

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Стефан Н. Степић

**ФЕНОТИПСКА И ГЕНЕТИЧКА
КАРАКТЕРИЗАЦИЈА ДОМАЋЕГ
БИВОЛА У СРБИЈИ**

Докторска дисертација

Београд, 2025.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF AGRICULTURE

Stefan N. Stepić

**PHENOTYPIC AND GENETIC
CHARACTERIZATION OF THE
DOMESTIC BUFFALO IN SERBIA**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2025.

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације:

1. др Предраг Перишић, ванредни професор, ментор
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет
2. др Маја Живковић, научни саветник, други ментор
Универзитет у Београду, Институт за нуклеарне науке „Винча“,
Институт од националног значаја за Републику Србију
3. др Јелена Миочиновић, редовни професор
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет
4. др Весна Давидовић, редовни професор
Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет
5. др Милун Петровић, редовни професор
Универзитет у Крагујевцу, Агрономски факултет Чачак

Датум одбране докторске дисертације: _____

Захвалница

Захваљујем се менторима и члановима комисије на помоћи и корисним саветима током израде ове дисертације.

Посебну захвалност дузујем ментору проф. др Предрагу Перишићу на указаном поверењу, усмеравању и помоћи током свих ових година и свему што је учинио за мене.

Захваљујем се одгајивачима бивола у Новом Пазару и Путину на несебичном ангажовању, гостопримству и помоћи током спровођења огледа на терену.

Велику захвалност дузујем Мијодрагу Стефановићу, власнику Основне одгајивачке организације МДС - Пљевљани из Новог Пазара, који је увек излазио у сусрет и био од велике помоћи током организовања рада на терену. Такође, захваљујем се и запосленима у овој организацији.

Захваљујем се Мехдији Медовићу и Сеаду Праменковићу који су били од велике помоћи током извођења огледа у Путину.

Хвала др вет. мед. Торану Митићу на помоћи током извођења огледа на терену.

Посебну захвалност дузујем др Ивану Животићу, вишем научном сараднику и др Јовани Кувелић, научној сарадници из Института за нуклеарне науке „Винча“, Универзитета у Београду, Института од националног значаја за Републику Србију, на помоћи и стрпљењу, као и на пренесеном знању из области молекуларне генетике.

Захваљујем се др Мири Радовановић, научној сарадници и др Марини Ховјецки, научној сарадници са Катедре за технологију анималних производа, Пољопривредног Факултета Универзитета у Београду, на помоћи, посебно током лабораторијских анализа млека.

Захваљујем се на помоћи колегама са Института за сточарство у Београду, маст. инж. Ивану Ђосићу, истраживачу сараднику, др Ђенaду Мићићу, научном сараднику, др Милошу Маринковићу, научном сараднику и др Богдану Џекићу, научном сараднику.

Захваљујем се колегама асистентима маст. инж. Александру Игњатовићу и маст. инж. Николи Михајловићу на помоћи и подршци током израде ове дисертације.

Захваљујем се свим колегама, пријатељима, рођацима и кумовима који су ми пружали подршку и имали разумевања током трајања докторских студија.

Посебну захвалност дузујем мојој куми Катарини Фистић, која ме је први пут довела на Пољопривредни факултет у Земуну и чији су мотивациони савети допринели да не одустанем од основних студија (више пута).

Највећу захвалност на стрпљењу, подршци и разумевању дузујем мојој породици, брату Предрагу, снаји Марији, братаницама Милицы и Анити, али првенствено сину Павлу и супрузи Јелени, јер су ми дали највећу мотивацију да напишем докторску дисертацију и докторске студије приведем крају.

На крају, ништа од овога не би било да није мојих родитеља, моје мајке Зорице и оца Ђенaда. Захвалан сам што су увек били ту уз мене, потенцирали значај образовања и имали речи охрабрења за све моје проблеме. Зато ову дисертацију посвећујем њима, мојим родитељима.

Сажетак

Циљ ове дисертације био је фенотипска и генетичка карактеризација домаћих бивола гајених у Србији, са нагласком на морфометријске параметре, особине плодности, генске варијанте повезане са квалитетом млека, испитивање хемијског састава и реолошких својстава млека.

Испитивање морфометријских особина обухватило је 11 телесних мера, а за које су утврђене следеће просечне вредности: висина гребена 122,55 cm, висина крста 124,09 cm, дужина трупа 132,72 cm, ширина груди 39,25 cm, дубина груди 64,28 cm, предња ширина карлице 49,22 cm, ширина кукова (растојање зглобова кука) 43,94 cm, дужина карлице 42,14 cm, ширина (растојање) седњачних кврга 20,47 cm, обим груди 185,23 cm, обим цеванице 20,20 cm. Утврђено је да је утицај старости грла био статистички врло високо значајан ($p < 0,001$) за висину гребена, дужину трупа, предњу ширину карлице, ширину (растојање) седњачних кврга и обим груди, док је за дубину груди и ширину кукова (растојање зглобова кука) имао статистички високо значајан утицај ($p < 0,01$). Утицај старости није био статистички значајан ($p > 0,05$) за висину крста, ширину груди, дужину карлице и обим цевнице. На основу телесних мера, израчунате су вредности релативних показатеља телесне развијености, а њихове просечне вредности биле су: индекс формата (оквир) 108,32 %, индекс дубине груди 52,47 %, индекс збијености трупа 140,21 %, индекс масивности 151,20 %, индекс преграђености 101,30 %, карлично-грудни индекс (кукови) 89,60 %, карлично-грудни индекс (бедрене кврге) 80,11 %, индекс облика карлице (1) 41,78 %, индекс облика карлице (2) 46,77 %, индекс дужине ногу 47,53 %, индекс кошчатости 16,50 %. Утврђено је да је старост имала статистички врло високо значајан утицај ($p < 0,001$) на индекс преграђености, док је на карлично-грудни индекс (бедрене кврге) имала статистички високо значајан утицај ($p < 0,01$). Утицај старости није био статистички значајан ($p > 0,05$) за индекс формата (оквир), индекс дубине груди, индекс збијености трупа, индекс масивности, карлично-грудни индекс (кукови), индекс облика карлице (1), индекс облика карлице (2), индекс дужине ногу и индекс кошчатости.

Анализиране су репродуктивне особине бивола (биволица) чије су просечне вредности износиле: узраст при првом тељењу 36 месеци, трајање сервис периода 97,71 дан, трајање бременитости 319,28 дана, трајање међутелидбеног интервала 416,35 дана. Утицај сезоне рођења плоткиње на узраст при првом тељењу није показао статистичку значајност ($p > 0,05$). Утицај сезоне тељења и тељења по реду плоткиње нису имали статистички значајан утицај ($p > 0,05$) на трајање сервис периода и трајање међутелидбеног интервала.

Анализирани су параметри квалитета млека биволица, чије су просечне вредности биле следеће: садржај суве материје 19,65 %, садржај суве материје без масти 10,58 %, садржај протеина 4,73 %, садржај казеина 3,58 %, садржај масти 9,05 %, киселост °SH 8,83 и pH 6,66.

Молекуларно генетичком анализом (рестрикционом дигестијом или Сангеровим секвенцирањем) испитиваних јединки детектоване су алелне варијанте гена *CSN1S1* 472G>C (GG, GC, CC), *CSN3* 467C>T (CC, CT, TT), *SCD* 133A>C (AA) и *DGAT1* 9046T>C (TT, TC, CC). Генска варијанта *CSN1S1* 472G>C имала је статистички врло високо значајан утицај ($p < 0,001$) на садржај протеина и казеина у млеку, а на садржај суве материје, садржај суве материје без масти и садржај масти није имала статистички значај ($p > 0,05$). Генска варијанта *CSN3* 467C>T појединачно није показала статистички значајан утицај ($p > 0,05$) на садржај компоненти млека. Вишеструка регресиона анализа и анализа хаплотипа показале су да комбинација варијанти *CSN1S1* 472G>C и *CSN3* 467C>T (хаплотип 1C3C) има значајан утицај на садржај казеина у млеку, што указује на њихов заједнички ефекат. Генска варијанта *SCD*

133A>C била је мономорфна за алел А. Утицај варијанте *DGAT1* 9046T>C није показао статистичку значајност ($p>0,05$) на садржај компоненти млека.

За анализу реолошких својстава млека формиране су три групе узорака на основу генотипа *CSN1S1* 472G>C. Свака група обухватала је обједињено млеко животиња са истим генотипом (GG, GC или CC). Количина млека из сваке групе (GG, GC, CC) подељена је на два дела, где је први део (GG1, GC1, CC1) анализиран као сирово млеко, а други део (GG2, GC2, CC2) подвргнут је термичком третману на 95°C током 10 минута.

Просечне вредности реолошких својстава сиришне коагулације сировог млека биле су: време почетка коагулације (енг. RCT – rennet coagulation time) 17,43 min, време завршетка коагулације (енг. ST – setting time) 31,22 min, модул еластичности (G') 170,67 Pa, чврстина гела (енг. GF – gel firmness) 192,47 Pa, брзина агрегације (енг. AR – aggregation rate) 0,1113 Pa/s. Вредности за наведена својства термички третираног млека биволица у просеку су биле: RCT 13,60 min, ST 36,72 min, G' 129,67 Pa, GF 148,70 Pa, AR 0,0584 Pa/s. Утврђено је да је утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C (GG, GC и CC) имао статистички врло високо значајан утицај ($p<0,001$) на реолошка својства при сиришној коагулацији сировог и термички третираног млека домаћих биволица. Резултати указују да би високо термички третирано млеко биволица анализираних генотипова могло бити погодно за производњу сира, под условом да се рН млека подеси на 6,3, при чему би најпогоднији био CC генотип.

Резултати ове докторске дисертације пружају нове податке о морфометријским, репродуктивним и генетичким карактеристикама домаћих бивола гајених у Србији, као и информације о квалитету млека. Утврђене разлике у генетичкој варијабилности и реолошким својствима млека, могу послужити у поступку селекције грла у популацији бивола гајених у Републици Србији са циљем форсирања пожељних производних особина, уз истовремено очување генетичке разноликости ове популације.

Кључне речи: биволи, морфометријске особине, особине плодности, *CSN1S1*, *CSN3*, *SCD*, *DGAT1*, квалитет млека, реологија

Научна област: Биотехничке науке

Ужа научна област: Одгајивање и репродукција домаћих и гајених животиња

УДК број: 575.21:575.22]:636.2(497.11)(043.3)

Abstract

The objective of this dissertation was to conduct a phenotypic and genetic characterization of domestic buffaloes raised in Serbia, with a focus on morphometric traits, reproductive performance, genetic variants associated with milk quality, as well as the chemical composition and rheological properties of milk.

The morphometric analysis included 11 body measurements, with the following mean values: withers height 122.55 cm, rump height 124.09 cm, body length 132.72 cm, chest width 39.25 cm, chest depth 64.28 cm, pelvic width (anterior) 49.22 cm, hip width (distance between hip joints) 43.94 cm, pelvic length 42.14 cm, ischial width 20.47 cm, chest girth 185.23 cm, and cannon bone circumference 20.20 cm. Age had a highly significant effect ($p < 0.001$) on withers height, body length, anterior pelvic width, ischial width, and chest girth, while it had a significant effect ($p < 0.01$) on chest depth and hip width. No significant effect ($p > 0.05$) of age was observed for rump height, chest width, pelvic length, or cannon bone circumference.

Based on body measurements, relative body indices were calculated, with the following average values: body frame index 108.32 %, chest depth index 52.47 %, compactness index 140.21 %, massiveness index 151.20 %, proportionality index 101.30 %, pelvic-chest index (hip width) 89.60 %, pelvic-chest index (ischial width) 80.11%, pelvic shape index (1) 41.78 %, pelvic shape index (2) 46.77 %, leg length index 47.53 %, and bone development index 16.50 %. Age had a highly significant effect ($p < 0.001$) on the proportionality index and a significant effect ($p < 0.01$) on the pelvic-chest index (ischial width). No significant effect ($p > 0.05$) was found for the body frame index, chest depth index, compactness index, massiveness index, pelvic-chest index (hip width), pelvic shape index (1), pelvic shape index (2), leg length index, or bone development index.

The reproductive performance of buffalo cows was analyzed, with the following average values: age at first calving 36 months, service period 97.71 days, gestation length 319.28 days, and calving interval 416.35 days. The effect of the birth season on age at first calving was not significant ($p > 0.05$). The season of calving and parity had no significant effect ($p > 0.05$) on the length of the service period or calving interval.

The milk quality parameters of buffaloes were analyzed, with the following average values: total solids 19.65 %, solids-non-fat (SNF) 10.58 %, protein content 4.73 %, casein content 3.58 %, milk fat content 9.05 %, titratable acidity ($^{\circ}\text{SH}$) 8.83, and pH value 6.66.

Molecular genetic analysis (restriction digestion or Sanger sequencing) identified allelic variants in the following genes: *CSN1S1* 472G>C (GG, GC, CC), *CSN3* 467C>T (CC, CT, TT), *SCD* 133A>C (AA), and *DGAT1* 9046T>C (TT, TC, CC). The *CSN1S1* 472G>C gene variant had a highly significant effect ($p < 0.001$) on milk protein and casein content, whereas no significant effect ($p > 0.05$) was observed on total solids, solids-non-fat, or milk fat content. The *CSN3* 467C>T gene variant showed no significant effect ($p > 0.05$) on milk composition, individually. Multiple regression and haplotype analysis showed that the combination of *CSN1S1* 472G>C and *CSN3* 467C>T variants (haplotype 1C3C) had a significant impact on casein content in milk, suggesting their combined genetic effect. The *SCD* 133A>C variant was monomorphic. The *DGAT1* 9046T>C gene variant showed no significant effect ($p > 0.05$) on milk composition.

For the analysis of milk rheological properties, three sample groups were formed based on *CSN1S1* 472G>C genotypes. Each group consisted of pooled milk from animals with the same genotype (GG, GC, or CC). The milk from each group was divided into two parts: the first part (GG1, GC1, CC1) was analyzed as raw milk, while the second part (GG2, GC2, CC2) was subjected to heat treatment at 95°C for 10 minutes.

The average values of rennet coagulation properties in raw milk were: rennet coagulation time (RCT) 17.43 min, setting time (ST) 31.22 min, elastic modulus (G') 170.67 Pa, gel firmness (GF) 192.47 Pa and aggregation rate (AR) 0.1113 Pa/s. For heat-treated milk, the mean values were: RCT 13.60 min, ST 36.72 min, G' 129.67 Pa, GF 148.70 Pa, and AR 0.0584 Pa/s. The *CSN1S1* 472G>C genotype had a highly significant effect ($p<0.001$) on the rheological properties of both raw and heat-treated milk. The results suggest that high-heat-treated buffalo milk of the analyzed genotypes could be suitable for cheese production, provided that milk pH is adjusted to 6.3, with the CC genotype being the most favorable.

This doctoral dissertation provides novel data on the morphometric, reproductive, and genetic characteristics of domestic buffaloes raised in Serbia, along with information on milk quality. The observed differences in genetic variability and rheological properties of buffalo milk may serve as a basis for selection programs aimed at enhancing desirable production traits, while simultaneously preserving the genetic diversity of this population.

Keywords: buffalo, morphometric traits, reproductive traits, *CSN1S1*, *CSN3*, *SCD*, *DGAT1*, milk quality, rheology

Research field: Biotechnical Sciences

Specific research field: Breeding and Reproduction of Domestic and Raised Animals

UDK number: 575.21:575.22]:636.2(497.11)(043.3)

САДРЖАЈ

1. УВОД	1
2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ	2
2.1. Фенотипска карактеризација бивола	2
2.2. Порекло и основне карактеристике домаћег бивола	2
2.3. Биволи у Србији	4
2.4. Морфолошке особине бивола	4
2.5. Особине плодности	8
2.5.1. Пубертет и полна зрелост	8
2.5.2. Еструсни циклус	9
2.5.3. Узраст при првој оплодњи	11
2.5.4. Бременитост	11
2.5.5. Узраст при првом тељењу	12
2.5.6. Сервис период	13
2.5.7. Међутелидбени интервал	15
2.6. Генетичка карактеризација	17
2.7. Варијабилност протеина млека и гени кандидати	19
2.7.1. <i>CSN1S1</i> и <i>CSN3</i> као гени кандидати	20
2.7.2. <i>SCD</i> као ген кандидат	22
2.7.3. <i>DGAT1</i> као ген кандидат	22
2.8. Квалитет млека биволица	23
2.8.1. Хемијски састав млека биволица	24
2.8.2. Термички третман млека и сиришна коагулација	31
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА	33
3.1. Морфометријске особине бивола	33
3.2. Особине плодности	35
3.3. Молекуларно генетичка анализа испитиваних јединки	36
3.3.1. Генотипизација варијанте <i>CSN1S1</i> 472G>C	38
3.3.2. Генотипизација варијанте <i>CSN3</i> 467C>T	39
3.3.3. Генотипизација варијанте <i>SCD</i> 133A>C	39

3.3.4. Генотипизација варијанте <i>DGAT1</i> 9046T>C	40
3.4. Квалитет млека биволица	40
3.4.1. Анализа хемијског састава млека биволица	41
3.4.2. Раздвајање и карактеризација протеина млека биволица SDS-PAG електрофорезом	44
3.4.3. Реолошка мерења сиришне коагулације млека биволица	44
3.4.4. Лабораторијски принос сира	46
3.4.5. Статистичка обрада података	46
4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА	48
4.1. Морфометријске особине домаћег бивола	50
4.1.1. Телесне мере домаћег бивола	50
4.1.2. Релативни показатељи (индекси) телесне развијености домаћег бивола	59
4.2. Особине плодности домаћег бивола	65
4.3. Молекуларно генетичка анализа испитиваних јединки	71
4.4. Квалитет млека биволица	76
4.4.1. SDS-PAGE електрофореза	79
4.4.2. Реолошка својства сиришне коагулације млека биволица	81
4.4.3. Лабораторијски принос сира	85
5. ЗАКЉУЧАК	88
6. ЛИТЕРАТУРА	90
7. ПРИЛОЗИ	103
8. БИОГРАФИЈА	113
Изјава о ауторству	114
Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада	115
Изјава о коришћењу	116

1. УВОД

Биволи се сматрају најудаљенијим сродницима правих говеда, а као доказ за то су различит број хромозома и немогућност међусобног размножавања. Домаћи биволи заузимају значајно место у сточарској производњи у свету. Користе се за производњу млека, меса и коже, а у неким земљама (источна Азија) за рад. Према FAO (2023) подацима, у последњих 10 година расте укупан број бивола, а тренутно се у свету гаји више од 209 милиона јединки. Од укупне светске производње млека, друго по значају је млеко биволица, одмах након крављег, са уделом око 13 %. На подручју Европе, у односу на период од пре 10 година, укупна количина произведеног млека биволица повећала се за око 12 % (FAO, 2023). Млеко биволица, као сировина, погодно је за справљање различитих млечних производа, јер садржи виши проценат суве материје у односу на кравље млеко. Користи се за производњу маслаца (масла), али и за производњу различитих врста сирева, од којих је најпознатији моцарела.

Биволи у Србији гаје се у екстензивном систему држања. Животиње су током вегетације на пашњаку, а у зимском периоду у стаји. Веома су отпорне према обољењима и нису захтевне у погледу неге и смештаја, што им омогућава лаку прилагодљивост на овакав начин гајења. Основна сврха њиховог гајења је производња млека, од ког се првенствено производи маслац, али и други производи (кајмак). Иако је млечност биволица у екстензивном систему гајења нижа у односу на интензивни систем, квалитет млека може бити бољи, нарочито у погледу садржаја масти и протеина.

Један од циљева истраживања ове дисертације је утврђивање морфометријских карактеристика, како би се утврдили стандарди за домаћег бивола у Србији. Поред утврђивања ових стандарда, морфолошке особине су веома важне, јер су недостаци у телесног грађи повезани са физиолошким особинама, а само јаке, здраве, добро и складно грађене животиње могу обезбедити високу производњу током дужег низа година.

Поред морфометријских карактеристика, истраживања су обухватила и особине плодности биволица, у циљу процене њихове репродуктивне ефикасности. С обзиром на то да репродукција представља основу успешног одгајивања животиња, њена ефикасност директно утиче на све остале производне особине.

Молекуларно генетичка анализа испитиваних јединки спроведена је ради утврђивања фреквенција алела и генотипова полиморфизама гена кандидата за поједине фракције казеина, као и гена кандидата за садржај масти у млеку домаћих биволица. Циљ истраживања био је да се путем анализе варијанти гена повезаних са особинама квалитета млека, пружи увид у стање и процени могућности унапређења производње и квалитета млека домаћих бивола.

Квалитет млека биволица био је један од фокуса овог истраживања. Поред утврђивања основног хемијског састава млека, извршена је карактеризација протеина млека електрофоретским раздвајањем протеинских фракција и анализирана су технолошка својства млека у погледу сиришне коагулације према одговарајућим генотиповима.

Ова докторска дисертација представља студију која испитује фреквенције алела и генотипова у популацији домаћих бивола у Србији, као и њихову повезаност са особинама квалитета млека. Резултати истраживања могу послужити као основа за даља генетичка истраживања и усмеравање одгајивачких програма у циљу унапређења производних својстава бивола у Србији. Представљени подаци у овој студији допринеће ограниченом знању о популацији бивола у Србији.

2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

2.1. Фенотипска карактеризација бивола

Сточарство као делатност подразумева гајење домаћих животиња у контролисаним условима где природни закони не делују у пуној мери. Одгајивачи и зоотехничка наука преузимају улогу природе, свесно примењујући селекцијске методе ради очувања и побољшања физиолошких и морфолошких особина животиња, а у складу са потребама и плановима човека (Петровић и Пантелић, 2015).

Аутохтоне расе познате су по својој отпорности, прилагодљивости и преживљавању уз минималне ресурсе када се узгајају на својим природним стаништима. Међутим, многе аутохтоне расе су на ивици изумирања. Ово се дешава због различитих захтева на тржишту, али и неадекватне примене нових технологија за њихов узгој. Према Zarate (1996), а кога цитирају Khan et al. (2013), да би се омогућило очување и одржива употреба аутохтоних раса, потребно је извршити фенотипску карактеризацију и проценити њихову продуктивност у њиховим природним стаништима под традиционалним условима гајења.

Према FAO (2012) смерницама за фенотипску карактеризацију разликују се два нивоа, тј. примарна и напредна карактеризација. Примарна, представља основни корак и завршава се брзо, а обухвата активности које се могу обавити током једне посете терену, односно укључује основна морфометријска мерења и прикупљање информација од одгајивача. Напредна карактеризација захтева поновљене посете ради мерења продуктивности (нпр. раст, репродукција, производња млека) и адаптивних капацитета (нпр. отпорност на болести).

FAO (2012) наводи кораке из којих треба да се састоји студија о фенотипској карактеризацији одређене популације. У ту сврху неопходни су подаци о:

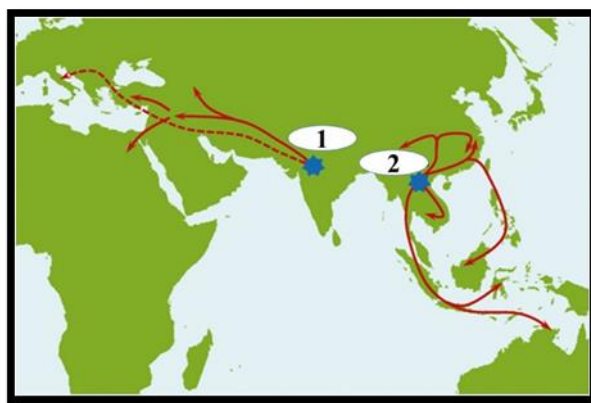
1. географској распрострањености расе, величини и структури популације;
2. фенотипским карактеристикама расе:
 - морфолошке карактеристике и изглед,
 - економске особине (нпр. раст, репродукција, принос/квалитет млека);
3. типичним сликама представника расе (мушка и женска грла);
4. пореклу, историјату и развоју расе;
5. свим познатим фенотипским и генетичким везама са другим расама гајеним на истом подручју, држави или ван ње;
6. окружењу и производним системима карактеристичним за ту расу;
7. особинама везаним за здравље, отпорност на болести и стресогене факторе (лоши услови исхране, неге и смештаја);
8. адаптационим карактеристикама – способности прилагођавања на екстремне климатске услове;
9. практичним и традиционалним сазнањима о гајењу аутохтоне расе.

2.2. Порекло и основне карактеристике домаћег бивола

Као дивље животиње, биволи се могу наћи у Азији и Африци, а као домаће или гајене у Азији, Африци, Јужној Америци, Европи и Аустралији. Према већини истраживача и према различитим критеријумима за поделу, биволи се деле на азијске и афричке. Домаћи биволи су првенствено животиње региона Азије, јер им погодује топла и влажна клима (Перишић, 2013). Различити подаци указују на то да су биволи одомаћени у периоду око 6.000 до 3.000 година пре нове ере. Постоје две подврсте домаћих бивола које су познате под називима мочварни и речни биво. Разликују се по броју хромозома, при чему речни биво има 50 хромозома, а мочварни 48 (Williams et al., 2017). Иако се број хромозома разликује, ове две подврсте при укрштању могу да произведу плодно потомство. Потомци настали оваквим

укрштањем наслеђују 49 хромозома и испољавају смањену репродуктивну способност (Pineda et al., 2021). Према Cockrill (1981), а кога цитирају Pineda et al. (2021), мочварни и речни биволи имају заједничког претка, а то је Азијски или Индијски дивљи биво – арни (*Bubalus bubalis*). Родови *Bubalus* и *Bos* значајно се разликују у морфолошким особинама. Биволи се сврставају међу најудаљеније сроднике домаћих говеда, што потврђују разлике у броју хромозома и немогућност међусобног размножавања. Домаћи биволи заузимају значајно место у пољопривредној производњи Азије, медитеранских земаља и неких земаља Африке. Домаћи биволи се користе за производњу млека, меса и коже. Користе се и за рад (источна Азија), нарочито на пиринчаним пољима јер могу да раде на мочварним теренима где има доста воде и муља (захваљујући широким папцима). Могу се користити и као вучне животиње, јер имају за 50 % јачу вучну снагу у односу на говеда исте телесне масе и старости (Степић и сар., 2021).

Према Clutton-Brock (1999), а како наводе Zhang et al. (2020), археолошки подаци и историјски записи пружају доказе да се у VII веку речни биво проширио на запад, односно од његовог центра доместикације све до Египта, Балкана и Италије.



Слика 1. Претпостављени правци распрострањавања речних – водених (1) и мочварних (2) бивола. Испрекидана стрелица указује на рану и независну миграциону руту која је можда довела речне биволе у Европу (Zhang et al. 2020), а као што су предложили Colli et al. (2018)

Захваљујући миграцији, а касније и увозу животиња, биволи су се проширили широм света и данас су постали важан извор производње млека на Блиском истоку и у медитеранским земљама (Dutta et al., 2020). Речни (водени) биволи су распрострањени од Индије до Италије, односно настањени су од Индије преко Пакистана, Ирана, Туркменистана, Ирака, Сирије, Египта, Азербејџана, Турске, Грчке, Бугарске, Румуније, Мађарске и земаља бивше Југославије. Rosati and Van Vleck (2002) наводе да су биволи углавном из Индије и Италије извожени у Централну и Јужну Америку. Последњих година формирају се фарме бивола и у неким земљама у којима се никада раније нису гајили, као што су Велика Британија, Немачка и Шведска. Популације бивола у овим земљама настале су увозом бивола првенствено из Италије, а у Немачкој, поред бивола из Италије, увожени су и биволи из Румуније и Бугарске (Hoeftlich et al., 2020).

Данас, главни разлог узгоја речних бивола је производња млека. Постоји велики број раса, а добро познате расе речних (водених) бивола су: мура (murrh), џафарабади (jaffarabadi), нагпури (nagpuri), сурти (surti), нили рави (nili ravi), кунди (kundi) и медитерански биво (mediterranean buffalo). Захваљујући способности да остану у води када је температура висока, биволи су боље прилагођени врућим и влажним климатским условима у односу на бројне сроднике. Биволи у медитеранском подручју су великог формата и уколико су правилно храњени, имају релативно висок ниво производње млека (Rosati and Van Vleck, 2002).

2.3. Биволи у Србији

Најстарији писани траг о биволима у Србији, који је пронађен током израде овог рада, датира из 1905. године. Текст је објављен у Тежаку – илустрованом гласнику српског пољопривредног друштва, који је основан 1869. године. Гавриловић (1905) наводи да се биволи у Србији највише гаје у врањском округу, затим у топличком, нишком, пиротском, тимочком, затим да их има у Лесковцу и околини, све до Бојника. О биволима пише као о животињама које се користе за рад и мужу, а превасходно за рад – „ораћа стока“, јер су врло издржљиви и јаки. Према попису из 1890. године у границама тадашње Србије гајило се око 8.494 грла бивола (Гавриловић, 1905).

Биволи у Србији, као и биволи Европе, потичу од азијског речног бивола. Према Macgregor (1941), а кога цитира Cockrill (1974), биволи у нашој земљи припадају раси – медитерански биво.

Одликују се узаном и дугачком главом са јаким роговима. Рогови су повијени у страну, иду уназад и пружају се врховима на горе. Врат је средње дужине и узан. Труп је снажан, квадратичног изгледа. Дубина груди је изражена, док су ширине груди и трупа слабо изражене. Наш домаћи биво има развијенији предњи део тела. Леђна линија се спушта према сапима. Сапи су широке у предњем делу (бедрене кости), а уске у пределу седњачних костију, уз то су кратке и оборене. Корен репа је ниско насађен. Мускулатура сапи је слабо развијена, а „гладне јаме“ су изражене. Кости ногу су снажне, са широким папцима. Виме код биволица је слабо развијено, са четири мамарна комплекса, као код крава. Кожа је дебела и црно пигментисана, такође на вимену и сисама. Боја покровних длака код бивола креће се од тамно пепељасте до црне, а поједина грла могу имати беле ознаке на глави (цветаста биволи), доњим деловима ногу и кићанки репа. Интензитет и присуство покровних длака варирају у зависности од услова држања. У хладнијим условима и код подхрањених грла длака је дуга, груба и густа. Када је летњи период, длака је ретка, као и код веома утовљених грла са великим наслагама поткожног масног ткива. Телесна маса домаћих бивола првенствено зависи од услова гајења, а најчешће се креће од 450 до 600 килограма, али се на терену могу наћи и биволице са знатно већом телесном масом. При рођењу, телесна маса биволчади креће се у распону од 25 до 40 килограма.

Данас се у Републици Србији биволи највише гаје на подручју Рашке области (општине Нови Пазар, Сјеница и Тутин) и на подручју Косова, а последњих година формирају се популације и на простору Војводине.

2.4. Морфолошке особине бивола

Детаљно проучавање одређених карактеристика једне популације домаћих животиња, као и практична примена различитих одгајивачких метода захтева добро познавање како телесних димензија грла, тако и њихове телесне развијености уопште (Петровић и сар., 2012). Фенотипска карактеризација домаћих животиња подразумева описивање спољашњих особина сваке групе животиња, које се разликују од других група посматраних у целини (Canelón, 2005).

Историјски гледано, интерес за морфолошке студије био је веома изражен. Од друге половине 18. века почиње прецизније оцењивање врста од зоотехничког интереса, где је фокус био на односима између конформације и производног потенцијала (Negretti et al., 2008). Идентификован је велики број морфолошких параметара (линеарни, угаони и периметријски), чије је мерење одговарајућим инструментима имало за циљ да се обезбеде корисни индикатори за морфолошка проучавања животиња (Negretti et al., 2008). Морфометрија је и данас значајна, многи научни радови базирају се на овој тематици, укључујући коришћење нових модерних мерних инструмената и анализу морфометријских особина, како би се допринело унапређењу производних и репродуктивних карактеристика

кроз генерације и обезбедила што економичнија производња (Dahiya et al., 2020; Singh et al., 2020). У основи, ова истраживања имају за циљ да проуче како морфологија утиче на производне карактеристике животиња, што може бити корисно за развој селекцијских програма у сточарству.

Правилан екстеријер животиње, пожељан тип конституције и одговарајућа кондиција умногоме утичу на статус грла и блиско су повезани са здрављем и отпорношћу животиње (Богдановић, 2016). На екстеријер, односно спољашњи изглед животиње, поред наследног фактора велики утицај имају и фактори спољашње средине. На основу телесне грађе и оцене спољашњег изгледа животиње, може се проценити производни тип, конституција, отпорност, кондиција, здравствено стање, старост, па и сама производна вредност и трајање искоришћавања животиње у производњи и приплоду. Недостаци у телесној грађи повезани су са физиолошким особинама, а морфолошка и физиолошка обележја се међусобно условљавају и често су наследног карактера (Перишић, 2013).

За правилну процену екстеријера грла, неопходно је познавање грађе тела, као и специфичности грађе тела бивола у односу на друге врсте домаћих животиња. Грађа тела може се посматрати појединачно или по регијама тела:

- предњи део – завршава се тамо где пролази замишљена вертикална линија иза плећки, а чине га глава, врат, плећке, гребен, груди и предње ноге;
- средњи део – леђа, слабине и трбух;
- задњи део – сапи, задње ноге и виме.

За оцену екстеријера користе се две групе података:

1. Особине утврђене мерењем (апсолутне мере – телесне димензије, релативне мере – индекси телесних димензија),
2. Особине утврђене посматрањем (проценом, визуелно) животиње на селекцијским смотрама и изложбама, а које су усаглашене са критеријумима које предвиђају стандарди за екстеријер појединих раса.

Мерење телесних димензија домаћих животиња има велики значај у зоотехници. Основни циљ мерења домаћих животиња јесте утврђивање телесних димензија, међусобно поређење животиња исте или различитих раса. Мерењем се добијају тачни и сигурни подаци о општој телесној развијености грла и хармоничности његове грађе. Коришћењем одговарајућих инструмената за мерење добијају се морфометријске особине, које се могу употребити за биометријска истраживања (Prasad, 2021). У свом раду Melo et al. (2018) су навели да је већи број аутора указао да постоји повезаност морфометрије са производним и репродуктивним карактеристикама код биволица.

Подаци о телесним мерама неопходни су за матичну евиденцију, јер се они уписују у матичне књиге и служе као један од критеријума за коначну оцену грла. На основу података о телесним димензијама животиње у различитом узрасту, може се пратити ток њеног пораста и развитка од рођења до пуне развијености (Петровић и сар., 2012). Мерење развијености значајно је и за утврђивање расних стандарда, када се поједине телесне димензије утврђују мерењем већег броја животиња дате популације и израчунавањем просечних вредности. Стандарди по расама су динамичне категорије и подложни су променама током времена, а настају као резултат одгајивачко селекцијског рада (Перишић, 2013).

Особине утврђене мерењем доприносе процесу селекције, тако што омогућавају идентификацију морфолошки супериорних животиња, али и уклањање нежељених карактеристика (Melo et al., 2018). Према Agudelo-Gómez et al. (2015), а кога цитирају Melo et al. (2018), мере на телу биволица и њихове корелације могу помоћи у предвиђању потенцијала производних способности ових животиња.

Превођењем апсолутних вредности у релативне, може се вршити поређење телесне развијености животиња различитих раса или различитих одгајивачких подручја. Најбољи начин за добијање показатеља телесне развијености јесте израчунавање индекса телесних

димензија. Под индексом се подразумева процентуални однос једне мере према другој (Петровић и сар., 2012). Помоћу индекса може се проценити општа телесна развијеност грла, пропорције појединих делова тела, конституција, погодност животиње за одређени тип производње, али и њене потенцијалне производне слабости.

На основу позитивног или негативног одступања од утврђеног расног просека или постављеног циља, животиње се оцењују и сврставају у одређене категорије или класе (Перишић, 2013).

Први документ о телесним мерама бивола у Србији датира са почетка XX века, а Гавриловић (1905) наводи следеће телесне мере бивола у Србији: висина гребена 113 cm, висина крста 124 cm, дужина тела (дијагонална) 130 cm, предња ширина карлице 33,5 cm, ширина кукова 42 cm, растојање седњачних кврга 32 cm, дубина трупа 69,5 cm, обим трупа 199 cm.

Табела 1. Телесне мере медитеранског бивола по појединим земљама и ауторима

Земља		Србија (Лесковац)	Румунија (Клуж, Трансилванија)	Бугарска	Италија	Бразил	Турска	Италија
N		136	170	164	96	113	73	10
Телесна мера (cm)	ВГ	120	134	130	135,5	134,6	123,8	134,7
	ВК	119	131	131	136,2	134,2	119	139,7
	ДТ	126	143	141	150,3	151,6	114,9	156,3
	ШГ	34	41	43	49,6	-	-	-
	ДГ	68	72	72	77,8	-	63,7	-
	ШК1	47	56	56	59,2	60,2	-	-
	ШК2	38	-	46	51,3	-	-	-
	ДК	41	53	51	-	43,2	-	44,9
	ШСК	-	-	-	-	22,3	23,6	-
	ОГ	175	189	190	207,8	-	181,5	-
	ОЦ	18	20	20	22,1	-	-	-
Извор литературе	Поповић (1949), а цитира Cockrill (1975)	Rosa and Rusu (1958), а цитира Cockrill (1975)	Ivanov and Sachariev (1960), а цитира Cockrill (1975)	Cockrill (1975)	Rezende et al. (2017)	Kelgökmem and Ünal (2015)	Negretti et al. (2008)	

ВК - висина гребена, ВК - висина крста, ДТ - дужина трупа, ШГ - ширина груди, ДГ - дубина груди, ШК1 - ширина кукова (бедрене кврге – предња ширина карлице), ШК2 - ширина карлично-бутних зглобова (ширина кукова - растојање зглобова кука), ДК - дужина карлице, ШСК - ширина седњачних кврга, ОГ - обим груди, ОЦ - обим цеванице.

Perišić et al. (2015) наводе 9 просечних вредности телесних мера код 37 јединки домаћих биволица. Аутори наводе да је популација биволица била доста неуједначена, што указује на одсуство одгајивачко-селекцијског рада код бивола у Србији у претходном периоду.

Степић (2018) анализирао је морфометријске особине домаћих бивола и утврђене су вредности за 10 телесних мера, као и 10 израчунатих релативних показатеља (индекса) телесне развијености.

Bunevski (2000) описује биволе у Северној Македонији и наводи да су црне боје и да имају висину гребена 129-131 cm, висину крста 113 cm (111-146 cm), дужину тела 132-141 cm, дубину груди 72,10 cm и обим груди 190 cm.

Vidu et al. (2013) наводе да је код бивола у Румунији висина гребена 136 cm, коса дужина трупа 141 cm и обим груди 193 cm.

Alexiev (1998), а кога цитирју Vidu et al. (2013), представљају висину гребена од 130 cm, дужину трупа од 141 cm и обим груди од 194 cm код бивола у Бугарској.

Campanile et al. (2003) пратили су 18 морфолошких особина код 711 одраслих јединки бивола и израчунали су 4 индекса, како би описали и окарактерисали популацију италијанског медитеранског бивола у 4 провинције. Коефицијенти варирања показали су приличну хомогеност у популацији за особине које се односе на висину и дужину трупа, док су особине које се односе на груди биле варијабилније.

Jaayid et al. (2011) у својој студији у Ираку укључили су 500 јединки бивола, који су били старости између 3 и 6 година. Мерили су 5 димензија на телу животиња и утврдили да постоје статистички значајне позитивне корелације између приноса млека и дужине тела (0,320), обима груди (0,365) и обима тела (0,295).

Просечне вредности за телесне димензије бивола у Ираку, мерене на 500 јединки у 3 различите провинције износиле су: висина гребена 147,34 cm, обим груди 202,26 cm, обим трупа 243,53 cm, дубина грудног коша 79,33 cm и дужина тела 165,43 cm (Jaayid et al., 2011).

Vohra et al. (2021) у свом раду писали су о морфометријској карактеризацији три расе, односно мур, нили рави и гојри у северном делу Индије.

Мерењем бивола нили рави расе у Пакистану, Mirza et al. (2015) представили су следеће димензије на телу: висина гребена $132,04 \pm 4,56$ cm (117-146 cm), дужина тела $154,01 \pm 7,60$ cm (127-185 cm) и обим груди $194,46 \pm 10,31$ cm (121-226 cm).

Dhillod et al. (2017) спровели су студију на 70 биволица мур расе, где су утврдили статистички значајне корелације између мера одређених делова тела и приноса млека.

У Бразилу, код мелеза мур и цафарабади расе, истраживачи су проучавали однос између различитих морфометријских карактеристика тела и производних карактеристика, као што су производња млека, трајање лактације и интервали између тељења. Резултати су показали да одређене карактеристике тела, као што су растојање између бедрених кврга, ширина кукова, ширина грудног коша и висина гребена, имају значајан утицај на конфигурацију тела и могу бити важне у селекцијским програмима за побољшање производних особина биволица (Melo et al., 2020).

Rezende et al. (2017) утврђивали су фенотипску разлику биволица цафарабади, медитеранске и мур расе. Исти аутори наводе да цафарабади раса, у односу на медитеранску и мур расу, има пожељније индексе карлице, што је кључно за лакоћу тељења.

Mirza et al. (2015) у свом раду наводе да подаци о генетској корелацији телесних мера са приносом млека могу да се користе за индиректну селекцију у циљу побољшања приноса млека код бивола, поготову оних грла где не постоји могућност редовне контроле млечности и где фармери бирају животиње на основу фенотипа. У њиховој студији мерене су различите телесне мере код бивола нили рави расе и вршена је процена фенотипске и генетичке корелације са приносом млека. Ове корелације биле су ниске, али позитивне.

Putra et al. (2020) у својим истраживањима вршили су мерења на 144 индивидуе у Индонезији. Код ових бивола мерено је 7 димензија на телу, а затим прерачунато 13 телесних индекса. Аутори у закључку наводе да су висина гребена, дужина тела и висина крста, као и индекси засновани на овим мерама, кључни као критеријуми приликом селекције и одабира животиња за жељени смер производње.

Поред утврђивања корелација између телесних димензија и производње млека, утврђиване су и корелације између телесних димензија и телесне масе. Ruiz-Ramos et al. (2023) у свом огледу, који је спроведен на 107 јединки у Мексику, износе податке да је телесна маса одраслих женки мур расе бивола у високој корелацији са телесним мерењима,

укључујући висину гребена, висину крста, обим груди, обима трупа и дужину тела. Исти аутори наводе да процена телесне масе на овај начин представља практичан и економичан метод за процену раста, продуктивности и репродуктивних перформанси грла која се, првенствено, гаје на екстензиван начин.

Terzano et al. (2007) испитивали су утицај различитих система гајења (интензивни и екстензивни) на развој јуница-биволица у Италији до пубертета. Мерили су телесну масу и 19 линеарних мера, након чега су израчунали 6 релативних индекса који су пружили увид у разлике између ових мера и индекса у зависности од система гајења. У закључку наводе да су системи гајења значајно утицали на линеарне мере тела и релативне индексе који би могли да играју значајну улогу у процени перформанси бивола.

Табела 2. Телесне мере мура, нили рави, цафарабади и нагпури расе, према различитим ауторима

Раса		Мура	Нили Рави	Цафарабади	Нагпури
N		95-99	200	78	107
Телесна мера (cm)	ВГ	130,05 (116-148)	140,2 ± 7,2	141,73	123,90 ± 0,40
	ВК	130,80 (119,70-143)	-	141,79	-
	ДТ	143,07 (120-162)	147,3 ± 7,2	161,21	119,03 ± 0,60
	ШГ	35,25 (25-44)	-	-	-
	ШК1	51,42 (40-63)	56,9 ± 4,5	65,15	-
	ШК2	39,99 (25-56)	-	-	-
	ДК	39,78 (32-56)	-	47,16	36,39 ± 0,25
	ШСК	25,38 (17-38)	30,2 ± 3,7	-	14,95 ± 0,13
	ОГ	201,30 (180-223)	203,2 ± 11	219,17	184,8 ± 0,85
Извор литературе		Melo et al. (2018)	Ahmad et al. (2013)	Rezende et al. (2017)	Ali et al. (2024)

ВК - висина гребена, ВК - висина крста, ДТ - дужина трупа, ШГ - ширина груди, ШК1 - ширина кукова (бедрене кврге - предња ширина карлице), ШК2 - ширина карлично-бутних зглобова (ширина кукова - растојање зглобова кука), ДК - дужина карлице, ШСК - ширина седњачних кврга, ОГ - обим груди.

2.5. Особине плодности

Репродукција представља темељ у процесу одгајивања животиња, јер обезбеђује одржавање бројности популације, омогућава побољшање генетског кавалитета популације кроз одабир пожељних јединки за репродукцију и на тај начин осигурава економску одрживост производње. Одржавањем бројности популације обезбеђује се генетичка разноликост, која је кључна за примену селекције и побољшање производних карактеристика, отпорност на болести и друге пожељне особине. Конкретно, без репродукције, временом би дошло до смањења или нестајања популације. Правилним управљањем репродуктивним процесима омогућава се рентабилна производња.

У погледу репродукције биволи се разликују од правих говеда. Управо те разлике им онемогућавају међусобно парење и добијање потомака, што представља један од доказа зашто су биволи најудаљенији сродници правих говеда.

2.5.1. Пубертет и полна зрелост

Појам пубертета је период када се успоставља ендокрина и гаметогена функција полних органа, тако да јединка може успешно да започне и заврши репродуктивни циклус. Женски полни органи мирују до појаве пубертета, када почиње епизодично лучење гонадотропног рилизинг хормона (GnRH), који подстиче аденохипофизу на секрецију

гонадотропина (FSH и LH), чија је улога да изазивају цикличне промене на женским полним органима у виду полних (оваријалних, еструсних) циклуса (Павловић и сар., 2021).

Полна зрелост директно зависи од пубертета и стиче се његовом појавом. Животиње се укључују у процес репродукције након достизања полне зрелости која може бити физиолошка и одгајивачка. Физиолошка се достиже раније (појава пубертета), док одгајивачка зависи од телесне масе и телесног развоја животиње.

Биволи обично достижу пубертет када достигну око 60 % телесне масе (250 до 400 килограма) од одрасле јединке, али узраст може бити веома различит и креће се у распону од 15 до 36 месеци (Jainudeen and Hafez, 2000). Главни фактори који утичу на то су генотип, исхрана, клима и систем (начин) држања.

Табела 3. Репродуктивне карактеристике женки говеда и бивола (Jainudeen and Hafez, 2000)

Параметар	Говеда	Биволи
Репродуктивна сезоналност	Полиестрична	Полиестрична
Пубертет (месеци)	15 (10-24)	21 (15-36)
Еструсни циклус		
Трајање (дана)	21 (14-29)	21 (18-22)
Еструс (часова)	18 (12-30)	21 (17-34)
Овулација		
Време од почетка еструса (часова)	30 (18-48)	32 (18-45)
Број овулираних јајних ћелија	1	1
Животни век жутог тела (дана)	16	16
Трајање бременитости	280 (278-293)	315 (305-330)
Узраст при првом партусу (месеци)	30 (24-36)	42 (36-56)
Постпартални период (дана)		
Инволуција материце	45 (32-50)	35 (16-60)
Прва овулација	30 (10-110)	75 (35-180)
Међутелидбени интервал (месеци)	13 (12-14)	18 (15-21)

Borghese (2005) наводи да у оптимизованим условима код речних бивола пубертет наступа при узрасту од 15 до 18 месеци, а код мочварних бивола са 21 до 24 месеца. Кашњење у пубертету, последично одлаже зачеће и резултира ниском репродуктивном ефикасношћу. Иако биволи достижу пубертет касније од говеда, захваљујући дужем репродуктивном и производном веку имају тенденцију да надокнаде овај рани економски недостатак (Perera, 2011).

Yilmaz et al. (2012) наводе да биволи у Турској достижу пубертет при узрасту од 18 до 24 месеца старости.

Borghese et al. (1997) наводе да је пубертет код медитеранских биволица, у зависности од начина држања и исхране, достигнут са 20,5 месеци узраста односно од 23 до 24 месеца.

Код биволица које се гаје у Ирану, испољавање првог еструса јавља се при узрасту од 15 до 18 месеци, што се може сматрати и узрастом при појави пубертета (Safari et al., 2018).

Према Mohamed et al. (1980) и Salama et al. (1994), достизање пубертета код биволица у Египту било је са 9,9 месеци па до 15,4 месеца старости (Borghese et al., 1997).

2.5.2. Еструсни циклус

Полни или еструсни циклус је комплекс физиолошких, хистолошких и морфолошких промена полних органа и неурохормоналног система, које се понављају циклично у

правилним временским интервалima, све док плоткиња не буде оплођена, и то током целог репродуктивног животног периода (Митић и сар., 1987).

