

UNIVERZITET U BEOGRADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET

Branko J. Jovetić, dr vet. med. spec.

UTICAJ DODAVANJA TANINA U OBROKE NA
METABOLIČKI PROFIL, PROIZVODNE I
REPRODUKTIVNE OSOBINE KRAVA
HOLŠTAJN-FRIZIJSKE RASE
doktorska disertacija

Beograd, 2020.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF AGRICULTURE

Branko J. Jovetić, dr vet. med. spec.

THE INFLUENCE OF TANNINS ADDITIVES ON
METABOLIC PROFILE, PRODUCTION AND
REPRODUCTIVE PERFORMANCES OF
HOLSTEIN-FRIESIAN COWS

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2020.

Mentor:

Dr Vesna Davidović, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

Članovi komisije:

Dr Bojan Stojanović, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

Dr Predrag Perišić, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

Dr Ivana Božičković, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet

Dr Milan Maletić, docent
Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine

Datum odbrane doktorske disertacije:

ZAHVALNOST

Zahvaljujem se mentoru prof. dr Vesni Davidović na nesebičnoj pomoći, angažovanju i savetima koji su mi pomogli prilikom pisanja ove disertacije.

Zahvalnost dugujem i svim članovima komisije na korisnim savetima i predlozima.

Veliku zahvalnost dugujem svojoj profesorki dr Mirjani Joksimović Todorović, redovnom profesoru u penziji, na pomoći i podršci tokom doktorskih studija i pisanja ove disertacije.

Svom prijatelju, dr Mihailu Radivojeviću, dugujem neizmernu zahvalnost za pomoć pri postavci i realizaciji oglada, kao i na nesebičnoj pomoći pri obradi rezultata sprovedenog oglada.

Svim kolegama iz tadašnje PKB korporacije, koji su me podržali i pomogli, želim da izrazim veliku zahvalnost i poštovanje.

Posebno bih želeo da se zahvalim svojoj porodici, ocu, majci i sestri, koji su me podržali uvek i u svemu.

UTICAJ DODAVANJA TANINA U OBROKE NA METABOLIČKI PROFIL, PROIZVODNE I REPRODUKTIVNE OSOBINE KRAVA HOLŠTAJN-FRIZIJSKE RASE

Rezime

Cilj ove doktorske disertacije je ispitivanje uticaja dodavanja različitih doza tanina iz kore divljeg kestena, u obroke mlečnih krava, na osnovne parametre metaboličkog profila, proizvodnju i hemijski sastav mleka, trajanje servis perioda i broj utrošenih doza semena po koncepciji. Ispitivanje je obavljeno na tri grupe od po 13 krava holštajn-frizijske rase. Na početku ogleda, grupe su bile ujednačene po količini proizvedenog mleka, fazi laktacije i laktaciji po redu, kao i telesnoj kondiciji. Ogledni period je trajao 90 dana. Krave su hranjene kompletno mešanim obrokom (TMR, Total Mixed Ration) u skladu sa njihovim proizvodnim potrebama, a razlika je bila u tome što krave I grupe nisu dobijale tanin (kontrolna grupa), krave II grupe su konzumirale 20 g Tanimila SCC (preparat sa taninima iz kore divljeg kestena, 40% tanina), a krave III grupe 40 g istog proizvoda (Tanin Sevnica, Slovenija).

Kod ispitivanih grupa krava razlike u prosečnim vrednostima ocene telesne kondicije nisu bile statistički značajne ($p > 0,05$) na kraju oglednog perioda.

Uzorkovanje krvi za biohemijsko ispitivanje metaboličkog profila vršeno je punkcijom repne vene (*v. coccigea*). U krvnom serumu su određivane vrednosti glukoze, β -hidroksibuterne kiseline (BHBA), ukupnih proteina, albumina, kalcijuma, fosfora i magnezijuma na kraju ogleda, a koncentracija uree je izmerena 60. dana ogleda i na kraju oglednog perioda.

Tokom oglednog perioda vršene su kontrole proizvodnje mleka po A4 metodi kontrole mlečnosti.

Hemijski sastav mleka (koncentracija mlečne masti, proteina, suve materije bez masti, kao i laktoze) određen je metodom infracrvene spektroskopije.

Reproduktivni pokazatelji (trajanje servis perioda i broj utrošenih doza semena po koncepciji) praćeni su kroz uobičajenu veterinarsku evidenciju na farmi.

Najniža koncentracija BHBA ($0,61 \pm 0,12$ mmol/L) je izmerena kod krava koje su konzumirale preporučenu dnevnu dozu tanina (40 g Tanimila SCC), što je statistički značajno niže ($p < 0,05$) u odnosu na krave koje su konzumirale 20 g, odnosno polovinu maksimalne preporučene doze preparata Tanimil SCC ($0,75 \pm 0,12$ mmol/L). Najveća koncentracija BHBA izmerena je kod krava koje nisu konzumirale tanine u obroku ($0,85 \pm 0,15$ mmol/L), što je statistički veoma značajna razlika u odnosu na krave koje su konzumirale maksimalnu preporučenu dozu tanina ($p < 0,01$). Dodavanje tanina u obroke mlečnih krava nije značajno uticalo na koncentraciju glukoze, ukupnih proteina, albumina, kalcijuma, fosfora i magnezijuma u krvi ($p > 0,05$). Nije bilo značajnog uticaja tanina na koncentraciju uree u krvi 60. dana, ali je značajan pozitivan efekat na smanjenje koncentracije uree u krvi utvrđen na kraju oglednog perioda kod grupa krava koje su konzumirale tanine. Koncentracija uree u krvi krava II grupe ($5,19 \pm 0,87$ mmol/L) i III grupe ($4,86 \pm 0,62$ mmol/L), na kraju oglednog perioda, bila je statistički vrlo značajno niža ($p < 0,01$) u odnosu na vrednosti utvrđene kod krava I grupe ($6,67 \pm 0,67$ mmol/L), a kao rezultat konzumiranja tanina.

Prosečna količina proizvedenog mleka je iznosila $38,43 \pm 4,62$ kg/dan kod kontrolne grupe, $39,55 \pm 3,98$ kg/dan kod grupe koja je konzumirala 20 g Tanimila SCC i $39,12 \pm 5,86$ kg/dan kod grupe kojoj je u obroke dodavano 40 g Tanimila SCC, a prinos proteina mleka kod ovih grupa je bio $1,19 \pm 0,15$ kg/dan vs $1,23 \pm 0,14$ kg/dan vs $1,21 \pm 0,19$ kg/dan. U odnosu na krave koje su konzumirale obrok bez dodatka tanina, krave koje su u toku oglednog perioda unosile 20 g Tanimila SCC dnevno, ostvarile su veći prosečan prinos mleka za 2,91%, dok je kod grupe krava kojoj je u obrok dodavano 40 g ovog preparata dnevno, mlečnost povećana za 1,8%. Nije bilo statistički značajnih razlika između tretmana u količini proizvedenog mleka korigovanog na sadržaj mlečne masti od 4% ($37,40 \pm 6,71$ kg/dan vs $37,08 \pm 5,00$ kg/dan vs $37,84 \pm 5,99$ kg/dan).

Vrednosti parametara hemijskog sastava mleka nisu se statistički značajno razlikovale između grupa ($p > 0,05$). Prosečne koncentracije mlečne masti ($3,79 \pm 0,61\%$ vs $3,58 \pm 0,49\%$ vs $3,79 \pm 0,47\%$ za kontrolnu i ogledne grupe, respektivno), proteina ($3,09 \pm 0,13\%$ vs $3,10 \pm 0,10\%$ vs $3,10 \pm 0,14\%$), laktoze ($4,58 \pm 0,13\%$ vs $4,60 \pm 0,10\%$ vs $4,49 \pm 0,19\%$) i suve materije bez masti ($8,38 \pm 0,24\%$ vs $8,39 \pm 0,18\%$ vs $8,30 \pm 0,24\%$) su bile ujednačene kod sve tri grupe krava.

Trajanje servis perioda III grupe krava ($145 \pm 21,78$ dana) bilo je statistički vrlo značajno niže ($p < 0,01$) u poređenju sa I grupom krava ($233,08 \pm 26,33$ dana) i II grupom krava ($209,54 \pm 32,79$ dana). Razlika u trajanju servis perioda između kontrolne grupe i grupe koja je konzumirala minimalnu dnevnu preporučenu dozu Tanimila SCC nije bila statistički signifikantna. Sa povećanjem količine konzumiranih tanina, smanjivao se broj utrošenih doza semena po koncepciji. Najveći broj doza semena po koncepciji ($4,00 \pm 0,58$ doza) utrošen je u kontrolnoj grupi koja nije konzumirala tanine, što je u odnosu na II i III grupu bila statistički vrlo značajna razlika ($p < 0,01$). Najmanji broj doza semena po koncepciji utrošen je u III grupi ($2,15 \pm 0,38$ doza) i to je bilo statistički vrlo značajno niže ($p < 0,01$) u odnosu na kontrolnu grupu i II grupu krava ($3,31 \pm 0,48$ doza).

Rezultati izvedenog istraživanja ukazuju da se Tanimil SCC koji sadrži 40% tanina iz kore divljeg kestena, može uspešno koristiti u obrocima za ishranu krava u laktaciji. Upotreba ovog preparata u preporučenoj dnevnoj dozi (20-40 g) u ishrani visokoproduktivnih krava ispoljava pozitivan efekat na zdravstveno stanje, proizvodnju mleka, pojedine parametre metaboličkog profila i reproduktivne parametre. Najniža koncentracija BHBA ustanovljena je u krvi krava koje su konzumirale najvišu preporučenu dnevnu dozu tanina, pri čemu je koncentracija glukoze bila približno ista kod sve tri grupe krava, što ukazuje na doznu zavisnost nivoa BHBA od konzumiranih tanina. Signifikantno niža koncentracija uree u krvi krava koje su dobijale tanine, može ukazivati na efikasniju iskoristivost proteina hrane i dovesti u vezu sa skraćanjem trajanja servis perioda i smanjenjem broja utrošenih doza semena po koncepciji. Istovremeno, nisu utvrđeni nepovoljni efekti primene tanina na ostale biohemijske parametre krvi i hemijski sastav mleka.

Ključne reči: tanini, visokoproduktivne krave, ishrana krava, metabolički profil, proizvodnja mleka, reproduktivne osobine

Naučna oblast: Zootehnika

Uža naučna oblast: Ishrana, fiziologija i anatomija domaćih i gajenih životinja

UDK broj: 636.2.084:636.234]:547.587.2(043.3).

THE INFLUENCE OF TANNINS ADDITIVES ON METABOLIC PROFILE, PRODUCTION AND REPRODUCTIVE PERFORMANCES OF HOLSTEIN-FRIESIAN COWS

Summary

The aim of this doctoral dissertation is to examine the effect of adding different doses of tannin from wild chestnut bark to dairy cows' diet, on the basic parameters of metabolic profile, milk production and chemical composition, number of open days and number of straws used per one conception. The test was performed on three groups of 13 Holstein-Friesian cows. At the beginning of the trial, the groups were aligned in the amount of milk produced, lactation phase and order of lactation, as well as physical condition. The trial period lasted 90 days. The cows were fed Total Mixed Ration (TMR) in accordance with their production needs. The difference was that the cows from group I did not receive tannin (control group), cows in group II consumed 20 g of Tanimil SCC (product with tannins from wild chestnut bark, 40% tannins), while cows assigned to group III consumed 40 g of the same product (Tanin Sevnica, Slovenia).

The differences in the average values of the assessment of body condition were not statistically significant ($p > 0.05$) in the examined groups of cows at the end of the experimental period.

Blood sampling for biochemical examination of the metabolic profile was performed by venipuncture of the coccygeal vein (*v. coccigea*). The values of glucose, β -hydroxybutyric acid (BHBA), total proteins, albumin, calcium, phosphorus and magnesium were measured in the blood serum at the end of the trial, and the urea concentration was measured on the 60th day of the trial and at the end of the trial period.

During the trial period controls of milk production were performed by using A4 method of milk control.

The chemical composition of milk (concentration of milk fat, protein, dry matter without fat, and lactose) was determined by infrared spectroscopy.

Reproductive indicators (service period duration and number of semen doses used per conception) were monitored through the usual veterinary records on the farm.

The lowest concentration of BHBA (0.61 ± 0.12 mmol/L) was measured in cows that consumed the recommended daily dose of tannin (40 g Tanimil SCC), which was statistically significantly lower ($p < 0.05$) compared to cows that consumed 20 g, half of the maximum recommended dose of Tanimil SCC (0.75 ± 0.12 mmol/L). The highest concentration of BHBA was measured in cows that did not consume tannins in the diet (0.85 ± 0.15 mmol/L), which is a statistically very significant difference compared to cows that consumed the maximum recommended dose of tannins ($p < 0.01$). The addition of tannin to the diet of dairy cows did not significantly affect the concentration of glucose, total protein, albumin, calcium, phosphorus and magnesium in the blood ($p > 0.05$). There was no significant effect of tannin on blood urea concentration on day 60, but a significant positive effect on blood urea concentration reduction was found at the end of the trial period in groups of cows that consumed tannin. The concentration of urea in the blood of cows from group II (5.19 ± 0.87 mmol/L) and group III (4.86 ± 0.62 mmol/L), at the end of the trial period, was statistically considerably lower ($p < 0.01$) in relation to the values determined in cows of group I (6.67 ± 0.67 mmol/L), as a result of tannin consumption.

The average amount of milk produced in the control group was 38.43 ± 4.62 kg/day, 39.55 ± 3.98 kg/day in the group that consumed 20 g of Tanimil SCC and 39.12 ± 5.86 kg/day in the group to which 40 g of Tanimil SCC was added to the rations, and the milk protein yield in these groups was 1.19 ± 0.15 kg/day vs 1.23 ± 0.14 kg/day vs 1.21 ± 0.19 kg/day. Cows that consumed 20 g of Tanimil SCC per day during the experimental period, achieved a 2.91% higher average milk yield, compared to cows that consumed meals without added tannins, while in the group of cows to which 40 g of the product was added to rations per day, the milk yield increased by 1.8%. There

were no statistically significant differences between treatments in the amount of milk produced adjusted for milk fat content of 4% (37.40 ± 6.71 kg/day vs 37.08 ± 5.00 kg/day vs 37.84 ± 5.99 kg/day).

The values of the parameters of the chemical composition of milk did not differ statistically significantly between the groups ($p>0.05$). Average concentrations of milk fat ($3.79\pm 0.61\%$ vs $3.58\pm 0.49\%$ vs $3.79\pm 0.47\%$ for control and experimental groups, respectively), protein ($3.09\pm 0.13\%$ vs $3.10\pm 0.10\%$ vs $3.10\pm 0.14\%$), lactose ($4.58\pm 0.13\%$ vs $4.60\pm 0.10\%$ vs $4.49\pm 0.19\%$) and non-fat dry matter ($8.38\pm 0.24\%$ vs $8.39\pm 0.18\%$ vs $8.30\pm 0.24\%$) were uniform in all three cow groups.

The service period duration of cows in group III (145 ± 21.78 days) was statistically very significantly lower ($p<0.01$) compared to cows from group I (233.08 ± 26.33 days) and group II (209.54 ± 32.79 days). The difference in the service period duration between the control group and the group that consumed the minimum daily recommended dose of Tanimil SCC was not statistically significant. The number of semen doses used per conception decreased, as the amount of tannins consumed increased. The largest number of semen doses per conception (4.00 ± 0.58 doses) was consumed in the control group that did not consume tannins, which was a statistically very significant difference compared to groups II and III ($p<0.01$). The lowest number of semen doses per conception was consumed in group III (2.15 ± 0.38 doses) and it was statistically very significantly lower ($p<0.01$) compared to the control group and group II (3.31 ± 0.48 doses).

The results of the performed research indicate that Tanimil SCC, which contains 40% of tannins from the chestnut bark, can be successfully used in feeding of lactating cows. The use of this product in the recommended daily dose (20-40 g) in the diet of high-yielding cows has a positive effect on health, milk production, certain parameters of the metabolic profile and reproductive parameters. The lowest concentration of BHBA was found in the blood of cows that consumed the highest recommended daily dose of tannins, with the concentration of glucose being approximately the same in all three groups of cows, which indicates the dose dependence of BHBA levels on the consumed tannins. Significantly lower concentrations of urea in the blood of cows that consumed tannins may indicate more efficient utilization of feed protein and be associated with a shortening of the service period duration and a reduction in the number of semen doses consumed per conception. At the same time, no adverse effects of tannin application on other biochemical parameters of blood and chemical composition of milk were determined.

Keywords: tannins, high producing dairy cows, nutrition of cows, metabolic profile, milk production, reproductive traits.

Scientific Field: Zootechnique

Focused Scientific Field: Nutrition, physiology and anatomy of domestic and reared animals

UDC number: 636.2.084:636.234]:547.587.2(043.3).

SPISAK SKRAĆENICA

- BHBA**– β -hydroxybutyric acid (β -hidroksibuterna kiselina)
- CP**–Crude Protein (sirovi protein)
- CT**–Condensed Tannins (kondenzovani tanini)
- FCM**–Fat Corrected Milk (mleko korigovano na mlečnu mast)
- HT**–Hydrolyisable Tannins (hidrolizabilni tanini)
- MUN**–Milk Urea Nitrogen (azot iz uree u mleku)
- NDF**–Neutral Detergent Fibre (neutralna deterdžentska vlakna)
- NEL**–Neto Energija za Laktaciju
- NRC**–National Research Council (Nacionalni istraživački savet SAD)
- OTK**–Ocena Telesne Kondicije
- PEG**–Polietilen Glikol
- PUN**–Plasma Urea Nitrogen (azot iz uree u krvnoj plazmi)
- RDP**–Rumen Degradable Protein (protein razgradiv u rumenu)
- RUP**–Rumen Undegradable Protein (protein nerazgradiv u rumenu)
- SM**–Suva Materija
- SMBM**–Suva Materija Bez Masti
- TM**–Telesna Masa
- TMR**–Total Mixed Ration (kompletno mešani obrok)

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE.....	3
2.1. Struktura i hemijske osobine tanina	3
2.1.1. Definicija i klasifikacija tanina.....	3
2.1.2. Hemijske osobine tanina	9
2.2. Rasprostranjenost tanina u prirodi.....	10
2.3. Efekti tanina u ishrani preživara	11
2.3.1. Uticaj tanina na obim konzumacije hrane	12
2.3.2. Uticaj tanina na fermentaciju u buragu	13
2.3.3. Uticaj tanina na svarljivost u intestinalnom traktu	15
2.3.4. Toksičnost tanina	16
2.4. Uticaj tanina na biohemijske parametre krvi i zdravstveno stanje preživara	17
2.4.1. Ocena telesne kondicije (OTK)	17
2.4.2. Biohemijski parametri krvi	17
2.4.3. Prevencija naduna.....	20
2.4.4. Kontrola endoparazitoza	20
2.5. Uticaj tanina na proizvodne osobine preživara i hemijski sastav mleka	21
2.6. Uticaj tanina na reproduktivne osobine preživara	25
3. CILJ I ZADACI ISTRAŽIVANJA	30
4. MATERIJAL I METODE RADA	32
4.1. Ogledne životinje	32
4.1.1. Ishrana krava	33
4.1.2. Uzorkovanje krvi krava za laboratorijska ispitivanja	34
4.2. Metode ispitivanja metaboličkog profila, proizvodnih i reproduktivnih parametara.....	35
4.2.1. Ispitivanje biohemijskih parametara krvi.....	35
4.2.2. Kontrola mlečnosti krava	36
4.2.3. Uzorkovanje mleka za hemijsku analizu	36
4.2.4. Ispitivanje hemijskog sastava mleka	38
4.2.5. Ispitivanje reproduktivnih parametara	39
4.2.6. Statistička obrada podataka.....	39
5. REZULTATI ISPITIVANJA	40
5.1. Rezultati ispitivanja biohemijskih parametara krvi.....	40
5.1.1. Koncentracija glukoze	40
5.1.2. Koncentracija β-hidroksibuterne kiseline (BHBA)	42
5.1.3. Koncentracija ukupnih proteina	43
5.1.4. Koncentracija albumina	44

5.1.5. Koncentracija uree 60. dana ogleda i na kraju oglednog perioda	45
5.1.6. Koncentracija kalcijuma (Ca).....	48
5.1.7. Koncentracija fosfora (P)	49
5.1.8. Koncentracija magnezijuma (Mg).....	50
5.2. Rezultati ispitivanja proizvodnje mleka	51
5.2.1. Količina proizvedenog mleka.....	51
5.2.2. Količina proizvedenog mleka korigovana na sadržaj mlečne masti od 4%	52
5.2.3. Prinos proteina.....	53
5.3. Rezultati ispitivanja hemijskog sastava mleka.....	54
5.3.1. Koncentracija mlečne masti	54
5.3.2. Koncentracija proteina.....	55
5.3.3. Koncentracija laktoze	56
5.3.4. Koncentracija suve materije bez masti	57
5.4. Rezultati ispitivanja reproduktivnih parametara krava.....	58
5.4.1. Trajanje servis perioda.....	58
5.4.2. Utrošak doza semena po koncepciji	59
6. DISKUSIJA	60
6.1. Biohemijski parametri krvi krava.....	60
6.2. Proizvodnja mleka.....	66
6.3. Reproaktivne osobine krava.....	70
7. ZAKLJUČAK.....	75
8. LITERATURA	78
PRILOZI.....	95
BIOGRAFIJA.....	110
Izjava o autorstvu.....	111
Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada.....	112
Izjava o korišćenju	113

1. UVOD

Jedan od osnovnih problema u ishrani preživara, u uslovima krmne baze u zemlji i regionu je višak razgradivih i deficit nerazgradivih proteina u obroku, kako u apsolutnom odnosu, tako i u relativnom odnosu prema pojedinim frakcijama ugljenih hidrata i brzini njihove razgradnje u buragu.

