - 36 ωρών από τη τελευταία άμελξη (Davis *et al.*, 1998).

Σε παρόμοια αποτελέσματα με αυτά του παρόντος πειράματος κατέληξαν και οι Dalley & Davis (2006), όπου μετά από διακοπή της άμελξης στις αγελάδες για 2, 4 και 7 ημέρες, τα επίπεδα γαλακτοπαραγωγής αυξήθηκαν και στις 3 ομάδες την ημέρα επανέναρξης της άμελξης, μετά από 24 ώρες μειώθηκαν, ενώ επανήλθαν πλήρως στα επίπεδα που είχαν πριν την επέμβαση σε 3, 4 και 6 ημέρες, αντίστοιχα. Επίσης, πλήρης ανάκτηση της γαλακτοπαραγωγής (80%) σε 24 ώρες από την επανέναρξη της άμελξης παρατηρήθηκε και στο πείραμα των Farr *et al.* (1998) όπου διεκόπη η άμελξη για 40 ώρες στις αγελάδες. Εντούτοις, στο πείραμα των Noble & Hurley (1999) όπου πραγματοποιήθηκε διακοπή της άμελξης 11 ημερών, η ανάκτηση της γαλακτοπαραγωγής των αγελάδων ήταν μερική στις τρεις ημέρες που ακολούθησαν την επανέναρξη της άμελξης. Παρομοίως, την 6η ημέρα από την επανέναρξη της άμελξης, η γαλακτοπαραγωγή ανακτήθηκε εν μέρει στις αγελάδες όπου διεκόπη η άμελξη για 14 (51%) και 28 (29%) ημέρες, ενώ ανακτήθηκε πλήρως σε αυτές όπου διεκόπη η άμελξη για 7 (91%) ημέρες (Singh *et al.*, 2012).

Συμπεραίνεται λοιπόν ότι οι απώλειες στη γαλακτοπαραγωγή αυξάνουν όσο αυξάνει το διάστημα της διακοπής της άμελξης (Singh *et al.*, 2012), γεγονός που ερμηνεύει τις μεγαλύτερες απώλειες που καταγράφηκαν τη 2η ημέρα από την επανέναρξη της άμελξης στις ομάδες Β και Γ σε σχέση με αυτές της ομάδας Α.

Σε ότι αφορά την επαναλειτουργία του μαστού πιθανολογείται ότι οφείλεται στην ανομοιογένεια που παρουσιάζουν οι κυψελίδες, όπου ένα μικρό ποσοστό τους βρίσκεται στο στάδιο της παλινδρόμησης και ένα άλλο διατηρεί τη δραστηριότητά του, παράγοντας ενεργά πρωτεΐνες του γάλακτος (Molenaar *et al.*, 1992). Βέβαια, απαιτούνται χρονικά διαστήματα άνω των 30 ωρών για να φτάσουν τα επίπεδα γαλακτοπαραγωγής σε αυτά που ήταν πριν τη διακοπή (Stelwagen *et al.*, 2008).

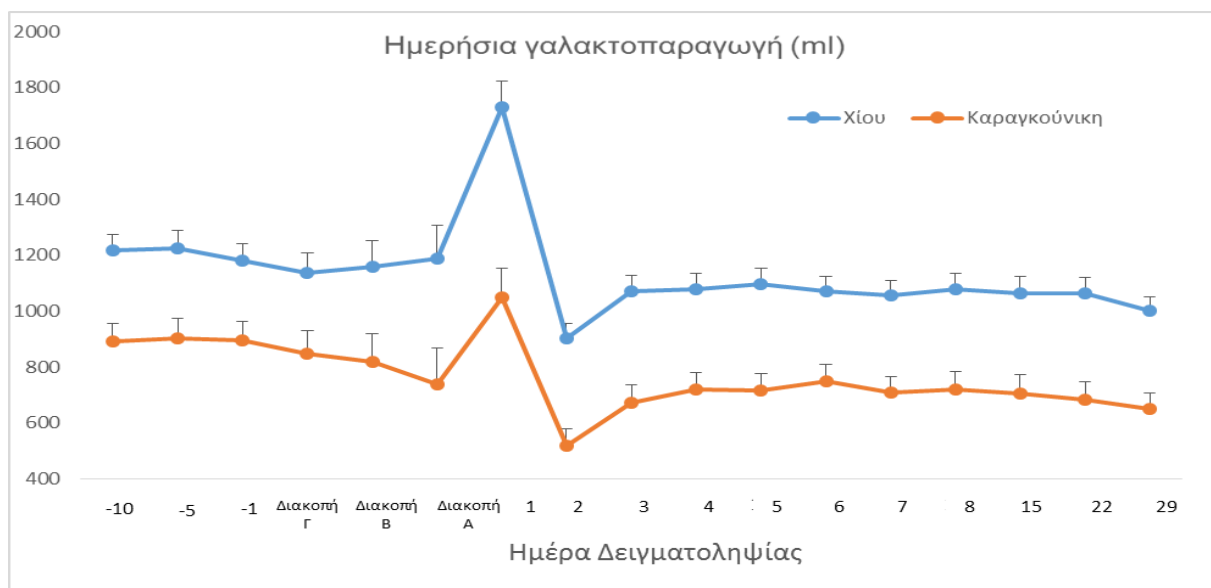
Επιπλέον, με βάση τις έρευνες των Davis *et al.* (1998), Schmidt (1960) και McMeekan & Brumby (1956) απαιτούνται 16 με 18 ώρες για να γεμίσουν πλήρως οι αδενοκυψελίδες του μαστού των αγελάδων με γάλα. Πράγματι, στο πείραμα των Stelwagen *et al.* (2008) όπου διεκόπη η άμελξη για 6, 12, 18, 24 και 30 ώρες, η αύξηση των επιπέδων της γαλακτοπαραγωγής στις αγελάδες ήταν γραμμική μέχρι την ομάδα που υπέστη 18 ώρες διακοπή της άμελξης, ενώ για τις ομάδες στις οποίες εφαρμόστηκε διακοπή της άμελξης για 24 και 30 ώρες η αύξησή της ήταν μικρότερη. Ακόμα, τα επίπεδα γαλακτοπαραγωγής μετά τη διακοπή της άμελξης μειώθηκαν σε όλες τις ομάδες με εξαίρεση την ομάδα όπου διεκόπη η άμελξη για 30 ώρες στην οποία παρατηρήθηκε αύξηση συγκριτικά με τα επίπεδα γαλακτοπαραγωγής πριν τη διακοπή, καθώς επίσης στην ομάδα όπου διεκόπη η άμελξη για 24 ώρες η απώλεια της γαλακτοπαραγωγής ήταν της τάξεως του -10%, όπως και στο πείραμα των Davis *et al.* (1999). Τα ευρήματα λοιπόν αυτά συμπίπτουν με αυτά του παρόντος πειράματος όπου

παρατηρήθηκε αύξηση της γαλακτοπαραγωγής σε όλες τις πειραματικές ομάδες κατά την επανέναρξη της άμελξης.

Ωστόσο, σε μελέτες σε αίγες από τους Ben Chedly *et al.* (2009) αναφέρεται ότι κατά την επανέναρξη της άμελξης παρατηρήθηκε μείωση της γαλακτοπαραγωγής της τάξεως του -47% σε ζώα όπου πραγματοποιήθηκε διακοπή της άμελξης για 36 ώρες σε σχέση με αυτά που αρμέγονταν ανά 12 ώρες. Επίσης, η μείωση της γαλακτοπαραγωγής μετά από 36ωρη διακοπή της άμελξης κυμάνθηκε από 17% έως 83% (Ben Chedly *et al.*, 2009) και αυτό το εύρος οφείλεται σε διαφοροποιήσεις του όγκου του μαστικού αδένου των αιγών, όπως διαπιστώθηκε και στις αγελάδες γαλακτοπαραγωγής (Stelwagen & Knight, 1997· Remond & Pomies, 2005· Marnet & Komara, 2008). Σε παρόμοια αποτελέσματα μείωσης της γαλακτοπαραγωγής κατέληξαν και οι Stelwagen *et al.* (1994b), όπου πραγματοποιήθηκε διακοπή της άμελξης για 36 ώρες στον έναν μαστικό αδένου των αιγών. Πιο αναλυτικά, η μείωση της γαλακτοπαραγωγής παρατηρήθηκε μετά από 19 ώρες διακοπής της άμελξης και αυτό το γεγονός συνέπεσε με τη χαλάρωση των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων του μαστού και τη μείωση της ροής του αίματος στο μαστό (MBF, *Mammary Blood Flow*) που παρατηρήθηκαν μετά από 21 ώρες.

Η μείωση της γαλακτοπαραγωγής που παρατηρείται κατά τη συσσώρευση του γάλακτος στον μαστό οφείλεται τόσο στην απόπτωση και στην μείωση του πολλαπλασιασμού των μαστικών κυττάρων (Ben Chedly *et al.*, 2009), όσο και στην παρουσία στο γάλα ενός βιοχημικού παράγοντα με κατασταλτική δράση, του παλίνδρομου αναστολέα της γαλακτοπαραγωγής (FIL, *Feed-back Inhibitor of Lactation*) (Wilde *et al.*, 1995) καθώς επίσης και συστατικών του γάλακτος που προκαλούν την απόπτωση στην εξωκυττάρια θεμέλια ουσία, όπως η α -LA (Riley *et al.*, 2008).

Σε ότι αφορά στη διακύμανση της ημερήσιας γαλακτοπαραγωγής σε σχέση με τη φυλή, από τη στατιστική ανάλυση προέκυψε μη σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ «φυλής» και «πειραματικής ομάδας» στις τιμές της ημερήσιας γαλακτοπαραγωγής ($P>0,05$) που σημαίνει ότι οι δύο φυλές αντέδρασαν με τον ίδιο τρόπο στην επέμβαση. Αντίθετα, η αλληλεπίδραση μεταξύ «φυλής» και «ημέρας δειγματοληψίας» στις τιμές της ημερήσιας γαλακτοπαραγωγής προέκυψε στατιστικά σημαντική ($P\leq 0,001$).



Διάγραμμα 22 Αλληλεπίδραση μεταξύ «φυλής» και «ημέρας δειγματοληψίας» στις τιμές της ημερήσιας γαλακτοπαραγωγής (ml)

-10, -15, -1: ημέρες γαλακτομέτρησης πριν την επέμβαση, Διακοπή Α: διακοπή άμελης 1 ημέρα· Διακοπή Β: διακοπή άμελης 2 ημέρες· Διακοπή Γ: διακοπή άμελης 3 ημέρες και 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 15, 22 και 29: ημέρες γαλακτομέτρησης μετά την επέμβαση

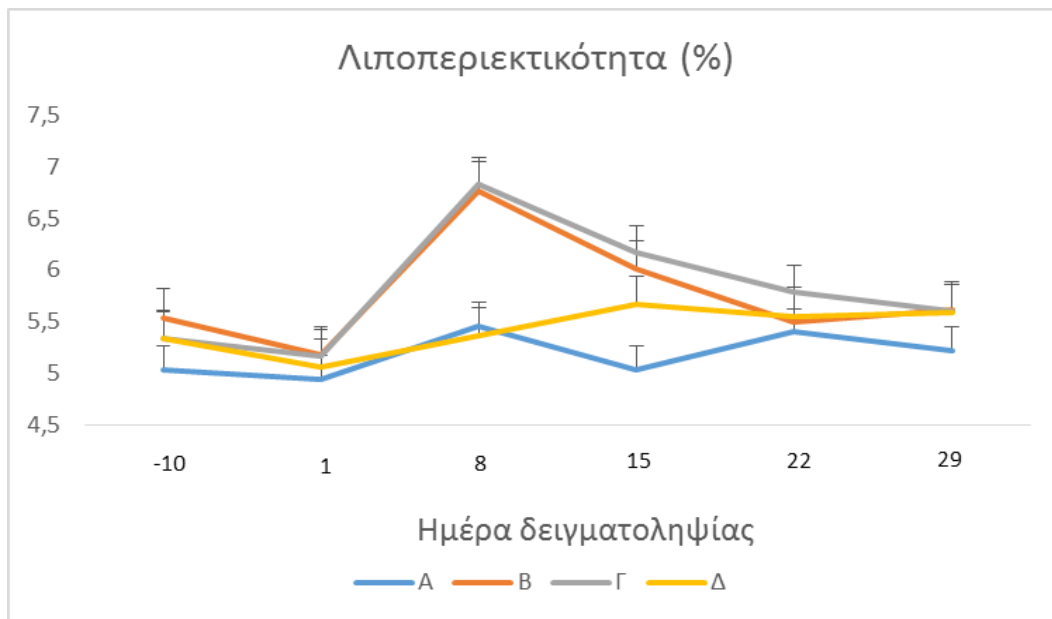
Στο Διάγραμμα 22 παρατηρείται ότι πριν την επέμβαση η ημερήσια γαλακτοπαραγωγή των προβατινών της φυλής Χίου ήταν 1200 mL κατά μέσο όρο, ενώ για τις προβατίνες της Καραγκούνικης φυλής ήταν 900 mL κατά μέσο όρο. Με την επανέναρξη της άμελης η ημερήσια γαλακτοπαραγωγή αυξήθηκε σημαντικά και στις δύο φυλές (+45% για τη φυλή Χίου, +42% για την Καραγκούνικη φυλή) με μεγαλύτερη αύξηση στις προβατίνες της φυλής Χίου (1730 ± 94 mL) σε σχέση με αυτή των προβατινών της Καραγκούνικης φυλής (1050 ± 105 mL). Τη 2η ημέρα από την επανέναρξη της άμελης η ημερήσια γαλακτοπαραγωγή μειώθηκε σημαντικά και στις δύο φυλές (-48% για τη φυλή Χίου, -50% για την Καραγκούνικη φυλή) με μεγαλύτερη μείωση στις προβατίνες της φυλής Χίου (903 ± 53 mL) σε σχέση με αυτή των προβατινών της Καραγκούνικης φυλής (519 ± 59 mL). Από την 3η ημέρα και μετά, η γαλακτοπαραγωγή επέστρεψε στα ίδια περίπου επίπεδα και στις δύο φυλές σε σχέση με αυτά πριν την επέμβαση. Επίσης, επισημαίνεται ότι το διάγραμμα της γαλακτοπαραγωγής έχει την ίδια μορφή και στις δύο φυλές.

Η γαλακτοπαραγωγική ικανότητα των προβάτων της φυλής Χίου είναι υψηλότερη σε σχέση με τις περισσότερες ελληνικές φυλές προβάτων (~350 kg) και ειδικότερα με εκείνες που ανήκουν σε αυτές του ορεινού τύπου (Ploumi *et al.*, 1998; Ζυγογιάννης, 2014). Από την άλλη, οι αποδόσεις σε γάλα της Καραγκούνικης φυλής εμφανίζουν μεγάλη παραλλακτικότητα με μέση ποσότητα αμελγόμενου γάλακτος (~170 ημέρες) τα 190 kg (Ζυγογιάννης, 2014).

8.1.2. Χημική Σύσταση

8.1.2.1. Λίπος

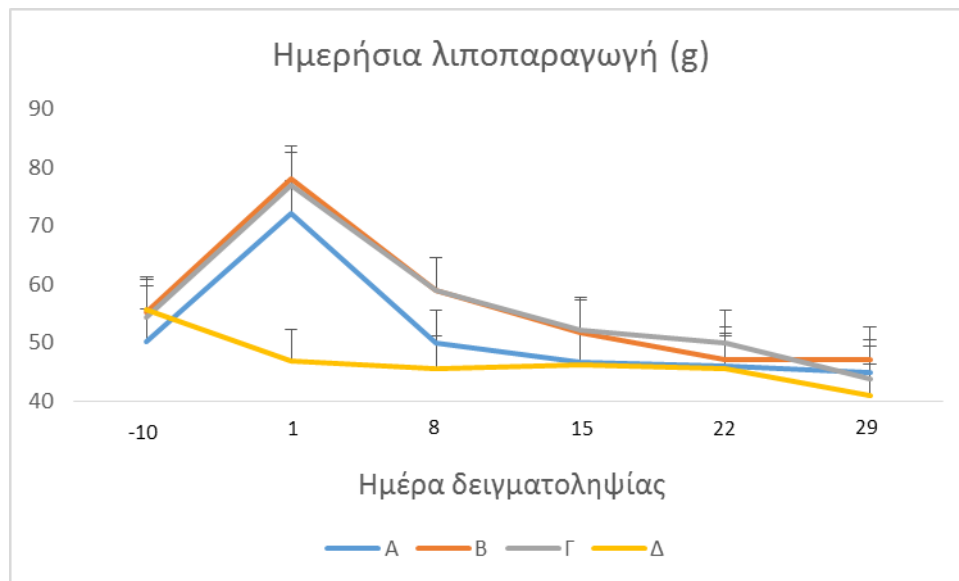
Οι μέσες τιμές της λιποπεριεκτικότητας (%) στο γάλα πριν από την επέμβαση, δεν διαφοροποιούνταν σημαντικά μεταξύ των πειραματικών ομάδων ($5,037 \pm 0,229$, $5,539 \pm 0,278$, $5,334 \pm 0,258$ και $5,335 \pm 0,271$ για την πειραματική ομάδα Α, Β, Γ και Δ, αντίστοιχα) (Διάγραμμα 23). Με την επανέναρξη της άμελης παρατηρήθηκε μη σημαντική μείωση της λιποπεριεκτικότητας και στις 4 ομάδες της τάξεως του -1,8% για την ομάδα Α ($4,944 \pm 0,229$), -6,5% για την ομάδα Β ($5,178 \pm 0,278$), -3,4% για την ομάδα Γ ($5,162 \pm 0,258$) και -5% για την ομάδα Δ ($5,335 \pm 0,271$). Η διαφοροποίηση στις τιμές της λιποπεριεκτικότητας πραγματοποιήθηκε μία εβδομάδα μετά την επανέναρξη της άμελης με σημαντική αύξηση της λιποπεριεκτικότητας της τάξεως του +30% στις ομάδες Β ($6,768 \pm 0,278$) και Γ ($6,830 \pm 0,258$), ενώ στις ομάδες Α ($5,464 \pm 0,229$) και Δ ($5,366 \pm 0,271$) η λιποπεριεκτικότητα παρέμεινε στα ίδια επίπεδα. Ακολούθησε σταδιακή μείωση της λιποπεριεκτικότητας στις πειραματικές ομάδες Β και Γ σε σχέση με τον μάρτυρα και επιστροφή σε παρόμοια επίπεδα με αυτά πριν την επέμβαση την 3η εβδομάδα μετά την επανέναρξη της άμελης.



Διάγραμμα 23 Αλληλεπίδραση μεταξύ «πειραματικής ομάδας» και «ημέρας δειγματοληψίας» στα επίπεδα της λιποπεριεκτικότητας (%)

-10, 1, 8, 15, 22 και 29: 10 ημέρες πριν και 1, 8, 15, 22 και 29 ημέρες μετά την επέμβαση, **Ομάδα Α:** διακοπή άμελης 1 ημέρα, **Ομάδα Β:** διακοπή άμελης 2 ημέρες, **Ομάδα Γ:** διακοπή άμελης 3 ημέρες, **Ομάδα Δ:** Μάρτυρας – χωρίς διακοπή

Στο Διάγραμμα 24 παρουσιάζεται η σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ «πειραματικής ομάδας» και «ημέρα δειγματοληψίας» στις τιμές της ημερήσιας λιποπαραγωγής (g). Συγκεκριμένα, πριν από την επέμβαση οι τιμές της ημερήσιας λιποπαραγωγής ήταν στα ίδια περίπου επίπεδα και στις 4 ομάδες (Α: $50,141 \pm 5,559$ · Β: $55,128 \pm 5,559$ · Γ: $54,231 \pm 5,559$ · Δ: $55,587 \pm 5,559$). Με την επανέναρξη της άμελης παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της ημερήσιας λιποπαραγωγής των ομάδων Α ($72,200 \pm 5,559$), Β ($78,143 \pm 5,559$) και Γ ($77,012 \pm 5,559$) της τάξεως του +44%, +42% και +42%, αντίστοιχα, σε σχέση με αυτή της ομάδας Δ ($46,727 \pm 5,559$). Τις εβδομάδες που ακολούθησαν την επανέναρξη της άμελης, η λιποπαραγωγή μειώθηκε στις ομάδες Α, Β και Γ (1η εβδομάδα: Α: $49,876 \pm 5,559$ · Β: $58,997 \pm 5,559$ · Γ: $59,024 \pm 5,559$ · 2η εβδομάδα: Α: $46,679 \pm 5,559$ · Β: $51,625 \pm 5,559$ · Γ: $52,097 \pm 5,559$ · 3η εβδομάδα: Α: $45,905 \pm 5,559$ · Β: $47,047 \pm 5,559$ · Γ: $50,010 \pm 5,559$ · 4η εβδομάδα: Α: $44,964 \pm 5,559$ · Β: $46,996 \pm 5,559$ · Γ: $43,772 \pm 5,559$), ενώ παρέμεινε σταθερή στην ομάδα Δ μέχρι την 3η εβδομάδα και μετά μειώθηκε (1η εβδομάδα: Δ: $45,569 \pm 5,559$ · 2η εβδομάδα: Δ: $46,152 \pm 5,559$ · 3η εβδομάδα: Δ: $45,536 \pm 5,559$ · 4η εβδομάδα: $40,792 \pm 5,559$).



Διάγραμμα 24 Αλληλεπίδραση μεταξύ «πειραματικής ομάδας» και «ημέρας δειγματοληψίας» στα επίπεδα της ημερήσιας λιποπαραγωγής (g).

-10, 1, 8, 15, 22 και 29: 10 ημέρες πριν και 1, 8, 15, 22 και 29 ημέρες μετά την επέμβαση, **Ομάδα Α:** διακοπή άμελης 1 ημέρα, **Ομάδα Β:** διακοπή άμελης 2 ημέρες, **Ομάδα Γ:** διακοπή άμελης 3 ημέρες, **Ομάδα Δ:** Μάρτυρας – χωρίς διακοπή

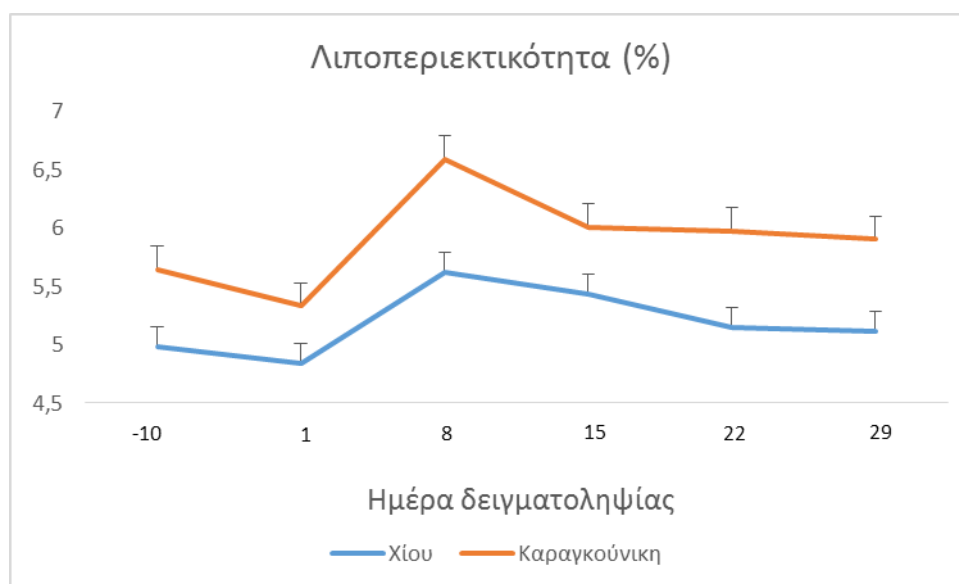
Οι Singh *et al.* (2012) και Stelwagen *et al.* (2008) αναζητώντας τις επιδράσεις στη σύσταση του γάλακτος των αγελάδων μετά από διακοπή της άμελης 7, 14 και 28 ημερών (Singh *et al.*, 2012) και 6, 12, 18, 24 και 30 ωρών (Stelwagen *et al.*, 2008), κατέληξαν ότι η διακοπή της άμελης δεν επηρέασε τα ποσοστά του λίπους, με εξαίρεση την ομάδα όπου διεκόπη η άμελη για 28 ημέρες (Singh *et al.*, 2012), ενώ αυξήθηκαν στην ομάδα όπου έγινε διακοπή της άμελης για 6 ώρες (Stelwagen *et al.*, 2008). Συγκεκριμένα, η μείωση των ποσοστών λίπους στην ομάδα όπου διεκόπη η άμελη για 28 ημέρες οφείλεται στη μειωμένη δράση των ενζύμων που συμμετέχουν στη σύνθεση του λίπους στο μαστό κατά τη διάρκεια της παλινδρόμησης (Hurley, 1989· Singh *et al.*, 2012), ενώ η αύξησή τους στην ομάδα όπου έγινε διακοπή της άμελης για 6 ώρες οφείλεται στο γεγονός ότι η επανάληψη της άμελης σε σύντομο χρονικό διάστημα είχε ως αποτέλεσμα την παρουσία στον μαστό μη επαρκούς ποσότητας γάλακτος για την αραίωση του υψηλού ποσοστού λίπους, καθώς επίσης το υψηλό ποσοστό λίπους πιθανόν να αραίωσε το περιεχόμενο του γάλακτος σε πρωτεΐνη και λακτόζη (Stelwagen *et al.*, 2008). Παρόμοια ευρήματα με αυτά των Stelwagen *et al.* (2008) έχουν αναφερθεί από τους Schmidt (1960) και Stelwagen *et al.* (1996).