Биволица је полиестрична животиња, а њен полни циклус у просеку траје 21 дан. Neglia et al. (2016) у својим истраживањима на 32 јединке италијанских медитеранских биволица, наводе да је просечно трајање еструсног циклуса било $23,7 \pm 3,4$ дана. Полни циклус биволица на Косову и Метохији износи 3 недеље, а креће се у интервалу од 19 до 23 дана (Миљковић, 1995). Varuselli et al. (1996) у свом истраживању наводе да је од 164 биволица укључених у истраживање 58,69 % имало трајање еструсног циклуса од 18 до 25 дана.

Полни или еструсни циклус има четири основне фазе: проеструс, еструс, постеструс и диеструс (Митић и сар., 1987; Павловић и сар., 2021).

Проеструс представља фазу полног циклуса пре еструса. У овој фази присутни су нејасни симптоми полног жара, односно ово је период када два пола показују сексуални интерес, али женка не дозвољава копулацију. Према наводима различитих аутора, трајање ове фазе код биволица може се кретати од 9 до 24 сата (Cockrill, 1974), па чак и 48 до 72 сата (Tulloch, 1979).

Еструс или полни жар представља период када плоткиња испољава специфичне спољашње и унутрашње промене, дозвољава копулацију и фазу полног циклуса када може доћи до оплодње. Еструс је најзначајнија фаза полног циклуса, јер у овој фази синхронно долази до овулације и само у овој фази плоткиње могу бити оплођене (Митић и сар., 1987). Биволице у полном жару ричу, смањују конзумацију хране, узнемирене су, њуше друге животиње, често мокре, смањују лучење млека, скачу на друге животиње, али није реткост да се дешава и бежање у циљу проналажења мужјака (Јовановић, 1975).

Према литературним подацима еструсна фаза у просеку код биволица траје од неколико сати, затим 1 до 1,5 дана, 3 дана, па чак и дуже (Cockrill, 1974; Tulloch, 1979; Миљковић, 1995). Zicarelli (1992), а кога цитира Borghese (2005), наводи три категорије еструса: кратак (<12 сати), средњи (13-24 сата), дуг (24-48 сати) и веома дуг (>48 сати). Трајање еструса у сезони када су биволице полно активније (сезона кратког дана) може се кретати у интервалу од 10 до 20 сати, а ван ове сезоне може се кретати од 2 до 72 сата (Campanile et al., 2010). Углавном, превише дуго трајње еструса сматра се патолошким и представља неки хормонални проблем. Трајање еструса код биволица у различитим земљама представљено је у табели 4.

Табела 4. Трајање еструса код биволица према различитим ауторима које цитира Cockrill (1974)

Земља	Трајање еструса (часова)	Аутор
Кина	22	Wang et al. (1965)
Египат	12	Shalash (1958)
Пакистан	19,5 (3-69)	Ishaq (1956)
Бугарска	24-36	Kaleff (1932)
Индија	29 (24-72)	Bhattacharya (1954)

Постеструс или метеструс је период након еструса када видљиви симптоми еструса нестају. У овој фази рефлекс мировања и спремност за парење су негативни (Вуковић и Перковић, 2012). Ова фаза еструсног циклуса траје 1 до 4 дана.

Диеструс је период између постеструса и проеструса у коме није примећена сексуална жеља, тачније женке показују снажан отпор и не дозвољавају скок мужјака. Ова фаза представља време одмора за репродуктивни систем биволица и период припреме за нови циклус. Траје две недеље, с тим да може значајно да варира (Tulloch, 1979; Миљковић, 1995; Ali et al., 2003).

2.5.3. Узраст при првој оплодњи

Процес полног сазревања је контролисан сложеним неурохормоналним механизмима, на осовини ЦНС-хипоталамус-хипофиза-јајник који прати старост јединке (Станчић, 2014). Поред физиолошке полне зрелости, за одређивање узраста при првој оплодњи битнија је одгајивачка полна зрелост. Правилно одређивање времена прве оплодње може умногоме да утиче на оптималну производњу. Одгајивачка полна зрелост директно зависи од одгајивача, као и његове одлуке да ли ће и када укључити животињу у репродукцију (Богдановић, 2016). Углавном, животиње достижу полну зрелост када достигну $2/3$ до $3/4$ од потпуног телесног развоја. С обзиром да се пубертет код биволица може појавити са 15 месеци старости (Jainudeen and Hafez, 2000), некада и раније, то није право време када треба извршити прву оплодњу. Прерано укључивање јуница у репродукцију доводи до заостајања у порасту, отежаног порођаја, продуженог сервис периода и мање количине произведеног млека, што доводи до економских губитака у производњи (Митић и сар., 1987). Најчешће последице које се дешавају приликом прераног укључивања животиња у приплод су заостајање у порасту, компликације приликом порођаја, рађање слабије развијеног и авиталног потомства, проблеми са репродукцијом и смањена производња млека (Богдановић, 2016).

Bertoni et al. (2022) у својим истраживањима наводе да је узраст при првој оплодњи биволица био са $19,75 \pm 0,5$ месеци, са телесном масом $328,75 \pm 15,48$ килограма. Исти аутори цитирају Crudeli (2011), који приказује исте вредности за телесну масу при првом осемењавању, али се старост разликовала и приказана је вредност од 22 до 24 месеца.

Soysal (2013) наводи да се у Турској биволице први пут осемењавају при узрасту од 22 до 24 месеца.

Bedoya et al. (2001) наводе да је узраст при првој оплодњи, код биволица у Колумбији, износио $27,27 \pm 1,97$ месеци.

У Венецуели Mantilla et al. (2023) спровели су истраживање у коме су животиње биле подељене у две групе. Једна група гајена је на традиционалан и екстензиван начин, док је друга група гајена у интензивном систему са побољшаном исхраном. Ови аутори добили су значајну разлику у термину првог припуста, јер су животиње гајене на традиционалан начин први пут оплођене са 36 месеци старости, а оне гајене у интензивном систему са 24 месеца старости.

Свакако треба избегавати екстреме у овој ситуацији, али и смањити такозвани „непродуктивни период“ када је животиња телесно способна за бременитост, али није осемењена.

2.5.4. Бременитост

Период од оплодње јајне ћелије (фертилизације) до нормалног порођаја (партуса) назива се бременитост, гестација или стеоност (Станчић, 2014). Трајање бременитости код биволица може бити различито и према литературним подацима креће се од 303 до 340 дана (Bonadonna, 1959; D'Occhio et al., 2020; Yazici et al., 2024).

Ragab and Asker (1951), а цитира Cockrill (1974), приказују да је код биволица гајених у Египту трајање бременитости биволица које су отелиле мушку телад било дуже (317,5 дана) у односу на бременитост са женском телад (315,8 дана).

Према Ghanem et al. (1955) старије биволице у Египту имале су за три дана дужу гестацију у односу на млађе плоткиње, тј. 319 наспрам 316 дана бременитости (Cockrill, 1974). Исти аутори наводе да су бременитости, које су се завршиле тељењем женског телета трајале дуже за 1,5 дана у односу на бременитости са мушким телетом.

Табела 5. Трајање бременитости код биволица према различитим ауторима

Земља	Трајање бременитости у данима			Аутор
	Просек	Минимум	Максимум	
Бугарска	315	303	326	Kalef (1938), а цитира Bonadona (1959)
Индија	316	314	320	Ocampo (1939), а цитира Bonadona (1959)
Италија	311	287	337	Maymone (1945), а цитира Bonadona (1959)
Египат	315	312	319	El-Tarabany (2018) Ragab and Asker (1951), а цитира Cockrill (1974) Ghanem et al. (1955), а цитира Cockrill (1974)
Србија	315	300	330	Јовановић (1975)
Турска	321	317	326	İzgi and Asker, (1989), а цитира Soysal (2013)
Грчка	315	310	320	Roustemis et al. (2016)

Ближњење код бивола се веома ретко дешава и процентуално се креће од 0,01 до 0,66. Ово варирање зависи и од начина држања, јер у Италији проценат ближњења износи 0,29, али код биволица које су у интензивном систему држања иде до 0,66 (Purohit, 2020). Као код говеда, тако и код бивола ближњење није пожељно због појаве неплодности (фримартинизам) код женки разнополних близанаца (Iannuzzi et al., 2004).

2.5.5. Узраст при првом тељењу

Прегледом литературе запажена је велика варијабилност овог параметра. Према Bertoni et al. (2021), оптималан узраст при првом тељењу код биволица пожељан је да буде са $37,69 \pm 1,96$ месеци. Gómez-Carpio et al. (2023) наводе да се узраст при првом тељењу медитеранских биволица у Италији кретао у интервалу од 705 до 1.425 дана, са просеком 1.024 ± 138 дана.

Cassiano et al. (2003) у својим истраживањима наводе да је узраст при првом партусу код медитеранских биволица у Бразилу, баио тип, износио у просеку 1.088,03 дана, а кретао се од 1.040 до 1.156 дана.

Bedoya et al. (2001) наводе да је узраст при првом партусу износио $37,69 \pm 1,96$ месеци.

Soysal (2013), цитирањем Şekerdin et al. (2000) и İlarslan et al. (1983), наводи да је узраст при првом тељењу код биволица у Турској био у периоду од $964,1 \pm 3,94$ до $1313,2 \pm 234,8$ дана.

Према Borghese (2013), узраст при првом тељењу код биволица у Румунији је око 36, у Немачкој око 35, а Грчкој 36 до 48 месеци. Roustemis et al. (2016) наводе да је узраст при првом тељењу код биволица у Грчкој $40,3 \pm 8,69$ месеци.

Kour et al. (2020) за мура расу наводе да је први партус био у просеку при узрасту од $1331,89 \pm 8,77$ дана, односно 44 месеци. У својим истраживањима Dhandapani et al. (2020) наводе да је узраст при првом тељењу код нили рави расе у просеку $1.291,31 \pm 8,68$ дана, што прерачунато у месецима износи 42,4.

Табела 6. Узраст при првом тељењу у зависности од начина држања бивола у Европи и на Блиском истоку (Borghese, 2005).

Земља	Телесна маса одраслих јединки (килограма)		Узраст при првом тељењу (месеци)	Начин држања
	женке	мужјаци		
Италија	650	800	28-32	Слободан
Румунија	545	665	38-42	Везани
Бугарска	600	800	34-37	Везани
Египат	280	300	34-41	Везани, са испустом и пашњаком
Сирија	490	580	36-42	Пашњак + прихрана
Турска	410	510	36	Везани, са испустом и пашњаком
Ирак	900	1000	36	Пашњак + прихрана
Иран	550	650	36-39	Пашњак
Азербејџан	530	780	36-39	Везани
Грчка	-	-	40	Пашњак

Penchev et al. (2014) у својим истраживањима наглашавају да сезона рођења плоткиње може имати утицај на узраст при првом тељењу код биволица, при чему плоткиње рођене у лето и јесен показују млађи узраст при првом тељењу, док плоткиње рођене током зимске сезоне могу бити старијег узраста при првом тељењу.

Неопходно је напоменути да су Araujo Neto et al. (2020) идентификовали одређене гене кандидате (*ROCK2* и *PMVK*) за особину узраст при првом тељењу.

2.5.6. Сервис период

Временски период од партуса до наредне оплодње назива се сервис период (Перишић, 2013). С обзиром да се при сваком осемењавању или припусту током еструса не дешава оплодња, онда се овај параметар прецизније дефинише као временски период од тељења до еструса у коме је након припуста или осемењавања дошло до концепције. Изражава се у данима и пожељно је да траје 60 до 90 дана. У случају да не дође до концепције при осемењавању или припусту, сервис период се продужава за трајање једног еструсног циклуса, који у просеку износи 21 дан. Сваки продужетак сервис периода одражава се негативно на производњу животиње, а највише на интензитет плодности, јер долази до продужетка интервала између два тељења. Из наведених разлога, да би се одржала ефикасност плодности, неопходно је да биволице имају успешну оплодњу до 90. дана након партуса (Otava et al., 2021).

Safari et al. (2018) цитирањем већег броја аутора (Baruselli et al., 2000; Campo et al., 2002, Madad et al., 2013) наводе да на активацију јајника после порођаја, тј. обнављање полног циклуса и на концепцију, може утицати већи број фактора, међу којима су најистакнутији: раса, исхрана, производња млека, дојење, инволуција материце и сезона тељења.

Snel-Oliveira et al. (2010) у својим истраживањима наводе да је инволуција материце након партуса код старијих биволица (више пута отељених) трајала око $25,78 \pm 6,14$ дана, док је код првотелки трајала $25,40 \pm 3,85$ дана. Током 3 године истраживања, Baruselli et al. (1996) су утврдили да се први еструс испољио у просеку 57,1 дан, затим 59,01 и 73,1 дан након

партуса. У Бразилу, код биволица отељених први пут, испољавање првог еструса након тељења забележено је $37,40 \pm 9,91$ дан, а код старијих биволица (више пута отељених) после $42,78 \pm 7,98$ дана (Snel-Oliveira et al., 2010).

Phogat et al. (2016) цитирају Singh and Nanda (1993) који у својим истраживањима наводе да је поновно покретање еструсног циклуса након тељења значајно одложено код биволица које су се телиле од фебруара до маја (116 до 148 дана), у поређењу са осталим деловима године (38 до 64 дана).

Singh et al. (2000) наводе у свом раду да код неоплођених животиња летњи период доводи или до појаве тихог еструса (када животиња не показује јасне знаке еструса) или до анеструса (потпуног изостанка еструса). Такође, напомињу да је важно истражити и идентификовати факторе који су одговорни за ове појаве како би се развиле ефикасне стратегије гајења животиња.

Roychoudhury (1970) у свом истраживању спроведеном на биволицама у Италији, наводи да је пратио производњу 558 јединки које су биле од прве до једанаесте лактације, а резултати су показали да је просечно време сервис периода износило 96,99 дана.

Према Јовановићу (1975), биволице на Косову и Метохији се припуштају 1 до 3 месеца након партуса, лако остају стеоне са једним до два парења.

Код биволица у Турској први еструс након партуса јавља се са око 40 дана (Yilmaz et al., 2012). Цитирајући İlarslan et al. (1983) и Şekerden et al. (2000), Soysal (2013) наводи да сервис период код биволица у Турској траје од 70,8 до 112,45 дана.

Bertoni et al. (2021) у свом раду представљају дужину трајања сервис периода од $108 \pm 7,6$ дана и напомињу да сервис период ове дужине омогућава оптималан међутелидбени интервал (13-14 месеци). Cassiano et al. (2003) наводе у својим истраживањима на биволицама у Бразилу (медитерански биво – баио тип) да је сервис период трајао у интервалу од минималних 86 до максималних 190 дана. Резултати истраживања Bedoya et al. (2001) приказују да је просечно трајање сервис периода износило $3,63 \pm 0,70$ месеци.

Milan et al. (2018) наводе да је сервис период код мура расе просечно трајао $110,68 \pm 3,27$ дана. Kour et al. (2020) за мура расу наводе да је први сервис период у просеку износио $187,61 \pm 4,61$ дан. Када је у питању нили рави раса, Dhandapani et al. (2020) наводе да је сервис период био у просеку $163,52 \pm 7,33$ дана и да сезона тељења није имала статистички значајан утицај на сервис период. Naqvi and Shami (1999) у својим истраживањима такође наводе да сезона тељења није имала статистички значајан утицај на трајање сервис периода. Међутим, Ali et al. (2011) наводе другачије резултате, који указују да је сезона тељења имала статистички значајан утицај на вредности овог параметра.

Khan et al. (2012) у свом раду приказују да је пол телета имао утицај на трајање сервис периода, тј. да је дужи сервис период био код плоткиња које су отелиле мушко теле.

Рана ембрионална угинућа могу имати утицај на продужење сервис периода код биволица (Vecchio et al., 2018). Campanile et al. (2010) наводе, а цитирају Vecchio et al. (2018), да се највећи проценат (око 40 %) смртности ембриона јавља у периоду између 25. и 45. дана бременитости, док фетални морталитет, између 45. и 90. дана настаје у најмањем проценту (око 10 %).

El-Wishy (2007) цитирајући већи број аутора описује утицај производње млека на трајање сервис периода, односно појаву првог еструса након партуса. Конкретно, биволице које производе више од 8 килограма млека дневно имају периоде анестрије у просеку од 76 до 107 дана, док биволице које производе мање од 8 килограма млека имају краће периоде постпарталне анестрије и то у просеку од 56 до 77 дана.

2.5.7. Међутелидбени интервал

Период између два узастопна тељења назива се међутелидбени интервал. Код биволица пожељно је да међутелидбени интервал износи 13 – 14 месеци. Овај интервал се састоји из два периода: гестација и сервис период. Како је гестација биолошка константа, фактички највећи утицај на међутелидбени интервал има трајање сервис периода (Станчић, 2014).

Углавном, биволи преферирају парење током краћих дана, што обично одговара зимским месецима у већини регија. Међутим, када имају адекватну исхрану и одговарајуће амбијенталне услове биволице могу испољавати еструсне циклусе током целе године (Campanile et al., 2010).

Инволуција материце, након партуса, код биволица завршава се са нешто више од око месец дана. За грла гајена у истим условима, период постпорођајног анеструса обично је дужи код биволица него код крава. У оптималним условима, биволице обнављају свој репродуктивни циклус између 30. и 90. дана након тељења. Међутим, фактори као што су лоша исхрана, учестало дојење и лоши климатски услови могу значајно одложити овај процес. Такође, сезона тељења значајно утиче на овај интервал (Barile, 2005).

Bertoni et al. (2021) препоручују да је за оптималну производњу неопходно да се постигне међутелидбени интервал од $13,8 \pm 1,4$ месеца, што је могуће остварити када је уредан пуерперијум и оптималан сервис период.

Табела 7. Утицај дојења на појаву првог еструса након партуса према различитим ауторима које цитира El-Wishy (2007)

Број животиња	Први еструс након партуса (дана)	Поступци током лактације	Аутор
42	78 ± 4	Мужа	El-Fouly et al. (1976)
42	132 ± 5	Дојење	
10	54 ± 8	Ограничено дојење	Usmani et al. (1985b)
9	39 ± 3	Без дојења	
29	39 ± 2	Мужа	Usmani et al. (1990)
29	61 ± 3	Дојење	
21	42 ± 4	Мужа	
21	76 ± 5	Дојење	
10	59 ± 8	Мужа	Barkawi (1993)
10	63 ± 7	Дојење	
6	44 ± 9	Мужа	Arya and Madan (2001)
6	72 ± 11	Дојење	

Borghese (2013) наводи да је међутелидбени интервал код биволица у Румунији око 485 дана, а цитирајући Peeva (2000) наводи да је овај интервал код биволица у Бугарској 436 до 505 дана. Soysal (2013) цитира Şekerden et al. (2000) и İlarslan et al. (1983), који наводе да међутелидбени интервал код биволица у Турској варира од $365,2 \pm 17,5$ до $434,3 \pm 57,1$ дан. Deshmukh and Roychoudhury (1971) наводе у свом истраживању да је просечан период између два тељења код биволица у Италији износио $427,24 \pm 5,06$ дана. Cassiano et al. (2003) у свом истраживању на више раса бивола у Бразилу, међу којима је медитерански биво – баио тип,

наводе да је просечно трајање међутелидбеног интервала износило 380,32 дана, са варирањем од 373 до 392 дана. Bedoya et al. (2001) су у својим испитивањима навели да је трајање међутелидбеног интервала износило $13,83 \pm 1,04$ месеца. Fathy et al. (2023) у забележили да је међутелидбени интервал код биволица у Египту износио 13,57 месеци.

Gómez-Carpió et al. (2023) у својим истраживањима наводе да је просечно трајање првог међутелидбеног интервала износило 473 ± 100 дана, док је трајање другог и сваког наредног међутелидбеног интервала износило 452 ± 98 дана. Sanker et al. (2014) приказују разлике у трајању међутелидбених интервала, при чему је први интервал био дужи (466 дана), у односу на трајање другог (453 дана), трећег (438 дана) и четвртог (441 дан) међутелидбеног интервала код мура расе биволица. Kour et al. (2020) за мура расу наводе да је први међутелидбени интервал у просеку износио $496,75 \pm 4,71$ дан.

У својим истраживањима Dhandapani et al. (2020) наводе да је међутелидбени интервал за нили рави расу у просеку био $466,55 \pm 6,70$ дана.

Ембрионална смртност утиче на продужетак међутелидбеног интервала. Чешћа је код животиња које су вештачки осемењене од оних које су парене. Цитирајући већи број аутора, Vecchio et al. (2018) наводе да је примећен губитак ембриона од 20 % до 40 % код животиња које су осемењаване у годишњем добу које карактерише велики број светлосних сати (Campanile et al., 2005; Campanile et al., 2007), док се ове вредности од око 7-10 % или 20 % бележе током сезоне са малим бројем светлосних сати или животиња које се гаје у земљама близу екватора (Baruselli et al., 1997; Vecchio et al., 2010; Vale et al., 1989). Треба напоменути да ембрионални морталитет није увек у корелацији са сезоном концепције и да највише зависи од функционалног стања репродуктивног тракта, као и од фактора околине, тј. стреса, исхране и температуре (Vecchio et al., 2018).

Превише дуг међутелидбени интервал није пожељан. Поред тога што се смањује животна плодност (мањи број телади током живота), утиче и на нижу производњу млека у лактацији. Parlato and Zicarelli (2016) у резултатима својих истраживања наводе да су биволице у Италији, чији је међутелидбени интервал био дужи од 22 месеца, имале нижу просечну производњу млека у тој лактацији. Чак је код животиња које су имале међутелидбени интервал у трајању од 30 месеци била нижа производња млека у тој лактацији, у односу на животиње које су имале међутелидбени интервал 11 месеци. Зато је оптимално трајање међутелидбеног интервала 13-14 месеци.

Још увек није разјашњено у којој мери је утицај сезоне на парење код бивола генетичка карактеристика или резултат фактора околине. Истраживања указују да биометеоролошки фактори попут температуре, релативне влажности и дужине дана значајно утичу на ендокрини систем бивола, што резултира променама у репродуктивној активности (Singh et al., 2000). Чак и у случају када постоји генетичка основа за сезонски еструс, контрола микроклиматских услова може бити кључна за оптимизацију репродуктивне ефикасности, што потврђује важност утицаја фактора околине на репродуктивно понашање бивола (Neglia et al., 2020). У неким крајевима због превелике суше и оскудне исхране у летњем периоду може доћи до појаве репродуктивне сезоналности. Међутим, досадашња истраживања нису била дизајнирана тако да утврде разлике ефекта фотопериода и утицаја других фактора околине.

Постоји неусклађеност резултата истраживања када је у питању трајање анеструсног периода код биволица у различитим годишњим добима. Неки истраживачи нису нашли значајне сезонске разлике у дужини трајања анеструсног периода након партуса, док су други забележили дуже анеструсне периоде за биволице које су рађале телад у топлијим сезонама у поређењу са онима у хладнијим сезонама. Све ово директно се одражава на трајање међутелидбеног интервала.

Иако су биволице полиестричне животиње, њихова репродуктивна ефикасност показује велике варијације током целе године. Сезона тељења такође утиче на активност јајника након партуса (Kumar et al., 2019). Клима, посебно фотопериод (путем лучења

мелатонина), игра кључну улогу у сезоналности еструса код биволица. Удео биволица који показују еструс током периода кратког дневног светла значајно је већи него током периода дугог дневног светла, што указује да смањење дневног светла јаче одређује поновно покретање оваријалне активности (Barile, 2005). Код медитеранске расе бивола, тељење се дешава углавном између јула и децембра, а интервал између тељења је дужи за порођаје између фебруара и јуна, што указује на смањење стопе зачећа током пролећно-летњих сезона (Barile, 2005). Да би задовољили потражњу млека, а поготову млечних производа (моцарела) на тржишту, италијански узгајивачи бивола су пре неколико деценија увели такозвано „парење ван сезоне парења“, односно успели су да модификују календар природног тељења тако да се парење/осемењавање животиња врши током целе године. Сходно томе, осетљивост биволица на фотопериод, заједно са другим амбијенталним факторима, игра важну улогу у правилном функционисању еструсног циклуса. Биволице које се теле у јесен показују краћи постпорођајни анеструс, него оне које се теле у пролеће и лето, јер њихов наставак активности јајника одговара почетку кратког дневног периода. Borghese et al. (1993) истиче, а цитира Barile (2005), да се рано обнављање активности јајника након партуса дешава углавном у октобру–новембру у опадајућем фотопериоду, што такође одговара највишој стопи плодности.

Сезона парења биволица на Косову и Метохији траје током целе године, с тим да је највећа концепција у првој половини лета и у јесен (Миљковић, 1995).

Адекватна исхрана пре и после тељења, ограничавање дојења телади и смањење топлотног стреса могу послужити као методе за решавање дуготрајног периода анестричне фазе након партуса. Такође, присуство мужјака у стаду може имати стимулативни ефекат на појаву еструса и овулација.

2.6. Генетичка карактеризација

Још од времена доместикације, човек бира животиње према сопственим критеријумима усмереним ка повећању продуктивности, често занемарујући неке природне и физиолошке законе. Последњих година дошло је до значајног напретка у разумевању сложених процеса у организму на ћелијском и молекуларном нивоу. Развој молекуларне биологије омогућио је разумевање фундаменталних животних процеса и пружио алате за анализу ових феномена.

Научници су још деведесетих година XX века почели да користе алате молекуларне генетике за истраживања на домаћим и гајеним животињама како би извршили генетичку карактеризацију животиња. С обзиром на процене да постоји око 8.800 раса и сојева анималних генетичких ресурса (FAO, 2021), првобитни циљ до данас није постигнут.

Према FAO (2011) молекуларна карактеризација анималних генетичких ресурса требало би да има за циљ:

1. добијање глобалног погледа на разноликост између раса;
2. посвећивање више пажње локалним расама у неистраженим подручјима;
3. идентификовање геномских региона укључених у функционалну разноликост:
 - адаптација;
 - отпорност на болести;
 - продуктивне особине (нпр. раст, репродукција, принос/квалитет млека);
4. идентификовање раса:
 - откривање јединствених генетичких маркера као доказа независног развоја расе или
 - откривање раса које су генетички сличне или скоро идентичне;
5. указивање на вредност различитих раса за очување генског пула и биодиверзитета врсте.

Научна интересовања увек су била усмерена ка разумевању наследних промена и начина на који се јављају. Мутације представљају гориво које покреће процес еволуције и селекције, али такође могу бити штетне и изазвати одређене фенотипске абнормалности. Углавном, мутације су промене у структури ДНК, где се један или више нуклеотидних парова мењају у односу на оригиналну секвенцу, што доводи до полиморфизма ДНК, односно присуства две или више различитих секвенци ДНК у популацији. То није изненађујуће, јер је током деобе ћелија неопходна огромна прецизност ДНК полимеразе да тачно реплицира два идентична комплета са око три милијарде нуклеотида (Делетић, 2009).

Еукариотски геноми показују значајне полиморфизме, односно варијације у ДНК секвенцама, како између различитих врста и раса, тако и међу јединкама исте расе. У популацији могу постојати различити облици једног гена, односно алели. Када је неки алел присутан у популацији са учесталошћу већом од 1 % он представља генску варијанту, а не мутацију. Постоје различити типови генских варијанти:

- Замена једног нуклеотида у молекулу ДНК (енг. single nucleotide polymorphisms – SNP)

Ове замене могу бити синонимне, несинонимне и бесмислене. Синонимне замене не доводе до промене аминокиселине на протеинском нивоу и највероватније немају утицај на функцију протеина, док несинонимне замене мењају аминокиселину у протеину, па могу довести до промене функције протеина и испољавања различитих фенотипских карактеристика. Бесмислене замене уводе стоп кодон, што значи да долази до прекида синтезе протеина, а ефекат ове замене зависи од позиције варијанте у гену.

- Делеција/инсерција

Варијанте овог типа подразумевају да један алел садржи одређени сегмент ДНК (инсерција) док у другом алелу тај сегмент не постоји (делеција).

- Тандемски поновци (минисателити и микросателити)

Минисателити могу бити дужине и до неколико хиљада нуклеотида и најчешће се налазе у региону теломера. Микросателити су тандемски поновљени сегменти ДНК дужине до 10 нуклеотида који могу бити поновљени и неколико стотина пута. Најчешће се понављају секвенце од два, три или четири нуклеотида. Варијанте овог типа имају велику примену у процесима идентификације јединки и одређивања сродства.

Генетички маркери представљају основни алат у савременим молекуларно-генетичким истраживањима, а њихов одабир за одређено истраживање зависи од сврхе и циља истраживања (Vignal et al., 2002). SNP – ови су значајни, јер омогућавају већи број маркера за анализу гена него друге врсте промена. Они се често налазе у деловима гена који директно утичу на функцију протеина, што може допринети различитостима међу јединкама. SNP – ови су такође стабилнији у наслеђивању од других врста маркера, чинећи их корисним за дугорочну селекцију. Коришћењем технологија попут микрочипова за ДНК, SNP – ови омогућавају ефикасну анализу великих количина генетичких података (Beuzen et al., 2000).

Развој молекуларно-биолошких метода омогућио је да данас постоје бројне технике проучавања варијација ДНК на молекуларном нивоу. Када је развијена средином осамдесетих година XX века, метода ланчане реакције полимеразе (енг. Polymerase Chain Reaction – PCR), изазвала је револуцију у молекуларној генетици, јер је омогућила брзо клонирање и анализу ДНК. PCR је техника која омогућава брзо и ефикасно умножавање специфичних и дефинисаних циљних делова ДНК у лабораторијским условима. Да би се омогућило овакво циљано умножавање неопходно је додавање специјално дизајнираних прајмера – једноланчаних олигонуклеотида, одговарајуће термостабилне ДНК полимеразе и нуклеотидних прекурсора. Све фазе PCR реакције детерминисане су температуром на којој се одвијају и дужином трајања (Делетић, 2009).

Секвенцирање ДНК представља поступак утврђивања редоследа азотних база на молекулу ДНК. Редослед азотних база (аденин (А), гуанин (G), цитозин (C) или тимин (T)) у структури ДНК ланца указује на генетички код који се налази у гену и који кодира синтезу протеина неопходних за различите биолошке функције у организму. Ово омогућава идентификацију и лоцирање свих гена у геному, као и пружање фундаменталних информација о структури, функцији и регулацији гена, али и генетичким основама еволуције, здравља и производних особина. Средином седамдесетих година XX века појавиле су се две методе (Maxam-Gilbert и Sanger) за директно секвенционирање ДНК (Делетић, 2009). Из ових метода развијен је већи број других техника секвенционирања. Данас, захваљујући напретку различитих технологија, укључујући софтвере и биоинформатику, постоје потпуно аутоматизоване методе секвенцирања које омогућавају масовну употребу и отварају нове правце у истраживањима, посебно олакшавајући идентификацију SNP маркера из амплификованих делова геномске ДНК (Gužvić, 2013; Zhang et al., 2018). Секвенцирање омогућава детекцију генских варијација и мутација које могу бити повезане са различитим производним особинама код животиња, што је кључно за унапређење производње и примену геномске селекције.

Коришћење достигнућа биолошких и зоотехничких наука у другој половини двадесетог века довело је до значајног повећања продуктивности животиња. Широки и лак приступ молекуларно-биолошким технологијама омогућио је употребу генских варијанти као маркера функционалних особина. Различите генске варијанте до сада су анализирале код све четири главне врсте животиња које доприносе глобалној производњи млека (говеда, биволи, козе и овце), али највише код говеда (Barłowska et al., 2012). Током израде овог рада идентификоване су генске варијанте типа замене једног нуклеотида у генима кандидатима, као генетички маркери приноса и квалитета млека у испитиваној популацији бивола.

2.7. Варијабилност протеина млека и гени кандидати

Aschaffenburg and Drewry (1955) су први описали варијабилност β -лактоглобулина у крављем млеку, а 1962. године Thompson et al. у свом раду доказују различите варијанте α – казеина (McKenzie, 1967). Од тада различите варијанте протеина млека постају веома интересантне за истраживање, јер управо оне утичу на различита својства млека и производа од млека. Варијанте протеина одређене су редоследом аминокиселина у протеинима, што утиче на састав и особине млека и млечних производа.

Зато су варијанте протеина млека и њихова повезаност са варијантама у генима кандидатима и даље актуелна тема за истраживање, а све са циљем избегавања економских губитака у млекарској индустрији (Pramanik et al., 2022; Weerasingha et al., 2022). Zicarelli et al. (2020) наводе да је већи број аутора утврдио постојање повезаности варијанти протеина млека са варијантама у генима кандидатима код италијанског медитеранског бивола.

Својства млека контролише неколико гена, међу којима су и гени казеина: *CSN1S1*, *CSN1S2*, *CSN2* и *CSN3*. Ови гени кодирају за α_{s1} , α_{s2} , β и κ – казеин (El Nahas et al., 2013). Генске варијанте и њихове комбинације (хаплотипови) казеина имају значајан утицај на однос и количину протеина у млеку (Heck et al., 2009). Бројне студије су испитивале везу између генских варијанти које кодирају млечне протеине и својства коагулације млека (Hallén et al., 2010). Истраживања и потрага за генским варијантама које могу бити корисне за генетичко побољшање животиња које се користе за производњу млека трајала је више од 40 година и дала су релевантне резултате код говеда, али такви резултати још увек нису постигнути код бивола (Pauciullo et al., 2024).

2.7.1. *CSN1S1* и *CSN3* као гени кандидати

Cosenza et al. (2014) у својој студији испитивали су варијабилност *CSN1S1* гена код италијанског медитеранског речног бивола и могући утицај алела на количину и састав млека. Утврђено је постојање три генске варијанте, од којих једна (628C>T) узрокује измену аминокиселине серин 178 (варијанта В) у леуцин 178 (варијанта А). Анализирана је повезаност генотипова *CSN1S1* 628C>T са производним особинама млека коришћењем података од 175 биволица. Аутори су утврдили да постоји значајна повезаност између генске варијанте *CSN1S1* 628C>T и процента протеина у млеку.

Rauciullo et al. (2021) наводе да су ефекти композитних генотипова *CSN1S1-CSN3* на производне особине млека и својства коагулације млека истраживани код медитеранских бивола. Као пример наводе композитни генотип AA-X1X2 који је показао најкраће време сиришне коагулације и време формирања груша, као и највећу чврстину формираног груша. У свом раду Zicarelli et al. (2020) приказују резултате који потврђују да млеко са алелима *CSN1S1* В и *CSN3* X1 има већи принос груша.

Bonfatti et al. (2012) у резултатима свог рада наводе да гени казеина имају значајан утицај на варирање особина производње млека и својства коагулације млека биволица.

Medeiros et al. (2022) у својој студији анализирали су генске варијанте у *CSN1S1* и *CSN3* код биволица мура расе у Бразилу, коришћењем методе Сангерово секвенцирање. У амплификованом фрагменту *CSN1S1* (313 bp) утврђено је присуство SNP-а (2123A>G) који омогућава идентификацију три различита генотипа: AA, AG и GG, од којих је учесталост највиша за AA, а најнижа за GG (само 1 од 39 узорака). У амплификованом фрагменту *CSN3* гена (350 bp) идентификована су два SNP-а *CSN3* 377T>C и *CSN3* 381T>C у егзону 4, што је омогућило идентификацију три генотипа: CC, CT и TT. Највиша учесталост била је за генотип CC, затим хетерозиготни CT и најнижа за TT.

Gomes et al. (2024) утврђивали су утицај полиморфизма у генима *CSN1S1* и *CSN3* код бивола на састав и индивидуалне карактеристике протеина млека, производњу млека и принос сира. Аутори наводе да је млеко биволица са композитним генотипом AACC и AGCT *CSN1S1* и *CSN3* имало већи принос млека и сира. Поред тога, утврђено је да су генотипови који садрже ређи алел *CSN3* (CC и CT) одговорни за већи рандман у производњи сира, што је повезано са већим садржајем појединих фракција казеина и масти.

Zhang et al. (2021a) у својој студији истраживали су генске варијанте за α_{s1} -казеин (*CSN1S1*) код речних и мочварних бивола. Открили су 5 SNP-ова, од којих су 2 специфична за речне биволе (516T>C и 578C>T), а три за мочварне биволе (175A>G, 580T>C и 609T>G). Идентификовано је 8 хаплотипова и 6 протеинских варијанти α_{s1} -казеина. Аутори су идентификовали да три од ових SNP-ова узрокују промене аминокиселина у протеину (p.I44V, p.L178S и p.F179L), што може утицати на функцију α_{s1} -казеина. Разлике у α_{s1} -казеину између бивола и рода *Bos* могу утицати на физичко-хемијске особине млека, а самим тим и на његову прераду и производе од млека.

Balteanu et al. (2013) открили су интронску варијанту *CSN1S1* 472G>C која доводи до прескакања егзона 6 код носилаца ређег алела С у популацији бивола у Румунији. Ова измена резултира нефункционалним протеином где се синтетише дефектни протеин, означен као варијанта B^{bt}, коме недостаје осам аминокиселина. Такође, идентификовали су два SNP-а у егзонима 5 и 7 који доводе до замене аминокиселина у зрелом протеину. Аутори наглашавају да је потребно спровести даља истраживања како би се испитао утицај варијанте B^{bt} на састав и технолошке особине млека, што је свакако значајно за прераду и производњу млечних производа.

Поред унапређења у производњи и добијању што квалитетнијих производа, примена PCR и коришћење SNP – а може допринети и другој сврси. Алел *CSN1S1* С има учесталост од приближно 0,2 код румунских бивола, а сматра се да се слична учесталост јавља и код популације бивола у Венецуели, Бугарској, Пољској и Канади (Rullo et al., 2023).

Дугогодишња изолација популације италијанских бивола, без генетичке размене са животињама из других земаља, довела је до одсуства варијабилности казеина који иначе постоји код других раса широм света. Rullo et al. (2023) развили су брзу, поуздану и економичну методу генотипизације за откривање присуства млека бивола из других региона у *Mozzarella di Bufala Campana* (MDBC) сиру, који је производ са заштићеним географским пореклом. Метода користи специфичне прајмере за детекцију генске варијанте 472G>C у *CSN1S1* гену. Овај приступ омогућава разликовање амплификоване ДНК дужине од 330 базних парова специфичног за страни материјал у млеку и сиру. Осетљивост методе је 0,01 % v/v за страно млеко у производима са заштићеним географским пореклом, што је чини вредним алатом за идентификацију фалсификовања млечних производа.

Укупна дужина *CSN3* гена је око 13 kb, а састоји се од 5 егзона који кодирају за 190 аминокиселина. Већина студија које су истраживале генске варијанте *CSN3* укључивале су егзон 4, јер он кодира већи део зрелог протеина, κ -казеина (El Nahas et al., 2013). Најзначајнија варијанта у гену *CSN3* је 467C>T, која доводи до измене аминокиселине треонин у изолеуцин на кодону 135 и омогућава детекцију протеинских варијанти А (алел С) и В (алел Т).

Beneduci et al. (2010) анализирали су генске варијанте *CSN3* гена код бивола у Бугарској (мура раса). Утврдили су присуство генске варијанте *CSN3* 467C>T, што омогућава детекцију протеинских варијанти А и В. Анализирали су и аминокиселинску измену на кодону 148, аспарагинска киселина 148 Asp (GAT), у аланин 148 Ala (GCT), која је карактеристична за *CSN3* код говеда и испоставило се да ова измена није присутна у *CSN3* код бивола, који су мономорфни и на тој позицији имају аминокиселину аланин.

Karadağ et al. (2023) истраживали су варијанте гена κ -казеина (*CSN3*) код бивола и његов утицај на особине млечности. Истраживање је спроведено у Турској на укупно 209 бивола различитих узраста, полова и раса (мура, анадолијски биво (anatolian) и њихови мелези). Анализирали су 113 података о приносу млека и 74 анализе компоненти млека и установили су да постоји статистички значајна разлика у приносима млека између генотипова, али да компоненте млека нису биле статистички значајно различите између генотипова. Аутори сугеришу да се варијације у *CSN3* гену код бивола могу користити као генетички маркери у одгајивачким програмима за биволе намењене за производњу млека.

El Nahas et al. (2013) су истраживали генске варијанте *CSN3* гена код египатских биволица. Секвенцирали су фрагмент од 453 нуклеотида у егзону 4 и открили два SNPa, c.467C>T и c.471C>T, који одговарају изменама на кодонима 135 и 136. Варијација на кодону 135 доводи до промене аминокиселине из треонина у изолеуцин, док на кодону 136 не долази до промене (остаје треонин). Установили су да египатски биволи имају обе протеинске варијанте, А и В, са учесталостима од 0,57 и 0,43. Ова истраживачка група, такође је секвенцирањем доказала да су претходне студије (Othman (2005), Shende et al. (2009) и Ren et al. (2011)) погрешно идентификовале египатске биволе као мономорфне за В варијанту због употребе неадекватних рестрикционих ензима. Препоручују коришћење ензима *AclI* или *Eco57MI* за тачнију RFLP анализу.

Rauciullo et al. (2024) у свом истраживању испитивали су ефекат четири SNP-а у генима *CSN1S1*, *CSN3* и *LPL* на седам различитих особина млечности (дневни принос млека, принос протеина, принос масти, садржај масти и протеина, број соматских ћелија и садржај урее у млеку) у популацији медитеранског бивола који се гаје у Италији. Резултати су показали да је SNP у гену *CSN1S1* 578C>T био повезан са свим анализираним особинама, SNP у гену *CSN3* 536C>T био је повезан са бројем соматских ћелија и садржајем урее, док је SNP у гену *LPL*.1: 14229A>G био повезан са дневним приносом млека и процентом масти и протеина.

Fan et al. (2019) истраживали су генске варијанте *CSN3* гена код бивола и открили осам SNP-ова, од којих 86C>T, 252G>C, 445G>A, 467C>T и 516A>C доводе до замена аминокиселина у κ -казеину, што може утицати на његову функцију и технолошка својства

млека. Дефинисали су 11 хаплотипова и идентификовали 14 аминокиселинских разлика између бивола и рода *Bos*, што указује на потенцијалне разлике у физичко-хемијским својствима млека.

2.7.2. *SCD* као ген кандидат

Стеароил-коензим А десатураза – *SCD* (енг. Stearoyl-CoA Desaturase) је кључни ензим у ћелијској биосинтези мононезасићених масних киселина (MUFA – енг. Monounsaturated Fatty Acids). Заправо *SCD* утиче на промену структуре засићених масних киселина и претвара их у мононезасићене масне киселине (увођењем двоструке везе у засићене масне киселине) и на тај начин игра кључну метаболичку улогу мењајући садржај засићених масних киселина у млеку и месоу преживара. Зато је *SCD* примарни кандидат ген за промену односа засићених наспрам незасићених масних киселина у млеку, јер утиче на повећање садржаја коњуговане линолне масне киселине за коју се тврди да поседује антиканцерогена својства (Moio et al., 2007; Pauciullo et al., 2010).

Прва карактеризација гена *SCD* код речних бивола показала је значајну генетичку варијабилност, детектујући 15 SNPa. Ови SNP су распоређени по читавој дужини гена и укључују кодирајуће и некодирајуће регионе. Варијанте 4686A>G и 9310A>C налазе се у кодирајућим регионима *SCD* гена, док се варијанта *SCD* 133A>C налази у промоторској регији. Варијанта *SCD* 133A>C има потенцијално значајан утицај на експресију *SCD* гена, јер ствара ново место за везивање транскрипционог фактора SP1. Промена у броју SP1 везивних места може утицати на ниво експресије гена и, самим тим, на активност ензима *SCD*. Истраживање Pauciullo et al. (2010) је показало да варијанте у *SCD* гену могу значајно утицати на састав масних киселина у млеку. Варијанта *SCD* 133A>C у промоторској регији гена има значајан утицај на укупни индекс десатурације (DI), при чему биволи са хомозиготним CC генотипом имају највише вредности овог индекса. Индекс десатурације служи као индиректна мера активности стеароил-коензим А десатуразе. Више вредности овог индекса указују на већу активност ензима, што значи већи удео незасићених масних киселина у односу на засићене масне киселине.

Pauciullo et al. (2012) у својој студији на гену *SCD* код медитеранских бивола открили су значајне генске варијанте повезане са особинама производње млека. Описали су да је SNP у промоторској регији, 133A>C, повезан са варијацијама у приносу млека. Овај SNP утиче на регулацију *SCD* гена, који је кључан за синтезу млечне масти. Такође, повезаност различитих *SCD* генотипова са саставом млека, укључујући садржај масти и протеина, указује на потенцијално коришћење ових генетичких маркера у одгајивачким програмима за биволе који ће се користити за производњу млека.

У истраживању које су спровели Gu et al. (2019), такође је проучавана варијанта *SCD* 133A>C у промотору гена *SCD* код речних бивола. Резултати су, у складу са претходним истраживањима, показали да ова варијанта утиче на експресију гена и састав масних киселина у млеку. Такође, ова генска варијанта је идентификована као значајан маркер за побољшање квалитета млека код речних бивола и потенцијални кандидат за програме геномске селекције.

2.7.3. *DGAT1* као ген кандидат

Диацилглицерол О-ацилтрансфераза 1 – *DGAT1* (енг. Diacylglycerol O-acyltransferase 1) сматра се кључним ензимом у контроли брзине синтезе триглицерида, заправо то је ензим који катализује последњи корак у биосинтези триглицерида, претварајући диацилглицерол у триглицерид (Bovenhuis et al., 2015). Ово је кључни корак у складиштењу енергије у облику

масти. Ген *DGAT1* представља један од главних гена кандидата који утиче на млечност и састав млека.

Yuan et al. (2007) су детаљном анализом секвенце овог гена код 117 бивола открили седам генских варијанти *DGAT1* гена. Аутори наводе да SNP (C>T) на позицији 11785 у егзону 17 узрокује аминокиселинску промену, која може утицати на синтезу млечне масти.

De Freitas et al. (2016) у својој студији испитивали су генске варијанте *DGAT1* гена код мура расе бивола и утврдили значајну повезаност генских варијанти са квалитетом и продукцијом млека. Аутори наводе да је SNP 11785T>C показао значајну везу са садржајем масти и протеина у млеку.

Li et al. (2018) су истраживали генске варијанте у кодирајућем региону *DGAT1* гена код речних и мочварних бивола, као и њихових мелеза. Идентификовали су два SNP-а у егзонима 13 и 17. Занимљиво је да генска варијанта у егзону 13 није пронађена код мочварних бивола, што указује на генетичке разлике између ових популација. Генска варијанта у егзону 13 била је повезана са повећањем приноса млека и нижим процентом протеина, док је генска варијанта 9046 T>C у егзону 17 била значајно повезана са вишим процентом масти у млеку. Генска варијанта 9046 T>C у егзону 17 била је значајно повезана са процентом масти. Ови налази указују на значајну улогу *DGAT1* гена за производне особине млека, а самим тим и могућност коришћења као ген маркера у селекцији бивола.

2.8. Квалитет млека биволица

Под појмом млеко подразумева се искључиво нормалан секрет млечне жлезде, добијен непрекидном и потпуном мужом, здравих и нормално храњених животиња, без додавања или одузимања појединих компоненти (Остојић, 2007; Scholz-Ahrens et al., 2020). Под термином млеко увек се подразумева кравље млеко, а код осталих врста то треба нагласити.

Непознато је где и када је први пут обављена мужа животиња, али постоје многи радови на тему почетка употребе млека. Анализом органских остатака на грнчарским посудама, као и анализом зубног каменца из археолошких налазишта, утврђено је да се млеко користило за исхрану људи у периоду неолита, тј. досеже до око 7.000 година пре нове ере (Evershed et al., 2008; Charlton et al., 2019).

Углавном, у то време, преовладавало је конзумирање неких производа од млека, као што су ферментисани млечни производи, јер нису имали могућност адекватног чувања сировог млека. Када су уочили, након клања, у сиришту младих животиња груш, кренули су са справљањем сира и производа од млека. Ово им је омогућило чување млека у дужем временском периоду, а такође га је учинило и сварљивијом намирницом (Salque et al., 2013).

Захваљујући могућности да се од млека могу произвести различити производи, данас је у употреби на хиљаде различитих производа од млека (Fox and McSweeney, 2003). Настали су због културолошких и регионалних разлика, потреба потрошача, али и индустријских иновација.

Млеко биволица је много погодније за прераду, тачније производњу сира, управо из тог разлога што има већи садржај протеина и масти у поређењу са крављим млеком (Vargas-Ramella et al., 2021).