U odnosu na brojne zemlje u okruženju, proizvođači u našoj zemlji se suočavaju sa problemom relativno više cene soje i proizvoda na bazi soje u ishrani preživara. Razlozi su brojni, a jedan od njih je svakako i zakonsko ograničenje u pogledu upotrebe proizvoda na bazi genetski modifikovane soje. Može se očekivati da će u budućem periodu udeo suncokreta u obrocima mlečnih goveda biti sve veći na račun soje i da će se time već nepovoljan odnos proteinskih frakcija i dalje dodatno pogoršavati.

Sistemi koji su zasnovani na ispaši muznih krava smatraju se ekonomski korisnijim u poređenju sa proizvodnim sistemima zasnovanim na kompletno mešanom obroku tj. TMR (Total Mixed Ration), jer imaju pozitivan uticaj na životnu sredinu, zbog smanjene potrebe za energijom fosilnih goriva u proizvodnji i transportu hrane (*Dillon i sar., 2005*). Kompletno mešani obroci u ishrani krava, često sadrže više razgradivih proteina nego što ih mogu iskoristiti ruminalni mikroorganizmi, što uzrokuje prekomerno oslobađanje amonijaka u rumenu. Može se povećati metaboličko opterećenje organizma, naročito tokom rane laktacije, zbog dodatne potrošnje energije koja je potrebna za detoksikaciju prekomerne količine ruminalnog amonijaka (*Lobley i sar., 1995*). Apsorpcija i metabolizam ovog amonijaka dovode do povećanja nivoa uree u krvi, mleku i urinu (*Roseler i sar., 1993; Spek i sar., 2013*). *Bruinenberg i sar. (2002)* su ukazali na visoko izlučivanje azota putem urina, zbog neravnoteže između sadržaja proteina u hrani i sadržaja energije kod krava, što može imati štetne efekte i na životnu sredinu (*Dijkstra i sar., 2013*).

Istraživačke aktivnosti treba usmeriti ka iznalaženju rešenja za smanjenje disbalansa proteinskih frakcija i poboljšanje iskoristivosti azota kroz upotrebu raznih aditiva na bazi prirodnih materija. Tanini su sekundarni biljni metaboliti koji imaju potencijal redukcije intenziteta akumulacije amonijačnog azota u intraruminalnom prostoru, što ih čini pogodnim u uslovima ishrane krava obrocima sa viškom razgradivih proteina.

Kondenzovani tanini formiraju reverzibilne i ireverzibilne komplekse sa celulozom, hemicelulozom, pektinom, alkaloidima, nukleinskim kiselinama i mineralima (*McSweeney i sar., 2001*), kao i sa razgradivim proteinima u buragu (*Hagerman i Butler, 1981*). Formirani kompleksi štite proteine od razgradnje u rumenu (*Waghorn, 2008*), što dovodi do promene izlučivanja azota urinarnim putem i fecesom (*Carulla i sar., 2005*).

Upotreba biljnih ekstrakata u cilju zaštite zdravlja, poboljšanja proizvodnih i reproduktivnih karakteristika životinja poslednjih godina dobija na značaju. Mnogobrojne sprovedene studije su imale za cilj da ispituju uticaj specifičnih klasa bioaktivnih molekula, kao što su tanini i saponini, na

mikrofloru buraga, poboljšanje prirasta, smanjenje emisije metana i poboljšanje kvaliteta mleka i mesa, naročito u smislu postizanja optimalnog masnokiselinskog sastava. Uključivanje određenih biljaka ili dodavanje njihovih ekstrakata u obroke, pruža mogućnost modifikovanja masnokiselinskog sastava animalnih proizvoda, pa se na taj način može proizvesti kvalitetnija hrana za ishranu ljudi. Korišćenje biljnih ekstrakata u cilju eliminacije infestacija nematodama je uglavnom bazirano na upotrebi polifenola, pri čemu je utvrđen direktan i indirektan antinematodni efekat tanina. U stočarskoj proizvodnji se u velikoj meri koriste različiti komercijalni preparati, kao što su antibiotici, kokcidiostatici, hemoterapeutici i drugi lekovi. Upotreba antibiotika u subterapijskim dozama, dovela je do povećanja rezistencije mikroorganizama, što se negativno odražava na zdravlje životinja, kao i do pojave rezidua antibiotika u animalnim proizvodima, što ima brojne štetne efekte na zdravlje ljudi. Zabrana upotrebe antibiotika u hrani za životinje u profilaktičke svrhe i kao stimulatora rasta od 2006. godine u zemljama Evropske Unije, dovela je do većeg interesovanja za upotrebu biljnih ekstrakata. Tanini dovode do smanjenja broja patogenih mikroorganizama, a stimulišu razvoj korisne mikroflore u crevima.

Hymes-Fecht i sar. (2013) navode da je zamena silaže lucerke (*Medicago sativa*) silažom zvezdana (*Lotus corniculatus*) sa visokim sadržajem tanina, u kompletno mešanom obroku, poboljšala proizvodne osobine i iskorišćavanje azota kod krava u laktaciji. Mlečne krave koje su konzumirale zvezdan (*Lotus corniculatus*) na pašnjacima (*Harris i sar., 1998; Turner i sar., 2005*) ili su hranjene svežim zvezdanom (*Woodvard i sar., 2000*) takođe su pokazale poboljšanje proizvodnih osobina u poređenju sa kravama koje su hranjene višegodišnjim engleskim ljuļjem (*Lolium perenne*) i belom detelinom (*Trifolium repens*).

Biljni ekstrakti ispoljavaju brojne pozitivne efekte na zdravlje, proizvodne i reproduktivne osobine životinja, ali je neophodno primeniti ih u određenoj koncentraciji da bi se postigao optimalan efekat, jer dodati u količini većoj od potrebne, mogu ispoljiti štetna dejstva.

2. PREGLED LITERATURE

Tanini su kompleksna grupa polifenolnih jedinjenja prisutna u velikom broju biljaka koje najčešće konzumiraju preživari. Podeljeni su u dve glavne grupe: kondenzovane (CT) i hidrolizabilne (HT) tanine. Dugo vremena se smatralo da su tanini štetni za preživare, ali to je samo uslovno tačno, jer delovanje tanina zavisi od vrste, hemijske strukture, molekulske težine i unete količine, kao i od vrste i fiziološkog statusa životinje koja ih konzumira. Visoke koncentracije tanina smanjuju obim unošenja hrane i svarljivost hranljivih materija, dok niže koncentracije mogu poboljšati proces varenja hrane, uglavnom zbog smanjenja razgradnje proteina u buragu i veće stope njihovog prolaska do postruminalnih partija digestivnog trakta. Pozitivni efekti tanina u ishrani životinja manifestuju se kroz poboljšanje proizvodnih i reproduktivnih osobina, kao i očuvanje zdravlja (*Spek i sar., 2013; Girard i sar., 2016*).

Kondenzovani tanini (CT) mogu uticati na buražnu biohidrogenaciju polinezasićenih masnih kiselina iz hrane i poboljšati odnos nezasićenih masnih kiselina u mleku i siru (*Girard i sar., 2016*).

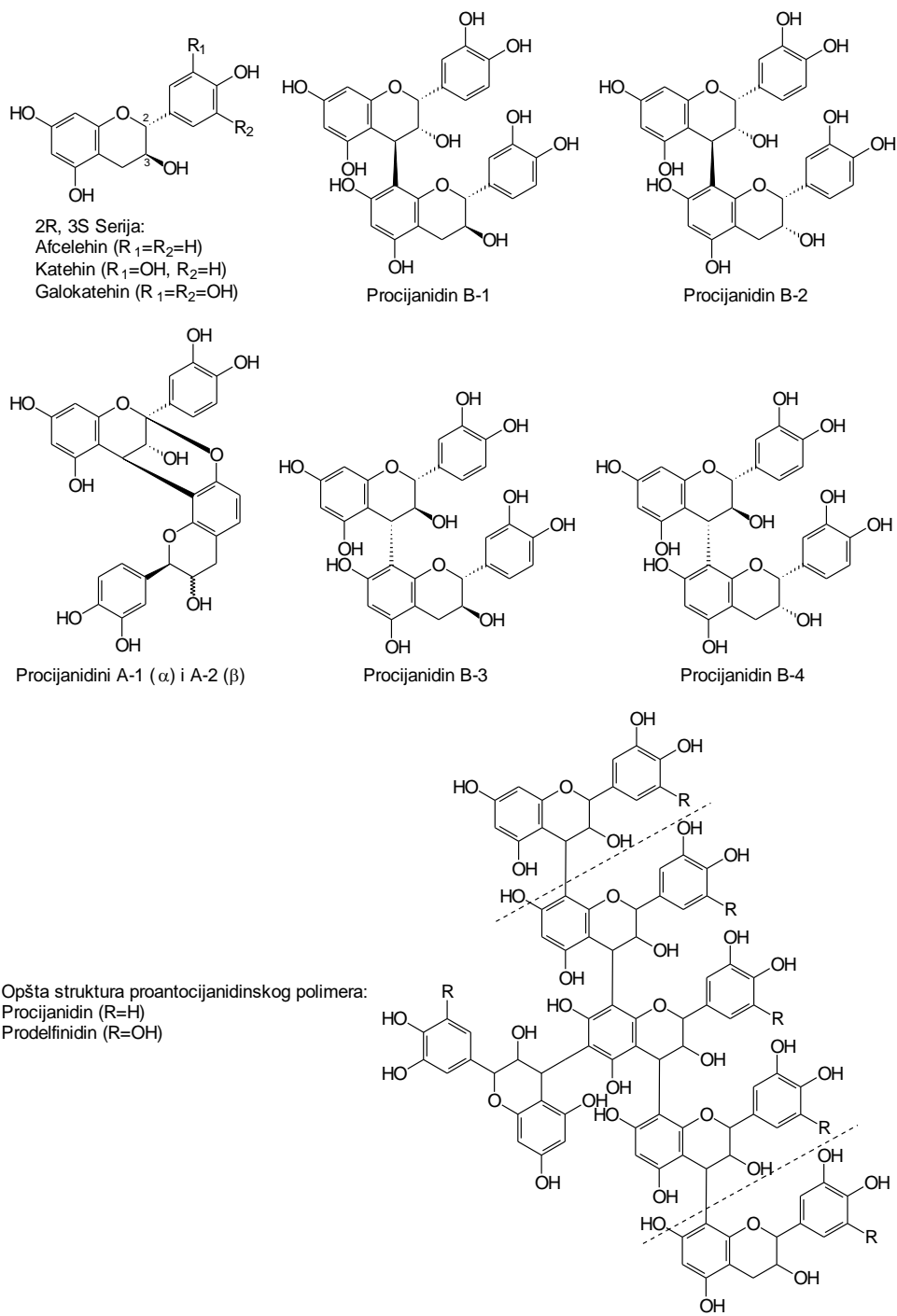
2.1. Struktura i hemijske osobine tanina

Tanini su sekundarni biljni metaboliti koji se odavnina koriste u ishrani životinja i ljudi. Naziv ove grupe jedinjenja potiče od francuske reči *tan*, što znači kora crnog hrasta, koja se koristi za štavljenje kože.

2.1.1. Definicija i klasifikacija tanina

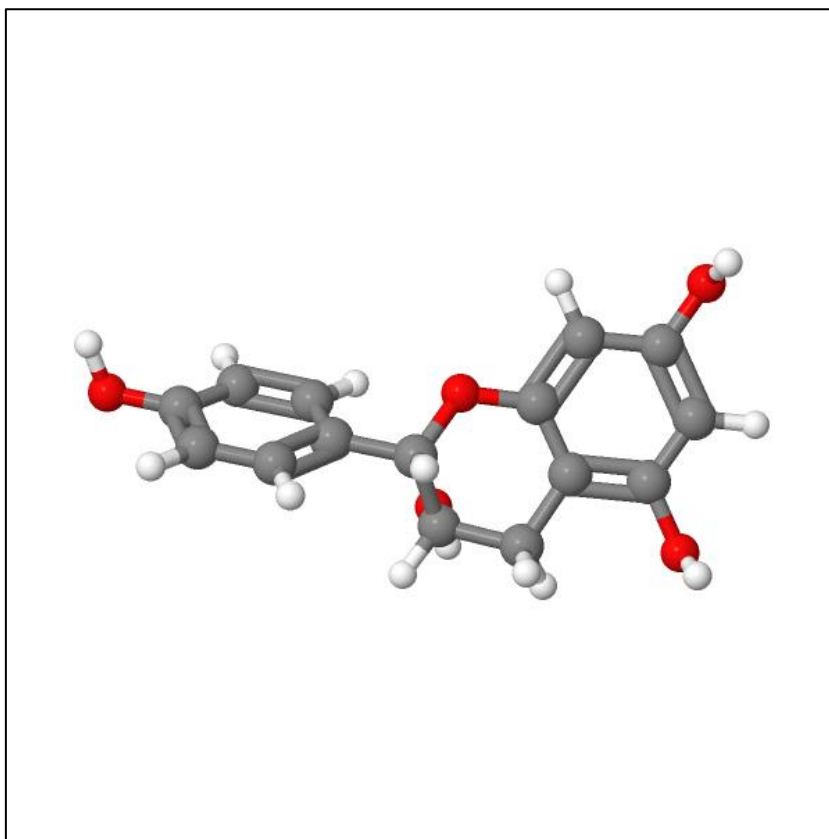
Tanini su raznovrsni oligomeri i polimeri (*Harborne, 1999; Schofield i sar., 2001*), a predstavljaju heterogenu grupu fenolnih jedinjenja velike molekulske težine, sa svojstvom da formiraju reverzibilne i ireverzibilne komplekse uglavnom sa proteinima, polisaharidima (celulozom, hemicelulozom, pektinima, itd.), alkaloidima, nukleinskim kiselinama i mineralima (*McLeod, 1974; Mole i Waterman, 1987; Mangan, 1988; Mueller-Harvey i McAllan, 1992; Van Soest, 1994; Giner-Chavez, 1996; Schofield i sar., 2001, Salem i sar., 2013*).

Kondenzovani tanini (CT) ili proantocijanidini su nerazgranati polimeri flavonolnih jedinica (flavan-3-ol, flavan-3,4-diol) koji imaju veću molekulsku težinu u odnosu na hidrolizabilne tanine (1000-20000 Da u odnosu na 500-3000 Da) (*McLeod, 1974; Mueller-Harvey i McAllan, 1992; Mueller-Harvey, 1999*).



Slika 1. Kondenzovani tanini (*Veličković, 2013*)

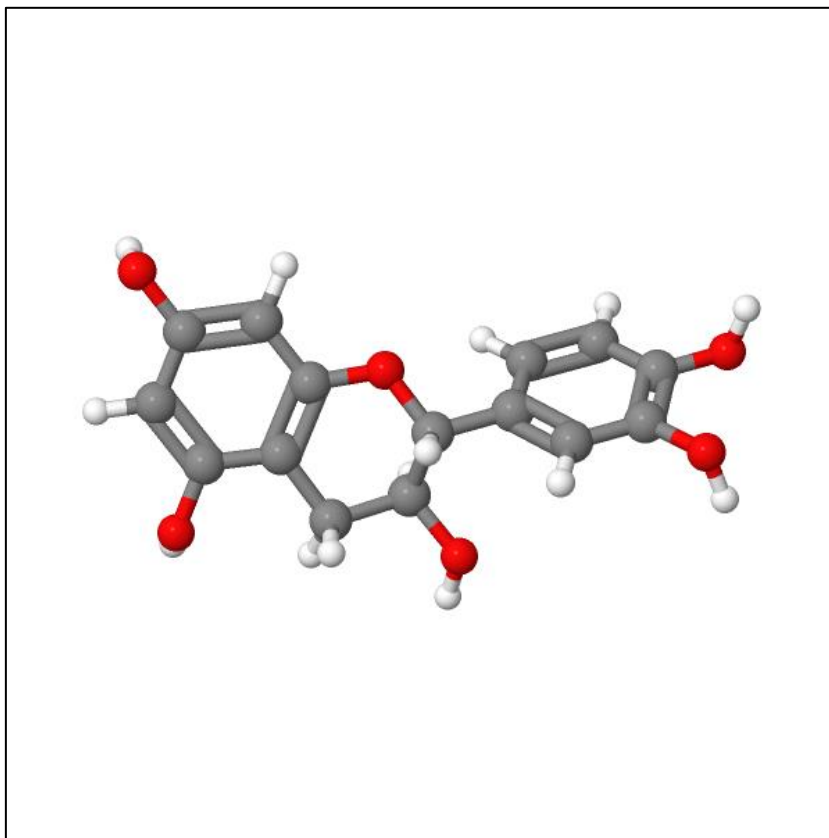
Strukturne, trodimenzionalne formule pojedinih kondenzovanih tanina (afcehlin, katehin, galokatehin) su prikazane na slikama 2, 3 i 4.



Slika 2. Afcelehin

(Izvor: <https://chemapps.stolaf.edu/jmol/jmol.php?model=C1>)

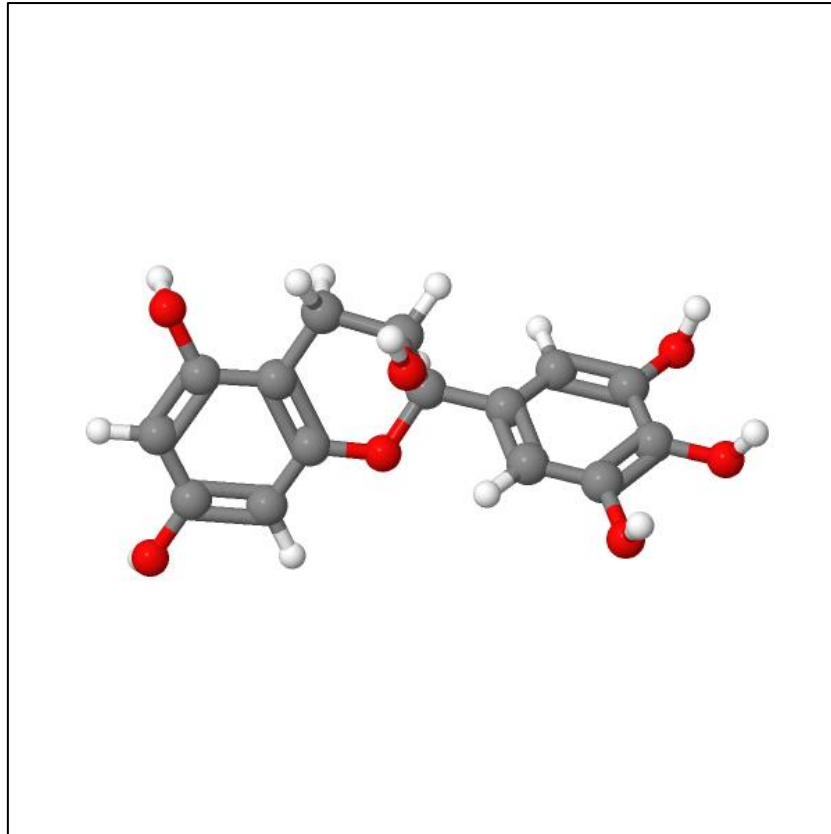
Pristupljeno 07.02.2020.