Από την άλλη πλευρά, οι Ben Chedly *et al.* (2009) παρατήρησαν στο γάλα αιγών της φυλής *Alpine* σημαντική μείωση των ποσοστών λίπους ($P < 0,01$) της τάξεως του -76% όταν η άμελη διεκόπη για 36 ώρες συγκριτικά με τον μαστό που αμελγόταν ανά 12 ώρες.

Δεν υπάρχουν βιβλιογραφικά δεδομένα που να ερμηνεύουν τη σημαντική αύξηση της λιποπεριεκτικότητας (%) που παρατηρήθηκε μία εβδομάδα μετά την επανέναρξη της άμελης στις ομάδες Β και Γ. Ωστόσο, σε πειράματα στις αγελάδες και στις αίγες όπου πραγματοποιήθηκε μείωση του αριθμού των αμέλεων από δύο σε μία διαπιστώθηκε αύξηση των ποσοστών λίπους στο γάλα, η οποία πιθανολογείται πως οφείλεται σε διάφορους μηχανισμούς ρύθμισης της έκκρισης του λίπους που σχετίζονται με την υδατική φάση του γάλακτος (Davis *et al.*, 1999· Salama *et al.*, 2003· Hervas

et al., 2006· Rémond & Pomès, 2007). Αντίθετα, στα πειράματα των Komara *et al.* (2009) και Koutsouli *et al.* (2017) η μείωση του αριθμού αμέλξεων από δύο σε μία στις αίγες και στα πρόβατα, αντίστοιχα, δεν επέφερε καμία μεταβολή στα ποσοστά του λίπους του γάλακτος.

Σε ότι αφορά στη διακύμανση της λιποπεριεκτικότητας σε σχέση με τη φυλή, από τη στατιστική ανάλυση προέκυψε μη σημαντική ($P>0,05$) η αλληλεπίδραση μεταξύ «φυλής» και «ημέρας δειγματοληψίας» και μεταξύ «φυλής» και «πειραματικής ομάδας» κατά συνέπεια η λιποπεριεκτικότητα παρέμεινε σταθερή μεταξύ των ομάδων.



Διάγραμμα 25 Αλληλεπίδραση μεταξύ «φυλής» και «ημέρας δειγματοληψίας» στα επίπεδα της λιποπεριεκτικότητας (%)

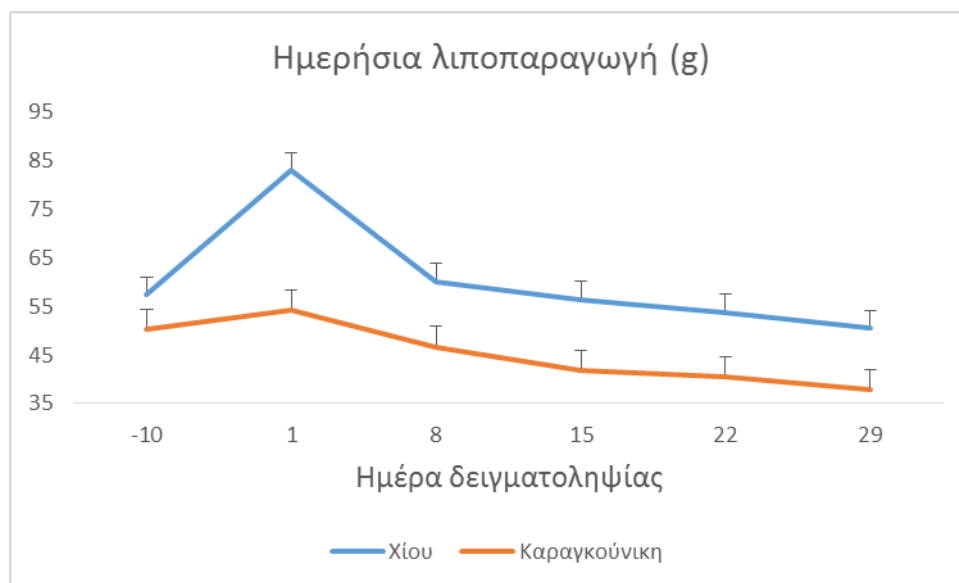
-10, 1, 8, 15, 22 και 29: 10 ημέρες πριν και 1, 8, 15, 22 και 29 ημέρες μετά την επέμβαση

Στο Διάγραμμα 25 παρατηρείται ότι οι προβατίνες της Καραγκούνικης φυλής παρουσίασαν υψηλότερα επίπεδα λιποπεριεκτικότητας στο γάλα, όπως επίσης αντέδρασαν πιο έντονα την 1η εβδομάδα μετά την επανέναρξη της άμελξης καταγράφοντας μεγαλύτερη αύξηση της λιποπεριεκτικότητας (+23,5%) σε σχέση με αυτή των προβατινών της φυλής Χίου (+16%). Πιο αναλυτικά, οι μέσες τιμές της λιποπεριεκτικότητας (%) πριν από την επέμβαση και κατά την επανέναρξη της άμελξης ήταν αντίστοιχα 5,646±0,196 και 5,331±0,196 στις προβατίνες της Καραγκούνικης φυλής και 4,982±0,170 και 4,844±0,170 σε αυτές της φυλής Χίου, ενώ μετά από μία εβδομάδα η λιποπεριεκτικότητα αυξήθηκε σημαντικά φτάνοντας τις τιμές 6,592±0,196 στην Καραγκούνικη φυλή και 5,622±0,170 στη Χιώτικη φυλή. Επίσης, διαπιστώνεται ότι το διάγραμμα της λιποπεριεκτικότητας ακολουθεί την ίδια μορφή και στις δύο φυλές.

Από τη στατιστική ανάλυση προκύπτει ότι η αλληλεπίδραση μεταξύ «φυλής» και «πειραματικής ομάδας» στις τιμές της ημερήσιας λιποπαραγωγής είναι μη σημαντική ($P>0,05$), ενώ η αλληλεπίδραση μεταξύ «φυλής» και «ημέρας δειγματοληψίας» στις τιμές της ημερήσιας λιποπαραγωγής είναι σημαντική ($P\leq 0,001$).

Όπως προκύπτει από το Διάγραμμα 26, η ημερήσια λιποπαραγωγή (g) πριν από την επέμβαση ήταν υψηλότερη στις προβατίνες της φυλής Χίου, η οποία επίσης και αντέδρασε πιο έντονα κατά την

επανεναρξη της άμελης καταγράφοντας μεγαλύτερη αύξηση της ημερήσιας λιποπαραγωγής (+45%) σε σχέση με αυτή των προβατινών της Καραγκούνικης φυλής (+8%). Πιο αναλυτικά, οι μέσες τιμές της ημερήσιας λιποπαραγωγής πριν από την επέμβαση και κατά την επανεναρξη της άμελης ήταν αντίστοιχα $57,262 \pm 3,706$ και $82,878 \pm 3,706$ στις προβατίνες της φυλής Χίου και $50,282 \pm 4,144$ και $54,163 \pm 4,144$ σε αυτές της Καραγκούνικης φυλής, ενώ στις εβδομάδες που ακολούθησαν σταδιακά μειώθηκαν και στις δύο φυλές (1η εβδομάδα: X: $60,044 \pm 3,706$ · K: $46,688 \pm 4,144$ · 2η εβδομάδα: X: $56,465 \pm 3,706$ · K: $41,812 \pm 4,144$ · 3η εβδομάδα: X: $53,707 \pm 3,706$ · K: $40,542 \pm 4,144$ · 4η εβδομάδα: X: $50,454 \pm 3,706$ · K: $37,808 \pm 4,144$). Επίσης, διαπιστώνεται ότι το διάγραμμα της ημερήσιας λιποπαραγωγής ακολουθεί την ίδια μορφή και στις δύο φυλές.



Διάγραμμα 26 Αλληλεπίδραση μεταξύ «φυλής» και «ημέρας δειγματοληψίας» στα επίπεδα της ημερήσιας λιποπαραγωγής (g)

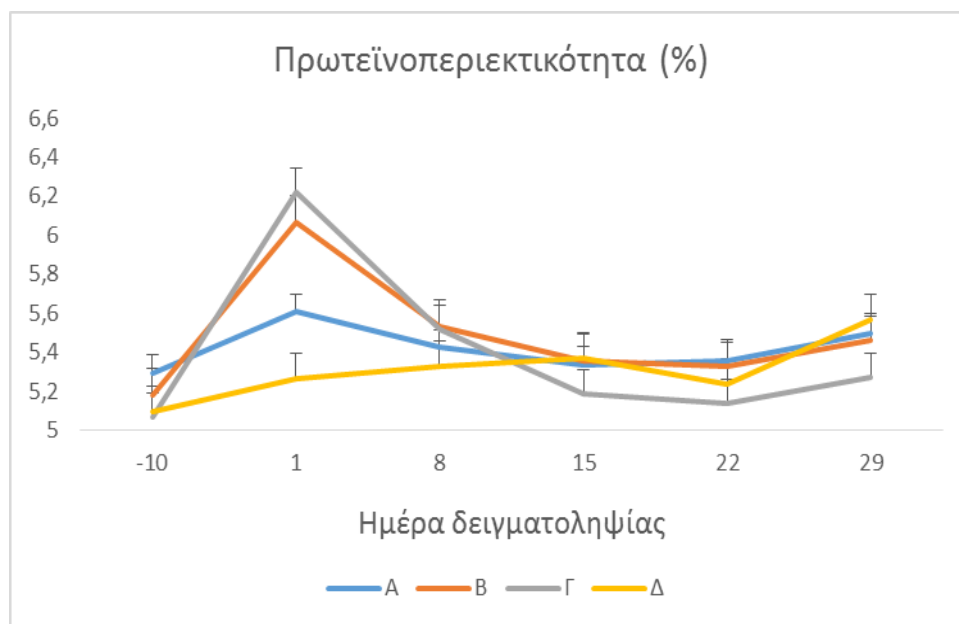
-10, 1, 8, 15, 22 και 29: 10 ημέρες πριν και 1, 8, 15, 22 και 29 ημέρες μετά την επέμβαση

Με βάση τα βιβλιογραφικά δεδομένα, η μέση λιποπεριεκτικότητα του γάλακτος των προβατινών της Καραγκούνικης φυλής είναι πιο υψηλή από αυτή των προβατινών της φυλής Χίου και κυμαίνεται γύρω στο 7,0% και 5,0-5,5%, αντίστοιχα (Ζυγογιάννης, 2014). Επιπλέον, με την πρόοδο της γαλακτικής περιόδου παρατηρείται αύξηση των επιπέδων λίπους και στις δύο φυλές (Ploumi *et al.*, 1998· Aganga *et al.*, 2002· Ζυγογιάννης, 2014).

8.1.2.2. Πρωτεΐνη

Η πρωτεΐνοπεριεκτικότητα (%) στο γάλα πριν από την επέμβαση βρισκόταν στα ίδια περίπου επίπεδα και στις 4 ομάδες (A: $5,294 \pm 0,093$ · B: $5,181 \pm 0,137$ · Γ: $5,066 \pm 0,123$ · Δ: $5,094 \pm 0,131$) (Διάγραμμα 27). Κατά την επανεναρξη της άμελης παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της πρωτεΐνοπεριεκτικότητας στις ομάδες B και Γ της τάξεως του +17% ($6,065 \pm 0,137$) και +23% ($6,222 \pm 0,123$), αντίστοιχα, ενώ στην ομάδα A και Δ (Μάρτυρας) η αύξηση ήταν μη σημαντική της τάξεως του +6% ($5,606 \pm 0,093$) και +3,3% ($5,262 \pm 0,131$), αντίστοιχα. Μετά ακολούθησε σταδιακή μείωση της πρωτεΐνοπεριεκτικότητας και στις 3 ομάδες, φθάνοντας στα επίπεδα του μάρτυρα (1η εβδομάδα: A: $5,422 \pm 0,093$ · B: $5,532 \pm 0,137$ · Γ: $5,514 \pm 0,123$ · Δ: $5,327 \pm 0,131$ · 2η εβδομάδα: A: $5,335 \pm 0,093$ · B: $5,357 \pm 0,137$ · Γ: $5,184 \pm 0,123$ · Δ: $5,370 \pm 0,131$ · 3η εβδομάδα: A: $5,355 \pm 0,093$ · B:

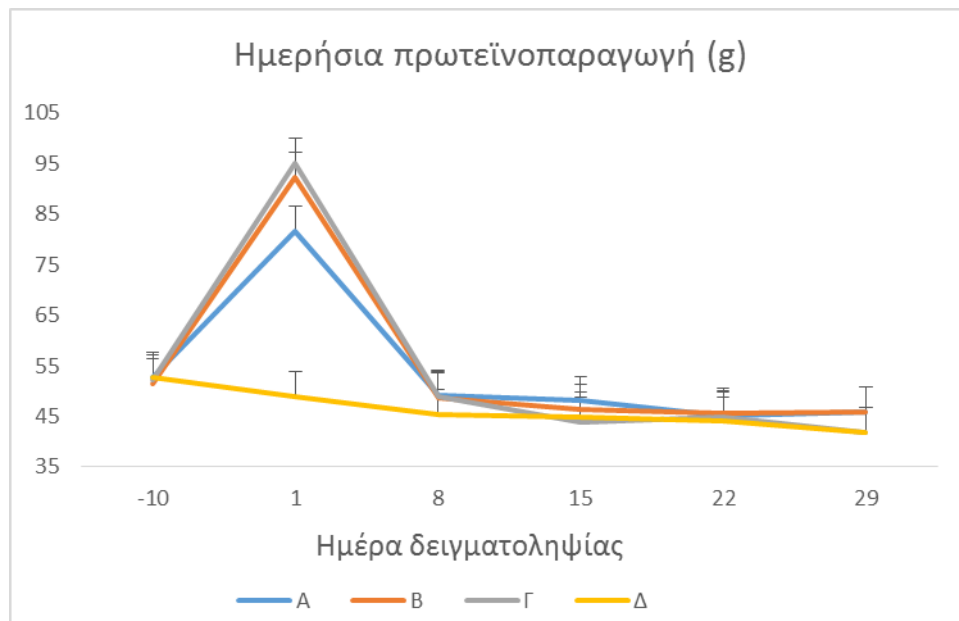
5,330±0,137· Γ: 5,138±0,123· Δ: 5,237±0,131), ενώ την 4η εβδομάδα από την επανέναρξη της άμελξης η πρωτεΐνοπεριεκτικότητα αυξήθηκε, αλλά μη σημαντικά και στις 4 ομάδες (A: 5,494±0,093· B: 5,459±0,137· Γ: 5,273±0,123· Δ: 5,563±0,131).



Διάγραμμα 27 Αλληλεπίδραση μεταξύ «πειραματικής ομάδας» και «ημέρας δειγματοληψίας» στα επίπεδα της πρωτεΐνοπεριεκτικότητας (%)

-10, 1, 8, 15, 22 και 29: 10 ημέρες πριν και 1, 8, 15, 22 και 29 ημέρες μετά την επέμβαση, Ομάδα Α: διακοπή άμελξης 1 ημέρα, Ομάδα Β: διακοπή άμελξης 2 ημέρες, Ομάδα Γ: διακοπή άμελξης 3 ημέρες, Ομάδα Δ: Μάρτυρας – χωρίς διακοπή

Η ημερήσια πρωτεΐνοπαραγωγή (g) πριν από την επέμβαση ήταν περίπου στα ίδια επίπεδα και στις 4 ομάδες (A: 52,675±4,919· B: 51,470±4,919· Γ: 52,113±4,919· Δ: 52,818±4,919) (Διάγραμμα 28). Με την επανέναρξη της άμελξης παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση ($P \leq 0,001$) της ημερήσιας πρωτεΐνοπαραγωγής στις ομάδες Α (A: 81,719±4,919), Β (B: 92,288±4,919) και Γ (Γ: 95,096±4,919) της τάξεως του +55%, +79% και +82,5%, αντίστοιχα, ενώ στην ομάδα του μάρτυρα οι τιμές της παρέμειναν σταθερές (Δ: 48,811±4,919). Στις εβδομάδες που ακολούθησαν την επανέναρξη της άμελξης η ημερήσια πρωτεΐνοπαραγωγή σταδιακά μειώθηκε και στις 4 ομάδες (1η εβδομάδα: A: 49,123±4,919· B: 48,742±4,919· Γ: 49,015±4,919· Δ: 45,326±4,919· 2η εβδομάδα: A: 48,041±4,919· B: 46,479±4,919· Γ: 43,966±4,919· Δ: 44,932±4,919· 3η εβδομάδα: A: 45,194±4,919· B: 45,659±4,919· Γ: 44,965±4,919· Δ: 43,985±4,919· 4η εβδομάδα: A: 45,950±4,919· B: 45,800±4,919· Γ: 41,769±4,919· Δ: 41,902±4,919).



Διάγραμμα 28 Αλληλεπίδραση μεταξύ «πειραματικής ομάδας» και «ημέρας δειγματοληψίας» στα επίπεδα της ημερήσιας πρωτεϊνοπαραγωγής (g)

-10, 1, 8, 15, 22 και 29: 10 ημέρες πριν και 1, 8, 15, 22 και 29 ημέρες μετά την επέμβαση, **Ομάδα Α:** διακοπή άμελης 1 ημέρα, **Ομάδα Β:** διακοπή άμελης 2 ημέρες, **Ομάδα Γ:** διακοπή άμελης 3 ημέρες, **Ομάδα Δ:** Μάρτυρας – χωρίς διακοπή

Η αύξηση της πρωτεϊνοπεριεκτικότητας που παρατηρήθηκε κατά την επανέναρξη της άμελης στις ομάδες Β και Γ έχει παρατηρηθεί και από τους Singh *et al.* (2012), οι οποίοι αναφέρουν ότι η ομάδα στην οποία διεκόπη η άμελη για 7 ημέρες παρουσίασε χαμηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης της πρωτεΐνης συγκριτικά με αυτά των ομάδων όπου διεκόπη η άμελη για 14 και 28 ημέρες. Η αύξηση αυτή των πρωτεϊνών στο γάλα οφείλεται στην αυξημένη εισροή των πρωτεϊνών από τον ορό του αίματος εξαιτίας της χαλάρωσης των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων κατά τη διάρκεια της παλινδρόμησης του μαστού, καθώς επίσης και στην εκ νέου σύνθεση της λακτοφερίνης (Hurley, 1989· Stelwagen *et al.*, 1997). Πράγματι, μια σχετική έρευνα έχει δείξει ότι μετά από 18, 24 και 30 ώρες διακοπής της άμελης η συγκέντρωση της αλβουμίνης του ορού στο γάλα αυξάνεται, ενώ η αύξησή της μετά από διακοπή της άμελης 6 ωρών πιθανολογείται ότι οφείλεται στην προσκόλληση της πρωτεΐνης στο λίπος του γάλακτος που βρισκόταν σε υψηλά επίπεδα (Stelwagen *et al.*, 2008).

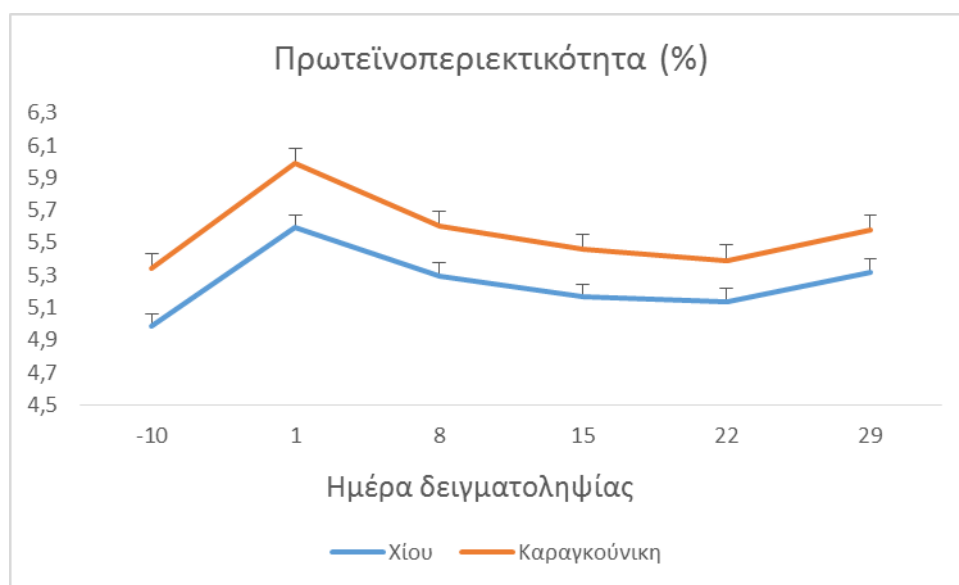
Ωστόσο, τα ποσοστά της πρωτεΐνης στο αγελαδινό γάλα δεν επηρεάστηκαν μετά από διακοπή της άμελης για 18, 24 και 30 ώρες, ενώ μετά από διακοπή της άμελης για 6 ώρες παρατηρήθηκε μείωση του ποσοστού των πρωτεϊνών στο γάλα πιθανόν ως συνέπεια της αραίωσης του περιεχομένου του σε πρωτεΐνη και λακτόζη λόγω των υψηλών ποσοστών λίπους που καταγράφηκαν σε αυτό (Stelwagen *et al.*, 2008).

Επιπλέον, οι Ben Chedly *et al.* (2009) αναφέρουν ότι τα ποσοστά της πρωτεΐνης στο αίγαιο γάλα μειώθηκαν κατά 45% στο μαστό που αρμέχθηκε μετά από 36 ώρες εν συγκρίσει με αυτόν που αμελγόταν ανά 12 ώρες. Επίσης, έρευνες στις αίγες από τους Fleet & Peaker (1978) έδειξαν ότι η αύξηση της συγκέντρωσης των πρωτεϊνών, όπως και οι υπόλοιπες μεταβολές στη σύσταση του γάλακτος, εμφανίστηκαν αργότερα σε διάστημα 3-4 ημερών από τη διακοπή της άμελης, ενώ η

μείωση του ρυθμού έκκρισης του γάλακτος παρουσιάστηκε πιο νωρίς, κατά τη 2η-3η ημέρα από τη διακοπή της άμελξης.

Η μείωση του ποσοστού των πρωτεϊνών που παρατηρείται στο γάλα εν μέρει αποδίδεται στη μετακίνηση των πρωτεϊνών του ορού στο αίμα λόγω της χαλάρωσης των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων. Εντούτοις, η χαλάρωση των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων επιτρέπει και τη μετακίνηση των πρωτεϊνών από το αίμα στο γάλα, γεγονός που δεν ερμηνεύει τη συνολική μείωση των πρωτεϊνών στο γάλα (Ben Chedly *et al.*, 2009). Με βάση το πείραμα των Ben Chedly *et al.* (2009) η συσσώρευση του γάλακτος στον μαστό επιδρά στη σύνθεση των πρωτεϊνών, μειώνοντας τη μεταγραφή των καζεϊνών, συγκεκριμένα της κ-καζεΐνης, λόγω της μείωσης των επιπέδων του mRNA. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν για τις καζεΐνες $\alpha 1$ -, β - και κ - μετά από 36ωρη διακοπή της άμελξης σε αγελάδες (Singh *et al.*, 2008).

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ «φυλής» και «ημέρας δειγματοληψίας» και «φυλής» και «πειραματικής ομάδας» στις τιμές της πρωτεϊνοπεριεκτικότητας (%) είναι στατιστικά μη σημαντικές ($P > 0,05$) που σημαίνει ότι δεν υπάρχουν διαφοροποιήσεις μεταξύ των ομάδων.