Због свог састава, млеко биволица се у Србији користи за производњу традиционалних млечних производа. То су првенствено производи на бази масти, као што су маслац и кајмак, али и бели сиреви у саламури (Митић и сар., 1987; Becskei et al., 2020). Сиреви се праве од сировог и термички обрађеног (95°C/10 min) млека, често преосталог након производње кајмака.

2.8.1. Хемијски састав млека биволица

Млеко је биолошка течност, специфичног састава, састављено од неколико стотина различитих састојака које се разликује од свих других течности животињског или биљног порекла (Остојић, 2007). Такође, садржај компоненти састава млека варира у зависности од врсте од које потиче. Различит однос ових компоненти утиче и на физичке карактеристике млека. Тачка мржњења крављег млека креће се у распону од $-0,525$ до $-0,565^{\circ}\text{C}$, а млека биволица у распону од $-0,560$ до $-0,590^{\circ}\text{C}$. Када је у питању киселост изражена као pH вредност, код крављег млека креће се у интервалу од 6,5 до 6,7, а код млека биволица у интервалу од 6,5 до 6,8 (Scirè Scarpuzzo, 2013). Када је реч о титрационој киселости млека, Manuelian et al. (2017) наводе да је просечна вредност $7,15 \pm 1,23$ °SH код медитеранских биволица у Италији. Liotta et al. (2015) наводе да титрациона киселост утиче на време коагулације и чврстоћу груша.

Табела 8. Хемијски састав млека биволица (Vargas-Ramella et al., 2021).

Компонента	Вредност
Специфична густина или тежина, g/cm ³	1,037
Хемијски састав	
Сува материја, %	16,1
Сува материја без масти, %	10,48
Протеини, %	2,70–5,20
Казеин, g/100 ml млека	3,07–3,20
Маст, %	6,02–8,80
Лактоза, %	4,51–5,36
Пепео, %	0,60–0,90
Енергија, kJ/kg	3450–4054
Амино киселине, g/100 g протеина	
Треонин	1,99–5,71
Цистеин	0,59
Валин	6,76–8,28
Метионин	0,93–1,99
Изолеуцин	3,32–5,71
Леуцин	6,12–9,79
Тирозин	3,36–3,86
Фенилаланин	3,97–4,71
Лизин	7,50–9,84
Масне киселине, %	
C4:0	3,66–4,18
C6:0	1,67–2,78
C8:0	1,82–2,98
C10:0	1,80–3,21
C12:0	2,39–3,92
C14:0	9,96–10,97
C16:0	26,49–30,17
C16:1n-7	1,24–2,02
C18:0	10,78–13,79

Наставак табеле 8	
C18:1n-9	23,33–25,17
C18:2n-6	1,07–1,84
SFA	63,31–68,31
MUFA	25,27–28,32
PUFA	2,43–3,10
CLA	0,41–0,58
Минералне материје, mg/100 g	
Ca	112–148
P	99–107
K	86–92
Mg	8–14
Na	35–37
Zn	0,41–0,46
Fe	0,16
Cu	0,04
Mn	0,03–0,07

SFA (енг. Saturated Fatty Acids): Засићене масне киселине; MUFA (енг. Monounsaturated Fatty Acids): Мононезасићене масне киселине; PUFA (Polyunsaturated Fatty Acids): Полинезасићене масне киселине; CLA (Conjugated Linoleic Acid): Коњугована линолна киселина.

Главне компоненте млека су: вода, протеини, масти, угљени хидрати, минералне материје и витамини.

Табела 9. Састав млека биволица у различитим земљама (Pandya and Khan, 2006)

Подручје гајења биволица	Вода, %	СМБМ, %	Маст, %	Протеини, %	Лактоза, %	Пепео, %
Бугарска	82,6	9,9	7,5	4,3	4,8	0,8
Кавказ	82,7	9,8	7,6	4,0	5,2	0,7
Кина	76,8	10,6	10,5 - 12,6	6,0	3,7	0,9
Египат	82,1	10,0	6,4 - 8,0	4,2	4,9	0,8
Мађарска	83,8	9,0	7,2	3,6	4,6	0,8
Италија	81,9	10,2	6,8 - 7,8	4,3	5,0	0,8
Индија (мура)	82,0 - 83,1	10,0	6,9 - 9,0	4,1 - 4,5	5,1	0,8
Румунија	81,8	10,0	8,2	4,8	4,5	0,8
Русија	81,0	10,5	8,1 - 8,6	4,8	4,8	0,9

СМБМ – сува материја без масти

Вода у млеку

Количински најзаступљенија компонента млека је вода, а у млеку биволица њен удео иде нешто изнад 80 %. Вода је неопходна за разне биохемијске процесе у организму, али вода коју уноси младунчад у организам током сисања често није довољна за потребе организма. Вода у млеку може бити у слободном и везаном облику. Слободна вода је у количини 97-98 % и значајна је за одвијање свих хемијских и биолошких процеса при преради млека. Везана вода чини преосталих 2-3 % воде и везана је највише за казеин (50 %), затим албумине (30

%), млечну маст (15 %) и лактозу (4 %), а од слободне воде разликује се по физичким карактеристикама (Остојић, 2007). Поред значаја за метаболизам младунчади и биохемијских процеса при преради млека, вода у млеку заједно са високим садржајем хранљивих материја и при скоро неутралној вредности рН погодује расту и размножавању микроорганизама (Vargas-Ramella et al., 2021).

Сува материја млека

Сува материја млека представља разлику између количине млека и воде која се налази у млеку. Добија се након одстрањивања (испаривања) воде из млека и изражава се у процентима. Назива се још и суви остатак због одласка гасова и неких испарљивих материја током уклањања воде. Млеко крава садржи 11 – 14 % суве материје, а просечно се креће око 12,5 %. Количина суве материје може да зависи од различитих фактора, пре свега врсте, расе, исхране, периода лактације, количине масти и др. Варирање суве материје највише зависи од количине млечне масти, па је зато уведен термин сува материја без масти (СМБМ), чија је минимална вредност 8,5 %.

Када је реч о садржају суве материје у млеку биволица, она показује нешто више вредности у односу на кравље млеко, што га чини погоднијим за производњу сира (Hussain et al., 2013). Млеко биволица карактерише већи садржај масти, протеина и лактозе, али забележене су и велике варијације у саставу млека биволица. Vargas-Ramella et al. (2021) наводе резултате студија где се напомиње да на садржај суве материје у млеку биволица утиче комбинација еколошких, нутритивних и генетичких фактора.

Према доступним литературним подацима (Braun and Preuss, 2008) за подручје Европе, најнижи садржај суве материје у млеку имале су биволице у Мађарској – 16,2 %, док су биволице у Немачкој имале највећи садржај суве материје 21,3 % (17,2 – 21,3).

Протеини млека

Протеини млека представљају једне од главних макроконституената млека који обезбеђују есенцијалне аминокиселине и аминок групе за биосинтезу неесенцијалних аминокиселина (Goulding et al., 2020). Сматра се да су млечни протеини, због својих јединствених својстава и технолошког значаја, најбоље окарактерисани од свих протеина хране (Fox and McSweeney, 2003; Goulding et al., 2020). Млеко се сматра једним од најважнијих извора високо квалитетних протеина потребних људском организму за нормално функционисање и развој. Може се рећи да су млечни протеини најбољи извор протеина, узимајући у обзир однос есенцијалних и неесенцијалних аминокиселина који директно одређују биолошку вредност протеина (Schaafsma, 2000; Boye, 2012; Pereira, 2014).

Varricchio et al. (2007) у својој студији наводе, да су анализом млека биволица у Италији, са четири фарме, утврдили да је садржај протеина износио 4,7 %. Braun and Preuss (2008) представљају податак да у млеку биволица, које се гаје у Немачкој, садржај протеина иде до 4,9 %. El-Salam and El-Shibiny (2011) пишу о томе да постоје велике варијације у представљеним вредностима за садржај протеина у млеку биволица, али да се већина налази у опсегу од 3,8 % до 4,5 %.

Основна подела протеина млека је на казеине и протеине млечног серума. Истраживања млечних протеина датирају са почетка XIX века, тачније 1814. године када је J. J. Berzelius први објавио рад о млечним протеинима и поставио основу за даља истраживања млечних протеина (Fox and McSweeney, 2003; Goulding et al., 2020). У почетку се сматрало да је казеин хомоген, али 1846. године J. E. Schlossberger је доказао раздвајање казеина на две фракције (Goulding et al., 2020). Данас, према већем броју аутора (El-Salam and El-Shibiny, 2011; Sindhu and Arora, 2011; Balteanu et al., 2013) познато је да су главне фракције протеина у

млеку биволица: α_{S1} -казеин (α_{S1} -CN), α_{S2} -казеин (α_{S2} -CN), β -казеин (β -CN), γ – казеин (γ -CN), κ -казеин (κ -CN), β -лактоглобулин (β -LG) и α -лакталбумин (α -LA).

Табела 10. Концентрација различитих фракција протеина у млеку биволица и крава (Sindhu and Arora, 2011).

Фракција протеина (g/100 ml млека)	Млеко биволица	Млеко крава
α_{S1} -казеин	1,44–1,8	1,04–1,3
α_{S2} -казеин	0,22–0,28	0,26–0,34
β -казеин	1,26–1,58	0,94
γ – казеин	0,16	0,15
κ -казеин	0,43–0,54	0,3–0,37
β -лактоглобулин	0,39	0,31–0,38
α -лакталбумин	0,14	0,071–0,1
Протеоза-пептони	0,33	0,24
Серум албумин	0,029	-
Лактоферин	0,032	0,005

Протеини млека, поред своје високе биолошке вредности, заједно са неколико биоактивних пептида показују вишеструко заштитно дејство на здравље људи (Mills et al., 2011). Лактоферин је гликопротеин који има широк спектар биолошких функција који повољно делују на здравље организма (Малетић, 2015). Због свог афинитета према гвожђу ограничава доступност гвожђа малигним ћелијама и на тај начин ограничава њихову пролиферацију (Kathiravan et al., 2009).

Биоактивни пептиди су неактивне функционалне компоненте протеина млека. Активирају се дејством протеолитичких ензима у гастроинтестиналном тракту или применом одређених технолошких поступака на тај начин што се ослобађају из протеина. Тако активирани могу имати позитиван утицај на различите физиолошке и метаболичке функције у организму, као што су антимикробна, антиоксидативна, антихипертензивна, антитромбоцитна, имуномодулаторна, антицитотоксична активност и друге (Garau et al., 2021; Ђорђевић и сар., 2022).

Табела 11. Фракције казеина у различитим врстама млека (Claeys et al., 2014)

Параметар (g/l млека)	Кравље млеко	Млеко биволица	Овчије млеко	Козије млеко
Укупни казеин	24,6–28	32–40	41,8–46	23,3–46,3
α_{S1} -казеин	8–10,7	8,9	15,4–22,1	0–13
α_{S2} -казеин	2,8–3,4	5,1	-	2,3–11,6
β -казеин	8,6–9,3	12,6–20,9	15,6–17,6	0–29,6
κ -казеин	2,3–3,3	4,1–5,4	3,2–4,3	2,8–13,4

Помоћу HPLC методе, Bonfatti et al. (2008) су детектовали и представили однос појединих фракција протеина у млеку биволица (Garau et al., 2021). Исти аутори наводе следеће: α_{S1} , α_{S2} , β , γ и κ -казеин чине 32,2 %, 15,8 %, 36,5 % и 15,5 % укупног садржаја казеина, док је садржај β -лактоглобулина био приближно 1,3 пута већи него α -лакталбумина. Поред ових резултата, утврђено је постојање полиморфизма код медитеранског воденог бивола и успешно су откривене генске варијанте α_{S1} и κ -казеина. Cosenza et al. (2011) у свом

раду наводе да је анализа појединачних узорака, код 9 биволица медитеранске расе, показала да су најзаступљеније фракције казеина β (53,45 %) и α_{S1} (20,61 %), а затим α_{S2} (14,28 %) и κ -казеин (11,66 %).

Bonfatti et al. (2013) у свом раду наводе да састав протеина има утицај на време почетка сиришне коагулације (енг. RCT – rennet coagulation time) и време које је потребно да формирани груш (гел) достигне одређену чврстоћу од почетка коагулације (енг. ST – setting time). St-Gelais and Nache (2005) наводе да је за коагулацију млека битан пропорцијални однос β и α_S – казеина у млеку и да млеко са релативно високим уделом β -казеина карактеришу лошија коагулациона својства.

Млечна маст

Млечна маст представља једну од главних компоненти млека, односно то је најважнија енергетска компонента млека и доприноси његовом квалитету и здравственим предностима (НАО et al., 2021). Од ње настају кајмак, маслац и павлака. Последњих година, у прехранбеној индустрији, заступљен је тренд замене биљних уља млечним мастима у премиум производима (Mohan et al., 2020). Ово се примењује првенствено из здравствених разлога, а такође и због стабилности производа.

Прегледом већег броја радова, El-Salam and El-Shibiny (2011) наводе да се садржај масти у млеку биволица медитеранске расе, у зависности од државе где се гаји, кретао у распону од 6,6 % код биволица у Бразилу до 9,6 % код биволица у Немачкој. Просечан садржај масти у млеку италијанских медитеранских биволица је око 8,5 %, а у посебно повољним условима може достићи и знатно више вредности (Garau et al., 2021). У студији коју су спровели Varricchio et al. (2007), на четири комерцијалне фарме бивола у Италији, утврђено је да просечан проценат масти у млеку износи 8,8 %.

Cockrill (1974) наводи пример мелеза мура $\times$ бугарски биво, где биволица у F1 генерацији производи млеко са 9,91 % млечне масти за лактациони период од 300 дана. Varricchio et al. (2007) наводе да у повољним условима проценат млечне масти у млеку биволица у Италији може достићи и 15 %.

Schuchardt et al. (2010) пишу о томе колико су полинезасићене масне киселине важне за развој и нормално функционисање мозга и централног нервног система. Такође, према Kim et al. (2016) и Swanson et al. (2012), а које цитира Mohan et al. (2020), неке од полинезасићених масних киселина повезане су и са бројним здравственим предностима, као што су антиканцерогени, антиатерогени и антиоксидативни ефекат.

Млеко биволица, у поређењу са крављим млеку, садржи више укупних засићених масних киселина (енг. SFA – Saturated Fatty Acids) и мање мононезасићених масних киселина (енг. MUFA – Monounsaturated Fatty Acids). Млеко биволица такође има више коњуговане линолне киселине (енг. CLA – Conjugated Linoleic Acid) и њених прекурсора. У неким студијама које наводе Garau et al. (2021), за разлику од претходних студија, млеко биволица је показало ниже нивое линолне киселине (18:2 cis-9 и cis-12) и линоленске киселине (18:3 cis-9, cis-12 и cis-15) од млека крава, али такође наводе и ауторе који су открили већи проценат линоленске киселине. Према Mohan et al. (2020), који су цитирали већи број аутора, краве гајене на паши и храњене само травом синтетисале су млеко у коме је био већи ниво полинезасићених масних киселина (енг. PUFA – Polyunsaturated Fatty Acids) у поређењу са млечном машћу млека говеда која су гајена у затвореном простору и храњене комплетним оброком (енг. TMR – Total Mixed Ration), односно у исхрани су имала концентрат. Ово потврђује претпоставку да начин држања, тј. исхрана има утицај на састав млека. Иако постоје разлике у саставу масних киселина између млека биволица и крава, индекс атерогености је био скоро исти (El-Salam and El-Shibiny, 2011; Vargas-Ramella et al., 2021).

Ménard et al. (2010) сматрају да управо разлике у саставу масних киселина млечне масти могу бити последица величине масне глобуле. Величина масних глобула у млеку биволица је већа у односу на масне глобуле у млеку крава, коза и оваца, што може утицати на својства млечних производа и повећан рандман приликом прераде млека (Vargas-Ramella et al., 2021). За справљање маслаца веома је битна величина масне глобуле и зато је млеко биволица, због већег пречника масне глобуле, погодније за припрему овог производа (Cockrill, 1974).

Vargas-Ramella et al. (2021), наводећи податке El-Salam and El-Shibiny (2011) и Basilicata et al. (2018), истичу да млеко биволица, иако има већи садржај масти, садржи нешто мање холестерола у поређењу са крављим млеком, што се може објаснити разликом у величини масних глобула.

Млечна маст је најваријабилнија компонента млека (Aurelia et al., 2009). Неопходно је напоменути да генотип има значајан утицај на садржај и састав масти у млеку. С обзиром да се особине производње млека полигено наслеђују немогуће је приписати све ефекте једном гену, али прегледом већег броја радова може се закључити да гени из групе *DGAT*, *SCD* и многи други имају утицај на садржај и састав масти у млеку, односно утичу на нутритивни квалитет млека (Liu et al., 2020; Tumino et al., 2023).

Угљени хидрати млека – Лактоза

Лактоза представља квантитативно, биолошки и технолошки најважнији угљени хидрат млека (Чобић и Анто, 1996). То је дисахарид, који је састављен из глукозе и галактозе. Млеко биволица је бољи извор лактозе у односу на млеко крава, оваца и коза и као такво је веома добар извор енергије за многе метаболичке активности (Ahmad et al., 2013). Поред тога, овај податак је битан јер се лактоза користи и у индустријске сврхе (прехранбена и фармацеутска). Оно што је неопходно да би се лактоза искористила у организму је њена разградња уз помоћ ензима лактазе. Према скорашњим истраживањима сматра се да је негде око 4.000 година пре нове ере устаљена перзистентност лактазе код Европљана, која омогућава несметано варење млека (Charlton et al., 2019). Особе које имају проблем са стварањем лактазе не могу да варе лактозу и код њих се јавља проблем који се назива интолеранција на лактозу.

Di Stefano et al. (2001) и Vernia et al. (2001) наводе у својим радовима, а цитирају Aggarwal et al. (2019), да несварену лактозу у дебелом цреву разлажу ензими микрофлоре, да се тада формирају масне киселине кратког ланца које изазивају надимање, грчеве у стомаку, мучнину, а код појединаца и губитак апетита. Постоји велики број бактерија чији ензими разлажу лактозу и при тој ферментацији настаје млечна киселина. Такође, проблеми са интолеранцијом на лактозу могу се превазићи употребом β – галактозидазе која хидролизује лактозу у глукозу и галактозу и даје слadak укус млеку и производима од млека. Глукоза је значајна као извор енергије, али неопходно је напоменути велики значај галактозе. Галактоза је важан нутријент који је неопходан за нормалан раст и развој мозга (Adam et al., 2010), такође учествује у бројним метаболичким процесима битним за имунологију и правилно функционисање ћелија и целог организма.

Садржај лактозе у млеку биволица креће се у распону од 4,5 до 5,2 % (El-Salam and El-Shibiny, 2011). Pandya and Khan (2006) наводе да се у зависности од фазе лактације садржај лактозе у млеку биволица кретао од 3,6 до 5,9 %.

Минералне материје у млеку

Нивои минерала у млеку нису константни и на њихов садржај утичу различити фактори, а првенствено генотип јединке, затим фаза лактације, нутритивни и здравствени статус животиње. Млеко је храна која је веома богата минералима, а посебно калцијумом и

фосфором. Концентрација минералних материја у млеку биволица значајно је већа у поређењу са крављим млеком. Укупна количина калцијума и магнезијума у млеку биволица је 1,5 пута већа у односу на кравље млеко. Однос калцијума и фосфора у крављем млеку је 1,25, хуманом 1,50, а у млеку биволица 1,71 (Pandya and Khan, 2006; Остојић, 2007).

Табела 12. Садржај минералних материја (макро и микроелемената) у млеку крава и биволица (Garau et al., 2021).

Минералне материје (mg/100 ml)	Кравље млеко	Млеко биволица
Калцијум	123	184
Магнезијум	12	19
Натријум	58	45
Калијум	141	102
Фосфор	95	89
Цитрат	160	178
Хлорид	119	64
Бор	0,027	0,052–0,145
Кобалт	0,0006	0,00069–0,00161
Бакар	0,013	0,007–0,021
Гвожђе	0,045	0,042–0,152
Манган	0,022	0,0382–0,0658
Сумпор	30	15,7–31,4
Цинк	0,39	0,147–0,728

Конзумирањем млека обезбеђује се неопходан калцијум за калцификацију костију, као и за одржавање његовог нивоа у крви ради несметаног одвијања биохемијских процеса у организму. Garau et al. (2021) цитирали су већи број аутора који су у својим истраживањима доказали да су деца, која су избегавала конзумацију млека, имала нижу минералну густину костију и чешће фрактуре костију (Black et al., 2002), као и већу могућност појаве прекомерне тежине (Barba et al., 2005). Ово потврђује и податак да од укупне количине калцијума која се унесе у организам, из млека се апсорбује од 20 % код старијих особа до 75 % код деце (Остојић, 2007).

Витамини у млеку

Витамини играју кључну улогу у метаболизму и есенцијални су за нормално функционисање организма, а такође помажу у борби против многих болести (Shetty et al., 2020). Спречавају нежељене оксидативне процесе, учествују у јачању имуног система, јачању костију, одржавању здравља и нерава, као и многих других процеса (Garau et al., 2021). Витамини се деле на оне растворљиве у мастима (А, D, Е, и К) и растворљиве у води (В₁, В₂, В₅, В₆, В₁₂, С, ниацин, биотин и фолна киселина). Овде неће бити речи о појединачном значају наведених витамина, али неопходно је напоменути карактеристику витамина А која се односи на разлику између млека биволица и млека крава.

Витамин А доступан је у више облика и неопходан је за нормално функционисање организма. Учествује у биолошким процесима као што су раст и развој ћелија, репродукција, вид и функционисање имуног система (Garau et al., 2021). Прекурсор витамина А је и провитамин β-каротин, који после ресорпције доспева у јетру и под утицајем ензима каротиназе се преводи у активан витамин А (Ullah et al., 2017). β-каротин има доста у млеку

крава, али не и у млеку биволица, коза и оваца, односно ове животиње ефикасно метаболишу каротеноиде у витамин А, који се депонује у њиховом млеку (Gargu et al., 2021). Отуда и разлика у боји млека, јер млеко крава, за разлику од млека биволица, коза и оваца, има жућкасту нијансу. Та жута боја потиче управо од каротина, односно од пигмента ксантофила који утиче на жуту боју млечне масти (Остојић, 2007).

Ензими млека

Неопходно је поменути и ензими који су биолошки катализатори и неизоставна су компонента млека. Ензими се у млеку налазе као излучени од стране млечне жлезде, из микроорганизама и наравно комбинацијом претходна два. Млеко садржи бројне ензими, као и активаторе или инхибиторе ензима, које луче крвна зрнца, бактерије или ћелије вимена. Већина ензима се уништава, односно њихова активност се инхибира на 70°C, а извесни могу да преживе и 90°C. Неки ензими имају бактерицидни, односно заштитни ефекат, док су други узрок кварења млека и стварања мана укуса (Чобић и Анто, 1996). Поред тога што су значајни за физиолошке функције, односно активно учествују у метаболизму, ензими значајно утичу и на квалитет млека и млечних производа. Неки ензими млека утичу на промене током зрења сира и формирање укуса и мириса, али могу изазвати и нежељену ужегљост, горчину и омекшавање текстуре сира (Zhang et. al., 2021b). У млеку биволица идентификовано је 20 различитих ензима, од којих су најзначајнији алкална фосфатаза, липаза, ксантин оксидаза, протеаза, лизозим и рибонуклеаза, са специфичним варијацијама у активности у односу на кравље млеко. Алкална фосфатаза је у мањој концентрацији, липазна активност расте током лактација, а ксантин оксидаза показује сличну активност као у крављем млеку, али варира у зависности од годишњег доба, као и услова складиштења и обраде млека (Pandya and Khan, 2006).

2.8.2. Термички третман млека и сиришна коагулација

Млеко је изврстан медијум за развијање микроорганизама, што за последицу има веома кратак рок употребе у сировом стању. Поред тога, разни ензими присутни у млеку могу током складиштења да доведу до нежељених промена (нпр. укус на ужегљост), које доводе до кварења. Управо из наведених разлога неопходно је извршити термички третман млека, како би се отклонила могућност за нежељене промене (Kelly et al., 2012). Најстарији и најчешће коришћен третман за очување квалитета млека је загревање, али неопходно је обратити пажњу на то колико је третман ефикасан у очувању квалитета производа и инактивацији микроорганизама због здравља потрошача, али такође и у складу са технологијом производње различитих производа (Mishra and Ramchandran, 2015). Свакако, циљ термичке обраде млека је да смањи број патогених и микроорганизама кварења у сировом млеку, инактивира ензими и минимизира хемијске реакције и физичке промене како би се омогућила производња стабилних и безбедних производа (Mejares et al., 2022). Међутим, термички третман млека изазива промене у протеинима и утиче на баланс соли, што за последицу има утицај на коагулацију, таложење, односно утиче на стабилност производа током складиштења (Mejares et al., 2022). У којој мери ће доћи до ових промена првенствено зависи од састава млека, али и режима термичког третмана.

Најчешће коришћени термички третмани у технологији прераде млека су средња пастеризација 72°C/30 секунди који се најчешће примењује у производњи сиришно коагулишућих сирева или строжији третмани као што су 85-95°C/ 5-10 минута.

Термички третман млека највише утиче на промене у протеинима, првенствено на протеине сурутке, за разлику од казеина који су веома стабилни због структуре казеинских мицела (Mejares et al., 2022). При производњи кајмака примена високе термичке обрада млека (90°C/10 минута) доводи до интензивних промена протеина млека, односно долази до

интеракције између протеина сурутке и казеина, при чему настају коагрегати протеина млека (Corredig and Dalgleish, 1999; Anema and McKenna, 1996; Anema, 2001; Anema and Li, 2003), што је доказано у различитим испитивањима формирања кајмака (Radovanovic et al., 2020; Radovanovic et al., 2022).

Према Huppertz (2016) и Dimpler et al. (2020), а које цитирају Mejares et al. (2022), промене као што су смањење рН вредности, денатурација протеина сурутке и накнадно повезивање са мицелама казеина, преципитација калцијум фосфата на мицеле казеина и дисоцијација к-казеина из мицела имају кључну улогу у процесу коагулације млека под утицајем топлоте.

Један од главних процеса у производњи сира је двостепена сиришна коагулација, која зависи од бројних фактора и значајно доприноси својствима гела као основе за коначну структуру производа. Познато је да примарна фаза представља ензимску хидролизу к-казеина, док је секундарна фаза агрегирање дестабилизираних мицела казеина у присуству Ca^{2+} јона која доприноси формирању гела. Фактори који утичу на параметре коагулације и својства гела укључују јонску снагу, концентрацију казеина, термичку обраду млека, температуру коагулације, рН млека, количину коришћеног сирила и концентрацију калцијума (Dalgleish, 1983; Van Hooydonk et al., 1987; Nájera et al., 2003, Radovanovic et al., 2021).

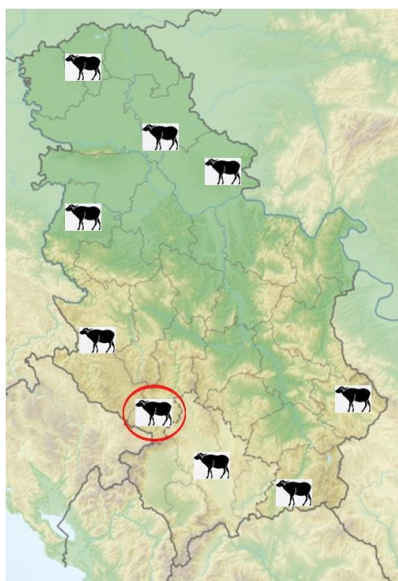
Bonfatti et al. (2019) наводе да садржај протеина и различите протеинске фракције утичу на реолошка својства и принос сира. Cipolat-Gotet et al. (2018) истраживали су утицај састава протеина на велики број појединачних експерименталних сирева и у свом раду наводе веома значајан утицај протеинских фракција на ефикасност поступка производње сира. Због потешкоћа у мерењу приноса сира мали је број студија које су испитивале варијације ових особина, већ су студије биле фокусиране на време коагулације сирила (енг. RCT – rennet coagulation time) и чврстоћу гела (енг. GF – gel firmness) као индиректног показатеља приноса сира (Bonfatti et al., 2019).

Динамичка осцилаторна реолошка мерења су широко коришћена за праћење кинетике сиришне коагулације млека и особина добијеног гела (Zoon et al., 1988; Lucey, 2002; Lucey et al., 2003). Реолошка својства играју важну улогу у развоју нових намирница, оптимизацији њиховог квалитета и сензорних својстава, као и у дизајнирању опреме за обраду и прераду млека, а све с циљем постизања врхунског квалитета производа и задовољства потрошача (Vélez-Ruiz et al., 1997; Pushpadass et al., 2019). Агрегирање мицела казеина, која се јавља у секундарној неензимској фази сиришне коагулације, може се окарактерисати временом започињања сиришне коагулације (енг. RCT – rennet coagulation time), брзином агрегације (енг. AR – aggregation rate) и чврстоћом гела (енг. GF – gel firmness), који се могу добити на основу динамичких осцилаторних реолошких мерења (Dimassi et al., 2005). Варијације у саставу млека и различити услови обраде млека пре производње сира могу значајно утицати на особине сиришне коагулације млека (Guinee et al., 1997).

Примена термичког третмана млека у технологији производње сира доводи до денатурације серум протеина, што омогућава њихову инкорпорацију у сир заједно са казеином, чиме се повећава рандман и побољшава биолошка вредност производа. Утврђивање приноса свежег груша користи се за процену рандмана при производњи сира и показатељ је профитабилности у индустрији млека. За процену приноса сира у употреби је рачунање такозваног теоријског (лабораторијског) рандмана, које се врши помоћу великог броја формула, а које су прилагођене посебним врстама сира (Милорадовић, 2015). Shakerian et al. (2016) и Zicarelli et al. (2021) цитирајући већи број аутора наводе да су развијене различите методе и алгоритми за процену теоријског приноса сира на основу садржаја масти и протеина, али студије показују да се они могу разликовати у односу на стварни принос производње сира.

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

Предмет истраживања ове дисертације била су грла домаћег бивола (*Bubalus bubalis*) који се гаје на подручју Пештера, односно у општинама Нови Пазар и Тутин. Рад са животињама подразумевао је поштовање свих правила добробити животиња.



Слика 2. Огледно подручје

Испитиване су особине телесне развијености, репродуктивне особине, састав и својства млека, као и молекуларно генетичка анализа испитиваних јединки.

3.1. Морфометријске особине бивола

За израду овог рада вршена су морфометријска мерења на домаћим биволима. Инструменти који су коришћени за узимање мера на животињама су Литинов штап и пантљика, а све мере изражене су у сантиметрима.



Слика 3. Мерење обима груди
(фото: оригинал)



Слика 4. Мерење ширине карлице
(фото: оригинал)

Линеарне мере које су праћене, као и описи мерења представљени су у табели 13.

Табела 13. Линеарне мере и начин мерења

	Линеарна мера	Опис мерења	Инструмент за мерење
1.	Висина гребена	Вертикално растојање од подлоге, иза папка предње ноге, до највише тачке на гребену (предео између 2. и 5. леђног пршљена)	Литинов штап
2.	Висина крста	Вертикално растојање од подлоге до највише тачке крсне кости	Литинов штап
3.	Дужина трупа	Растојање од предње ивице рамено–лопатичног зглоба до задње тачке седњачне кврге	Литинов штап
4.	Ширина груди	Растојање на најужем месту иза лопатица (мери се одозго)	Литинов штап
5.	Дубина груди	Вертикално растојање од доње ивице грудне кости до највише тачке на гребену	Литинов штап
6.	Предња ширина карлице	Растојање између спољашњих тачака бедрених кврга	Литинов штап
7.	Ширина кукова (растојање зглобова кука)	Растојање између спољашњих ивица карлично-бутних зглобова	Литинов штап
8.	Дужина карлице	Растојање између спољашње тачке бедрене кврге и задње тачке седњачне кврге	Литинов штап
9.	Ширина (растојање) седњачних кврга	Растојање између спољашњих ивица седњачних кврга	Литинов штап
10.	Обим груди	Мерење обима у грудном делу, непосредно иза лопатица	Пантљика
11.	Обим цеванице	Мерење обима на најтањем месту на цеваници предње ноге	Пантљика

Телесне димензије измерене су на укупно 130 животиња, различитог пола и старости. Од укупног броја животиња, 5 јединки било је мушког пола, а 125 женског пола. Старост мерених животиња кретала се од 32 до 254 месеца (21 године). За 14 грла нису постојали тачни подаци о њиховој старости. Грла су подељена у 3 групе по старости, што је представљено у табели 14.

Табела 14. Груписање грла према старости

Група	Старост у месецима
1	32 до 41 (првотелке)
2	41 до 60
3	61 и више

Вредности које су утврђене приликом морфометријских мерења биволица, коришћене су за израчунавање релативних показатеља телесне развијености, односно израчунавање различитих индекса телесне развијености животиња.

На основу утврђених мера израчунато је 11 индекса. Индекси који су израчунати у овом раду представљени су у табели 15.

Табела 15. Индекси телесне развијености (представљају се у %)

Бр.	Назив индекса	Начин израчунавања
1	Индекс формата (оквир)	$= \frac{\text{дужина трупа}}{\text{висина гребена}} \times 100$
2	Индекс дубине груди	$= \frac{\text{дубина груди}}{\text{висина гребена}} \times 100$
3	Индекс збијености трупа	$= \frac{\text{обим груди}}{\text{дужина трупа}} \times 100$
4	Индекс масивности	$= \frac{\text{обим груди}}{\text{висина гребена}} \times 100$
5	Индекс преграђености	$= \frac{\text{висина крста}}{\text{висина гребена}} \times 100$
6	Карлично-грудни индекс (кукови)	$= \frac{\text{ширина груди}}{\text{ширина кукова (карлично-бутних зглобова)}} \times 100$
7	Карлично-грудни индекс (бедрене кврге)	$= \frac{\text{ширина груди}}{\text{ширина кукова (бедрене кврге)}} \times 100$
8	Индекс облика карлице 1	$= \frac{\text{растојање седњачких кврга}}{\text{ширина кукова (бедрене кврге)}} \times 100$
9	Индекс облика карлице 2	$= \frac{\text{растојање седњачких кврга}}{\text{ширина кукова (карлично-бутних зглобова)}} \times 100$
10	Индекс дужине ногу	$= \frac{\text{висина гребена} - \text{дубина груди}}{\text{висина гребена}} \times 100$
11	Индекс кошчатости	$= \frac{\text{обим цеванице}}{\text{висина гребена}} \times 100$

3.2. Особине плодности

Особине плодности које су укључене у овај рад представљене су у табели 16.

Табела 16. Анализирани репродуктивни параметри биволица

Бр.	Особина	Начин израчунавања
1.	Узраст при првом тељењу	Период од рођења до првог тељења изражен у месецима
2.	Сервис период	Период једне плоткиње од њеног последњег тељења до прве наредне успешне оплодње изражен у данима
3.	Међутелидбени интервал	Период између два узастопна тељења једне плоткиње изражен у данима

Утврђен је узрасту при првом тељењу код 46 јединки. Анализирано је 69 сервис периода и 71 међутелидбени интервал код 53 јединке. За анализирање параметара плодности извршено је груписање података по сезонама у зависности од тељења или рођења према табели 17.

Табела 17. Груписање података у 4 сезоне

Годишње доба	Месец
1 – пролеће	март/ април/ мај
2 – лето	јун/ јул/ август
3 – јесен	септембар/ октобар/ новембар
4 – зима	децембар/ јануар/ фебуар

За анализирање утицаја тељења по реду плоткиње на трајање сервис периода и међутелидбеног интервала формирање су четири групе података, у зависности од тељења по реду. Прву групу чиниле су првотелке, другу јединке отељене други пут, трећу групу јединке трећег тељења, док су четврту групу чиниле јединке четвртог и наредних тељења.

Анализа особина плодности обухватила је следеће:

I – утицај сезоне рођења плоткиње на узраст при првом тељењу;

II – утицај сезоне тељења плоткиње на трајање сервис периода и међутелидбеног интервала;

III – утицај тељења по реду плоткиње на трајање сервис периода и међутелидбеног интервала.

3.3. Молекуларно генетичка анализа испитиваних јединки

Прикупљање узорак крви за молекуларно генетичке анализе вршено је уз присуство ветеринара, власника животиње и представника основне одгајивачке организације која врши контролу и смотру животиња укључених у ово истраживање. Крв је вађена у вакутајнере запремине 3 ml са антикоагулансом EDTA (етилен диамин тетра сирћетна киселина). Након вађења крви, вакутајнери су лагано промешани, како би се антикоагуланс равномерно распоредио и спречио згушавање крви, затим су јасно обележени и чувани на температури +4°C до тренутка доношења у лабораторију, где су чувани на температури -20°C.

Метода избора за екстракцију ДНК из 3 ml крви животиња била је фенол хлороформска метода са протеиназом K, због давања већег приноса ДНК у односу на комерцијалне комплете за екстракцију ДНК из крви и ткива.

Концентрација и чистоћа ДНК мерена је на спектрофотометру NanoDrop 1000 (Thermo Fisher Scientific, USA). Процена квалитета екстраховане ДНК вршена је мерењем апсорбација на 260 nm, 230 nm и 280 nm таласне дужине. ДНК је задовољавајуће чистоће за даље генетичке анализе када су односи A_{260}/A_{230} и A_{260}/A_{280} у референтном опсегу од 1,8 до 2,2. Концентрација изоловане ДНК по сваком узорку износила је преко 200 ng/μl. Тако екстрахована ДНК чувана је на +4°C до даљег коришћења.

Методe коришћене за генотипизацију варијанти у оквиру четири гена: *CSN1S1*, *CSN3*, *DGAT* и *SCD*:

Реакција ланчане полимеризације, PCR (енг. Polymerase Chain Reaction) је метода за амплификацију специфичних фрагмената ДНК *in vitro* коришћењем ензима *Taq* полимеразе. PCR реакција коришћена је за умножавање сегмената ДНК, како би се детектовале варијанте у жељеном гену. Сет специфично дизајнираних олигонуклеотидних амплимера користио се за ограничавање одабраног фрагмента ДНК. Амплимер *F* (енг. forward) је у водећем ланцу, а амплимер *R* (енг. reverse) у пратећем ланцу. Компоненте PCR реакције коришћене по 1 узорку на апарату Thermal Cycler (Applied Biosystems, USA) приказане су у табели 18. Провера успешности синтезе фрагмената ДНК у PCR реакцији вршена је хоризонталном електрофорезом на 1,8 % агарозном гелу са додатком етидијум бромида (0,5 μg/ml). Електрофореза је вршена у електричном пољу јачине 7,5 V/cm дужине гела, у трајању од 45 минута. Након електрофорезе, PCR продукти су визуелизовани на UV трансилуминатору TMW-20/GDS 7500 (UVP Inc, USA).

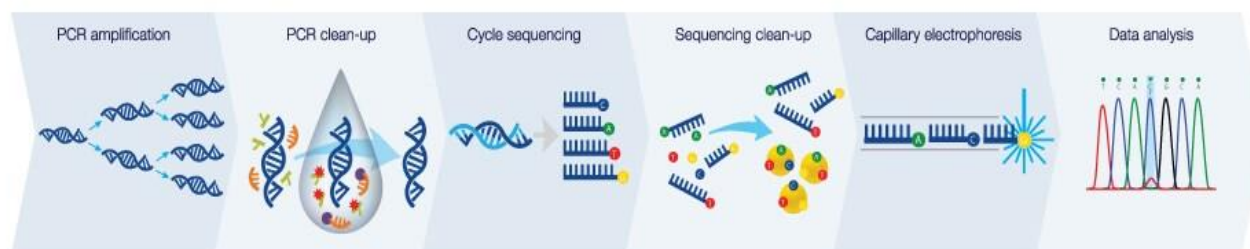
Табела 18. Компоненте PCR реакције

Компоненте PCR реакције	Концентрација у реакцији	Запремина у реакцији (μl)
Пуфер за PCR (10×)	1×	2
MgCl ₂	2,5 mM	1,6 *
dNTP	0,25 mM	2
Амплимер F	(0,5 μM) 10 pmol	1
Амплимер R	(0,5 μM) 10 pmol	1
Геномска ДНК	200 ng	1
<i>Dream Taq</i> полимераза	0,5 U	0,2
ddH ₂ O	-	11,2
Укупно	20 μl	

* Запремина MgCl₂ је била смањена на 0,7 μl само при оптимизацији генотипизације варијанте *DGAT1* 9046T>C, сходно томе запремина ddH₂O је повећана на 12,1 μl.

RFLP (енг. Restriction Fragment Length Polymorphism) је метода у којој се фрагменти ДНК умножени у PCR реакцији третирају ензимима, рестрикционим ендонуклеазама, који препознају и секу специфичне секвенце ДНК, омогућавајући генотипизацију варијанте у одабраном гену. Дигестија PCR продуката вршена је у смеши ензима и дигестионог пуфера у односу 0,5 : 1 μl. За раздвајање дигестираних фрагмената ДНК и детекцију генотипова коришћена је вертикална електрофореза на 8 % неденатуришућем полиакриламидном гелу (РАА гел). Узорци су наливени са 6x loading dye (Thermo Fisher Scientific, USA) и електрофореза је извршена под утицајем електричног поља јачине 12 V/cm дужине гела, у трајању од 2 часа. РАА гел се потом бојио сребро-нитратом, а визуелизације је извршена на UV трансилуминатору TMW-20/GDS 7500 (UVP Inc, USA).

Сангерово секвенцирање – Приликом репликације ДНК *in vitro* полимераза насумично инкорпорира у ланац ddNTP обележене флуоресцентном бојом и на тај начин врши терминацију синтезе ланца. У овој докторској дисертацији, PCR продукти су пречишћени изопропанолом и натријум ацетатом, а затим обележени флуоресцентним ddNTP у PCR реакцији терминације синтезе ланца са комплетом BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems, USA). Компоненте реакције коришћене по 1 узорку на уређају Thermal Cycler (Applied Biosystems, USA) приказане су у табели 19, а температурни и временски услови у табели 20. Након реакције вршена је преципитација флуоресцентно обележених фрагмената етанолом и EDTA. Пречишћени продукти реакције раздвајани су капиларном електрофорезом на уређају 3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA), док се даља анализа и визуелизација секвенци вршила помоћу компјутерског програма Sequencing Analysis Software V4.0 (Applied Biosystems, USA).



Слика 5. Кораци у методи Сангерово секвенцирање (Thermo Fisher Scientific, 2025)

Извор: <https://www.thermofisher.com/rs/en/home/life-science/sequencing/sequencing-learning-center/capillary-electrophoresis-information/what-is-sanger-sequencing.html>

Табела 19. Компоненте PCR реакције обележавања и терминације синтезе ланца

Компоненте PCR реакције	Концентрација у реакцији	Запремина у реакцији (μl)
Pufer 5× Big Dye Terminator v3.1	1×	1,5
Амплимер F	(0,5 μM) 10 pmol	1,8
PCR продукт	200 ng	1,4
Big Dye Terminator v3.1	-	1,5
ddH ₂ O	-	1,3
Укупно	7,5 μl	

Табела 20. Температурни и временски услови PCR реакције обележавања и терминације синтезе ланца

Корак	Температура	Трајање	Број циклуса
Иницијална денатурација	96°C	1'	1
Денатурација	96°C	10''	25
Хибридизација амплимера	50°C	5''	
Елонгација	60°C	4'	

С обзиром на то да су у раду генотипизоване варијанте у четири гена: *CSN1S1*, *CSN3*, *DGAT* и *SCD* биће представљени протоколи за све генотипизације:

3.3.1. Генотипизација варијанте *CSN1S1* 472G>C

Генска варијанта *CSN1S1* 247G>C генотипизована је Сангеровим сенквенцирањем. Фрагмент ДНК у оквиру којег се налази испитивана генска варијанта умножен је у PCR реакцији коришћењем олигонуклеотидних амплимера, чије су секвенце представљене у табели 21 (Balteanu et al., 2013). Температурни и временски услови PCR реакције приказани су у табели 22. Четвртина узорака генотипизована је и методом RFLP. Дигестија PCR продукта вршена је рестрикционим ензимом *TaqI* (ACN↓GT), (Thermo Fisher Scientific, USA) на 65°C. Очекивана дужина PCR продукта, као и дигестираних фрагмената ДНК у базним паровима, bp (енг. base pairs) приказана је у табели 23.

Табела 21. Генска варијанта *CSN1S1* 247G>C – Секвенце олигонуклеотидних амплимера коришћених у PCR реакцији амплификације ДНК

Ознака генске варијанте	Секвенца амплимера	Смер амплимера
<i>CSN1S1</i> 472G>C	5'-ACTTAGCAAGGAGATAATGCAAGAA-3'	Водећи ланац
	5'-CTCAGTTGATTCACTCCCAACATC-3'	Пратећи ланац

Табела 22. Генска варијанта *CSN1S1* 247G>C – Температурни и временски услови PCR реакције

Корак	Температура	Трајање	Број циклуса
Иницијална денатурација	95°C	5'	35
Денатурација	94°C	1'	
Хибридизација амплимера	58°C	1'	
Елонгација	72°C	1'	
Финална екстензија	72°C	10'	

Табела 23. Генска варијанта *CSN1S1* 247G>C – Очекиване дужине PCR продукта и дигестираних фрагмената ДНК

PCR продукт	Продукти дигестије	
	G алел	C алел
812 bp	343 bp, 288 bp и 181 bp	469 bp и 343 bp

3.3.2. Генотипизација варијанте *CSN3* 467C>T

Генска варијанта *CSN3* 467C>T налази се у оквиру егзона 4 *CSN3* гена. У оквиру егзона 4 налазе се још три генске варијанте: 445G>A, 471C>T и 516A>C. Све четири генске варијанте генотипизоване су Сангеровим секвенцирањем. У PCR реакцији умножен је егзон 4 коришћењем амплимера приказаних у табели 24 (Fan et al., 2019) и под условима наведеним у табели 25.

Табела 24. Генска варијанта *CSN3* 467C>T – Секвенце олигонуклеотидних амплимера коришћених у PCR реакцији амплификације ДНК

Ознака генске варијанте	Секвенца амплимера	Смер амплимера
<i>CSN3</i> 467C>T	5'-CGCTGTGAGAAAGAGGAAAGATTC-3'	Водећи ланац
	5'-AGATTCAAGGAGTATACCAATTGTTG-3'	Пратећи ланац

Табела 25. Генска варијанта *CSN3* 467C>T – Температурни и временски услови PCR реакције

Корак	Температура	Трајање	Број циклуса
Иницијална денатурација	95°C	5'	34
Денатурација	95°C	40"	
Хибридизација амплимера	59°C	40"	
Елонгација	72°C	45"	
Финална екстензија	72°C	10'	

3.3.3. Генотипизација варијанте *SCD* 133A>C

Генска варијанта *SCD* 133A>C генотипизована је методом RFLP. PCR реакција је урађена са одговарајућим (табела 26) амплимерима (Gu et al., 2019) и под оптималним условима (табела 27). У табели 28 представљена је дужина PCR продукта, као и очекивана дужина фрагмената ДНК након дигестије *TaqI* (T↓CGA) рестрикционим ензимом (New England Biolabs GmbH, Germany) на 65°C. Ради потврде генотипизације 10 % узорак генотипизовано је и Сангеровим секвенцирањем.

Табела 26. Генска варијанта *SCD* 133A>C – Секвенце олигонуклеотидних амплимера коришћених у PCR реакцији амплификације ДНК

Ознака генске варијанте	Секвенца амплимера	Смер амплимера
<i>SCD</i> 133A>C	5'-ATTTGCGAATTGCCCCGGGG-3'	Водећи ланац
	5'-GCGCAATCTGCTGTTCCCTCT-3'	Пратећи ланац

Табела 27. Генска варијанта *SCD 133A>C* – Температурни и временски услови PCR реакције

Корак	Температура	Трајање	Број циклуса
Иницијална денатурација	95°C	5'	35
Денатурација	95°C	45''	
Хибридизација амплимера	62°C	45''	
Елонгација	72°C	20''	
Финална екстензија	72°C	10'	

Табела 28. Генска варијанта *SCD 133A>C* – Очекиване дужине PCR продукта и дигестираних фрагмената ДНК

PCR продукт	Продукти дигестије	
	А алел	С алел
201 bp	201 bp	134 bp и 67 bp

3.3.4. Генотипизација варијанте *DGAT1 9046T>C*

Генска варијанта *DGAT1 9046T>C* генотипизована је методом RFLP. Након PCR реакције са одговарајућим (табела 29) амплимерима (Yuan et al., 2007) и под оптималним условима (табела 30), урађена је дигестија *PluTI* (GGCGC↓C) рестрикционим ензимом (New England Biolabs GmbH, Germany) на 37°C. Очекивана дужина PCR продукта, као и дигестираних фрагмената ДНК представљена је у табели 31. Ради потврде генотипизације 10 % узорак генотипизовано је и Сангеровим секвенцирањем.