Slika 3. Katehin

(Izvor: <https://chemapps.stolaf.edu/jmol/jmol.php?model=Oc1ccc>)

Pristupljeno 07.02.2020.

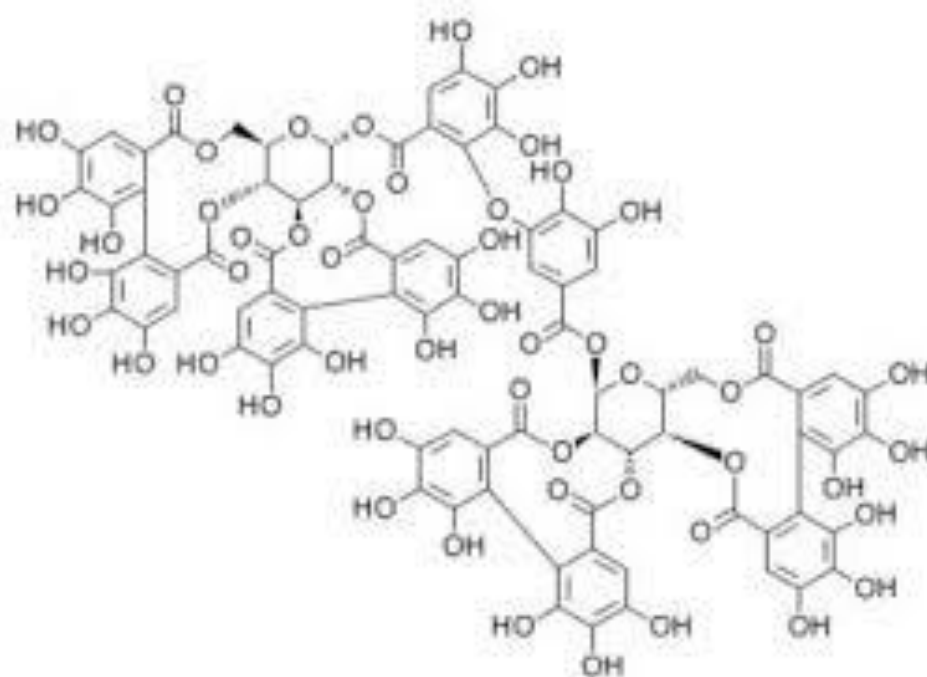
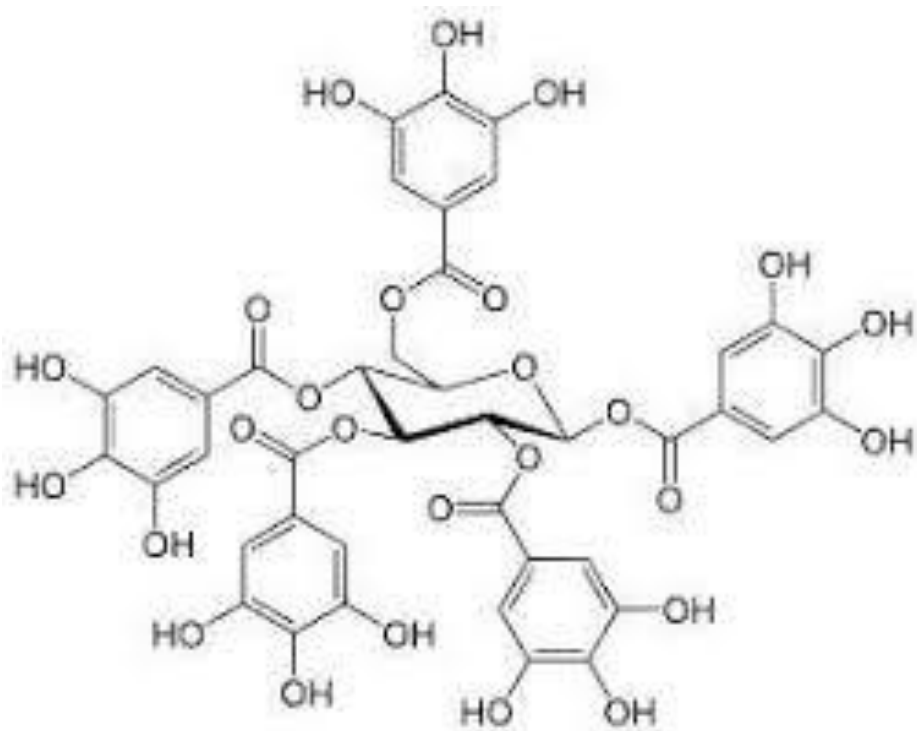


Slika 4. Galokatehin

(Izvor: <https://chemapps.stolaf.edu/jmol/jmol.php?model=O>)

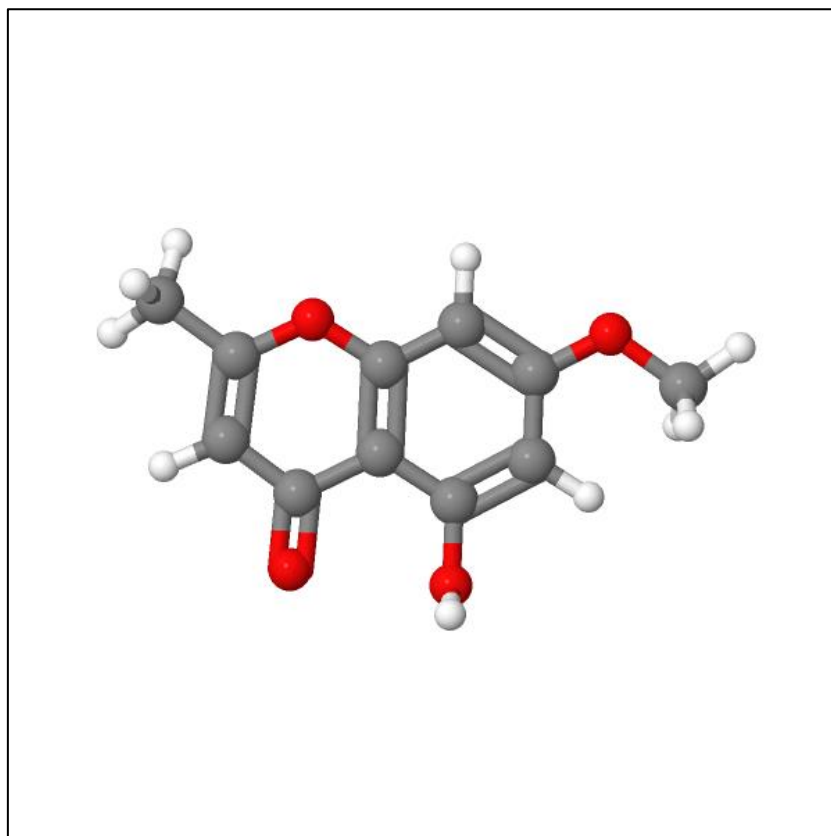
Pristupljeno 07.02.2020.

Hidrolizabilni tanini (HT) se sastoje od ugljenohidratnog jezgra čije su hidroksilne grupe esterifikovane fenolnim kiselinama (uglavnom galna i heksahidroksidifenilna kiselina) (*Frutos i sar., 2004*).



Slika 5. Hidrolizabilni tanini (Aguirre i sar., 2015)

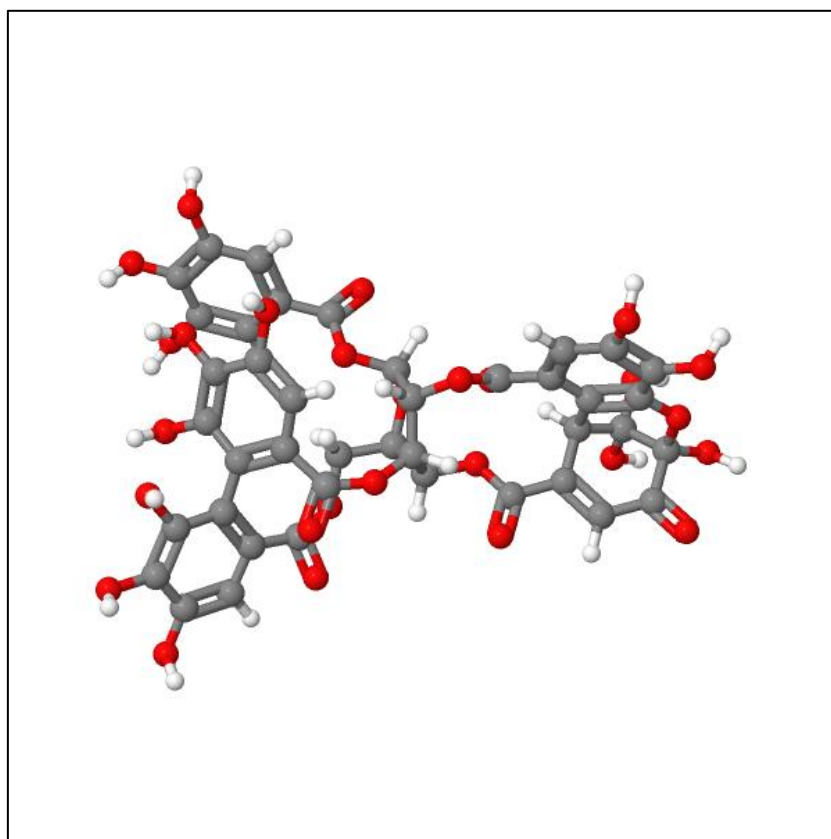
Na slikama 6, 7 i 8 su prikazane trodimenzionalne formule nekih hidrolizabilnih tanina (eugenin, geranin, kastalagin).



Slika 6. Eugenin

(Izvor: <https://chemapps.stolaf.edu/jmol/jmol.php?model=COc1cc>)

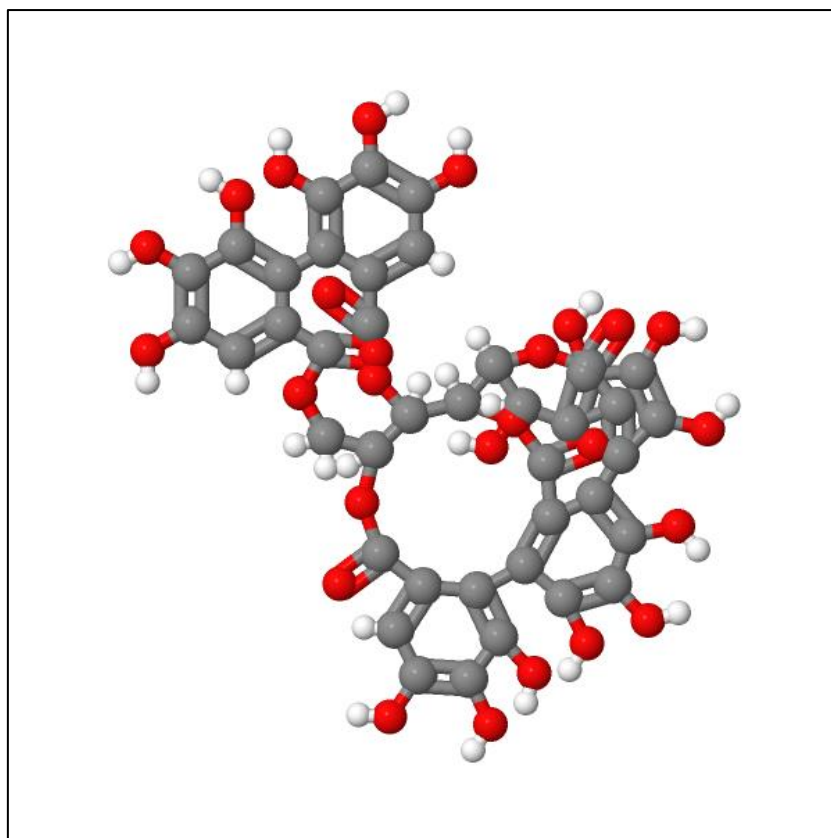
Pristupljeno 07.02.2020.



Slika 7. Geranin

(Izvor: <https://chemapps.stolaf.edu/jmol/jmol.php?model=Oc1>)

Pristupljeno 07.02.2020.



Slika 8. Kastalagin

(Izvor: <https://chemapps.stolaf.edu/jmol/jmol.php?model=C1C2C>)

Pristupljeno 07.02.2020.

Ova podela tanina je najšire prihvaćena, ali mnogi autori smatraju da ne odražava u potpunosti njihovu hemijsku strukturu i složenost (*Mole i Waterman, 1987; Mueller-Harvey i McAllan, 1992; Van Soest, 1994; Mueller-Harvey, 1999*).

2.1.2. Hemijske osobine tanina

Tanini koji potiču iz različitih biljnih vrsta imaju različite fizičke i hemijske osobine (*Mangan, 1988*), pa zbog toga imaju i različite biološke karakteristike (*Zucker, 1983*). Hidrolizabilni tanini su rastvorljivi u vodi, imaju nižu molekulsku težinu i veću osjetljivost na enzimsku i neenzimsku hidrolizu od kondenzovanih tanina. Visok afinitet tanina za proteine, potiče od velikog broja fenolnih grupa koje se mogu vezati sa karbonilnim grupama peptida (*McLeod, 1974; Hagerman i Butler, 1991; Leinmüller i sar., 1991; Hagerman i sar., 1992*).

Formiranje kompleksa između tanina i proteina je specifično, a stepen afiniteta između molekula koji učestvuju u reakciji vezivanja zavisi od njihovih hemijskih karakteristika (*McLeod, 1974; Zucker, 1983; Mangan, 1988; Hagerman i Butler, 1991*). Faktori koji taninima omogućavaju formiranje kompleksa sa proteinima su njihove relativno velike molekulske težine i velika strukturalna fleksibilnost (*McLeod, 1974; Hagerman i Butler, 1991; Mueller-Harvey i McAllan, 1992*).

Proteini koji pokazuju najveći afinitet za tanine su relativno veliki i hidrofobni, imaju otvorenu, fleksibilnu strukturu i bogati su prolinom (*Kumar i Singh, 1984; Hagerman i Butler, 1991; Hagerman i sar., 1992; Mueller-Harvey i McAllan, 1992*).

Kompleksi formirani između tanina i proteina ili drugih jedinjenja uglavnom su nestabilni. Veze između njih se stalno prekidaju i ponovo formiraju. Dugo se verovalo da formiranje

tanin-proteinskih kompleksa uglavnom nastaje vodoničnim vezama. Međutim, danas je poznato da su hidrofobne interakcije takođe važne.

Kumar i Singh (1984) navode da se kompleksi tanina i proteina mogu ostvariti preko četiri vrste veza:

1) vodoničnim vezama (reverzibilne i zavisne od pH) između hidroksilnih radikala fenolnih grupa i kiseonika iz amidnih grupa proteina;

2) hidrofobnim interakcijama (reverzibilne i zavisne od pH) između aromatičnog prstena fenolnih jedinjenja i hidrofobnih regiona proteina;

3) jonskim vezama (reverzibilne) između fenolatnog jona i katjenskog dela proteina (isključivo kod hidrolizabilnih tanina);

4) kovalentnim vezivanjem (nepovratno) kroz oksidaciju polifenola do hinona i njihovom naknadnom kondenzacijom sa nukleofilnim grupama proteina.

Hagerman (1989) je potvrdio da formirani kompleksi između tanina i proteina, u zavisnosti od vrste formirane veze, mogu biti reverzibilni ili ireverzibilni. Ako se između jedinjenja ostvare nekovalentne veze (vodonične, hidrofobne, Van der Valsova sila) novonastali kompleksi su reverzibilni, a ukoliko su veze kovalentne formirani kompleksi su ireverzibilni. *Le Bourvellec i Renarda (2012)* navode da na interakciju između proteina i tanina utiče njihova koncentracija, struktura tanina (molekulska težina, konformacija, fleksibilnost, rastvorljivost u vodi), struktura proteina (veličina, konformacija, sastav aminokiselina), kao i priroda medijuma u kojem se odvijaju interakcije (rastvarač, temperatura, pH, jonska jačina).

2.2. Rasprostranjenost tanina u prirodi

Tanini su široko rasprostranjeni u carstvu biljka, naročito su prisutni u sastavu drveća, žbunja i zeljastih mahunarki (*McLeod, 1974; Perevolotsky, 1994*), a broj biljnih vrsta kod kojih su ova jedinjenja utvrđena je porastao sa unapređenjem različitih tehnika detekcije.

Kondenzovani tanini su najčešći tip tanina u krmnim mahunama, grmovima i listovima drveća (*Min i sar., 2003*). Mnoge od ovih biljaka su široko dostupne i pogodne za ishranu preživara (*Vasta i sar., 2008*). Zbog toga se njihova upotreba u ishrani preživara razmatra kao mogućnost eksploatacije alternativnih izvora hrane koji bi zamenili deo koncentrata žitarica u ishrani životinja, posebno kod malih preživara. Time bi se smanjili troškovi proizvodnje koji se odnose na hranu za životinje, a istovremeno poboljšao kvalitet animalnih proizvoda (*Vasta i Luciano, 2011*). Hidrolizabilni tanini se mogu naći samo kod dikotiledonih biljaka, dok se kondenzovani tanini mogu naći i u golosemenicama (*Gymnospermae*) i u skrivenosemenicama (*Angiospermae*) (*Scalbert i sar., 1989; Silanikove i sar., 2001*). Pri tom, *Waghorn (2008)* navodi da se hidrolizabilni i kondenzovani tanini mogu nalaziti u istoj biljci.

Tanini se nalaze u biljnim vrstama iz tropskih ili sušnih i polusušnih oblasti (*Giner-Chavez, 1996; Balogun i sar., 1998*), a mnoge vrste sa značajnim sadržajem tanina rastu u okruženju sa atlantskim ili mediteranskim uticajem. Rodovi koji sadrže tanine pripadaju porodici Betulaceae (*Betula*), Cesalpiniaceae (*Ceratonia*), Cistaceae (*Cistus*), Cupresaceae (*Juniperus*), Ericaceae (*Calluna, Erica, Vaccinium*), Fagaceae (*Castanea, Quercus*), Leguminaceae (*Cytisus, Genista, Lathyrus, Lotus, Medicago, Onobrychis, Trifolium*), Poaceae (*Holcus, Hordeum, Lolium, Sorghum, Triticum*), Rosaceae (*Crataegus, Rosa, Rubus*) i Salicaceae (*Salix*) (*Terril i sar., 1992; Jackson i sar., 1996; Barry i McNabb, 1999; Frutos i sar., 2002; Hervás i sar., 2003b*).

Tanini su najviše zastupljeni u listovima i cvetovima (*Terril i sar, 1992; Van Soest, 1994; Alvarez del Pino i sar., 2001*). Na sadržaj tanina u biljci utiču životna sredina, sezonski faktori, kao i fenološka faza razvoja biljaka. Visoka spoljašnja temperatura, nedostatak vode, ekstremni intenzitet svetla i loš kvalitet zemljišta povećavaju sadržaj tanina u biljkama (*Rhoades, 1979; Van Soest, 1994*). Sezonske varijacije, koje su u korelaciji sa fenološkom fazom, utiču na različitu potražnju biljke za hranljivim materijama. Tokom perioda rasta, kada biljke proizvode mnogo biomase, malo resursa je na raspolaganju za sintezu fenolnih jedinjenja, ali tokom cvetanja, kada se

rast biljke smanjuje, višak ugljenika može biti dostupan i iskorišćen za sintezu tanina (*Iason i sar., 1993*).

2.3. Efekti tanina u ishrani preživara

U zavisnosti od hemijske strukture tanina i njihove koncentracije u obroku, sastava obroka, kao i faktora koji su u osnovi povezani sa životinjama, kao što su vrsta i fiziološko stanje, efekat tanina kod preživara na proizvodne osobine i kvalitet njihovih proizvoda, može biti štetan ili koristan (*Makkar i sar., 2007; Waghorn, 2008; Piluzza i sar., 2014*).