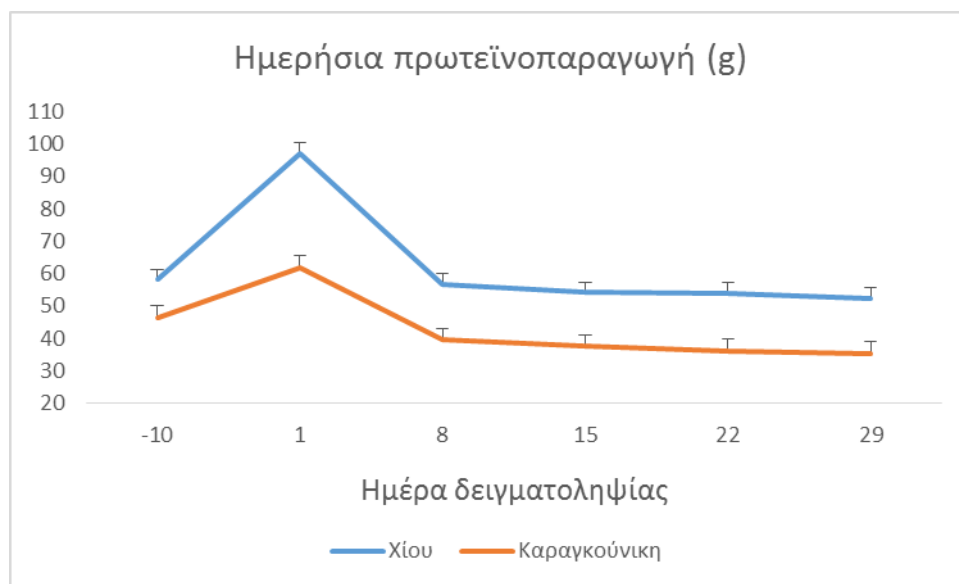
Διάγραμμα 29 Αλληλεπίδραση μεταξύ «φυλής» και «ημέρας δειγματοληψίας» στα επίπεδα της πρωτεϊνοπεριεκτικότητας (%)

-10, 1, 8, 15, 22 και 29: 10 ημέρες πριν και 1, 8, 15, 22 και 29 ημέρες μετά την επέμβαση

Στο Διάγραμμα 29 παρατηρείται ότι οι προβατίνες της Καραγκούνικης φυλής είχαν υψηλότερα επίπεδα πρωτεϊνοπεριεκτικότητας σε σχέση με τις προβατίνες της φυλής Χίου, ενώ η αύξηση της πρωτεϊνοπεριεκτικότητας κατά την επανέναρξη της άμελξης ήταν της τάξεως του +12% και στις δύο φυλές. Πιο αναλυτικά, οι μέσες τιμές της πρωτεϊνοπεριεκτικότητας (%) πριν από την επέμβαση και κατά την επανέναρξη της άμελξης ήταν αντίστοιχα $5,337 \pm 0,093$ και $5,987 \pm 0,093$ στις προβατίνες της Καραγκούνικης φυλής (K) και $4,981 \pm 0,079$ και $5,591 \pm 0,079$ στις προβατίνες της φυλής Χίου (X). Στις εβδομάδες που ακολούθησαν η πρωτεϊνοπεριεκτικότητα μειώθηκε σταδιακά και στις δύο φυλές και επέστρεψε την 3η εβδομάδα μετά την επανέναρξη της άμελξης στα ίδια περίπου επίπεδα με πριν την επέμβαση (1η εβδομάδα: K: $5,602 \pm 0,093$ · X: $5,296 \pm 0,079$ · 2η εβδομάδα: K: $5,457 \pm 0,093$ · X: $5,166 \pm 0,079$ · 3η εβδομάδα: K: $5,391 \pm 0,093$ · X: $5,139 \pm 0,079$), ενώ την 4η εβδομάδα

μετά την επανέναρξη της άμελης η αύξηση της πρωτεϊνοπεριεκτικότητας ήταν αμελητέα της τάξεως του +3,5% και στις δύο φυλές (K: 5,577±0,093· X: 5,318±0,079). Επίσης, επισημαίνεται ότι το διάγραμμα της πρωτεϊνοπεριεκτικότητας έχει την ίδια μορφή και στις δύο φυλές.

Από τη στατιστική ανάλυση προκύπτει ότι η αλληλεπίδραση μεταξύ «φυλής» και «πειραματικής ομάδας» στις τιμές της ημερήσιας πρωτεϊνοπαραγωγής είναι μη σημαντική ($P>0,05$), ενώ η αλληλεπίδραση μεταξύ «φυλής» και «ημέρας δειγματοληψίας» στις τιμές της ημερήσιας πρωτεϊνοπαραγωγής είναι σημαντική ($P\leq 0,001$).



Διάγραμμα 30 Αλληλεπίδραση μεταξύ «φυλής» και «ημέρας δειγματοληψίας» στα επίπεδα της ημερήσιας πρωτεϊνοπαραγωγής (g)

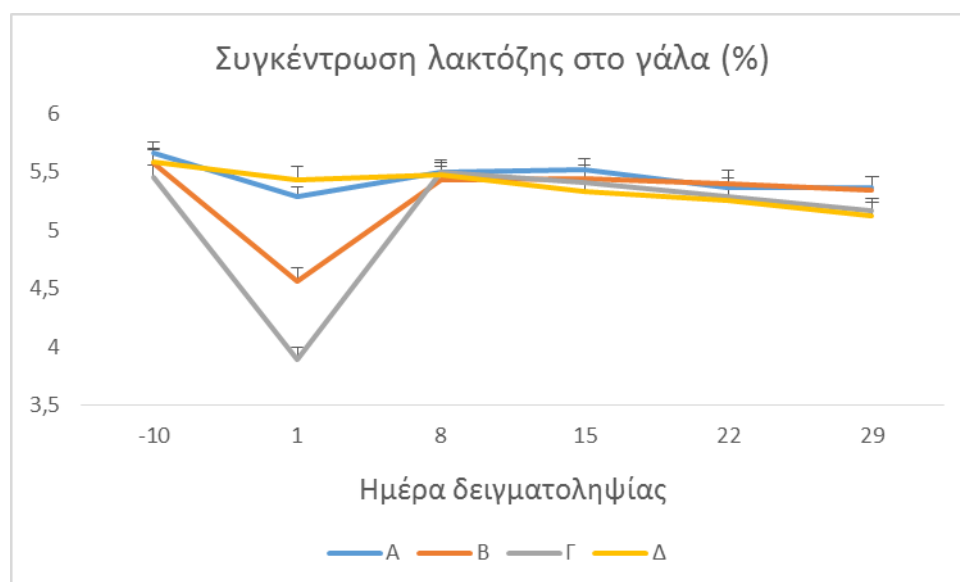
-10, 1, 8, 15, 22 και 29: 10 ημέρες πριν και 1, 8, 15, 22 και 29 ημέρες μετά την επέμβαση

Στο Διάγραμμα 30 παρατηρείται ότι πριν την επέμβαση οι προβατίνες της φυλής Χίου (58,083±3,279) παρουσίασαν υψηλότερα επίπεδα ημερήσιας πρωτεϊνοπαραγωγής (g) σε σχέση με τις προβατίνες της Καραγκούνικης φυλής (46,455±3,666). Με την επανέναρξη της άμελης παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της πρωτεϊνοπαραγωγής και στις δύο φυλές, αλλά οι προβατίνες της φυλής Χίου παρουσίασαν τη μεγαλύτερη αύξηση της τάξεως του +67% (97,090±3,279) σε σχέση με αυτή των προβατίνων της Καραγκούνικης φυλής που ήταν της τάξεως του +33% (61,868±3,666). Στις εβδομάδες που ακολούθησαν η πρωτεϊνοπαραγωγή μειώθηκε σταδιακά και στις δύο φυλές, με διατήρηση των διαφορών μεταξύ των δύο φυλών (1η εβδομάδα: K: 39,492±3,666· X: 56,611±3,279· 2η εβδομάδα: K: 37,516±3,666· X: 54,192±3,279· 3η εβδομάδα: K: 36,073±3,666· X: 53,828±3,279· 4η εβδομάδα: K: 35,248±3,666· X: 52,463±3,279). Επίσης, διαπιστώνεται ότι το διάγραμμα της πρωτεϊνοπαραγωγής ακολουθεί την ίδια μορφή και στις δύο φυλές.

Με βάση τις τιμές της πρωτεϊνοπεριεκτικότητας (%) που έχουν καταγραφεί από τους ερευνητές Ploumi *et al.* (1998), Aganga *et al.* (2002) και Ζυγογιάννης (2014) προκύπτει ότι τα επίπεδα της πρωτεΐνης αυξάνονται με την πρόοδο της γαλακτικής περιόδου, ενώ το ποσοστό της προς το τέλος της γαλακτικής περιόδου κυμαίνεται από 5,80-6,60 στις προβατίνες της φυλής Χίου και από 6,20-6,70 στις προβατίνες της Καραγκούνικης φυλής.

8.1.2.3. Λακτόζη

Οι μέσες τιμές της λακτόζης (%) στο γάλα πριν από την επέμβαση ήταν στα ίδια περίπου επίπεδα και στις 4 ομάδες (A: $5,664 \pm 0,087$ · B: $5,567 \pm 0,116$ · Γ: $5,454 \pm 0,106$ · Δ: $5,582 \pm 0,112$) (Διάγραμμα 31). Κατά την επανέναρξη της άμελξης παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της λακτόζης της τάξεως του -18% στην ομάδα B ($4,564 \pm 0,116$) και -28,7% στην ομάδα Γ ($3,888 \pm 0,106$), ενώ η μείωση της λακτόζης ήταν μη σημαντική στην ομάδα A και Δ (Μάρτυρας) της τάξεως του -6,7% ($5,283 \pm 0,087$) και -2,7% ($5,427 \pm 0,112$), αντίστοιχα. Κατά την 1^η εβδομάδα μετά την επανέναρξη της άμελξης παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων της λακτόζης και στις 3 πειραματικές ομάδες και επιστροφή στα ίδια περίπου επίπεδα με αυτά πριν από την επέμβαση (A: $5,494 \pm 0,087$ · B: $5,432 \pm 0,116$ · Γ: $5,495 \pm 0,106$). Τις επόμενες εβδομάδες παρατηρήθηκε σταδιακή μείωση των ποσοστών της λακτόζης και στις 4 πειραματικές ομάδες (2η εβδομάδα: A: $5,520 \pm 0,087$ · B: $5,439 \pm 0,116$ · Γ: $5,409 \pm 0,106$ · Δ: $5,328 \pm 0,112$ · 3η εβδομάδα: A: $5,359 \pm 0,087$ · B: $5,395 \pm 0,116$ · Γ: $5,288 \pm 0,106$ · Δ: $5,252 \pm 0,112$ · 4η εβδομάδα: A: $5,365 \pm 0,087$ · B: $5,338 \pm 0,116$ · Γ: $5,162 \pm 0,106$ · Δ: $5,119 \pm 0,112$).



Διάγραμμα 31 Αλληλεπίδραση μεταξύ «πειραματικής ομάδας» και «ημέρας δειγματοληψίας» στα επίπεδα της λακτόζης (%)

-10, 1, 8, 15, 22 και 29: 10 ημέρες πριν και 1, 8, 15, 22 και 29 ημέρες μετά την επέμβαση, **Ομάδα A:** διακοπή άμελξης 1 ημέρα, **Ομάδα B:** διακοπή άμελξης 2 ημέρες, **Ομάδα Γ:** διακοπή άμελξης 3 ημέρες, **Ομάδα Δ:** Μάρτυρας – χωρίς διακοπή

Η μείωση του ποσοστού της λακτόζης στο γάλα δεν αποδίδεται μόνο στη χαλάρωση των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων εξαιτίας της συσσώρευσης του γάλακτος στο μαστό και στη μετακίνησή της στο αίμα, διότι θεωρείται παροδικό φαινόμενο από τη στιγμή που οι σύνδεσμοι επανασυνδέονται σε μικρό χρονικό διάστημα μετά την επανέναρξη της άμελξης (Stelwagen *et al.*, 1997). Η μείωση λοιπόν των ποσοστών της λακτόζης αποδίδεται κυρίως στη μείωση των επιπέδων του mRNA για την πρωτεΐνη α-LA (α-λακταλβουμίνη) και κατά συνέπεια στη μείωση της ίδιας της πρωτεΐνης (Boutinaud *et al.*, 2008· Singh *et al.*, 2008· Ben Chedly *et al.*, 2009), η οποία ελέγχει τη σύνθεση της λακτόζης στο γάλα (Boston *et al.*, 2001) και συγκεκριμένα συμβάλλει μαζί με τη GT (γαλακτοζύλ-τρανσφεράση) στο σχηματισμό του ενζύμου συνθετάση της λακτόζης (Καμιναρίδης & Μοάτσου, 2009). Επίσης, τα χαμηλά ποσοστά της λακτόζης οφείλονται στη

μειωμένη δράση των ενζύμων που συμμετέχουν στη σύνθεση της λακτόζης στο μαστό κατά τη διάρκεια της παλινδρόμησης (Hurley, 1989).

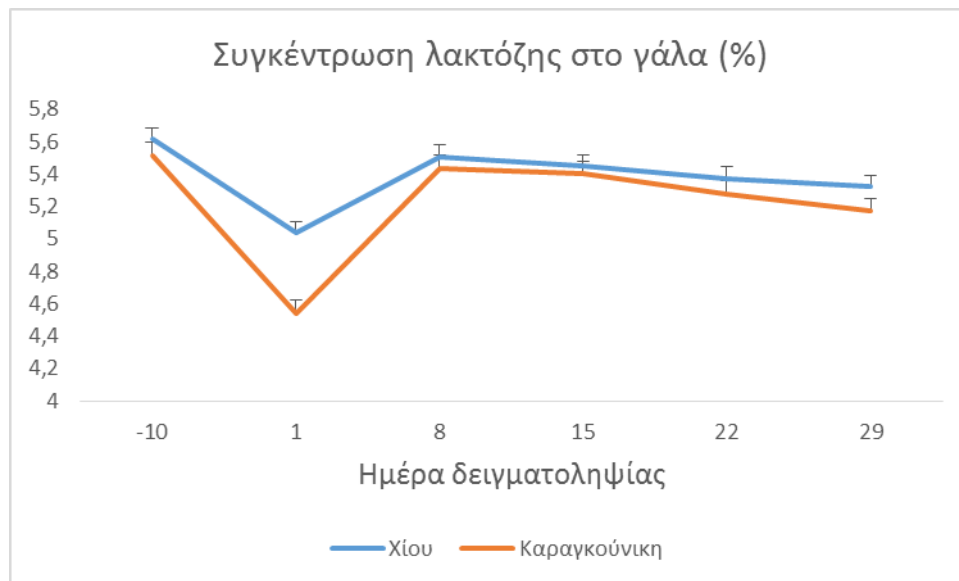
Σε συμφωνία με τα αποτελέσματα του παρόντος πειράματος είναι τα ευρήματα των Singh *et al.* (2012), όπου η συγκέντρωση της λακτόζης στο αγελαδινό γάλα μειώθηκε στις ομάδες όπου διεκόπη η άμελξη για 14 και 28 ημέρες, ενώ δεν παρουσίασε σημαντικές διαφορές στην ομάδα όπου διεκόπη η άμελξη για 7 ημέρες. Επιπλέον, η ομάδα όπου διεκόπη η άμελξη για 28 ημέρες παρουσίασε τα χαμηλότερα ποσοστά συγκέντρωσης της λακτόζης συγκριτικά με τις άλλες δύο ομάδες.

Παρομοίως, μετά από διακοπή της άμελξης στις αίγες έχει αποδειχτεί ταυτόχρονη μείωση της συγκέντρωσης της λακτόζης και [K⁺] στο γάλα και θετική συσχέτισή τους (Fleet & Peaker, 1978). Επίσης, οι Ben Chedly *et al.* (2009) κατέγραψαν μείωση των ποσοστών της λακτόζης κατά 47% στο αίγιο γάλα που προερχόταν από τον μαστικό αδένα όπου διεκόπη η άμελξη για 36 ώρες σε σχέση με αυτόν που αμελγόταν ανά 12 ώρες.

Η αύξηση της συγκέντρωσης της λακτόζης στο αίμα παρατηρήθηκε στις αγελάδες μετά από διακοπή της άμελξης 18, 24 και 30 ωρών, με εξαίρεση την ομάδα όπου διεκόπη η άμελξη για 6 ώρες στην οποία η συγκέντρωση της λακτόζης μειώθηκε (Stelwagen *et al.*, 2008), λόγω του γεγονότος ότι σε διακοπές της άμελξης μικρής διάρκειας οι στενοσύνδεσμοι των επιθηλιακών κυττάρων αντί να χαλαρώνουν συσφίγγονται (Sorensen *et al.*, 2001). Επιπλέον, σταδιακή αύξηση της λακτόζης στο αίμα διαπιστώθηκε μετά από διακοπή της άμελξης για 36 ώρες στον έναν μαστικό αδένα των αιγών (Ben Chedly *et al.*, 2009), ενώ στο πείραμα των Stelwagen *et al.* (1994b) η συγκέντρωση της λακτόζης στο αίμα των αιγών, όπου διεκόπη η άμελξη για 36 ώρες του ενός μαστικού αδένα, ήταν σταθερή μέχρι την 21η ώρα μετά τη διακοπή της άμελξης, ακολούθησε ραγδαία αύξησή της σε ποσοστό πενταπλάσιο σε σχέση με τη συγκέντρωσή της πριν τη διακοπή και παρέμεινε αυξημένη μέχρι την 51η ώρα.

Από τη στατιστική ανάλυση προέκυψε μη σημαντική ($P > 0,05$) η αλληλεπίδραση μεταξύ «φυλής» και «πειραματικής ομάδας» γεγονός που δηλώνει σταθερότητα των ποσοστών της λακτόζης ανάμεσα στις πειραματικές ομάδες. Αντίθετα, η αλληλεπίδραση μεταξύ «φυλής» και «ημέρας δειγματοληψίας» είναι στατιστικά σημαντική ($P \leq 0,001$) που σημαίνει ότι υπάρχουν διαφοροποιήσεις στα ποσοστά της λακτόζης μεταξύ των φυλών.

Πράγματι, από το Διάγραμμα 32 προκύπτει ότι πριν την επέμβαση τα ποσοστά της λακτόζης (%) ήταν παρόμοια στις προβατίνες της φυλής Χίου ($5,617 \pm 0,069$) και της Καραγκούνικης φυλής ($5,517 \pm 0,080$). Κατά την επανέναρξη της άμελξης η λακτόζη μειώθηκε και στις δύο φυλές, αλλά οι προβατίνες της Καραγκούνικης φυλής υπέστησαν τη μεγαλύτερη μείωση της τάξεως του -17,7% ($4,542 \pm 0,080$) εν συγκρίσει με αυτή των προβατινών της φυλής Χίου που ήταν της τάξεως του -10% ($5,040 \pm 0,069$). Μία εβδομάδα μετά την επανέναρξη της άμελξης τα ποσοστά της λακτόζης αυξήθηκαν και επέστρεψαν στα ίδια περίπου επίπεδα με αυτά πριν την επέμβαση (Κ: $5,437 \pm 0,080$ · Χ: $5,508 \pm 0,069$), ενώ τις επόμενες εβδομάδες τα ποσοστά της λακτόζης σταδιακά μειώνονταν και στις δύο φυλές (2η εβδομάδα: Κ: $5,400 \pm 0,080$ · Χ: $5,448 \pm 0,069$ · 3η εβδομάδα: Κ: $5,275 \pm 0,080$ · Χ: $5,373 \pm 0,069$ · 4η εβδομάδα: Κ: $5,171 \pm 0,080$ · Χ: $5,321 \pm 0,069$). Επίσης, διαπιστώνεται ότι το διάγραμμα των ποσοστών της λακτόζης έχει την ίδια μορφή και στις δύο φυλές.



Διάγραμμα 32 Αλληλεπίδραση μεταξύ «φυλής» και «ημέρας δειγματοληψίας» στα επίπεδα της λακτόζης (%)

-10, 1, 8, 15, 22 και 29: 10 ημέρες πριν και 1, 8, 15, 22 και 29 ημέρες μετά την επέμβαση

Οι Ploumi *et al.* (1998) και Ζυγογιάννης (2014), οι οποίοι μελέτησαν την επίδραση του σταδίου της γαλακτικής περιόδου στην ποσότητα και σύσταση του γάλακτος των προβατινών της φυλής Χίου και αυτών της Καραγκούνικης φυλής, αντίστοιχα, αναφέρουν ότι τα ποσοστά της λακτόζης μειώνονται με την πρόοδο της γαλακτικής περιόδου, ενώ οι τιμές της λακτόζης και στις δύο φυλές προς το τέλος της γαλακτικής περιόδου κυμαίνονται στο 4,60-4,70%.

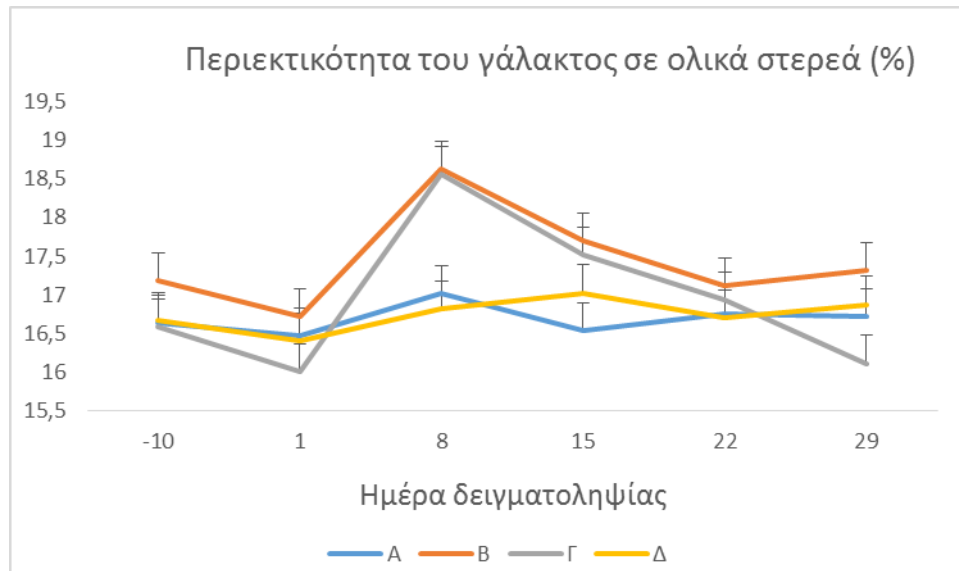
Επιπλέον, σε έρευνα των Polychroniadou & Vaforoulou (1985) που πραγματοποιήθηκε σε δύο εγχώριες φυλές προβάτων, την Καραγκούνικη και των Σερρών, διαπιστώθηκε ότι η επίδραση του σταδίου της γαλακτοπαραγωγής στο περιεχόμενο του καλίου και της λακτόζης ήταν σημαντική ($P < 0,05$) μόνο για την Καραγκούνικη φυλή. Παρόμοια αποτελέσματα προέκυψαν από τις έρευνες των Ridha *et al.* (1982) στο πρόβειο γάλα της φυλής *Karadi*.

Σε ότι αφορά τη συσχέτιση ανάμεσα στις συγκεντρώσεις του καλίου και της λακτόζης προέκυψε θετική στην έρευνα των Polychroniadou & Vaforoulou (1985) και αρνητική σε αυτή των Konar *et al.* (1971) που πραγματοποιήθηκε σε πρόβατα της φυλής Masham.

8.1.2.4. Ολικά Στερεά

Από το Διάγραμμα 33 προκύπτει ότι μια εβδομάδα μετά την επανέναρξη της άμελης τα ποσοστά των ολικών στερεών (%) αυξάνονται σημαντικά στις ομάδες Β (+11,5%) και Γ (+16%), ενώ η αύξηση είναι μη σημαντική στις ομάδες Α (+3,3%) και Δ (+2,5%). Πιο αναλυτικά, οι τιμές των ολικών στερεών πριν την επέμβαση και κατά την επανέναρξη ήταν αντίστοιχα 16,629±0,360 και 16,464±0,360 για την ομάδα Α, 17,186±0,360 και 16,710±0,360 για την ομάδα Β, 16,590±0,360 και 15,997±0,360 για την ομάδα Γ και 16,663±0,360 και 16,403±0,360 για την ομάδα Δ (Μάρτυρας), ενώ την 1η εβδομάδα μετά την επανέναρξη της άμελης ήταν 17,011±0,360 για την ομάδα Α, 18,632±0,360 για την ομάδα Β, 18,563±0,360 για την ομάδα Γ και 16,811±0,360 για την ομάδα Δ (Μάρτυρας). Ακολούθησε σταδιακή μείωση των ποσοστών των ολικών στερεών και επιστροφή σε

παρόμοια επίπεδα με αυτά πριν την επέμβαση (2η εβδομάδα: A: $16,534 \pm 0,360$ · B: $17,703 \pm 0,360$ · Γ: $17,516 \pm 0,360$ · Δ: $17,025 \pm 0,360$ · 3η εβδομάδα: A: $16,749 \pm 0,360$ · B: $17,122 \pm 0,360$ · Γ: $16,939 \pm 0,360$ · Δ: $16,695 \pm 0,360$ · 4η εβδομάδα: A: $16,714 \pm 0,360$ · B: $17,311 \pm 0,360$ · Γ: $16,110 \pm 0,360$ · Δ: $16,874 \pm 0,360$).