Табела 29. Генска варијанта *DGAT1 9046T>C* – Секвенце олигонуклеотидних амплимера коришћених у PCR реакцији амплификације ДНК

Ознака генске варијанте	Секвенца амплимера	Смер амплимера
<i>DGAT1 9046T>C</i>	5'-AGGCTCACTCCCGTCCCAT-3'	Водећи ланац
	5'-GTGAGGCAAAGCAGTCCAAC-3'	Пратећи ланац

Табела 30. Генска варијанта *DGAT1 9046T>C* – Температурни и временски услови PCR реакције

Корак	Температура	Трајање	Број циклуса
Иницијална денатурација	95°C	5'	35
Денатурација	95°C	30''	
Хибридизација амплимера	64°C	30''	
Елонгација	72°C	1'	
Финална екстензија	72°C	10'	

Табела 31. Генска варијанта *DGAT1 9046T>C* – Очекиване дужине PCR продукта и дигестираних фрагмената ДНК

PCR продукт	Продукти дигестије	
	Т алел	С алел
231 bp	231 bp	167 bp и 64 bp

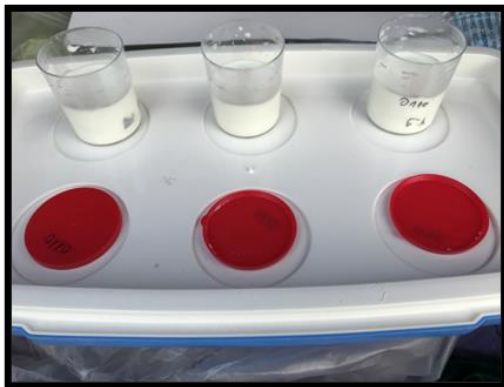
3.4. Квалитет млека биволица

Након завршетка генетичких анализа вршено је прикупљање узорак млека биволица (у даљем тексту млека). Млеко је сакупљено од 42 индивидуе биволица, које су биле у истој фази лактације. Сакупљање млека биволица вршено је у току зимске сезоне, односно од

децембра до марта када су животиње биле у стаји. Млеко је од сваког појединачног грла узорковано по три пута у једнаким временским интервалима.

3.4.1. Анализа хемијског састава млека биволица

Одмах након muže узимао се појединачан репрезентативан узорак млека. Млеко (узорак) је сипано у стерилне бочице за узорковање и паковано у ручни фрижидер на температуру од 4°C и тако транспортовано до лабораторије, где су вршене анализе хемијског састава млека.



6.



7.

Слика 6. и 7. Узорци млека (фото: оригинал)

Први део огледа сачињавао је анализу хемијског састава млека, односно одређивање квалитета млека биволица. Параметри квалитета, као и методе за одређивање представљене су у табели 32.

Табела 32. Анализирани параметри квалитета млека биволица и методе утврђивања

Бр.	Параметар квалитета млека	Коришћена метода
1	Садржај суве материје	Директна метода (сушење на $102 \pm 1^\circ\text{C}$)
2	Садржај протеина	Метода по <i>Kjeldahl</i> -у (коришћен фактор 6,38)
3	Садржај казеина	Метода по <i>Kjeldahl</i> -у (коришћен фактор 6,38)
4	Садржај масти	Метода по <i>Gerber</i> -у
5	Киселост	Титрациона ($^\circ\text{SH}$ - <i>Soxhlet-Henkel</i>) и Активна (pH)

Одређивање садржаја суве материје у млека

Сува материја млека (SM) утврђена је сушењем млека у сушници до константне масе и представља све његове састојке осим воде и гасова (IDF, 1987). Сушење млека обављено је у сушници на температури од $102 \pm 1^\circ\text{C}$. Металне посуде, у којима се одређује сува материја, вађене су из сушнице и стављене су у ексикатор да се охладе и након тога мерене су на аналитичкој ваги. У следећем кораку сипано је млеко у металне посуде у количини од 3 ml и поново је вршено мерење на аналитичкој ваги. Након тога, металне посуде стављене су у сушницу на сушење које је трајало 2 h. После сушења металне посуде извађене су из сушнице и стављене у ексикатор на хлађење (15 минута), а затим мерене на аналитичкој ваги. Сушење је поновљено још 30 минута под истим условима ($102 \pm 1^\circ\text{C}$) и поново су мерени узорци. Ако разлика између два последња мерења није прелазила 0,5 милиграма онда се узорак није враћао поново у сушницу и сматрало се да је сушење завршено.

Количина суве материје млека (SM) израчуната је по следећој формули:

$$SM = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

SM – сува материја млека изражена у процентима;

m_0 – маса празне металне посуде у mg;

m_1 – маса металне посуде са узорком пре сушења у mg;

m_2 – маса металне посуде са узорком после сушења у mg.

Одређивање садржаја протеина у млеку

Одређивање садржаја протеина у биолошком материјалу врши се помоћу Кјелдал (енг. Kjeldahl) методе (АОАС, 1990). Ова метода заснива се на принципу спаљивања млека (разлагања органске материје) са концентрованом сумпорном киселином уз присуство катализатора, при чему се органски везани азот (N) преводи у амонијум сулфат $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, а затим се помоћу натријумхидроксида (NaOH) издваја амонијак (NH_3). Амонијак се дестилише, везује у борној киселини (H_3BO_3) и његов садржај одређује се ретитрацијом. С обзиром да се количина протеина у млеку рачуна на основу садржаја азота, користи се фактор за прерачунавање – 6,38.

Сам поступак одређивања укупног садржаја протеина (UP) у млеку вршен је у три фазе. У првој фази вршено је спаљивање узорка. У кивете сипано је по 5,00 g млека, 10 ml концентроване сумпорне киселине (H_2SO_4) и катализатор (бакар у облику таблета). Тако припремљени узорци пребачени су у дигестиону јединицу до постизања бистрог раствора без органских остатака. У другој фази вршена је дестилација у апарату за Кјелдал методу, где су већ били припремљени ерленмајери са по 25 ml борне киселине (H_3BO_3). Након дестилације уследила је трећа фаза где је вршена титрација са 0,1 N HCl до појаве тамно љубичасте боје.

Израчунавање количине укупних протеина (UP) вршено је преко следеће формуле:

$$UP = \frac{(V_1 - V_0) \times c \times 1,4077}{m} \times 6,38$$

UP – укупан садржај протеина (%);

V_1 – број ml HCl утрошене за титрацију млека;

V_0 – број ml HCl утрошене за титрацију слепе пробе;

c – концентрација HCl (0,1 mol/l);

m – одмерена маса млека (g).

Одређивање садржаја казеина у млеку

Казеин (K) је исталожен употребом сирћетне киселине (CH_3COOH) и натријум-ацетата (CH_3COONa), а у филтрату је утврђена количина неказеинског азота (NKN) по истом принципу применом Кјелдал методе (Остојић, 2008). Вредност неказеинског азота коригује се множењем са фактором 0,994, јер долази до смањења запремине млека услед стварања талога.

Израчунавање количине казеина (K) вршено је на следећи начин:

$$K = UP - (NKN \times 6,38 \times 0,994)$$

K – казеин (%);

UP – укупан садржај протеина (%);

NKN – количина неказеинског азота (%).

Одређивање садржаја масти у млеку

Одређивање садржаја млечне масти (ММ) вршено је методом по Герберу (енг. Gerber). Герберова метода (IDF, 1981) заснива се на разлагању свих органских састојака млека осим млечне масти, а то се постиже употребом разблажене сумпорне киселине. Тако растворена млечна маст у киселом раствору издваја се уз помоћ центрифугалне силе, а њена количина може се одредити на скали бутирометра. С обзиром да млеко биволица има висок садржај млечне масти, а подеоци на бутиромтрима са којима је рађено су за кравље млеко, рађене су корекције. На техничкој ваги одмерено је 20 ml воде и 10 ml млека. У бутирометре се сипа сумпорна киселина по Герберу у количини од 10 ml, затим се додаје припремљени раствор воде и млека (3:1) и 1 ml амилалкохола. Бутирометар са садржајем се лагано окреће више пута, како би се растворили угрушци и појавио раствор браон боје. Затим се бутирометри стављају у центрифугални апарат на 1.200 обртаја у минути у трајању од 5 минута. У последњем кораку на скали бутирометра читава се вредност млечне масти. Због коришћења воде није довољно само читавање вредности на бутирометру, већ и прерачунавање на основу садржаја воде. Коришћена је следећа формула за израчунавање садржаја млечне масти:

$$MM = \frac{MIV}{MI} \times MB \times F$$

ММ – садржај млечне масти у узорку (%);

МIV – укупна количина млека и воде (ml);

MI – количина млека (ml);

MB – вредност млечне масти на скали бутирометра (%);

F – фактор због додате количине воде (1,03).

Одређивање киселости млека

За потребе овог рада одређивање укупне киселости млека вршено је уз помоћ методе по *Soxhlet-Henkel*-у (титрациона киселост) и одређивање рН вредности (активна киселост).

Киселост по *Soxhlet-Henkel*-у (°SH) предстаља број милилитара натријумхидроксида који је уторшен за неутрализацију 100 ml млека уз помоћ индикатора фенолфталеина. Коришћена је модификована метода по *Morres*-у, где је коришћен 0,1 mol/l раствор NaOH, 2 % раствор фенолфталеина и 20 милилитара млека загрејаног на 20°C (*Fabro et al.*, 2006). Приликом титрације млеко добија бледо ружичасту боју и то је знак да је титрација завршена. Прелаз у ружичасту боју није јасно упадљив па може доћи до грешке. Да би се отклонила могућа грешка коришћен је кобалтсулфат за добијање раствора који има „стандардну боју“ (20 ml млека и 1 ml кобалтсулфата). Овај раствор припреман је пре почетка одређивања киселости, у посебан ерленмајер, и служио је као показатељ до ког тренутка треба вршити титрацију сваког узорка. Киселост у °SH израчунавана је по формули:

$$^{\circ}\text{SH} = a \times F \times 2$$

a – број милилитара раствора NaOH који је уторшен за титрацију;

F – фактор раствора NaOH.

Активна киселост млека представља негативни декадни логаритам концентрације водоникових атома. Вредност рН млека мерена је потенциометријски одређивањем разлике између две електроде уз помоћ рН метра. Пре почетка мерења вршено је баждарење рН метра стандардним растворима пуфера, а после сваког мерења стаклене електроде испиране су

топлом водом (ради одстрањивања евентуално заостале млечне масти) и на крају дестилованом водом.

Формирање група узорака млека на основу генотипа *CSN1S1* 472G>C

Формиране су три групе узорака на основу генотипа *CSN1S1* 472G>C. Свака група обухватала је обједињено млеко животиња са истим генотипом (GG, GC или CC).

Други критеријум за формирање група био је проценат протеина у млеку, да би се обезбедило да садржај протеина у обједињеним узорцима међу групама буде што приближнији. Ово је учињено како би се елиминисао утицај различитог садржаја протеина на реолошке параметре.

Из овако формираних група (GG, GC и CC) узети су узорци за одређивање садржаја укупног протеина, садржаја млечне масти, садржаја суве материје и pH вредности. Све групе (збирни узорци по генотипу) имале су идентичан садржај протеина од 4,9 %.

У следећем кораку количина млека из сваке групе (GG, GC, CC) подељена је на два дела:

- Први део (GG1, GC1, CC1) анализиран је као сирово млеко;
- Други део (GG2, GC2, CC2) подвргнут је термичком третману на 95°C током 10 минута, након чега је одмах охлађен.

3.4.2. Раздвајање и карактеризација протеина млека биволица SDS-PAGE електрофорезом

Карактеризација протеина млека извршена је електрофоретским раздвајањем протеинских фракција методом SDS-PAGE (енг. sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis) у редукујућим (SDS-R) и нередукујућим условима (SDS-NR), према методи Laemmli (1970). Испитиван је утицај генотипова *CSN1S1* 472G>C и термичког третмана млека на расподелу протеинских фракција.

Припремљени узорци сировог и термички третираног млека биволица (генотипови GG, GC и CC) обезмашћени су центрифугирањем при 600 × g на 20°C у трајању од 15 минута (модел центрифуге 5430; Eppendorf AG, Хамбург, Немачка). Супернатант је разблажен Tris/HCl пуфером pH 6,8, како би се постигла концентрација протеина од 3 µg/µl. Узорци су затим кувани 5 минута пре наношења на гел.

Гелови су припремани према методи Anema and Klostermeyer (1997). Концентрациони гел садржао је 4 % акриламида и 0,1 % SDS у Tris/HCl пуферу pH 6,8, док је раздвајајући гел садржао 15 % акриламида (2,6% BIS) и 0,1 % SDS у Tris/HCl пуферу pH 8,85. Пуфер за наношење узорака (pH 6,8) и пуфер за раздвајање (pH 8,30) припремани су према методи Miloradovic et al. (2015).

Електрофореза је спроведена на вертикалној јединици TV200YK Twin Plate (Consort, Белгија) при струји од 80 mA и максималном напону од 300 V. Трајање електрофорезе било је 75 минута. Гелови су бојени раствором 0,23 % Coomassie Brilliant Blue R-250 на 45°C и обезбојавани у раствору са 8 % (v/v) сирћетне киселине (CH₃COOH) и 18 % (v/v) метанола (CH₃OH).

Након бојења, гелови су скенирани и подвргнути денситометријској анализи помоћу софтвера ImageJ (енг. National Institute of Health, Bethesda MD, USA), чиме је утврђена расподела протеинских фракција.

3.4.3. Реолошка мерења сиришне коагулације млека биволица

Реолошка својства сиришне коагулације која су мерена током анализе млека биволица обухваћених истраживањем представљена су у табели 33.

Табела 33. Реолошки параметри сиришне коагулације укључени у истраживање

Бр.	Параметар	
	Основни појам	Скраћеница
1	Време почетка коагулације, min	RCT (енг. rennet coagulation time)
2	Време завршетка коагулације, min	ST (енг. setting time)
3	Модул еластичности, Pa	G'
4	Чврстина гела, Pa	GF (енг. gel firmness)
5	Брзина агрегирања, Pa/s	AR (енг. aggregation rate)

Припрема узорака за реолошка мерења

За реолошка мерења коришћено је обезмашћено млеко како би се елиминисао утицај млечне масти на резултате. Обезмашћивање је изведено центрифугирањем на $2000 \times g$ у трајању од 30 минута (Eppendorf centrifuge 5430). Слој масти је уклоњен, а обрано млеко темперисано је на 40°C у трајању од 60 минута, након чега је охлађено на оптималну температуру за сиришну коагулацију на 31°C .

Табела 34. Примењени параметри сиришне коагулације

Генотип CSN1S1 472G > C	Групе узорака	Млеко биволица	Параметри сиришне коагулације
GG	GG1	Свеже обезмашћено млеко	CaCl ₂ 0,02 %; t = 31°C ; pH 6,5
	GG2	Обезмашћено и термички третирано млеко на $95^{\circ}\text{C}/10 \text{ min.}$	CaCl ₂ 0,02 %; t = 31°C ; pH 6,3
GC	GC1	Свеже обезмашћено млеко	CaCl ₂ 0,02 %; t = 31°C ; pH 6,5
	GC2	Обезмашћено и термички третирано млеко на $95^{\circ}\text{C}/10 \text{ min.}$	CaCl ₂ 0,02 %; t = 31°C ; pH 6,3
CC	CC1	Свеже обезмашћено млеко	CaCl ₂ 0,02 %; t = 31°C ; pH 6,5
	CC2	Обезмашћено и термички третирано млеко на $95^{\circ}\text{C}/10 \text{ min.}$	CaCl ₂ 0,02 %; t = 31°C ; pH 6,3

Параметри коагулације подешени су коришћењем 10 % млечне киселине и 20 % раствора CaCl₂. Вредност pH подешена је на 6,5 за сирово млеко, односно на 6,3 за термички третирано млеко како би се омогућила сиришна коагулација (Radovanovic et al., 2021). У 40 ml припремљеног млека додато је 100 μl свежег раствора сирила (1,2 %, Caglifacio Clerici spa, Cadorago, Italy). Узорак је благо измешан и одмах премештен у посуду реометра која је била темперисана на 31°C .

Реолошка мерења сиришне коагулације млека и својстава формираног гела спроведена су методом осцилаторне реометрије са малом амплитудом (енг. SAOR – small amplitude oscillatory rheology) на реометру Kinexus Pro rheometer (Malvern Instruments Ltd, Worcestershire, UK) опремљеним геометријом „ветроказ“ (енг. vane geometry), према методи Radovanovic et al. (2021).

Мерење је започето 4 минута након додавања сирила у млеко. Ток коагулације праћен је на фиксној температури коагулације (31°C) мерењем модула еластичности G' , модула вискозности G'' , као и фазног угла $\delta = \arctan(G''/G')$. Мерења су трајала 60 минута при фреквенцији од 1 Hz и деформацији од 0,01 %.

Да би се испитала чврстина гела (GF), након завршетка прве секвенце изведен је тест варирања фреквенције осцилација у опсегу од 0,1 до 20 Hz. Такође, при деформацији од 0,01

%. Чврстина гела дефинисана је као вредност модула еластичности G' измерена при фреквенцији од 1,5 Hz.

Време почетка коагулације (RCT) одређено је као тренутак када модул еластичности достигне вредност $G' \geq 1$ Pa (Dimassi et al., 2005). Време завршетка коагулације (ST) одређено је као тренутак када модул еластичности достигне $G' \geq 60$ Pa, што је дефинисано на основу прелиминарних тестова и визуелне контроле чврстине гела. Вредност G' након 60 минута мерења ($G' 60$) такође је бележена као показатељ чврстине сиришног гела.

Брзина агрегирања (AR) у $\text{mPa s}^{-1\text{m}}$ израчуната је као нагиб тангенте у тачки максимума првог извода функције $G'(t)$ (Steffl et al., 1999). Параметри коагулације (RCT, AR, GF) анализирани су софтвером OriginPro 8.0 (OriginLab Corporation, Northampton, USA). Сва испитивања изведена су у дупликатима у три понављања.

3.4.4. Лабораторијски принос сира

Лабораторијски принос сира утврђен је методом Hallén et al. (2010), уз минималне модификације. Узорци млека (10 ml) загрејани су на температуру коагулације (31°C). Додато је 25 μl раствора сирила (0,6 g сирила/50 ml дестиловане воде), уз лагано мешање. Узорци су остављени у воденом купатилу на истој температури коагулације до формирања сиришно коагулисаног гела.

Након завршетка коагулације (ST), гел је пресечен у четири једнаке секције помоћу специјалног ножа, а затим остављен додатних 30 минута. Процес пресовања симулиран је центрифугирањем узорака при $1260 \times g$ током 20 минута на 31°C (Eppendorf centrifuge 5430, Eppendorf AG, Hamburg, Germany). Сурутка је затим одвојена и измерена као маса издвојене течности, а прерачуната у грамима на 100 g узорка млека.

Лабораторијски принос сира израчунат је као разлика у маси између почетног узорка млека и издвојене сурутке, а изражен је у грамима груша на 100 g млека. Сва испитивања изведена су у дупликатима у три понављања.

3.4.5. Статистичка обрада података

Статистичком обрадом података утврђени су параметри дескриптивне статистике за испитиване морфометријске особине, особине плодности и квалитета млека биволица.

Анализа варијансе (F – тест) примењена је код испитивања утицаја:

- старости грла на морфометријске особине и релативне показатеље (индексе) телесне развијености биволица;
- сезоне рођења и сезоне тељења плоткиње на особине плодности;
- тељења по реду плоткиње на особине плодности;
- варијанте генотипа *CSN1S1* 472G>C на реолошке параметре током процеса сиришне коагулације млека биволица, као и на лабораторијски принос сира.

Значајност разлика између група утврђена је помоћу LSD теста.

Дистрибуција генотипова, фреквенција алела и одступање од Hardy–Weinberg (HW) равнотеже процењени су χ^2 -тестом. Вредности континуалних варијабли представљене су средњим вредностима и стандарном девијацијом ($\bar{x} \pm \text{SD}$). Корелације су анализиране Spearman-тестом и представљене као вредност Spearman R-коефицијента. За поређење континуалних варијабли између две групе, а чије су вредности у нормалној расподели, коришћен је t-тест, док је Mann–Whitney U тест коришћен уколико вредности нису биле у нормалној расподели. Методом мултипле логистичке регресије утврђена је снага асоцијације

генотипова са испитиваним фенотипским карактеристикама и представљена је као β -коэффицијент. Примењен је следећи линеарни модел:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \epsilon$$

где је:

Y – зависна променљива,

β_0 – пресек регресионе праве,

β_1 – коэффициент који представља ефекат прве генске варијанте (X_1),

β_2 – коэффициент који представља ефекат друге генске варијанте (X_2),

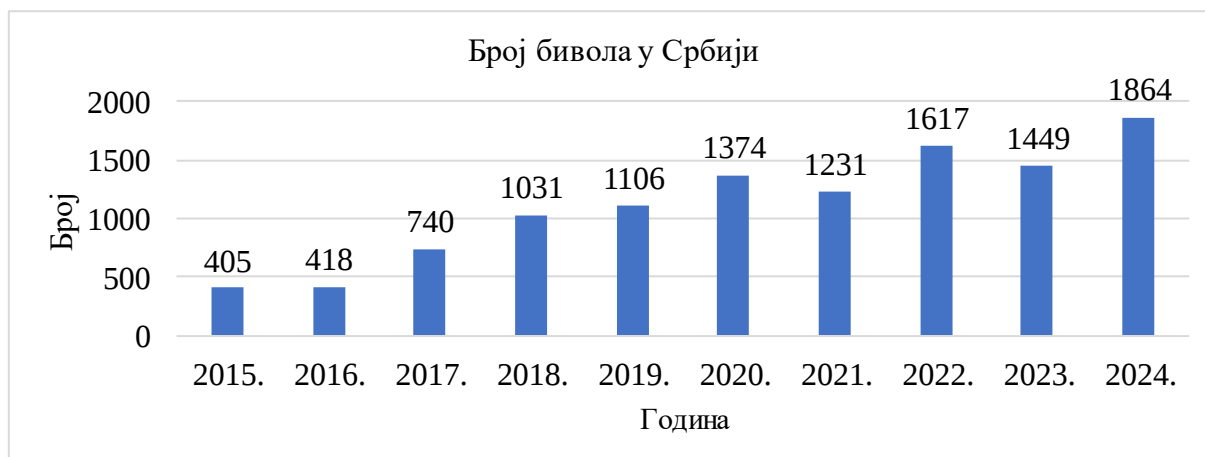
ϵ – грешка модела, која обухвата варијацију у Y која се не може објаснити линеарним односом са X_1 и X_2 .

Вредност вероватноће $p < 0,05$ сматрана је статистички значајном. Статистичке анализе рађене су у компјутерском програму Statistica 8.

Хаплотипска анализа урађена је у компјутерском програму Thesias 3.1 који користи модел максималне вероватноће уз примену алгоритма максималног стохастичког предвиђања (енг. stochastic expectation maximization) за процену дистрибуције фреквенција хаплотипова и утицаја хаплотипова на испитиване фенотипске карактеристике. Утицај хаплотипова на фенотипске карактеристике изражен је по адитивном моделу у поређењу са референтним хаплотипом, односно најчешћим хаплотипом у испитиваној групи. Утицај хаплотипова на континуалне варијабле приказан је као средња вредност са 95 % интервалом поверења, sv [95% CI]. У програму Thesias одређени су и параметри неравнотеже везаности алела одабраних варијанти (енг. LD - linkage disequilibrium), односно параметри D' и r^2 .

4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

У Србији се гаји око 1.800 бивола различитих категорија, при чему се у Рашкој области, која обухвата подручје Пештера, гаји око 1.500 грла свих категорија. Домаћи биволи налазе се на листи генетских резерви домаћих животиња, а на подручју Пештера гаје се у запатима који представљају *in situ in vivo* облик конзервације бивола. Укупан број бивола у Србији, који су у *in vivo* облику конзервације, за период од 10 година, представљен је на графикону 1.



Графикон 1. Број бивола у Србији обухваћен програмом *in vivo* конзервације (извор: Министарство пољопривреде, шумарства и водопривреде)

Домаћи биволи на овом подручју гаје се на екстензиван начин, често заједно са говедима. Током вегетационог периода биволи бораве на испашаи, док се зими држе у добро изолованим шталама, јер не подносе ниске температуре. Основно храниво у зимском периоду је сено, док се грлима са вишом млечношћу, у зависности од фазе лактације, додају и концентрована хранива у мањим количинама.



Слика 8. Биволице на пашњаку (фото: оригинал)

Након партуса, после колостралног периода, биволице се музу, а телад – биволчад хране крављим млеком. На овај начин се млеко биволица у већој мери користи у исхрани људи. Производња млека варира у зависности од исхране и фазе лактације и износи око 8 литара дневно, а може бити и значајно виша. Биволи се углавном гаје ради производње млека, док је производња меса мање заступљена. Млеко се користи за производњу маслаца, који се употребљава уместо свињске масти у кулинарске сврхе. Такође, производе се и други

млечни производи (кајмак и сир), који се продају по вишим ценама у односу на исте производе од крављег млека.



Слика 9. Биволице на Пештеру у везаном систему држања (фото: оригинал)

Мужа се најчешће обавља ручно, али постоје фарме на којима се биволице музу машински. У односу на говеда, домаћи биво је неповерљивији према људима, зато биволице не дозвољавају мужу непознатој особи, већ само једном музачу (углавном су то жене). Биволице показују већу отпорност према маститису, тако да су ретки случајеви запаљења млечне жлезде.



Слика 10. Биво – мужјак (фото: оригинал)



Слика 11. Биволица (фото: оригинал)

У Србији се код биволица не примењује вештачко осемењавање, већ се користи припуст. Број мушких јединки је ограничен и одржава се само онолико грла колико је неопходно за репродукцију. Мужјаци се углавном искоришћавају за производњу меса у раном узрасту, док се женска грла остављају за приплод.

Боја покровних длака је тамно пепељаста до црна, с тим што се могу срести грла са белим ознакама на глави (цветасти биволи), ногама и кићанки репа. Покровне длаке могу бити различито присутне и углавном зависе од услова гајња. Током спровођења ових истраживања идентификовано је 7 грла која су имала беле ознаке, али због малог броја нису укључене у анализу.

Телесна маса биволица креће се од 450 до 600 килограма, али због различитих услова исхране и неге на терену се могу наћи грла и са знатно већом телесном масом. Порођајна маса биволчади износи од 25 до 40 килограма. Животни век биволица које се користе за производњу млека може бити и до 15 година, док се у појединим случајевима налазе грла стара и 20 година.

4.1. Морфометријске особине домаћег бивола

4.1.1. Телесне мере домаћег бивола

Параметри дескриптивне статистике телесних димензија (телесних мера) за грла домаћег бивола, обухваћена истраживањем, представљени су у табелама 35 и 36.

Табела 35. Параметри дескриптивне статистике телесних димензија (телесних мера) женки домаћег бивола

Назив мере	N	Просек	Минимум	Максимум	Стд. Дев.
Висина гребена, cm	125	122,55	106	136	4,365
Висина крста, cm	125	124,09	109	137	3,871
Дужина трупа, cm	124	132,72	116	157	8,471
Ширина груди, cm	125	39,25	28	51	4,874
Дубина груди, cm	116	64,28	49	87	6,110
Предња ширина карлице, cm	125	49,22	36	63	4,753
Ширина кукова (растојање зглобова кука), cm	125	43,94	33	56	3,966
Дужина карлице, cm	65	42,14	33	54	3,605
Ширина (растојање) седњачних кврга, cm	125	20,47	16	27	2,267
Обим груди, cm	118	185,23	154	214	11,814
Обим цеванице, cm	95	20,20	17	25	1,463
Старост у месецима	112	89,81	32	254	55,492

Табела 36. Параметри дескриптивне статистике телесних димензија (телесних мера) мужјака домаћег бивола

Назив мере	N	Просек	Минимум	Максимум	Стд. Дев.
Висина гребена, cm	5	124,60	118	132	5,273
Висина крста, cm	5	126,00	118	130	4,899
Дужина трупа, cm	5	134,80	127	144	6,221
Ширина груди, cm	5	40,80	36	42	2,683
Дубина груди, cm	5	64,20	58	72	5,586
Предња ширина карлице, cm	5	48,00	42	53	4,000
Ширина кукова (растојање зглобова кука), cm	5	46,20	42	51	4,087
Дужина карлице, cm	5	44,60	41	50	3,782
Ширина (растојање) седњачних кврга, cm	5	18,80	16	24	3,114
Обим груди, cm	5	181,60	167	193	9,317
Обим цеванице, cm	4	22,25	20	24	1,708
Старост у месецима	4	51,25	32	65	14,221

Просечна вредност висине гребена код женских животиња износила је 122,55 cm, а кретала се од минималних 106 cm до максималних 136 cm. Код мушких животиња, просечна вредност била је нешто виша и износила је 124,6 cm са интервалом од минималних 118 cm до максималних 132 cm. Ове вредности биле су у складу са вредностима које су приказане у радовима Perišić et al. (2015) и Степић (2018).

Резултати анализе варијансе (F – тест) показали су да је старост домаћих бивола имала статистички врло високо значајан утицај на особину висина гребена ($p < 0,001$), што се може

видети у табели 37, као и у прилогу 1. Након спровођења LSD теста, како би се испитала значајност разлика између старосних група, утврђено је да постоји статистички врло високо значајна разлика између прве и треће ($p < 0,001$), високо значајна разлика између прве и друге ($p < 0,01$), док између друге и треће није постојала статистички значајна разлика ($p > 0,05$), што је представљено у прилогу 2.

Поређењем просечних вредности особине висина гребена домаћих бивола у Србији са медитеранским биволима у Италији – 134,7 cm (Negretti et al., 2008), Северној Македонији – 130 cm (Bunevski, 2000), Румунији – 134 cm (Rosa and Rusu, 1958, а цитира Cockrill 1975), Бугарској – 130 cm (Ivanov and Sachariev, 1960, а цитира Cockrill, 1975) и Бразилу – 134,6 cm (Rezende et al., 2017), може се видети да биволице гајене на подручју Пештера имају ниже вредности, док су вредности биле сличне са биволицама медитеранског бивола које се гаје у Турској – 123,8 cm (Kelgökmem and Ünal, 2015). Campanile et al. (2003) у свом раду наводе да се висина гребена, код бивола гајених у Италији, кретала у интервалу од 126,60 cm до 150,90 cm, а да је просечна вредност ове особине износила 138,90 cm. Vidu et al. (2013) наводе да је код бивола у Румунији висина гребена 136 cm, а исти аутори цитирају Alexiev (1998), који наводи да је висина гребена код бивола у Бугарској 130 cm.

Ове разлике у телесним мерама између бивола који се гаје у нашој земљи и земљама у окружењу могу се објаснити на више начина. Пре свега, шездесетих и седамдесетих година прошлог века вршен је увоз бивола из Индије (мура раса) и Пакистана (нили рави раса), тако да су расе животиња из азијских земаља имале велики утицај на изглед данашњих бивола у Бугарској и Румунији (Степић, 2018). Са друге стране, одсуство одгајивачко-селекцијског рада код бивола у Србији (Perišić et al., 2015) и начин гајења бивола (екстензивна производња) на подручју Пештера, допринели су овој разлици у телесним мерама.

У поређењу са биволима других раса, гајених у другим земљама, наш домаћи биво има нешто нижу вредност висине гребена. Према Melo et al. (2018), мура раса која се гаји у Бразилу има висину гребена 130,05 cm (116 cm – 148 cm). Висина гребена бивола гајених у Ираку, у три различита региона, кретала се у просеку за мушка грла $147,75 \pm 1,88$ cm, а женских $143,56 \pm 0,71$ cm (Jaayid et al., 2011). Мерењем бивола нили рави расе у Пакистану, Mirza et al. (2015) наводе да је висина гребена $132,04 \pm 4,56$ cm (117 cm – 146 cm). За исту расу Ahmad et al. (2013) наводе вредности од $140,2 \pm 7,2$ cm. За цафарабади расу Rezende et al. (2017) наводе висину гребена од 141,73 cm. Vohra et al. (2021) приказали су резултате ове особине за три расе: мура – $138,40 \pm 0,41$ cm (129,00 cm до 150,00 cm), нили рави – $134,10 \pm 1,10$ cm (108,00 cm до 134,00 cm) и гојри расу – $128,82 \pm 0,47$ cm (118,00 cm до 145,00 cm), које се гаје на северу Индије. Популација бивола која се гаји у Коси региону у Бихару (Индија) имала је просечну висину гребена $123,22 \pm 1,38$ cm (Prasad, 2021). Нагпури раса, према Ali et al. (2024), имала је просечну висину гребена $123,90 \pm 0,40$ cm. Ово говори да наши биволи гајени на Пештеру имају приближну вредност овог параметра са нагпури расом која се гаји у Индији (Махараштра), као и са популацијом бивола која се гаји у Коси региону, такође Индија.

Mirza et al. (2015) у свом истраживању наводе позитивну фенотипску корелацију висине гребена са приносом млека у стандардној лактацији (305 дана) од $0,04 \pm 0,02$. Исти аутори цитирају Jaayid et al. (2011), који наводе сличну вредност фенотипске корелације висине гребена са приносом млека од 0,03 код бивола у Ираку и Khalid (2011), који наводи ову корелацију од 0,20 код бивола нили рави расе.

Terzano et al. (2007) у својим истраживањима наводе да је утицај начина гајења (интензивни и екстензивни-пашњачки) имао статистички значајан утицај ($p < 0,05$) на вредност висине гребена код јуница и да су вредности биле ниже код животиња гајених у екстензивном-пашњачком систему.

Углавном, утврђене вредности висине гребена у овом истраживању на популацији бивола на подручју Пештера, могу бити коришћене као референтни параметар за стандардизацију расе домаћег бивола у Србији.

Табела 37. Утицај старости јединке на поједине морфометријске особине домаћих биволица

Особина	Група	N	Просек	Ст. гр.	F
Висина гребена, cm	1	20	118,95	0,8975	11,1***
	2	24	122,21	0,8193	
	3	68	123,74	0,4868	
Висина крста, cm	1	20	122,90	0,8533	1,5 ^{H3}
	2	24	124,04	0,779	
	3	68	124,57	0,4628	
Дужина трупа, cm	1	19	126,32	1,8026	10,7***
	2	24	131,88	1,6039	
	3	68	135,56	0,9528	
Ширина груди, cm	1	20	38,60	1,082	0,291 ^{H3}
	2	24	39,50	0,988	
	3	68	39,51	0,587	
Дубина груди, cm	1	18	60,22	1,357	7,304**
	2	23	62,74	1,200	
	3	63	65,75	0,725	
Предња ширина карлице, cm	1	20	44,80	0,957	16,6***
	2	24	48,71	0,874	
	3	68	51,00	0,519	
Ширина кукова (растојање зглобова кука), cm	1	20	41,30	0,802	7,15**
	2	24	44,75	0,732	
	3	68	44,60	0,435	
Дужина карлице, cm	1	10	41,50	1,104	0,414 ^{H3}
	2	13	42,62	0,968	
	3	37	42,59	0,574	
Ширина (растојање) седњачних кврга, cm	1	20	18,30	0,457	14,918***
	2	24	20,88	0,417	
	3	68	21,10	0,248	
Обим груди, cm	1	19	176,58	2,4291	7,83***
	2	21	185,00	2,3105	
	3	65	187,51	1,3133	
Обим цеванице, cm	1	17	20,12	0,348	0,4 ^{H3}
	2	18	20,00	0,338	
	3	52	20,33	0,199	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Висина крста мерених животиња кретала се у интервалу од 109 cm до 137 cm, са просеком 124,09 cm код женских јединки, док се код мушких кретала у интервалу од 118 cm до 130 cm, са просеком 126,00 cm.

Применом F теста (прилог 3), утврђено је да старост животиња није имала статистички значајан утицај (p>0,05) на особину висина крста код женки бивола, што се може видети у табели 37.

Висина крста код животиња обухваћених овим истраживањем била је нешто нижа у односу на висину крста медитеранских бивола гајених у другим земљама. Просечне вредности за популације бивола које се гаје у Италији, Румунији, Бугарској и Бразилу биле су: 139,70 cm, 131,00 cm, 131,00 cm и 134,20 cm (Negretti et al., 2008; Rosa and Rusu (1958) и Ivanov and Sachariev (1960), а цитира Cockrill, 1975; Rezende et al., 2017). Campanile et al. (2003) у свом истраживању наводе да је просечна висина крста код бивола који се гаје у

Италији износила 139,20 cm, а да се кретала у интервалу од минималних 126,90 cm до максималних 153,70 cm. Просечне вредности висине крста бивола који се гаје на подручју Пештера биле су више у односу на висину крста анадолијског бивола који се гаји у Турској, а који такође припада медитеранским биволима. Мерењем 73 јединке анадолијског бивола Kelgökmem and Ünal (2015) утврдили су да је просечна вредност висине крста била 119,00 cm. Према Поповићу (1949), а кога цитира Cockrill (1975), биволи гајени на територији тадашње Југославије имали су просечну висину крста 119,00 cm. Bunevski (2000) наводи да се код бивола гајених у Северној Македонији висина крста кретала у интервалу од 111 cm до 146 cm.

Висина крста мура расе, према резултатима које износе Melo et al. (2018), кретала се у интервалу од 119,70 cm до 143,00 cm, са просечном вредношћу 130,80 cm. Код цафарабади расе ова особина имала је просечну вредност 141,79 cm (Rezende et al., 2017). На основу ових података примећује се да је просечна вредност особине висина крста животиња укључених у ово истраживање нижа у односу на висину крста мура и цафарабади расе.

Поред употребе као референтног параметра за стандардизацију расе, особина висина крста представља једну од најважнијих карактеристика за процену екстеријера, правилног развоја јединке и производног потенцијала. Њено поређење са висином гребена омогућава оцену пропорционалности тела. На овај начин се утврђује да ли су грла преграђена (виша крста у односу на гребен) или је дошло до застоја у појединим фазама развоја. Поређењем са другим мерама тела указује на складност у грађи, што је битно за дуговечност и издржљивост бивола, а све у циљу економичне производње.

Просечна дужина трупа биволица укључених у ово истраживање износила је 132,72 cm, а кретала се у интервалу од 116,00 cm до 157,00 cm. Код мужјака ове вредности кретале су се у интервалу од 127,00 cm до 144,00 cm, а просечна вредност износила је 134,80 cm.

Када је у питању особина дужина трупа, F тест показао је статистички врло високо значајну разлику ($p < 0,001$) за вредност ове особине у зависности од старости јединке, што се може видети у прилогу 4. Испитивањем значајности разлика између старосних група, употребом LSD теста, утврђено је да постоји врло високо значајна разлика између прве и треће ($p < 0,001$), значајна између прве и друге ($p < 0,05$), док између друге и треће није постојала статистички значајна разлика ($p > 0,05$). Ово је приказано у прилогу 5.

Perišić et al. (2015) у свом раду наводе да је просечна вредност за ову особину била 142,19 cm, док Степић (2018) наводи да је максимална вредност износила 152,00 cm.

Просечне вредности дужине трупа животиња обухваћених овим истраживањем биле су ниже у односу на животиње медитеранских бивола гајених у другим земљама. Дужина трупа биволица гајених у Италији, Румунији, Бугарској и Бразилу била је: 156,30 cm, 143,00 cm, 141,00 cm, 151,60 cm (Negretti et al., 2008; Rosa and Rusu (1958), Ivanov and Sachariev (1960), а цитира Cockrill, 1975; Rezende et al., 2017). Campanile et al. (2003) у свом раду наводе да се дужина трупа код бивола гајених у Италији кретала у интервалу од 109,00 cm до 166,90 cm, а да је просечна вредност ове особине износила 146,20 cm. Дужина трупа бивола који се гаје у Северној Македонији кретала се у интервалу од 132,00 cm до 141,00 cm (Bunevski, 2000). Биволи у Турској имали су нижу вредност овог параметра, која је у просеку износила 114,90 cm (Kelgökmem and Ünal, 2015). У истраживањима Vidu et al. (2013), просечна дужина трупа код бивола у Румунији била је 141,00 cm, што је, како наводе, подударно са подацима Alexiev (1998) за биволе у Бугарској.

Када је реч о овој особини код других раса (мура, нили рави, цафарабади) може се приметити да су вредности више у односу на популацију која се гаји на подручју Пештера. Дужина трупа код мура расе, која се гаји у Бразилу, у просеку је износила 143,07 cm, док су минимална и максимална вредност биле 120 cm и 162 cm (Melo et al., 2018). Популација бивола исте расе, која се гаји на северу Индије, у истраживањима Vohra et al. (2021), имала је просечну дужину трупа $129,26 \pm 0,55$ cm, а кретала се у интервалу од 115,00 cm до 147,00 cm.

Мерењем бивола нили рави расе у Пакистану, Mirza et al. (2015) представили су да је просечна дужина трупа $154,01 \pm 7,60$ cm, док су минималне и максималне забележене вредности биле 127 cm и 185 cm. За исту расу Ahmad et al. (2013) наводе да је просечна дужина трупа била $147,3 \pm 7,2$ cm. Vohra et al. (2021) приказали су резултате дужине трупа за нили рави расу, где је просечна вредност износила $105,81 \pm 1,12$ cm, а кретала се од 91,00 cm до 121,00 cm. Rezende et al. (2017) приказали су резултате за цафарабади расу, при чему је просечна вредност дужине трупа код мерених животиња износила 161,21 cm. Мерење дужине трупа код гојри расе извршили су Vohra et al. (2021) и навели да је просечна вредност ове особине $133,48 \pm 0,51$ cm, док је минимална износила 122,00 cm, а максимална 151,00 cm. Популација бивола која се гаји у Коси региону у Бихару (Индија) имала је просечну дужину тела $101,26 \pm 1,30$ cm (Prasad, 2021).

Особина дужина тела може се сматрати као помоћни индикатор продуктивности животиње. Mirza et al. (2015) у свом раду наводе да је фенотипска корелација дијагоналне дужине тела са приносом млека позитивна и веома ниска (0,04), али цитирају Jaayid et al. (2011), који наводе значајану позитивну фенотипску корелацију дужине тела са приносом млека (0,32) код бивола у Ираку. Mirza et al. (2015) претпостављају да је ова ниска корелација због малог броја података или због разлике популација бивола. Terzano et al. (2007) у својим истраживањима наводе да је начин гајења (интензивни и екстензивни-пашњачки) имао статистички врло високо значајан утицај ($p < 0,001$) на вредност дужине трупа код јуница и да су вредности биле ниже код животиња гајених у екстензивном-пашњачком систему.

С обзиром да популација домаћих бивола обухваћена овим истраживањем има ниже вредности за ову особину у односу на продуктивне расе (мура, цафарабади), може се претпоставити да је разлог за то управо изостанак селекције и интензивног гајења. Зато се ова особина може употребити као референтни параметар за стандардизацију расе и узети у обзир приликом дефинисања селекцијских циљева у одгајивачким програмима.

Ширина груди женки бивола укључених у ово истраживање кретала се од минималних 28,00 cm до максималних 51,00 cm, док је просечна вредност била 39,25 cm. Када су у питању мужјаци бивола, њихова ширина груди кретала се од 36,00 cm до 42,00 cm, а просек је био 40,80 cm.

Анализа варијансе показала је да старост животиња није имала статистички значајан утицај на ширину груди код женки бивола ($p > 0,05$), што је приказано у табели 37 и прилогу 6.

У истраживањима Rosa and Rusu (1958) за биволе у Румунији и истраживањима Ivanov and Sachariev (1960) за биволе у Бугарској, а које цитира Cockrill (1975), ширина груди износила је у просеку 41,00 cm и 43,00 cm. Исти аутор наводи податак да је ширина груди биволица гајених у Италији била 49,60 cm.

Када је у питању ширина груди код мура расе, Melo et al. (2018) наводе да је просечна вредност износила 35,25 cm, а да су минимална и максимална забележена вредност биле 25,00 cm и 44,00 cm.

Ширина груди може се разматрати као важан параметар који указује на плућни капацитет животиња, што је важно за ефикасну размену гасова у плућима. Ова особина има директан утицај на брзину метаболизма, а самим тим и на продуктивност животиња.

Terzano et al. (2007) испитивали су утицај интензивног и екстензивног (пашњачког) система гајења на развој јуница (биволица) у Италији. Утврдили су да постоји статистички значајна разлика ($p < 0,05$) за особину ширина груди у зависности од система гајења код ових животиња и да су просечне вредности биле ниже код јуница које су гајене у екстензивном (пашњачком) систему (37,69 cm) у односу на животиње гајене у интензивном систему (46,34 cm).

Код животиња које се гаје на вишим надморским висинама, као што су оне обухваћене овим истраживањем, пожељна је већа ширина груди, јер она обезбеђује већи капацитет плућа. Овај повећани капацитет омогућава боље задовољавање потреба за

кисеоником. С тим у вези ширина груди није само индикатор телесне грађе, већ и важан фактор у процени физиолошке прилагођености животиња специфичним условима животне средине у различитим климатским и географским подручјима.

Просечна дубина груди биволица укључених у ово истраживање износила је 64,28 cm, а кретала се у интервалу од 49,00 cm до 87,00 cm. Код мужјака ове вредности кретале су се у интервалу од 58,00 cm до 72,00 cm, а просечна вредност износила је 64,20 cm.

Резултати анализе варијансе показали су да је старост домаћих биволица имала статистички високо значајан утицај на дубину груди ($p < 0,01$), што се може видети у табели 37, као и у прилогу 7. Примењен је LSD тест ради испитивања значајности разлика између старосних група (прилог 8). Утврђено је да постоји статистички врло високо значајна разлика између прве и треће ($p < 0,001$), што је и очекивано, јер животиње у трећој старосној групи имају развијенији грудни кош, као последицу нормалног раста и развоја. Истим тестом потврђена је статистички значајна разлика ($p < 0,05$) између друге и треће старосне групе, што указује на то да груди настављају раст и након пете године живота, с тим да је тај развој, што је и логично, нижег интензитета у односу на ранији период. Што се тиче разлика између прве и друге старосне групе LSD тест показао је да није постојала статистички значајна разлика ($p > 0,05$), што је и било очекивано.

Perišić et al. (2015) у свом раду наводе да је просечна вредност ове осбине била 68,75 cm, што представља више вредности од утврђених у овом истраживању.

Дубина груди медитеранских бивола гајених у Италији кретала се од 69,50 cm до 100,40 cm, са просечном вредношћу 80,10 cm (Campanile et al., 2003). Cockrill (1975), цитирајући Rosa and Rusu (1958) за биволе у Румунији и Ivanov and Sachariev (1960) за биволе у Бугарској, наводи да је просечна дубина груди код ових популација била 72,00 cm. Исти аутор наводи податак да је ова морфометријска мера биволица гајених у Италији у просеку износила 77,80 cm. Код бивола у Северној Македонији просечна дубину груди износила је 72,10 cm (Bunevski, 2000). Животиње укључене у ово истраживање имале су најприближнију просечну дубину груди са биволима у Турској, а та вредност је $63,70 \pm 0,72$ cm (Kelgökmem and Ünal, 2015).

Jaayid et al. (2011) у својим истраживањима наводе да је дубина груди код мужјака бивола, који се гаје у Ираку у три различита региона, у просеку износила $78,88 \pm 0,88$ cm, а код женки $83,52 \pm 0,60$ cm.

Дубина груди, као и ширина груди, представљају важне параметре телесне грађе, који су директно повезани са капацитетом грудног коша, што је значајно са аспекта размене гасова и метаболичке активности животиња. Поред тога, ова особина користи се и за израчунавање телесних индекса, као што су индекс дубине груди и индекс дужине ногу.

Предња ширина карлице женки бивола укључених у ово истраживање кретала се од минималних 36,00 cm до максималних 63,00 cm, а просечна вредност била је 49,22 cm. Код мужјака бивола предња ширина карлице кретала се од минималних 42,00 cm до максималних 53 cm, а просек је био 48,00 cm.

За вредност особине предња ширина карлице (растојање између спољашњих тачака бедрених кврга), F тест је показао статистички врло високо значајну разлику ($p < 0,001$) у зависности од старости јединке (прилог 9). Испитивањем значајности разлика између старосних група, употребом LSD теста (прилог 10), утврђено је да постоји статистички врло високо значајна разлика између прве и треће ($p < 0,001$), високо значајна између прве и друге ($p < 0,01$) и значајна између друге и треће ($p < 0,05$) старосне групе.