Kondenzovani tanini prisutni u hrani u nižim koncentracijama, mogu igrati važnu ulogu u povećanju nutritivne vrednosti hrane, kvalitetu animalnih proizvoda, zdravlju i dobrobiti životinja. Jedan od najvažnijih efekata CT kod preživara je povezan sa njihovom sposobnošću da poboljšaju iskoristivost proteina iz hrane u digestivnom traktu. Kompleksi formirani između proteina i tanina su stabilni pri ruminalnom pH (5,5 do 7) i na taj način se sprečava prekomerna mikrobn razgradnja proteina. Razgradnja kompleksa nastaje premeštanjem u abomasum (pH 2,5 do 3,5), a zatim se u tankom crevu (pH>7,5) oslobođeni proteini razlažu do aminokiselina koje se resorbuju (*Jones i Mangan, 1977; Mueller-Harvey, 2006*). Rezultati ispitivanja sprovedenih *in vitro* i *in vivo* su potvrdili smanjenje razgradivosti proteina hrane usled prisustva CT u ishrani, uglavnom zbog značajnog smanjenja početne rastvorljivosti (*Min i sar., 2003; Theodoridou i sar., 2010; Dentinho i sar., 2014*). Upotreba sojine sačme sa dodatkom kondenzovanih tanina ekstrahovanih iz mediteranske biljke *Cistus ladanifer* L. (Cistaceae) u količini od 15 g/kg može značajno da smanji razgradivost proteina u rumenu, bez narušavanja efektivne razgradnje suve materije i svarljivosti hranljivih materija u celom digestivnom traktu (*Dentinho i sar., 2014*).

Hagerman i Butler (1991) navode da tanini mogu biti korisni ili štetni za preživare, što zavisi od strukture i molekularne težine, kao i količine koja se konzumira. Aplikovane količine treba uzeti sa velikim oprezom, jer različite analitičke metode, a naročito različiti izvori tanina (kuebracho, taninska kiselina, katehin, cianidin, delfinidin ili interni standardi iz same biljke) mogu dati vrlo različite, a često i kontradiktorne rezultate (*Giner-Chavez, 1996; Schofield i sar., 2001*).

Neželjeni efekti koji nastaju dodavanjem velikih količina tanina u obroke ogledaju se u smanjenju obima konzumacije hrane, svarljivosti vlakana i proteina, kao i proizvodnih osobina životinja (*Min i sar., 2003; Makkar i sar., 2007; Waghorn, 2008*). U siromašnim područjima sa malim brojem biljnih resursa i gde je većina raspoloživih vrsta bogata taninima, vrlo je važno izvršiti obradu izvora tanina u cilju smanjenja ili sprečavanja negativnih efekata tanina. Kvašenja hrane vodom ili alkalnim rastvorima mogu razdvojiti ova fenolna jedinjenja iz najhranljivijih delova, čime se smanjuje njihova aktivnost. Koriste se tretmani sa ureom ili pepelom od drveta, kao dobrog i jeftinog izvora alkalija, kao i sečenje i skladištenje lišća, pri čemu inaktivacija tanina verovatno nastaje usled njegove oksidacije i polimerizacije u više inertne polimere (*Makkar, 2001*).

Obrada tanina se može vršiti tanin vezujućim sredstvima kao što su: polietilen glikol (PEG), polivinil-polipirolidon, kalcijum hidroksid (*Murdiati i sar., 1990; Makkar i sar., 1995; Ben Salem i sar., 1999 i 2000; Makkar, 2001*). Utvrđeno je da polietilen glikol sprečava formiranje kompleksa tanina i proteina, a može i da odvoji proteine iz formiranog kompleksa tanina i proteina (*Makkar i sar., 1995; Getachew i sar., 2000; Hervás i sar., 2001*). Ovo jedinjenje se takođe koristi u ratarstvu (*Ben Salem i sar., 1999, 2000; Gilboa i sar., 2000*) za tretiranje taninom bogate stočne hrane, u sušnim i polusušnim regionima, u cilju poboljšanja njihove digestivne iskoristivosti kod preživara.

Nasuprot tome, optimalne količine tanina mogu sprečiti pojavu naduna, poboljšati iskoristivost proteina tokom varenja, delovati na unutrašnje parazite, podstaći rast životinje, uticati pozitivno na rast vune i proizvodnju mleka (*Min i sar., 2003; Waghorn, 2008; Piluzza i sar., 2014*). Poznati su tanini koji imaju i antioksidativnu aktivnost, a neke studije ukazuju da tanini u ishrani mogu poboljšati antioksidativni status životinja (*Gladine i sar., 2007a; Lopez-Andres i sar., 2013*).

U istraživanjima *Lopez-Andres i sar. (2013)* ukupno šesnaest jagnjadi je bilo podeljeno u dve grupe i hranjeno na dva različita načina. Kontrolnu grupu (C) je činila polovina ispitivanih životinja, dok je ogledna grupa hranjena isto kao C grupa sa dopunom kuebracho tanina (C + T).

Cilj ove studije je bio da se proceni da li kuebriho tanini mogu poboljšati antioksidativni status i da li je takvo poboljšanje rezultat direktnog prenosa fenolnih jedinjenja ili njihovih metabolita u tkiva. Uzorci hrane, jetre i plazme su prečišćeni ekstrakcijom na čvrstoj fazi i analizirani tečnom hromatografijom na fenolna jedinjenja. Glavne vrste tanina koji su identifikovani u kuebriho obogaćenom obroku bili su profisetinidini, ali fenolna jedinjenja nisu utvrđena u ispitivanim tkivima jagnjadi. Jetra i plazma jagnjadi hranjenih C + T obrocima pokazali su veći antioksidativni kapacitet od tkiva poreklom od jagnjadi koja su hranjena C obrokom, ali samo kada uzorci nisu prečišćeni ekstrakcijom na čvrstoj fazi. Na osnovu dobijenih rezultata istraživanja, zaključeno je da se profisetinidinski tanini iz kuebriho ne razgrađuju ili ne apsorbuju u gastrointestinalnom traktu, ali da izazivaju antioksidativne efekte u životinjskim tkivima.

Odnedavno su interesantne biljke i biljni ekstrakti bogati taninima koji se koriste kao nutritivni dodaci u cilju poboljšanja kvaliteta proizvoda preživara. Ovo se posebno odnosi na sastav masnih kiselina i oksidativnu stabilnosti animalnih proizvoda. Upotreba biljaka ili biljnih ekstrakata bogatih taninima u ishrani, dovodi do povećanja nivoa korisnih masnih kiselina u mesu i mleku i poboljšanja oksidativne stabilnosti mesa (*Gravador i sar., 2015*). Međutim, potencijalni štetni efekti tanina na proizvodne osobine životinja i organoleptička svojstva njihovih proizvoda predstavljaju glavno ograničenje za praktičnu primenu ove nutritivne strategije.

2.3.1. Uticaj tanina na obim konzumacije hrane

Unos biljnih vrsta sa visokim sadržajem CT (više od 50 g/kg suve materije) značajno smanjuje obim konzumacije hrane, dok umeren ili nizak unos (manje od 50 g/kg suve materije) nema uticaja na obim konzumacije hrane (*Barry i Duncan, 1984; Barry i Manley, 1984; Waghorn i sar., 1994a*).

Barry i McNabb (1999) ukazuju da negativan efekat unošenja *Lotus pedunculatus* (sadržaj kondenzovanih tanina veći od 50 g/kg suve materije), na obim konzumacije hrane kod ovaca na ispaši, nije utvrđen kada iste životinje umesto ove biljne vrste, konzumiraju *Lotus corniculatus* koji sadrži kondenzovane tanine u koncentraciji od 34-44 g/kg suve materije. *Hervás i sar. (2003c)* su intraruminalno davali ovcama različite količine kuebriho CT ekstrakta (0; 0,5; 1,5 i 3,0 g/kg telesne mase/dan, što je ekvivalent sa 0, 28, 83 i 166 g/kg suve materije konzumirane u ishrani) i utvrdili da su životinje pojele svu hranu koja im je ponuđena, osim onih životinja koje su dobile najvišu dozu (166 g/kg suve materije). Nakon 5 do 6 dana ove životinje nisu konzumirale hranu.

Efekat hidrolizabilnih tanina je takođe bio varijabilan, a uglavnom zavisi od unete količine. *McSweeney i sar. (1988)* su utvrdili da nema značajnog smanjenja obima konzumacije hrane kod ovaca čija ishrana uključuje *Terminalia oblongata*, vrstu sa niskim sadržajem HT (34 g/kg suve materije). Međutim, smanjenje konzumacije hrane nastaje kada su životinje hranjene sa *Clidemia hirta*, žbunom sa visokim sadržajem HT (više od 50 g/kg suve materije). *Fruetos i sar. (2004)* su utvrdili da nema smanjenja obima konzumacije hrane kod ovaca kojima je obezbeđena hrana koja sadrži u obroku soju tretiranu sa HT (20,8 g HT/kg suve materije hrane). Međutim, u ogledu sa ovcama koje su kroz obroke dobijale 8 g taninske kiseline po kilogramu telesne mase, obim konzumacije hrane drastično je opao posle 24 h (od 1,8 do 2,5 g SM/ kg TM) (*Zhu i sar., 1992*).

Postoje tri načina kojima se mogu objasniti negativni efekti visokih koncentracija tanina u obrocima na obim konzumacije hrane: smanjenje ukusnosti hrane, usporavanje pasaže i razvoj uslovne odbojnosti.

Smanjenje ukusnosti hrane može biti prouzrokovano reakcijom između tanina i pljuvačnih mukoproteina, ili neposrednom reakcijom sa receptorima ukusa kada tanini mogu izazvati adstringentan (opor) ukus (*McLeod, 1974*). Mnoge vrste biljojeda zasnivaju svoju ishranu na biljnim vrstama sa visokim sadržajem tanina, a u njihovoj pljuvački se nalaze proteini bogati prolinom (*Robbins i sar., 1987; Austin i sar., 1989; McArthur i sar., 1995; Foley i sar., 1999*), koji imaju visok afinitet da se vežu sa taninima (*Kumar i Singh 1984; Hagerman i Butler, 1991*). Formiraju se proteinski kompleksi bogati taninom i prolinom koji su za razliku od drugih protein-taninskih kompleksa stabilni u čitavom opsegu pH vrednosti digestivnog trakta. To bi moglo da poništi njihov

negativan efekat na ukus i unos hrane, a poboljša varenje hrane bogate taninima (*Robbins i sar., 1987; Austin i sar., 1989; McArthur i sar., 1995; Narjisse i sar., 1995*).

Biljojedi su, tokom evolucije, razvili adaptivne mehanizme za iskorišćavanje biljaka bogatih taninima (*Robbins i sar., 1987; Leinmüller i sar., 1991; Hagerman i sar., 1992; Narjisse i sar., 1995*). Pljuvačka jelena sadrži proteine bogate prolinom, dok ih ovce proizvode samo kada konzumiraju biljke bogate taninima (*Robbins i sar., 1987; Austin i sar., 1989*). Kod goveda nije utvrđeno povećanje proizvodnje takvih proteina kao odgovor na unošenje tanina, ali su neki drugi proteini sa visokim afinitetom za ove polifenole pronađeni u njihovoj pljuvački (*Makkar i Becker, 1998*).

U cilju ispitivanja drugog potencijalnog mehanizma, *Narjisse i sar. (1995)* su ubrizgavali tanine direktno u rumen, da bi utvrdili da li su faktori nezavisni od ukusa bili odgovorni za smanjenje obima konzumacije hrane. Ustanovili su da usporeno varenje suve materije u buragu ometa pražnjenje digestivnog trakta, stvarajući signale da je životinja sita i pruža povratne informacije nervnim centrima, koji su uključeni u kontrolu unosa hrane. Ovaj mehanizam može da utiče na obim konzumacije hrane više nego smanjenje osetljivosti na ukus hrane (*Waghorn i sar., 1994a*).

Treći mehanizam se zasniva na identifikaciji negativnih posledica koje prate unošenje tanina hranom i kasnijem razvoju uslovne odbojnosti (*Waghorn, 1996*).

2.3.2. Uticaj tanina na fermentaciju u buragu

Pravilno upravljanje prirodnim resursima koji sadrže tanine (npr. selektivna ispaša ili dopuna ishrane sa odgovarajućom vrstom žbunastih biljaka) može da obezbedi korisne efekte u vezi sa razgradnjom proteina.

Brojni radovi opisuju sposobnost tanina da umanje svarljivost konzumirane hrane. Tanini uglavnom ispoljavaju ovaj efekat na proteine, ali takođe u različitom stepenu, utiču i na ostale komponente hrane (*Kumar i Singh, 1984*). Njihov glavni efekat na proteine zasniva se na mogućnosti stvaranja vodoničnih veza između ovih jedinjenja, koje su stabilne pri pH 3,5 do 8. Ovi kompleksi se razgrađuju kada pH padne ispod 3,5 (u abomasusu, pH 2,5-3) ili kada je pH vrednost veća od 8 (u duodenumu, pH 8), što objašnjava aktivnost tanina u digestivnom traktu (*McLeod, 1974; Mangan, 1988; Hagerman i sar., 1992; Mueller-Harvey i McAllan, 1992*).

Modifikacije svarljivosti uzrokovane unošenjem tanina uglavnom su povezane sa promenama ruminalne fermentacije, zajedno sa promenama intestinalne svarljivosti.

Tanini štite proteine iz hrane od razlaganja u buragu, formiranjem „by pass” proteina (*McLeod, 1974; Mangan, 1988; Hagerman i sar., 1992; Mueller-Harvey i McAllan, 1992*). Afinitet tanina za ove molekule je izuzetno veliki. Vrednost pH sredine u buragu pogoduje formiranju kompleksa između tanina i proteina. Smanjenje razgradnje proteina je povezano sa nižom proizvodnjom amonijačnog azota i intenzivnijom pasażom neamonijačnog azota iz buraga (*Barry i Manley, 1984; Waghorn i sar., 1994b; Waghorn, 1996; Henke i sar., 2017*). Smanjuje se izlučivanje urinarnog azota i linearno se povećava izlučivanje fekalnog azota, zahvaljujući nerazgrađenim kompleksima tanina i proteina formiranih duž digestivnog trakta (*Mueller-Harvey, 2006*). Na nivou životne sredine ovaj pomak od urinarnog do fekalnog azota je važan, jer se urinarni azot pretežno izlučuje kao urea, koja se brzo pretvara u amonijak i azot oksid (N₂O), koji ima uticaj na zagađenje životne sredine, dok se fekalni azot nalazi uglavnom u organskom obliku, manje je isparljiv i zadržava se u tlu (*Hristov i sar., 2013; Aquerre i sar., 2016; Henke i sar., 2017*). Na ovaj način je smanjena emisija azota u atmosferu, čime se postiže pozitivan efekat na životnu sredinu (*Brinkhaus i sar., 2016*).

Uticaj tanina na razgradnju proteina ispoljava se smanjenjem neposredno razgradivih frakcija i smanjenjem frakcione stope razgradnje (*Aharoni i sar., 1998; Frutos i sar., 2000; Hervás i sar., 2000*).

Driedger i Halfield (1972) su uspeli *in vitro* da smanje buražnu razgradivost proteina iz sojine sačme tretmanom sa taninskom kiselinom.

Pace i sar. (1993) su utvrdili da je CT iz kuebracho izazvao veće smanjenje razgradivosti sojine sačme od komercijalne taninske kiseline, ali dobijeni rezultati su bili vrlo promenljivi i zavisili su od mnogo faktora.

Hervás i sar. (2000) i *Frutos i sar. (2000)* su tretirali obrok sa sojom sa različitim dozama (0, 1, 4, 7, 9, 13 i 20%) taninske kiseline ili komercijalnog kuebracho CT ekstrakta i značajno smanjili stepen degradacije sirovog proteina u buragu. Efekat je bio značajan čak i pri najnižoj dozi. U pogledu intestinalne svarljivost nedegradiranih proteina, nisu utvrđeni negativni efekti do doze od 13% taninske kiseline i 20% kuebracho CT tretmana.

In vitro testovima je utvrđeno da se i hidrolizabilni tanini mogu efikasno koristiti kao aditivi u cilju smanjenja svarljivosti proteina hrane u rumenu, ali istovremeno istraživanja pojedinih autora ukazuju da su ova jedinjenja toksična za životinje (*Spier i sar., 1987; Zhu i sar., 1992*). Međutim, potrošnja male količine HT iz sojine sačme (20,8 g/kg SM) kod Merino ovaca pokazala je da ova jedinjenja nisu bila toksična, niti su imala negativan uticaj na njihove produktivne karakteristike (*Frutos i sar., 2004*). U ovoj oblasti je potrebno više istraživanja, jer HT lako hidrolizuju i njihov uticaj lako mogu poništiti mikroorganizmi buraga.

Iako tanini uglavnom ispoljavaju svoje dejstvo na proteine, oni imaju uticaj na ugljene hidrate, naročito hemicelulozu, celulozu, skrob i pektine (*Barry i Manley, 1984; Chiquette i sar., 1988; Leinmüller i sar., 1991; Schofield i sar., 2001*). Dugo vremena je uticaj tanina na razgradnju vlakana bio posmatran kao sekundarni antinutritivni efekat. Međutim, nekoliko sprovedenih ispitivanja je potvrdilo da degradacija vlakana u buragu može biti drastično smanjena kod životinja koje unose hranu bogatu taninima (*Barry i McNabb, 1999; McSweeney i sar., 2001; Hervás i sar., 2003a*).

Mehanizmi kojima tanini smanjuju ruminalnu razgradnju različitih komponenata hrane nisu potpuno jasni. Među najviše prihvaćenim su nedostatak supstrata (*Scalbert, 1991; McAllister i sar., 1994b; McMahan i sar., 2000*), inhibicija enzima (*Barry i Manley, 1984; Bae i sar., 1993; Jones i sar., 1994*) i direktno delovanje na mikroorganizme buraga (*Leinmüller i sar., 1991; Scalbert, 1991*). Pojedini autori su utvrdili da tanini sprečavaju ili ometaju vezivanje mikroorganizma buraga za zidove biljnih ćelija, a dobro je poznato da je takva veza od suštinskog značaja za razgradnju (*Chiquette i sar., 1988; McAllister i sar., 1994a*). Takođe, formiranje kompleksa sa proteinima i ugljenim hidratima čini ove hranjive materije nedostupnim za mikroorganizme (*Mangan, 1988; Mueller-Harvey i McAllan, 1992*). Tanini su takođe helatna jedinjenja, a to znači da mogu smanjiti dostupnost određenih metalnih jona neophodnih za metabolizam mikroorganizama buraga (*Scalbert, 1991*).

Tanini mogu da reaguju sa bakterijskim i gljivičnim enzimima dovodeći do inhibicije njihove aktivnosti (*Makkar i sar., 1988; Mueller-Harvey i McAllan, 1992; McAllister i sar., 1994b; McSweeney i sar., 2001*). *Leinmüller i sar. (1991)* i *O'Donovan i Brooker (2001)* su ukazali da tanini menjaju aktivnost bakterijskih proteolitičkih, celulolitičkih i drugih enzima, pri čemu vezivanje tanina za bakterijske ili endogene enzime ne dovodi uvek i do njihove inhibicije (*Makkar i sar., 1988*). U pogledu hidrolitičkih enzima, kondenzovani tanini lakše inhibiraju aktivnost hemicelulaza nego celulaza (*Waghorn, 1996; Barry i Manley, 1984; Waghorn i sar., 1994a; Hervás i sar., 2003a*), verovatno zbog činjenice da su celulaze povezane sa bakterijskim ćelijskim zidovima, dok su hemicelulaze ekstracelularno i zbog toga su osetljivije (*Van Soest, 1994*). Međutim, to može da varira u zavisnosti od vrste tanina prisutnih u obrocima (*McAllister i sar., 1994a*).

Tanini mogu da imaju direktan uticaj na mikroorganizme buraga, tako što dovode do promene propustljivosti njihovih membrana (*Leinmüller i sar., 1991; Scalbert, 1991*). Ipak, neki mikroorganizmi buraga mogu da tolerišu prisustvo tanina (*Nelson i sar, 1998; O'Donovan i Brooker, 2001*). Stepem tolerancije mikroorganizama na tanine je specifičan za različite vrste, što objašnjava različitu podložnost određenih sojeva bakterija, a takođe zavisi od vrste unetih tanina. Opisano je nekoliko tolerantnih vrsta mikroorganizma buraga na tanine (*McSweeney i sar., 2001*).