Διάγραμμα 33 Αλληλεπίδραση μεταξύ «πειραματικής ομάδας» και «ημέρας δειγματοληψίας» στα επίπεδα των ολικών στερεών (%)

-10, 1, 8, 15, 22 και 29: 10 ημέρες πριν και 1, 8, 15, 22 και 29 ημέρες μετά την επέμβαση, **Ομάδα Α:** διακοπή άμελξης 1 ημέρα, **Ομάδα Β:** διακοπή άμελξης 2 ημέρες, **Ομάδα Γ:** διακοπή άμελξης 3 ημέρες, **Ομάδα Δ:** Μάρτυρας – χωρίς διακοπή

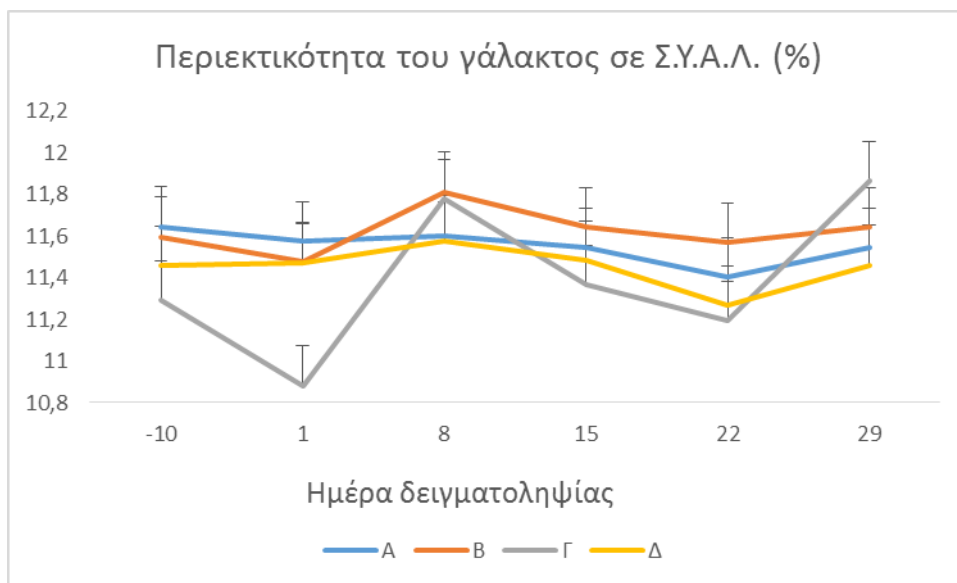
Από τα αποτελέσματα του παρόντος πειράματος προκύπτει ότι η διακοπή της άμελξης επιδρά στις τιμές των ολικών στερεών (%) κατά τον ίδιο τρόπο με αυτόν που επιδρά στις τιμές της λιποπεριεκτικότητας (%) (Διάγραμμα 23).

Επίσης, όπως προκύπτει από την έρευνα των Aganga *et al.* (2002) τα ποσοστά των ολικών στερεών σε πρόβατα και αίγες αυξάνονται σταδιακά με την πρόοδο της γαλακτικής περιόδου μέχρι το τέλος της.

Από τη στατιστική ανάλυση προέκυψε ότι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ «φυλής» και «ημέρας δειγματοληψίας» και «φυλής» και «πειραματικής ομάδας» στις τιμές των ολικών στερεών είναι στατιστικά μη σημαντικές ($P > 0,05$) που σημαίνει ότι δεν υπάρχουν διαφοροποιήσεις μεταξύ των ομάδων.

8.1.2.5. Στερεό υπόλειμμα άνευ λίπους (ΣΥΑΛ)

Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ «πειραματικής ομάδας» και «ημέρας δειγματοληψίας», «φυλής» και «ημέρας δειγματοληψίας» και «φυλής» και «πειραματικής ομάδας» στις τιμές του Στερεού υπολείμματος άνευ λίπους (%) είναι στατιστικά μη σημαντικές ($P > 0,05$) που σημαίνει ότι δεν υπάρχουν διαφοροποιήσεις μεταξύ των ομάδων.



Διάγραμμα 34 Αλληλεπίδραση μεταξύ «πειραματικής ομάδας» και «ημέρας δειγματοληψίας» επίπεδα του Στερεού υπολείμματος άνευ λίπους (%)

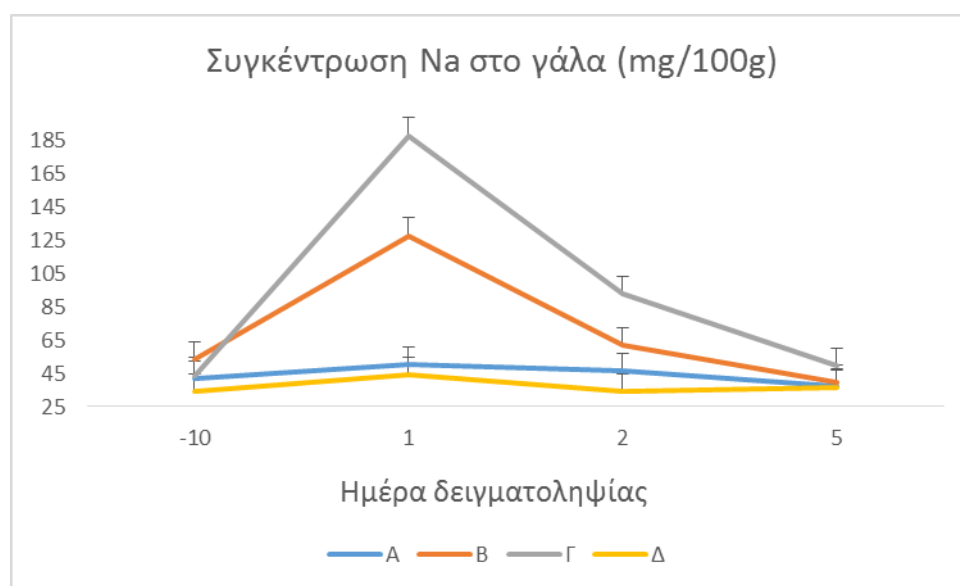
-10, 1, 8, 15, 22 και 29: 10 ημέρες πριν και 1, 8, 15, 22 και 29 ημέρες μετά την επέμβαση, **Ομάδα Α:** διακοπή άμελης 1 ημέρα, **Ομάδα Β:** διακοπή άμελης 2 ημέρες, **Ομάδα Γ:** διακοπή άμελης 3 ημέρες, **Ομάδα Δ:** Μάρτυρας – χωρίς διακοπή

Στο Διάγραμμα 34 αποτυπώνεται η μη σημαντική αλληλεπίδραση ($P > 0,05$) μεταξύ «πειραματικής ομάδας» και «ημέρας δειγματοληψίας» στις τιμές του Στερεού υπολείμματος άνευ λίπους (%). Πράγματι, διαπιστώνεται ότι οι τιμές του Στερεού υπολείμματος άνευ λίπους και στις 4 ομάδες ήταν στα ίδια επίπεδα πριν την επέμβαση και παρέμειναν σε αυτά και μετά την πειραματική διαδικασία (Πριν την επέμβαση: Α: $11,644 \pm 0,190$ · Β: $11,596 \pm 0,190$ · Γ: $11,291 \pm 0,190$ · Δ: $11,456 \pm 0,190$ · Επανάραξη άμελης: Α: $11,575 \pm 0,190$ · Β: $11,476 \pm 0,190$ · Γ: $10,882 \pm 0,190$ · Δ: $11,468 \pm 0,190$ · 1η εβδομάδα: Α: $11,601 \pm 0,190$ · Β: $11,811 \pm 0,190$ · Γ: $11,777 \pm 0,190$ · Δ: $11,573 \pm 0,190$ · 2η εβδομάδα: Α: $11,544 \pm 0,190$ · Β: $11,641 \pm 0,190$ · Γ: $11,364 \pm 0,190$ · Δ: $11,481 \pm 0,190$ · 3η εβδομάδα: Α: $11,401 \pm 0,190$ · Β: $11,569 \pm 0,190$ · Γ: $11,194 \pm 0,190$ · Δ: $11,267 \pm 0,190$ · 4η εβδομάδα: Α: $11,545 \pm 0,190$ · Β: $11,643 \pm 0,190$ · Γ: $11,863 \pm 0,190$ · Δ: $11,461 \pm 0,190$).

Γενικά, είναι γνωστό ότι το Στερεό υπόλειμμα άνευ λίπους (%) αυξάνεται σταδιακά με την πρόοδο της γαλακτικής περιόδου (Ploumi *et al.*, 1998).

8.2 Επίδραση του διαστήματος διακοπής της άμελξης στα ανόργανα στοιχεία (Na, K) του γάλακτος γαλακτοπαραγωγών προβατινών

Στο Διάγραμμα 35 παρατηρείται ότι η συγκέντρωση του νατρίου (mg/100g) αυξήθηκε σημαντικά με την επανέναρξη της άμελξης στις ομάδες Β (+139,4%) και Γ (+329,4%) σε σχέση με την ομάδα Α (+21%) και Δ (+29,6%). Στη συνέχεια η συγκέντρωση του νατρίου στις ομάδες Β και Γ μειώθηκε σταδιακά επιστρέφοντας την 5η ημέρα στα ίδια περίπου επίπεδα που είχε πριν την επέμβαση εν συγκρίσει με τη συγκέντρωση του νατρίου στις ομάδες Α και Δ (Μάρτυρας) που παρέμεινε σταθερή. Πιο αναλυτικά, οι τιμές της συγκέντρωσης του νατρίου (mg/100g) πριν την επέμβαση και κατά την επανέναρξη της άμελξης ήταν αντίστοιχα $41,673 \pm 10,571$ και $50,403 \pm 10,571$ για την ομάδα Α, $53,278 \pm 10,629$ και $127,551 \pm 10,629$ για την ομάδα Β, $43,678 \pm 10,578$ και $187,547 \pm 10,578$ για την ομάδα Γ και $33,966 \pm 10,630$ και $44,028 \pm 10,630$ για την ομάδα Δ (Μάρτυρας). Επιπλέον, οι τιμές της συγκέντρωσης του νατρίου (mg/100g) τη 2η και την 5η ημέρα από την επανέναρξη της άμελξης ήταν αντίστοιχα $46,585 \pm 10,571$ και $37,221 \pm 10,571$ για την ομάδα Α, $61,845 \pm 10,629$ και $39,678 \pm 10,629$ για την ομάδα Β, $92,517 \pm 10,578$ και $49,300 \pm 10,578$ για την ομάδα Γ και $34,227 \pm 10,630$ και $36,585 \pm 10,630$ για την ομάδα Δ (Μάρτυρας).



Διάγραμμα 35 Αλληλεπίδραση μεταξύ «πειραματικής ομάδας» και «ημέρας δειγματοληψίας» στη συγκέντρωση του νατρίου (mg/100g)

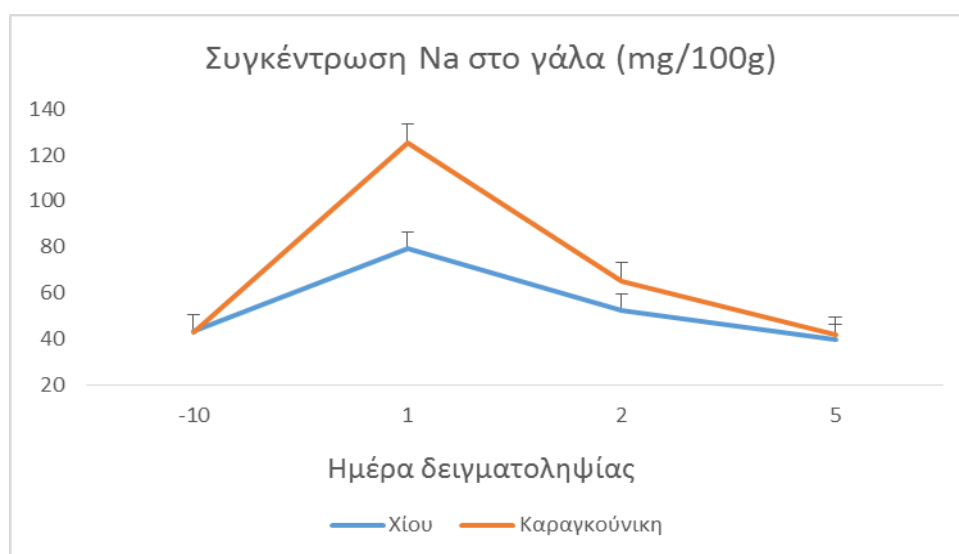
-10, 1, 2, και 5: 10 ημέρες πριν και 1, 2 και 5 ημέρες μετά την επέμβαση, Ομάδα Α: διακοπή άμελξης 1 ημέρα, Ομάδα Β: διακοπή άμελξης 2 ημέρες, Ομάδα Γ: διακοπή άμελξης 3 ημέρες, Ομάδα Δ: Μάρτυρας – χωρίς διακοπή

Η αύξηση της συγκέντρωσης της λακτόζης στο αίμα καθώς και η αύξηση της αναλογίας Na^+/K^+ στο γάλα αποτελούν δείκτες της χαλάρωσης των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων στον μαστικό αδέν (Ben Chedly *et al.*, 2009).

Παρόμοια αποτελέσματα με αυτά του παρόντος πειράματος παρουσιάστηκαν και από τις μελέτες των Fleet & Peaker (1978), Faulkner *et al.* (1982) και Stelwagen *et al.* (1994b), οι οποίοι βρήκαν ότι

μετά από διακοπή της άμελξης στις αίγες η συγκέντρωση του νατρίου [Na⁺] αυξήθηκε, ενώ της λακτόζης και του καλίου [K⁺] μειώθηκε, λόγω της διαρροής τους από το επιθήλιο. Επίσης, η συσχέτιση ανάμεσα στη συγκέντρωση της λακτόζης και του [Na⁺] καθώς και ανάμεσα στη συγκέντρωση της λακτόζης και του [Cl⁻] προέκυψε αρνητική, ενώ ανάμεσα στη συγκέντρωση της λακτόζης και του [K⁺] ήταν θετική. Στο πείραμα των Fleet & Peaker (1978) οι μεταβολές στη σύσταση του γάλακτος εμφανίστηκαν αργότερα κατά την 3η ή 4η ημέρα μετά τη διακοπή της άμελξης.

Επιπλέον, στο πείραμα των Ben Chedly *et al.* (2009) η αναλογία Na⁺/K⁺ στο γάλα αυξήθηκε περισσότερο στην περίπτωση της διακοπής της άμελξης για 36 ώρες σε σχέση με την άμελξη του μαστού ανά 12 ώρες.



Διάγραμμα 36 Αλληλεπίδραση μεταξύ «φυλής» και «ημέρας δειγματοληψίας» στη συγκέντρωση του νατρίου (mg/100g)

-10, 1, 2, και 5: 10 ημέρες πριν και 1, 2 και 5 ημέρες μετά την επέμβαση

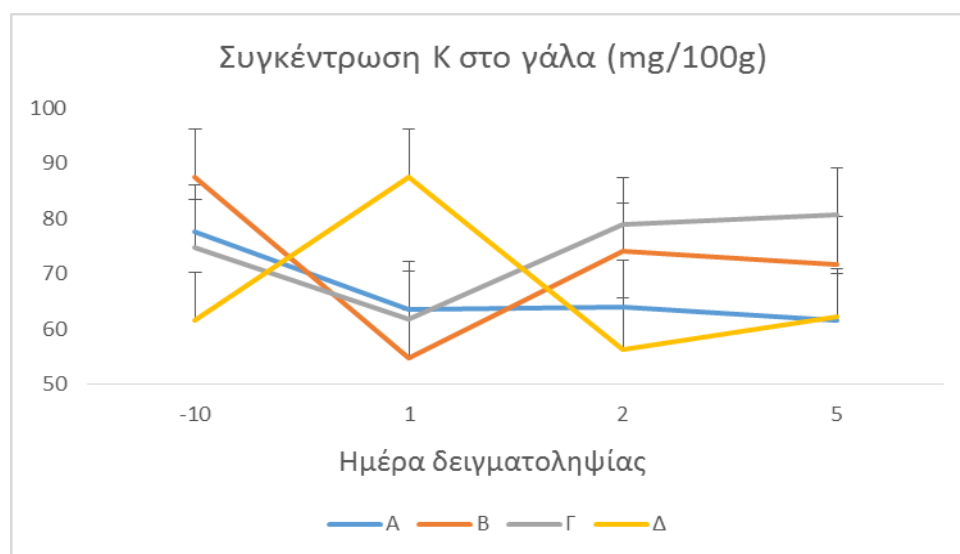
Με βάση τη στατιστική ανάλυση η αλληλεπίδραση μεταξύ «φυλής» και «πειραματικής ομάδας» στη συγκέντρωση του νατρίου είναι στατιστικά μη σημαντική ($P > 0,05$), ενώ η αλληλεπίδραση μεταξύ «φυλής» και «ημέρας δειγματοληψίας» στη συγκέντρωση του νατρίου είναι σημαντική ($P \leq 0,01$) γεγονός που σημαίνει ότι υπάρχουν διαφοροποιήσεις μεταξύ των ομάδων.

Πράγματι, στο Διάγραμμα 36 παρατηρείται ότι η συγκέντρωση του νατρίου (mg/100g) πριν την επέμβαση ήταν στα ίδια περίπου επίπεδα και στις δύο φυλές (Κ: $42,940 \pm 7,907$ · Χ: $43,357 \pm 7,062$), ενώ κατά την επανέναρξη της άμελξης η αύξηση της συγκέντρωσης του νατρίου ήταν μεγαλύτερη στις προβατίνες της Καραγκούνικης φυλής της τάξεως του +192,3% ($125,508 \pm 7,907$) σε σχέση με τις προβατίνες της φυλής Χίου που ήταν +82,8% ($79,257 \pm 7,062$). Στη συνέχεια ακολούθησε μείωση της συγκέντρωσης του νατρίου και στις δύο φυλές και επιστροφή την 5η ημέρα στα ίδια περίπου επίπεδα με αυτά πριν την επέμβαση. Συγκεκριμένα, οι τιμές της συγκέντρωσης του νατρίου (mg/100g) τη 2η και 5η ημέρα από την επανέναρξη της άμελξης ήταν αντίστοιχα $65,107 \pm 7,907$ και $41,800 \pm 7,907$ για τις προβατίνες της Καραγκούνικης φυλής και $52,480 \pm 7,062$ και $39,591 \pm 7,062$ για τις προβατίνες της φυλής Χίου. Επίσης, διαπιστώνεται ότι το διάγραμμα της συγκέντρωσης του νατρίου έχει την ίδια μορφή και στις δύο φυλές.

Σύμφωνα με τα ευρήματα των Moreno-Rojas *et al.* (1993) το πρόβειο γάλα υπέστη τις μεγαλύτερες μεταβολές στα ανόργανα συστατικά του κατά τις διαφορετικές εποχές του χρόνου σε σχέση με το αγελαδινό και το αίγαιο. Στο πρόβειο γάλα λοιπόν παρατηρήθηκε αύξηση της συγκέντρωσης του νατρίου και μείωση της συγκέντρωσης του καλίου με την πρόοδο της γαλακτικής περιόδου. Ωστόσο, το περιεχόμενο σε νάτριο και κάλιο είναι παρόμοιο και στα τρία είδη. Γενικά, οι μεγαλύτερες διακυμάνσεις που παρατηρούνται στο αίγαιο και πρόβειο γάλα καθόλη τη διάρκεια του έτους οφείλονται κυρίως σε μεταβολές στη διατροφή κατά τις διαφορετικές εποχές (Ford *et al.*, 1986).

Οι Polychroniadou & Vaforoulou (1985) μελέτησαν την επίδραση του σταδίου της γαλακτοπαραγωγής στο περιεχόμενο του καλίου και της λακτόζης και παρατήρησαν ότι ήταν σημαντική μόνο για την Καραγκούνικη φυλή. Επίσης, το περιεχόμενο του νατρίου (mg/100g) αυξήθηκε με αργό ρυθμό καθόλη τη διάρκεια της γαλακτικής περιόδου (7η-10η εβδομάδα: 46· 24η-27η εβδομάδα: 55), ενώ ταυτόχρονα σημειώθηκε μείωση του περιεχομένου του καλίου (mg/100g) μετά τη 14η εβδομάδα (11η-14η εβδομάδα: 126· 24η-27η εβδομάδα: 106), η οποία ήταν σημαντική ($P < 0,05$) μόνο στο γάλα της Καραγκούνικης φυλής. Αντίθετα, στην έρευνα των Aganga *et al.* (2002) τα ποσοστά του νατρίου (g/100g) μειώθηκαν (40 ημέρες: $0,03 \pm 0,008$ · 166 ημέρες: $0,01 \pm 0,003$) με την πρόοδο της γαλακτικής περιόδου, ενώ του καλίου (g/100g) αυξήθηκαν (40 ημέρες: $0,10 \pm 0,04$ · 166 ημέρες: $0,25 \pm 0,01$).

Ακόμα, οι Polychroniadou & Vaforoulou (1985) έδειξαν ότι υπάρχει δυνατή αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στο κάλιο και το νάτριο του γάλακτος της Καραγκούνικης φυλής, όπως επίσης θετική συσχέτιση ανάμεσα στις συγκεντρώσεις της λακτόζης και του καλίου. Από την άλλη πλευρά, οι Konar *et al.* (1971) κατέγραψαν αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στη λακτόζη και στο κάλιο σε πρόβατα της φυλής *Masham*.

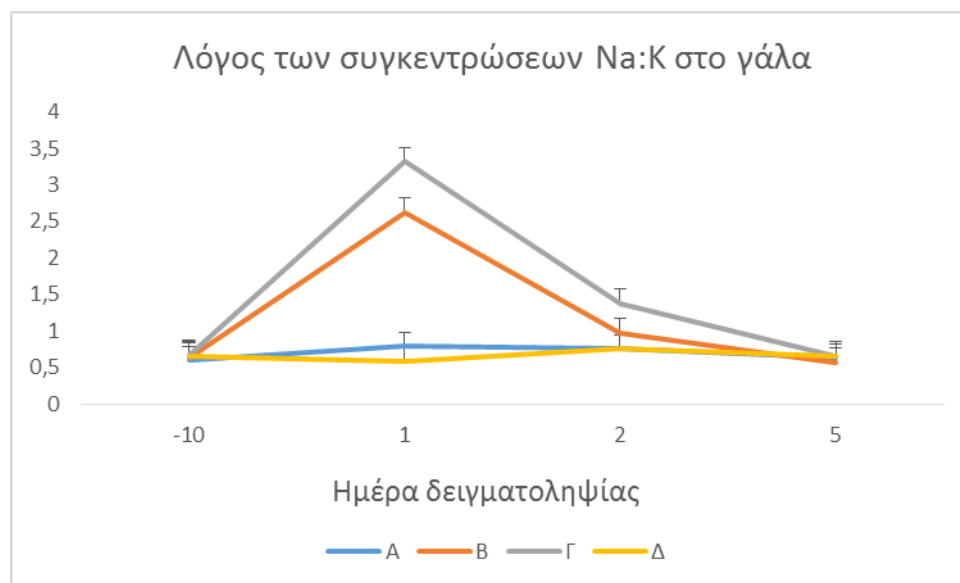


Διάγραμμα 37 Αλληλεπίδραση μεταξύ «πειραματικής ομάδας» και «ημέρας δειγματοληψίας» στη συγκέντρωση του καλίου (mg/100g)

-10, 1, 2, και 5: 10 ημέρες πριν και 1, 2 και 5 ημέρες μετά την επέμβαση, Ομάδα Α: διακοπή άμελης 1 ημέρα, Ομάδα Β: διακοπή άμελης 2 ημέρες, Ομάδα Γ: διακοπή άμελης 3 ημέρες, Ομάδα Δ: Μάρτυρας – χωρίς διακοπή

Σε ότι αφορά στη συγκέντρωση του καλίου (mg/100g), στο Διάγραμμα 37 παρατηρείται ότι πριν την επέμβαση η συγκέντρωσή του στην ομάδα Δ (Μάρτυρας) (61,480±8,666) ήταν παρόμοια σε σχέση με αυτή των ομάδων Α (77,525±8,477), Β (87,590±8,687) και Γ (74,867±8,540). Κατά την επανέναρξη της άμελης, η συγκέντρωση του καλίου μειώθηκε στις ομάδες Α (-18%) (63,658±8,477), Β (-37,5%) (54,725±8,687) και Γ (-17%) (61,883±8,540) σε σχέση με την ομάδα του μάρτυρα (87,580±8,666). Στη συνέχεια η συγκέντρωση του καλίου αυξήθηκε στις ομάδες Β (2η ημέρα: 74,071±8,687· 5η ημέρα: 71,725±8,687) και Γ (2η ημέρα: 78,959±8,540· 5η ημέρα: 80,718±8,540), ενώ η συγκέντρωσή του στην ομάδα Α (2η ημέρα: 64,048±8,477· 5η ημέρα: 61,624±8,477) παρέμεινε σταθερή και στην ομάδα του μάρτυρα μειώθηκε μέχρι που έφτασε την 5η ημέρα τα ίδια επίπεδα με αυτά της ομάδας Α (2η ημέρα: 56,290±8,666· 5η ημέρα: 62,192±8,666).

Συγκρίνοντας τα διαγράμματα της συγκέντρωσης του νατρίου (Διάγραμμα 35) και του καλίου (Διάγραμμα 37) διαπιστώνεται ότι κατά την επανέναρξη της άμελης η συγκέντρωση του νατρίου αυξάνεται και του καλίου μειώνεται στις πειραματικές ομάδες Β και Γ, όπως έχει παρατηρηθεί και στις μελέτες των Fleet & Peaker (1978), Faulkner *et al.* (1982) και Stelwagen *et al.* (1994b). Μετά ακουλούθησε μείωση της συγκέντρωσης του νατρίου και αύξηση του καλίου στις πειραματικές ομάδες Β και Γ, και επιστροφή την 5η ημέρα μετά την επανέναρξη της άμελης στα ίδια περίπου επίπεδα με αυτά πριν την επέμβαση. Αντίθετα, οι τιμές του νατρίου και του καλίου στην ομάδα Α πριν και μετά την επέμβαση παρέμειναν στα ίδια περίπου επίπεδα, με εξαίρεση τη στιγμή της επανέναρξης της άμελης όπου το κάλιο μειώθηκε και μετά παρέμεινε σταθερό.