Код бивола у Италији, како у свом раду наводе Campanile et al. (2003), предња ширина карлице у просеку је била 58,00 cm, а кретала се од минималних 45,00 cm до максималних 76,10 cm. Код бивола у Румунији и Бугарској, пре уплива гена мура и нили рави расе, предња ширина карлице у просеку износила је 56 cm за обе популације (Rosa and Rusu (1958) и

Ivanov and Sachariev (1960), а цитира Cockrill, 1975). У Бразилу, код популације медитеранског бивола, предња ширина карлице износила је у просеку 60,20 cm (Rezende et al., 2017).

Када је реч о другим расама, као што су мура, нили рави и цафарабади, вредност ове особине у просеку износила је 51,42 cm, 56,9 cm и 65,15 cm (Melo et al., 2018; Ahmad et al., 2013; Rezende et al., 2017).

Предња ширина карлице (растојање између спољашњих тачака бедрених кврга) важна је за процену телесне грађе, посебно карличног простора који је битан за порођај женки. Пожељна је оптимална предња ширина карлице која може омогућити лакши порођај.

Terzano et al. (2007) у својим истраживањима наводе да је утицај начина гајења (интензивни и екстензивни-пашњачки) имао статистички значајан утицај ($p < 0,05$) на вредност ове особине код јуница и да су вредности биле ниже код животиња гајених у екстензивном-пашњачком систему.

Просечна ширина кукова (растојање зглобова кука) биволица укључених у ово истраживање износила је 43,94 cm, а кретала се у интервалу од 33,00 cm до 56,00 cm. Код мужјака ове вредности кретале су се у интервалу од 42,00 cm до 51,00 cm, а просечна вредност износила је 46,20 cm.

Када је реч о ширини кукова (растојање зглобова кука), F тест показао је статистички високо значајну разлику ($p < 0,01$) за вредност ове особине у зависности од старости јединке, што се може видети у прилогу 11. Испитивањем значајности разлика између старосних група, употребом LSD теста, утврђено је да постоји статистички врло високо значајна разлика између прве и треће ($p < 0,001$), високо значајна између прве и друге ($p < 0,01$), док између друге и треће није постојала статистички значајна разлика ($p > 0,05$). Ово је приказано у прилогу број 12.

Код бивола у Италији просечна вредност ширине кукова (растојање зглобова кука) биволица била је 51,50 cm, а кретала се у интервалу од 40,50 cm до 64,00 cm (Campanile et al., 2003). Биволице у Бугарској имале су просечну вредност ове особине 46,00 cm (Ivanov and Sachariev (1960), а цитира Cockrill, 1975).

Melo et al. (2018) наводе да је ширина кукова код мура расе у просеку била 39,99 cm. За исту расу Vohra et al. (2021) наводе просечну ширину кукова $55,55 \pm 0,29$ cm, при чему су минимална и максимална вредност биле 49,00 cm и 63,00 cm. Vohra et al. (2021) у свом раду износе податке о ширини кукова код нили рави расе која је у просеку износила $39,59 \pm 0,36$ cm (34,00 cm до 43,00 cm) и гојри расе $53,60 \pm 0,37$ cm (30,00 cm до 60,00 cm). Код диара бивола, који се гаје у Индији (Бихар), просечна вредност за ову особину износила је $41,58 \pm 3,59$ cm (Singh et al., 2020). Популација бивола која се гаји у Коси региону у Бихару (Индија) има просечну ширину кукова $37,02 \pm 0,83$ cm (Prasad, 2021).

Ширина кукова (растојање зглобова кука) заправо представља ширину задњег дела тела и битна је за процену телесне развијености животиње. У случајевима одступања од оптималних вредности долази до деформитета како карлице, тако и ставова ногу чиме се нарушавају функционалне способности организма што се види кроз смањену продукцију. Посебно, ово одступање, има највећи утицај на отежани ток тељења.

Дужина карлице женки бивола укључених у ово истраживање кретала се од минималних 33,00 cm до максималних 54,00 cm, док је просечна вредност била 42,14 cm. Код мужјака бивола дужина карлице кретала се од 41,00 cm до 50,00 cm, а просек је био 44,60 cm.

Анализа варијансе показала је да старост животиња није имала статистички значајан утицај на дужину карлице код женки бивола ($p > 0,05$), што је приказано у табели 37 и прилогу 13.

Просечне вредности дужине карлице код животиња обухваћених овим истраживањем биле су ниже у односу на животиње медитеранског бивола гајених у другим земљама.

Дужина карлице биволица гајених у Италији, Румунији, Бугарској и Бразилу је: 44,90 cm, 53,00 cm, 51,00 cm, 43,20 cm (Negretti et al., 2008; Rosa and Rusu (1958) и Ivanov and Sachariev (1960), а цитира Cockrill, 1975; Rezende et al., 2017). Campanile et al. (2003) у свом раду наводе да се дужина карлице код бивола гајених у Италији кретала у интервалу од 33,10 cm до 56,10 cm, а да је просечна вредност ове особине износила 46,80 cm.

Дужина карлице код мура расе кретала се од минималних 32,00 cm до максималних 56,00 cm, док је просечна вредност износила 39,78 cm (Melo et al., 2018). Код цафарабади расе вредност ове особине у просеку је била 47,16 cm (Rezende et al., 2017), док је код нагпури расе била $36,39 \pm 0,25$ cm (Ali et al., 2024).

Дужина карлице, у комбинацији са предњом ширином карлице и ширином кукова, пружа свеобухватан увид у телесну грађу, посебно у структуру и функционалност карличног подручја. Ови параметри су од изузетног значаја код плоткиња, јер служе као индикатори способности за лакоћу телјења, што директно утиче на репродуктивну успешност и продуктивност животиња. Оптималне димензије карлице могу смањити ризик од компликација током порођаја. Ово је нарочито важно за животиње обухваћене овим истраживањем, које се углавном узгајају екстензивно, на пашњацима, где телјења некада протичу без помоћи одгајивача.

Ширина (растојање) седњачних кврга женки бивола укључених у ово истраживање кретала се од минималних 16,00 cm до максималних 27,00 cm, а просечна вредност била је 20,47 cm. Код мужјака бивола ширина (растојање) седњачних кврга кретала се од минималних 16,00 cm до максималних 24 cm, а просек је био 18,80 cm.

За вредност особине ширина (растојање) седњачних кврга, F тест показао је статистички врло високо значајну разлику ($p < 0,001$) у зависности од старости јединки (прилог 14). Испитивањем значајности разлика између старосних група, употребом LSD теста (прилог 15), утврђено је да између прве и друге, као и између прве и треће постоји статистички врло високо значајна разлика ($p < 0,001$), док између друге и треће старосне групе не постоји статистички значајна разлика ($p > 0,05$).

Медитерански биволи који се гаје у Италији имали су ширину (растојање) седњачних кврга у просеку 24,80 cm, а кретала се од минималних 16,80 cm до максималних 34,00 cm (Campanile et al., 2003). Биволи гајени у Турској и Бразилу имали су просечне вредности за ову особину 23,60 cm и 22,30 cm (Kelgökmem and Ünal, 2015; Rezende et al., 2017). Код бивола гајених у Турској, Kelgökmem and Ünal (2015) у својим истраживањима наводе да је старост животиња имала врло високо статистички значајан утицај ($p < 0,001$) на ширину (растојање) седњачних кврга.

Код мура расе вредност ове особине кретала се од минималних 17,00 cm до максималних 38,00 cm, а просек је био 25,38 cm (Melo et al., 2018). За исту расу Vohra et al. (2021) наводе да су минимална и максимална вредност ове особине биле 15,00 cm и 20,00 cm, док је просечна вредност износила $16,94 \pm 0,10$ cm. Када су у питању нили рави, нагпури и гојри раса, вредности ове особине у просеку су износиле $30,2 \pm 3,7$ cm, $14,95 \pm 0,13$ cm и $24,30 \pm 0,45$ (Ahmad et al., 2013; Ali et al., 2024; Vohra et al., 2021).

Rezende et al., (2017) наводе да су вредности ове особине код медитеранског бивола, мура и цафарабади расе биле 32,59 cm, 31,89 cm и 37,64 cm. У истом истраживању наводе да је постојала статистички значајна разлика за вредности ове особине код цафарабади расе у односу на медитеранског бивола и мура расу. Ово указује на већу развијеност задњег дела тела код цафарабади бивола. Просечна вредност ширине (растојања) седњачних кврга у популацији бивола који се гаје у Коси региону у Бихару (Индија) била је $21,15 \pm 0,48$ cm (Prasad, 2021).

С обзиром да седњачне кврге формирају задњи део карличног оквира, заједно са претходне три описане особине важан су параметар за процену телесне грађе. Њихова

позиција и растојање играју важну улогу у одређивању капацитета карлице, што је од значаја за процену могућности лаког тељења.

Просечна вредност обима груди код женских животиња износила је 185,23 cm, а кретала се од минималних 154,00 cm до максималних 214,00 cm. Код мушких животиња, просечна вредност била је 181,60 cm, са варирањем од минималних 167,00 cm до максималних 193,00 cm.

Резултати анализе варијансе показали су да је старост домаћих бивола имала статистички врло високо значајан утицај на обим груди ($p < 0,001$), што се може видети у табели 37, као и у прилогу 16. Спровођењем LSD теста испитана је значајност разлика између старосних група и утврђено је да постоји статистички врло високо значајна разлика између прве и треће ($p < 0,001$), значајна између прве и друге ($p < 0,05$), док између друге и треће није постојала статистички значајна разлика ($p > 0,05$), што је представљено у прилогу 17.

Обим груди код медитеранских бивола гајених у Италији кретао се у интервалу од минималних 186,00 cm до максималних 334,00 cm, а просечна вредност износила је 229,20 cm (Campanile et al., 2003). Bunevski (2000) наводи да је просечан обим груди код бивола гајених у Северној Македонији износио 190,00 cm. Vidu et al. (2013) наводе да је код бивола у Румунији просечан обим груди износио 193,00 cm, а за биволе у Бугарској цитирали су Alexiev (1998), који наводе да је ова вредност била 194,00 cm. Анадолијски биво у Турској, који такође припада медитеранским биволима, имао је просечан обим груди 181,50 cm (Kelgökmem and Ünal, 2015). Исти аутори су утврдили да постоји статистички врло високо значајан утицај старости ($p < 0,001$) на обим груди код бивола који се гаје у Турској.

Обим груди код мура, нили рави и цафарабади расе у просеку је износио 201,30 cm, $203,20 \pm 11$ cm и $219,17$ cm (Melo et al., 2018; Ahmad et al., 2013; Rezende et al., 2017). Наведене вредности су више у односу на биволе који се гаје на подручју Пештера, тј. оних који су били предмет овог истраживања. Vohra et al. (2021) наводе да се обим груди код мура расе кретао од минималних 185,00 cm до максималних 250,00 cm, а да је просечна вредност била $212,53 \pm 1,12$ cm. Међутим, исти аутори наводе да је обим груди код нили рави расе у просеку износио $161,16 \pm 1,52$ cm, а да се кретао од минималних 144,00 cm до максималних 182,00 cm, што представља ниже вредности у односу на претходне ауторе. Mirza et al. (2015) мерењем бивола нили рави раса у Пакистану наводе да се вредност ове особине кретала од 121,00 cm до 226,00 cm, са просеком $194,46 \pm 10,31$ cm. Код гојри расе вредности за ову особину кретале су се од минималних 170,00 cm до максималних 214,00 cm, са просеком $195,90 \pm 0,98$ cm (Vohra et al., 2021). Обим груди у популацији бивола који се гаје у Коси региону у Бихару (Индија), била је $188,82 \pm 3,39$ cm (Prasad, 2021). У својим истраживањима Jaayid et al. (2011) наводе да је обим груди код мужјака бивола, који се гаје у Ираку у три различита региона, у просеку износио $203,06 \pm 2,67$ cm, а код женки $194,86 \pm 0,68$ cm.

Обим груди је један од показатеља телесне развијености грла. У комбинацији са ширином и дубином груди, ова особина указује на степен развијености грудног коша, где су смештени витални органи попут срца и плућа. Ови органи играју кључну улогу у размени гасова и метаболичким активностима животиња, што директно утиче на њихову продуктивност и издржљивост. Mirza et al. (2015) у свом раду представљају резултате који указују на ниску позитивну фенотипску корелацију од $0,04 \pm 0,04$ између обима груди и приноса млека у стандардној лактацији (305 дана). Исти аутори цитирали су Jaayid et al. (2011), који су пријавили значајну и позитивну фенотипску корелацију од 0,36 између обима груди и приноса млека код биволица у Ираку.

Обим цеванице женки бивола укључених у ово истраживање кретао се од минималних 17,00 cm до максималних 25,00 cm, док је просечна вредност била 20,20 cm. Код

мужјака бивола вредности за ову особину кретале су се од 20,00 cm до 24,00 cm, а просек је био 22,25 cm.

Анализа варијансе показала је да старост животиња није имала статистички значајан утицај на обим цеванице код женки бивола ($p>0,05$), што је приказано у табели 37 и прилогу 18.

Обим цеванице код медитеранских бивола гајених у Италији кретао се у интервалу од минималних 20,00 cm до максималних 28,00 cm, а просечна вредност износила је 23,50 cm (Campanile et al., 2003). Просечне вредности обима цеванице за биволе који се гаје у Румунији и Бугарској износила је 20,00 cm (Rosa and Rusu (1958) и Ivanov and Sachariev (1960), а цитира Cockrill, 1975).

Обим цеванице може бити у корелацији са телесном масом, растом и мускулозношћу, што га чини корисним индикатором за одабир високопродуктивних животиња. Обим цеванице користи се за израчунавање индекса кошчатости.

Разлике у вредностима појединих особина између популација могу се приписати генотипу, условима гајења и различитим селекцијским циљевима. Животиње које су обухваћене овим истраживањем гаје се на екстензиван начин, од пролећа до јесени су на пашњацима, а недостаје и строга селекција. Описане особине (телесне мере) могу послужити за дефинисање стандарда за домаћег бивола у Србији.

4.1.2. Релативни показатељи (индекси) телесне развијености домаћег бивола

Параметри дескриптивне статистике релативних показатеља (индекса) телесне развијености домаћих бивола представљени су у табелама 38 и 39.

Табела 38. Параметри дескриптивне статистике релативних показатеља (индекса) телесне развијености домаћих биволица

Назив индекса	N	Просек	Минимум	Максимум	Стд.Дев.
Индекс формата (оквир), %	124	108,32	94,62	124,17	6,256
Индекс дубине груди, %	116	52,47	40,16	73,11	4,508
Индекс збијености трупа, %	117	140,21	108,22	168,07	10,576
Индекс масивности, %	118	151,20	125,4	168,03	8,108
Индекс преграђености, %	125	101,30	96,03	107,76	2,464
Карлично-грудни индекс (кукови), %	125	89,60	62,22	115,38	10,592
Карлично-грудни индекс (бедрене кврге), %	125	80,11	53,85	105,13	9,96
Индекс облика карлице 1, %	125	41,78	32,20	55,81	4,579
Индекс облика карлице 2, %	125	46,77	35,71	63,41	5,168
Индекс дужине ногу, %	116	47,53	26,89	59,84	4,508
Индекс кошчатости, %	95	16,50	14,17	19,84	1,147

Просечне вредности за индекс формата (оквир) код женки бивола које су биле предмет овог истраживања био је 108,32 %, док су се минимална и максимална вредност кретале у интервалу од 94,62 % до 124,17 %. Код мужјака, просечна вредност износила је 108,31 %, а минимална и максимална вредност 102,27 % и 118,03 %. У раду Степића (2018) максимална забележена вредност овог индекса била је 116,95 %.

Применом анализе варијансе утврђено је да старост животиња није имала статистички значајан утицај на индекс формата (оквир) код женки бивола ($p>0,05$), што је приказано у табели 40 и прилогу 19.

Овај индекс код бивола у Италији кретао се од минималних 82,00 % до максималних 120,00 %, а просечна вредност износила је 105,00 % (Campanile et al., 2003).

Индекс формата (оквира) изнад 100 % означава да је дужина трупа већа од висине гребена, што указује на издужену телесну грађу, односно квадратичан изглед животиње. Код појединих животиња, висок индекс формата (оквира) може указивати на то да је дошло до застоја у интраутерином животу и да је овај индекс у том случају виши из разлога недовољног пораста у висину. Код животиња код којих је дошло до застоја у развоју након рођења овај индекс има ниже вредности из разлога недовољног раста у дужину. Углавном, већи индекс формата (оквира) често је повезан са бољим потенцијалом животиња за производњу млека, јер издуженије тело обично значи већи унутрашњи капацитет за органе за варење и продуктивност. Свакако, треба напоменути да животиње намењене за тов имају више вредности овог индекса од животиња намењених за производњу млека.

Табела 39. Параметри дескриптивне статистике релативних показатеља (индекса) телесне развијености домаћих бивола (мужјака)

Назив индекса (изражен у %)	N	Просек	Минимум	Максимум	Стд.Дев.
Индекс формата (оквир), %	5	108,31	102,27	118,03	61,724
Индекс дубине груди, %	5	51,49	47,24	54,55	31,739
Индекс збијености трупа, %	5	134,80	127,08	142,96	61,802
Индекс масивности, %	5	145,72	141,53	150,00	31,573
Индекс преграђености, %	5	101,15	98,48	103,28	19,147
Карлично-грудни индекс (кукови), %	5	88,63	82,35	100,00	68,246
Карлично-грудни индекс (бедрене кврге), %	5	85,15	79,25	89,36	36,563
Индекс облика карлице 1, %	5	39,01	36,17	45,28	36,557
Индекс облика карлице 2, %	5	40,54	38,10	47,06	37,611
Индекс дужине ногу, %	5	48,51	45,45	52,76	31,739
Индекс кошчатости, %	4	17,62	16,13	18,90	11,643

Просечна вредност индекса дубине груди код женских животиња износила је 52,47 %, а кретала се од минималних 40,16 % до максималних 73,11 %. Код мушких животиња, просечна вредност била је 51,49 %, са варирањем од минималних 47,24 % до максималних 54,55 %.

Анализом варијансе утврђено је да старост женки бивола није имала статистички значајан утицај ($p>0,05$) на индекс дубине груди. Ово се може видети преко F вредности у табели 40 и прилогу 20.

Овај индекс указује на развијеност грудног коша у односу на висину гребена, пружа важне информације о телесној грађи и функционалним способностима бивола. Мали индекс дубине груди (испод 50 %) може указивати на плитак грудни кош, што је мање пожељно јер ограничава капацитет за дисање и може утицати непожељно на метаболичке способности. Код свих раса бивола пожељан је индекс дубине груди са вишим вредностима.

Просечне вредности за индекс збијености трупа код женки бивола које су биле предмет овог истраживања био је 140,21 %, док су се минимална и максимална вредност кретале у интервалу од 108,22 % до 168,07 %. Код мужјака, просечна вредност износила је 134,80 %, а минимална и максимална вредност 127,08 % и 142,96 %.

F тестом је утврђено да старост женки бивола није имала статистички значајан утицај на индекс збијености трупа ($p>0,05$), што је представљено у табели 40 и прилогу 21.

Индекс збијености трупа може помоћи приликом одабира животиње за одређен смер производње. Животиње са нижим вредностима овог индекса, које карактерише изражена дужина тела, често су погодније за млечну производњу. Међутим, приликом одабира, неопходно је узети у обзир и друге телесне мере и индексе, јер животиње које су имале застој у расту након рођења могу имати слабији пораст и недовољну дужину тела, што може утицати на њихов производни потенцијал.

Табела 40. Утицај старости јединке на индексе телесне развијености домаћих биволица

Индекс	Група	N	Просек	Ст. гр.	F
Индекс формата (оквир), %	1	19	106,39	14,123	2,22 ^{H3}
	2	24	107,97	12,566	
	3	68	109,59	0,7465	
Индекс дубине груди, %	1	18	50,69	1,057	2,96 ^{H3}
	2	23	51,31	0,935	
	3	63	53,19	0,565	
Индекс збијености трупа, %	1	18	140,31	2,3982	0,17 ^{H3}
	2	21	140,34	2,2203	
	3	65	139,12	1,262	
Индекс масивности, %	1	19	148,48	1,786	1,27 ^{H3}
	2	21	151,49	1,6988	
	3	65	151,66	0,9656	
Индекс преграђености, %	1	20	103,34	0,5083	10,4 ^{***}
	2	24	101,52	0,464	
	3	68	100,72	0,2757	
Карлично-грудни индекс (кукови), %	1	20	93,87	2,259	2,222 ^{H3}
	2	24	88,34	2,062	
	3	68	88,73	1,225	
Карлично-грудни индекс (бедрене кврге), %	1	20	86,67	2,147	7,041 ^{**}
	2	24	81,39	1,96	
	3	68	77,69	1,164	
Индекс облика карлице 1, %	1	20	41,10	1,046	1,177 ^{H3}
	2	24	43,06	0,955	
	3	68	41,57	0,567	
Индекс облика карлице 2, %	1	20	44,52	1,116	2,799 ^{H3}
	2	24	46,74	1,019	
	3	68	47,52	0,605	
Индекс дужине ногу, %	1	18	49,31	1,057	2,958 ^{H3}
	2	23	48,69	0,935	
	3	63	46,81	0,565	
Индекс кошчатости, %	1	17	16,82	0,271	0,88 ^{H3}
	2	18	16,39	0,263	
	3	52	16,43	0,155	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Индекс масивности код женских животиња кретао се од минималних 125,40 % до максималних 168,03 %, док је просечна вредност била 151,20 %. Код мушких животиња овај индекс кретао се од минималних 141,53 % до максималних 150,00 %, а просечна вредност износила је 145,72 %.

F тестом (табела 40) утврђено је да старост женки бивола није имала статистички значајан утицај (p>0,05) на индекс масивности, што се може видети у прилогу 22.

Више вредности индекса масивности су код товних животиња. Углавном, низак индекс масивности може указивати на слабу кондицију или недовољну телесну развијеност, што може бити сигнал за корекцију исхране. Будућа истраживања могла би укључити корелацију између индекса масивности и других продуктивних параметара, као што су телесна маса, прираст или производња млека, како би се утврдио његов селекцијски значај.

Просечна вредност индекса преграђености код женских животиња износила је 101,30 %, а кретала се од минималних 96,03 % до максималних 107,76 %. Код мушких животиња просечна вредност била је 101,15 %, са варирањем од минималних 98,48 % до максималних 103,28 %.

Када је у питању индекс преграђености, F тест (табела 40) показао је статистички врло високо значајну разлику ($p < 0,001$) за вредност овог индекса у зависности од старости јединке. Испитивањем значајности разлика између старосних група, употребом LSD теста, утврђено је да постоји статистички врло високо значајна разлика између прве и треће ($p < 0,001$), високо значајна између прве и друге ($p < 0,01$), док између друге и треће старосне групе није постојала статистички значајна разлика ($p > 0,05$). Ово је приказано у прилозима 23 и 24.

У ранијим истраживањима (Степић, 2018) утврђено је да старост јединки није имала статистички значајан утицај на индекс преграђености, али треба напоменути да су у наведеном раду животиње биле подељене у две групе по старости (3. до 5. година и 5. до 19. година). С обзиром на претходно наведено, што потврђује прилог 24, да између друге и треће групе није постојала статистички значајна разлика ($p > 0,05$), може се сматрати да су представљени резултати у складу са резултатима рада које наводи Степић (2018).

Индекс преграђености показује процентуалну разлику између висине гребена и висине крста. Више вредности овог индекса од 100 % указују да је висина крста виша од висине гребена и за такве животиње каже се да су „преграђене“. Више вредности овог индекса карактеристичне су за младунчад и грла заостала у развоју. Са порастом животиња вредности овог индекса се снижавају, јер долази до изједначавања висине гребена и висине крста (Петровић и сар., 2012). У случају када је код младих јединки овај индекс нижи од 100 %, то указује да је дошло до поремећаја у расту током ембрионалног развоја (Перишић, 2013). Поред поменутог, код животиња одгајаних у сродству карактеристичне су више вредности овог индекса од 100 %, односно животиње су „преграђене“.

Индекс преграђености пружа корисне информације о пропорцији тела и правилном развоју индивиде у зависности од фазе развоја. Може указати на грешке у гајењу, као што су парење у сродству или неадекватни услови држања, пре свега исхрана. Ово указује на његов значај и могућност укључивања у одгајивачке програме.

Просечна вредност карлично-грудног индекса (кукови) код женских животиња износила је 89,60 %, а кретала се од минималних 62,22 % до максималних 115,38 %. Код мушких животиња, просечна вредност била је 88,63 %, а кретала се од минималних 82,35 % до максималних 100,00 %.

Анализом варијансе утврђено је да старост женки бивола није имала статистички значајан утицај ($p > 0,05$) на карлично-грудни индекс (кукови). Ово се може видети преко F вредности у табели 40 и прилогу 25.

С обзиром да овај индекс показује процентуални однос ширине груди и ширине кукова, може се рећи да се он смањује са старашћу животиње, јер ширина карлице (растојање између кукова) расте дужу у односу на ширину груди. У табели 40 може се видети да је код најмлађе групе индекс био највиши (93,87 %), док се код старијих група смањује (88,34 % и 88,73 %). Нижи индекс код одраслих женки указује на добро развијену карлицу, што је битно за лакоћу тељења. Животиње са ниским индексом имају пропорционално шире кукове, што је пожељна карактеристика у селекцији репродуктивних грла.

Просечна вредност карлично-грудног индекса (бедрене кврге) код женских животиња износила је 80,11 %, а кретала се од минималних 53,85% до максималних 105,13%. Код мушких животиња, просечна вредност била је 85,15 %, са варирањем од минималних 79,25 % до максималних 89,36 %.

Применом анализе варијансе утврђено је да старост животиња има високо статистички значајан утацај ($p < 0,01$) на вредност карлично-грудног индекса (бедрене кврге), што се може видети у табели 40 и прилогу 26. Употребом LSD теста испитана је значајност разлика између старосних група и утврђено је да постоји статистички врло високо значајна разлика ($p < 0,001$) између прве и треће групе. Исти тест показао је да између прве и друге, као и друге и треће старосне групе није постојала статистички значајна разлика ($p > 0,05$). Ово је приказано у прилогу 27.

Животиње са нижим вредностима овог индекса имају ширу карлицу у односу на груди, што је пожељно за лакоћу тељења. Овај индекс може бити користан при селекцији за репродуктивне особине, тачније за лакоћу тељења.

Вредности овог индекса се смањују са старењем, што се објашњава природним растом и развојем карличног региона, јер карлица свој максималан развој достиже знатно касније у односу на ширину груди. Ово је разлог зашто постоји врло високо статистички значајна разлика ($p < 0,001$) између прве ($\bar{x} = 86,67$ %) и треће ($\bar{x} = 77,69$ %) старосне групе.

Више вредности овог индекса могу указивати на ужу карлицу у односу на грудни кош, што може бити мање повољно за репродуктивне способности, односно појаву тешких тељења.

Индекс облика карлице 1 код женских животиња кретао се у интервалу од минималних 32,20 % до максималних 55,81 %, док је просечна вредност била 41,78 %. Код мушких животиња овај индекс кретао се од минималних 36,17 % до максималних 45,28 %, а просечна вредност износила је 39,01 %.

Анализом варијансе утврђено је да старост женки бивола није имала статистички значајан утицај ($p > 0,05$) на индекс облика карлице 1, што се може видети преко F вредности у табели 40 и прилогу 28.

Овај индекс је битан као показатељ развијености карлице и код избора женки за приплод. При одабиру животиње за приплод, бирају се оне јединке које имају више вредности овог индекса, јер се сматра да ће имати лакша тељења.

Индекс облика карлице 2 код женских животиња био је у интервалу од минималних 35,71 % до максималних 63,41 %, док је просечна вредност износила 46,77 %. Код мушких животиња овај индекс кретао се у интервалу од минималних 38,10 % до максималних 47,06 %, а просечна вредност била је 40,54 %.

F тестом (табела 40) утврђено је да старост женки бивола није имала статистички значајан утицај ($p > 0,05$) на индекс облика карлице 2, што се може видети у прилогу 29.

Индекс облика карлице 2 је вредан параметар који пружа важне информације о пропорцијама и функционалности карличног подручја код бивола. Овај индекс представља пропорционални однос растојања седњачних кврга у односу на ширину кукова. Више вредности указују на шири излаз из карлице (веће растојање седњачних кврга), што је важно са репродуктивног аспекта, јер широка и пропорционална карлица доприноси лакоћи тељења. Ниске вредности овог индекса могу указивати на неповољан облик карлице („шиљаст“), што може изазвати тешка тељења. Индекс облика карлице 2 може се користити у програмима селекције за одабирање животиња са оптималним телесним пропорцијама које омогућавају лакоћу тељења.

Постоје разлике међу расама, где Rezende et al. (2017) у својим истраживањима наводе да цафарабади раса, у односу на медитеранску и мура расу, има пожељније индексе карлице

захваљујући широким и вишим димензијама карлице, што је кључно за лакоћу тељења. Са друге стране, димензије и грађа карлице код медитеранске и мура расе, показују разлике које се могу приписати њиховој селекцији усмереној на млечност. Свакако, пожељне су животиње које имају више вредности овог индекса, међутим, треба имати на уму да се са узрастом животиња вредности индекса смањују.

Просечна вредност индекса дужине ногу код женских животиња била је 47,53 %, а кретала се у интервалу од минималних 26,89 % до максималних 59,84 %. Код мушких животиња просечна вредност била је 48,51 %, са варирањем од минималних 45,45 % до максималних 52,76 %.

Старост грла (F – тест) није имала статистички значајан утицај ($p>0,05$) на индекс дужине ногу, што је приказано у табели 40 и прилогу 30.

Овај индекс пружа информације о пропорцији тела и може указати на поремећаје у порасту током различитих фаза развоја. Вредности овог индекса мењају се са старошћу животиње, односно веће вредности имају млађа грла, док старија имају ниже вредности. Ово потврђују подаци у табели 40, где су вредности, за истраживану популацију, за прву, другу и трећу старосну групу износиле 49,31 %, 48,69 % и 46,81 %. Код млађих животиња веће вредности индекса су очекиване, јер се грудни кош развија спорије у односу на ноге. Код одраслих животиња високе вредности овог индекса су непожељне и указују на застој у постембрионалном развоју. Са друге стране, кратконожност указује да су се поремећаји десили током интраутериног периода (Петровић и сар., 2012).

Индекс кошчатости код женских животиња кретао се у интервалу од минималних 14,17 % до максималних 19,84 %, док је просечна вредност била 16,50 %. Код мушких животиња овај индекс кретао се у интервалу од минималних 16,13 % до максималних 18,90 %, а просечна вредност износила је 17,62 %.

Анализом варијансе утврђено је да старост женки бивола није имала статистички значајан утицај ($p>0,05$) на индекс кошчатости, што се може видети преко F вредности у табели 40 и прилогу 31.

Индекс кошчатости представља развијеност костура и даје информације о типу конституције. Код животиња грубе и снажне конституције, вредности овог индекса су више у односу на животиње fine конституције.

Индекс кошчатости може бити од помоћи при процени телесне кондиције и прилагођености животиња специфичним условима гајења или производним циљевима. Приликом селекције, овај индекс може бити користан за идентификацију животиња са пожељним типом конституције у складу са жељеним смером производње.

Утврђене вредности телесних мера могу бити коришћене као референтни параметри за стандардизацију расе домаћег бивола у Србији и послужити за идентификацију типичних представника расе, као и за дефинисање минималних и максималних граничних вредности. Такође, могу дати допринос бољем праћењу генетичког напретка у оквиру одгајивачких програма. На тај начин, могу бити од користи за побољшање економских параметара производње, јер су телесне мере често у корелацији са продуктивним особинама, као што је млечност.

Индекси представљају корисне алате за селекцију и процену потенцијала производње код животиња. На основу већег броја телесних индекса могу се добити важне информације о конституцији животиње и прилагођености одређеном смеру производње. Одређене пропорције тела израчунате кроз индексе могу указати на евентуалне застоје у развоју или на степен функционалности и прилагођености телесне грађе одређеном смеру производње.

Ови параметри омогућавају поређење између различитих популација и раса, што је од изузетног значаја за разумевање генетичке и фенотипске варијабилности.

4.2. Особине плодности домаћег бивола

За узорак популације обухваћен овим истраживањем анализирале су следеће репродуктивне особине: узраст при првом тељењу, трајање сервис периода и трајање међутелидбеног интервала.

Табела 41. Параметри дескриптивне статистике репродуктивних особина за популацију домаћег бивола обухваћену овим истраживањем

Особина	N	Просек	Минимум	Максимум	Ст.дев.
Узраст при првом тељењу, месеци	46	36,00	32,00	41,00	2,977
Сервис период, дана	69	97,71	54,00	147,00	25,875
Бременитост, дана	69	319,28	314,00	321,00	2,169
Међутелидбени интервал, дана	71	416,35	375,00	468,00	26,449

Просечне вредности за параметар узраст при првом тељењу кретале су се у интервалу од минималних 32,00 месеца до максималних 41,00 месец, а просек је био 36,00 месеци.

Анализа варијансе показала је да сезона рођења плоткиње није имала статистички значајан утицај ($p > 0,05$) на узраст при првом тељењу домаћих биволица, које су биле укључене у ово истраживање. Ово се може видети у табели 42 и прилогу 32.

Табела 42. Утицај сезоне рођења плоткиње на узраст при првом тељењу домаћих биволица

Сезона рођења плоткиње	Узраст при првом тељењу у месецима (просек)	Узраст при првом тељењу у месецима (стандардна грешка)	N
Пролеће	35,89	1,026	9
Лето	36,08	0,888	12
Јесен	36,24	0,746	17
Зима	35,88	1,088	8
F	0,037 ^{НЗ}		

*** ($p < 0,001$), ** ($p < 0,01$), * ($p < 0,05$), н.з. ($p > 0,05$)

Penchev et al. (2014) у својим истраживањима наглашавају да сезона рођења плоткиње може имати утицај на узраст при првом тељењу код биволица, при чему плоткиње рођене у лето и јесен показују млађи узраст, док плоткиње рођене током зимске сезоне могу бити старијег узраста при првом тељењу. Kour et al. (2020) у свом раду забележили су да је сезона тељења имала статистички значајан утицај ($p < 0,05$) на узраст при првом тељењу.

Утврђене вредности овог параметра код популације обухваћене истраживањем, у односу на вредности које наводе Borghese (2005), Cassiano et al. (2003), Bedoya et al. (2001) и Borghese (2013) код биволица у Румунији, Бугарској, Египту, Сирији, Турској, Ираку, Ирану, Азербејџану, Грчкој, Бразилу, Колумбији, Румунији и Немачкој кретале су се у истим границама. Bertoni et al. (2021) препоручили су да оптималан узраст биволица при првом тељењу треба да износи $37,69 \pm 1,96$ месеци, што је у складу са резултатима истраживане популације.

Међутим, постоје одступања од вредности добијених у овом раду у односу на вредности које наводе Borghese (2005) за популацију биволица у Италији, где је време првог партуса било у периоду од 28 до 32 месеца. Такође, за популацију биволица у Италији Gómez-Carpio et al. (2023) наводе да је најранији узраст при првом партусу био 705 дана, што је преведено у месецима 23,5. За популацију бивола у Грчкој, Borghese (2013) наводи да је

горња граница првог партуса била 48 месеци. Вредности овог параметра код мура и нили рави расе у просеку су износиле 44 и 42,4 месеца (Kour et al., 2020; Dhandapani et al., 2020).

Овде треба напоменути да је узраст при првом тељењу свакако условљен узрастом при првој оплодњи. Раније укључивање у приплод првенствено смањује укупан трошак храњења и држања до прве оплодње. Такође, омогућава да животиња током животног века има више репродуктивних циклуса, чиме се повећава укупан број потомака. Са друге стране, прерано укључивање јуница у репродукцију може довести до заостајања у расту, компликација при порођају, повреда репродуктивног тракта и продуженог сервис периода. Прерано укључивање у репродукцију може оптеретити незрео организам и повећати ризик од појаве метаболичких поремећаја, смањити производњу млека (нарочито у првој лактацији) и довести до краћег продуктивног века због већих здравствених проблема, а све то утиче на појаву економских губитака у производњи. Зато правилно одређивање времена прве оплодње може умногоме да утиче на оптималну производњу.

Borghese (2005) наводи да у оптималним условима исхране и неге, код речних биволица, пубертет наступа при узрасту од 15 до 18 месеци, а да његово кашњење последично одлаже зачеће и резултира ниском репродуктивном ефикасношћу.

Слаба исхрана у препубертетском периоду, посебно дефицит протеина, витамина и минерала, има за последицу слабо лучење хормона хипофизе, што доводи до заостајања у расту полних органа и појаву закаснелог пубертета. Такође, инсуфицијентна исхрана утиче на слабо лучење хормона потребних за сазревање фоликула, што је још један разлог зашто може доћи до закаснелог пубертета, а самим тим и одлагања времена првог припуста и првог тељења.

У Венецуели, Mantilla et al. (2023) спровели су истраживање у коме су животиње биле подељене у две групе, од којих је једна гајена на традиционалан и екстензиван начин, док је друга група гајена у интензивном систему са побољшаном исхраном. Ови аутори утврдили су значајну разлику у термину првог припуста, јер су животиње гајене на традиционалан начин први пут оплођене са 36 месеци старости, а оне гајене у интензивном систему са 24 месеца старости.

Експериментална истраживања показала су да су јунице бивола, старости од девет месеци, храњене високоенергетским оброцима имале прираст од 678 грама/дан и појаву пубертета у узрасту од 20,5 месеци, док су оне чија је храна била нискоенергетска имале дневни прираст од 530 грама и касније ушле у пубертет, тј. са 23-24 месеца. Међутим, није примећено кашњење у узрасту при појави пубертета код биволица које су гајене на пашњаку, под условом да просечан дневни прираст није био испод 600 грама/дан (Borghese et al., 1997).

Неопходно је напоменути да су Araujo Neto et al. (2020) идентификовали одређене гене кандидате (*ROCK2* и *PMVK*) за особину узраст при првом тељењу.

У сваком случају, треба избегавати екстреме код ове особине, а начином гајења ускладити појаву физиолошке и одгајивачке полне зрелости. Ово би омогућило правовремено укључивање животиња у репродукцију (прва оплодња) и оптимално време првог тељења.

Просечан сервис период код популације обухваћене овим истраживањем био је 97,71 дан, а кретао се у интервалу од минималних 54,00 до 147,00 дана.

Применом *F* теста (прилог 33), утврђено је да сезона тељења плоткиње није имала статистички значајан утицај ($p > 0,05$) на трајање сервис периода, што се може видети у табели 43.

Вредности овог параметра били су у складу са подацима за популацију биволица у Италији (Rouchoudhury, 1970), Турској (İlarslan et al. (1983) и Şekerdin et al. (2000), а цитира Soysal, 2013), Колумбији (Bedoya et al., 2001) и уопштено Латинамеричком подручју (Bertoni et al., 2021). Међутим, код популације бивола у Бразилу (медитерански биво – баио тип), сервис период трајао је у интервалу од минималних 86 до максималних 190 дана (Cassiano et al., 2003), што превазилази горњу границу у односу на популацију обухваћену овим

истраживањем. Са друге стране Јовановић (1975), у свом истраживању наводи да се биволице на Косову и Метохији припуштају 1 до 3 месеца након партуса, што је испод доње границе за сервис период код популације обухваћене овим истраживањем. Мада, ово може бити логично ако се дозвољава парење биволица одмах при првом еструсу након партуса, јер Yilmaz et al. (2012) у свом истраживању износе да се код биволица у Турској први еструс након партуса јавља са око 40 дана.

Табела 43. Утицај сезоне тељења плоткиње на трајање сервис периода и међутелидбеног интервала

Особина	Сезона	N	Просек	Ст. гр.	F
Сервис период, дана	Пролеће	13	92,00	7,1252	1,3279 ^{НЗ}
	Лето	16	89,75	6,4225	
	Јесен	13	105,77	7,1252	
	Зима	27	101,30	4,9441	
Међутелидбени интервал, дана	Пролеће	13	411,54	7,2375	1,64 ^{НЗ}
	Лето	17	406,88	6,329	
	Јесен	13	425,77	7,2375	
	Зима	28	419,96	4,9315	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Код популације биволица у Бразилу, Snel-Oliveira et al. (2010) наводе да се први еструс након првог тељења у просеку јављао $37,40 \pm 9,91$ дан, а код старијих биволица (више пута отељених) $42,78 \pm 7,98$ дана. Током 3 године истраживања, Baruselli et al. (1996) су утврдили да се први еструс испољавао у просеку 57,1 дан, затим 59,01 и 73,1 дан након партуса.

Safari et al. (2018), цитирањем већег броја аутора (Baruselli et al., 2000; Campo et al., 2002; Madad et al., 2013), наводе да на активацију јајника после порођаја, тј. обнављање полног циклуса и на концепцију, може утицати већи број фактора, међу којима су најистакнутији: раса, исхрана, производња млека, учесталост дојења, инволуција материце и сезона тељења.

За мура расу, Kour et al. (2020) наводе да је први сервис период у просеку трајао $187,61 \pm 4,61$ дан, а код нили рави расе Dhandapani et al. (2020) наводе да је сервис период трајао у просеку $163,52 \pm 7,33$ дана.

El-Wishy (2007), цитирајући већи број аутора, описао је утицај производње млека на трајање сервис периода, односно појаву првог еструса након партуса. Биволице које имају вишу производњу млека имају дуже трајање сервис периода. Исти аутор наводи да дојење значајно утиче на трајање постпарталног анеструса, односно да је овај ефекат повезан са учесталим ослобађањем окситоцина током дојења, што може деловати као додатни стимулус за индукцију PGF2 α и скраћење лутеалне фазе. Свакако, неопходно је нагласити да је утицај дојења варијабилан и зависи од других фактора као што су исхрана, кондиција и сезонске варијације, као и да су потребна додатна истраживања како би се ова хипотеза потврдила у пракси.

Phogat et al. (2016) цитирају Singh and Nanda (1993) који у својим истраживањима наводе да поновно покретање еструсног циклуса након тељења зависи од сезоне тељења биволица. Singh et al. (2000) наводе у свом раду да код неоплођених животиња летњи период доводи или до појаве тихог еструса или до анеструса. Такође, напомињу да је важно истражити и идентификовати факторе који су одговорни за ове појаве, како би се решили ови проблеми.

Рана ембрионална угинућа могу имати утицај на продужење сервис периода код биволица. Ова угинућа јављају се у периоду од 15. до 24. дана и чине 20 % од свих ембрионалних угинућа осемењених биволица у Италији (Vecchio et al., 2018). Ове ауторе цитирали су Campranile et al. (2010) и наводе да се највећи проценат (око 40 %) смртности

ембриона јавља у периоду између 25. и 45. дана бременитости, а да се фетални морталитет, који се јавља између 45. и 90. дана јавља у најмањем проценту (око 10 %).

Naqvi and Shami (1999) и Dhandapani et al. (2020) у својим истраживањима наводе да сезона тељења није имала статистички значајан утицај ($p>0,05$) на трајање сервис периода. Међутим, Ali et al. (2011) наводе да је сезона тељења имала статистички значајан утицај ($p<0,05$) на трајање сервис периода. Такође, Kour et al. (2020) у свом раду забележили су да је сезона тељења имала статистички високо значајан утицај ($p<0,01$) на трајање сервис периода. Овде треба напоменути да су у наведеним истраживањима сезоне најчешће подељене на три дела, односно прва лето, друга кишна сезона и трећа зима (Dhandapani et al., 2020), што говори о другачијим климатским условима подручја где се гаје биволи у односу на подручје Пештера. Milan et al. (2018) у својим истраживањима наводе да је сервис период код мура расе просечно трајао $110,68 \pm 3,27$ дана, при чему је најдужи сервис период ($165,59 \pm 9,67$ дана) забележен у зимској сезони, а најкраћи у кишној сезони ($98,43 \pm 4,62$ дана).

Праћењем утицаја тељења по реду плоткиње на трајање сервис периода, F тест је показао да редослед тељења није имао статистички значајан утицај ($p>0,05$) на овај параметар, што се може видети у табели 44 и прилогу 34.

El-Wishy (2007) цитира El-Fouly et al. (1976) и Borghese et al. (1993) који пишу о томе да утицај редоследа тељења није имао статистички значајан утицај ($p>0,05$) на појаву прве постпарталне овулације. Dhandapani et al. (2020) забележили су најдужи сервис период након првог тељења, док су сервис периоди након трећег и наредних тељења били краћи. Такође, ови аутори наводе да је утицај тељења по реду плоткиње на трајање сервис периода био статистички значајан ($p<0,05$). Ali et al. (2011) у својим истраживањима наводе да је тељење по реду плоткиње имало статистички високо значајан утицај ($p<0,01$) на трајање сервис периода.

Резултати до којих су у свом раду дошли Khan et al. (2012) указују на то да су плоткиње које су отелиле мушку телад имале дужи сервис период. Такође, исти аутори наводе да је била учесталија помоћ приликом тељења код плоткиња које су имале мушко потомство, што је логично јер су мушка телад углавном крупнија од женских. Ово се може објаснити и чињеницом да при пружању помоћи током партуса може доћи до грешака услед нестручне помоћи (повреда, контаминације репродуктивног тракта), а као последица јављају се проблеми који могу утицати на параметре репродукције, при чему је први показатељ тога управо продужетак сервис периода.

Otava et al. (2021) наводе да је за ефикасност плодности неопходно да биволице имају успешну оплодњу до 90. дана након партуса, а просечне вредности популације обухваћене истраживањем показују да биволице са Пештера не одступају превише од ових вредности и може се сматрати да имају оптимално трајање сервис периода.

Табела 44. Утицај тељења по реду плоткиње на трајање сервис периода и међутелидбеног интервала

Особина	Тељење по реду	N	Просек	Ст. гр.	F
Сервис период, дана	1	25	95,36	5,2527	0,335 ^{нз}
	2	15	102,93	6,7812	
	3	9	100,22	8,7545	
	4. и наредна	20	95,60	5,8727	
Међутелидбени интервал, дана	1	16	421,81	6,8083	0,638 ^{нз}
	2	9	418,22	9,0778	
	3	8	405,62	9,6284	
	4. и наредна	13	417,15	7,5532	

*** ($p<0,001$), **($p<0,01$), *($p<0,05$), н.з. ($p>0,05$)

Међутелидбени интервал зависи од сервис периода и трајања бременитости. Трајање бременитости је биолошка константа, тј. најмање варира. Код популације обухваћене овим истраживањем просечно трајање бременитости било је 319,28 дана, са варирањем од минималних 314,00 до максималних 321,00 дан, што је у складу са литературним подацима. Према већем броју аутора (Bonadona, 1959); Cockrill, 1974; Јовановић, 1975); Soysal, 2013; Roustemis et al., 2016) креће се у интервалу од минималних 287,00 до 337,00 дана.

Главни разлози значајног продужетка међутелидбеног интервала су проблеми који се јављају у пuerперијуму. Они доводе до продужетка сервис периода, а самим тим и међутелидбеног интервала.

Код популације обухваћене овим истраживањем, међутелидбени интервал кретао се у интервалу од 375,00 до 468,00 дана, а у просеку је износио 416,35 дана.

Применом анализе варијансе утврђено је да утицај сезоне тељења плоткиње није имао статистички значај на трајање међутелидбеног интервала ($p>0,05$), што се може видети у табели 43, као и прилогу 35.

Ово је у складу са резултатима Dhandapani et al. (2020) који у својим истраживањима наводе да сезона тељења није имала статистички значајан утицај ($p>0,05$) на међутелидбени интервал. Исти аутори цитирали су Hussain et al. (2006) и Ghaffar et al. (1991), који су такође известили о томе да сезона тељења није имала статистички значајан утицај ($p>0,05$) на ову особину.

Поређењем резултата за ову особину са резултатима које у својим истраживањима наводе Deshmukh and Roychoudhury (1971); Cassiano et al. (2003); Bedoya et al. (2001); Fathy et al. (2023); Şekerden et al. (2000) и İlarslan et al. (1983), а које цитира Soysal (2013), могу се видети слични резултати. Међутим, Borghese (2013), Gómez-Carpio et al. (2023), Sanker et al. (2014), Dhandapani et al. (2020) и Kour et al. (2020) приказују знатно више вредности ове особине. Више вредности су зато што су истраживања спроведена на другим расама бивола. Borghese (2013) наводи за популацију бивола у Румунији и Немачкој, а цитира Peeva (2000) за популацију бивола у Бугарској, где објашњење може бити у томе да одгајивачи свесно и плански не дозвољавају парење биволица у оптимално време након партуса, већ пролонгирају термин оплодње. Ово раде под претпоставком да ће у том случају имати вишу производњу млека у лактацији, али је свакако то погрешно, јер ће просечна дневна производња млека бити мања. На овакве примере гајења биволица наилазило се на терену и приликом спровођења овог истраживања.