Nekoliko vrsta mikroorganizama buraga reaguju na prisustvo tanina promenom svoje morfologije (*Bae i sar, 1993; Jones i sar, 1994; McAllister i sar., 1994a*). *Chiquette i sar. (1988)*

su utvrdili prisustvo gustog glikokaliksa na zidovima bakterija buraga, kao odgovor na visoke nivoe CT iz *L. corniculatus*, koji ne nastaje kada je koncentracija ovih jedinjenja bila niža. Ova pojava je slična pojavi sekrecije glikoproteina pljuvačke u cilju neutralisanja delovanja tanina (Scalbert, 1991).

Mikroorganizmi su različito osetljivi na različite koncentracije tanina (Jones i sar., 1994). O'Donovan i Brooker (2001) ukazuju da proteolitičke bakterije, koje su u početku osetljive na prisustvo tanina, mogu posle kratkog perioda adaptacije, odgovoriti izmenom svog metabolizama. Proteolitičke i celulolitičke bakterije buraga mogu da nastave sa aktivnošću kada nivoi tanina u obrocima nisu previsoki (Jones i sar., 1994).

Identifikovano je nekoliko enzima različitih vrsta mikroorganizama koji mogu da metabolišu hidrolizabilne tanine, a u tom slučaju tretirana hrana je podložna buražnoj degradaciji, kao i netretirana. Među mikroorganizmima koji su u stanju da koriste HT je *Streptococcus caprinus* (*S. gallolyticus*), bakterija koja proizvodi pirogalol, proizvod razgradnje taninske kiseline, kada je povećana aktivnost galatdekarboksilaze (O'Donovan i Brooker, 2001). Razgradnja CT cepanjem ugljenik-ugljenik veze nije dokazana *in vitro*, kao ni u anaerobnom okruženju buraga (McSweeney i sar., 2001).

2.3.3. Uticaj tanina na svarljivost u intestinalnom traktu

Iako je poznato da CT mogu povećati svarljivost organskih materija u intestinalnom traktu (McSweeney i sar., 1988), mnogi autori navode da tanini imaju negativan efekat na resorpciju hranljivih sastojaka iz tankog creva (Driedger i Halfield, 1972; Silanikove i sar., 1994, 2001; McNabb i sar., 1998). To bi se moglo objasniti prisustvom kompleksa tanina i proteina u crevima, koji nisu uspeli da se razgrade u abomasumu, zbog formiranja kompleksa tanina i digestivnih enzima, ili novih kompleksa tanina i proteina iz hrane, ili zbog promena u intestinalnoj resorpciji usled interakcije tanina sa crevnom sluzokožom.

Mada se kompleksi tanina i proteina razgrađuju na pH<3,5 (pH abomasuma), McNabb i sar. (1998) ukazuju da pH vrednost na početku intestinalnog trakta koja je oko 5,5 može da omogući ponovni nastanak kompleksa tanina i proteina, koji ometaju varenje. Kumar i Singh (1984) ukazuju da bi tanini takođe mogli da inhibiraju digestivne enzime zbog sposobnosti da ih vezuju i formiraju nerastvorljive komplekse, ili komplekse koji su rastvorljivi ali neaktivni. Silanikove i sar. (1994) su utvrdili da kondenzovani tanini vrše inhibiciju aktivnosti nekih digestivnih enzima, pre svega tripsina i amilaze. Međutim, nije sa sigurnošću potvrđena pretpostavka da smanjenje svarljivosti proteina u crevima, nastaje usled sposobnosti tanina da inhibiraju enzime za varenje. Nakon njihovog razdvajanja od proteina u abomasumu, tanini se mogu ponovo vezati za proteine iz hrane u crevima (Mole i Waterman, 1987; Blytt i sar., 1988). Mehansho i sar. (1987) smatraju da tanini imaju sposobnost da formiraju komplekse sa širokim spektrom proteina hrane, pre dolaska u dodir sa digestivnim enzimima.

Promene u propustljivosti sluzokože creva uzrokovane reakcijom između tanina i proteina membrane mukoznih ćelija creva dovode do smanjenja crevne resorpcije, a mogu takođe da budu uzrok smanjenja intestinalne svarljivosti (McLeod, 1974; Silanikove i sar., 2001).

Sa povećanjem sadržaja tanina u hrani povećava se fekalno izlučivanje azota, čime se dokazuje da tanini smanjuju svarljivost hrane. Ovce hranjene samo listovima rogača (*Ceratonia siliqua*) (koncentracija tanina 50 g/kg SM) gubile su telesnu masu i izlučivale više proteina fecesom nego što su usvajale (Silanikove i sar., 1994). Međutim, važno je da uzimanje tanina uključuje pojačano lučenje endogenih proteina kao što su pljuvačni glikoproteini, sluz, digestivni enzimi i povećanu deskvamaciju crevnih ćelija (Mehansho i sar., 1987; Waghorn, 1996). Ovo povećanje fekalnog azota stoga može biti usled povećanja metaboličkog fekalnog azota, odnosno, azota endogenog porekla, tako da ne predstavlja pad količine proteina resorbovanih iz hrane.

Međutim, većina ispitivanja koja su potvrdila da tanini negativno utiču na svarljivost u intestinalnom traktu izvršena su *in vitro*. Nekoliko autora ukazuju da ovi testovi ne uzimaju u obzir

faktore kao što su prisustvo žučnih soli (*Blytt i sar., 1988*), koje bi mogle da deluju kao deterdženti i spreče vezivanje tanina sa digestivnim enzimima.

Preživari mogu imati koristi od CT iz hrane kada povećanje dotoka proteina iz buraga premaši smanjenu resorpciju aminokiselina iz creva (*Waghorn, 1996*).

2.3.4. Toksičnost tanina

Dugo vremena su tanini smatrani antinutritivnim i/ili toksičnim jedinjenjima kada su prisutni u hranivima, pre svega zbog smanjenja unosa, varenja i apsorpcije proteina, polisaharida i minerala, kao i da negativno utiču na zdravstveno stanje životinja, zato što mogu izazvati čireve, iritaciju i deskvamaciju sluznice creva, lezije u jetri i bubrezima, a u ekstremnim slučajevima i uginuća (*Kumar i Singh, 1984; Kumar i Vaithianathan, 1990; Reed, 1995; Mueller-Harvey, 2006*).

Toksičnost tanina je povezana sa njihovom molekulskom veličinom. Tanini sa visokom molekulskom težinom ne mogu biti resorbovani, tako da se ovim može objasniti visoka toksičnost tanina niske molekulske težine iz *Quercus* vrsta kod pacova, dok tanini velike molekulske težine poreklom iz *Lespedeza cuneata* nisu toksični (*McLeod, 1974*).

Trovanja preživara sa HT uglavnom karakterišu anoreksija, depresija, atonija buraga, insuficijencija jetre i bubrega, ulcerozne promene duž digestivnog trakta i gastroenteritis (*Spier i sar., 1987; Zhu i sar., 1992; Plumlee i sar., 1998*). Intenzitet lezija zavisi od doze i strukture unetih tanina (*Zhu i sar., 1992; Plumlee i sar., 1998*).

Ozbiljna oštećenja organa izazvana taninima kod preživara (bubrežne i hepatične lezije) koja mogu imati smrtni ishod, obično su povezana sa unosom HT, koji se enzimski depolimerizuju u rumenu, raskidanjem estarskih veza između glukoze i fenolnih subjedinica, čime nastaje galna kiselina. Ovo jedinjenje se razlaže na pirogalol i resorcinol, koji se apsorbuju i odgovorni su za oštećenje ćelija (*Spier i sar., 1987; Murdiati i sar., 1992*). Kod goveda, ovaca i lama nekoliko slučajeva akutne intoksikacije vezano je za unos visokih doza HT iz lišća hrasta (*Quercus* spp.) i ružinog drveta (*Terminalia oblongata*) (*Garg i sar., 1992; Chamorro i sar., 2013*).

Suprotno, CT se ne razlažu, ne resorbuju u krvotok i zato ne mogu dovesti do oštećenja organa (*McSweeney i sar., 1988; Terrill i sar., 1994; Makkar, 2003*). Ustanovljeno je da su veoma visoke doze CT neophodne za ozbiljnu intoksikaciju životinja (*Hervás i sar., 2003c*). *Makkar (2003)* navodi da se oštećenja organa uzrokovana CT javljaju samo u slučajevima oštećenja creva, kada tanini mogu proći u krvotok. Neželjeni efekti povezani sa prisustvom CT u hrani za životinje su obično antinutritivni, zbog smanjenja unosa i svarljivosti proteina i ugljenih hidrata i inhibiranja enzima varenja (*Barry i McNabb, 1999; Yisehak i sar., 2014*).

Tanini imaju sposobnost da formiraju komplekse sa brojnim vrstama molekula, uključujući proteine, polisaharide i minerale (*McSweeney i sar., 2001; Min i Hart, 2003, Le Bourvellec i Renarda, 2012*). Fenolne hidroksilne grupe tanina dovode do stvaranja kompleksa prevashodno sa proteinima, a u manjoj meri sa polisaharidima, nukleinskim kiselinama i metalnim jonima (*Makkar, 2003*). Sposobnost tanina da formiraju komplekse sa proteinima je najvažniji aspekt njihovih nutritivnih i toksikoloških efekata (*Hagerman i Butler, 1981*).

Trovanja izazvana taninima, najčešće se javljaju samo kod životinja koje su primorane da jedu hranu bogatu taninima, zbog nedostatka drugih biljnih vrsta i hraniva (*Spier i sar., 1987*).

2.4. Uticaj tanina na biohemijske parametre krvi i zdravstveno stanje preživara

Pri proceni zdravstvenog stanja životinja, posebno visokomlečnih krava, neprocenjiv značaj imaju ocena telesne kondicije (OTK) i određivanje pojedinih biohemijskih parametara krvi.

2.4.1. Ocena telesne kondicije (OTK)

Kao efikasan način praćenja snabdevenosti krava energijom, u novije vreme, razvijen je sistem ocene telesne kondicije (OTK), koji omogućava veoma dobru procenu stanja telesnih rezervi (Body Condition Scoring; BCS). Određeni broj autora je utvrdio da se telesne rezerve bolje procenjuju korišćenjem metode OTK nego merenjem telesne mase životinja (*Ducker i sar., 1985; Johnson, 1984*). To se posebno odnosi na junice koje su u porastu. Više je razloga zbog kojih se OTK daje veliki značaj u mlečnom govedarstvu. Metoda OTK je jednostavna, ekonomski isplativa i rutinski se primenjuje u mnogim zemljama (*Edmonson i sar., 1989, Grubić i sar., 1999*).

Ocena telesne kondicije (OTK) služi da se procene telesne rezerve jedinke i uglavnom se zasniva na utvrđivanju prisustva subkutanog masnog tkiva u predelu kukova, slabina i korena repa (*Milovanović i sar., 2005*). S obzirom da telesna kondicija krava utiče na zdravstveno stanje, produktivnost i reprodukciju, OTK može ukazati na neadekvatnu ishranu i zdravstvene poremećaje u zapatu. Ocena telesne kondicije mlečnih krava predstavlja značajan pokazatelj energetskog statusa i omogućava pravovremenu korekciju obroka u cilju unapređenja zdravstvenog stanja i produktivnosti životinja.

Sistem ocene telesne kondicije krava sa skalom od 1 do 5, gde se ocenom 1 ocenjuju ekstremno mršava grla, a ocenom 5 izuzetno ugojena grla, predstavlja najšire prihvaćen metod. Telesna kondicija krava može da varira i zavisi pre svega od faze proizvodno-reproduktivnog ciklusa. Poželjno je da prosečna ocena telesne kondicije krava bude oko 3. Ovaj sistem ocenjivanja uključuje kombinaciju vizuelne procene i manuelne palpacije (*Elanco Animal Health Buletin AL 8478*).

Prema modelu NRC (2001) pri promeni telesne kondicije za 1 poen, krava gubi ili dobija oko 80 kg TM. Količina energije koja se dobija mobilisanjem telesnih rezervi, a pri promeni telesne kondicije sa 3 na 2 iznosi 22,9 MJ NEL/kg TM, dok gubitak u proteinima iznosi oko 68 g/kg TM. Promena telesne kondicije mlečnih krava u toku proizvodnog ciklusa ne bi trebalo da bude veća od jednog poena (*Jovićin i sar., 2005; Horvat i sar., 2009; Stojanović i Grubić, 2008*).

2.4.2. Biohemijski parametri krvi

Veliki dijagnostički značaj u proceni metaboličkog i zdravstvenog statusa visokomlečnih krava imaju: koncentracija glukoze, β -hidroksibuterne kiseline (BHBA), koncentracija ukupnih proteina i albumina, uree, kalcijuma, fosfora i magnezijuma (*Radojičić i sar., 2007; Radojičić, 2013*).

Glukoza se u krvi nalazi u slobodnoj formi, u uskim fiziološkim granicama (2,2 do 4,2 mmol/L), a organizam pokušava strogim regulatornim mehanizmima homeostaze, da uvek održi njen konstantan nivo u krvi (*Rodostitis i sar., 2007*). Kada je koncentracija glukoze preko fizioloških vrednosti, glukoza se skladišti u jetri, u vidu glikogena, a po potrebi se ponovo oslobađaju određene količine procesom glukogenolize i stavljaju organizmu životinje na raspolaganje.

Koncentracija β -hidroksibuterne kiseline (BHBA) u krvi je parametar koji tokom različitih faza proizvodno-reproduktivnog ciklusa krava ne bi trebalo da pokazuje značajnija odstupanja u odnosu na prosečne vrednosti, zbog čega ima veliki dijagnostički značaj u proceni metaboličkog i zdravstvenog statusa visokoproizvodnih krava (*Ospina i sar., 2010*). *Fronk i Schultz (1979)* su zaključili da povišena koncentracija glukoze u krvi smanjuje sadržaj ketonskih tela u krvi, odnosno koncentraciju β -hidroksibuterne kiseline (BHBA). *Berhane (2000)* je utvrdio glukogenoplastična svojstva suplementa *Asparagus racemosus* koji dodat u obroke visokoproizvodnih mlečnih krava

dovodi do povećanja propionata, koji je glavni supstrat za glukoneogenezu, a to rezultira povećanjem nivoa glukoze u krvi.

Koncentracija ukupnih proteina i albumina u krvi je značajna za balans unosa proteina. Fiziološke vrednosti proteina su u granicama 60-80 g/L, dok se koncentracija albumina kreće od 30-45 g/L i kao frakcija proteina, koja se isključivo sintetise u jetri, koristi se kao dobar pokazatelj stanja hepatocita (*Stojić, 2010*). Koncentracija albumina u krvnom serumu krava nije u korelaciji sa količinom proizvedenog mleka i približno je ista kod visokoproduktivnih krava i kod krava sa niskom proizvodnjom mleka (*Blum i sar., 1983*).

Urea se sintetise iz viška amonijaka nastalog pri razgradnji proteina u buragu, koji se delimično koristi kao neproteinski izvor azota za izgradnju bakterijskih proteina, dok se ostatak resorbuje preko zida buraga i dospeva do jetre, gde se u ornitinskom ciklusu sintetise urea koja se, preko bubrega mokraćom izlučuje iz organizma. Za adekvatno korišćenje proteina iz obroka i zadovoljavajući stepen vezivanja stvorenog amonijaka u buragu, neophodno je da obrok sadrži dovoljnu količinu energije za mikrofloru predželudaca. U suprotnom, dolazi do smanjenog vezivanja amonijaka i njegovog ugrađivanja u mikrobne proteine, što ima za posledicu pojačanu resorpciju amonijaka kroz zid buraga i povećanje koncentracije uree u krvi i drugim telesnim tečnostima. Fiziološke vrednosti koncentracije uree u krvi goveda iznose 2,0-7,5 mmol/L (*Rodostitis i sar., 2007*), a pojedini autori navode i vrednosti od 7,1-10,7 mmol/L (*Krnić i sar., 2003*).

Kalcijum je makroelement koji se unosi hranom u organizam životinja, a u krvnoj plazmi nalazi kao slobodni-jonizovani i vezani, pri čemu su ove forme u međusobnoj ravnoteži. Jonizovani kalcijum, kao biološki aktivan, učestvuje sa 50 do 65%. Samo je ovaj oblik metabolički i fiziološki aktivan. Posle resorpcije kalcijum se nalazi u krvnoj plazmi u koncentraciji 2,24 do 2,94 mmol/L (*Lotthammer 1991; Blood, 1994; Kaneko, 1989; Radojičić i sar., 2014*). Hipokalcemija uzrokuje smanjenje unosa hrane, pokretljivosti zida buraga i mišićnih kontrakcija, što uzrokuje pojačanu mobilizaciju telesnih masti, dislokaciju sirišta i pojavu mastitisa (*Goff, 2008*).

Fosfor je u svom neorganskom obliku veoma važan makroelement, koji učestvuje u izgradnji koštanog sistema, proizvodnji mleka, reprodukciji, metabolizmu ugljenih hidrata, reakcijama fosforilacije neophodne za promet energije i očuvanje acido-bazne ravnoteže. Vrednosti fosfata prema različitim autorima kreću se od 1,6 do 2,3 mmol/L (*Jovanović i sar., 1987; Lotthammer 1991; Kaneko, 2008*) i od 1,4 do 2,7 mmol/L (*Rodostitis i sar., 2007*).

Magnezijum se nalazi u plazmi u dva oblika, kao jonski koji je difuzibilan i kao proteinski, odnosno vezani, koji je nedifuzibilan. Fiziološki je aktivan samo jonski magnezijum. U krvnoj plazmi krava nalazi se u koncentraciji od 0,7 do 1,2 mmol/L (*Radojičić i sar., 2014*).

U literaturi postoje brojni podaci o uticaju različitih doza tanina u ishrani na pojedine biohemijske sastojke krvi preživara. Rezultati istraživanja su raznoliki, a često i kontradiktorni i uglavnom se odnose na uticaj kondenzovanih tanina poreklom od različitih biljnih vrsta.

Istraživanja *Attia i sar. (2016)*, sprovedena na 30 krava holštajn-frizijske rase, u tranzicionom periodu, ukazuju da je tretman sa 100 g komercijalnog preparata koji sadrži kondenzovane kuebriho tanine, smanjio ($p < 0,05$) koncentraciju ukupnih serumskih proteina, globulina, glukoze i triglicerida kod ogleadne u odnosu na kontrolnu grupu krava. Nije bilo značajnih efekata dodatka preparata sa kondenzovanim taninima na albumine krvi, ureu, kreatinin i holesterol. Sa druge strane, 200 g istog preparata nije promenilo vrednosti koncentracije globulina, glukoze i triglicerida kod ogleadne u odnosu na kontrolnu grupu krava. Svi posmatrani biohemijski sastojci krvi su bili u granicama fizioloških vrednosti. Ovo pokazuje da dodavanje suplemenata sa različitim dozama tanina nije uzrokovalo zdravstvene poremećaje kod životinja. Sekundarna jedinjenja biljaka, kao što su tanini, mogu uticati na biohemijske parametre krvi tako što ih održavaju u fiziološkim granicama (*Raghuvansi i sar., 2007*), dok druga mogu smanjiti (*Joy i sar., 2001*) ili povećati (*Mohammed i sar., 2004*) koncentraciju glukoze u plazmi, ili promeniti koncentraciju serumskog insulina (*Devant i sar., 2007*).

Sallam i sar. (2019) su sprovedeli ogled na 30 bivolica, u ranoj fazi laktacije. Pratili su kako dodavanje preparata sa različitim sadržajem tanina u obrok utiče na pojedine parametre

metaboličkog profila. Dodavanje preparata koji sadrže kondenzovane tanine nije imalo uticaja na koncentraciju ukupnih proteina, albumina, globulina, glukoze, holesterola i triglicerida. Kod krava koje su dobijale 100 g preparata sa taninima došlo je do značajnog ($p < 0,05$) porasta koncentracije serumske uree u poređenju sa kravama koje su dobijale 200 g preparata sa kondenzovanim taninima. Ovi autori smatraju da uticaj tanina na parametre metaboličkog profila zavisi od dnevne količine konzumiranih tanina, izvora i vrste tanina.