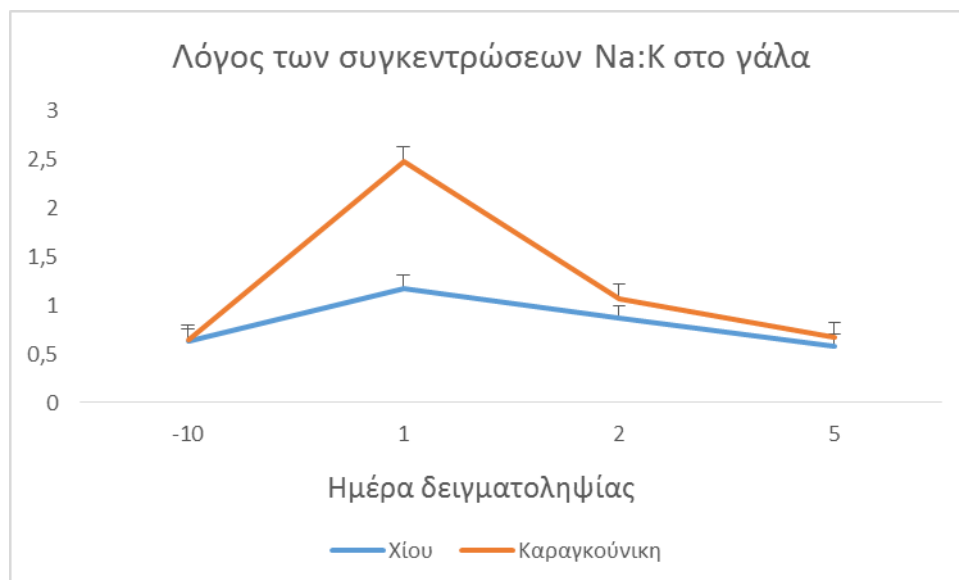
Διάγραμμα 38 Αλληλεπίδραση μεταξύ «πειραματικής ομάδας» και «ημέρας δειγματοληψίας» στο λόγο των συγκεντρώσεων νατρίου - καλίου (Na:K)

-10, 1, 2, και 5: 10 ημέρες πριν και 1, 2 και 5 ημέρες μετά την επέμβαση, **Ομάδα Α:** διακοπή άμελης 1 ημέρα, **Ομάδα Β:** διακοπή άμελης 2 ημέρες, **Ομάδα Γ:** διακοπή άμελης 3 ημέρες, **Ομάδα Δ:** Μάρτυρας – χωρίς διακοπή

Στο Διάγραμμα 38 παρατηρείται ότι ο λόγος των συγκεντρώσεων νατρίου-καλίου αυξήθηκε σημαντικά με την επανέναρξη της άμελης στις ομάδες Β (+310%) και Γ (+392%), ενώ στη συνέχεια

μειώθηκε σταδιακά επιστρέφοντας την 5η ημέρα στα ίδια περίπου επίπεδα που είχε πριν την επέμβαση σε σύγκριση με το λόγο των ομάδων Α και Δ (Μάρτυρας) που παρέμεινε σταθερός καθόλη την πειραματική διαδικασία. Πιο αναλυτικά, οι τιμές του λόγου των συγκεντρώσεων νατρίου-καλίου πριν την επέμβαση και κατά την επανέναρξη της άμελξης ήταν αντίστοιχα $0,596 \pm 0,185$ και $0,800 \pm 0,185$ για την ομάδα Α, $0,638 \pm 0,202$ και $2,618 \pm 0,202$ για την ομάδα Β, $0,674 \pm 0,193$ και $3,317 \pm 0,193$ για την ομάδα Γ και $0,659 \pm 0,199$ και $0,581 \pm 0,199$ για την ομάδα Δ (Μάρτυρας). Επιπλέον, οι τιμές του λόγου των συγκεντρώσεων νατρίου-καλίου τη 2η και την 5η ημέρα από την επανέναρξη της άμελξης ήταν αντίστοιχα $0,760 \pm 0,185$ και $0,639 \pm 0,185$ για την ομάδα Α, $0,971 \pm 0,202$ και $0,571 \pm 0,202$ για την ομάδα Β, $1,374 \pm 0,193$ και $0,652 \pm 0,193$ για την ομάδα Γ και $0,764 \pm 0,199$ και $0,653 \pm 0,199$ για την ομάδα Δ (Μάρτυρας).

Όσον αφορά τις φυλές, στο Διάγραμμα 39 παρατηρείται ότι πριν την επέμβαση ο λόγος των συγκεντρώσεων νατρίου-καλίου ήταν στα ίδια περίπου επίπεδα (Κ: $0,651 \pm 0,146$ · Χ: $0,633 \pm 0,129$), ενώ κατά την επανέναρξη της άμελξης η αύξηση του λόγου των συγκεντρώσεων νατρίου-καλίου ήταν μεγαλύτερη και της τάξεως του +281% στις προβατίνες της Καραγκούνικης φυλής ($2,479 \pm 0,146$) σε σχέση με τις προβατίνες της φυλής Χίου που η αύξηση ήταν μόλις +86% ($1,179 \pm 0,129$). Στη συνέχεια ακολούθησε μείωση του λόγου των συγκεντρώσεων νατρίου-καλίου και στις δύο φυλές και επιστροφή την 5η ημέρα στα ίδια περίπου επίπεδα με αυτά πριν την επέμβαση. Συγκεκριμένα, οι τιμές του λόγου των συγκεντρώσεων νατρίου-καλίου τη 2η και 5η ημέρα από την επανέναρξη της άμελξης ήταν αντίστοιχα $1,062 \pm 0,146$ και $0,675 \pm 0,146$ για τις προβατίνες της Καραγκούνικης φυλής και $0,872 \pm 0,129$ και $0,583 \pm 0,129$ για τις προβατίνες της φυλής Χίου. Επίσης, διαπιστώνεται ότι το διάγραμμα της συγκέντρωσης του νατρίου έχει την ίδια μορφή και στις δύο φυλές.



Διάγραμμα 39 Αλληλεπίδραση μεταξύ «φυλής» και «ημέρας δειγματοληψίας» στο λόγο των συγκεντρώσεων νατρίου - καλίου (Na:K)

-10, 1, 2, και 5: 10 ημέρες πριν και 1, 2 και 5 ημέρες μετά την επέμβαση

Η αύξηση του λόγου νατρίου-καλίου αποτελεί δείκτη της χαλάρωσης των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων του μαστού και οφείλεται στην ταυτόχρονη αύξηση της συγκέντρωσης του νατρίου και μείωση της συγκέντρωσης του καλίου στο γάλα (Allen, 1990· Stelwagen *et al.*, 1994b,

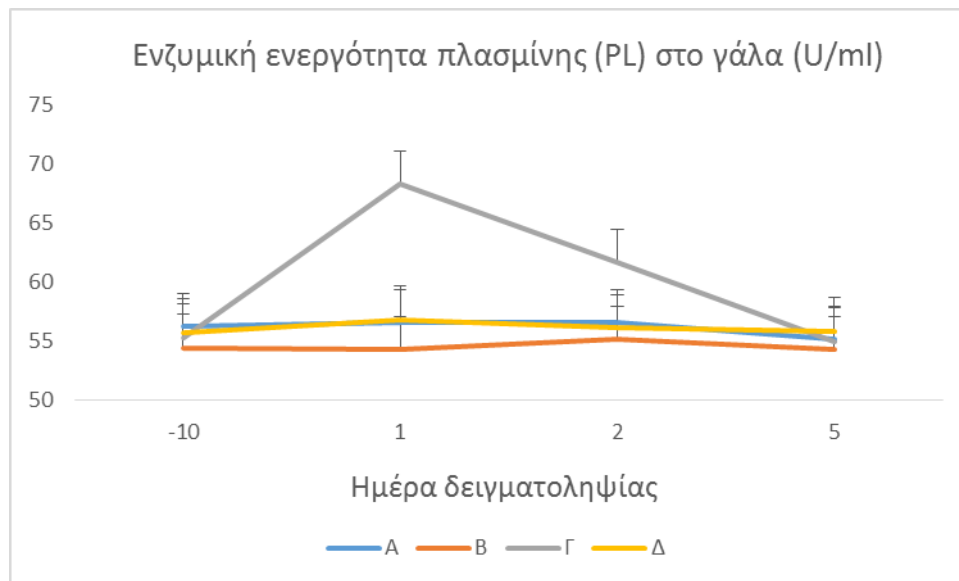
1995· Ben Chedly *et al.*, 2009). Επιπλέον, έχει διαπιστωθεί ότι η αύξηση του λόγου νατρίου-καλίου ευθύνεται για τη μείωση της έκκρισης του γάλακτος και όχι η αύξηση της ενδοκυτταρικής συγκέντρωσης του Na (Stelwagen *et al.*, 1999). Πράγματι, οι στενοσύνδεσμοι των επιθηλιακών κυττάρων είναι στενά συνδεδεμένοι με τον κυτταρικό σκελετό, ο οποίος παίζει σημαντικό ρόλο στη λειτουργία του κυττάρου (Fanning *et al.*, 1996). Οι αλλαγές στον κυτταροσκελετό προκαλούν τη μείωση της σύνθεσης της λακτόζης (Allen, 1990· Stelwagen *et al.*, 1997), γεγονός που ευθύνεται εν μέρει για τη μείωση της γαλακτοπαραγωγής όταν οι στενοσύνδεσμοι χαλαρώνουν (Stelwagen *et al.*, 1999). Συγκεκριμένα, η μείωση της σύνθεσης των πρωτεϊνών, λόγω της αύξησης της αναλογίας Na προς K έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση των ενζύμων που εμπλέκονται στη σύνθεση της λακτόζης. Η λακτόζη είναι η σημαντικότερη οσμωτική ουσία που καθορίζει τον όγκο του γάλακτος και κατά συνέπεια η μείωση της συγκέντρωσής της σε αυτό προκαλεί μείωση της έκκρισής του (Stelwagen *et al.*, 1999).

8.3 Επίδραση του διαστήματος διακοπής της άμελξης στο σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου γαλακτοπαραγωγών προβατινών

8.3.1. Πλασμίνη (ΠΛ, PL)

Από το Διάγραμμα 40 παρατηρείται ότι πριν από την επέμβαση η σύγκεντρωση της πλασμίνης (U/mL) ήταν στα ίδια περίπου επίπεδα και στις 4 ομάδες (A: 56,239±2,800· B: 54,432±2,811· Γ: 55,327±2,801· Δ: 55,765±2,812), ενώ κατά την επανέναρξη της άμελξης μετά την επέμβαση αυξήθηκε σημαντικά (+23,5%) μόνο στην ομάδα Γ (68,319±2,801) σε σχέση με τις ομάδες A (56,537±2,800), B (54,260±2,811) και Δ (56,852±2,812). Στη συνέχεια ακολούθησε σταδιακή μείωση της σύγκεντρωσης της πλασμίνης στην ομάδα Γ και επιστροφή στα ίδια επίπεδα με αυτά πριν από την επέμβαση την 5η ημέρα μετά την επανέναρξη της άμελξης (2η ημέρα: 61,684±2,801· 5η ημέρα 54,984±2,801). Αντίθετα, η συγκέντρωση της πλασμίνης παρέμεινε σταθερή στις υπόλοιπες ομάδες (2η ημέρα: A: 56,609±2,800· B: 55,165±2,811· Δ: 56,122±2,812· 5η ημέρα: A: 55,162±2,800· B: 54,270±2,811· Δ: 55,845±2,812).

Έρευνες από τους Stelwagen *et al.* (1994a· 2008) και O'Brien *et al.* (2002) έδειξαν ότι μακράς διάρκειας διαστήματα διακοπής της άμελξης επιφέρουν αύξηση της πρωτεολυτικής δράσης στο γάλα, η οποία πιθανολογείται πως συνδέεται με τη χαλάρωση των στενοσυνδέσμων των επιθηλιακών κυττάρων του μαστού. Συγκεκριμένα, στο πείραμα των Stelwagen *et al.* (2008) παρατηρήθηκε ότι η δράση της πλασμίνης δεν αυξήθηκε σημαντικά με την αύξηση του διαστήματος διακοπής της άμελξης, ενώ η δράση του πλασμινογόνου και η αναλογία των γ- και β-καζεϊνών αυξήθηκαν όσο μεγάλωνε ο χρόνος διακοπής της άμελξης. Η αύξηση της αναλογίας των γ- και β-καζεϊνών οφείλεται στη δράση της πλασμίνης, η οποία υδρολύει τις β-καζεΐνες (β-CN) παράγοντας τις γ-καζεΐνες (γ1-, γ2-, γ3-CN) και το συμπληρωματικό τους αμινοτελικό θερμοανθεκτικό πεπτίδιο, την πρωτεόζη-πεπτόνη (Andrews, 1983).



Διάγραμμα 40 Αλληλεπίδραση μεταξύ «πειραματικής ομάδας» και «ημέρας δειγματοληψίας» στην ενζυμική ενεργότητα της πλασμίνης (U/mL)

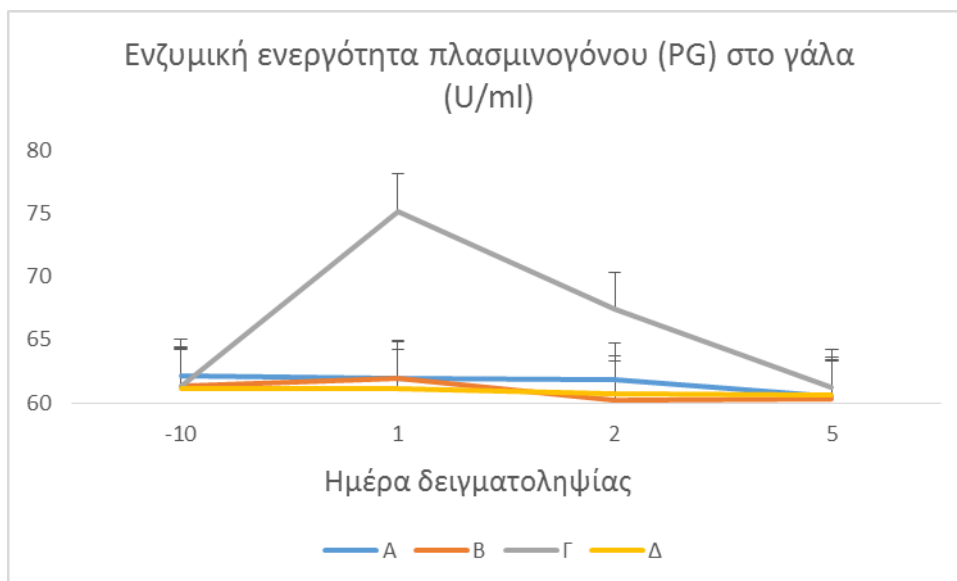
-10, 1, 2, και 5: 10 ημέρες πριν και 1, 2 και 5 ημέρες μετά την επέμβαση, Ομάδα Α: διακοπή άμελης 1 ημέρα, Ομάδα Β: διακοπή άμελης 2 ημέρες, Ομάδα Γ: διακοπή άμελης 3 ημέρες, Ομάδα Δ: Μάρτυρας – χωρίς διακοπή

Τα βιβλιογραφικά δεδομένα είναι αντικρουόμενα σε ότι αφορά την επίδραση του σταδίου της γαλακτικής περιόδου στο σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου.

Συγκεκριμένα, σε έρευνες των Richardson (1983b) και Politis *et al.* (1989b) και Bianchi *et al.* (2004) έχει παρατηρηθεί αύξηση της συγκέντρωσης της πλασμίνης, του πλασμινογόνου και του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου κατά το τέλος της γαλακτικής περιόδου, καθώς επίσης η αναλογία PG:PL μειώθηκε με την πρόοδο της γαλακτοπαραγωγής, γεγονός που υποδηλώνει την αυξημένη μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη προς το τέλος της γαλακτικής περιόδου. Αντίθετα, σε έρευνες των Albenzio *et al.* (2004· 2005) και Theodorou *et al.* (2007) έχει διαπιστωθεί μείωση της συγκέντρωσης της πλασμίνης και του πλασμινογόνου κατά το τέλος της γαλακτοπαραγωγής.

8.3.2. Πλασμινογόνο (ΠΓ, PG)

Από το Διάγραμμα 41 παρατηρείται ότι πριν από την επέμβαση η σύγκεντρωση του πλασμινογόνου (U/mL) ήταν στα ίδια περίπου επίπεδα και στις 4 ομάδες (Α: $62,109 \pm 2,916$ · Β: $61,335 \pm 3,045$ · Γ: $61,359 \pm 2,944$ · Δ: $61,170 \pm 3,038$), ενώ κατά την επανέναρξη της άμελης μετά την επέμβαση αυξήθηκε σημαντικά (+22,5%) μόνο στην ομάδα Γ ($75,149 \pm 2,944$) σε σχέση με τις ομάδες Α ($61,937 \pm 2,916$), Β ($61,925 \pm 3,045$) και Δ ($61,165 \pm 3,038$). Στη συνέχεια ακολούθησε σταδιακή μείωση της σύγκεντρωσης του πλασμινογόνου στην ομάδα Γ και επιστροφή στα ίδια επίπεδα με αυτά πριν από την επέμβαση την 5η ημέρα μετά την επανέναρξη της άμελης (2η ημέρα: $67,424 \pm 2,944$ · 5η ημέρα $61,279 \pm 2,944$). Αντίθετα, η συγκέντρωση του πλασμινογόνου παρέμεινε σταθερή στις υπόλοιπες ομάδες (2η ημέρα: Α: $61,849 \pm 2,916$ · Β: $60,255 \pm 3,045$ · Δ: $60,710 \pm 3,038$ · 5η ημέρα: Α: $60,479 \pm 2,916$ · Β: $60,272 \pm 3,045$ · Δ: $60,577 \pm 3,038$).



Διάγραμμα 41 Αλληλεπίδραση μεταξύ «πειραματικής ομάδας» και «ημέρας δειγματοληψίας» στην ενζυμική ενεργότητα του πλασμινογόνου (U/mL)

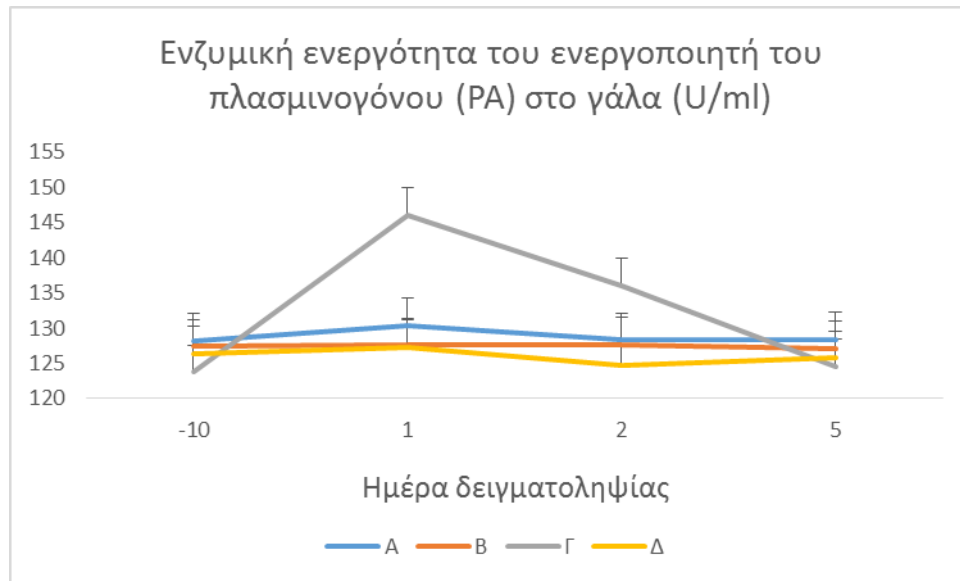
-10, 1, 2, και 5: 10 ημέρες πριν και 1, 2 και 5 ημέρες μετά την επέμβαση, **Ομάδα Α:** διακοπή άμελης 1 ημέρα, **Ομάδα Β:** διακοπή άμελης 2 ημέρες, **Ομάδα Γ:** διακοπή άμελης 3 ημέρες, **Ομάδα Δ:** Μάρτυρας – χωρίς διακοπή

Η πλασμίνη στο γάλα συναντάται κατά κύριο λόγο στην ανενεργή ή ζυμογόνα της μορφή που είναι το πλασμινογόνο (Haque *et al.*, 2015).

Παρόμοια αποτελέσματα με αυτά του πειράματος παρουσιάστηκαν και από την μελέτη των Stelwagen *et al.* (2008), οι οποίοι διαπίστωσαν ότι η σύγκεντρωση του πλασμινογόνου παρουσίασε αύξηση μετά από 18 ώρες διακοπής της άμελης.

8.3.3. Ενεργοποιητής πλασμινογόνου (ΕΠ, PA)

Από το Διάγραμμα 42 παρατηρείται ότι πριν από την επέμβαση η σύγκεντρωση του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (U/mL) ήταν στα ίδια περίπου επίπεδα και στις 4 ομάδες (Α: $128,227 \pm 3,847$ · Β: $127,417 \pm 3,847$ · Γ: $123,735 \pm 3,847$ · Δ: $126,330 \pm 3,847$), ενώ κατά την επανέναρξη της άμελης μετά την επέμβαση αυξήθηκε σημαντικά (+18%) μόνο στην ομάδα Γ ($146,077 \pm 3,847$) σε σχέση με τις ομάδες Α ($130,397 \pm 3,847$), Β ($127,570 \pm 3,847$) και Δ ($127,295 \pm 3,847$). Στη συνέχεια ακολούθησε σταδιακή μείωση της σύγκεντρωσης του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου στην ομάδα Γ και επιστροφή στα ίδια επίπεδα με αυτά πριν από την επέμβαση την 5η ημέρα μετά την επανέναρξη της άμελης (2η ημέρα: $136,017 \pm 3,847$ · 5η ημέρα $124,610 \pm 3,847$). Αντίθετα, η συγκέντρωση του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου παρέμεινε σταθερή στις υπόλοιπες ομάδες (2η ημέρα: Α: $128,282 \pm 3,847$ · Β: $127,710 \pm 3,847$ · Δ: $124,662 \pm 3,847$ · 5η ημέρα: Α: $128,370 \pm 3,847$ · Β: $127,157 \pm 3,847$ · Δ: $125,705 \pm 3,847$).



Διάγραμμα 42 Αλληλεπίδραση μεταξύ «πειραματικής ομάδας» και «ημέρας δειγματοληψίας» στην ενζυμική ενεργότητα του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (U/mL)

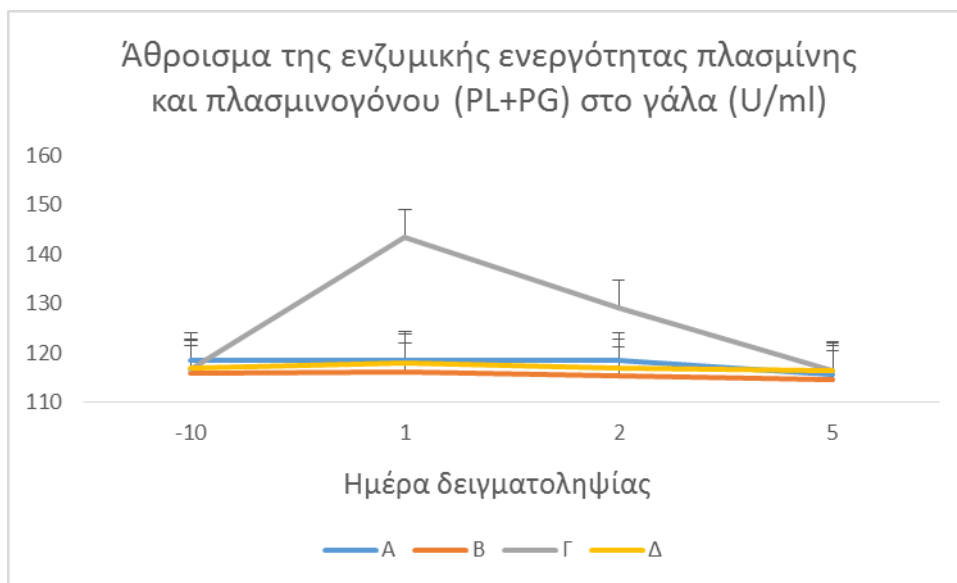
-10, 1, 2, και 5: 10 ημέρες πριν και 1, 2 και 5 ημέρες μετά την επέμβαση, Ομάδα Α: διακοπή άμελης 1 ημέρα, Ομάδα Β: διακοπή άμελης 2 ημέρες, Ομάδα Γ: διακοπή άμελης 3 ημέρες, Ομάδα Δ: Μάρτυρας – χωρίς διακοπή

Ο ενεργοποιητής του πλασμινογόνου ευθύνεται για τη μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη (Heegaard *et al.*, 1994).

Σε έρευνες των Bianchi *et al.* (2004) έχει παρατηρηθεί αύξηση της συγκέντρωσης της πλασμίνης και του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου κατά το τέλος της γαλακτικής περιόδου.