El-Wishy (2007), цитирајући већи број аутора, описује утицај производње млека на трајање сервис периода, односно појаву првог еструса након партуса. Неке студије су показале да биволице које производе више од 8 килограма млека дневно, имају значајно дуже анестричне периоде након партуса у поређењу са биволицама које производе мање од 8 килограма млека дневно. Конкретно, биволице које производе више од 8 килограма млека имају периоде анестрије у просеку од 76 до 107 дана, док биволице које производе мање од 8 килограма млека имају краће периоде постпарталне анестрије, које у просеку трају од 56 до 77 дана, што се директно одражава на трајање међутелидбеног интервала.

Неопходно је напоменути да превише дуго трајање међутелидбеног интервала није пожељно, јер поред смањења животне плодности (мањи број телади током живота) утиче и на нижу производњу млека у лактацији. Parlato and Zicarelli (2016) наводе да су биволице у Италији, чији је међутелидбени интервал трајао дуже од 22 месеца (око 670 дана), имале нижу просечну производњу млека у тој лактацији. Из тог разлога, Bertoni et al. (2021) препоручују да је за оптималну производњу неопходно да се постигне међутелидбени интервал у трајању од $13,8 \pm 1,4$ месеца, што је могуће постићи при оптималном сервис периоду.

Иако су биволице полиестричне животиње, њихова репродуктивна ефикасност показује велике варијације током целе године. Сезона тељења такође утиче на активност јајника након партуса (Kumar et al., 2019). Клима, посебно фотопериод (путем лучења

мелатонина), игра кључну улогу у сезоналности еструса код биволица. Удео биволица које показују еструс током периода кратког дневног светла значајно је већи него током периода дугог дневног светла, што указује да смањење дневног светла јаче одређује поновно покретање оваријалне активности (Barile, 2005). Код медитеранске расе бивола, тељење се дешава углавном између јула и децембра, а интервал између тељења је дужи за порођаје између фебруара и јуна, што указује на смањење стопе зачећа током пролећно-летњих месеци (Barile, 2005). Да би задовољили потражњу млека, а поготову млечних производа (моцарела) на тржишту, италијански узгајивачи бивола су пре неколико деценија увели такозвано „парење ван сезоне парења“, односно успели су да модификују календар природног тељења тако да се парење/осемењавање животиња врши током целе године. Сходно томе, осетљивост биволица на фотопериод, заједно са другим амбијенталним факторима, игра важну улогу у правилном функционисању еструсног циклуса. Биволице које се теле у јесен показују краћи постпорођајни анеструс, него оне које се теле у пролеће и лето, јер њихов наставак активности јајника одговара почетку кратког дневног периода. Borghese et al. (1993), а цитира Barile (2005), указују да се рано обнављање активности јајника након партуса дешава углавном у октобру–новембру у опадајућем фотопериоду, што такође одговара највишој стопи плодности.

Није јасно у којој мери је утицај сезоне на парење генетичка карактеристика бивола или резултат фактора околине. Истраживања наглашавају да биометеоролошки фактори попут температуре, релативне влажности ваздуха и дужине дана значајно утичу на ендокрини систем бивола, што резултира променама у репродуктивној активности (Singh et al., 2000). Чак и у случају када постоји генетичка основа за сезонски еструс, контрола микроклиматских услова може бити кључна за оптимизацију репродуктивне ефикасности, што потврђује важност утицаја фактора околине на репродуктивно понашање бивола (Neglia et al., 2020). У неким крајевима због превелике суше и оскудности хране у летњем периоду може доћи до појаве репродуктивне сезоналности. Међутим, истраживања до сада нису била дизајнирана тако да утврде разлике утицаја ефекта фотопериода и утицаја других фактора околине.

Постоји неслагање у истраживањима када је у питању трајање анеструсног периода код биволица у различитим годишњим добима. Неки истраживачи нису нашли значајне сезонске разлике у трајању анеструсног периода након партуса, док су други забележили дуже анеструсне периоде за биволице које су рађале телад у топлијим у поређењу са онима у хладнијим сезонама.

Углавном, биволи преферирају парење током краћих дана, што обично одговара зимским месецима у већини регија. У екваторијалним зонама, где су дани подједнако дуги током целе године, биволице могу испољавати еструсне циклусе током целе године ако имају адекватну исхрану и одговарајуће амбијенталне услове (Campanile et al., 2010).

У свом истраживању Araujo Neto et al. (2020) идентификовали су одређене гене кандидате (*ADCY2* и *MAP2K6*) који могу бити одговорни за први међутелидбени интервал.

Када је реч о утицају тељења по реду плоткиње на трајање међутелидбеног интервала, F тест је показао да поменути фактор није имао статистички значајан утицај на трајање међутелидбеног интервала ($p > 0,05$), што се може видети у табели 44 и прилогу 36.

Sanker et al. (2014) утврдили су да редослед тељења утиче на трајање међутелидбеног интервала. Исти аутори наводе да је први међутелидбени интервал имао најдуже трајање, док су други и трећи били краћи, што је у складу са резултатима за популацију обухваћену овим истраживањем. Dhandapani et al. (2020) у свом раду наводе да је редослед тељења имао статистички значајан утицај ($p < 0,05$) на трајање међутелидбеног интервала.

Адекватна исхрана пре и после тељења, ограничавање дојења телади и смањење топлотног стреса могу послужити као методе за решавање дуготрајног периода анестричне фазе након партуса. Такође, присуство мужјака у стаду може имати стимулативни ефекат на

појаву еструса и овулација. На овај начин могуће је оптимизовати анализиране репродуктивне параметре.

4.3. Молекуларно генетичка анализа испитиваних јединки

Генетичка анализа *CSN1S1* 472G>C, *CSN3* 467C>T, *DGAT1* 9046T>C и *SCD* 133A>C показала је да су ове варијанте у Харди-Вајнберговој равнотежи код испитиване популације бивола на подручју Пештера. Дистрибуција генотипова и учесталост алела приказане су у табели 45.

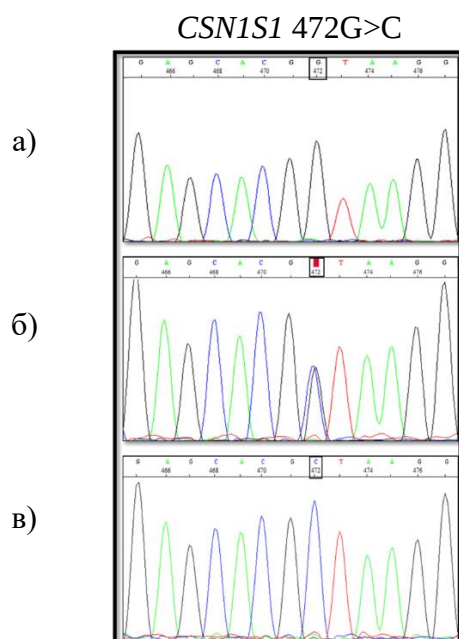
Табела 45. Дистрибуција генотипова и учесталост алела *CSN1S1* 472G>C, *CSN3* 467C>T, *SCD* 133 A>C и *DGAT1* 9046 T>C у истраживаној популацији бивола

Ген	N	Генотипови	Учесталост генотипова		Учесталост ређег алела (MAF)
			n	%	
CSN1S1 472G>C	128	GG	74	57,81	0,23
		GC	48	37,50	
		CC	6	4,69	
		Алел C			
CSN3 467C>T	125	CC	43	34,40	0,41
		CT	62	49,60	
		TT	20	16,00	
		Алел T			
SCD 133A>C	125	AA	125	100,00	
		AC	0	0	
		CC	0	0	
DGAT1 9046T>C	126	TT	29	23,02	0,49
		TC	71	56,35	
		CC	26	20,63	
		Алел C			

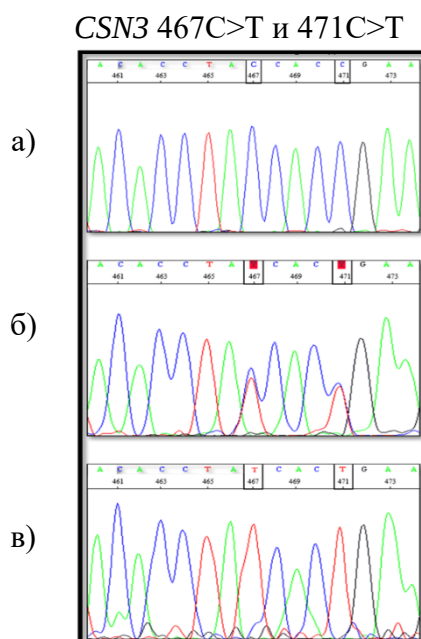
MAF (енг. Minor Allele Frequency) – учесталост ређег алела

Поред наведеног у табели 45, анализиране су варијанте *CSN3* 445G>A и *CSN3* 516A>C, али нису биле полиморфне у испитиваној популацији, што указује да су све јединке биле мономорфне за алел G *CSN3* 445G>A и алел A за *CSN3* 516A>C. Такође, варијанта *CSN3* 471C>T била је у потпуној неравнотежи везивања алела (енг. Linkage disequilibrium – LD) са *CSN3* 467C>T, што указује да се ове варијанте наслеђују заједно у испитиваној популацији.

Према Fan et al. (2019), учесталост ређих алела за *CSN3* генске варијанте: 445G>A, 467C>T, 471C>T и 516A>C у кинеској популацији речних бивола била је испод 0,1, што указује на генетичку разлику у односу на друге популације бивола, највероватније услед миграције и укрштања.



Слика 12. Хроматограм секвенцираног гена *CSN1S1* који приказује генотипове:
а) GG, б) GC, в) CC



Слика 13. Хроматограм секвенцираног гена *CSN3* који приказује генотипове који се налазе у потпуној неравнотежи везаности (LD): а) CC, б) CT, в) TT

Анализа варијанте *CSN1S1* 472G>C

Варијанта *CSN1S1* 472G>C је интронска варијанта која доводи до прескакања егзона 6, што резултира синтезу протеина коме недостаје осам аминокиселина. Ова варијанта је откривена код јединки укључених у ово истраживање (N=128) са учесталошћу ређег алела C од 0,23 (табела 45), док је у румунској популацији бивола (N=160) учесталост износила 0,18. Balteanu et al. (2013) наводе да у другим популацијама бивола, осим у Румунији, ова генска варијанта није детектована.

Међутим, Rullo et al. (2023) сматрају да се слична учесталост (0,2) јавља и код популације бивола у Венецуели, Бугарској, Пољској и Канади. Треба напоменути да је дугогодишња изолација популације италијанских бивола, без генетичке размене са животињама из других земаља, допринела утврђивању одсуства генске варијанте казеина који је иначе откривен код других раса широм света. Зато су Rullo et al. (2023) развили методу генотипизације за откривање присуства млека бивола из других региона у *Mozzarella di Bufala Campana (MDBC)* сиру, који је производ са заштићеним географским пореклом.

На узорку популације бивола на Пештеру, која је обухваћена овим истраживањем, уочена је повезаност између генске варијанте *CSN1S1* 472G>C и нивоа казеина и протеина у млеку. Наведена генска варијанта није имала статистички значајну повезаност са садржајем суве материје, садржајем суве материје без масти, масти и киселости °SH у млеку биволица.

Утврђено је да ређи (енг. MAF) алел C (*CSN1S1* 472G>C) у доминантном моделу наслеђивања (GG насупрот GC+CC) значајно утиче на повећање нивоа протеина и казеина, што се може видети у табели 46.

У табели 46 представљен је утицај генске варијанте *CSN1S1* 472G>C на хемијски састав млека биволица обухваћен овим истраживањем.

Табела 46. Утицај генске варијанте *CSN1S1* 472G>C, према доминантном моделу наслеђивања, на хемијски састав млека домаћих биволица

Компонента млека	CSN1S1 472G>C					Тест	p
	GG		GC+CC				
	Просек	Ст. дев.	Просек	Ст. дев.			
СМ	19,45	1,126	20,00	1,428	MW	0,372126	
СМБМ	10,48	0,440	10,77	0,544	MW	0,121443	
Протеин	4,58	0,349	5,00	0,382	t	0,000792	
Казеин	3,46	0,212	3,81	0,289	t	0,000074	
Маст	8,97	0,954	9,21	1,140	t	0,45427	
°SH	8,89	1,230	8,72	0,766	MW	0,401434	

t – тест; MW – Mann-Whitney U тест

С обзиром да повезаност генске варијанте *CSN1S1* 472G>C са квалитетом млека није раније анализирана, ови резултати представљају први податак о утицају ове варијанте на састав млека.

Истраживање присуства генске варијанте *CSN1S1* 472G>C у суседним популацијама бивола могло би допринети дефинисању генетичког профила популације бивола који се гаје у Србији, прецизније на Пештеру, у односу на друге локалне популације.

Анализа варијанте *CSN3* 467C>T

У популацији бивола на Пештеру, која је обухваћена овим истраживањем, генске варијанте *CSN3* 445G>A и 516A>C нису биле полиморфне, док је *CSN3* 471C>T била у потпуној неравнотежи везивања алела (енг. Linkage disequilibrium – LD) са *CSN3* 467C>T.

У табели 47 приказан је утицај генске варијанте *CSN3* 467C>T на хемијски састав млека биволица обухваћен овим истраживањем.

Табела 47. Утицај генске варијанте *CSN3* 467C>T, према доминантном моделу наслеђивања, на хемијски састав млека домаћих биволица

Компонента млека	CSN3 467C>T					p
	CC		CT+TT		Тест	
	Просек	Ст. дев.	Просек	Ст. дев.		
СМ	19,41	0,906	19,81	1,446	t	0,332732
СМБМ	10,54	0,434	10,63	0,537	MW	0,529620
Протеин	4,67	0,385	4,79	0,435	t	0,389797
Казеин	3,49	0,315	3,66	0,274	t	0,080589
Маст	8,85	0,969	9,16	1,075	t	0,366308
°SH	8.48	1,199	9,04	0,938	t	0,110411

t – тест; MW – Mann-Whitney U тест;

Варијанта *CSN3* 467C>T је раније испитивана у различитим расама бивола, али углавном на мањим узорцима, без директне анализе њене повезаности са квалитетом млека (Bonfatti et al., 2012; Fan et al., 2019; Zicarelli et al., 2020; El Nahas et al., 2013; Medeiros et al., 2022).

Алел Т варијанте *CSN3* 467C>T раније је повезиван са вишим садржајем казеина, протеина и масти у крављем млеку (Heck et al., 2009). У овом истраживању, генска варијанта *CSN3* 467C>T имала је значајан ефекат на ниво казеина у млеку биволица, али у комбинацији са генском варијантом *CSN1S1* 472G>C, што је показано вишеструком регресионом анализом и хаплотипском анализом ове две варијанте.

Вишеструком регресионом анализом утврђено је (прилог 41) да *CSN1S1* 472G>C ($\beta=0,62$, $p=0,000013$) и *CSN3* 467C>T ($\beta=0,32$, $p=0,011890$) имају значајан ефекат на ниво казеина у млеку.

Хаплотипска анализа генских варијанти *CSN1S1* 472G>C и *CSN3* 467C>T

Хаплотип представља скуп алела који се често наслеђују заједно на истом хромозому. Хаплотипска анализа помаже да се не гледа ефекат сваке генске варијанте појединачно, већ да се њихова комбинација (хаплотип) анализира и провери како утиче на особине од интереса, у овом случају на квалитет млека. Ова анализа корисна је када појединачне генске варијанте не дају довољно јасне и прецизне резултате. У том случају њихове комбинације (хаплотипови) имају јачи ефекат на фенотип.

Анализиран је ефекат *CSN1S1* 472G>C и *CSN3* 467C>T хаплотипа на особине квалитета млека. Разлог за анализу повезаности *CSN1S1* и *CSN3* у облику хаплотипа био је то да су лоцирани на хромозому 7, али да нису у јакој неравнотежи везивања алела (енг. Linkage disequilibrium – LD).

Софтвер Thesias је поставио 1G3C као референтни хаплотип, јер је био најучесталији у испитиваној популацији бивола. Учесталости хаплотипа *CSN1S1* 472G>C и *CSN3* 467C>T и њихови ефекти на квалитет млека биволица приказани су у табели 48.

Табела 48. Учесталост хаплотипова варијанти *CSN1S1* 472G>C и *CSN3* 467C>T и њихов утицај на квалитет млека

Хаплотипови <i>CSN1S1</i> 472G>C и <i>CSN3</i> 467C>T	1G3C (референтни)	1G3T	1C3C
Учесталост	0,4	0,38	0,22
Просечан садржај суве материје, % [95 % CI]	19,22 (18,38-20,06)	19,94 (19,02-20,84)	20,34 (19,20-21,46)
р-вредност	-	0,33	0,09
Просечан садржај суве материје без масти, % [95 % CI]	10,38 (10,14-10,62)	10,78 (10,38-11,18)	10,88 (10,48-11,28)
р-вредност	-	0,08	0,6
Просечан садржај протеина, % [95 % CI]	4,52 (4,32-4,72)	4,84 (4,58-5,10)	5,14 (4,88-5,40)
р-вредност	-	0,08	0,0004
Просечан садржај казеина, % [95 % CI]	3,34 (3,18-3,50)	3,68 (3,48-3,88)	3,90 (3,72-4,06)
р-вредност	-	0,02	0,00002
Просечан садржај масти, % [95 % CI]	8,82 (8,20-9,44)	9,14 (8,38-9,92)	9,42 (8,44-10,42)
р-вредност	-	0,56	0,31
Просечна вредност °SH, % [95 % CI]	8,56 (8,08-9,02)	9,24 (8,54-9,96)	8,56 (7,00-10,12)
р-вредност	-	0,13	0,99

Интервал поверења – 95 % $p < 0,008$

Анализа хаплотипова *CSN1S1* 472G>C и *CSN3* 467C>T открила је да је у испитиваној популацији најучесталији хаплотип 1G3C (0,40), хаплотип који садржи оба чешћа алела, док хаплотип који садржи оба ређа алела, 1C3T, није присутан у испитиваној популацији.

Хаплотип 1G3T показао је значајан ефекат на садржај казеина у млеку у односу на референтни хаплотип 1G3C.

Анализа је показала да 1С3С хаплотип има значајан ефекат на повећање нивоа казеина и протеина у млеку биволица испитиване популације у односу на референтни хаплотип 1G3С, што указује на његов потенцијални значај у селекцији (табела 48).

Анализа варијанте *SCD 133A>C*

Код јединки обухваћених овим истраживањем, показало се да је ген *SCD 133A>C* мономорфан за алел А (табела 45).

Raiciullo et al. (2012) у својој студији на гену *SCD 133A>C* код медитеранских бивола открили су важне генске варијације повезане са особинама производње млека. Они наводе да је овај ген кључан за синтезу млечне масти, али и повезаност различитих *SCD* генотипова са саставом млека, укључујући садржај масти и протеина.

У истраживању које су спровели Gu et al. (2019), проучавана је варијанта 133A>C у промотору гена *SCD* код речних бивола, а резултати су показали да ова генска варијанта утиче на експресију гена и састав масних киселина у млеку.

С обзиром да је *SCD 133A>C* код истраживане популације бивола на Пештеру мономорфан, овај резултат може послужити за будуће анализе, као што су потврде аутентичности производа са одређеног географског подручја или за проверу да ли је дошло до уплива гена друге популације.

Анализа варијанте *DGAT1 9046T>C*

Генска варијанта *DGAT1 9046T>C* није имала статистички значајан утицај на садржај конституената млека биволица обухваћених овим истраживањем, што се може видети у табели 49.

Табела 49. Утицај генске варијанте *DGAT1 9046T>C* на хемијски састав млека домаћих биволица

Компонента млека	DGAT1 9046T>C					Тест	p
	ТТ		TC+CC				
	Просек	Ст. дев.	Просек	Ст. дев.			
СМ	19,25	1,049	19,73	1,289	t	0,360592	
СМБМ	10,36	0,406	10,63	0,502	MW	0,15147	
Протеин	4,49	0,291	4,78	0,418	t	0,087166	
Казеин	3,41	0,243	3,62	0,293	t	0,081398	
Маст	8,87	1,126	9,09	1,008	t	0,600588	
°SH	8,89	1,091	8,82	1,089	t	0,869530	

t – тест; MW – Mann-Whitney U тест

Ови резултати нису у складу са Li et al. (2018), који у свом истраживању наводе да су генске варијанте *DGAT1 9046T>C* значајно утицале на садржај масти у млеку, а да су биволице са ТТ генотипом имале значајно већи проценат масти од оних са CC генотипом.

Yuan et al. (2007) и De Freitas et al. (2016) пишу о томе да генске варијанте *DGAT1* гена могу утицати на синтезу, односно на садржај масти и протеина у млеку.

Међутим, истраживање које су спровели Bovenhuis et al. (2015) показало је да ефекти *DGAT1* гена могу варирати у зависности од фазе лактације, али да то треба потврдити.

Наведене анализе могу помоћи у откривању генских комбинација са највећим ефектом на квалитет млека. Такође, могу помоћи у селекцији животиња, ка унапређењу производње млека.

Генске варијанте у различитим географским регионима могу се искористити за потврду аутентичности производа са заштићеним географским пореклом. Ови тестови често се заснивају управо на анализи гена главних млечних протеина.

Представљени резултати доприносе карактеризацији генетичке структуре популације бивола у Србији, што до сада није рађено, и представљају потенцијално користан допринос ка унапређењу производње млека и очувању ове аутохтоне популације.

4.4. Квалитет млека биволица

За узорак популације, обухваћен овим истраживањем, у табели 50 представљени су параметри дескриптивне статистике хемијског састава, киселости °SH и pH вредности млека биволица.

Табела 50. Параметри дескриптивне статистике хемијског састава, киселости °SH, pH вредности млека биволица и корелације параметара млека са казеином

Параметар квалитета млека	Н (биволица)	Н (узорака)	Просек	Минимум	Максимум	Стд. дев.	Spearman R	Р
СМ, %	42	122	19,65	16,62	23,89	1,254	0,47	0,0017
СМБМ, %	42	122	10,58	8,89	12,18	0,493	0,61	0,00002
Протеин, %	42	122	4,73	3,52	5,52	0,411	0,93	<0,00001
Казеин, %	41	121	3,58	3,03	4,31	0,293	-	-
Маст, %	42	122	9,05	7,33	11,67	1,018	0,226	0,153
Киселост, °SH	41	121	8,83	6,47	10,27	1,076	0,316	0,04
pH	41	121	6,66	6,51	6,80	0,0801	-0,038	0,8167

СМ – сува материја у млеку; СМБМ – сува материја у млеку без млечне масти

Хемијски састав анализиран је у 122 узорка млека добијеним од 42 биволице у три понављања, у једнаким временским интервалима. Код два грла узети су само појединачни узорци (није било три понављања), при чему један од та два узорка није садржао податке о титрационој киселости (°SH) и садржају казеина.

У табели 50 приказан је просечан садржај суве материје у млеку биволица који је износио 19,65 %, а минималне и максималне вредности биле су 16,62 % и 23,89 %.

Према литературним подацима (Pandya and Khan, 2006; Braun and Preuss, 2008) за подручје Европе, најнижи садржај суве материје је установљен у млеку биволица у Мађарској – 16,2 %, док је млеко биволица у Немачкој имало највећи садржај суве материје – 21,3 % (17,2 – 21,3 %). На глобалном нивоу једна од највиших забележених вредности садржаја суве материје је забележена у млеку биволица које се гаје у Кини и износила је 23,2 % (Pandya and Khan, 2006).

Сезонске разлике у исхрани и климатски услови могу утицати на садржај суве материје млека. Ово потврђују резултати студије коју су спровели Vargas-Ramella et al. (2021), где наводе да на садржај суве материје у млеку биволица утиче комбинација еколошких, нутритивних и генетичких фактора.

Варијације у садржају суве материје углавном зависе од концентрације појединачних конституената млека, првенствено масти. То је разлог зашто је уведен термин сува материја без млечне масти (СМБМ), који даје тачнију слику нутритивне вредности млека, јер је мање

подложен варијацијама. Поред утврђивања укупне суве материје и хемијског састава млека, СМБМ представља важан параметар који се подједнако прати у контроли квалитета млека.

Вредности овог параметра млека у популацији обухваћеној овим истраживањем кретале су се од минималних 8,89 % до максималних 12,18 %, док је просек износио 10,58 %.

Ове вредности су у складу са просечним вредностима које у својим радовима наводе други истраживачи (Pandya and Khan, 2006; Liotta et al., 2015). Међу најнижим вредностима овог параметра је $8,3 \pm 0,3$ % коју су забележили Meena et al. (2007), а које су цитирали El-Salam and El-Shibiny (2011). Једна од највиших вредности за садржај суве материје без масти је 11,14 % коју су у свом раду навели Aurelia et al. (2009).

Pandya and Khan (2006) наводе разлике у садржају појединих компонената састава млека у зависности од периода лактације. Аутори наводе да је садржај суве материје у млеку биволица у првом месецу лактације просечно износио 13,2 %, док је у 9. био 18,8%. Када је реч о СМБМ, њихови резултати показују да је у првом месецу лактације просечна вредност била 7,2 %, док је у 9. месецу порасла на 9,2 %. Ови подаци потврђују чињеницу да је млечна маст најваријабилнија компонента састава млека (Aurelia et al., 2009), што додатно наглашава значај параметра СМБМ у индустрији млека.

Просечан садржај протеина у млеку биволица обухваћеним овим истраживањем износио је 4,73 %. Минимална вредност била је 3,52 %, а максимална 5,52 %. Утврђене вредности биле су у сагласности са вредностима које у својим радовима представљају Pandya and Khan (2006) и El-Salam and El-Shibiny (2011). Анализом млека бивола у Италији, са четири различите фарме, Varricchio et al. (2007) наводе да је просечан садржај протеина износио 4,7 %. Braun and Preuss (2008) представљају податак да у млеку биволица, које се гаје у Немачкој, садржај протеина иде до 4,9 %. Садржај протеина у млеку највише зависи од генотипа – расе, а у мањој мери од услова гајења. Такође, већи број аутора наводи да различите генске варијанте протеина млека могу утицати на својства коагулације при преради млека. Значајне промене садржаја протеина у млеку током лактације, као и неповољан однос са садржајем млечне масти, могу указивати на одређене неправилности у гајењу или на здравствене проблеме.

Протеини млека представљају један од најбољих извора биолошки вредних протеина (Schaafsma, 2000; Boye, 2012; Pereira, 2014). Они су од суштинске важности не само због обезбеђивања есенцијалних аминокиселина и синтезе неесенцијалних аминокиселина (Goulding et al., 2020), већ и због њихове кључне улоге у преради млека у високовредне нутритивне производе.

Када је реч о протеинима, у табели 50 представљене су утврђене вредности садржаја казеина у млеку за узорак популације обухваћен овим истраживањем. Просечан садржај казеина био је 3,58 %, а кретао се од минималних 3,03 % до максималних 4,31 %. Просечне вредности биле су у складу са вредностима које су приказали El-Salam and El-Shibiny (2011) цитирајући већи број аутора, као и вредности које наводе Claeys et al. (2014) и Liotta et al. (2015). Vargas-Ramella et al. (2021) у свом раду наводе да се садржај казеина у млеку биволица кретао у интервалу од 3,07 % до 3,20 %.

Различите фракције казеина имају кључну улогу у производњи сира. Разлике у њиховој примарној структури, како између врста преживара, тако и међу расама, од интереса су за индустрију млека, јер утичу на технолошка својства млека током прераде.

Bonfati et al. (2008), а које цитирају Garau et al. (2021), наводе у својим истраживањима да су утврдили постојање полиморфизма протеина млека медитеранског воденог бивола и да су успешно откривене генске варијанте α_{S1} и κ - казеина.

У досадашњим истраживањима популације бивола у Србији нису спроведене анализе генских варијанти протеина млека, тако да ово истраживање представља прву студију која се бави овом темом. У табели 51 приказано је учешће протеинских фракција у сировом млеку

биволица у зависности од генотипа животиње према α_{S1} казеину (генска варијанта *CSN1S1* 472G>C) за узорак популације обухваћен овим истраживањем.

Просечан садржај млечне масти у млеку биволица обухваћеним овим истраживањем био је 9,05 %, док је минималан садржај износио 7,33 %, а максималан 11,67 %, што је представљено у табели 50.

Увидом у већи број радова различитих аутора за различите популације бивола (Pandya and Khan, 2006; El-Salam and El-Shibiny, 2011; Garau et al., 2021; Varricchio et al., 2007), може се констатовати да је садржај млечне масти утврђен током овог истраживања у складу са цитираним ауторима. Најниже и највише забележене вредности наведене су у раду Pandya and Khan (2006) за популацију бивола у Египту (6,4 %) и Кини (12,6 %).

Садржај млечне масти у млеку медитеранског бивола кретао се у интервалу од 6,6 % у Бразилу до 9,6 % у Немачкој (El-Salam and El-Shibiny, 2011).

Просечан садржај масти у млеку италијанског медитеранског бивола износио је 8,5%, а у посебно повољним условима може достићи и знатно више вредности, чак 15% (Varricchio et al., 2007; Garau et al., 2021).

Садржај масти у млеку варира и зависи од више фактора, као што су раса, исхрана и период лактације. Pandya and Khan (2006) наводе разлике у садржају млечне масти у млеку биволица у зависности од периода лактације, односно да се у периоду од 1. до 9. месеца лактације садржај масти из месеца у месец повећавао (1. месец – 6,1 %; 9. месец – 9,6 %).

Liotta et al. (2015) су у свом истраживању навели разлику у садржају млечне масти у млеку биволица у зависности од начина гајења. Они су приказали да је млеко добијено од биволица у интензивном систему гајења имало $8,78 \pm 2,26$ % масти, док у оном добијеног од животиња гајених на полуекстензиван начин $9,37 \pm 4,20$ %. С обзиром да се популација обухваћена овим истраживањем гаји на полуекстензиван или екстензиван начин, ово може бити једно од објашњења зашто је просечан садржај масти у истраживаној популацији ове студије већи у односу на садржај масти млека популације бивола у Италији или другим земљама где се грла гаје у интензивном систему. Такође, ово се објашњава чињеницом да се у интензивном систему гајења повећава укупна произведена количина млека, која за последицу има смањење садржаја млечне масти у млеку.

Млечна маст представља једну од главних компоненти састава млека (Hao et al., 2021). Значајна је за формирање сензорних својстава производа, а посебно оних са већим садржајем масти, као што су кајмак, маслац и павлака. За производњу маслаца веома је битна величина масне глобуле и зато је млеко биволица, због већег пречника масне глобуле у односу на млеко крава, коза и оваца, погодније за припрему овог производа (Cockrill, 1974). Пречник масне глобуле може утицати на својства млечних производа и повећан рандман приликом прераде млека (Vargas-Ramella et al., 2021).

Неопходно је напоменути да генотип има значајан утицај на садржај и састав масти у млеку. С обзиром да се особине производње млека полигено наслеђују, немогуће је приписати све ефекте једном гену, али прегледом већег броја радова може се рећи да гени из групе *DGAT*, *SCD* и многи други имају утицај на садржај и састав масти у млеку, односно утичу на нутритивни квалитет млека (Liu et al., 2020; Tumino et al., 2023).

Титрациона киселост млека, код истраживаног узорка популације, имала је просечну вредност 8,83 °SH, што се може видети у табели 50. У претходним истраживањима млека популације бивола у Србији, титрациона вредност у просеку је износила 9,07 °SH, а кретала се у интервалу од 5,08 °SH до 11,54 °SH (Степић, 2018). Manuelian et al. (2017) наводе да је просечна вредност овог параметра млека добијеног од популације бивола у Италији износила $7,15 \pm 1,23$ °SH.

Титрациона киселост по Soxhlet-Henkel-у представља важан показатељ свежине и квалитета млека. Повећање киселости може бити један од индикатора контаминације

микроорганизмима која доводи до ферментације, што је знак кварења. Начин muže може утицати на титрациону киселост. Веће вредности могу се јавити приликом ручне muže услед веће могућности контаминације млека, али пре свега овај параметар зависи од хигијене muže. Генотип, начин исхране и фаза лактације могу утицати на овај параметар. Такође, годишње доба може значајно утицати на титрациону киселост. У летњем периоду, ако се након muže не примени адекватан поступак складиштења сировог млека или ако дође до неправилног транспорта до млекарне, може доћи до раста и активности микроорганизама и повећања киселости. Праћење овог параметра омогућава бољу контролу квалитета сировог млека у индустрији млека, како при производњи на фармама, тако и у процесу прераде. У зависности од утврђене вредности °SH при пријему у млекарни, одлучује се о даљим поступцима са млеком – да ли ће бити коришћено као конзумно млеко или ће бити упућено на даљу прераду.

Титрациона киселост утиче на време коагулације и чврстоћу гела. Истраживање Liotta et al. (2015) показало је да млеко са вишим вредностима °SH има бољу способност коагулације, што доприноси краћем времену формирања гела и његовој већој чврстоћи. Ово је значајно код контролисане ферментације при преради млека, али више вредности при откупу млека нису пожељне.

Због тога је контрола титрационе киселости један од првих корака приликом испитивања квалитета млека на пријему.

Утврђена је и рН вредност млека, која је била у складу са вредностима које наводе Scirè Scarpuzzo (2013) и Manuelian et al. (2017), а која се кретала у интервалу 6,5 – 6,8 односно износила је $6,67 \pm 0,20$.

Овај параметар представља важан фактор у процесу коагулације млека. Radovanović et al. (2021) наводе да оптимизација рН вредности може убрзати сиришну коагулацију при преради млека биволица, посебно након термичке обраде, а са циљем добијања чвршћег и стабилнијег гела.

4.4.1. SDS-PAGE електрофореза

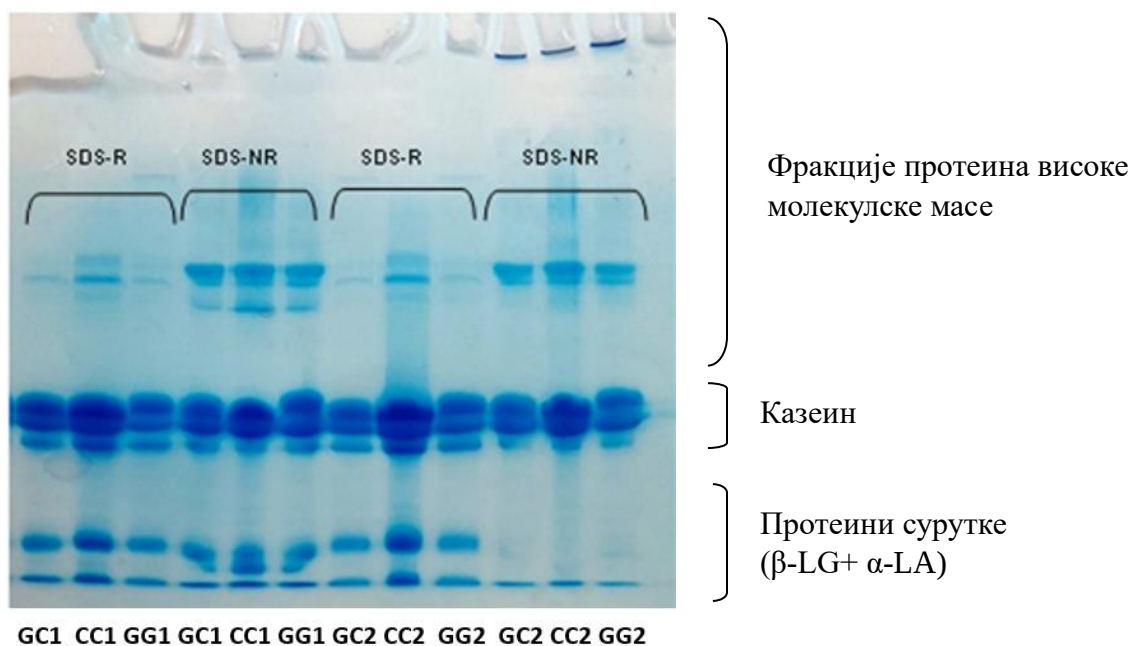
У табели 51. представљен је удео протеинских фракција у сировом млеку биволица обухваћених овим истраживањем.

Табела 51. Учешће протеинских фракција у сировом млеку биволица

Узорак <i>CSN1S1</i> 472G > C	Протеинске фракције, %			
	Фракције протеина са великом молекулском масом	Казеин	Протеини сурутке	
			β -Lg	α -La
GG1	2,63	74,13	15,03	8,21
GC1	1,12	75,15	15,59	8,14
CC1	4,75	72,43	14,03	8,79

*GG1, GC1 и CC1 сирово млеко биволица генотипа GG, GC и CC

Електрофоретограми сировог и термички третираног млека (90°C/10 min) приказани су на слици 14.



Слика 14. SDS електрофоретограми за свеже (GC1, CC1, GG1) и термички обрађено (GC2, CC2, GG2) бивоље млеко у редукованом (SAS-R) и нередукованом (SDS-NR) стању

Дензитометријском анализом у редукујућим условима SDS-R установљено је да узорци сировог млека сва три генотипа имају сличан удео укупног казеина, који износи око 72 – 75 % и фракције протеина сурутке (β -Lg + α -La) који чине око 23 – 24 % (табела 51), што је у складу са литературним подацима (Sindhu and Arora, 2011). Поред тога, фракције велике тежине, укључујући имуноглобулине IgM, IgA и IgG (El-Salam and El-Shibini, 2011), видљиве су у узорцима сировог млека који су најзаступљенији у CC генотипу (слика 14).

Дензитометријска анализа фракција казеина у узорцима сировог млека показала је да је удео укупног α s – казеина у укупним фракцијама казеина око 53,3 % (GG), 54,3 % (GC) и 52,5 % (CC). Истовремено, удео κ – казеина у укупном казеину износио је 19,6 %, 15,11 % и 16,5 % за GG, GC и CC генотип. Удео κ – казеина у укупном казеину установљен у овом истраживању је у одређеној мери већи у поређењу са литературним подацима (Cosenza et al., 2011), посебно за GG генотип.

Строги режим термичке обраде млека, који је испитиван (90°C/10 min), указује на изражене промене на протеинима. Овај третман је посебно интересантан јер се у производњи кајака примењује строги режим, па је значајно сагледавање промена протеина у преосталом млеку који се даље прерађује најчешће у сир.

Ове промене су денатурација протеина сурутке и формирање коагрегата протеина млека (Corredig and Dalgleish, 1999; Anema and McKenna, 1996; Anema and Li, 2003), што је доказано у различитим испитивањима формирања кајака (Radovanovic et al., 2020; Radovanovic et al., 2022).

На основу електрофоретограма (слика 14), сва три узорка (генотипа) термички обрађеног млека у SDS-нередукујућим условима имају сличан профил протеинских фракција. Као што се уочава, на електрофоретограмима добијеним у нередукујућим условима изостаје присуство β -Lg фракција, што указује на то да је ова фракција учествовала у формирању коагрегата протеина млека и да је у потпуности повезан дисулфидним везама у комплексима високе молекулске масе. Неки од коагрегата протеина млека су позиционирани на улазу у гел за слагање (слика 14).

Истовремено, α -La, такође учествује у овим комплексима, али није у потпуности учествовао у формирању коагрегата, па је остала одређена количина слободног α -La. Непотпуна агрегација α -La у свим узорцима је вероватно резултат недовољног трајања

термичког третмана млека неопходног за потпуну денатурацију α -La (Corredig and Dalgleish, 1996; Anema, 2001; Anema and Li, 2003). Поред тога, резултати дензитометријске анализе узорака у SDS-нередукујућим условима показали су да се упркос формирању коагрегата могло видети да је значајан број невезаних казеина остао у свим узорцима млека биволица.

4.4.2. Реолошка својства сиришне коагулације млека биволица

У табели 52 представљени су параметри дескриптивне статистике реолошких параметара који су утврђени током процеса сиришне коагулације сировог и термички третираног млека биволица обухваћених овим истраживањем.

Табела 52. Параметри дескриптивне статистике реолошких параметара за сирово (1) и термички третирано (2) млеко биволица

Параметар	Млеко	N	Просек	Минимум	Максимум	Стд. дев.
RCT, min	1	9	17,43	13,17	22,61	4,025
	2	9	13,60	11,95	16,00	1,396
ST, min	1	9	31,22	26,48	38,35	5,124
	2	9	36,72	31,22	41,85	3,931
G', Pa	1	9	170,67	139,35	212,65	32,204
	2	9	129,67	92,99	178,70	37,835
GF, Pa	1	9	192,47	158,85	235,92	32,857
	2	9	148,70	110,90	200,10	39,061
AR (Pa/s)	1	9	0,1113	0,0937	0,1275	0,01232
	2	9	0,0584	0,0405	0,0840	0,01960

1 – сирово млеко; 2 – термички третирано млеко

RCT (енг. rennet coagulation time) – Време почетка коагулације; ST (енг. setting time) – Време завршетка коагулације; G' – Модул еластичности; GF (енг. gel firmness) – Чврстина гела; AR (енг. aggregation rate) – Брзина агрегирања

Поређењем вредности из табеле 52 са резултатима других истраживача, може се видети да је време почетка коагулације RCT (енг. rennet coagulation time) у просеку било нешто ниже у односу на вредности које наводе Liotta et al. (2015) и Radovanovic et al. (2021), али да су биле више у односу на вредности које наводе Bonfatti et al. (2013). Треба напоменути да су се вредности овог параметра у раду Radovanovic et al. (2022) кретале у интервалу од 10 до 24 минута.

Radovanovic et al. (2021) наводе да је време завршетка коагулације ST (енг. setting time) био 43,77 минута, што представља више вредности у односу на ова истраживања.

За параметар модул еластичности G' Hussain et al. (2013) наводе 167 Pa, а Radovanovic et al. (2022) наводе интервал од 37 до 135 Pa.

Параметар чврстина гела GF (енг. gel firmness) сировог млека имао је више вредности у односу на оне које наводе Bonfatti et al. (2013), Hussain et al. (2013), Radovanovic et al. (2021) и Radovanovic et al. (2022).

Брзина агрегирања AR (енг. aggregation rate) у овом истраживању показала је више вредности у поређењу са резултатима које наводе Radovanovic et al. (2022).

Резултати реолошких мерења показали су да постоје статистички значајне разлике у испитиваним параметрима између CSN1S1 472G>C генотипова бивољег млека, анализираних у сировом и термички третираном млеку (табеле 53 и 54).

Табела 53. Утицај *CSN1S1* 472G>C генотипова на реолошке параметре при сиришној коагулацији сировог млека домаћих биволица

Параметар	Генотип <i>CSN1S1</i> 472G > C	N (понављања)	Просек	Стд. дев.	F
RCT, min	GG1	3	16,30	0,9500	172,536***
	GC1	3	13,50	0,4403	
	CC1	3	22,50	0,1050	
ST, min	GG1	3	28,00	0,4535	210,63***
	GC1	3	27,66	1,0708	
	CC1	3	38,00	0,2858	
G', Pa	GG1	3	212,00	0,6500	2940,7***
	GC1	3	160,00	1,8392	
	CC1	3	140,00	0,6500	
GF, Pa	GG1	3	233,80	2,1150	650,31***
	GC1	3	184,10	3,8744	
	CC1	3	159,50	0,5882	
AR (Pa/s)	GG1	3	0,1232	0,005485	40,840***
	GC1	3	0,0963	0,003235	
	CC1	3	0,1145	0,001000	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Просечно време почетка коагулације (RCT) било је 17,43 минута, а кретало се у интервалу од 13,17 до 22,61 минут.

Применом анализе варијансе утврђено је да постоји статистички врло високо значајна разлика (p<0,001) између генотипова *CSN1S1* 472 G>C за вредност параметра време почетка коагулације (RCT), што се може видети у табели 53 и прилогу 44.

Употребом LSD теста испитана је значајност разлика између генотипова *CSN1S1* 472G>C и утврђено је да постоји статистички врло високо значајна разлика (p<0,001) између GG1 и CC1, као и GC1 и CC1. Исти тест показао је да између GG1 и GC1 генотипа постоји статистички високо значајна разлика (p<0,01) за RCT. Ово је приказано у прилогу број 45.

Упоређивањем параметара сиришне коагулације сировог млека, установљено је да GG1 генотип има веома слично време почетка коагулације са генотипом GC1, иако GG1 има већи садржај κ – казеина, што побољшава коагулациона својства млека и може се сматрати фактором за убрзавање ензимске фазе сиришне коагулације (El Salam and El-Shibini, 2011). Ово је потврђено и високом вредношћу параметра брзина агрегирања AR (0,1232 Pa/s), што се види у табели 53. С друге стране, у поређењу са GC1 и GG1 генотиповима, CC1 генотип имао је нешто мање укупног α s-казеина и очекивао се RCT са нижим вредностима (Bonfatti et al., 2013), али је примећена виша вредност, тј. дуже време коагулације. Због преклапања пикова у електрофоретској анализи, није било могуће одвојено утврдити присуство α s₁-казеина и α s₂-казеина. Међутим, могуће је да је CC1 генотип садржао већи удео α s₁-казеина, што је могло утицати на повећане вредности RCT-а.

Просечно време завршетка коагулације (ST), за сирово млеко, било је 31,22 минута, а кретало се у интервалу од 26,48 до 38,35 минута.

F тест показао је да постоји статистички врло високо значајна разлика (p<0,001) између генотипова *CSN1S1* 472G>C за време завршетка коагулације ST, што се може видети у табели 53 и прилогу 46.

У следећем кораку, LSD тест показао је значајност разлика између генотипова *CSN1S1* 472G>C и утврђено је да постоји статистички врло високо значајна разлика ($p<0,001$) између GG1 и CC1, као и GC1 и CC1, док између GG1 и GC1 генотипа није било статистички значајне разлике ($p>0,05$). Ово је приказано у прилогу 47.

Оба параметра (RCT и ST) су битна за праћење сиришне коагулације и оптимизацију технолошког процеса, како не би дошло до нарушавања структуре сира и смањења приноса.

Просечна вредност модула еластичности након 60 минута мерења (G'), за сирово млеко, износила је 170,67 Pa, а кретала се у интервалу од 139,35 до 212,65 Pa.

За вредност модула еластичности након 60 минута мерења (G'), F тест показао је врло високо статистички значајну разлику ($p<0,001$) између генотипова *CSN1S1* 472G>C, што се може видети у табели 53 и прилогу 48.

Употребом LSD теста испитана је и утврђена врло високо статистички значајна разлика ($p<0,001$) између GG1 и GC1, GC1 и CC1, као и GG1 и CC1 генотипова *CSN1S1* 472G>C, што је представљено у прилогу 49.

Просечна вредност чврстине гела (GF), за сирово млеко, износила је 192,47 Pa, а кретала се у интервалу од 158,85 до 235,92 Pa.

Анализа варијансе, за параметар чврстина гела (GF), показала је врло високо статистички значајну разлику ($p<0,001$) за генотипове *CSN1S1* 472G>C у свежем млеку. Ово је представљено у табели 53 и прилогу 50.

Употребом LSD теста (прилог 51) испитана је значајност разлика између генотипова *CSN1S1* 472G>C и утврђено је да постоји статистички врло високо значајна разлика ($p<0,001$) између GG1 и GC1, GC1 и CC1, као и GG1 и CC1.

Резултати (табела 53) су показали да се генотип GG1 такође карактерише високим вредностима за G'_{60} (212 Pa) и за GF (233 Pa), а статистичке разлике, у поређењу са параметрима варијанте GC1 и CC1, потврђене су у прилозима 49 и 51. Разлог нижих вредности за G' на крају мерења и за GF генотипа CC1 могао би бити већи удео β -казеина. Према St-Gelais and Nache (2005), млеко са релативно високим уделом β -казеина карактерише лошија коагулациона својства.

Просечна вредност параметра брзина агрегирања (AR), за сирово млеко биволица, износила је 0,1113 Pa/s, а кретала се у интервалу од 0,0937 до 0,1275 Pa/s.

Анализа варијансе (прилог 52) је показала да постоји врло високо статистички значајна разлика ($p<0,001$) параметра брзина агрегирања (AR) у зависности од генотипа *CSN1S1* 472G>C у свежем млеку домаћих биволица (табела 53).