Rezaeena i sar. (2012) su utvrdili da uključivanje 15% PBP (Pistachio By-Product Silage), koja sadrži 5,5% tanina u suvoj materiji, u obroke mlečnih krava holštajn rase, u ranoj laktaciji, nije imalo efekata na koncentraciju njihove serumske glukoze, koncentraciju uree u krvi i holesterol u odnosu na krave kontrolne grupe. Slične rezultate, za vrednosti serumske glukoze i koncentraciju uree kod holštajn krava, u ranoj fazi laktacije, u ogledu sa PBP silažom dobili su *Bohluli i sar. (2009)*.

Gholizadeh i sar. (2010) su utvrdili da uključivanje 10% PBP silaže u ishranu mlečnih krava nije imalo efekta na koncentraciju holesterola u krvi, uree, triglicerida i glukoze. Takođe, *Ghaffari i sar. (2014)* sprovedli su ogled na mlečnim kozama. Utvrdili su da upotreba 30% PBP silaže, kao izvora tanina, u zameni sena lucerke, nije dovela do pojave razlika u koncentraciji biohemijskih sastojaka u krvi. Međutim, *Woodvard (1988)* je utvrdio da je koncentracija uree manja kada su ovce i koze bile hranjene mahunama koje su sadržavale tanine. Ovce koje su hranjene čistim *Lotus pedunculatus* imale su niže koncentracije uree u plazmi od ovaca koje su hranjene *L. pedunculatus* koji je tretiran polietilen glikolom za deaktiviranje tanina (*Waghorn i sar, 1994a*). Slično, *Ben Salem i sar. (2005)* su ustanovili da ishrana akacijama dovodi do smanjenja nivoa uree i ruminalnog amonijaka. Pored toga, smanjena proteoliza kod ovaca koji primaju akan cijanofil sa koncentratom može biti uzrokovana efektima tanina akacija na mikrobiološku proteolitičku aktivnost (*Jones i sar., 1993*).

Allam i sar. (2013) su ispitivali uticaj ishrane travnom vrstom (*Panicum antidotale*) na metabolički profil krava u kasnoj laktaciji, koji je korišćen umesto lucerke u ishrani. Krave koje su hranjene travnom vrstom (*Panicum antidotale*) imale su nižu koncentraciju ($p > 0,05$) ukupnih proteina, globulina, glukoze, uree i holesterola u poređenju sa grupom krava koje su hranjene lucerkom, osim kreatinina koji je bio viši ($p > 0,05$) kod krava koje su dobijale *P. antidotale*. Kondenzovani tanini mogu povećati efikasnost iskorišćenja ruminalnog azota smanjenjem koncentracije ruminalnog amonijaka i dovesti do smanjenja koncentracije uree u krvi. Potpuna zamena lucerke sa *P. antidotale* u ishrani mlečnih krava, u kasnoj laktaciji, dovodi do smanjene koncentracije amonijaka i uree zbog smanjenja ruminalne razgradnje proteina hrane usled vezivanja CT za proteine. Istovremeno, povećan je dotok proteina u tanko crevo i resorpcija aminokiselina.

Dey i De (2014) su sprovedli studiju u cilju ispitivanja efekata kondenzovanih tanina iz lišća *Ficus bengalensis* na iskoristivost krmnog bilja, proizvodnju mleka i zdravstveni status kod krava tovnih rasa. Osamnaest krava, u drugoj laktaciji, su podeljene u dve grupe po devet i hranjene obrocima koji su sadržali 0% i 1,5% CT iz osušenih i samlevenih listova *Ficus bengalensis*. Biohemijski parametri krvi ostali su nepromenjeni, osim značajnog ($p < 0,05$) sniženja koncentracije uree u serumu, kod krava koje su hranjene sa *F. bengalensis*. Koncentracija glukoze u serumima svih eksperimentalnih krava bila je u fiziološkim okvirima (*Kaneko i sar., 1997; Patra i sar., 2003*) i nije pokazivala značajne varijacije ($p > 0,05$) zbog modifikacije ishrane. Povećan ili smanjen nivo glukoze u serumu pokazatelj je stresa kod životinja. U ovoj studiji, slični nivoi glukoze ukazuju na fiziološko stanje svih eksperimentalnih životinja.

Davidović i sar. (2019) su sprovedli ispitivanje uticaja redosleda laktacije, dodatka preparata na bazi tanina i interakcije ovih faktora na koncentraciju pojedinih parametara metaboličkog profila u krvi visokomlečnih krava. U ogledu je bilo 80 krava holštajn-frizijske rase koje su bile podeljene u dve grupe. Oglednoj grupi krava je od 90. do 150. dana laktacije u jutarnji obrok dodavan preparat na bazi tanina Tanimil SCC (40 g dnevno; 40% tanina), dok je kontrolna grupa hranjena obrokom bez dodatka tanina. Redosled laktacije nije statistički značajno ($p > 0,05$) uticao na vrednosti parametara metaboličkog profila u krvi ispitivanih jedinki (koncentraciju glukoze, β -hidroksibuterne kiseline i uree). Mlečne krave u čijem je obroku korišćen preparat na bazi tanina

imale su u odnosu na kontrolnu grupu signifikantno niže vrednosti koncentracije β -hidroksibuterne kiseline (0,79 mmol/L vs 0,96 mmol/L) i koncentracije uree (5,89 mmol/L vs 6,93 mmol/L) u krvi ($p < 0,05$), dok razlika u koncentraciji glukoze u krvi nije bila značajna (3,92 mmol/L vs 3,89 mmol/L) ($p > 0,05$). Uticaj interakcije redosleda laktacije i dodatka preparata na bazi tanina na vrednosti ispitivanih parametara metaboličkog profila nije bio statistički značajan ($p > 0,05$). Rezultati ovog istraživanja ukazuju da se preparat na bazi tanina može uspešno koristiti u ishrani visokomlečnih krava, kao dodatak TMR obroku u količini od 40 g, jer deluje zaštitno na lako razgradive proteine hrane, smanjuje njihovu degradaciju u buragu i povoljno utiče na iskoristivost proteina, što ima pozitivan efekat na snižavanje koncentracije BHBA i uree u krvi i poboljšanje proizvodnih osobina.

Nasuprot tome, Wang i sar. (1996a) su ustanovili niže nivoe glukoze u plazmi kod mlečnih krava koje su napasane žutim zvezdanom (*Lotus corniculatus*). Ukupna koncentracija serumskih proteina, kao i odnos albumina i globulina ostao je sličan kod svih životinja, što ukazuje da niski nivoi kondenzovanih tanina nisu imali negativan uticaj na količinu i odnos proteina.

2.4.3. Prevencija naduna

Pored istraživanja o uticaju tanina na parametre metaboličkog profila visokomlečnih krava, u literaturi postoje podaci o mogućnosti primene tanina u ishrani preživara, u cilju prevencije naduna, kao i kontrole endoparazita i mogućnosti smanjenja upotrebe antihelminatika u lečenju životinja.

Tanini se smatraju obećavajućom grupom jedinjenja za smanjenje emisije metana poreklom od preživara. Proizvodnja metana u rumenu predstavlja ne samo ekološki, već i ekonomski problem. Metan je potencijalni gas staklene bašte, a metan koji proizvode preživari čini 28% ukupnog antropogenog metana (*Beauchemin i sar., 2008*). Osim toga, metan proizveden tokom fermentacije u buragu predstavlja gubitak od 5-8% bruto unosa energije (*Lopez i Newbol, 2007*). Smanjenje proizvodnje metana pod uticajem tanina postiže se njihovim direktnim dejstvom na rast i/ili aktivnost metabolita i/ili mikroorganizama koji proizvode vodonik ili njihovog indirektnog dejstva kroz smanjenje svarljivosti vlakna (*Tavendale i sar., 2005; Goel i Makkar, 2012; Jayanegara i sar., 2012*).

Utvrđeno je da nadun nastaje kada preživari tokom ispaše konzumiraju velike količine leguminoznih biljaka (lucerka i detelina). Gasovi proizvedeni u buragu tokom fermentacije ne mogu biti oslobođeni na uobičajen način, jer su zarobljeni u stabilnoj peni izazvanoj brzim otpuštanjem rastvorljivih proteina tokom žvakanja i razgradnje u buragu. Međutim, kada te životinje pasu leguminoze koje sadrže kondenzovane tanine (na primer *Onobrychis viciifolia*) do ovoga ne dolazi (*Mangan, 1988; Aerts i sar., 1999; Barry i McNabb, 1999; McMahan i sar., 2000*). Zamena malih količina (oko 10%) unete lucerke esparzetom (*Onobrychis viciifolia*) prevenira nastajanje naduna (*McMahan i sar., 1999; 2000*).

Dokazano je da biljke iz familije mahunarki (*Fabaceae*) koje sadrže kondenzovane tanine, kao što su *Lotus corniculatus*, *Coronilla varia*, *Onobrychis viciifolia* ili *Astragalus cicer*, bilo kao jedinstvena hrana ili u smešama, sprečavaju pojavu naduna kod preživara (*Mueller-Harvey, 2006; Rochfort i sar., 2008; Wang i sar., 2012*).

Wang i sar. (2003) su ispitivali buražnu fermentaciju nakon dodavanja u obroke transgene lucerke u koju je uveden *Lc* gen kukuruza u cilju indukovanja sinteze kondenzovanih tanina. Modifikacija lucerke je smanjila njenu prvobitnu stopu razgradnje u buragu, ali ne i obim razgradnje i dovela do smanjenja pojave naduna.

2.4.4. Kontrola endoparazitoza

Značaj tanina u ishrani životinja je takođe povezan sa njihovim efektima u pogledu smanjenja tj. kontrole crevnih parazita. Kontrola gastrointestinalnih parazita preživara obično se postiže upotrebom antihelminatika.

Međutim, ovaj postupak postaje sve teži zbog povećane otpornosti parazita na različite grupe antihelmintika (*Pomroy i sar., 2002; Min i Hart, 2003*) i zbog negativnog uticaja koji hemijski tretmani u životinjskoj proizvodnji imaju na životnu sredinu, zdravlje životinja i bezbednost hrane. Proučavane su alternativne strategije kontrole parazita, a upotreba hraniva bogatih taninima bila je jedna od predloženih alternativa (*Niezen i sar., 1995; Barry i sar., 2001; Min i Hart, 2003*). Brojne studije ukazale su na direktan efekat tanina na nematode, inhibicijom razvoja jaja i infektivnih larvi, kao i smanjenjem pokretljivosti larvi (*Butter i sar., 2000; Molan i sar., 2000*) i indirektni efekat, povećanjem dostupnosti proteina, što jača imuni sistem životinja, čime se povećava otpornost na različite infekcije (*Min i Hart, 2003*).

Tanini brojnih biljnih vrsta pomažu u kontroli određenih endoparazita životinja, na primer nematoda *Trichostrongylus colubriformis* (*Butter i sar., 2000*). Pretpostavlja se da pozitivni efekat na životinju domaćina može biti povezan sa direktnim negativnim efektom na endoparazite, kao i indirektnim efektom u vidu povećane dostupnosti i iskorišćavanja proteina u digestivnom traktu (*Niezen i sar., 1995; Min i Hart, 2003*). Negativan efekat na endoparazite, poboljšanje zdravstvenog stanja, povećanje telesne mase i rasta vune utvrđen je kod ovaca i koza koje pasu žuti zvezdan (*Lotus corniculatus*) ili sulu (*Hedysarum coronarium*) (*Robertson i sar., 1995*) i nakon što unesu kuebracho CT (*Butter i sar., 2000*).

2.5. Uticaj tanina na proizvodne osobine preživara i hemijski sastav mleka

Hrana za životinje treba istovremeno da objedini više ciljeva, tj. da obezbedi očuvanje zdravlja životinja, dobre proizvodne i reproduktivne osobine. Kvalitetna ishrana životinja treba da smanji zagađivanje čovekove okoline, ali i da utiče na namirnice animalnog porekla, da ih pored osnovnih hranljivih materija, snabde i određenim korisnim materijama, koje mogu da deluju preventivno na pojavu raznih oboljenja ljudi u savremenim uslovima življenja.

Jedan od osnovnih ciljeva proteinske ishrane preživara je optimizacija upotrebe proteina u hrani u cilju maksimiziranja rasta životinja i proizvodnje mleka po jedinici konzumiranih proteina (*Schwab, 1995*).

Specifični dodaci u ishrani životinja, koji su proistekli iz biotehnoloških istraživanja najčešće se koriste da bi se prevazišli problemi u vezi sa određenim nivoom proizvodnje ili zdravstvenim stanjem životinja. Tu se ubraja grupa nehranidbenih sastojaka koja reguliše mikrofloru digestivnog trakta, pH, prirast, modifikuje procese metabolizma i slično.

Veliki broj podataka ukazuje na to da biljni ekstrakti dodati u hranu za životinje doprinose povećanju ukupne produktivnosti. Takođe, biljni ekstrakti kao aditivi u hrani za životinje imaju pozitivan uticaj i na zdravstveno stanje životinja. Veliki broj biljaka sadrži sastojke koji mogu poboljšati konzumaciju, svarljivost, konverziju hrane i prirast. Ispitivan je uticaj ekstrakata različitih vrsta biljaka, između ostalog i tanina, na konzumaciju hrane, rast vune, prirast i sastav trupa, proizvodnju mleka, reproduktivne parametre, sprečavanje meteorizma, proizvodnju metana kao i uticaj na smanjenje infestacije preživara nematodama. Upotreba biljnih ekstrakata u cilju poboljšanja proizvodnih rezultata i kvaliteta namirnica animalnog porekla je oblast sa sve većom naučnom značajnošću.

Uprkos raznolikosti eksperimentalnih rezultata, identifikovan je određeni broj faktora koji mogu uticati na efekte tanina kod životinja. Izgleda da je fiziološki status životinje jedan od faktora koji određuje reakciju preživara na ishranu koja sadrži CT, s obzirom na to da fiziološko stanje utiče na potrebe životinja (*Waghorn, 2008*). Rezultati istraživanja sprovedenih na jagnjadima (*Niezen i sar., 1998; Ramirez-Restrepo i sar., 2005a*) ili na muznim ovcama i kravama (*Wang i sar., 1996b; Woodvard i sar., 2004*), ukazali su da su životinje sa većim potrebama za proteinima sposobne da odgovore na povećanje proteina u ishrani i time poboljšaju proizvodne karakteristike, kao odgovor na višak aminokiselina (*Barry i Manley, 1984*). U takvim okolnostima, produktivni odgovor na biljke koje sadrže CT ogleđa se u povećanju potencijala od 8-38% za ukupnu proizvodnju, ili 10-21% za proizvodnju mleka (*Waghorn, 2008*) u poređenju sa kontrolama. U procesu proizvodnje mleka, veća dostupnost aminokiselina, posebno esencijalnih aminokiselina

metionina, lizina i aminokiselina sa razgranatim lancima, mogu povećati prinos proteina mleka i sintezu laktoze putem glukoneogeneze, što doprinosi povećanju ukupne proizvodnje tj. produktivnosti životinja (Wang i sar., 1996b).

Sa druge strane, količina tanina, kao i kvalitet ishrane, takođe utiču na proizvodne osobine životinja. Unos do 50 g CT/kg suve materije može poboljšati resorpciju aminokiselina (Min i sar., 2003).

U pogledu kvaliteta ishrane, unos CT u kombinaciji sa ishranom srednjeg ili lošeg kvaliteta, šteti proizvodnim karakteristikama životinja (Waghorn, 2008). Kod životinja hranjenih obrocima sa visokim sadržajem vlakana, energija je verovatno prvi ograničavajući faktor za učinak tanina. Ova vrsta ishrane dovodi do niskog prinosa isparljivih masnih kiselina, a dodavanje CT u ishranu može doprineti smanjenju svarljivosti vlakana zbog inhibicije bakterija koje razgrađuju vlakna i stoga će svako povećanje resorpcije aminokiselina doprineti pre svega uspostavljanju energetskog balansa, a ne sintezi proteina (Waghorn, 2008). Međutim, bez obzira na veliki broj biljaka koje sadrže CT, direktan efekat na produktivnost životinja utvrđen je samo pri ishrani pojedinim biljnim vrstama. Waghorn (2008) navodi da CT iz biljaka esparzeta (*Onobrychis viciifolia*), sula (*Hedysarum coronarium*) i zvezdan (*Lotus pedunculatus*) ne deluju blagotvorno na produktivnost, dok CT iz žutog zvezdana (*Lotus corniculatus*) imaju povoljan uticaj na proizvodnju kod preživara.

Tanini su heterogena jedinjenja, promenljiva u strukturi i veličini, a poznato je da njihov metabolizam i aktivnost zavise od tipa tanina, čime se mogu objasniti često suprotni rezultati u pogledu njihove sposobnosti da modifikuju profil masnih kiselina u proizvodima poreklom od preživara. Rezultati ukazuju na to da efekat tanina na profil masnih kiselina u mleku zavisi od sastava obroka i doze tanina uključenih u obroke. Veći nivoi tanina u obroku izgleda da su efikasniji u modifikaciji sastava masnih kiselina kod preživara (Girard i sar., 2016). Međutim, korišćenje takvih, visokih doza tanina može imati i štetne efekte na proizvodne osobine životinja.

Pošto potrošnja tanina može da utiče na obim konzumacije hrane i efikasnost varenja, verovatno postoje posledice na produktivnost životinja koje ih konzumiraju. Visoke doze tanina imaju negativan uticaj na produktivnost, jer se dostupnost hranljivih materija smanjuje zbog kompleksa formiranih između tanina i nekoliko tipova makromolekula. Obim unosa hrane i svarljivost su smanjeni, a mogu nastati i promene na sluzokoži creva. Barry (1985) je utvrdio značajno smanjenje prirasta kod jagnjadi hranjene sa *L. pedunculatus* koja ima visok sadržaj CT (76-90 g/kg SM). Međutim, neki autori ukazuju da dugotrajno unošenje tanina može da dovede do delimične adaptacije na ova jedinjenja, što je praćeno nestankom ili bar smanjenjem njihovih štetnih efekata (Barry, 1985; Silanikove, 2000). Umerene količine tanina unete hranivima mogu imati korisne efekte na produktivnost životinja (Aerts i sar., 1999; Barry i McNabb, 1999; Min i sar., 2003.; Waghorn i McNabb, 2003). Unos kondenzovanih tanina u količini ispod 50 g/kg SM (10-40 g/kg SM) poboljšava digestivnu iskoristivost hrane kod preživara, uglavnom zbog smanjenja razgradnje proteina u buragu, a kao rezultat toga, veća je raspoloživost esencijalnih aminokiselina za resorpciju u tankom crevu (Schwab, 1995; Barry i McNabb, 1999; Min i sar., 2003).

Wang i sar. (1994 i 1996a) su utvrdili da ispaša ovaca sa *L. corniculatus* (34 g/kg SM CT) smanjuje obim unosa hrane, ali povećava prirast, masu trupa i telesnih proporcija, u poređenju sa grupom ovaca kojoj je dodavan i polietilen glikol (PEG), koji se vezuje za tanine i inaktivira ih. Montossi i sar. (1996) su objavili slične rezultate. Ovi autori su zabeležili povećanje telesne mase za 23% kod jagnjadi koja su pasla pahuljastu meduniku (*Holcus lanatus*) (4,2 g/kg SM CT).

Nekoliko autora (Wang i sar., 1994; Min i sar., 1999 i 2003), koristeći polietilen glikol u cilju poređenja, su ukazali da ispaša *L. corniculatus* (30-35 g/kg SM CT) povećava proizvodnju vune za 10-14%, što objašnjavaju većom resorpcijom esencijalnih aminokiselina u intestinalnom traktu. Montossi i sar. (1996) su takođe zabeležili da je ispaša pahuljastom medunikom (*Holcus lanatus*), sa mnogo nižom koncentracijom kondenzovanih tanina (4,2 g/kg SM CT) povećala proizvodnju vune za 10%.

Fenolna jedinjenja, kao što su tanini, imaju antioksidativna svojstva i pozitivan uticaj na antioksidativni status životinja, što je dokazano u *in vivo* ispitivanjima sprovedenim kod ovaca i goveda (Gladine i sar., 2007b; Luciano i sar., 2011; Lopez-Andres i sar., 2013; Dey i De, 2014).

Rezultati ovih istraživanja su ukazali da dodavanje tanina u ishranu može poboljšati oksidativnu stabilnost mesa tokom skladištenja.