8.3.4. Άθροισμα ΠΛ+ΠΓ

Από το Διάγραμμα 43 διαπιστώνεται ότι πριν από την επέμβαση το άθροισμα πλασμίνης-πλασμινογόνου (U/mL) ήταν στα ίδια περίπου επίπεδα και στις 4 ομάδες (Α: $118,400 \pm 5,671$ · Β: $115,762 \pm 5,797$ · Γ: $116,676 \pm 5,691$ · Δ: $116,962 \pm 5,796$), ενώ κατά την επανέναρξη της άμελης μετά την επέμβαση αυξήθηκε σημαντικά (+23%) μόνο στην ομάδα Γ ($143,459 \pm 5,691$) σε σχέση με τις ομάδες Α ($118,525 \pm 5,671$), Β ($116,180 \pm 5,797$) και Δ ($118,044 \pm 5,796$). Στη συνέχεια ακολούθησε σταδιακή μείωση του αθροίσματος πλασμίνης-πλασμινογόνου στην ομάδα Γ και επιστροφή στα ίδια επίπεδα με αυτά πριν από την επέμβαση την 5η ημέρα μετά την επανέναρξη της άμελης (2η ημέρα: $129,099 \pm 5,691$ · 5η ημέρα $116,254 \pm 5,691$). Αντίθετα, το άθροισμα πλασμίνης-πλασμινογόνου παρέμεινε σταθερό στις υπόλοιπες ομάδες (2η ημέρα: Α: $118,510 \pm 5,671$ · Β: $115,415 \pm 5,797$ · Δ: $116,859 \pm 5,796$ · 5η ημέρα: Α: $115,692 \pm 5,671$ · Β: $114,537 \pm 5,797$ · Δ: $116,449 \pm 5,796$).



Διάγραμμα 43 Αλληλεπίδραση μεταξύ «πειραματικής ομάδας» και «ημέρας δειγματοληψίας» στα επίπεδα του αθροίσματος της ενζυμικής ενεργότητας πλασμίνης-πλασμινογόνου (PL+PG) (U/mL)

-10, 1, 2, και 5: 10 ημέρες πριν και 1, 2 και 5 ημέρες μετά την επέμβαση, **Ομάδα Α:** διακοπή άμελης 1 ημέρα, **Ομάδα Β:** διακοπή άμελης 2 ημέρες, **Ομάδα Γ:** διακοπή άμελης 3 ημέρες, **Ομάδα Δ:** Μάρτυρας – χωρίς διακοπή

Η σημαντική αύξηση του αθροίσματος πλασμίνης-πλασμινογόνου που παρατηρείται στην ομάδα Γ κατά την επανέναρξη της άμελης οφείλεται στις εξίσου αυξημένες τιμές της συγκέντρωσης της πλασμίνης και του πλασμινογόνου, όπως προκύπτει από τα Διαγράμματα 40 και 41.

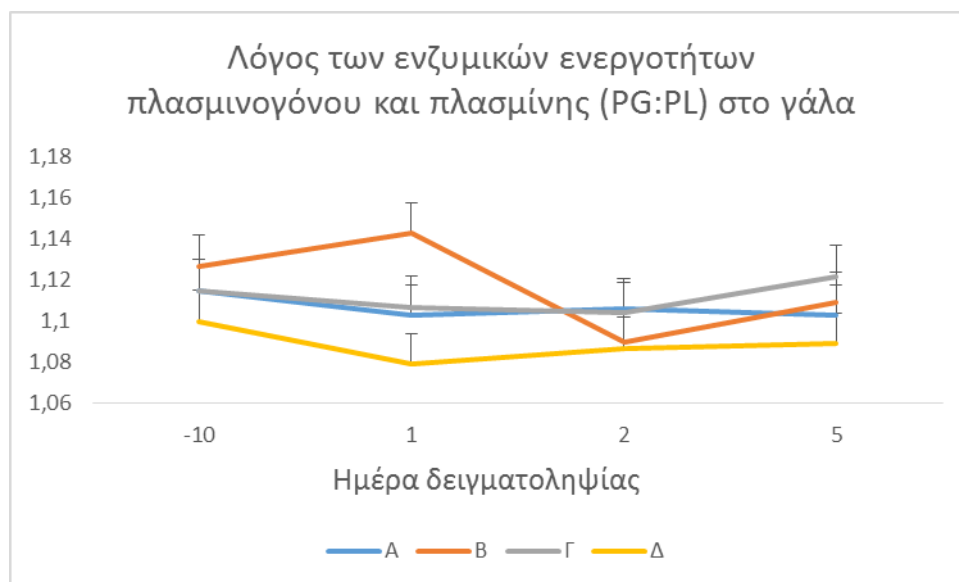
Το άθροισμα ΠΛ+ΠΓ αποτελεί δείκτη της ποσότητας της πλασμίνης, του πλασμινογόνου ή και των δύο, η οποία εισρέει από το αίμα στο γάλα, από τη στιγμή που το πλασμινογόνο δε βρίσκεται στο μαστικό αδέν (Politis, 1996). Στο πείραμα των Theodorou *et al.* (2007), όπου μελετήθηκε η επίδραση της φυλής, του σταδίου της γαλακτικής περιόδου και της υγιεινής κατάστασης του μαστού στο σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου, παρατηρήθηκε ότι η τιμή του αθροίσματος ΠΛ+ΠΓ ήταν χαμηλότερη στα πρόβατα που ανήκαν στη Μπούτσικη φυλή και παρουσίασαν τα χαμηλότερα επίπεδα γαλακτοπαραγωγής σε σχέση με αυτά που ανήκαν στη φυλή Χίου και παρουσίασαν τα υψηλότερα επίπεδα γαλακτοπαραγωγής. Η διαφορά αυτή του αθροίσματος δεν αποδόθηκε στα διαφορετικά επίπεδα γαλακτοπαραγωγής ανάμεσα στις φυλές διότι από τη στατιστική ανάλυση προέκυψε μη σημαντική επίδραση, αλλά στον παράγοντα φυλή.

8.3.5. Λόγος ΠΓ:ΠΛ

Από τη στατιστική ανάλυση προέκυψε ότι η αλληλεπίδραση μεταξύ «πειραματικής ομάδας» και «ημέρας δειγματοληψίας» είναι μη σημαντική ($P > 0,05$) που σημαίνει ότι ο λόγος πλασμινογόνου-πλασμίνης δε διαφοροποιείται μεταξύ των ομάδων. Πράγματι, από το Διάγραμμα 44 προκύπτει ότι ο λόγος πλασμινογόνου-πλασμίνης ισοδυναμεί περίπου με 1 και στις 4 ομάδες καθόλη την πειραματική διαδικασία. Πιο αναλυτικά, ο λόγος πλασμινογόνου-πλασμίνης πριν την επέμβαση και κατά την επανέναρξη της άμελης ήταν αντίστοιχα $1,115 \pm 0,015$ και $1,103 \pm 0,015$ στην ομάδα Α, $1,127 \pm 0,015$ και $1,143 \pm 0,015$ στην ομάδα Β, $1,115 \pm 0,015$ και $1,107 \pm 0,015$ στην ομάδα Γ και $1,100 \pm 0,015$ και $1,079 \pm 0,015$ στην ομάδα Δ. Επίσης, ο λόγος πλασμινογόνου-πλασμίνης τη 2η και

5η ημέρα μετά την επανέναρξη της άμελξης ήταν αντίστοιχα $1,106 \pm 0,015$ και $1,103 \pm 0,015$ στην ομάδα Α, $1,090 \pm 0,015$ και $1,109 \pm 0,015$ στην ομάδα Β, $1,104 \pm 0,015$ και $1,122 \pm 0,015$ στην ομάδα Γ και $1,087 \pm 0,015$ και $1,089 \pm 0,015$ στην ομάδα Δ.

Η μετατροπή του πλασμινογόνου σε πλασμίνη είναι πιο αποδοτική στο πρόβειο γάλα σε σχέση με το γάλα άλλων γαλακτοπαραγωγικών ειδών, κατά συνέπεια η αναλογία πλασμινογόνου προς πλασμίνη προκύπτει χαμηλή (Politis *et al.*, 1989b· Bianchi *et al.*, 2004· Albenzio *et al.*, 2004· Leitner *et al.*, 2004· Theodorou *et al.*, 2007).



Διάγραμμα 44 Αλληλεπίδραση μεταξύ «πειραματικής ομάδας» και «ημέρας δειγματοληψίας» στα επίπεδα του λόγου των ενζυμικών ενεργοτήτων πλασμινογόνου-πλασμίνης (PG:PL)

-10, 1, 2, και 5: 10 ημέρες πριν και 1, 2 και 5 ημέρες μετά την επέμβαση, Ομάδα Α: διακοπή άμελξης 1 ημέρα, Ομάδα Β: διακοπή άμελξης 2 ημέρες, Ομάδα Γ: διακοπή άμελξης 3 ημέρες, Ομάδα Δ: Μάρτυρας – χωρίς διακοπή

10. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Σύμφωνα με τα ευρήματα της παρούσας μελέτης τα διαφορετικά χρονικά διαστήματα διακοπής της άμελξης σε προβατίνες των φυλών Χίου και Καραγκούνικης, επηρέασαν σημαντικά την παραγωγή και τη χημική σύσταση του γάλακτος ($P \leq 0,001$), όπως τη λιποπεριεκτικότητα και την ημερήσια λιποπαραγωγή, την πρωτεϊνοπεριεκτικότητα και την ημερήσια πρωτεϊνοπαραγωγή, τα επίπεδα της λακτόζης, των ολικών στερεών και των ανόργανων στοιχείων (Na, K).

Οι ομάδες που επηρεάστηκαν σημαντικά από το διάστημα διακοπής της άμελξης ($P \leq 0,001$) ήταν αυτές στις οποίες εφαρμόστηκε διακοπή της άμελξης για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (ομάδες Β και Γ), ενώ οι διαφορές στην ομάδα Α ήταν μη σημαντικές. Ωστόσο, τα επίπεδα της γαλακτοπαραγωγής και των χημικών συστατικών των ομάδων Β και Γ επέστρεψαν σε παρόμοια επίπεδα με αυτά πριν την επέμβαση σε σύντομο χρονικό διάστημα.

Σε ότι αφορά το σύστημα πλασμίνης-πλασμινογόνου, οι συγκεντρώσεις της πλασμίνης, του πλασμινογόνου, του ενεργοποιητή του πλασμινογόνου καθώς και του αθροίσματος πλασμίνης-πλασμινογόνου επηρεάστηκαν σημαντικά ($P \leq 0,001$) μόνο στην ομάδα όπου εφαρμόστηκε διακοπή της άμελξης για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα (ομάδα Γ), ενώ ο λόγος πλασμινογόνου-πλασμίνης δε διαφοροποιήθηκε μεταξύ των 4 ομάδων.

Επιπλέον, η μείωση των συγκεντρώσεων της λακτόζης (ομάδες Β και Γ) και του καλίου (ομάδες Α, Β και Γ) που παρατηρήθηκε κατά την επανέναρξη της άμελξης, καθώς και η παράλληλη αύξηση των συγκεντρώσεων του νατρίου, του λόγου Na:K (ομάδες Β και Γ) και του συστήματος πλασμίνης-πλασμινογόνου (ομάδα Γ) αποτυπώνουν την εξέλιξη του φαινομένου της παλινδρόμησης του μαστού και της σύνδεσης του συστήματος πλασμίνης-πλασμινογόνου με αυτό.

Επομένως, η εφαρμογή του διαστήματος διακοπής της άμελξης στα πρόβατα επηρεάζει σημαντικά την παραγωγή και τη χημική σύσταση του γάλακτος καθώς και τη φυσιολογία του μαστού όταν έχει διάρκεια 2 ή 3 ημερών, αλλά οι διαφοροποιήσεις είναι αναστρέψιμες σε σύντομο χρονικό διάστημα.

Λαμβάνοντας υπόψη όλα τα παραπάνω, γίνεται αντιληπτό ότι η διακοπή της άμελξης μέχρι και 3 ημέρες στο τέλος της γαλακτικής περιόδου δεν έχει αρνητικές μη αναστρέψιμες επιπτώσεις στο επίπεδο της γαλακτοπαραγωγής, στη χημική σύνθεση του γάλακτος και στη φυσιολογία του μαστού. Αντικείμενο περαιτέρω μελέτης θα μπορούσε να αποτελέσει η αναζήτηση του διαστήματος διακοπής της άμελξης στα πρόβατα του οποίου η επίδραση να έχει μη αναστρέψιμα αποτελέσματα, με στόχο την αποφυγή του στα πλαίσια του συστήματος διαχείρισης εκτροφής. Επιπλέον, θα μπορούσε να αναζητηθεί η ακριβής χρονική στιγμή που συντελείται η αύξηση της λιποπεριεκτικότητας μετά τη διακοπή της άμελξης ώστε να συνδεθεί με τυχόν παράγοντες που την επηρεάζουν.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ζυγογιάννης, Δ. (2014). Προβατοτροφία. Τρίτη Έκδοση. Εκδόσεις Σύγχρονη Παιδεία.
- Καμιναρίδης, Σ & Μοάτσου, Γ. (2009). Γαλακτοκομία. Εκδόσεις Έμβρυο.
- Ρογδάκης, Ε. (2006). Γενική Ζωοτεχνία. Εκδόσεις Σταμούλη.
- Σμοκοβίτης, Α. (2013). Φυσιολογία. Έβδομη έκδοση. Εκδοτικός Οίκος Αδελφών Κυριακίδη.

ΞΕΝΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aganga, A.A., Amarteifio, J.O., Nkile, N. (2002). Effect of Stage of Lactation on Nutrient Composition of Tswana Sheep and Goat's Milk. *Journal of food composition and analysis*, 15: 533–543.
- Aggeler, J., Risch, J., Werb, Z. (1981). Expression of the catalytic activity of plasminogen activator under physiological conditions. *Biochimica et Biophysica Acta*, 675: 62–68.
- Albenzio, M., Caroprese, M., Santillo, A., Marino, R., Taibi, L., Sevi, A. (2004). Effects of somatic cell count and stage of lactation on the plasmin activity and cheese-making properties of ewe milk. *Journal of Dairy Science*, 87: 533–542.
- Albenzio, M., Caroprese, M., Santillo, A., Marino, R., Muscio, A., Sevi, A. (2005). Proteolytic patterns and plasmin activity in ewes' milk as affected by somatic cell count and stage of lactation. *Journal of Dairy Research*, 72: 86–92.
- Albenzio, M., Santillo, A., Caroprese, M., D'Angelo, F., Marino, R., Sevi, A. (2009). Role of endogenous enzymes in proteolysis of sheep milk. *Journal of Dairy Science*, 92:79–86.
- Alichanidis, E. & Polychroniadou, A. (1996). Special features of dairy products from sheep and goat milk from the physicochemical and organoleptic point of view. In: *International Dairy Federation (Ed.), Production and Utilization of Sheep and Goat Milk*. International Dairy Federation, Brussels, p. 21–43.
- Allen, J. C. (1988). Sodium and potassium content and viability of mouse mammary gland tissue and acini. *Journal of Dairy Science*, 71: 633–642.
- Allen, J. C. (1990). Milk synthesis and secretion rates in cows with milk composition changed by oxytocin. *Journal of Dairy Science*, 73: 975–984.
- Alonso, L., Fontecha, J., Lozada, L., Fraga, M.J., Juárez, M. (1999). Fatty acid composition of caprine milk: major, branched chain and trans fatty acids. *Journal of Dairy Science*, 82: 878–884.
- Andrews, A.T. (1983). Proteinases in normal bovine milk and their action on caseins. *Journal of Dairy Research*, 50: 45-55.

- Anifantakis, E.M. (1986). Comparison of the physico-chemical properties of ewe's and cow's milk. In: International Dairy Federation (Ed.), Proceedings of the IDF Seminar Production and Utilization of Ewe's and Goat's Milk, Bulletin No. 202. Athens, Greece, p. 42–53.
- Anifantakis, E.M., Rosakis, B., Ramou, C. (1980). Travaux Scientifiques de l'Institut Technologique Supérieur des Industries Alimentaires (Scientific work of the Technology Institut for Nutrition Industries). Plovdiv, Bulgaria, Tom, XXVII, CB1.
- Arruda, A.G., Godden, S., Rapnicki, P., Gorden, P., Timms, L., Aly, S.S., Lehenbauer, T.W., Champagne, J. (2013). Randomized noninferiority clinical trial evaluating 3 commercial dry cow mastitis preparations: I. Quarter-level outcomes. *Journal of Dairy Science*, 96: 4419–4435.
- Attaie, R. & Richter, R.L. (2000). Size distribution of fat globules in goat milk. *Journal of Dairy Science*, 83 (5): 940–944.
- Bachman, K.C. (2002). Milk production of dairy cows treated with estrogen at the onset of a short dry period. *Journal of Dairy Science*, 85: 797–803.
- Bachman, K.C. & Schairer, M.L. (2003). Invited review: Bovine studies on optimal lengths of dry periods. *Journal of Dairy Science*, 86: 3027–3037.
- Baldi, A., Savoini, G., Cheli, F., Fantuz, F., Senatore, E., Bertocchi, L., Politis, I. (1996). Changes in plasmin-plasminogen-plasminogen activator system in milk from Italian Friesian Herds. *International Dairy Journal*, 6: 1045–1053.
- Baldi, A., Savoini, G., Pinotti, L., Monfardini, E., Cheli, F., Dell'Orto, V. (2000). Effects of vitamin E and different energy sources on vitamin E status, milk quality and reproduction in transition cows. *Journal of Veterinary Association Physiology, Pathology and Clinical Medicine*, 47: 599–608.
- Banda, J.W. (1999). Lactation Pattern and Milk Composition of Sheep and Goats in Malawi. *Uniswa J. Journal of Agricultural Science and Technology*, 3: 84–88.
- Bastian, E.D. & Brown, R.J. (1996). Plasmin in milk and dairy products: An update. *International Dairy Journal*, 6: 435–457.
- Bastian, E.D., Brown, R.J., Ernstrom, C.A. (1991). Plasmin Activity and Milk Coagulation. *Journal of Dairy Science*, 74: 3677-3685.
- Ben Chedly, H., Lacasse, P., Marnet, P.G., Wiart-Letort, S., Finot, L., Boutinaud, M. (2009). Cell junction disruption after 36 h milk accumulation was associated with changes in mammary secretory tissue activity and dynamics in lactating dairy goats. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 60, Suppl 2: 105-111.
- Bergonier, D., de Crémoux, R., Rupp, R., Lagriffoul, G., Berthelot, X. (2003). Mastitis of dairy small ruminants. *Veterinary Research*, 34: 689–716.
- Bernier-Dodier, P., Girard, C.L., Talbot, B.G., Lacasse, P. (2011). Effect of dry period management on mammary gland function and its endocrine regulation in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94: 4922–4936.

- Bertulat, S., Fischer-Tenhagen, C., Suthar, V., Möstl, E., Isaka, N., Heuwieser, W. (2013). Measurement of fecal glucocorticoid metabolites and evaluation of udder characteristics to estimate stress after sudden dry-off in dairy cows with different milk yields. *Journal of Dairy Science*, 96: 3774–3787.
- Betzold, C.M. (2007). An update on the recognition and management of lactational breast inflammation. *Journal of Midwifery & Women's Health*, 52: 595–605.
- Bhutto, A.L., Murray, R.D., Woldehiwet, Z. (2011). The effect of dry cow therapy and internal teat-sealant on intra-mammary infections during subsequent lactation. *Research in Veterinary Science*, 90: 316–320.
- Bhutto, A.L., Murray, R.D., Woldehiwet, Z. (2012). California mastitis test scores as indicators of subclinical intra-mammary infections at the end of lactation in dairy cows. *Research in Veterinary Science*, 92: 13–17.
- Bianchi, L., Bolla, A., Budelli, E., Caroli, A., Casoli, C., Pauselli, M., Duranti, E. (2004). Effect of udder health status and lactation phase on the characteristics of Sardinian ewe milk. *Journal of Dairy Science*, 87: 2401–2408.
- Bocquier, F. & Caja, G. (2001). Production et composition du lait de brebis: Effets dell'alimentation (production and composition of sheep milk: effects of nutrition). *INRA Production Animal*, 14: 129–140.
- Boston, W.S., Bleck, G.T., Conroy, J.C., Wheeler, M.B., Miller, D.J. (2001). Short communication: Effects of increased expression of alpha-lactalbumin in transgenic mice on milk yield and pup growth. *Journal of Dairy Science*, 84(3): 620-622.
- Boutinaud, M., Ben Chedly, M.H., Delamaire, E., Guinard-Flament, J. (2008). Milking and feed restriction regulate transcripts of mammary epithelial cells purified from milk. *Journal of Dairy Science*, 91(3): 988-998.
- Bradley, A.J. & Green, M.J. (2004). The importance of the non lactating period in the epidemiology of intramammary infection and strategies for prevention. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 20: 547–568.
- Brown, J.R., Law, A.J., Knight, C.H. (1995). Changes in casein composition of goats' milk during the course of lactation: Physiological inferences and technological implications. *Journal of Dairy Research*, 62: 431-439.
- Bushe, T. & Oliver, S.P. (1987). Natural protective factors in bovine mammary secretions following different methods of milk cessation. *Journal of Dairy Science*, 70: 696–704.
- Butler, W.R. & Smith, R.D. (1989). Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 72: 767–783.
- Butte, N., Lopez-Alarcon, M.G., Garza, C. (2002). Nutrient Adequacy of Exclusive Breastfeeding for the Term Infant During the First Six Months of Life. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

- Caja, G., Salama, A.A.K., Such, X. (2006). Omitting the dry-off period negatively affects colostrum and milk yield in dairy goats. *Journal of Dairy Science*, 89: 4220–4228.
- Cameron, M., Keefe, G.P., Roy, J.P., Dohoo, I.R. MacDonald, K.A., McKenna, S.L. (2013). Evaluation of a 3M Petrifilm on-farm culture system for the detection of intramammary infection at the end of lactation. *Preventive Veterinary Medicine*, 111: 1–9.
- Cameron, M., McKenna, S.L., MacDonald, K.A., Dohoo, I.R., Roy, J.P., Keefe, G.P. (2014). Evaluation of selective dry cow treatment following on-farm culture: Risk of postcalving intramammary infection and clinical mastitis in the subsequent lactation. *Journal of Dairy Science*, 97: 270–284.
- Campbell, J.R. & Marshall, R.T. (1975). *The Science of Providing Milk for Man*. McGraw-Hill Book Co., New York, NY, p. 801.
- Capuco, A.V. & Akers, R.M. (1999). Mammary involution in dairy animals. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 4: 137-144.
- Capuco, A.V., Akers, R.M., Smith, J.J. (1997). Mammary growth in Holstein cows during the dry period: Quantification of nucleic acids and histology. *Journal of Dairy Science*, 80: 477–487.
- Champagne, C.P., Laing, R.R., Roy, D., Mafu, A.A., Griffiths, M.W. (1994). Psychrotrophs in dairy products: Their effects and their control. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34: 1–30.
- Chapinal, N., Zobel, G., Painter, K., Leslie, K.E. (2014). Changes in lying behavior after abrupt cessation of milking and regrouping at dry-off in freestall-housed cows: A case study. *Journal of Veterinary Behavior Clinical Applications and Research*, 9: 362–369.
- Charismiadou, M., Karla, G., Theodorou, G., Goliomytis, M., Politis, I. (2015). The effect of health status of the udder on plasminogen activator activity of milk somatic cells in ovine milk. *Small Ruminant Research*, 133: 54–57.
- Chilliard, Y., Ferlay, A., Rouel, J., Lamberet, G. (2003). A review of nutritional and physiological factors affecting goat milk synthesis and lipolysis. *Journal of Dairy Science*, 86: 1751–1770.
- Chilliard, Y., Rouel, J., Ferlay, A., Bernard, L., Gaborit, P., Raynal-Ljutovac, K., Lauret, A. (2005). Effects of type of forage and lipid supplementation on goat milk fatty acids and sensorial properties of cheeses. In: *Future of the Sheep and Goat Dairy Sector*, IDF 0501, part 5, pp. 297–304.
- Chiofalo, B., Liotta, L., Zumbo, A., Chiofalo, V. (2004). Administration of olive cake for ewe feeding: effect on milk yield and composition. *Small Ruminant Research*, 55: 169–176.
- Choi, L.H., Were, L.M., Nielsen, S.S. (2006). Effects of incubation temperature and salt concentration on plasminogen activators in cheese curd. *International Dairy Journal*, 16: 609–618.
- Collier, R.J., Annen, E.L., Fitzgerald, A.C. (2004). Prospects for zero days dry. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice*, 20: 687–701.