LSD тест показао је међусобну значајност разлика између генотипова *CSN1S1* 472G>C и утврђено је да постоји статистички врло високо значајна разлика ($p<0,001$) између GG1 и GC1, као и GC1 и CC1, док је између GG1 и CC1 постојала статистички значајна разлика ($p<0,05$). Ово је приказано у прилогу 53.

Просечно време почетка коагулације (RCT) термички третираног млека било је 13,60 минута, а кретало се у интервалу од 11,95 до 16,00 минута.

Анализом варијансе утврђено је постојање статистички високо значајне разлике ($p<0,01$) између генотипова *CSN1S1* 472G>C за вредност параметра сиришне коагулације RCT, што се може видети у табели 54 и прилогу 54.

Употребом LSD теста испитана је значајност разлика између генотипова *CSN1S1* 472G>C и утврђено је да постоји статистички високо значајна разлика ($p<0,01$) између GG2 и CC2, као и GC2 и CC2. Исти тест показао је да између GG2 и GC2 генотипа не постоји статистички значајна разлика ($p>0,05$), што се може видети у прилогу 55.

Табела 54. Утицај *CSN1S1* 472G>C генотипова на реолошке параметре при сиришној коагулацији термички третираног млека биволица

Параметар	Генотип <i>CSN1S1</i> 472G > C	N (понављања)	Просек	Стд. дев.	F
RCT, min	GG2	3	13,00	0,6950	18,083**
	GC2	3	12,50	0,4858	
	CC2	3	15,30	0,6245	
ST, min	GG2	3	37,05	0,9459	81,09***
	GC2	3	41,00	0,8500	
	CC2	3	32,10	0,7670	
G', Pa	GG2	3	118,00	0,1000	34349,9***
	GC2	3	93,00	0,0058	
	CC2	3	178,00	0,7000	
GF, Pa	GG2	3	135,90	1,8248	3497,7***
	GC2	3	111,40	0,4583	
	CC2	3	198,80	1,3000	
AR (Pa/s)	GG2	3	0,0506	0,001153	3345,07***
	GC2	3	0,0406	0,000153	
	CC2	3	0,0838	0,000153	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Просечна вредност параметра време завршетка коагулације (ST), за термички третирано млеко, износила је 36,72 минута, а кретала се у интервалу од 31,22 до 41,85 минута.

Применом анализе варијансе, утврђено је да постоји статистички врло високо значајна разлика (p<0,001) између генотипова *CSN1S1* 472G>C за вредност параметра коагулације ST термички обрађеног млека биволица. Ово се може видети у табели 54 и прилогу 56.

LSD тест показао је значајност разлика између генотипова *CSN1S1* 472G>C и утврђено је да постоји статистички врло високо значајна разлика (p<0,001) између GG2 и CC2, као и GC2 и CC2, док је између GG2 и GC2 генотипа била статистички високо значајна разлика (p<0,01). Ово је приказано у прилогу 57.

Просечна вредност модула еластичности након 60 минута мерења (G'), за термички обрађено млеко, износила је 129,67 Pa, а кретала се у интервалу од 92,99 до 178,70 Pa.

За вредност модула еластичности након 60 минута мерења (G'), F тестом је утврђено да постоји врло високо статистички значајна разлика (p<0,001) између генотипова *CSN1S1* 472G>C, што се може видети у табели 54 и прилогу 58.

Употребом LSD теста испитана је и утврђена статистички врло висока значајна разлика (p<0,001) између GG2 и GC2, GC2 и CC2, као и GG2 и CC2 генотипова *CSN1S1* 472G>C код термички третираног млека. Ово је представљено у прилогу 59.

Просечна вредност чврстине гела (GF), за термички третирано млеко, износила је 148,70 Pa, а кретала се у интервалу од 110,90 до 200,10 Pa.

Анализа варијансе, за параметар чврстине гела (GF), показала је статистички врло високо значајну разлику (p<0,001) за генотипове *CSN1S1* 472G>C у термички третираном млеку. Ово је представљено у табели 54 и прилогу 60.

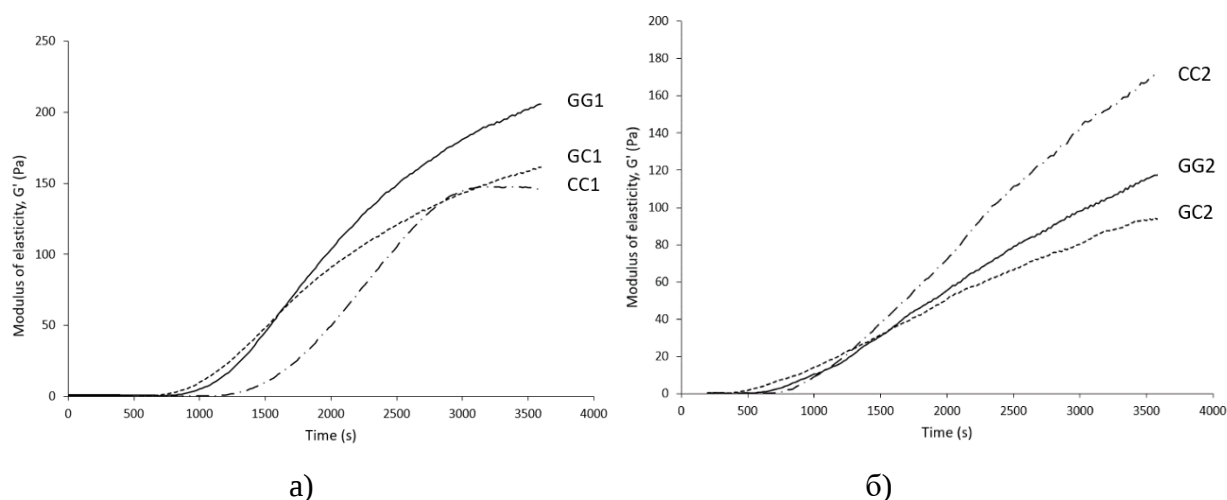
Употребом LSD теста испитана је значајност разлика између генотипова *CSN1S1* 472G>C и утврђено је да постоји статистички врло високо значајна разлика (p<0,001) између GG2 и GC2, GC2 и CC2, као и GG2 и CC2, што се може видети у прилогу 61.

Просечна вредност параметра брзина агрегирања (AR), за термички третирано млеко биволица, износила је 0,0584 Pa/s, а кретала се у интервалу од 0,0405 до 0,0840 Pa/s.

Анализа варијансе је показала да постоји статистички врло високо значајна разлика ($p < 0,001$) параметра брзина агрегирања (AR) у зависности од генотипа *CSN1S1* 472G>C за термички третирано млеко (табела 54).

LSD тест показао је међусобну значајност разлика између генотипова *CSN1S1* 472G>C и утврђено је да постоји статистички врло високо значајна разлика ($p < 0,001$) између GG2 и GC2, GC2 и CC2, као и GG2 и CC2, што је приказано у прилогу 63.

Промена модула еластичности G' током сиришне коагулације термички третираног млека графички је приказана на слици 15. Може се приметити да је строги режим термичког третмана млека имао најмањи утицај на повећање G' код CC генотипа млека, док је најизраженији утицај забележен код GC генотипа.



Слика 15. Динамика модула еластичности (G') при сиришној коагулацији сировог (а) и термички третираног (б) млека биволица (GG1, GC1 и CC1 – сирово и GG2, GC2 и CC2 – термички третирано (95°C/10 min) млеко биволица *CSN1S1* 472G>C генотипа GG, GC и CC)

Млеко биволица третирано строгим режимом термичке обраде показало је много спорију стопу агрегације у поређењу са сировим млеком, са нижим вредностима за G' и G'' . Изузетак је био генотип CC, који је показао још веће вредности ових параметара у односу на сирово млеко (табеле 53 и 54). Ипак, резултати јасно сугеришу да би високо термички третирано млеко биволица наведених генотипова могло бити погодно за производњу сира, под условом да се рН млека подеси на 6,3, при чему би најпогоднији био CC генотип.

Ови резултати показују да се млеко биволица може користити на исти начин као и кравље млеко третирано строгим режимом обраде које остаје након производње кајмака, што може допринети његовој широј примени и бољем искоришћењу.

4.4.3. Лабораторијски принос сира

У табели 55 представљени су параметри дескриптивне статистике за лабораторијски принос сира добијеног од сировог и термички третираног млека биволица обухваћених овим истраживањем.

Табела 55. Параметри дескриптивне статистике лабораторијског приноса сира од сировог (1) и термички третираног (2) млека биволица

Параметар	Млеко	N	Просек	Минимум	Максимум	Стд. дев.
Сир, %	1	9	32,71	24,25	47,17	10,385
	2	9	59,50	45,58	74,07	10,905
Сурутка, %	1	9	67,29	52,83	75,75	10,385
	2	9	40,50	25,93	54,42	10,905

1 – сирово млеко; 2 – термички обрађено млеко

Вредности лабораторијског приноса сира у овом раду су прилично високе (табела 55), у поређењу са литературним подацима. Hallén et al. (2010) наводе да је принос свежег сира од млека крава у просеку био 23,9 %, односно у распону од 14,5 – 34,1 %. Када је у питању пуномасно млеко биволица, Shakerian et al. (2016) у свом раду наводе да је лабораторијски принос сира био у распону од 27 % до 37 %.

Разлог високих вредности приноса сира у овом раду је вероватно тај што је коришћени притисак био недовољан да се сурутка извуче из чврстог гела добијеног од млека биволица.

Током одређивања лабораторијског приноса сира, утврђено је да постоје статистички значајне разлике између *CSN1S1* 472G>C генотипова млека биволица, анализираних за сирово и термички третирано млеко (табела 56 и 57).

Табела 56. Утицај *CSN1S1* 472G>C генотипова на лабораторијски принос сира од сировог млека биволица

Параметар	Генотип <i>CSN1S1</i> 472G > C	N (понављања)	Просек	Стд. дев.	F
Принос, %	GG1	3	25,43	1,1087	735,93***
	GC1	3	26,19	0,3535	
	CC1	3	46,53	0,6304	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Просечан лабораторијски принос сира од сировог млека биволица био је 32,71 %, а кретао се у интервалу од 24,25 % до 47,17 %.

Применом анализе варијансе, утврђено је да постоји статистички врло високо значајна разлика (p<0,001) између генотипова *CSN1S1* 472G>C за лабораторијски принос сира од сировог млека биволица. Ово се може видети у табели 56 и прилогу 64.

LSD тест показао је значајност разлика између генотипова *CSN1S1* 472G>C и утврђено је да постоји статистички врло високо значајна разлика (p<0,001) између GG1 и CC1, као и GC1 и CC1, док између GG1 и GC1 генотипа није било статистички значајне разлике (p>0,05). Ово је приказано у прилогу 65.

Табела 57. Утицај *CSN1S1* 472G>C генотипова на принос сира од термички третираног млека биволица

Особина	Генотип <i>CSN1S1</i> 472G > C	N	Просек	Стд. дев.	F
Принос, %	GG2	3	57,89	0,7491	205,15***
	GC2	3	47,88	1,9935	
	CC2	3	72,72	1,5233	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Просечан лабораторијски принос сира од термички третираног млека биволица био је 59,50 %, а кретао се у интервалу од 45,58 % до 74,07 %.

Анализа варијансе показала је да постоји врло високо статистички значајна разлика ($p < 0,001$) између генотипова *CSN1S1* 472G>C за лабораторијски принос сира од термички третираног млека биволица. Ово се може видети у табели 57 и прилогу 66.

LSD тест показао је значајност разлика између генотипова *CSN1S1* 472G>C и утврђено је да постоји статистички врло високо значајна разлика ($p < 0,001$) између GG2 и GC2, GC2 и CC2, као и између GG2 и CC2 генотипа, што се може видети у прилогу 67.

Највећи лабораторијски принос сира добијен је код генотипа CC, како у свежем тако и у термички третираном млеку. Генерално, за све генотипове, термички третирано млеко имало је већи лабораторијски принос сира од сировог млека.

Овај висок лабораторијски принос сира (око 72 %) утврђен у термички обрађеном млеку биволица генотипа CC, вероватно је због изражене хидрофилности формираних коагрегата протеина млека, чије присуство потврђују резултати SDS анализе у нередукованим условима (слика 14).

Постоје различите методе и формуле за израчунавање стварног и процењеног (лабораторијског) приноса сира, али оне до сада нису дале задовољавајуће резултате (Zicarelli et al., 2020; Zicarelli et al., 2021). У овом истраживању коришћена је метода одређивања приноса мерењем сурутке одвојене од формираног сира. Ова метода се може користити за упоређивање приноса различитих узорака млека, али не одговара стварном приносу сира (Zicarelli et al., 2020). Као што је раније поменуто, млеко биволица се одликује веома великим садржајем протеина, масти и минерала (El-Salam and El-Shibiny, 2011), што доприноси високој чврстоћи сира. Стога се чини да метода која се обично користи за анализу приноса сира и синерезис гелова од крављег млека (Hallén et al., 2010) није погодна за одређивање својстава гела добијених коагулацијом млека биволица. Вероватно је да се таква снага сиришног гела од млека биволица може превазићи применом веће силе центрифугирања на гел или дужим временом центрифугирања.

5. ЗАКЉУЧАК

На основу резултата ове докторске дисертације, која је имала за циљ фенотипску и генетичку карактеризацију домаћег бивола гајеног у Србији, изведени су следећи најважнији закључци:

За испитиване морфометријске особине домаћих бивола (биволица) утврђене су следеће вредности телесних мера: висина ребена 122,55 cm (106 – 136), висина крста 124,09 cm (109 – 137), дужина трупа 132,72 cm (116 - 157), ширина груди 39,25 cm (28 - 51), дубина груди 64,28 cm (49 – 87), предња ширина карлице 49,22 cm (36 – 63), ширина кукова (растојање зглобова кука) 43,94 cm (33 – 56), дужина карлице 42,14 cm (33 – 54), ширина (растојање) седњачних кврга 20,47 cm (16 – 27), обим груди 185,23 cm (154 – 214), обим цеванице 20,2 cm (17 – 25). Утврђено је да је утицај старости грла био статистички врло високо значајан ($p < 0,001$) за висину ребена, дужину трупа, предњу ширину карлице, ширину (растојање) седњачних кврга и обим груди, док је за дубину груди и ширину кукова (растојање зглобова кука) имао статистички високо значајан утицај ($p < 0,01$). Утицај старости није био статистички значајан ($p > 0,05$) за висину крста, ширину груди, дужину карлице и обим цевнице.

Вредности израчунатих релативних показатеља телесне развијености биле су: индекс формата (оквир) 108,32 % (94,62 – 124,17), индекс дубине груди 52,47 % (40,16 – 73,11), индекс збијености трупа 140,21 % (108,22 – 168,07), индекс масивности 151,20 % (125,4 – 168,03), индекс преграђености 101,30 % (96,03 – 107,76), карлично-грудни индекс (кукови) 89,60 % (62,22 – 115,38), карлично-грудни индекс (бедрене кврге) 80,11 % (53,85 – 105,13), индекс облика карлице (1) 41,78, % (32,20 – 55,81), индекс облика карлице (2) 46,77 % (35,71 – 63,41), индекс дужине ногу 47,53 % (26,89 – 59,84), индекс кошчатости 16,50 % (14,17 – 19,84). Утврђено је да је старост имала статистички врло високо значајан утицај ($p < 0,001$) на индекс преграђености, док је на карлично-грудни индекс (бедрене кврге) имала статистички високо значајан утицај ($p < 0,01$). Утицај старости није био статистички значајан ($p > 0,05$) за индекс формата (оквир), индекс дубине груди, индекс збијености трупа, индекс масивности, карлично-грудни индекс (кукови), индекс облика карлице (1), индекс облика карлице (2), индекс дужине ногу и индекс кошчатости.

Анализиране репродуктивне особине бивола (биволица) имале су следеће вредности: узраст при првом тељењу 36 месеци (32 – 41), трајање сервис периода 97,71 дан (54 – 147), трајање бременитости 319,28 дана (314 – 321), трајање међутелидбеног интервала 416,35 дана (375 – 468). Утицај сезоне рођења плоткиње на узраст при првом тељењу није показао статистичку значајност ($p > 0,05$). Утицај сезоне тељења и тељења по реду на трајање сервис периода и трајање међутелидбеног интервала није био статистички значајан ($p > 0,05$).

Анализирани параметри квалитета млека биволица имали су следеће вредности: садржај суве материје 19,65 % (16,62 – 23,89), садржај суве материје без масти 10,58 % (8,89 – 12,18), садржај протеина 4,73 % (3,52 – 5,52), садржај казеина 3,58 % (3,03 – 4,31), садржај масти 9,05 % (7,33 – 11,67), киселост °SH 8,83 (6,47 – 10,27) и pH 6,66 (6,51 – 6,80). Корелациони однос између анализираних параметара квалитета млека биволица и садржаја казеина био је следећи: садржај суве материје 0,47, садржај суве материје без масти 0,61, садржај протеина 0,93, садржај масти 0,226, киселост °SH 0,316 и pH -0,038. Значајну позитивну корелацију са садржајем казеина у млеку биволица имали су садржај суве материје без масти и садржај протеина ($p < 0,001$), садржај суве материје ($p < 0,01$) и вредност °SH ($p < 0,05$), док корелације садржаја млечне масти и вредности pH са казеином нису биле статистички значајне ($p > 0,05$).

Молекуларно генетичком анализом (рестрикционом дигестијом или Сангеровим секвенцирањем) испитиваних јединки детектоване су алелне варијанте гена *CSN1S1* 472G>C (GG, GC, CC), *CSN3* 467C>T (CC, CT, TT), *SCD* 133A>C (AA) и *DGAT1* 9046T>C (TT, TC, CC). Учесталост генотипова за *CSN1S1* 472G>C показала је да је најзаступљенији GG

генотип (57,81 %), и да је ређи С алел присутан у популацији са учесталошћу од 0,23. У случају *CSN3* 467C>T, најзаступљенији генотип био је СТ (49,60 %), а ређи алел Т био је присутан са учесталошћу од 0,41. Генска варијанта *SCD* 133A>C била је мономорфна за алел А, односно све јединке су имале АА генотип (100 %), док АС и СС генотипови нису детектовани. За *DGAT1* 9046T>C, најучесталији генотип био је ТС (56,35 %), а ређи С алел је био присутан у популацији са учесталошћу од 0,49. Утицај генске варијанте *CSN1S1* 472G>C имао је статистички врло високо значајан утицај ($p < 0,001$) на садржај протеина и казеина у млеку, а на садржај суве материје, садржај суве материје без масти и садржај масти није имао статистичког значаја ($p > 0,05$). Генска варијанта *CSN3* 467C>T појединачно није показала статистички значајан утицај ($p > 0,05$) на садржај компоненти млека, али је вишеструком регресионом анализом утврђено да *CSN1S1* 472G>C ($\beta = 0,62$, $p = 0,000013$) и *CSN3* 467C>T ($\beta = 0,32$, $p = 0,012$) имају значајан ефекат на ниво казеина у млеку. Хаплотипска анализа генских варијанти *CSN1S1* 472G>C и *CSN3* 467C>T показала је да хаплотип 1C3C има статистички значајан утицај на садржај казеина и протеина у млеку. Генска варијанта *SCD* 133 A>C била је мономорфна. Утицај генске варијанте *DGAT1* 9046T>C није показао статистичку значајност ($p > 0,05$) на садржај компоненти млека.

Дензитометријском анализом у редукујућим условима SDS-PAG електрофорезом установљено је да узорци сировог млека сва три генотипа *CSN1S1* 472G>C (GG, GC, CC) имају сличан удео укупног казеина око 72 – 75 % и фракције протеина сурутке (β -Lg + α -La) око 23 – 24 %.

Просечне вредности реолошких својстава сиришне коагулације сировог млека биле су: време почетка коагулације (енг. RCT - rennet coagulation time) 17,43 min (13,17 – 22,61), време завршетка коагулације (енг. ST - setting time) 31,22 min (26,48 – 38,35), модул еластичности (G') 170,67 Pa (139,35 – 212,65), чврстина гела (енг. GF - gel firmness) 192,47 Pa (158,85 – 235,92), брзина агрегације (енг. AR - aggregation rate) 0,1113 Pa/s (0,0937 – 0,1275). Вредности за наведена својства термички третираног млека биволица у просеку су биле: RCT 13,60 min (11,95 – 16,00), ST 36,72min (31,22 – 41,85), G' 129,67 Pa (92,99 – 178,70), GF 148,70 Pa (110,90 – 200,10), AR 0,0584 Pa/s (0,0405 – 0,0840). Утврђено је да је утицај генотипова *CSN1S1* 472G>C (GG, GC и CC) имао статистички врло високо значајан утицај ($p < 0,001$) на реолошка својства при сиришној коагулацији сировог и термички третираног млека домаћих биволица.

Лабораторијски принос сира од сировог млека биволица био је 32,71 % (24,25 – 47,17), а термички третираног млека 59,50 % (45,58 – 74,07). Највећи лабораторијски принос сира добијен је код генотипа СС како у свежем тако и у термички обрађеном млеку. Разлог високих вредности лабораторијског приноса сира у овом раду је вероватно тај што је коришћени притисак био недовољан да се сурутка извуче из чврстог гела добијеног од млека биволица. Утврђено је да је утицај генотипова *CSN1S1* 472G>C (GG, GC и CC) имао статистички врло високо значајан утицај ($p < 0,001$) на лабораторијски принос сира сировог и термички третираног млека биволица.

Резултати указују да би високо термички третирано млеко биволица анализираних генотипова могло бити погодно за производњу сира, под условом да се рН млека подеси на 6,3, при чему би најпогоднији био СС генотип.

Резултати ове докторске дисертације представљају нове информације о морфометријским, репродуктивним и генетичким карактеристикама домаћих бивола гајених у Србији, као и информације о квалитету млека. Утврђени резултати за испитиване особине (телесне мере) могу послужити у дефинисању стандарда за домаћег бивола у Србији.

Разлике у генетичкој варијабилности и реолошким својствима млека, могу послужити у поступку селекције грла у популацији бивола гајених у Републици Србији са циљем форсирања пожељних производних особина, уз истовремено очување генетичке разноликости ове популације.

6. ЛИТЕРАТУРА

1. Adam A. C., Rubio-Teixeira, M., Polaina, J. (2010): Lactose: The Milk Sugar from a Biotechnological Perspective. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 44 (7-8): 553-557. <https://doi.org/10.1080/10408690490931411>
2. Aggarwal, A., Seth, R., Gandhi, K., Wangdare, S. (2019): Physico-chemical properties of Khoa prepared from lactose hydrolyzed buffalo milk. *Journal of Food Science and Technology*. 56, 3067–3076. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03798-3>
3. Ahmad, N., Abdullah, M., Javed, K., Khalid S. M., Babar E. M., Younas U. Nasrullah (2013): Relationship between Body Measurements and Milk Production in Nili-Ravi Buffaloes Maintained at Commercial Farms in Peri-Urban Vicinity of Lahore. *Buffalo Bulletin*. 32 (2).
4. Ali S. S., Kuralkar S. V., Kanadkhedkar H. L., Bankar P. S., Kataria R. S., Vohra, V. (2024): Discriminant analysis reveals differences in breed structure in river buffaloes of Maharashtra (India). *Tropical Animal Health and Production*. 56, 38. <https://doi.org/10.1007/s11250-024-03885-4>
5. Ali, A., Abdel-Razek A. K., Abdel-Ghaffar, S., Glatzel P. S. (2003): Ovarian Follicular Dynamics in Buffalo Cows (*Bubalus bubalis*). *Reproduction in Domestic Animals*. 38 (3): 214-218. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0531.2003.00428.x>
6. Ali, A., Javed, K., Ahmad, N., Rehman, S. (2011): Environmentl factors affecting some reproductive traits in Nili Ravi buffaloes. *Journal of Animal and Plant Sciences*. 21: 868–871.
7. Anema S. G. and Klostermeyer, H. (1997): Heat-induced, pH-dependent dissociation of casein micelles on heating reconstituted skim milk at temperatures below 100°C. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45 (4): 1108-1115. <https://doi.org/10.1021/jf960507m>
8. Anema S. G. (2001): Kinetics of the irreversible thermal denaturation and disulfide aggregation of α -lactalbumin in milk samples of various concentrations. *Journal of Food Science*. 66 (1): 2-9. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb15573.x>
9. Anema S. G. and Li, Y. (2003): Association of denatured whey proteins with casein micelles in heated reconstituted skim milk and its effect on casein micelle size. *Journal of Dairy Research*. 70 (1): 73-83. <https://doi.org/10.1017/S0022029902005903>
10. Anema S. G. and McKenna A. B. (1996): Reaction kinetics of thermal denaturation of whey proteins in heated reconstituted whole milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 44 (2): 422-428. <https://doi.org/10.1021/jf950217q>
11. AOAC (1990): *Official Methods of Analysis*, 15th edition. Washington, DC, USA: Association of Official Analytical Chemists. 807-809, 841-842.
12. Araujo Neto F. R., Takada, L., Dos Santos D. J. A., Aspilcueta-Borquis R. R., Cardoso D. F., do Nascimento A. V., Leão K. M., de Oliveira H. N., Tonhati H. (2020): Identification of genomic regions related to age at first calving and first calving interval in water buffalo using single-step GBLUP. *Reproduction In Domestic Animals*. 55 (11): 1565-1572. <https://doi.org/10.1111/rda.13811>
13. Aschaffenburg, R. and Drewry, J. (1955): Occurrence of different β -lg in cow's milk. *Nature*. 176 (4474): 218–219.
14. Aurelia, P., Răducu, C., Coroian C. O., Vioara, M., Mureșan, G. (2009): The study of the main parameters quality of buffalo milk. *Journal of Central European Agriculture*. 10 (3):201-206.
15. Balteanu V. A., Carsai T. C., Vlaic, A. (2013): Identification of an intronic regulatory mutation at the buffalo α_{s1} -casein gene that triggers the skipping of exon 6. *Molecular Biology Reports*. 40 (7): 4311–4316. <https://doi.org/10.1007/s11033-013-2518-2>

16. Barile V. L. (2005): Improving reproductive efficiency in female buffaloes. *Livestock Production Science*. ISSN 0301-6226. 92 (3): 183-194.
<https://doi.org/10.1016/j.livprodsci.2004.06.014>
17. Barłowska, J., Wolanciuk, A., Litwiczuk, Z., Krl, J. (2012): Milk Proteins' Polymorphism in Various Species of Animals Associated with Milk Production Utility. *Milk Protein*.
18. Baruselli P. S., Vale W. G., Barnabé V. H., de Mattoseditors J. C. A. (1996): Sexual behaviour in buffaloes. Conference paper. Proceedings, 4th World Buffalo Congress, São Paulo, Brazil. 27-30 June. 1, 158–173.
19. Becskei, Z., Savić, M., Ćirković, D., Rašeta, M., Puvača, N., Pajić, M., Đorđević, S., Paskaš, S. (2020): Assessment of Water Buffalo Milk and Traditional Milk Products in a Sustainable Production System. *Sustainability* 12, 6616. <https://doi.org/10.3390/su12166616>
20. Bedoya, C., Mira T., Guarín, J. F., Berdugo, J. (2001): Parámetros reproductivos del búfalo de agua (*Bubalus bubalis*) en el sur de Córdoba, Costa norte Colombiana. *Buffalo an Altern Anim Agric Third Millenium*. VI World Buffalo Congress. 271-275.
21. Beneduci, B., Krastanov, I., Maretto, F., Oblakov, N., Cassandro, M. (2010): Molecular characterization of k-casein allelic variants in Bulgarian buffalo breed. *Acta Agraria Kaposváriensis*. 14 (2): 169-172.
22. Bertoni, A., Álvarez-Macías, A., Mota-Rojas, D., Dávalos, J.L., Minervino, A. H. H. (2021): Dual-Purpose Water Buffalo Production Systems in Tropical Latin America: Bases for a Sustainable Model. *Animals*. 11, 2910. <https://doi.org/10.3390/ani11102910>
23. Bertoni, A., Álvarez-Macías, A., Morales, D. A., Dávalos, J. L., Mota-Rojas, D. (2022): Description of Four Dual-Purpose River Buffalo (*Bubalis bubalis*) Production Systems in Tropical Wetlands of Mexico. Part 2: Sanitary Management, Milking, Zootechnical and Economic Indicators. *Journal of Buffalo Science*. E-ISSN: 1927-520X/22.
24. Beuzen N. D., Stear M. J., Chang K. C. (2000): Molecular markers and their use in animal breeding. *The Veterinary Journal*. 160 (1): 42–52. <https://doi.org/10.1053/tvjl.2000.0468>
25. Богдановић, В. (2016): Биолошке основе сточарства. Уџбеник. Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет. ISBN 978-86-7834-233-2.
26. Bonadona, T. (1959): Le razze bovine, Bufali – Cattali – Zebu. *Progresso Zootecnico*. Milano.
27. Bonfatti, V., Giantin, M., Gervaso, M., Coletta, A., Dacasto, M., Carnier, P. (2012): Effect of *CSN1S1-CSN3* (α_{S1} -κ-casein) composite genotype on milk production traits and milk coagulation properties in Mediterranean water buffalo. *Journal of Dairy Science*. 95 (6): 3435–43.
28. Bonfatti, V., Gervaso, M., Rostellato, R., Coletta, A., Carnier, P. (2013): Protein composition affects variation in coagulation properties of buffalo milk. *Journal of Dairy Science*. 96 (7): 4182-4190. <https://doi.org/10.3168/JDS.2012-6333>
29. Bonfatti, V., Ribeiro de Freitas, D., Lugo, A., Vicario, D., Carnier, P. (2019): Effects of the detailed protein composition of milk on curd yield and composition measured by model micro-cheese curd making of individual milk samples. *Journal of Dairy Science*. 102 (9): 7863-7873. ISSN 0022-0302. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15743>
30. Borghese, A. (2005): Buffalo Production and Research. Technical Series 67. Food and Agriculture Organization, Rome, Italy.
31. Borghese, A. (2013): Buffalo Livestock and Products in Europe. *Scientific Bulletin of Escorena*. 7, 47-76.
32. Borghese, A., Barile V. L., Ficco, G., Galasso, A., Marchiori, E., Terzano G. M. (1997): Feeding system effect on reproduction performances in buffalo heifers. *Proc. of the Fifth World Buffalo Congress*. Caserta, Italy, 13 to 16 Oct.: 697-701.
33. Bovenhuis, H., Visker M. H. P. W., van Valenberg H. J. F., Buitenhuis A. J., van Arendonk J. A. M. (2015): Effects of the *DGAT1* polymorphism on test-day milk production traits throughout lactation, *Journal of Dairy Science*. 98 (9): 6572-6582. ISSN 0022-0302. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9564>

34. Boye, J., Wijesinha-Bettoni, R., Burlingame, B., (2012): Protein quality evaluation twenty years after the introduction of the protein digestibility corrected amino acid score method. *British Journal of Nutrition*. 108 (S2): S183-S211. <https://doi.org/10.1017/S0007114512002309>
35. Braun P. G. and Preuss S. E. (2008): Nutritional composition and chemico-physical parameters of water buffalo milk and milk products in Germany. *Milchwissenschaft* 63, 70-72.
36. Bunevski, G. (2000). Buffalo breeding in The Former Yugoslav Republic of Macedonia. *Proceedings of the Workshop on Breeding and Management Strategies of Buffalo*, Bled, Slovenia, 16-17 May. ICAR Technical Series. 4, 77-78.
37. Van Hooydonk A. C. M., De Koster P. G., Boerrigter I. J. (1987): The renneting properties of heated milk. *Netherlands Milk and Dairy Journal* 41, 93-108.
38. Vargas-Ramella, M., Pateiro, M., Maggiolino, A., Faccia, M., Franco, D., De Palo, P., Lorenzo J. M. (2021): Buffalo Milk as a Source of Probiotic Functional Products. *Microorganisms*. 9 (11): 2303. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112303>
39. Varricchio M. L., Di Francia, A., Masucci, F., Romano, R., Proto, V. (2007). Fatty acid composition of Mediterranean buffalo milk fat. *Italian Journal of Animal Science*. 6 (1): 509-511. <https://doi.org/10.4081/ijas.2007.1s.509>
40. Vecchio, D., Rossi, P., Grassi, C., Russo, P., Rienery, S., Calabro, C. (2018): Reproductive management of buffalo (*Bubalus bubalis*) in Italy. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*. 42, 166-169.
41. Vélez-Ruiz, J. F., Barbosa Cánovas, G. V., Peleg, M. (1997): Rheological properties of selected dairy products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 37 (4): 311-359. <http://dx.doi.org/10.1080/10408399709527778>
42. Vidu, L., Diaconescu, C., Udrioiu, A., Bacila, V., Popa, D., Popa, R., Stanciu, M. (2013): The Buffalo – Part of Animal Biodiversity in Romania and the Importance for the Bioeconomy. *Section Ecology and Environmental Protection*.
43. Vignal, A., Milan, D., San Cristobal, M., Eggen, A. (2002): A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. *Genetics Selection Evolution*. 34 (3): 275 – 305. DOI <https://doi.org/10.1051/gse:2002009>
44. Vohra, V., Singh, N. P., Chhotaray, S., Raina, V. S., Chopra, A., Kataria, R. S. (2021): Morphometric and microsatellite-based comparative genetic diversity analysis in *Bubalus bubalis* from North India. *Zoological Science. Peer J* 9: e11846 <https://doi.org/10.7717/peerj.11846>
45. Weerasingha, V., Priyashantha, H., Ranadheera S. C., Prasanna, P., Silva, P., Vidanarachchi K. J., Johansson, M. (2022): Milk Coagulation Properties: A Study on Milk Protein Profile of Native and Improved Cattle Breeds/Types in Sri Lanka. *MDPI. Dairy*. 3 (4), 710-721. <https://doi.org/10.3390/dairy3040049>
46. Вуковић, Д. и Перковић, С. (2012): Вештачко осемењавање, плодност и неплодност говеда. Уџбеник. Универзитет у Београду – Факултет ветеринарске медицине.
47. Williams L. J., Iamartino, D., Pruitt D. K., Sonstegard, T., Smith P. L. T., Low W. Y., Biagini, T., Bomba, L., Capomaccio, S., Castiglioni, B., Coletta, A., Corrado, F., Ferré, F., Iannuzzi, L., Lawley, C., Macciotta, N., McClure, M., Mancini, G., Matassino, D., Mazza, R., Milanesi, M., Moioli, B., Morandi, N., Ramunno, L., Peretti, V., Pilla, F., Ramelli, P., Schroeder, S., Strozzi, F., Thibaud-Nissen, F., Zicarelli, L., Ajmone-Marsan, P., Valentini, A., Chillemi, G., Zimin, A. (20217): Genome assembly and transcriptome resource for river buffalo, *Bubalus bubalis* (2n = 50). *GigaScience*. 6. 10. gix088. <https://doi.org/10.1093/gigascience/gix088>
48. Гавриловић Љ. С. (1905): Биволи у Србији. Тежак, илустровани гласник српског пољопривредног друштва. 36, 286 – 288.

49. Garau, V., Manis, C., Scano, P., Caboni, P. (2021): Compositional Characteristics of Mediterranean Buffalo Milk and Whey. Dairy. 2 (3): 469-488. <https://doi.org/10.3390/dairy2030038>
50. Gomes V. S. B. D., Vargas J. A. C., Alves K. S., Gomes D. I., Medeiros N. B. C., Rodrigues M. D. N., Freitas D. R., Mezzomo, R., Maciel R. P. (2024): Effects of *CSN1S1* and *CSN3* casein gene polymorphisms on milk protein composition, milk production, and curd yield of water buffaloes. International Dairy Journal. 149, 105823. ISSN 0958-6946. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2023.105823>
51. Gómez-Carpio, M., Cesarani, A., Zullo, G., Cimmino, R., Neglia, G., Campanile, G., Biffani, S. (2023): Genetic parameters for reproductive traits in the Italian Mediterranean buffalo using milk yield as a correlated trait. Journal of Dairy Science. 106, (12): 9016-9025. ISSN 0022-0302. <https://doi.org/10.3168/jds.2023-23257>
52. Goulding D. A., Fox P. F., O'Mahony J. A. (2020): Chapter 2 - Milk proteins: An overview. Milk Proteins (Third Edition). Academic Press. 21-98. ISBN 9780128152515. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815251-5.00002-5>
53. Gu, M., Cosenza, G., Iannaccone, M., Macciotta N. P. P., Guo, Y., Di Stasio, L., Pauciullo, A. (2019): The single nucleotide polymorphism g.133A>C in the stearoyl CoA desaturase gene (*SCD*) promoter affects gene expression and quali-quantitative properties of river buffalo milk. Journal of Dairy Science. 102 (1): 442-451. ISSN 0022-0302. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15059>
54. Guinee T. P., Gorry C. B., O'Callaghan D. J., O'Kennedy B. T., O'Brie, N., Fenelon M. A. (1997): The effects of composition and some processing treatments on the rennet coagulation properties of milk. International Journal of Dairy Technology. 50 (3): 99–106. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.1997.tb01747.x>
55. Gužvić, M (2013): The History of DNA Sequencing. Journal of Medical Biochemistry. 32 (4): 301–312. DOI: 10.2478/jomb-2014-0004
56. D'Occhio J. M., Ghuman S. S., Neglia, G., Valle, G., Baruselli P. S., Zicarelli, L., Visintin J. A., Sarkar, M., Campanile, G. (2020): Exogenous and endogenous factors in seasonality of reproduction in buffalo: A review, Theriogenology. ISSN 0093-691X. 150, 186-192. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.01.044>
57. Dahiya S. P., Kumar, M., Dhillod, S. (2020): Relationship of linear type traits with production and reproduction performance in Murrah buffaloes. Indian Journal of Animal Sciences 90 (6): 942–946. <https://doi.org/10.56093/ijans.v90i6.105011>
58. Dalglish D. G. (1983): Coagulation of renneted bovine casein micelles: dependence on temperature, calcium ion concentration and ionic strength. Journal of Dairy Research. 50 (3): 331-340. <https://doi.org/10.1017/S0022029900023165>
59. De Freitas A. C., de Camargo G. M. F., Stafuzza N. B., Aspilcueta-Borquis R. R., Venturini G. C., Dias M. M., Cardoso D. F., Tonhati, H. (2016): Genetic association between SNPs in the *DGAT1* gene and milk production traits in Murrah buffaloes. Trop Anim Health Prod. 48, 1421–1426. <https://doi.org/10.1007/s11250-016-1110-x>
60. Делетић Р. Н. (2009): Увод у молекуларну генетику. Пољопривредни факултет, Косовска Митровица – Зубин Поток. ISBN 987-86-80737-14-0.
61. Deshmukh S. N. and Roychoudhury N. P. (1971): Repeatability Estimates of some Economic Characters in Italian Buffaloes. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg. Zbl. Vet. Med. A. 18, 104-107. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.1971.tb00846.x>
62. Dhandapani, S., Vohra, V., Chhotaray, S., Kumar, S., Singh K. P., Kataria R. S. (2020): Number of pregnancies and season of calving influence the production and reproduction traits in Nili-Ravi buffalo. Indian Journal of Dairy Science. 73 (5): 443-448. <https://doi.org/10.33785/IJDS.2020.v73i05.009>

63. Dhillod, S., Kar, D., Patil C. S., Sahu, S., Singh N. (2017): Study of the dairy Characters of lactating Murrah buffaloes on the basis of body part measurements. *Veterinary world*. 10 (1): 17-21. DOI: 10.14202/vetworld.2017.17-21
64. Dimassi, O., Neidhart, S., Carle, R., Mertz, L., Migliore, G., Mané-Bielfeldt, A., Valle Zárate, A. (2005): Cheese production potential of milk of Dahlem Cashmere goats from a rheological point of view. *Small Ruminant Research*. 57 (1): 31-36. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2004.05.003>
65. Dutta, P., Talenti, A., Young, R., Jayaraman, S., Callaby, R., Jadhav K. S., Dhanikachalam, V., Manikandan, M., Biswa B. B., Low Y. W., Williams L. J., Cook, E., Toye, P., Wall, E., Djikeng, A., Marshall, K., Archibald L. A., Gokhale, S., Kumar, S., Hume A. D. Prendergast G. D. J. (2020): Whole genome analysis of water buffalo and global cattle breeds highlights convergent signatures of domestication. *Nature Communications*. 21 – 4739. <https://www.nature.com/articles/s41467-020-18550-1>
66. Ђорђевић, Ј., Ледина, Т., Кованџић, М., Булајић, С. (2022): Биоактивни пептиди из млека. 33. Саветовање ветеринара Србије. Зборник радова и кратких садржаја. Златибор, 08–11. септембар. 406-413.
67. El Nahas S. M., Bibars M. A., Taha D. A. (2013): Genetic characterization of Egyptian buffalo CSN3 gene. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgeb.2013.08.003>
68. El-Salam M. H. and El-Shibiny, S. (2011): A comprehensive review on the composition and properties of buffalo milk. *Dairy Science & Technology*. 91 (6): 663-699. <https://doi.org/10.1007/s13594-011-0029-2>
69. El-Tarabany S. M. (2018): Survival analysis and seasonal patterns of pregnancy outcomes in Egyptian buffaloes. *Livestock Science*. 213, 61-66. ISSN 1871-1413. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.05.008>
70. El-Wishy A. B. (2007): The postpartum buffalo II. Acyclicity and anestrus. *Animal Reproduction Science*. 97, 216–236. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2006.03.003>
71. Evershed, R., Payne, S., Sherratt, A., Copley S. M., Coolidge, J., Urem-Kotsu, D., Kotsakis, K., Özdoğan, M., Özdoğan E. A., Nieuwenhuys, O., Akkermans M. M. G. P., Bailey, D., Andeescu R. R., Campbell, S., Farid, S., Hodder, I., Yalman, N., Özbaşaran, M., Bıçakçı, E., Garfinkel, Y., Levy, T., Burton M. M. (2008): Earliest date for milk use in the Near East and southeastern Europe linked to cattle herding. *Nature* 455, 528–531. <https://doi.org/10.1038/nature07180>
72. Yazıcı, E., Yılmaz, O., Özenç, E., Uçar, M., Çelik H. M. (2024): Estimation of gestational age in buffaloes (*Bubalus bubalis*) by transabdominal and transrectal ultrasonography. *Animal Reproduction Science*. 261. ISSN 0378-4320. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2023.107408>
73. Yılmaz, O., Ertugrul, M., Wilson, R. T. (2012): Domestic livestock resources of Turkey. *Tropical Animal Health and Production*. 44, 707–714. <https://doi.org/10.1007/s11250-011-9957-3>
74. Yuan, J., Zhou, J., Deng, X., Hu, X., Li, N. (2007): Molecular Cloning and Single Nucleotide Polymorphism Detection of Buffalo *DGAT1* Gene. *Biochemical Genetics*. 45, 611–621. DOI: 10.1007/s10528-007-9100-3
75. Zhang, T., Guo, L., Shi, M., Xu, L., Chen, Y., Zhang, L., Gao, H., Li, J., Gao, X. (2018): Selection and effectiveness of informative SNPs for paternity in Chinese Simmental cattle based on a high-density SNP array. *Gene*. 673, 211-216. ISSN 0378-1119. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2018.06.054>
76. Zhang, Y., Colli, L., Barker S. F. J. (2020): Asian water buffalo: domestication, history and genetics. *Animal Genetics Immunogenetics, Molecular genetics and Functional genomics*. <https://doi.org/10.1111/age.12911>

77. Zhang, Y., Fan, X., Zhou, F., Li, W., , Ouyang, Y., and Miao, Y. (2021a): Polymorphisms of the CSN1S1 Gene and its Protein Variants in River and Swamp Buffalo (*Bubalus bubalis*). Pakistan Journal of Zoology. 1-10.
78. Zhang, Y., Simpson K. B., Adi D. D., Sampson G. O., Li, C. (2021b): Indigenous Milk Enzymes. Handbook of Dairy Foods Analysis (2nd ed.). eBook ISBN-9780429342967.
79. Zicarelli, L., Di Palo, R., Napolano, R., Tonhati, H., De Carlo, E., Gagliardi, R., Di Luccia, A., la Gatta, B. (2020): Influence of α_{s1} -casein and κ -casein polymorphism on the curd yield of Italian Mediterranean buffalo (*Bubalus bubalis* L.) milk. International Dairy Journal 100, 104559. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.104559>
80. Zicarelli, L., Napolano, R., Campanile, G., Zullo, G., Zicarelli, F., Neri, D., di Luccia, A., di Palo, R., la Gatta, B. (2021): Influence of milk protein polymorphism of Italian Brown and French Holstein cows on curd yield. International Dairy Journal. 120, 105083. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105083>
81. Zoon, P., Van Vliet, T., Walstra, P. (1988): Rheological properties of rennet-induced skim milk gels. 3. The effect of calcium and phosphate. Netherlands Milk and Dairy Journal. 42, 295–312.
82. Iannuzzi, L., Di Meo G. P., Perucatti, A., Ciotola, F., Incarnato, D., Di Palo, R., Peretti, V., Campanile, G., Zicarelli, L. (2004): Freemartinism in river buffalo: clinical and cytogenetic observations. Cytogenetic and Genome Research. 108 (4): 355–358. <https://doi.org/10.1159/000081531>
83. IDF (1981): Determination of fat content. Gerber Butyrometers (Vol. 105) Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
84. IDF (1987): Milk, cream and evaporated milk. In Determination of Total Solids Content (Vol. O21B). Brussels, Belgium: International Dairy Federation.
85. Jaayid T. A., Yousief M. Y., Hamed F. H. and Owaid J. M. (2011): Body and Udder Measurements and Heritability and their Relationship to the Production of Milk in the Iraqi Buffalo. International Journal of Biotechnology and Biochemistry. ISSN 0973-2691. 7 (5): 553-564.
86. Jainudeen M. R. and Hafez E. S. E. (2000): Cattle and Buffalo. In Reproduction in Farm Animals. <https://doi.org/10.1002/9781119265306.ch11>
87. Јовановић, Ч. (1975): Прилог познавању анатомских одлика и патоморфолошких промена полних органа биволица са посебним освртом на њихове репродуктивне особине. Универзитет у Београду. Ветеринарски факултет. Специјалистички рад.
88. Karadağ, O., Vasfiye Kader, E., Mehmet Akif, Y., Mustafa, K., Semih, S., Etin, İlkey, Ç., Binnur, K., and Mehmet İhsan, S. (2023): Genotyping of the κ - casein gene by PCR - RFLP (AclI digestion) and its relationship to milk yield traits in Anatolian buffaloes, Murrah buffaloes, and their crosses. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences. 47 (1): 55-61. <https://doi.org/10.55730/1300-0128.4268>
89. Kathiravan, P., Kataria S. R., Mishra P. B. (2009): Single nucleotide polymorphism (SNP) identification and sequence analysis of 5' flanking region of lactoferrin gene in Indian buffaloes (*Bubalus bubalis*). Livestock science. 121 (1): 38-44. DOI:10.1016/j.livsci.2008.05.021
90. Kelgökmem, İ. and Ünal, N. (2015): Some morphometric traits of Anatolian Buffaloes. Journal of Lalahan Livestock Research Institute. 55, 50–55.
91. Kelly A. L., Datta, N., Deeth H. C. (2012): Thermal processing of dairy products. Thermal food processing: New technologies and quality issues (2nd edn.). 273-306.
92. Khan, M., Rahim, I., Rueff, H., Jalali, S., Saleem, M., Maselli, D., Muhammad, S., Wiesmann, U. (2013): Morphological characterization of the Azikheli buffalo in Pakistan. Animal Genetic Resources. 52, 65–70. Food and Agriculture Organization of the United Nations. doi:10.1017/S2078633613000027