Mleko krava i ovaca je važan faktor za preživljavanje i rast podmlatka. Kondenzovani tanini u travnim smešama sa žutim zvezdanom (*Lotus corniculatus*) povećavaju mlečnost kod ovaca u toku proleća i leta. *Wang i sar. (1996b)* su utvrdili porast mlečnosti od 21% sredinom i krajem laktacije kod ovaca hranjenih sa *L. corniculatus* (44,5 g/kg SM CT) u odnosu na ovce kojima je dodat polietilen glikol. Takođe, ovi autori navode značajno povećanje efikasnosti proizvodnje mleka, povećanu proizvodnju proteina i laktoze, kao i smanjenje sadržaja masti u mleku. Povećanje koncentracije proteina se može objasniti većom raspoloživošću aminokiselina u crevima, posebno metionina i lizina, za koje se smatra da su neophodne za proizvodnju mleka. Veća koncentracija laktoze se može objasniti većim snabdevanjem glukozom. Sinteza laktoze u mlečnoj žlezdi odvija se direktno iz glukoze krvi i kod preživara glukoneogeneza pretežno se vrši iz propionske kiseline i aminokiselina. Veća dostupnost aminokiselina trebalo bi da dovede do veće sinteze glukoze. Rezultati ovog istraživanja su ukazali da se povećanje koncentracije laktoze dešava bez promene odnosa isparljivih masnih kiselina, čime je potvrđeno da nastaje delovanjem tanina. Smanjenje koncentracije masti je pripisano efektu razblaživanja kako se koncentracija laktoze i proteina povećavala. Međutim, *Benchaar i Chouinard (2009)* nisu utvrdili efekat dodavanja ekstrakta tanina kuebričo (*Schinopsis balansae*) (150 g/dan, 0,45% unošenja suve materije) na sastav masti mleka.

Attia i sar. (2016) su sprovedli ogled na 30 krava holštajn rase, u tranzicionom periodu. Ogled je trajao 12 nedelja, a krave su bile podeljene u tri grupe. Kontrolna grupa krava nije dobijala kuebričo tanine kroz obrok, dok su ogledne grupe krava podeljene tako da je svakoga dana jedna grupa dobijala 100 g, a druga 200 g komercijalnog preparata sa kuebričo taninima. Ishrana mlečnih krava sa dodatkom 100 ili 200 g komercijalnog preparata sa taninima je dovela do smanjenja ($p < 0,05$) dnevnog prinosa mleka od 30,17 kg do 26,34 kg i 25,92 kg kod krava ogledne grupe u odnosu na kontrolu, respektivno. Smanjenje prinosa mleka usled upotrebe ovog preparata u količini od 100 i 200 g je bilo 13,00% i 14,20%, respektivno. Autori su utvrdili da dodatak različitih doza komercijalnog preparata sa taninima nije imao značajnog uticaja na procenat mlečne masti, procenat laktoze i prinos masti, proteina i suve materije bez masti kod krava u ranoj laktaciji u poređenju sa kontrolom. Procenat proteina u mleku bio je povećan ($p < 0,05$) kod krava koje su dobijale 100 g preparata dnevno (3,59%) u odnosu na krave koje su dobijale 200 g preparata na dan (3,48%) i kod krava kontrolne grupe (3,29%). Suva materija bez masti je imala najveću vrednost kod krava koje su konzumirale 200 g preparata (8,83%), zatim kod krava kontrolne grupe (8,67%), a najniža vrednost izmerena je kod krava koje su dobijale 100 g preparata (8,35%). Količina proizvedenog mleka, korigovana na sadržaj mlečne masti od 4% takođe je bila manja za 10,50% i 12,30% zbog dodatka 100 i 200 g preparata, respektivno. Prinos laktoze bio je niži kod oglednih krava u poređenju sa kontrolnom grupom, a utvrđeno je i linearno smanjenje sadržaja laktoze povećanjem nivoa preparata sa kondenzovanim taninima.

Grainger i sar. (2009) su utvrdili da je prinos mleka, mlečne masti i proteina smanjen kod mlečnih krava hranjenih obrocima koji sadrže CT. Nasuprot tome, *Wang i sar. (1996a)* su utvrdili da tanini iz *Lotus corniculatus* kojima su hranjene mlečne krave su doveli do povećanja prinosa mleka, laktoze i sadržaja proteina. Jedan od razloga za ove efekte mogao bi biti povećanje metaboličkog snabdevanja proteinima zbog vezivanja proteina sa CT (*Patra i Saxena, 2011*), jer efekti tanina na produktivnost preživara zavise od kvaliteta i količine proteina u obroku.

Maamouri i sar. (2011) su kod ovaca utvrdili da zaštita proteina od mikrobne degradacije u rumenu, korišćenjem tanina iz akacija, nije rezultirala povećanjem proizvodnje mleka. Suprotno, druge studije su pokazale da je zaštita proteina od degradacije mikrobiološkim procesom dovela do povećanja proizvodnje mleka kod krava (*Woodward i sar., 1999*), koza (*Rouissi i sar., 2006*) i ovaca (*Penning i sar., 1988*). Ove rezultate nisu podržali nalazi *Waghorn i sar. (1999)* koji su utvrdili da prisustvo CT u ishrani, u koncentraciji ispod 100 g/kg suve materije, može poboljšati proizvodne osobine preživara. *Woodward i sar. (1999)* su utvrdili da se sadržaj proteina mleka povećao sa dodavanjem tanina u obroke kod mlečnih krava.

Rezultati ispitivanja koja su sproveli *Aguerre i sar. (2010)* ukazali su da dodaci sa CT nisu značajno uticali na prinos komponenata mleka, koncentraciju mlečne masti, proteine i laktozu. Prinos mleka i sastav mlečne masti nisu bili značajno promenjeni prilikom dodavanja CT u ishrani mlečnih krava do 1,8% SM/dan. Takođe, *Benchaar i sar. (2008)* su objavili rezultate koji govore da se sastav mleka nije menjao kada se CT dodaju u ishrani mlečnih krava. Međutim, *Aguerre i sar. (2010)* su izvestili da se koncentracija mlečne masti povećala kada se kondenzovani tanini dodaju u količini od 0,45% suve materije hrane, dok je dodavanje CT do 0,9 i 1,8% suve materije hrane dovelo do smanjenja proteina mleka u odnosu na dodatak tanina od 0,45%. Iz svega prethodno navedenog, može se zaključiti da sastav mleka zavisi od koncentracije CT u obrocima.

Sallam i sar. (2019) su objavili slične rezultate iz istraživanja koje su obavili na bivolicama u ranom stadijumu laktacije. Dodavanje 100 g preparata sa taninima u obroke, tokom 10 nedelja, nije imalo značajnog uticaja na prinos mleka, dok je dodavanje 200 g preparata sa taninima značajno smanjilo ($p < 0,05$) prinos mleka. U poređenju sa kontrolnom grupom, kod oglednih grupa bivolica zabeleženo je značajno smanjenje ($p < 0,05$) prinosa mleka korigovanog na mlečnu mast (FCM), ali nije bilo značajnih promena u koncentraciji mlečne masti i proteina.

Suprotno, *Dey i De (2014)* su ustanovili da je dodatak CT značajno ($p < 0,05$) povećao dnevni prinos mleka krava. Utvrđeno je značajno ($p < 0,05$) povećanje sadržaja mlečne masti kod životinja hranjenih CT. Povećana mlečna mast i dnevni prinos mleka imali su aditivno značajan ($p < 0,01$) pozitivan efekat na prinos 4% korigovanog mleka kod krava kojima je dodavan CT. Takođe je poboljšana efikasnost proizvodnje mleka (kg konzumirane hrane/kg prinosa korigovanog mleka) ($p < 0,05$) kod krava tretiranih sa CT. Poboljšanje u proizvodnji mleka delovanjem kondenzovanih tanina moglo bi se objasniti povećanjem snabdevanja aminokiselinama usled zaštite proteina u hrani (*Garg i sar., 2005; Dey i sar., 2008*). Metionin i lizin su dve najvažnije aminokiseline za produktivne osobine životinja. *Chalupa i Sniffen (1996)* takođe su utvrdili da povećanje snabdevanja esencijalnim aminokiselinama koje potiču od protektiranih proteina dovodi do povećanja proizvodnje mleka. Posebno aminokiselina metionin igra značajnu ulogu kao metil donor tokom sinteze mlečne masti, a takođe je i prekursor komponenti fosfolipida za sintezu holina (*Sharma i Erdman, 1988*). Upotreba listova *F. bengalensis* mogla je da obezbedi dodatne isparljive masne kiseline neophodne za sintezu mlečne masti, kako su izvestili *Wanapat i sar. (2000)* kod muznih krava u laktaciji koje su hranili senom bogatim sa CT. Ovi autori navode da su povećanje mlečne masti i veću proizvodnju maslaca kod krava hranjenih sa taniferoznim listovima utvrdili i proizvođači.

Girard i sar. (2016) su sproveli eksperiment na 24 krave holštajn rase da bi utvrdili da li ishrana bogata kondenzovanim taninima iz različitih krmnih mahunarki, može povećati sadržaj polinezasićenih masnih kiselina, naročito količinu ω -3 masnih kiselina u mleku i siru, a da pritom ne utiče negativno na njihova fizičko-hemijska i senzorna svojstva. Krave su podeljene u četiri grupe, hranjene su biljkama sa različitim sadržajem tanina, a ogled je trajao 52 dana. Na kraju svakog oglednog perioda, mleko je sakupljano 3 uzastopna dana i analiziran profil masnih kiselina u sirovom mleku i prerađenom u sir tipa Gruiere. Rezultati ovog istraživanja su ukazali da ishrana mahunarkama koje su bogate kondenzovanim taninima, kao što je esparzeta (*Onobrychis viciifolia*) može poboljšati odnos nekih korisnih nezasićenih masnih kiselina u mleku i u Gruiere siru. Ovi autori su takođe utvrdili da je u ishrani mlečnih krava moguća zamena visokokvalitetnih biljaka, poput lucerke, esparzetom, bez štetnih nuspojava na unos hrane i prinos mleka.

Aguerre i sar. (2016) su ustanovili da mešavina ekstrakta tanina iz kuebracha i kestena (odnos 2:1) nije uticala na proizvodnju mleka kod muznih krava. Ovi autori su utvrdili trend linearnog smanjenja masti i proteina mleka sa povećanjem nivoa tanina u ishrani krava.

Dschaak i sar. (2011) su utvrdili da na prinos mleka i komponenta mleka nije uticalo dodavanje komercijalnog kuebracho ekstrakta kondenzovanih tanina sa stopom od 3% suve materije u obroku.

Allam i sar. (2013) su pratili efekat zamene lucerke u obrocima mlečnih krava travnom vrstom (*Panicum antidotale*) na unos suve materije, prinos mleka i hemijski sastav mleka. Rezultati su ukazali da je zamena lucerke ovom travnom vrstom smanjila ($p < 0,05$) prinos mleka i korigovane

masti mleka kod visokoproduktivnih krava. Kod grupe krava hranjene ovom travnom vrstom zabeležena je veća vrednost mlečne masti ($p < 0,05$) u odnosu na grupu hranjenu lucerkom, dok se utvrđene vrednosti mlečnih proteina, laktoze, suve materije bez masti i procenta pepela nisu značajno razlikovale između ove dve grupe. Veći prinos mleka kod krava hranjenih lucerkom može biti zbog poboljšane iskoristivosti hranjivih materija u digestivnom traktu i većih vrednosti za neto energiju.

Davidović i sar. (2019) su utvrdili da je dodavanje tanina u obroke krava u laktaciji dovelo do značajnog povećanja ($p < 0,05$) količine proizvedenog mleka i proizvodnje mleka korigovane na sadržaj mlečne masti od 4% (FCM). Primena tanina je povećala koncentraciju (3,2% vs 3,12%) i sadržaj (1,16 kg/dan vs 1,24 kg/dan) proteina mleka. Koncentracija i prinos mlečne masti, kao i koncentracija laktoze, su bile veće kod grupe krava koja je dobijala tanine u obroku, ali utvrđene razlike u odnosu na kontrolnu grupu nisu bile signifikantne ($p > 0,05$).

2.6. Uticaj tanina na reproduktivne osobine preživara

U govedarskoj proizvodnji, jedan od najvažnijih indikatora uspeha je reproduktivna efikasnost. Istraživanja većeg broja autora su potvrdila da visoki unos proteina u periodu porasta negativno utiče na plodnost (*Dyck, 1991; Cassar i sar., 1994; Wallace i sar., 1994; Gath i sar., 2012*). Ishrambene proteine čine proteini razgradivi u buragu (RDP) i proteini nerazgradivi u buragu (RUP). Proteini razgradivi u buragu se koriste za sintezu mikrobijalnih proteina ili se azot koji se oslobađa iz proteina apsorbuje kroz zid rumena i pretvara u ureu u jetri. Proteini nerazgradivi u buragu mogu biti apsorbovani u tankom crevu, a višak aminokiselina se kataboliše u ureu koju stvara jetra.

Visok dnevni unos proteina povećava proizvodnju mleka kod mlečnih krava (*Crings i sar., 1991*), ali istovremeno, velike količine lako razgradivih proteina dovode do povećanja koncentracije amonijaka i uree u krvi, što ima negativan efekat na reproduktivne osobine (*Canfield i sar., 1990*). Kada količina amonijaka premaši detoksikacioni kapacitet jetre, njegova koncentracija se povećava u celom telu i može ispoljiti toksične efekte na ćelije organizma. Povišena koncentracija amonijaka i uree dovodi do poremećaja elektrohemijske reakcije krvi i drugih telesnih tečnosti, uz čestu pojavu neplodnosti i reproduktivnih poremećaja kod mlečnih krava (*Tamminga, 2006*).

Mesta potencijalnog direktnog delovanja uree ili amonijaka uključuju jajnike, jajovode, matericu i hipotalamo-hipofizno-žlezdanu osovinu. Visoke koncentracije amonijaka i uree umanjuju plodnost direktnim toksičnim efektom na razvoj jajnika, implantaciju i embrion (*Sinclair i sar., 2000*). Povećanje vrednosti ovih parametara u krvnoj plazmi, posledično povećava njihovu koncentraciju u folikulima, materici i jajovodima (*McEvoy i sar., 1997*), utiče na sekreciju uterusa (*Jordan i sar., 1983*), menja pH vrednost uterusa (*Elrod i Buttler, 1993*), dovodi do oštećenja i smanjenja održivosti sperme (*Umezaki i Fordney-Settlage, 1975*) i oocita (*O'Callaghan i Boland, 1999*), smanjenja stope začeća, preživljavanja embriona i embrionalnog razvoja kod krava (*Blanchard i sar., 1999*) i ovaca (*Fahey i sar., 1998*). Ovi efekti mogu se ispoljiti pojedinačno, istovremeno ili sinergistički (*Ferguson i Chalupa, 1989*).

Predložena su tri mehanizma koja objašnjavaju kako višak ishrambenih proteina može negativno uticati na plodnost:

- 1) azotna jedinjenja mogu promeniti pH vrednost materice i ravnotežu minerala;
- 2) azotna jedinjenja utiču na iskoristivost energije i mogu da izmene izlučivanje gonadotropina i/ili progesterona;
- 3) proizvodi metabolizma azota iz rumena (amonijak) i jetre (urea) mogu dovesti do oštećenja spermatozoida, jajne ćelije ili uticati negativno na rani opstanak embriona.

Elektrohemijska reakcija intrauterine sredine je od velike važnosti za razvoj embriona, pa stoga promena pH vrednosti u materici može stvoriti nepovoljne uslove za preživljavanje, rast i razvoj embriona. Višak lako razgradivih proteina u obroku, bez obzira na izvor, a time i visoka koncentracija uree ili amonijaka u plazmi utiču na pH vrednost i sekrecionu aktivnost materice, što može biti povezano sa smanjenom plodnošću krava i promenom uslova za rast i razvoj embriona

(Mitchell, 2004). Biswajit i sar. (2011) su zabeležili povezanost promene pH materice i visoke koncentracije uree kod krava za vreme lutealne faze, ali ne i tokom estrusa. Elrod i Butler (1993) i Elrod i sar. (1993) su izveli ogled na kravama i junicama koje su hranjene obrocima koji se razlikuju u sadržaju proteina razgradivih u buragu (RDP, rumen degradable protein) i proteina nerazgradivih u buragu (RUP, rumen undegradable protein), koji dovode do povećanja koncentracije azota iz uree u krvnoj plazmi (PUN, plasma urea nitrogen). Vrednost pH materice merena je na dan estrusa i 7 dana posle estrusa. Vrednost pH materice obe grupe krava je bila slična u toku estrusa. Međutim, sedam dana nakon estrusa, visoka koncentracija uree u krvi kod grupe krava hranjene obrocima sa većim sadržajem proteina razgradivih u buragu, bila je udružena sa niskim pH materice. Vrednost pH materice 7. dana nakon estrusa je značajna, jer ako bi se oocita oplodila, embrion bi mogao dospeti u lumen materice, a pošto se nisu razvili embrionalni omotači, njegov opstanak zavisi od sekretorne aktivnosti materice. Promene u materičnom okruženju tokom ovog perioda mogu ugroziti rani razvoj ili održivost embriona. Pojedini autori su izvestili da će se za porast od 5 jedinica PUN (mg/dL) pH vrednost u materici smanjiti za 0,5 jedinica. Smanjivanje pH u lumenu materice nastaje kao odgovor na dodatak uree (Rhoads i sar., 2004). Snižavanje pH vrednosti u endometriju deluje nepovoljno i može dovesti do smrti embriona. McEvoy i sar. (1997) su utvrdili da i kod ovaca višak uree može negativno uticati na održivost i metabolizam embriona i promeniti stopu razvoja fetusa.

Jordan i sar. (1983) su utvrdili da visok nivo proteina u ishrani krava u laktaciji smanjuje izlučivanje kalijuma, fosfora i magnezijuma u materici u toku estralnog ciklusa, ali povećava koncentraciju uree (6,4 vs 17,2 mg/dL) i cinka.

Jankowska i sar. (2010) su sproveli ispitivanje indeksa plodnosti kod krava hranjenih energetski deficitarnim obrocima i kod krava hranjenih viškom proteina i energije. U ovom istraživanju utvrđeni su slabiji indeksi plodnosti kod prvotelki i drugotelki hranjenih energetski deficitarnim obrocima i kod krava u trećoj i četvrtoj laktaciji sa viškom proteina i energije. Najbolja plodnost je utvrđena kod mladih krava sa viškom proteina (>3,60%) bez obzira na nivo uree u mleku, kao i kod starijih krava sa nižim i optimalnim nivoom uree, bez obzira na nivo proteina. Butler (2005) je utvrdio da su nivoi uree u mleku veći od 19 mg/dL povezani sa smanjenim reproduktivnim performansama.

Mlečne krave koje su hranjene velikim količinama lako razgradivih proteina imaju niske koncentracije progesterona u plazmi. Visoke koncentracije uree, usled visokoproteinske ishrane, utiču na smanjenje koncentracije progesterona tokom diestrusa, te na taj način utiču na smanjenje plodnosti (Sonderman i Larson, 1989). Upotreba velikih količina proteina u ishrani mlečnih krava smanjuje koncentraciju progesterona u toku estralnog ciklusa (Jordan i sar., 1983). Gilbert i sar. (1996) su takođe utvrdili da visoke koncentracije uree mogu umanjiti efekte progesterona, a velike količine prostaglandina (PGF₂α) mogu se sekretovati iz endometrijuma, što na kraju ometa razvoj i održivost embriona. Visoka koncentracija uree ili amonijaka u plazmi može smanjiti vezivanje LH za receptore jajnika, što dovodi do smanjene stope ovulacije i smanjene proizvodnje progesterona. Povećani nivoi uree u plazmi ometaju fiziološke funkcije progesterona u materici, čime se stvaraju nepovoljni uslovi za razvoj embriona. U *in vitro* ispitivanjima sprovedenim na goveđim ćelijskim kulturama, Butler (2005) je utvrdio da urea menja pH vrednost u ćelijama i povećava sekreciju prostaglandina F₂α koji može ometati razvoj embriona. Nasuprot tome, Blauviekkel i Kinacid (1986) su izvestili da ishrambeni proteini ne utiču na lučenje hormona hipofize i jajnika kod mlečnih krava.

Biswajit i sar. (2011) su kod negravidnih krava sa niskim nivoima progesterona zabeležili visoku koncentraciju uree u mleku. Larson i sar. (1996) su u svojim istraživanjima ustanovili da su koncentracije uree u mleku više kod negravidnih krava sa niskim koncentracijama progesterona, u odnosu na negravidne krave s visokim koncentracijama progesterona. Krave sa visokim koncentracijama uree u mleku su pokazale smanjenju mogućnost koncepcije u prvom estralnom ciklusu.