- Cousin, M.A. (1982). Presence and activity of psychrotrophic microorganisms in milk and dairy products: A review. *Journal of Food Protection*, 45: 172–207.
- Croft, A., Duffield, T., Menzies, P., Leslie, K., Bagg, R., Dick, P. (2000). The effect of tilmicosin administered to ewes prior to lambing on incidence of clinical mastitis and subsequent lamb performance. *Canadian Veterinary Journal*, 41: 306–311.
- Cromie, S. (1992). Psychrotrophs and their enzyme residues in cheese milk. *Australian Journal of Dairy Technology*, 48: 96–100.
- Crudden, A., Fox, P.F., Kelly, A.L. (2005). Factors affecting the hydrolytic action of plasmin in milk. *International Dairy Journal*, 15: 305–313.
- Dalley, D.E. & Davis, S.R. (2006). Effect of an extended milking interval on recovery of milk yield and somatic cell count in dairy cows. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 66: 241–244.
- Davis, S.R., Farr, V.C., Copeman, P.J.A., Carruthers, V.R., Knight, C.H., Stelwagen, K. (1998). Partitioning of milk accumulation between cisternal and alveolar compartments of the bovine udder: relationship to production loss on once-daily milking. *Journal of Dairy Research*, 65: 1-8.
- Davis, S.R., Farr, V.C., Stelwagen, K. (1999). Regulation of yield loss and milk composition during once-daily milking: a review. *Livestock Production Science*, 59: 77–94.
- Dawkins, M.S. (1988). Behavioural deprivation: A central problem in animal welfare. *Applied Animal Behaviour Science*, 20: 209–225.
- D’Eath, R. B., Tolkamp, B.J., Kyriazakis, I., Lawrence, A.B. (2009). “Freedom from hunger” and preventing obesity: The animal welfare implications of reducing food quantity or quality. *Animal Behaviour*, 77: 275–288.
- De Feu, M.A., Evans, A.C.O., Lonergan, P., Butler, S.T. (2009). The effect of dry period duration and dietary energy density on milk production, bioenergetic status, and postpartum ovarian function in Holstein-Friesian dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92: 6011–6022.
- DeSantiago, S., Torres, N., Suryawan, A., Tovar, A.R., Hutson, S.M. (1998). Regulation of branched-chain amino acid metabolism in the lactating rat. *Journal of Nutrition*, 128: 1165–1171.
- Devendra, C. & McLeory, G.B. (1988). *Goats and Sheep Production in the Tropics*. p. 106. Longman Publisher Pte Ltd., Singapore.
- Diaz, O., Gouldsworthy, A.M., Leaver, J. (1996). Identification of peptides released from casein micelles by limited trypsinolysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44: 2517-2522.
- Dingwell, R.T., Kelton, D.F., Leslie, K.E. (2003). Management of the dry cow in control of peripartum disease and mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 19: 235–265.

- Dohoo, I. & Leslie, K. (1991). Evaluation of changes in somatic cell counts as indicators of new intramammary infections. *Preventive Veterinary Medicine*, 10: 225–237.
- Dufour, S., Fréchette, A., Barkema, H.W., Mussell, A., Scholl, D.T. (2011). Invited review: Effect of udder health management practices on herd somatic cell count. *Journal of Dairy Science*, 94: 563–579.
- Edmondson, M.A. & Pugh, D.G. (2004). Pregnancy toxemia in sheep and goats. In: *Current Veterinary Therapy Food Animal Practice*. D. E. Anderson and D. M. Rings, ed. Saunders Elsevier, St. Louis, MO, p. 144–145.
- Enright, E., Bland, A.P., Needs, E.C., Kelly, A.L. (1999). Proteolysis and physicochemical changes in milk on storage as affected by UHT treatment, plasmin activity and KIO₃ addition. *International Dairy Journal*, 9: 581–591.
- Ewings, K.N., O'Connor, R.E., Mitchell, G.E. (1984). Proteolytic microflora of refrigerated raw milk is South East Queensland. *Australian Journal of Dairy Technology*, 40: 65–68.
- Fajardo-Lira, C.E. & Nielsen, S.S. (1998). Effect of psychrotrophic microorganisms on the plasmin system in milk. *Journal of Dairy Science*, 81: 901–908.
- Fajardo-Lira, C., Oria, M., Hayes, K.D., Nielsen, S.S. (2000). Effect of psychrotrophic bacteria and of an isolated protease from *Pseudomonas fluorescens* M3/6 on the plasmin system of fresh milk. *Journal of Dairy Science*, 83: 2190–2199.
- Fanning, A.S., Lapierre, L.A., Brecher, A.R., Van Itallie, C.M, Anderson, J.M. (1996). Protein interactions in the tight junction: the role of MAGUK proteins in regulating tight junction organization and function. *Current Topics in Membranes*, 43: 211–235.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (2017). www.fao.org
- Farkye, N.Y. & Fox, P.F. (1990). Observations on plasmin activity in cheese. *Journal of Dairy Research*, 57: 412.
- Farr, V.C., Stelwagen, K., Davis, S.R. (1998). Rates of recovery of milk yield and composition following milking intervals of varying length. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 58: 47-48.
- Faulkner, A., Blatchford, D.R., White, J.M., Peaker, M. (1982). Changes in the concentrations of metabolites in milk at the onset and cessation of lactation in the goat. *Journal of Dairy Research*, 49: 399-405.
- Fleet, I.R. & Peaker, M. (1978). Mammary function and its control at the cessation of lactation in the goat. *The Journal of Physiology*, 279: 491-507.
- Ford, J.E., Schroeder, M.J.A., Bland, M.A., Blease, K.S., Scott, K.J. (1986). Keeping quality of milk in relation to the copper content and temperature of pasteurization. *Journal of Dairy Research*, 53: 391-406.

- Fowler, P.A., Knight, C.H, Foster, M.A. (1991). Omitting the dry period between lactations does not reduce subsequent milk production in goats. *Journal of Dairy Research*, 58: 13–19.
- Fox, L., Hancock, D., Horner, S. (1992). Selective intramammary antibiotic therapy during the nonlactating period in goats. *Small Ruminant Research*, 9: 313–318.
- Fox, P.F. (1981). Proteinases in dairy technology. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 35: 233–253.
- Fox, P.F., Law, J., MacSweeney, P.L.H., Wallace, J. (1993). Biochemistry of cheese ripening. Pages 389–438 in *Cheese: Chemistry Physics and Microbiology*, Vol. I. General Aspects. P. F. Fox, ed. Chapman & Hall, London, UK.
- Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M., McSweeney, P.L.H. (2000). *Fundamentals of Cheese Science*. Aspen Publishers Inc., Gaithersburg, MD.
- Frohbieter, K.A., Ismail, B., Nielsen, S.S., Hayes, K.D. (2005). Effects of *Pseudomonas fluorescens* M3/6 bacterial protease on plasmin system and plasminogen activation. *Journal of Dairy Science*, 88: 3392–3401.
- Furth, P.A. (1999). Mammary gland involution and apoptosis of mammary epithelial cells. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 4 (2): 123-127.
- Gilmore, J., White, J.H., Zavizion, B., Politis, I. (1995). Effect of stage of lactation and somatic cell count on plasminogen activator activity in bovine milk. *Journal of Dairy Research*, 62: 141–145.
- Gipson, T.A. & Grossman, M. (1990). Lactation curves in dairy goats: A review. *Small Ruminant Research*, 3: 383–396.
- Godden, S., Rapnicki, P., Stewart, S., Fetrow, J., Johnson, A., Bey, R., Farnsworth, R. (2003). Effectiveness of an internal teat seal in the prevention of new intramammary infections during the dry and early-lactation periods in dairy cows when used with a dry cow intramammary antibiotic. *Journal of Dairy Science*, 86: 3899–3911.
- Gonzalo, C., Tardáguila, J.A., De La Fuente, L.F., San Primitivo, F. (2004). Effects of selective and complete dry therapy on prevalence of intramammary infection and on milk yield in the subsequent lactation in dairy ewes. *Journal of Dairy Research*, 71: 33–38.
- Goudjil, H., Fontecha, J., Luna, P., Fuente de la, M.A., Alonso, L., Juárez, M. (2004). Quantitative characterization of unsaturated and trans fatty acids in ewe's milk fat. *Lait*, 84: 473–482.
- Grandison, A. (1986). Causes of variation in milk composition and their effects on coagulation and cheese making. *Dairy Industries International*, 51: 21-24.
- Grandpierre, C., Ghisolfi, J., Thouvenot, J.P. (1988). Etude biochimique du lait de chèvre. *Cahiers De Nutrition Et De Diététique*, 23 (5): 367–374.
- Green, K.A. & Streuli, C.H. (2004). Apoptosis regulation in the mammary gland. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 61 (15): 1867-1883.

- Grufferty, M.B. & Fox, P.F. (1988). Milk alkaline proteinase. *Journal of Dairy Research*, 55: 609–630.
- Guinot-Thomas, P., Al Ammouy, M., Le Roux, Y., Laurent, F. (1995). Study of proteolysis during storage of raw milk at 4°C: Effect of plasmin and microbial proteinases. *International Dairy Journal*, 5: 685–697.
- Gulay, M.S., Hayen, M.J., Bachman, K.C., Belloso, T., Liboni, M., Head, H.H. (2003). Milk production and feed intake of Holstein cows given short (30-d) or normal (60-d) dry periods. *Journal of Dairy Science*, 86: 2030–2038.
- Guo, M. (2003). Goat's milk. In: Caballero, B., Trugo, L., Finglas, P. (Eds.), *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Academic Press, London, UK, p. 2944–2949.
- Haenlein, G.F.W. & Caccese, R. (1984). Goat milk versus cow milk. In: Haenlein, G.F.W., Ace, D.L. (Eds.), *Extension Goat Handbook*. USDA Publ., Washington, DC, p. 1, E-1.
- Haenlein, G.F.W. & Wendorff, W.L. (2006). Sheep milk—production and utilization of sheep milk. In: Park, Y.W., Haenlein, G.F.W. (Eds.), *Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals*. Blackwell Publishing Professional, Oxford, UK, and Ames, Iowa, USA, p. 137–194.
- Halasa, T., Østerås, O., Hogeveen, H., van Werven, T., Nielsen, M. (2009). Meta-analysis of dry cow management for dairy cattle. Part 1. Protection against new intramammary infections. *Journal of Dairy Science*, 92: 3134–3149.
- Haque, N., Singh, M., Hossain, S.A. (2015). PA-PG-PL System in Dairy Animals and its Significance: A Review. *International Journal of Dairy Science*, 10 (3): 95-106.
- Harmeyer, J. & Schlumbohm, C. (2006). Pregnancy impairs ketone body disposal in late gestating ewes: Implications for onset of pregnancy toxemia. *Research in Veterinary Science*, 81: 254–264.
- Heegaard, C.W., Rasmussen, L.K., Andreasen, P.A. (1994a). The plasminogen activation system in bovine milk: Differential localization of tissue-type plasminogen activator and urokinase in milk fractions is caused by binding to casein and urokinase receptor. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1222: 45-55.
- Heegaard, CW., Christensen, T., Rasmussen, M.D., Benfeldt, C., Jensen, K., Petersen, T.E., Andreasen, P.A. (1994b). Plasminogen activators in bovine milk during mastitis, an inflammatory disease. *Fibrinolysis*, 8: 22–29.
- Heermeier, K., Benedict, M., Li, M.L., Furth, P., Nunez, G., Henninghausen, L. (1996). Bax and Bcl-X(S) are induced at the onset of apoptosis in involuting mammary epithelial cells. *Mechanisms of Development*, 56(1-2): 197-207.
- Hernandez, F., Elvira, L., Gonzalez-Martin, J-V., Astiz, S. (2012). Influence of dry period length on reproductive performance and productivity of Lacaune dairy sheep under an intensive management system. *Journal of Dairy Research*, 79: 352–360.

- Hervas, G., Ramella, J.L., Lopez, S., Gonzalez, J.S., Mantecon, A.R. (2006). Effect of omitting one or two milkings weekly on lactational performance in dairy ewes. *Journal of Dairy Research*, 73: 207–215.
- Hurley, W.L. (1989). Mammary gland function during involution. *Journal of Dairy Science*, 72: 1637-1646.
- Huxley, J.N., Greent, M.J., Green, L.E., Bradley, A.J. (2002). Evaluation of the efficacy of an internal teat sealer during the dry period. *Journal of Dairy Science*, 85: 551–561.
- IASP (International Association for the Study of Pain). (1994). Part III: Pain terms, a current list with definitions and notes on usage. In: *Classification of Chronic Pain*. H. Merskey and N. Bogduk, ed. ISAP Press, Seattle, WA, p. 209–214.
- IDF. (2007). Milk and milk products: Determination of sodium, potassium, calcium and magnesium contents. Method by flame atomic absorption spectrometric method. In *Joint Standard IDF 119/ISO 8070*. International Dairy Federation, Brussels, Belgium, and International Organisation for Standardisation, Geneva, Switzerland.
- Ismail, B. & Nielsen, S.S. (2010). Invited review: Plasmin protease in milk: Current knowledge and relevance to dairy industry. *Journal of Dairy Science*, 93: 4999–5009.
- Jenness, R. (1980). Composition and characteristics of goat milk: review 1968–1979. *Journal of Dairy Science*, 63: 1605–1630.
- Jensen, R.G. (2002). The composition of bovine milk lipids: January 1995 to December 2000. *Journal of Dairy Science*, 85: 295–350.
- Johnstone, A. (2013). Protein and satiety. In: *Satiation, Satiety and the Control of Food Intake*. J. E. Blundell and F. Bellisle, ed. Woodhead Publ., Cambridge, England, p. 128–142.
- Jolicoeur, M.S., Brito, A.F., Santschi, D.E., Pellerin, D., Lefebvre, D., Berthiaume, R., Girard, C.L. (2014). Short dry period management improves peripartum ruminal adaptation in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97: 7655–7667.
- Juárez, M. & Ramos, M. (1986). Physico-chemical characteristics of goat milk as distinct from those of cow milk. In: *International Dairy Federation (Ed.), Proceedings of the IDF Seminar Production and Utilization of Ewe's and Goat's Milk*, Bulletin No. 202. Athens, Greece, p. 54–67.
- Keeling, L.J., Algers, B., Blokhuis, H., Boissy, A., Lidfors, L., Mendl, M., Oppermann-Moe, R., Paul, E., Uvnas-Moberg, K., Zanella, A. (2008). Looking on the bright side of life: Reward, positive emotions and animal welfare. In: *42nd Int. Congr. ISAE Proc.*, Dublin, Ireland. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands, p. 3.
- Kern, G., Traulsen, I., Kemper, N., Krieter, J. (2013). Analysis of somatic cell counts and risk factors associated with occurrence of bacteria in ewes of different primary purposes. *Livestock Science*, 157: 597–604.

- Khorshidie, R., Shadparvar, A.A., Hossein-Zadeh, N.G., Shakalgarabi, S.J. (2012). Genetic trends for 305-day milk yield and persistency in Iranian Holsteins. *Livestock Science*, 144: 211–217.
- Knight, C.H. & Wilde, C.J. (1988). Milk production in concurrently pregnant and lactating goats mated out of season. *Journal of Dairy Research*, 55: 487–493.
- Kohlmann, K.L., Nielsen, S.S., Ladisch, M.R. (1991). Effects of a low concentration of added plasmin on ultra-high temperature processed milk. *Journal of Dairy Science*, 74: 1151–1156.
- Komara, M., Boutinaud, M., Ben Chedly, H., Guinard-Flament, J., Marnet, P.G. (2009). Once-daily milking effects in high-yielding Alpine dairy goats. *Journal of Dairy Science*, 92: 11.
- Konar, A., Thomas, P.C., Rook, J.A.F. (1971). The concentrations of some water-soluble constituents in the milks of cows, sows, ewes and goats. *Journal of Dairy Research*, 38: 333.
- Koop, G., De Vliegher, S., De Visscher, A., Supré, K., Haesebrouck, F., Nielen, M., van Werven, T. (2012). Differences between coagulase-negative *Staphylococcus* species in persistence and in effect on somatic cell count and milk yield in dairy goats. *Journal of Dairy Science*, 95: 5075–5084.
- Koutsouli, P., Patounas, G., Massouras, Th., Bizelis, I., Politis, I. (2015). Plasmin–plasminogen system and milk coagulation properties of two Greek dairy sheep breeds. *Small Ruminant Research*, 124: 89–94.
- Koutsouli, P., Simitzis, P., Theodorou, G., Massouras, Th., Bizelis, I., Politis, I. (2017). The effect of milking frequency reduction from twice to once daily on mammary physiology and animal welfare of two dairy Greek sheep breeds. *Small Ruminant Research*, 147: 18–24.
- Kuhn, M.T., Hutchison, J.L., Norman, H.D. (2006). Dry period length to maximize production across adjacent lactations and lifetime production. *Journal of Dairy Science*, 89: 1713–1722.
- Lacy-Hulbert, S.J., Woolford, M.W., Nicholas, G.D., Prosser, C.G., Stelwagen, K. (1999). Effect of milking frequency and pasture intake on milk yield and composition of late lactation cows. *Journal of Dairy Science*, 82: 1232–1239.
- Larson, B.L. & Smith, V.R. (Eds.), (1974). *Lactation*, vol. 4. Academic Press, New York, p. 1994.
- Larson, N.K., Ismail, B., Nielsen, S.S., Hayes, K.D. (2006). Activity of *Bacillus polymyxa* protease on components of the plasmin system in milk. *International Dairy Journal*, 16: 586–592.
- Lawrence, R.A., & Lawrence, R.M. (2011). Engorgement. In: *Breastfeeding—A Guide for the Medical Professional*. Mosby (Elsevier Inc.), Maryland Heights, MO, p. 1078–1081
- Le Bars, D. & Gripon, J.C. (1989). Specificity of plasmin towards bovine α S2-casein. *Journal of Dairy Research*, 56: 817–821.
- Leitner, G., Chaffer, M., Shamay, A., Shapiro, F., Merin, U., Ezra, E., Saran, A., Silanikove, N. (2004). Changes in milk composition as affected by subclinical mastitis in sheep. *Journal of Dairy Science*, 87: 46–52.

- Leitner, G., Merin, U., Lavi, Y., Egber, A., Silanikove, N. (2007). Aetiology of intramammary infection and its effect on milk composition in goat flocks. *Journal of Dairy Research*, 74: 186–193.
- Le Jaouen J.C. (1990). Le lait: sa production – sa qualité. In: *La fabrication du fromage de chèvre fermier*, ITOVIC Ed., p. 15–47.
- Linage, B. & Gonzalo, C. (2008). Influence of an intramammary infusion at drying-off of combined penethamate hydriodide, benethaminebenethamine penicillin, and framycetin sulfate on intramammary infections and somatic cell counts in dairy sheep. *Journal of Dairy Science*, 91: 3459–3466.
- Linzell, J.L. & Peaker, M. (1971). The effects of oxytocin and milk removal on milk secretion in the goat. *The Journal of Physiology*, 216: 717.
- Linzell, J.L. & Peaker, M. (1974). Changes in colostrum composition and in the permeability of the mammary epithelium at about the time of parturition in the goat. *The Journal of Physiology*, 243: 129–151.
- Lopez, M.B., Luna, A., Laencina, J., Falagan, A. (1999). Cheese-making capacity of goat's milk during lactation: influence of stage and number of lactations. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79: 1105–1111.
- Luengo, C., Sanchez, A., Corrales, J.C., Fernandez, C., Contreras, A. (2004). Influence of intramammary infection and non-infection factors on somatic cell counts in dairy goats. *Journal of Dairy Research*, 71: 169–174.
- Marnet, P.G. & Komara, M. (2008). Management systems with extended milking intervals in ruminants: Regulation of production and quality of milk. *Journal of Animal Science*, 86 (13): 47-56.
- Marteniuk, J.V. & Herdt, T.H. (1988). Pregnancy toxæmia and ketosis of ewes and does. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice*, 4: 307–315.
- McArt, J.A.A., Nydam, D.V., Oetzel, G.R. (2012). Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 95: 5056–5066.
- McDougall, S. & Annis, F. (2005). Efficacy of antibiotic treatment at drying-off in curing existing infections and preventing new infections in dairy goats. In: *Mastitis in Dairy Production, Current Knowledge and Future Solutions*. H. Hogeveen, ed. Wageningen Acad. Publ., Wageningen, the Netherlands, p. 523–528.
- McMeekan, C.P. & Brumby, P.J. (1956). Milk production and interval between milking. *Nature* 178: 799.
- McSweeney, P.L.H., Olson, N.F., Fox, P.F., Healy, A., Hojrup, P. (1993). Proteolytic specificity of plasmin on bovine α 1 Casein. *Food Biotechnology*, 7: 143-158.
- Mehaia, M.A. (1995). The fat globule size distribution in camel, goat, ewe and cow milk. *Milchwissenschaft*, 50 (5): 260–263.

- Melby, H.P., Aursjø, J., Binde, M., Grøstøl, H. (1986). Disease in 27 Norwegian dairy goat farms. *Nordisk Veterinaer Medicin*, 38: 403–411.
- Mens, P.L. (1985). Propriétés physico-chimiques nutritionnelles et chimiques (physico-chemical nutritional and chemical properties). In: Luquet, F.M. (Ed.), *Laits et Produits Laitiers. Vache. Brevis. Chèvre (Milk and Milk Products from Cows, Sheep and Goats)*, vol. I. Apria, Paris, p. 349–367.
- Middleton, J.R., Luby, C.D., Adams, D.S. (2009). Efficacy of vaccination against staphylococcal mastitis: A review and new data. *Veterinary Microbiology*, 134: 192–198.
- Mitchell, S.L. & Marshall, R.T. (1989). Properties of heat-stable proteases of *Pseudomonas fluorescens*: Characterization and hydrolysis of milk proteins. *Journal of Dairy Science*, 72: 864–874.
- Molenaar, A.J., Davis, S.R., Wilkins, R.J. (1992). Expression of α -lactalbumin, α -S1-casein, and lactoferrin genes is heterogeneous in sheep and cattle mammary tissue. *The Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 40: 611–618.
- Moreno-Rojas, R., Zurera-Cosano, G., Amaro-Lopez, M.A. (1993). Concentration and seasonal variation of calcium, magnesium, sodium and potassium in raw cow, ewe and goat milk. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 45: 99-105.
- Mulligan, F.J. & Doherty, M.L. (2008). Production diseases of the transition cow. *The Veterinary Journal*, 176: 3–9.
- Mullins, D.E. & Rohrllich, S.T. (1983). The role of proteinases in cellular invasiveness. *Biochimica et Biophysica Acta*, 695: 177.
- Munro, G.L., Grieve, P.A., Kitchen, B.J. (1984). Effects of mastitis on milk yield, milk composition, processing properties and yield and quality of milk products. *Australian Journal of Dairy Technology*, 39: 7.
- Natzke, R.P., Everett, R.W., Bray, D.R. (1975). Effect of drying off practices on mastitis infection. *Journal of Dairy Science*, 58: 1828–1835.
- Neville, M.C. (1983). Regulation of mammary development and lactation. Pages 104–140 in *Lactation-Physiology, Nutrition and Breast-feeding*. M. C. Neville and M. R. Niefert, ed. Plenum Press, New York, NY.
- Newstead, D.F., Paterson, G., Anema, S.G., Coker, C.J., Wewala, A.R. (2006). Plasmin activity in direct-steam-injection UHT processed reconstituted milk: Effects of preheat treatment. *International Dairy Journal*, 16: 573–579.
- Ng Kwai Hang, K.F., Hayes, J.F., Moxley, J.E., Monardes, H.G. (1984). Variability of test-day milk production and composition and relation of somatic cell counts with yield and compositional changes of bovine milk. *Journal of Dairy Science*, 67: 361.
- Nielsen, S.S. (2002). Plasmin system and microbial proteases in milk: Characteristics, roles and relationship. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 6628–6634.

- NMC (National Mastitis Council). (2006). NMC Factsheet—Dry Cow Therapy. Accessed Nov. 21, 2014. <http://nmconline.org/drycow>. htm.
- Noble, M.S. & Hurley, W.L. (1999). Effects of secretion removal on bovine mammary gland function following an extended milk stasis. *Journal of Dairy Science*, 82: 1723–1730.
- O'Brien, B., Ryan, G., Meaney, W.J., McDonagh, D., Kelly, A. (2002). Effect of frequency of milking on yield, composition and processing quality of milk. *Journal of Dairy Research*, 69: 367–374.
- O'Driscoll, K., Gleeson, D., O'Brien, B., Boyle, L. (2011). Does omission of a regular milking event affect cow comfort? *Livestock Science*, 138: 132–143.
- Oldham, E.R., Eberhart, R.J., Lange, A.L., Brusio, S.L. (1991). Changes in the bovine teat canal during the nonlactating period and early lactation, as measured by teat canal impressions. *American Journal of Veterinary Research*, 52: 2075–2079.
- Oliver, S. & Mitchell, B. (1983). Susceptibility of bovine mammary gland to infections during the dry period. *Journal of Dairy Science*, 66: 1162–1166.
- Oliver, S.P. & Sordillo, L.M. (1989). Approaches to the manipulation of mammary involution. *Journal of Dairy Science*, 72: 1647–1664.
- Oliver, S.P., Lewis, T.M., Lewis, M.J., Dowlen, H.H., Maki, J.L. (1990). Persistence of antibiotics in bovine mammary secretions following intramammary infusion at cessation of milking. *Preventive Veterinary Medicine*, 9: 301–311.
- Olori, V.E., Brotherstone, S., Hill, W.G., McGuirk, B.J. (1997). Effect of gestation stage on milk yield and composition in Holstein Friesian dairy cattle. *Livestock Production Science*, 52: 167–176.
- Oltenu, P.A. & Algers, B. (2005). Selection for increased production and the welfare of dairy cows: Are new breeding goals needed? *Ambio*, 34: 311–315.
- Ossowski, L., Biegel, D., Reich, E. (1979). Mammary plasminogen activator: Correlation with involution, hormonal modulation and comparison between normal and neoplastic tissue. *Cell Press*, 16: 929.
- Österman, S. & Redbo, I. (2001). Effects of milking frequency on lying down and getting up behaviour in dairy cows. *Applied Animal Behaviour Science*, 70: 167–176.
- Paape, M.J., Poutrel, B., Contreras, A., Marco, J.C., Capuco, A.V. (2001). Milk somatic cells and lactation in small ruminants. *Journal of Dairy Science*, 84: E237–E244.
- Paape, M.J., Wiggans, G.R., Bannerman, D.D., Thomas, D.L., Sanders, A.H., Contreras, A., Moroni, P., Miller, R.H. (2007). Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. *Small Ruminant Research*, 68: 114–125.
- Paccard, P. & Lagriffoul, G. (2006). Synthèse bibliographique sur la composition du lait de brebis en composés d'intérêt nutritionnel. Personal communication, 28 pp.