93. Khan, S., Qureshi, M. S., Chand, N., Sultan, A., Rafiullah, I., Ihsanullah, K. (2012): Effect of breeding method on calf sex and postpartum reproductive performance of cattle and buffaloes. *Sarhad Journal of Agriculture*. 28 (3): 469-476.
94. Kour, G., Narang, R., Singh, A. (2020): Effect of season and age at first calving on early performance traits in Murrah buffaloes. *Journal of Agri Search*. 7 (2): 107-110. <https://doi.org/10.21921/jas.v6i02.18107>
95. Kumar, S., Kumar, G., Subhash Chand Gahalot C. S. (2019): Anestrous in Buffaloes and Different Treatment Regimens: A Mini Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. ISSN: 2319-7706. 8 (3): 1162-1179. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.803.138>
96. Laemmli U. K. (1970): Cleavage of structural properties during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227, 680-685.
97. Li, J., Liu, S., Li, Z., Zhang, S., Hua, G., Salzano, A., Campanile, G., Gasparrini, B., Liang, A., Yang, L. (2018): DGAT1 polymorphism in Riverine buffalo, Swamp buffalo and crossbred buffalo. *Journal of Dairy Research*. 85 (4): 412-415. <https://doi.org/10.1017/S0022029918000468>
98. Liotta, L., Chiofalo, V., Lo Presti, V., Vassallo, A., Dalfino, G., Zumbo, A. (2015). The influence of two different breeding systems on quality and clotting properties of milk from dairy buffaloes reared in Sicily (Italy). *Italian Journal of Animal Science*. 14 (1): 3669. <http://dx.doi.org/10.4081/ijas.2015.3669>
99. Liu, J., Wang, Z., Li, J., Li, H., Yang, L. (2020): Genome-wide identification of Diacylglycerol Acyltransferases (DGAT) family genes influencing Milk production in Buffalo. *BMC Genetics*. 21, 26. <https://doi.org/10.1186/s12863-020-0832-y>
100. Lucey, J. A. (2002): Formation and physical properties of milk protein gels. *Journal of Dairy Science*. 85, 281–294. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74078-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74078-2)
101. Lucey, J. A., Johnson, M. E., Horne, D. S. (2003): Invited Review: Perspectives on the Basis of the Rheology and Texture Properties of Cheese. *Journal of Dairy Science* 86 (9): 2725-2743.
102. Малетић М. М. (2015): Анализа повезаности полиморфизма гена за лактоферин (ЛТФ) са здрављем млечне жлезде и производним карактеристикама крава холштајн-фризијске расе. Универзитет у Београду – Факултет ветеринарске медицине. Докторска дисертација.
103. Mantilla, L., Castellano, O., Rodríguez, R. (2023): Effect of natural accelerated growth in the performance of buffalo calves in a dual-purpose production system. *Revista Científica de la Facultade de Veterinaria* . 33, 173-174.
104. Manuelian C. L., Visentin, G., Boselli, C., Giangolini, G., Cassandro, M., De Marchi, M. (2017): Short communication: Prediction of milk coagulation and acidity traits in Mediterranean buffalo milk using Fourier-transform mid-infrared spectroscopy. *Journal of Dairy Science*. 100: 7083–7087 <https://doi.org/10.3168/jds.2017-12707>
105. Medeiros N. B. C., Guerreiro S. L. M., Pereira R. S. R., Sá A. L., Rodrigues, M., Mezzomo, R., Maciel P. R., Hamoy I. G., Rodrigues M. D. N. (2022): CSN1S1 and CSN3 gene variants in female Murrah buffaloes in the Brazilian Amazon. *Animal Science. Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 94 (3). <https://doi.org/10.1590/0001-376520220211394>
106. Melo B. A., de Gusmão C. A., de Lima S. F., Hongyu, K., de Araújo T. F. C., da Silva M. S. G., Rios S. R. R., Santos M. T. D., Fraga A. B. (2020): Multivariate analysis of body morphometric traits in conjunction with performance of reproduction and milk traits in crossbred progeny of Murrah × Jafarabadi buffalo (*Bubalus bubalis*) in North-Eastern Brazil. *PLoS One*. 21;15(4):e0231407. doi: 10.1371/journal.pone.0231407
107. Melo B. A., Nascimento I. de M., dos Santos L. T. A., de Lima L. G., de Araújo F. C. T., Rios R. R. S., Couto A. G., Fraga A. B. (2018): Body morphometric measurements in Murrah crossbred buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Journal of Applied Animal Research*. 46 (1): 1307–1312. <http://dx.doi.org/10.1080/09712119.2018.1502669>

108. Mejares C. T., Huppertz, T., Chandrapala, J. (2022): Thermal processing of buffalo milk – A review. *International Dairy Journal*. 129, 105311. ISSN 0958-6946. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105311>
109. Ménard, O., Ahmad, S., Rousseau, F., Briard-Bion, V., Gaucheron, F., Lopez, C. (2010): Buffalo vs. cow milk fat globules: Size distribution, zeta-potential, compositions in total fatty acids and in polar lipids from the milk fat globule membrane. *Food Chemistry*. 120, (2): 544-551. ISSN 0308-8146. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.10.053>.
110. Milan, R., Kumar, S., Sinha R. R. K., Tewari R. P. (2018): Studies on seasonal effect of calving on reproduction and production traits of Murrah buffaloes. *Journal of AgriSearch*. 5 (3):190-192.
111. Mills, S., Ross R. P., Hill, C., Fitzgerald G. F., Stanton, C. (2011): Milk intelligence: Mining milk for bioactive substances associated with human health. *International Dairy Journal*. 21 (6): 377-401. ISSN 0958-6946. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.12.011>
112. Милорадовић Н. З. (2015): Карактеристике белих сирева у саламури произведених од козјег млека третираног различитим термичким третманима. Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет. Докторска дисертација.
113. Miloradovic, Z., Kljajevic, N., Jovanovic, S., Vucic, T., Macej, O. (2015): The effect of heat treatment and skimming on precipitate formation in caprine and bovine milks. *Journal of Dairy Research*. 82 (1): 22-28. <https://doi.org/10.1017/S0022029914000636>
114. Миљковић, В. (1995): Вештачко осемењавање животиња. Уџбеник. Универзитет у Београду – Ветеринарски факултет. ISBN 86-901659-1-6.
115. Mirza, R. H., Javed, K., Akhtar, M., Rauf, M., Dilshad, S. M. R., Khan, M. A., Tipu, M. A. (2015): Genetic and Phenotypic Correlation of Some Body Measurements with Milk Yield in Nili Ravi Buffaloes of Pakistan. *Journal of Animal Health and Production*. 3 (1). <http://dx.doi.org/10.14737/journal.jahp/2015/3.1.1.5>
116. Mishra V. K. and Ramchandran L. (2015): Novel Thermal Methods in Dairy Processing. *Emerging Dairy Processing Technologies*. 33–70. DOI: 10.1002/9781118560471.ch2
117. Митић, Н., Ферчеј, Ј., Зеремски, Д., Лазаревић, Љ. (1987): Говедарство. Монографско дело. Завод за уџбенике и наставна средства. Београд.
118. Mohan S. M., O’Callaghan F. T., Kelly, P., Hogan A. S. (2020): Milk fat: opportunities, challenges and innovation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 61 (14): 2411-2443. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1778631>
119. Moiola, B., Contarini, G., Avalli, A., Catillo, G., Orrù, L., De Matteis, G., Masoero, G., Napolitano, F. (2007): Short Communication: Effect of Stearoyl-Coenzyme A Desaturase Polymorphism on Fatty Acid Composition of Milk. *Journal of Dairy Science*. 90 (7): 3553-3558. ISSN 0022-0302. <https://doi.org/10.3168/jds.2006-855>
120. McKenzie A. H. (1967): Milk Proteins. *Advances in Protein Chemistry*. 22, 55-234.
121. Nájera A. I., de Renobales, M., Barron L. J. R. (2003): Effects of pH, temperature, CaCl₂ and enzyme concentrations on the rennet-clotting properties of milk: a multifactorial study. *Food Chemistry* 80 (3): 345-352. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00270-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00270-4)
122. Naqvi A. N. and Shami S. A. (1999): Comparative Performance of Early and Late Maturing Nili Ravi Buffalo Heifers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 12, 336–340.
123. Neglia, G., de Nicola, D., Esposito, L., Salzano, A., John D’Occhio, M., Fatone, G., (2020): Reproductive management in buffalo by artificial insemination. *Theriogenology*. ISSN 0093-691X. 150, 166-172. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.01.016>.
124. Neglia, G., Natale, A., Esposito, G., Salzillo, F., Adinolfi, L., Zicarelli, L., Francillo, M. (2016): Follicular dynamics in synchronized Italian Mediterranean buffalo cows. *Italian Journal of Animal Science*. 6 (2): 611-614. <https://doi.org/10.4081/ijas.2007.s2.611>
125. Negretti, P., Bianconi, G., Bartocci, S., Terramoccia, S., Verna, M. (2008): Determination of live weight and body condition score in lactating Mediterranean buffalo by Visual Image Analysis. *Livestock Science*. 113 (1): 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2007.05.018>

126. Остојић, М. (2007): Производња млека: познавање и обрада млека. Уџбеник. Универзитет у Београду, Пољопривредни факултет. ISBN 978-86-7834-039-0.
127. Остојић, М., Релић, Р., Жеж, Г. (2008): Млекарски практикум за производњу и познавање млека. Универзитет у Београду. Пољопривредни факултет.
128. Otava, G., Squicciarini, S., Marc, S., Suici, T., Onan, G. W., Hutu, I., Torda, I., Mircu, C. (2021): Effects of age and season on conception rate of Mediterranean Italian Dairy Buffalo (*Bubalus bubalis*) following oestrus synchronization and fixed-time artificial insemination. *Reproduction in Domestic Animals*. 56 (12): 1511-1518. <https://doi.org/10.1111/rda.14013>
129. Павловић, В., Вакањац, С., Магаш В., Малетић, М., Ђурић, М., Марковић, Д., Благојевић, М., Јовић, С. (2021): Породиљство, стерилитет и вештачко осемењавање. Уџбеник. Универзитет у Београду. Факултет ветеринарске медицине. ISBN 978-86-82038-02-03.
130. Pandya J. A. and Khan H. M. M. (2006): Buffalo Milk Utilization for Dairy Products. *Handbook of Milk of Non-Bovine Mammals*. 215-256. <http://dx.doi.org/10.1002/9780470999738.ch9>
131. Parlato, E. and Zicarelli, L. (2016): Effect of Calving Interval on Milk Yield in Italian Buffalo Population. *Journal of Buffalo Science*. E-ISSN: 1927-520X/16. 5, 18-22.
132. Pauciuillo, A., Cosenza, G., D'Avino, A., Colimoro, L., Nicodemo, D., Coletta, A., Feligini, M., Marchitelli, C., Di Berardino, D., Ramunno, L. (2010): Sequence analysis and genetic variability of stearoyl CoA desaturase (SCD) gene in the Italian Mediterranean river buffalo. *Molecular and Cellular Probes*. ISSN 0890-8508. 24 (6): 407-410. <https://doi.org/10.1016/j.mcp.2010.07.009>.
133. Pauciuillo, A., Cosenza, G., Steri, R., Coletta, A., La Battaglia, A., Di Berardino, D., Macciotta N. P. P., Ramunno, L. (2012): A single nucleotide polymorphism in the promoter region of river buffalo stearoyl CoA desaturase gene (SCD) is associated with milk yield. *Journal of Dairy Research*. 79 (4), 429 – 435. <https://doi.org/10.1017/S0022029912000507>
134. Pauciuillo, A., Gaspa, G., Zhang, Y., Liu, Q., Cosenza, G. (2024): *CSN1S1*, *CSN3* and *LPL*: Three Validated Gene Polymorphisms Useful for More Sustainable Dairy Production in the Mediterranean River Buffalo. *Animals*. 14 (10):1414. <https://doi.org/10.3390/ani14101414>
135. Pauciuillo, A., Martorello, S., Carkua, K., Versacea, C., Colettab, A., and Cosenza, G. (2021): A novel duplex ACRS-PCR for composite *CSN1S1*–*CSN3* genotype discrimination in domestic buffalo. *Italian Journal of Animal Science*. 20 (1): 1264–1269. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2021.1952912>
136. Penchev, P., Ilieva, Y., Dimov, K. (2014): Effect of Season of Birth on Season of Calving and Age at First Calving in Buffalo Heifers. *Agricultural Academy. Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 20 (2): 447-451.
137. Pereira C. P. (2014): Milk nutritional composition and its role in human health. *Nutrition*. 30 (6): 619-627. ISSN 0899-9007. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.10.011>
138. Perera B. M. A. O. (2011): Reproductive cycles of buffalo. *Animal Reproduction Science*. 24 (3–4), 194-199, ISSN 0378-4320, <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.022>
139. Перишић, П. (2013): Практикум из говедарства. Универзитет у Београду. Пољопривредни факултет. ISBN 978-86-7834-178-6.
140. Perišić, P., Bogdanović, V., Mekić, C., Ružić Muslić D., Stanojević, D., Popovac, M., Stepić, S. (2015): The importance of buffalo in milk production and buffalo population in Serbia. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 31 (2): 255-263.
141. Петровић П. М., Пантелић, В. (2015): Савремена селекција домаћих животиња. Институт за сточарство. Београд – Земун.
142. Петровић, М., Богдановић, В., Ракоњац, С. (2012): Практикум из биолошких основа сточарства. Универзитет у Крагујевцу, Агрономски факултет – Чачак. ISBN 978-86-87611-26-9.

143. Phogat J. B., Pandey A. K., Singh, I. (2016): Seasonality in Buffaloes Reproduction. International Journal of Plant, Animal and Environmental Sciences. Review article. ISSN 2231-4490. 6 (2).
144. Pineda P. S., Flores E. B., Herrera J. R. V., Low W. Y. (2021): Opportunities and Challenges for Improving the Productivity of Swamp Buffaloes in Southeastern Asia. Frontiers in Genetics. Sec. Livestock Genomics. 12:629861. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.629861>
145. Pramanik K. B., Batabyal, S., Maity, A., De, S., Chattopadhyay, S., Barui, A. (2022): Molecular Characterization of Buffalo α_{s1} -casein Gene. Buffalo Bulletin Original Article. Jul.-Sep. eISSN: 25395696. 41 (3).
146. Prasad, D. (2021): Morphometric Characterization and Factor Analysis of Buffaloes of Kosi Region of Bihar. Doctoral dissertation. Bihar Animal Sciences University. Patna, Bihar, India.
147. Purohit G. N. (2020): Bubaline Theriogenology (An eBook covering all aspects of reproduction in river, swamp and wild buffaloes). International Veterinary Information Service. Ithaca, New York.
148. Pushpadass, H. A., Emerald, F. M. E., Balasubramanyam, B. V., Patel, S. S. (2019): Rheological Properties of Milk-Based Beverages. Milk-Based Beverages. 9, 373–396. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815504-2.00011-6>
149. Putra W. P. B., Said, S., Arifin, J (2020): Principal Component Analysis (PCA) of Body Measurements and Body Indices in The Pasundan Cows. Black Sea Journal of Agriculture. 3, (1): 49-55.
150. Radovanovic, M., Hovjecki, M., Radulovic, A., Rac, V., Miocinovic, J., Jovanovic, R., Pudja, P. (2021): Rheology of buffalo milk rennet coagulation and gels affected by coagulation temperature, CaCl_2 , pH and milk heat treatment. International Dairy Journal. 121, 105122. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105122>
151. Radovanovic, M., Hovjecki, M., Stepić, S., Perišić, P., Miocinović J. (2022): Influence of buffalo heat treatment on kajmak composition and properties. Book of Abstracts 44th International Dairy Expert Symposium, 12-15 October. Rovinj. 93.
152. Radovanovic, M., Nedeljkovic, A., Miocinovic, J., Pavlovic, V., Pudja, P. (2020): Microstructure of kajmak skin layer made during kajmak production. Mljekarstvo 70 (3): 150-161. <https://doi.org/10.15567/mljekarstvo.2020.0302>
153. Rezende, M. P. G. de, Ferraz, P. C., Carneiro, P. L. S., Malhado, C. H. M. (2017): Phenotypic diversity in buffalo cows of the Jafarabadi, Murrah, and Mediterranean breeds. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 52 (8): 663–669. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2017000800012>
154. Rosati, A. and Van Vleck L. D. (2002): Estimation of genetic parameters for milk, fat, protein and mozzarella cheese production for the Italian river buffalo Bubalus bubalis population. Livestock Production Science 74, 185–190. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(01\)00293-7](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(01)00293-7)
155. Roustemis, D., Ragkos, A., Patousis, D., Theodoridis, A., Savvidou, S. (2016): Buffalo farming in Greece: Present and future. Ecosystem services and socio-economic benefits of Mediterranean grasslands. Zaragoza: CIHEAM. p. 355-358.
156. Roychoudhury, N. P. (1970): Effect of Service Period on the Milk Production and Lactation Length of Buffaloes in Italy. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.1970.tb02047.x>
157. Ruiz-Ramos, J., Torres-Chable O. M., Peralta-Torres J. A., Ojeda-Robertos N. F., Luna-Palomera, C., Portillo-Salgado, R., Tyasi T. L., Gurgel A. L. C., Ítavo L. C. V., Chay-Canul A. J. (2023): Estimation of body weight using body measurements in female water buffaloes reared in southeastern Mexico. Trop Anim Health Prod. 55, 137.
158. Rullo, R., Caira, S., Nicolae, I., Marino, F., Addeo, F., Scaloni, A. (2023): A Genotyping Method for Detecting Foreign Buffalo Material in Mozzarella di Bufala Campana Cheese Using Allele-Specific- and Single-Tube Heminested-Polymerase Chain Reaction. Foods. 12 (12): 2399. <https://doi.org/10.3390/foods12122399>

159. Safari, A., Hossein-Zadeh, N. G., Shadparvar, A. A., Arpanahi, R. A. (2018): A review on breeding and genetic strategies in Iranian buffaloes (*Bubalus bubalis*). Tropical Animal Health and Production. 50, 707–714. <https://doi.org/10.1007/s11250-018-1563-1>
160. Salque, M., Bogucki, P., Pyzel, J., Sobkowiak-Tabaka, I., Grygiel, R., Szmyt, M., Evershed P. R. (2013): Earliest evidence for cheese making in the sixth millennium BC in northern Europe. Nature. 493, 522–525. <https://doi.org/10.1038/nature11698>
161. Sanker, S., Kumar, D., Mandal K. G., Taggar R. K., Das A. K. (2014): Factors Influencing the Dry Period and Calving Interval in Different Grades of Buffaloes. Buffalo Bulletin. Original Article. 33 (1): 120-126.
162. Schaafsma, G. (2000): The Protein Digestibility–Corrected Amino Acid Score. The Journal of Nutrition. 130 (7): 1865S-1867S. ISSN 0022-3166. <https://doi.org/10.1093/jn/130.7.1865S>
163. Scholz-Ahrens K. E., Ahrens, F., Barth C. A. (2020): Nutritional and health attributes of milk and milk imitations. European Journal of Nutrition. 59, 19–34. <https://doi.org/10.1007/s00394-019-01936-3>
164. Schuchardt J. P., Huss, M., Stauss-Grabo, M., Hahn, A. (2010): Significance of long-chain polyunsaturated fatty acids (PUFAs) for the development and behaviour of children. European Journal of Pediatrics. 169 (2): 149 – 164. DOI:10.1007/s00431-009-1035-8.
165. Scirè Scappuzzo, R. (2013). Messa a punto di una metodica per la determinazione della resa casearia individuale del latte di Bufala mediterranea. Università degli Studi di Padova, Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse naturali e Ambiente. 1-46.
166. Shakerian, M., Kiani, H., Ehsani M. R. (2016): Effect of buffalo milk on the yield and composition of buffalo feta cheese at various processing parameters. Food Bioscience. 15, 110-117. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2016.06.002>
167. Shetty A. S., Young M. F., Taneja, S., Rangiah, K. (2020): Quantification of B-vitamins from different fresh milk samples using ultra-high performance liquid chromatography mass spectrometry/selected reaction monitoring methods. Journal of Chromatography A. 1609. ISSN 0021-9673. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460452>
168. Sindhu J. S. and Arora, S. (2011). Buffalo Milk. Reference Module in Food Science. Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition). 503-511. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00316-2>
169. Singh R. K., Kumar, B., Kumar, R., Kumar, S., Mandal K. G. (2020): Phenotypic Characterisation and Multivariate Analysis of Biometric Traits of Diara Buffalo of Bihar, India. Biological Forum – An International Journal. ISSN 2249-3239. 12 (1): 51-57.
170. Singh, J., Nanda A. S., Adams G. P. (2000): The reproductive pattern and efficiency of female buffaloes. Elsevier Animal Reproduction Science. 60–61, 593–604. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(00\)00109-3](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(00)00109-3)
171. Snel-Oliveira, M. V., Fidelis A. A., Borges P. H. R., Doroteu E. M., Valadares M. L., Wetzel-Gastal, D., Sartori, R., Neves J. P. (2010): Correlations between uterine involution, first estrus post calving and milk production on Murrah buffaloes. Revista Veterinaria. 21 (1): 837-839.
172. Soysal M. İ. (2013): Anatolian Water Buffaloes Husbandry in Turkey. Buffalo Bulletin. 32 (1): 293-309.
173. Станчић, И. (2014): Репродукција домаћих животиња. Уџбеник. Универзитет у Новом Саду – Пољопривредни факултет. ISBN 978-86-7520-310-0.
174. Steffl, A., Schreiber, R., Hafenmair, M., Kessler, H.G. (1999): Effect of denatured whey proteins on the rennet-induced aggregation of casein micelles. International Dairy Journal. 9 (3-6), 401-402. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(99\)00106-5](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(99)00106-5)
175. St-Gelais, D., Hache, S. (2005): Effect of β -casein concentration in cheese milk on rennet coagulation properties, cheese composition and cheese ripening. Food Research International. 38 (5): 523-31. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.11.006>

176. Степић, С. (2018): Морфометријске особине и квалитет млека домаћег бивола на подручју Пештера. Специјалистички рад. Универзитет у Београду – Пољопривредни факултет.
177. Степић, С., Перишић, П., Станојевић, Д., Стојановић, С. (2021): Могућности оплемењивања домаћег бивола у циљу побољшања млечности. Трећи симпозијум: Заштита агробiodиверзитета и очување аутохтоних раса домаћих животиња. Факултет ветеринарске медицине Универзитета у Београду. Димитровград, 25–27. јун.
178. Terzano, G. M., Mazzi, M., d'Elisi M. G., Cuscunà F. P., Borghese, A., Martiniello, P., Pacelli, C. (2007): Effect of intensive or extensive systems on buffalo heifers performances: Body measurements and respective indices. Italian Journal of Animal Science. 6 (2): 1237–1240. <https://doi.org/10.4081/ijas.2007.s2.1237>
179. Tulloch D. G. (1979): The Water Buffalo, *Bubalus bubalis*, in Australia: Reproductive and Parent-offspring Behaviour. Research Article. Australian Wildlife Research. 6 (3): 265 – 287. <https://doi.org/10.1071/WR9790265>
180. Tumino, S., Bognanno, M., Chessari, G., Tolone, M., Bordonaro, S., Mangano, F., Marletta, D., Avondo, M. (2023): Polymorphisms at Candidate Genes for Fat Content and Fatty Acids Composition: Effects on Sheep Milk Production and Fatty Acid Profile Using Two Dietary Supplementations. Animals. 13 (15): 2533. <https://doi.org/10.3390/ani13152533>
181. Ullah, R., Khan, S., Ali, H., Bilal, M., Saleem, M. (2017): Identification of cow and buffalo milk based on Beta carotene and vitamin-A concentration using fluorescence spectroscopy. PLOS One. 12 (5): e0178055. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178055>
182. Fabro M. A., Milanesio H. V., Robert L. M., Speranza J. L., Murphy, M., Rodríguez. G., Castañedaet, R. (2006): Technical Note: Determination of Acidity in Whole Raw Milk: Comparison of Results Obtained by Two Different Analytical Methods. Journal of Dairy Science. 89 (3):859–61. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72149-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72149-X)
183. Fan, X., Zhang, Z., Qiu, L., Zhang, Y., Miao, Y. (2019): Polymorphisms of the kappa casein (CSN3) gene and inference of its variants in water buffalo (*Bubalus bubalis*). Archives Animal Breeding. 62 (2): 585–596. <https://doi.org/10.5194/aab-62-585-2019>
184. FAO (2011): Molecular genetic characterization of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines. No. 9. Rome.
185. FAO (2012): Phenotypic characterization of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines No. 11. Rome.
186. FAO (2021): Genomic Characterization of Animal Genetic Resources – Draft Updated Technical Guidelines. Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture.
187. Fathy, A., Elsayed, D. H., Ibrahim, I. M., El-Azzazi F. E. (2023): Multivariate Analysis on Reproductive and Productive Traits of Egyptian Buffaloes. Journal of Advanced Veterinary Research. 13 (3): 394-399.
188. Fox P. F. and McSweeney P. L. H. (2003): Milk Proteins: General and Historical Aspects. Advanced Dairy Chemistry. 1, 1-48.
189. Hallén, E., Lundén, A., Allmere, T., Andrén, A. (2010): Casein retention in curd and loss of casein into whey at chymosin-induced coagulation of milk. Journal of Dairy Research. 77 (1): 71-76. <https://doi.org/10.1017/S0022029909990434>
190. Hao, M., Jiang, J., Zhang, Y., Wang, S., Fu, G., Zou, F., Xie, Y., Zhao, S., Li, W. (2021): Transcriptional profiling of buffalo mammary gland with different milk fat contents. Gene. 802. ISSN 0378-1119. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2021.145864>
191. Heck J. M. L., Schennink, A., van Valenberg H. J. F., Bovenhuis, H., Visker M. H. P. W., van Arendonk J. A. M., van Hooijdonk A. C. M. (2009): Effects of milk protein variants on the protein composition of bovine milk. Journal of Dairy Science. 92 (3): 1192–202. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1208>
192. Hoefflich, A., Noce, A., Brenmoehl, J., Wimmers, K., Thiele, M. (2020): Genome Research on Buffalo in Germany. Buffalo Newsletter. 36.

193. Hussain, I., Bell A. E., Grandison A.S. (2013): Mozzarella-Type Curd Made from Buffalo, Cows' and Ultrafiltered Cows' Milk. 1. Rheology and Microstructure. Food Bioprocess Technol. 6, 1729–1740. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0834-5>
194. Campanile, G., Baruselli P. S., Neglia, G., Vecchio, D., Gasparrini B., Gimenes, L. U., Zicarelli, L., D'Occhioc M. J. (2010): Ovarian function in the buffalo and implications for embryo development and assisted reproduction. Animal Reproduction Science. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.03.012>
195. Campanile, G., Di Palo, R., De Rosa, C., Peretti, V., Amante, L., Ciotola, F., & Coletta, A. (2003): Preliminary results on Mediterranean Italian Buffalo morfometry. Italian Journal of Animal Science. 2 (1): 337–339. <https://doi.org/10.4081/ijas.2003.11676004>
196. Canelón J. L. (2005): Phenotypic characteristics of the Criollo horse: observations in the Apure State. Archivos de zootecnia 54 (206–207): 217–220.
197. Cassiano L. A. P., Mariante A. da S., McManus, C., Marques J. R. F., Costa N. A. (2003): Phenotypic characterization of national Brazilian buffalo breeds and Baio type. (Caracterização fenotípica de raças bubalinas nacionais e do tipo Baio). Pesquisa Agropecuária Brasileira. 38 (11): 1337-1342. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2003001100013>
198. Charlton, S., Ramsøe, A., Collins, M., Craig E. O., Fischer, R., Alexander, M., Speller F. C. (2019): New insights into Neolithic milk consumption through proteomic analysis of dental calculus. Archaeological and Anthropological Sciences. Original Paper. 11, 6183–6196.
199. Cipolat-Gotet, C., Cecchinato, A., Malacarne, M., Bittante, G., Summer, A. (2018): Variations in milk protein fractions affect the efficiency of the cheese-making process. Journal of Dairy Science. 101 (10): 8788-8804. ISSN 0022-0302. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14503>
200. Claeys W. L., Verraes, C., Cardoen, S., De Block, J., Huyghebaert, A., Raes, K., Dewettinck, K., Herman, L. (2014): Consumption of raw or heated milk from different species: An evaluation of the nutritional and potential health benefits. Food Control. 42, 188-201. ISSN 0956-7135. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.01.045>
201. Cockrill W. R. (1974): The husbandry and health of the domestic buffalo. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
202. Corredig, M., Dalgleish, G. D. (1996): Effect of temperature and pH on the interactions of whey proteins with casein micelles in skim milk. Food Research International. 29 (1): 49-55.
203. Cosenza, G. , Pauciullo, A., Macciotta N. P. P., Apicella, E., Steri, R., La Battaglia, A., Jemma L., Coletta, A., Di Berardino D. and Ramunno L. (2014): Mediterranean river buffalo CSN1S1 gene: search for polymorphisms and association studies. Animal Production Science. 55 (5): 654-660 <https://doi.org/10.1071/AN13438>
204. Cosenza, G., Pauciullo, A., Coletta, A., Di Francia, A., Feligini, M., Gallo, D., Di Berardino, D., Ramunno, L. (2011): Short communication: Translational efficiency of casein transcripts in Mediterranean river buffalo. Journal of Dairy Science. 94 (11): 5691-5694.
205. Чобић, Т., Антов, Г. (1996): Говедарство: производња млека. Уџбеник. Универзитет у Новом Саду. Пољопривредни факултет. ISBN 86-80735-66-3.

Интернет странице:

206. FAO (2023): FAOSTAT. Преузето дана: 20.02.2025. године. Доступно на: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL>
207. Thermo Fisher Scientific (2025): What is Sanger sequencing? Преузето дана: 20.02.2025. године. Доступно на: <https://www.thermofisher.com/rs/en/home/life-science/sequencing/sequencing-learning-center/capillary-electrophoresis-information/what-is-sanger-sequencing.html>

7. ПРИЛОЗИ

Прилог 1. Утицај старости јединке на висину гребена женских грла (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	1251708	1	1251708	77690,78	0
Старост	358	2	179	11,1	0,000041
Грешка	1756	109	16		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 2. Утицај старости јединке на висину гребена женских грла (LSD – тест)

Старост (група)	{1}	{2}	{3}
1		**	***
2	0,008477		H3
3	0,000008	0,111997	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 3. Утицај старости јединке на висину крста женских грла (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	1297548	1	1297548	89097,65	0
Старост	44	2	22	1,5	0,227496
Грешка	1587	109	15		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 4. Утицај старости јединке на дужину трупа женских грла (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	1422320	1	1422320	23038,72	0
Старост	1321	2	660	10,7	0,000058
Грешка	6667	108	62		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 5. Утицај старости јединке на дужину трупа женских грла (LSD – тест)

Старост (група)	{1}	{2}	{3}
1		*	***
2	0,023133		H3
3	0,000015	0,050858	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 6. Утицај старости јединке на ширину груди женских грла (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	130045	1	130045	5550,547	0
Старост	13,6	2	6,8	0,291	0,748118
Грешка	2553,8	109	23,4		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 7. Утицај старости јединке на дубину груди женских грла (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	309907,4	1	309907,4	9356,094	0
Старост	483,9	2	241,9	7,304	0,001089
Грешка	3345,5	101	33,1		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 8. Утицај старости јединке на дубину груди женских грла (LSD – тест)

Старост (група)	{1}	{2}	{3}
1		НЗ	***
2	0,167689		*
3	0,00051	0,034388	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 9. Утицај старости јединке на предњу ширину карлице женских грла (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	196316,2	1	196316,2	10709,1	0
Старост	608,8	2	304,4	16,6	0,000001
Грешка	1998,2	109	18,3		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 10. Утицај старости јединке на предњу ширину карлице женских грла (LSD – тест)

Старост (група)	{1}	{2}	{3}
1		**	***
2	0,003197		*
3	0,000000	0,026175	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 11. Утицај старости јединке на ширину кукова (растојање зглобова кука) женских грла (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	160475,5	1	160475,5	12485,43	0
Старост	183,8	2	91,9	7,15	0,001209
Грешка	1401	109	12,9		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 12. Утицај старости јединке на ширину кукова (растојање зглобова кука) женских грла (LSD – тест)

Старост (група)	{1}	{2}	{3}
1		**	***
2	0,001927		НЗ
3	0,000446	0,863157	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 13. Утицај старости јединке на дужину карлице женских грла (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	78722,29	1	78722,29	6461,047	0
Старост	10,09	2	5,04	0,414	0,662999
Грешка	694,5	57	12,18		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 14. Утицај старости јединке на ширину (растојање) седњачних кврга женских грла (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	34157,59	1	34157,59	8180,931	0
Старост	124,57	2	62,29	14,918	0,000002
Грешка	455,1	109	4,18		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 15. Утицај старости јединке на ширину (растојање) седњачних кврга женских грла (LSD – тест)

Старост (група)	{1}	{2}	{3}
1		***	***
2	0,000063		НЗ
3	0,000000	0,639411	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 16. Утицај старости јединке на обим груди женских грла (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	2607303	1	2607303	23257,35	0
Старост	1756	2	878	7,83	0,000685
Грешка	11435	102	112		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 17. Утицај старости јединке на обим груди женских грла (LSD – тест)

Старост (група)	{1}	{2}	{3}
1		*	***
2	0,013576		НЗ
3	0,00014	0,347617	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 18. Утицај старости јединке на обим цеванице женских грла (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	27344,88	1	27344,88	13261,42	0
Старост	1,64	2	0,82	0,4	0,672563
Грешка	173,21	84	2,06		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 19. Утицај старости јединке на индекс формата (оквир) женских грла (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	962768,8	1	962768,8	25406,01	0
Старост	168,4	2	84,2	2,22	0,113341
Грешка	4092,7	108	37,9		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 20. Утицај старости јединке на индекс дубине груди женских грла (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	209574,6	1	209574,6	10420,44	0
Старост	119	2	59,5	2,96	0,056448
Грешка	2031,3	101	20,1		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 21. Утицај старости јединке на индекс збијености трупа женских грла (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	1486174	1	1486174	14355,32	0
Старост	36	2	18	0,17	0,842578
Грешка	10456	101	104		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 22. Утицај старости јединке на индекс масивности женских грла (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	1763941	1	1763941	29105,95	0
Старост	154	2	77	1,27	0,284164
Грешка	6182	102	61		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 23. Утицај старости јединке на индекс преграђености женских грла (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	877819,6	1	877819,6	169880,7	0
Старост	107,2	2	53,6	10,4	0,000075
Грешка	563,2	109	5,2		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 24. Утицај старости јединке на индекс преграђености женских грла (LSD – тест)

Старост (група)	{1}	{2}	{3}
1		**	***
2	0,009227		НЗ
3	0,000015	0,141349	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 25. Утицај старости јединке на карлично-грудни индекс (кукови) женских грла (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	690105,6	1	690105,6	6760,452	0
Старост	453,7	2	226,8	2,222	0,11327
Грешка	11126,7	109	102,1		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 26. Утицај старости јединке на карлично-грудни индекс (бедрене кврге) женских грла (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	567706,1	1	567706,1	6157,31	0
Старост	1298,4	2	649,2	7,041	0,001331
Грешка	10049,8	109	92,2		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 27. Утицај старости јединке на карлично-грудни индекс (бедрене кврге) женских грла (LSD – тест)

Старост (група)	{1}	{2}	{3}
1		НЗ	***
2	0,072094		НЗ
3	0,000368	0,10742	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 28. Утицај старости јединке на индекс облика карлице 1 женских грла (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	148618,3	1	148618,3	6793,052	0
Старост	51,5	2	25,8	1,177	0,311983
Грешка	2384,7	109	21,9		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 29. Утицај старости јединке на индекс облика карлице 2 женских грла (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	181046	1	181046	7264,164	0
Старост	139,5	2	69,8	2,799	0,065259
Грешка	2716,6	109	24,9		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 30. Утицај старости јединке на индекс дужине ногу женских грла (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	182514,5	1	182514,5	9074,964	0
Старост	119	2	59,5	2,958	0,056448
Грешка	2031,3	101	20,1		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 31. Утицај старости јединке на индекс кошчатости женских грла (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	18438,4	1	18438,4	14769,93	0
Старост	2,19	2	1,09	0,88	0,419936
Грешка	104,86	84	1,25		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 32. Утицај сезоне рођења плоткиње на узраст при првом тељењу изражен у месецима (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	54881,12	1	54881,12	5795,27	0
Сезона рођења плоткиње	1,06	3	0,35	0,037	0,990153
Грешка	397,74	42	9,47		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 33. Утицај сезоне тељења плоткиње на трајање сервис периода (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	596635,9	1	596635,9	904,0162	0
Сезона тељења	2629,3	3	876,4	1,3279	0,272924
Грешка	42898,9	65	660		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 34. Утицај тељења по реду плоткиње на трајање сервис периода (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	580059,6	1	580059,6	840,9464	0
Тељење по реду	693,2	3	231,1	0,335	0,800083
Грешка	44835	65	689,8		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 35. Утицај сезоне тељења плоткиње на трајање међутелидбеног интервала (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	11149712	1	11149712	16373,54	0
Сезона тељења	3344	3	1115	1,64	0,189119
Грешка	45624	67	681		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 36. Утицај тељења по реду плоткиње на трајање међутелидбеног интервала (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	7362709	1	7362709	9927,388	0
Тељење по реду	1419	3	473	0,638	0,594802
Грешка	31150	42	742		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 37. Утицај генотипа *CSN1S1* 472 G>C на параметре квалитета млека (t – тест)

Параметар	Mean	Mean	t-value	df	p	N	N	Std.Dev.	Std.Dev.	F-ratio	p
Протеини	4,57914	5,00156	-3,63134	40	0,000792	27	15	0,349318	0,382363	1,198149	0,666423
Казеин	3,45756	3,80556	-4,42974	39	0,000074	26	15	0,211798	0,288836	1,859779	0,170664
Маст	8,96568	9,21467	-0,75568	40	0,454271	27	15	0,954029	1,140492	1,429095	0,417567

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 38. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на параметре квалитета млека (Mann-Whitney U – тест)

Параметар	Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-level	Z	p-level	N	N	2*1sided
СМ	546,5	356,5	168,5	-0,8925	0,372126	-0,89257	0,372087	27	15	0,376445
СМБМ	521,5	381,5	143,5	-1,54875	0,121443	-1,54881	0,121428	27	15	0,122382
°SH	577	284	164	0,83906	0,401434	0,8391	0,401413	26	15	0,413562

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 39. Утицај генотипа *CSN3* 467C>T на параметре квалитета млека (t – тест)

Параметар	Mean	Mean	t-value	df	p	N	N	Std.Dev.	Std.Dev.	F-ratio	p
СМ	19,4058	19,814	-0,98113	38	0,332732	15	25	0,906232	1,445898	2,545639	0,072861
Протеини	4,67089	4,78947	-0,86994	38	0,389797	15	25	0,384888	0,435170	1,278347	0,644524
Казеин	3,48711	3,65861	-1,79646	37	0,080589	15	24	0,315219	0,273589	1,327479	0,530171
Маст	8,85311	9,16293	-0,91433	38	0,366308	15	25	0,969204	1,075361	1,231057	0,700286
°SH	8,47867	9,04069	-1,63556	37	0,110411	15	24	1,198529	0,937589	1,634076	0,286953

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 40. Утицај генотипа *CSN3* 467C>T на параметре квалитета млека (Mann-Whitney U – тест)

Параметар	Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-level	Z	p-level	N	N	2*1sided
СМБМ	285	535	165	-0,62859	0,52962	-0,62862	0,5296	15	25	0,543236

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 41. Вишеструка линеарна регресија *CSN1S1* и *CSN3* гена

N=39	Beta	Std. Err. of Beta	B	Std. Err. of B	t (36)	p-level
Intercept			3,335240	0,065478	50,93713	0,000000
<i>CSN1S1</i> 0,1+2	0,618287	0,12269	0,379677	0,075329	5,04028	0,000013
<i>CSN3</i> 0,1+2	0,325046	0,122669	0,196812	0,074275	2,64977	0,011890

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 42. Утицај генотипа *DGAT1* 9046T>C на параметре квалитета млека (t – тест)

Параметар	Mean	Mean	t-value	df	p	N	N	Std.Dev.	Std.Dev.	F-ratio	p
СМ	19,2495	19,7304	-0,92484	40	0,360593	7	35	1,049352	1,288754	1,508336	0,64043
Протеини	4,48714	4,77857	-1,75356	40	0,087166	7	35	0,290615	0,417904	2,067841	0,368321
Казеин	3,40905	3,62108	-1,78891	39	0,081398	7	34	0,242981	0,292643	1,450553	0,680816
Маст	8,86762	9,092	-0,52775	40	0,600589	7	35	1,126344	1,008301	1,247849	0,61425
°SH	8,8919	8,81716	0,16534	39	0,86953	7	34	1,090598	1,088972	1,002987	0,879964

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 43. Утицај генотипа *DGAT1* 9046T>C на параметре квалитета млека (Mann-Whitney U – тест)

Параметар	Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-level	Z	p-level	N	N	2*1sided
СМБМ	108	795	80	-1,43437	0,151467	-1,43443	0,15145	7	35	0,159631

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 44. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на RCT свежег млека биволица (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	2735,639	1	2735,639	7410,754	0
Генотип	127,381	2	63,691	172,536	0,000005
Грешка	2,215	6	0,369		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 45. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на RCT свежег млека биволица (LSD – тест)

Генотип (група)	GG1	GC1	CC1
GG1		**	***
GC1	0,001326		***
CC1	0,000016	0,000002	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 46. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на ST свежег млека биволица (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	8771,571	1	8771,571	17842,5	0
Генотип	207,096	2	103,548	210,63	0,000003
Грешка	2,95	6	0,492		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 47. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на ST свежег млека биволица (LSD – тест)

Генотип (група)	GG1	GC1	CC1
GG1		НЗ	***
GC1	0,577928		***
CC1	0,000002	0,000002	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 48. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на G' свежег млека биволица (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	262140,6	1	262140,6	186019,4	0,000000
Генотип	8288,2	2	4144,1	2940,7	0,000000
Грешка	8,5	6	1,4		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 49. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на G' свежег млека биволица (LSD – тест)

Генотип (група)	GG1	GC1	CC1
GG1		***	***
GC1	0,000000		***
CC1	0,000000	0,000001	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 50. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на GF свежег млека биволица (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	333390,8	1	333390,8	50436,91	0,000000
Генотип	8597,2	2	4298,6	650,31	0,000000
Грешка	39,7	6	6,6		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 51. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на GF свежег млека биволица (LSD – тест)

Генотип (група)	GG1	GC1	CC1
GG1		***	***
GC1	0,000000		***
CC1	0,000000	0,000023	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 52. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на AR свежег млека биволица (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	0,111511	1	0,111511	8052,016	0,000000
Генотип	0,001131	2	0,000566	40,840	0,000320
Грешка	0,000083	6	0,000014		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 53. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на AR свежег млека биволица (LSD – тест)

Генотип (група)	GG1	GC1	CC1
GG1		***	*
GC1	0,000116		***
CC1	0,029095	0,000964	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 54. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на RCT термички третираног млека биволица (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	1664,640	1	1664,640	4502,813	0,000000
Генотип	13,370	2	6,685	18,083	0,002881
Грешка	2,218	6	0,370		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 55. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на RCT термички третираног млека биволица (LSD – тест)

Генотип (група)	GG2	GC2	CC2
GG2		H3	**
GC2	0,358725		**
CC2	0,003542	0,001339	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 56. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на ST термички третираног млека биволица (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	12134,49	1	12134,49	16506,77	0,000000
Генотип	119,23	2	59,61	81,09	0,000045
Грешка	4,41	6	0,74		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 57. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на ST термички третираног млека биволица (LSD – тест)

Генотип (група)	GG2	GC2	CC2
GG2		**	***
GC2	0,001334		***
CC2	0,000401	0,000015	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 58. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на G' термички третираног млека биволица (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	151318,4	1	151318,4	907849,9	0,000000
Генотип	11450,7	2	5725,4	34349,9	0,000000
Грешка	1,0	6	0,2		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 59. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на G' термички третираног млека биволица (LSD – тест)

Генотип (група)	GG2	GC2	CC2
GG2		***	***
GC2	0,000000		***
CC2	0,000000	0,000000	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 60. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на GF термички третираног млека биволица (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	199005,2	1	199005,2	114152,1	0,000000
Генотип	12195,4	2	6097,7	3497,7	0,000000
Грешка	10,5	6	1,7		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 61. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на GF термички третираног млека биволица (LSD – тест)

Генотип (група)	GG2	GC2	CC2
GG2		***	***
GC2	0,000000		***
CC2	0,000000	0,000000	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 62. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на AR термички третираног млека биволица (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	0,030648	1	0,030648	66788,15	0,000000
Генотип	0,003070	2	0,001535	3345,07	0,000000
Грешка	0,000003	6	0,000000		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 63. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на AR термички третираног млека биволица (LSD – тест)

Генотип (група)	GG2	GC2	CC2
GG2		***	***
GC2	0,000002		***
CC2	0,000000	0,000000	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 64. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на лабораторијски принос сира од свежег млека биволица (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	9632,114	1	9632,114	16497,43	0,000000
Генотип	859,357	2	429,679	735,93	0,000000
Грешка	3,503	6	0,584		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 65. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на лабораторијски принос сира од свежег млека биволица (LSD – тест)

Генотип (група)	GG1	GC1	CC1
GG1		НЗ	***
GC1	0,270777		***
CC1	0,000000	0,000000	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 66. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на лабораторијски принос сира од термички третираног млека биволица (F – тест)

	SS	Degr. of	MS	F	p
Укупно	31858,68	1	31858,68	13940,77	0,000000
Генотип	937,65	2	468,83	205,15	0,000003
Грешка	13,71	6	2,29		

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

Прилог 67. Утицај генотипа *CSN1S1* 472G>C на лабораторијски принос сира од термички третираног млека биволица (LSD – тест)

Генотип (група)	GG2	GC2	CC2
GG2		***	***
GC2	0,000188		***
CC2	0,000020	0,000001	

*** (p<0,001), ** (p<0,01), * (p<0,05), н.з. (p>0,05)

8. БИОГРАФИЈА

Стефан Степић, рођен је 29. децембра 1990. године у Прокупљу. Основну школу завршио је 2005. године у Блацу. Средњу пољопривредну школу – смер ветеринарски техничар, завршио је у Прокупљу 2009. године.

Пољопривредни факултет, Универзитета у Београду, одсек за Зоотехнику уписао је школске 2009/2010. године. Дипломски рад под називом „Производне особине аустријског сименталца на подручју општине Блаце“, одбранио је 30.09.2014. године са оценом 10 (десет), чиме је стекао стручни назив дипломирани инжењер пољопривреде. Основне студије завршио је са просечном оценом 9,17.

Мастер академске студије уписао је школске 2014/2015. године на истом факултету. Положио је све испите прописане студијским програмом Пољопривредне науке, модул Зоотехника и дана 15.10.2015. године одбранио мастер рад под називом „Особине музности крава“ са оценом 10 (десет), чиме је завршио мастер академске студије (II ниво студија) са просечном оценом 9,71 и стекао академски назив мастер инжењер пољопривреде.

Специјалистичке академске студије уписао је школске 2016/2017. године на истом факултету. Специјалистички рад под називом „Морфометријске особине и квалитет млека домаћег бивола на подручју Пештера“, одбранио је 25. септембра 2018. године са оценом 10 (десет). Специјалистичке академске студије завршио је са просечном оценом 9,80 и стекао право на стручни назив специјалиста инжењер пољопривреде.

Као редован студент Универзитета у Београду-Пољопривредног факултета, уписао је прву годину докторских академских студија школске 2015/2016. године на студијском програму Пољопривредне науке, модул Зоотехника.

Током мастер студија и прве године докторских студија био је ангажован као демонстратор у настави. Као студент докторских академских студија био је стипендиста Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије.

Од фебруара 2017. године почиње са радом на Пољопривредном факултету Универзитета у Београду, где је изабран у звање сарадника у настави на катедри за Одгајивање и репродукцију домаћих и гајених животиња, а од 2019. године у звању је асистента на истој катедри.

У досадашњем истраживачком и научном раду објавио је 25 истраживачких радова као аутор или коаутор, од чега су 4 у часописима са SCI (Science Citation Index) листе. Учествовао је на многим међународним симпозијумима из сточарства и био је члан организационог одбора. Такође, учествовао је у реализацији 5 домаћих и 2 међународна пројекта. Његово поље истраживања обухвата одгајивање и репродукцију домаћих и гајених животиња, анималне генетичке ресурсе, производњу млека и меса.

Члан је Научног друштва за менаџмент дивљачи (GAMEST) и Европске федерације зоотехничара (EAAP).

Изјава 1

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора: **Стефан Степић**

Број индекса: **ЗО 150001**

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом:

Фенотипска и генетичка карактеризација домаћег бивола у Србији

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио ауторска права и користио интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, _____

Изјава 2

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора: **Стефан Степић**

Број индекса: **ЗО 150001**

Студијски програм: **Пољопривредне науке, модул Зоотехника**

Наслов рада: **Фенотипска и генетичка карактеризација домаћег бивола у Србији**

Ментор: **др Предраг Перишић, ванредни професор**

Други ментор: **др Маја Живковић, научни саветник**

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, _____

Изјава 3

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Фенотипска и генетичка карактеризација домаћег бивола у Србији

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио.

1. Ауторство (CC BY)

2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)

3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)

4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)

5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)

6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци. Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, _____

1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.