- Park, Y.W. (1991). Relative buffering capacity of goat milk, cow milk, soy-based infant formulae and commercial non-prescription anti-acid drugs. *Journal of Dairy Science*, 74: 3326–3333.
- Park, Y.W. (1994). Hypo-allergenic and therapeutic significance of goat milk. *Small Ruminant Research*, 14: 151–161.
- Park, Y.W. (2006). Goat milk—chemistry and nutrition. In: Park, Y.W., Haenlein, G.F.W. (Eds.), *Handbook of Milk of Non-bovine Mammals*. Blackwell Publishing Professional, Oxford, UK/Ames, Iowa, p. 34–58.
- Park, Y.W., Juárez, M., Ramos, M., Haenlein, G.F.W. (2007). Physico-chemical characteristics of goat and sheep milk. *Small Ruminant Research*, 68: 88–113.
- Parkash, S. & Jenness, R. (1968). The composition and characteristics of goat's milk: a review. *Dairy Science*, 30: 67–75.
- Peaker, M. (1978). Ion and water transport in the mammary gland. In: *Lactation: A Comprehensive Treatise*. Vol. 4. B. L. Larson, ed. Acad. Press, London, United Kingdom, p. 437–462.
- Peaker, M. (1980). The effect of raised intramammary pressure on mammary function in the goat in relation to the cessation of lactation. *The Journal of Physiology*, 301: 415–428.
- Persson, Y., Larsen, T., Nyman, A.-K. (2014). Variation in udder health indicators at different stages of lactation in goats with no udder infection. *Small Ruminant Research*, 116: 51–56.
- Pezeshki, A., Mehrzad, J., Ghorbani, G.R., Rahmani, H.R., Collier, R.J., Burvenich, C. (2007). Effects of short dry periods on performance and metabolic status in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90: 5531–5541.
- Phyn, C.V.C., Dobson, J.M., McMahon, C.D., Davis, S.R., Stelwagen, K., Singh, K. (2006a). The tight junction (TJ) protein zonula occludens-1 (ZO-1) is down-regulated during apoptosis of rat mammary glands. *Journal of Animal Science*, 84: 148.
- Phyn, C.V.C., Dobson, J.M., Davis, S.R., Stelwagen, K., Singh, K. (2006b). Acute physical distension of rat mammary glands induces apoptosis and decreases beta 1-integrin and tight junction(TJ) protein signalling. *Journal of Animal Science*, 84: 427.
- Pinedo, P.J., Fleming, C., Risco, C.A. (2012). Events occurring during the previous lactation, the dry period, and peripartum as risk factors for early lactation mastitis in cows receiving 2 different intramammary dry cow therapies. *Journal of Dairy Science*, 95: 7015–7026.
- Plommet, M. & Bézard, G. (1974). Immunisation anti-staphylococcique de la brebis par anatoxines et adjuvants. *Annales de recherches vétérinaires*, 5: 29–39.
- Ploumi, K., Belibasaki, S., Triantaphyllidis, G. (1998). Some factors affecting daily milk yield and composition in a flock of Chios ewes. *Small Ruminant Research*, 28: 89–92.
- Plow, E.F., Herren, T., Redlitz, A., Miles, L.A., Hoover-Plow, J.L. (1995). The cell biology of the plasminogen system. *FASEB Journal*, 9: 939–945.

- Politis, I., Ng Kwai Hang, K.F., Giroux, R. N. (1989a). Environmental factors affecting plasmin activity in milk. *Journal of Dairy Science*, 72: 1713–1718.
- Politis, I., Lachance, E., Block, E., Turner, J.D. (1989b). Plasmin and plasminogen in bovine milk: A relationship with involution? *Journal of Dairy Science*, 72: 900–906.
- Politis, I., Block, E., Turner, J.D. (1990). Effect of somatotropin on the plasminogen and plasmin system in the mammary gland: Proposed mechanism of action for somatotropin on the mammary gland. *Journal of Dairy Science*, 73: 1494–1499.
- Politis, I. (1996). Plasminogen activator system: Implication for mammary cell growth and involution. *Journal of Dairy Science*, 79: 1097–1107.
- Politis, I., Hidioglou, N., White, J.H., Gilmore, J.A., Williams, S.N., Scherf, H., Frigg, M. (1996). Effects of vitamin E on mammary and blood leukocyte function, with emphasis on chemotaxis, in periparturient dairy cows. *American Journal of Veterinary Research*, 57: 468–471.
- Politis, I., Hidioglou, N., Cheli, F., Baldi, A. (2001). Effects of vitamin E on urokinase-plasminogen activator receptor expression by bovine neutrophils. *American Journal of Veterinary Research*, 62: 1934–1938
- Politis, I., Zavizion, B., Cheli F., Baldi, A. (2002). Expression of urokinase plasminogen activator receptor in resting and activated bovine neutrophils. *Journal of Dairy Research*, 69: 195-204.
- Politis, I., Voudouri, A., Bizelis, I., Zervas, G. (2003). The effect of various vitamin E derivatives on the urokinase-plasminogen activator system of ovine macrophages and neutrophils. *British Journal of Nutrition*, 89: 259-265.
- Politis, I., Bizelis, I., Tsiaras, A., Baldi, A. (2004). Effect of vitamin E supplementation on neutrophil function, milk composition and plasmin activity in dairy cows in a commercial herd. *Journal of Dairy Research*, 71: 273–278.
- Pollott, G.E. & Gootwine, E. (2000). Appropriate mathematical models of describing the complete lactation of dairy sheep. *British Society of Animal Science*, 71: 197–207.
- Pollott, G.E. & Gootwine, E. (2004). Reproductive performance and milk production of Assaf sheep in an intensive management system. *Journal of Dairy Science*, 87: 3690–3703.
- Polychroniadou, A. & Vafopoulou, A. (1985). Variations of Major Mineral Constituents of Ewe Milk During Lactation. *Journal of Dairy Science*, 68: 147-150.
- Posati, L.P. & Orr, M.L., (1976). *Composition of Foods*. ARS, USDA, Washington, DC (Agric. Handbook No. 8–1).
- Poutrel, B., De Crémoux, R., Ducelliez, M., Verneau, D. (1997). Control of intramammary infections in goats: Impact on somatic cell counts. *Journal of Animal Science*, 75: 566–570.
- Precetti, A.S., Oria, M.P., Nielsen, S.S. (1997). Presence in bovine milk of two protease inhibitors of the plasmin system. *Journal of Dairy Science*, 80: 1490–1496.

- Pulina, G. & Bencini, R. (2004). Dairy Sheep Nutrition. CABI Publ., Wallingford, UK, p 222.
- Pullan, S., Wilson, J., Metcalfe, A., Edwards, G.M., Goberdhan, N., Tilly, J., Hickman, J.A., Dive, C., Streuli, C.H. (1996). Requirement of basement membrane for the suppression of programmed cell death in mammary epithelium. *Journal of Cell Science*, 109: 631-642.
- Rabiee, A.R. & Lean, I.J. (2013). The effect of internal teat sealant products (Teatseal and Orbeseal) on intramammary infection, clinical mastitis, and somatic cell counts in lactating dairy cows: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science*, 96: 6915–6931.
- Rajala-Schultz, P.J., Hogan, J.S., Smith, K.L. (2005). Short communication: Association between milk yield at dry-off and probability of intramammary infections at calving. *Journal of Dairy Science*, 88: 577–579.
- Ramos, M. & Juarez, M. (2003). Sheep milk. In: Roginski, H., Fuquay, J.W., Fox, P.F. (Eds.), *Encyclopedia of Dairy Sciences*, vol. 4. Academic Press, Amsterdam, The Netherlands, p. 2539–2545.
- Ramsay, D.T., Kent, J.C., Hartmann, R.A., Hartmann, P.E. (2005). Anatomy of the lactating human breast redefined with ultrasound imaging. *Journal of Anatomy*, 206: 525–534.
- Rastani, R.R., Grummer, R.R., Bertics, S.J., Gümen, A., Wiltbank, M.C., Mashek, D.G., Schwab, M.C. (2005). Reducing dry period length to simplify feeding transition cows: Milk production, energy balance, and metabolic profiles. *Journal of Dairy Science*, 88: 1004–1014.
- Raynalljutovac, K., Pirisi, A., Decremoux, R., Gonzalo, C., de Crémoux, R. (2007). Somatic cells of goat and sheep milk: Analytical, sanitary, productive and technological aspects. *Small Ruminant Research*, 68: 126–144.
- Raynalljutovac, K., Lagriffoul, G., Paccard, P., Guillet, I., Chilliard, Y. (2008). Composition of goat and sheep milk products: An update. *Small Ruminant Research*, 79: 57–72.
- Reece, W.O. (Εκδ.). (2015). *Λειτουργική Ανατομική και Φυσιολογία Ζώων*. 1η ελληνική έκδοση. Εκδόσεις Utopia, Αθήνα.
- Rémond, B. & Pomiès, D. (2005). Once-daily milking of dairy cows: a review of recent French experiments. *Animal Research*, 54 (6): 427-442.
- Rémond, B. & Pomiès, D. (2007). Once-daily milking of Holstein cows for one-week decreases milk yield by twenty-five percent without any carry-over effect. *Livestock Science*, 110: 192–195.
- Richardson, B.C. (1983a). The proteinases of bovine milk and the effect of pasteurization on their activity. *New Zealand journal of dairy science and technology*, 18: 223–245.
- Richardson, B. C. (1983b). Variation of the concentration of plasmin and plasminogen in bovine milk with lactation. *New Zealand journal of dairy science and technology*, 18: 247.
- Richardson, B.C. & Pearce, K.N. (1981). The determination of PL in dairy products. *New Zealand journal of dairy science and technology*, 16: 209–220.

- Riley, L.G., Wynn, P.C., Williamson, P., Sheehy, P.A. (2008). The role of native bovine alpha-lactalbumin in bovine mammary epithelial cell apoptosis and casein expression. *Journal of Dairy Research*, 75 (3): 319-325.
- Rincon, F., Moreno, R., Zurera, G., Amaro, M. (1994). Mineral composition as a characteristic for the identification of animal origin of raw milk. *Journal of Dairy Research*, 61: 151–154.
- Rosati, R., Amatiste, S., Giangolini, G., Fagiolo, A., Forletta, R. (1995). Goat milk quality: trends in fat, total proteins, lactose, somatic cells, casein, serroproteins, non-proteic nitrogen and production during lactation morning and evening milkings. In: *Seminar on Production and Utilization of Ewes and Goats Milk*. Limin-Hersonisos, Crete, Greece, 19–21 October, 1995.
- Ruberte, J., Carretero, A., Fernandez, M., Navarro, M., Caja, G., Kirchner, F., Such, X. (1994). Ultra sound mammography in the lactating ewe and its correspondence to anatomical section. *Small Ruminant Research*, 15: 199–204.
- Ruiz, R., Oregui, L.M., Herrero, M. (2000). Comparison of models for describing the lactation curve of Latxa sheep and an analysis of factors affecting milk yield. *Journal of Dairy Science*, 83: 2709–2719.
- Safayi, S., Theil, P.K., Hou, L., Engbaek, M., Nørgaard, J.V., Sejrsen, K., Nielsen, M.O. (2010). Continuous lactation effects on mammary remodeling during late gestation and lactation in dairy goats. *Journal of Dairy Science*, 93: 203–217.
- Saini, A.L. & Gill, R.S. (1991). Goat milk: An attractive alternate. *Indian Dairyman*, 42: 562-564.
- Salama, A.A.K., Such, X., Caja, G., Rovai, M., Casals, R., Albanell, E., Marín, M.P., Martí, A. (2003). Effects of Once Versus Twice Daily Milking Throughout Lactation on Milk Yield and Milk Composition in Dairy Goats. *Journal of Dairy Science*, 86: 5.
- Salama, A.A.K., Caja, G., Such, X., Peris, S., Sorensen, A., Knight, C.H. (2004). Changes in cisternal udder compartment induced by milking interval in dairy goats milked once or twice daily. *Journal of Dairy Science*, 87: 1181–1187.
- Salama, A.A.K., Caja, G., Such, X., Casals, R., Albanell, E. (2005). Effect of pregnancy and extended lactation on milk production in dairy goats milked once daily. *Journal of Dairy Science*, 88: 3894–3904.
- Sanford, C.J., Keefe, G.P., Sanchez, J., Dingwell, R.T., Barkema, H.W., Leslie, K.E., Dohoo, I.R. (2006). Test characteristics from latent-class models of the California Mastitis Test. *Preventive Veterinary Medicine*, 77: 96–108.
- Santschi, D.E., Lefebvre, D.M., Cue, R.I., Girard, C.L., Pellerin, D. (2011). Complete-lactation milk and component yields following a short (35-d) or a conventional (60-d) dry period management strategy in commercial Holstein herds. *Journal of Dairy Science*, 94: 2302–2311.
- Schaar, J. & Funke, H. (1986). Effect of subclinical mastitis on milk plasminogen and plasmin compared with that on sodium, antitrypsin and N-acetyl- β -D-glucosaminidase. *Journal of Dairy Research*, 53: 515.

- Schmidt, G.H. (1960). Effect of milking intervals on the rate of milk and fat secretion. *Journal of Dairy Science*, 43: 213–219.
- Schmidt, G.H. (1971). Factors affecting the yield and composition of milk. In: *Biology of Lactation*. WH Freeman and Company, San Francisco, pp. 178–198.
- Sidelmann, J.J., Gram, J., Jespersen, J., Kluft, C. (2000). Fibrin clot formation and lysis: Basic mechanisms. *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 26: 605-618.
- Silanikove, N. (2000). Effects of heat stress on the welfare of extensively managed domestic ruminants. *Livestock Production Science*, 67: 1-18.
- Silanikove, N. (2014). Natural and abrupt involution of the mammary gland affects differently the metabolic and health consequences of weaning. *Life Sciences*, 102: 10–15.
- Silanikove, N. (2016). Transcellular route as the most probable explanation for the presence of plasminogen in mammal's milk. *Journal of Theoretical Biology*, 395: 221–226.
- Silanikove, N., Merin, U., Shapiro, F., Leitner, G. (2013). Early mammary gland metabolic and immune responses during natural-like and forceful drying-off in high-yielding dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96: 6400–6411.
- Singh K, Dobson J, Phyn CV, Davis, S.R., Farr, V.C., Molenaar, A.J., Stelwagen. K. (2005). Milk accumulation decreases expression of genes involved in cell-extracellular matrix communication and is associated with induction of apoptosis in the bovine mammary gland. *Livestock Production Science*, 98 (1-2): 67-78.
- Singh, K., Davis, S.R., Dobson, J.M., Molenaar, A.J., Wheeler, T.T., Prosser, C.G., Farr, V.C., Oden, K., Swanson, K.M., Phyn, C.V., Hyndman, D.L., Wilson, T., Henderson, H.V., Stelwagen, K. (2008). cDNA microarray analysis reveals that antioxidant and immune genes are upregulated during involution of the bovine mammary gland. *Journal of Dairy Science*, 91(6): 2236-2246.
- Singh, K., Swanson, K., Henderson, H.V., Stelwagen, K. (2012). Brief Communication: The effect of re-milking following extended non-milking periods on lactation in dairy cows. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 72: 70-72.
- Smith, K.L., Hogan, J.S., Weiss, W.P. (1997). Dietary vitamin E and selenium affect mastitis and milk quality. *Journal of Animal Science*, 75: 1659–1665.
- Somers, J.M. & Kelly, A.L. (2002). Contribution of plasmin to primary proteolysis during ripening of cheese: Effect of milk heat treatment and cheese cooking temperature. *Le Lait* 82: 181–191.
- Sordillo, L.M. & Nickerson, S.C. (1988). Morphometric changes in the bovine mammary gland during involution and lactogenesis. *American Journal of Veterinary Research*, 49: 1112–1120.
- Sordillo, L.M., Shafer-Weaver, K., DeRosa, D. (1997). Immunobiology of the mammary gland. *Journal of Dairy Science*, 80: 1851–1865.

- Sorensen, B.A., Muri, D.D., Knight, C.H. (2001). Thrice-daily milking throughout lactation maintains epithelial integrity and thereby improves milk protein quality. *Journal of Dairy Research*, 68: 15–25.
- Sørhaug, T. & Stepaniak, L. (1997). Psychrotrophs and their enzymes in milk and dairy products: Quality aspects. A review. *Trends in Food Science & Technology*, 8: 35–40.
- Sottrup-Jensen, L., Claeys, H., Zajdel, M., Petersen, T.E., Magnusson, S. (1978). The Primary Structure of Human Plasminogen: Isolation of the two Lysine-Binding Fragments and one Mini-Plasminogen (MW. 38000) by Elastase Catalysed, Specific Limited Proteolysis. In: *Progress in Chemical Fibrinolysis and Thrombolysis*, Davidson, J.F., Rowan, R.M., Samama, M.M., Desnoyers, P.C. (Eds.). Vol. 3, Raven Press, New York, p. 191-209.
- Spanu, C., Berger, Y.M., Thomas, D.L., Ruegg, P.L. (2011). Impact of intramammary antimicrobial dry treatment and teat sanitation on somatic cell count and intramammary infection in dairy ewes. *Small Ruminant Research*, 97: 139–145.
- Srinivasan, M. & Lucey, J.A. (2002). Effects of added plasmin on the formation and rheological properties of rennet-induced skim milk gels. *Journal of Dairy Science*, 85: 1070–1078.
- Stanton, T.L., Jones, L.R., Everett, R.W., Kachman, S.D. (1992). Estimating milk, fat, and protein lactation curves with a test day model. *Journal of Dairy Science*, 75: 1691–1700.
- Steenefeld, W., Schukken, Y.H., Van Knegsel, A.T.M., Hogeveen, H. (2013). Effect of different dry period lengths on milk production and somatic cell count in subsequent lactations in commercial Dutch dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 96: 2988–3001.
- Stefanowska, J., Plavsic, M., Ipema, A., Hendriks, M. (2000). The effect of omitted milking on the behaviour of cows in the context of cluster attachment failure during automatic milking. *Applied Animal Behaviour Science*, 67: 277–291.
- Stein, T., Salomonis, N., Gusterson, B.A. (2007). Mammary gland involution as a multi-step process. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 12 (1): 25-35.
- Stelwagen, K. & Lacy-Hulbert, S.J. (1996). Effect of milking frequency on somatic cell count characteristics and mammary secretory cell damage in cows. *American Journal of Veterinary Research*, 57: 902–905.
- Stelwagen, K. & Knight, C.H. (1997). Effect of unilateral once or twice daily milking of cows on milk yield and udder characteristics in early and late lactation. *Journal of Dairy Research*, 64(4): 487-494.
- Stelwagen, K. & Callaghan, M.R. (2003). Regulation of mammary tight junctions through parathyroid hormone-related peptide-induced activation of apical calcium channels. *Journal of Endocrinology*, 178 (2): 257-264.
- Stelwagen, K. (2001). Effect of milking frequency on mammary functioning and shape of the lactation curve. *Journal of Dairy Science*, 84: E204–E211.

- Stelwagen, K., Politis, I., White, J.H., Zavizion, B., Prosser, C.G., Davis, S.R., Farr, V.C. (1994a). Effect of milking frequency and somatotropin on the activity of plasminogen activator, plasminogen, and plasmin in bovine milk. *Journal of Dairy Science*, 77: 3577–3583.
- Stelwagen, K., Davis, S.R., Farr, V.C., Prosser, C.G., Sherlock, R.A. (1994b). Mammary epithelial cell tight junction integrity and mammary blood flow during an extended milking interval in goats. *Journal of Dairy Science*, 77: 426–432.
- Stelwagen, K., Farr, V.C., Davis, S.R., Prosser, C.G. (1995). EGTA-induced disruption of epithelial cell tight junctions in the lactating caprine mammary gland. *American Journal of Physiology*, 269:848–855.
- Stelwagen, K., Knight, C.H., Farr, V.C., Davis, S.R., Prosser, C.G., McFadden, T.B. (1996). Continuous versus single drainage of milk from the bovine mammary gland during a 24-hour period. *Experimental Physiology*, 81: 141–149.
- Stelwagen, K., Farr, V.C., McFadden, H.A., Prosser, C.G., Davis, S.R. (1997). Time course of milk accumulation induced opening of mammary tight junctions and blood clearance of milk components. *American Journal of Physiology*, 273: 379–386.
- Stelwagen, K., Farr, V.C., Mcfadden, H.A. (1999). Alteration of the Sodium to Potassium Ratio in Milk and the Effect on Milk Secretion in Goats. *Journal of Dairy Science*, 82: 52–59.
- Stelwagen, K., Farr, V.C., Nicholas, G.D., Davis, S.R., Prosser, C.G. (2008). Effect of milking interval on milk yield and quality and rate of recovery during subsequent frequent milking. *Livestock Science*, 114: 176–180.
- Tatarczuch, L., Philip, C., Lee, C.S. (1997). Involution of the sheep mammary gland. *Journal of Anatomy*, 190: 405-416.
- Theil, P.K., Labouriau, R., Sejrsen, K., Thomsen, B., Sorensen, M.T. (2005). Expression of genes involved in regulation of cell turnover during milk stasis and lactation rescue in sow mammary glands. *Journal of Animal Science*, 83 (10): 2349-2356.
- Theodorou, G., Kominakis, A., Rogdakis, E., Politis, I. (2007). Factors Affecting the Plasmin-Plasminogen System in Milk Obtained from Three Greek Dairy Sheep Breeds with Major Differences in Milk Production Capacity. *Journal of Dairy Science*, 90: 3263–3269.
- Tucker, C.B., Lacy-Hulbert, S.J., Webster, J.R. (2009). Effect of milking frequency and feeding level before and after dry off on dairy cattle behavior and udder characteristics. *Journal of Dairy Science*, 92: 3194–3203.
- Ueshima, S., Okada, K., Matsuo, O. (1996). Stabilization of plasmin by lysine derivatives. *Clinica Chimica Acta*, 245: 7-18.
- Underwood, E.J. (1977). *Trace Elements in Human and Animal Nutrition*, 4th ed. Academic Press, New York, p. 173.

- Valizadeh, R., Veira, D.M., von Keyserlingk, M.A.G. (2008). Behavioural responses by dairy cows provided two hays of contrasting quality at dry-off. *Applied Animal Behaviour Science*, 109: 190–200.
- Van Saun, R. J. (2000). Pregnancy toxemia in a flock of sheep. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 217: 1536–1539.
- Veldhorst, M., Smeets, A., Soenen, S., Hursel, R., Diepvens, K., Lejeune, M. (2008). Protein-induced satiety: Effects and mechanisms of different proteins. *Physiology & Behavior*, 94: 300–307.
- Watson, D.J. & Buswell, J.F. (1984). Modern aspects of sheep mastitis. *British Veterinary Journal*, 140: 529–534.
- Watts, J.M. & Stookey, J.M. (2000). Vocal behaviour in cattle: The animal's commentary on its biological processes and welfare. *Applied Animal Behaviour Science*, 67: 15–33.
- Webster, F. & Frye, B. (1987). Cheese aging and consumer preference. *Dairy Field* 170: 50, 53.
- Weiss, W.P., Hogan, J.S., Smith, K.L., Hoblet, K.H. (1990). Relationships among selenium, vitamin E, and mammary gland health in commercial dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 73: 381–390.
- Wheelock, J.V., Smith, A., Dodd, F.H., Lyster, R.L.J. (1967). Changes in the quantity and composition of mammary gland secretion in the dry period between lactations. *Journal of Dairy Research*, 34: 1–12.
- Wilde, C.J. & Peaker, M. (1990). Autocrine control in milk secretion. *Journal of Agricultural Science*, 114: 235–238.
- Wilde, C.J., Addey, C.V.P., Boddy, L.M., Peaker, M. (1995). Autocrine regulation of milk secretion by a protein in milk. *Biochemical Journal*, 305: 51–58.
- Wilde, C., Quarrie, L., Tonner, E., Flint, D., Peaker, M. (1997). Mammary apoptosis. *Livestock Production Science*, 50: 29–37.
- Wilde, C.J., Knight, C.H., Flint, D.J. (1999). Control of milk secretion and apoptosis during mammary involution. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 4: 129–136.
- Zobel, G., Leslie, K., Weary, D.M., von Keyserlingk, M.A.G. (2013). Gradual cessation of milking reduces milk leakage and motivation to be milked in dairy cows at dry-off. *Journal of Dairy Science*, 96: 5064–5071.
- Zobel, G., Weary, D. M., Leslie, K.E., Von Keyserlingk, M.A.G. (2015a). Invited review: Cessation of lactation: Effects on animal welfare. *Journal of Dairy Science*, 98: 8263–8277.
- Zobel, G., Leslie, K., Weary, D.M., von Keyserlingk, M.A.G. (2015b). Ketonemia in dairy goats: Effect of dry period length and effect on lying behavior. *Journal of Dairy Science*, 98: 6128–6138.