Ispitivanja *in vitro* su pokazala da urea deluje tokom sazrevanja oocita, a ne nakon oplodnje (De Wit i sar., 2001; Ocon i Hansen, 2003). Korišćeni nivoi uree su bili isti kao oni koji smanjuju plodnost kod krava (Butler i sar., 1996; Bode i sar., 2001). Međutim, Jorritsma i sar. (2003) su na

osnovu ispitivanja koje su sprovedi na mlečnim kravama, postavili hipotezu da nivo uree utiče na blastomerizaciju.

Prekomerni razgradivi proteini imaju štetan uticaj na embrionalni razvoj kod krava (*Blanchard i sar., 1990*). Dodavanje značajne količine uree u obrok krava, koje je praćeno nedovoljnom količinom lako iskoristive energije, može dovesti do povećane koncentracije uree u telesnim tečnostima i do posledičnog umanjenja plodnosti krava (*Butler i sar., 1996*).

Gath i sar. (2012) su sprovedi ogled sa ciljem da utvrde uticaj povećane koncentracije uree u krvi na superovulaciju, stopu oplodnje i rani embrionalni razvoj kod junica tovnih rasa, kao i preživljavanje embriona od 7. do 35. dana gestacije. Junice stare 18 do 24 meseca podeljene su nasumično u grupe od po 20 grla. Prva grupa je konzumirala silažu žitarica po volji, uz dnevni dodatak od 5 kg komercijalne krmne smeše (kontrolna grupa). Druga grupa je bila hranjena kao prva, uz dnevni dodatak 250 g uree. Treća grupa je konzumirala pšeničnu slamu po volji, 250 g uree i 50 g vitaminsko-mineralnog dodatka dnevno. Tokom ogleda su praćene koncentracije uree u serumima životinja. Estrus junica je sinhronizovan upotrebom intravaginalnih progesteronskih blokova (CIDR). Otkriven je estrus i izvršen je embriotransfer *in vitro* proizvedenih blastocista u telo materice junica 7 dana kasnije (19 dana nakon početka ogleda). Narednih 28 dana junice su bile na oglednoj ishrani, a transrektalnom ultrasonografijom utvrđena je steonost. Utvrđena steonost je prekinuta upotrebom hormona, a junice ponovo upotrebljene za drugi ogled. U drugom ogledu, nakon 14 dana odmora između ogleda, junice su ponovo nasumično raspoređene u eksperimentalne grupe, koje su se kako je već opisano, razlikovale u pogledu korišćenih obroka. Junice su tretirane upotrebom CIDR protokola. Osemenjene su 48 sati nakon uklanjanja progesteronskih pesarija. Junice su do klanja hranjene oglednim obrocima, a tri dana nakon osemenjavanja su utvrđeni broj žutih tela, oporavljeni su embrioni i vizuelno određen broj ćelija. Koncentracija uree u krvi je bila najveća u III grupi, niža u II, a najniža u kontrolnoj grupi ($7,1 \pm 0,5$ mmol/L; $4,9 \pm 0,3$ mmol/L; $3,2 \pm 0,1$ mmol/L, respektivno; $p < 0,05$). Nije bilo uticaja ishrane na stopu koncepcije 35. dana i broj žutih tela nakon superovulacije. Nije bilo značajnih razlika u broju zametaka između grupa, ali broj embriona sa 8 ili više ćelija bio je veći kod junica III grupe u odnosu na kontrolu ($3,4 \pm 0,8$ vs $1,0 \pm 0,3$; $p < 0,05$). Štetni efekti uree na plodnost nisu zabeleženi u ovom ogledu, ali su autori izneli pretpostavku da će se negativni efekti uree verovatno javiti u ranoj fazi razvoja oocita pre ovulacije ili oplodnje.

U dostupnoj literaturi postoje brojni podaci o uticaju kondenzovanih tanina na reproduktivnu efikasnost preživara, a većina podataka ukazuje da tanini imaju uticaja na reproduktivne osobine, pre svega kroz značajno smanjenje koncentracije uree u krvi i drugim telesnim tečnostima. Utvrđeno je da kratkotrajno poboljšanje snabdevanja nutrijentima pre i tokom parenja i reprodukcije utiče na stopu ovulacije.

Min i sar. (1999) su utvrdili da je ispaša ovaca sa *Lotus corniculatus* (17 g/kg SM CT) imala pozitivan efekat na plodnost ovaca, koji je iznosio oko 25%, zbog povećanja stope ovulacije, a potom povećala procenat jagnjenja, verovatno u vezi sa iskorišćenjem proteina. Ovi autori smatraju da je usled smanjenja razgradnje proteina u rumenu i povećanja resorpcije esencijalnih aminokiselina došlo do smanjenja ranih embrionalnih gubitaka kod ovaca hranjenih biljkama sa kondenzovanim taninima. Na Novom Zelandu je istražena alternativna vrsta pašnjaka koji sadrže *Lotus corniculatus* (*Min i sar., 2001; Ramirez-Restrepo i sar., 2005b*). Upoređivani su rezultati dobijeni kod ovaca napasanih sa žutim zvezdanom (*Lotus corniculatus*) sa rezultatima utvrđenim kod ovaca koje su pasle belu detelinu (*Trifolium repens*) i utvrđeno je da *L. corniculatus* uzrokuje povećanje stope ovulacije od 5% do 33% (maksimalno ako je *L. corniculatus* korišćen u ishrani 2 do 3 estralna ciklusa pre parenja), kao i 6% do 39% povećanje stope jagnjenja. Uticaj ove biljke na brzinu ovulacije je bar delimično zavisio od koncentracije aktivnih tanina. Ostali efekti mogu uključivati smanjenje koncentracije amonijaka rumena i uree (*Min i sar., 2001*) ili promene u okruženju jajovoda i materice koje doprinose koncepciji, implantaciji i razvoju fetusa (*Ramirez-Restrepo i Barry, 2005*). Koncentracija tanina u hrani mora biti niska da bi se poboljšala reprodukcija životinja, dok visoke koncentracije tanina mogu biti štetne za reprodukciju (*Min i sar., 2001*).

Kumar i sar. (2010) su sprovedli ogled na 20 krava i utvrdili da dodatak ekstrakta biljke *Asparagus racemosus* u obroke pozitivno utiče na reproduktivne osobine. Ovi autori smatraju da *Asparagus racemosus* podstiče funkcije jajnika, dovodi do brže involucije materice i uspostavljanja polnog ciklusa.

Upotreba tanina je povećala veličinu i/ili broj folikula (*Bellows i sar., 1963*), smanjila povezanu folikularnu atreziju (*Dovning i Scaramuzzi, 1991*), izmenila koncentraciju gonadotropina u plazmi (*Smith, 1988*) i povećala osetljivost jajnika na gonadotropine (*Dovning i Scaramuzzi, 1991*). Ovi efekti se verovatno javljaju kao rezultat promena u masi i telesnoj kondiciji životinja, energiji, unosu proteina i resorpciji proteina iz tankog creva (*Smith, 1991; Min i sar., 1999; Min i sar., 2001*). Veliki deo proteina iz obroka se hidrolizuje u buragu u amonijak koji se koristi za sintezu mikrobijalnih proteina. Višak amonijaka se resorbuje iz rumena i metaboliše u ureu u jetri, što dovodi do povećanja koncentracije amonijaka i uree u plazmi (*Min i sar., 2001*), a to može negativno uticati na reprodukciju zbog povećanog broja ranih embrionalnih gubitaka (*El-Zarkouny i sar., 2007*).

Ispaša ovaca i konzumiranje paše koja je sadržala velike količine kondenzovanih tanina imala je pozitivniji uticaj na reproduktivne parametre u poređenju sa životinjama koje su gajene na pašnjacima gde nema ovih biljaka. *Ramirez-Restrepo i sar. (2005b)* su utvrdili da je napasanje ovaca na pašnjacima obraslim žutim zvezdanom (*Lotus corniculatus*) do 42 dana pre parenja rezultiralo većim brojem bližnjenja ovaca u poređenju sa ovcama koje su hranjene na konvencionalnim pašnjacima.

Sallam i sar. (2019) su sprovedli ispitivanje upotrebe kuebriho tanina, u trajanju od 10 nedelja, na 30 bivolica posle teljenja. Krave su podeljene u tri grupe. Pristup vodi je bio ad libitum. Kontrolna grupa krava hranjena je mešavinom 6 kg koncentrata i senom lucerke (*Medicago sativa*) ad libitum. Ogledne grupe su pored koncentrata i sena lucerke dobijale 100g (KT100) ili 200g (KT200) preparata na bazi tanina, u periodu od 10 uzastopnih nedelja koji je svakodnevno dobro mešan sa smešom koncentrata pre davanja kravama u ogledu. Krave su hranjene pojedinačno, kako bi se pratila konzumacija obroka, a koncentrat koji krave ne pojedu na kraju dana bio bi uklonjen. Bivolice su sinhronizovane prema Ovsynch protokolu, 60. dana nakon partusa, a osemenjavane su 16 do 20 časova nakon poslednje injekcije GnRH. Izvršena je ultrazvučna dijagnostika graviditeta i aktivnosti jajnika. Graviditet je dijagnostikovao 35. dana nakon inseminacije. Folikuli su klasifikovani u tri kategorije, prema veličini: mali (2 do 3 mm), srednji (3 do 5 mm) i veliki (≥ 5 mm). Ovulacija je potvrđena nestankom velikog folikula ili prisustvom žutog tela (CL). Upotreba KT100 je dovela do smanjenja ukupnog broja folikula, broja malih folikula i koncentracije progesterona, dok je dodavanje KT200 dovelo do povećanja broja i prečnika velikih folikula i broja i prečnika žutog tela. Od reproduktivnih parametara praćeni su stopa koncepcije nakon prvog osemenjavanja i trajanje servis perioda. Servis period kontrolne i KT100 grupe trajao je 121 dan, dok je servis period KT200 grupe trajao 114 dana. Broj utrošenih doza semena po koncepciji u kontrolnoj i KT100 grupi bio je 2,71, dok je kod KT200 grupe broj utrošenih doza semena po koncepciji bio 2,40. Procenat začeća nakon prvog osemenjavanja je u kontrolnoj grupi bio 66,7%, kod KT100 60%, dok je najmanji procenat začeća nakon prvog osemenjavanja (55,6%) ustanovljen kod KT200 grupe bivolica. Rezultati dobijeni u ovoj studiji su ukazali na delimično pozitivan efekat upotrebe kuebriho tanina na reproduktivne parametre kod ispitivanih životinja.

Međutim, dopunjavanje ishrane mlečnih krava tokom tranzicionog perioda (tri nedelje pre partusa i tri nedelje posle partusa) komercijalnim preparatom koji sadrži kondenzovane tanine, može negativno da utiče na reproduktivne osobine krava. *Attia i sar. (2016)* su utvrdili da je ishrana sa dodatkom različitih doza komercijalnog preparata sa CT imala tendenciju smanjenja ($p > 0,05$) ukupnog broja folikula jajnika, broja velikih folikula, prečnika najvećeg folikula, broja malih folikula, broja i prečnika žutih tela i koncentracije progesterona, kod holštajn-frizijskih krava u tranzicionom periodu. Uključivanje CT je povećalo otvorene dane tj. trajanje servis perioda i broj usluga tj. doza semena po koncepciji, što je posledično smanjilo stopu koncepcije u odnosu na kontrolnu grupu krava. Trajanje servis perioda kod krava koje su konzumirale 200 g preparata sa taninima iznosilo je 225 dana, kod krava koje su dobijale 100 g preparata 210 dana, a kod krava

kontrolne grupe 125 dana. Broj utrošenih doza semena po koncepciji iznosio je 3,7; 3,5 i 2,7 doza, a procenat koncepcije 44,50%; 45,60%; 53,20% istim redosledom.

3. CILJ I ZADACI ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog istraživanja je ispitivanje uticaja dodavanja različitih doza tanina iz kore divljeg kestena, u obroke visokoproizvodnih krava holštajn-frizijske rase, na osnovne parametre metaboličkog profila, proizvodne i reproduktivne osobine. Rezultati istraživanja ukazaće na mogućnost i značaj uključivanja tanina u obroke za ishranu krava u laktaciji, kao i uticaj na reproduktivne osobine visokoproizvodnih krava, što je od posebnog značaja u intenzivnoj govedarskoj proizvodnji.

U vezi sa postavljenim ciljem istraživanja, realizovani su sledeći zadaci:

- Određivanje vrednosti parametara metaboličkog profila krava, odnosno osnovnih biohemijskih parametara u krvi na kraju oglednog perioda (koncentracija glukoze, β -hidroksibuterne kiseline (BHBA), ukupnih proteina, albumina, uree, kalcijuma, fosfora, magnezijuma);
- Određivanje vrednosti koncentracije uree u krvi 60. dana kod svih krava u ogledu;
- Utvrđivanje proizvodnje mleka (količine mleka u apsolutnom iznosu, obračun količine mleka korigovane na sadržaj mlečne masti od 4%, prinosa proteina mleka);
- Ispitivanje hemijskog sastava mleka (koncentracija mlečne masti, proteina, laktoze i suve materije bez masti);
- Utvrđivanje značajnijih reproduktivnih parametara krava u ogledu:
 - trajanje servis perioda,
 - broj utrošenih doza semena po koncepciji za krave u ogledu.

Na osnovu utvrđenih rezultata biće razmatrana mogućnost upotrebe tanina u ishrani krava u laktaciji i doneti zaključci o opravdanosti njegove primene.

Osnovna hipoteza od koje se pošlo u istraživanju je da metabolizam i telesna kondicija utiču na proizvodne i reproduktivne rezultate i da će dodavanje različitih doza tanina u obroke mlečnih krava dovesti do smanjenja razgradnje proteina u buragu i snižavanja koncentracije uree u krvi, što će imati pozitivan uticaj na parametre metaboličkog profila, uz ispoljavanje pozitivnih efekata na osobine mlečnosti i reprodukciju.

Različiti sekundarni metaboliti, uključujući i tanine, utiču na konzumaciju hrane. Može se očekivati da upotreba tanina u ishrani krava doprinese efikasnijem iskorišćavanju konzumiranog obroka, što bi rezultiralo unapređenjem proizvodnih rezultata i pozitivnim uticajem na zdravlje i parametre metaboličkog profila uz ispoljavanje pozitivnih efekata na reprodukciju. Modifikacije svarljivosti hrane uzrokovane unošenjem tanina su uglavnom povezane sa promenama u obrascu fermentacije u buragu, kao i sa povećanjem intestinalne svarljivosti i resorpcije. Pošto potrošnja

tanina može da utiče na obim konzumacije hrane i njeno korišćenje u procesu varenja, posledično postoji i uticaj na produktivnost životinja.

Optimalne količine tanina u obroku mogu imati korisne efekte na produktivnost životinja. U ishrani preživara, konzumiranje kondenzovanih tanina u količini do 50 g/kg suve materije (SM), poboljšava iskoristivost hranljivih materija, uglavnom zbog smanjenja razgradnje proteina i stvaranja kompleksa tanina i proteina u buragu. Na taj način se povećava raspoloživost esencijalnih aminokiselina i neamonijačnog azota za resorpciju u tankom crevu. Smanjenje intraruminalne razgradnje proteina dovodi do nižeg nivoa proizvodnje amonijaka. Posledično se povećava izlučivanje fekalnog azota koji se nalazi uglavnom u organskom obliku i manje je isparljiv, a istovremeno se smanjuje izlučivanje urinarnog azota u obliku uree, koja se brzo razgrađuje. Ovim se smanjuje i emisija azota u atmosferu i postižu pozitivni efekti na životnu sredinu.

4. MATERIJAL I METODE RADA

Eksperimentalno istraživanje sprovedeno je u Poljoprivrednoj korporaciji „Beograd”, na farmi muznih krava gazdinstva „Padinska Skela” u Padinskoj Skeli, u Beogradu. Pri izradi plana oglada i izbora metoda uzeti su u obzir postavljeni ciljevi i zadaci rada, kao i podaci iz literature.

4.1. Ogledne životinje

Izbor životinja za ogled (ukupno 39 visokoproizvodnih krava holštajn-frizijske rase) izvršen je na gazdinstvu „Padinska Skela”, na farmi muznih krava. Odabrane krave su bile u drugoj laktaciji, klinički zdrave i ujednačene u pogledu telesne kondicije i proizvodnje mleka. Krave u ogledu su podeljene u tri grupe po 13 grla. Kontrolna grupa krava (I grupa) nije dobijala tanine, krave II grupe su konzumirale 20 g Tanimila SCC, a krave III grupe 40 g Tanimila SCC (Tanin Sevnica, Slovenija). Proizvod Tanimil SCC sadrži 40 % tanina kore divljeg kestena.

Eksperimentalni period je trajao 90 dana. Za celokupan period trajanja oglada praćen je efekat tanina na parametre metaboličkog profila, osobine mlečnosti i reproduktivne parametre. Planom oglada je predviđeno da se u prvih 60 dana oglada prati uticaj dodavanja tanina na nivo uree u krvi, a za koju se prema postavljenoj hipotezi očekivalo da će uticati na reproduktivne osobine.

U tabeli 4.1. prikazani su važniji pokazatelji ujednačenosti krava u ogledu.

Tabela 4.1. Ujednačenost krava u ogledu

Pokazatelj	Grupa		
	I	II	III
Dnevna proizvodnja mleka na poslednjoj kontroli pre početka oglada, kg/dan	27,62	27,92	27,54
Faza laktacije, dana na početku oglada (60±4 dana)	59,61	58,54	59,31
Laktacija po redu	2	2	2
Ocena telesne kondicije, početak oglada	2,90	2,79	2,85
Ocena telesne kondicije, kraj oglada	2,87	2,77	2,83

Na početku oglada nije bilo statističkih razlika ($p>0,05$) između posmatranih parametara kontrolne i oglednih grupa krava. Eksperimentalne grupe su bile ujednačene u pogledu proizvodnje mleka, uzrasta i faze laktacije, kao i telesne kondicije.

Krave su bile smeštene u objektu zatvorenog tipa, kapaciteta 120 ležišta, u štali broj 1 na farmi. Sve krave u ogledu su bile smeštene sa desne strane, u vezanom sistemu držanja, na ležištima dužine 175 cm i širine 110 cm, sa standardnim nagibom prema kanalu za izđubivanje. Kao prostirka koristila se ječmena i pšenična slama. Napajanje krava vršeno je *ad libitum*, iz pojilica koje funkcionišu po principu spojenih sudova. Muža krava vršena je dvokratno, ujutru i uveče, polustacionarnim sistemom za mužu, koji se sastoji od fiksnog mlekovoda, fiksnog vakuumvoda,

centralnog postrojenja i muznih jedinica. Kontrola mlečnosti krava vrši se redovno na farmi. Tokom trajanja eksperimentalnog ispitivanja sve krave su bile pod konstantnom opservacijom od strane zootehničke i veterinarske službe na farmi. Na slici 9 je prikazana muža krava u polustacionarnom sistemu, na farmi gde je izveden ogled.



Slika 9. Muža krava u polustacionarnom sistemu
(Originalna fotografija: Mihailo Radivojević)

Ocena telesne kondicije (OTK) eksperimentalnih grupa krava izvršena je na početku i na kraju ogleda, metodom predloženom od strane Elanco Animal Health Buletin (AL 8487). Ova metoda podrazumeva adspekciju i palpaciju pet anatomskih regija (slabinska regija, regija korena repa, regija sednih kvrga, regija sapi i regija kukova) i izražena je numerički ocenom od 1 do 5. Ocena 1 se daje ekstremno mršavim grlima, a ocenom 5 se opisuju suviše ugojena grla.

4.1.1. Ishrana krava

Krave su hranjene obrokom u skladu sa njihovim proizvodnim potrebama, korišćenjem modela i programskog paketa NRC (2001). Hrana je deljena u obliku kompletno mešanog obroka, tj. TMR (Total Mixed Ration), dva puta dnevno, ujutru i uveče. Obroci svih krava u ogledu su bili izoproteinski i izoenergetski, a razlika je bila u tome što krave I grupe nisu dobijale tanin (kontrolna grupa), krave II grupe su konzumirale 20 g Tanimila SCC, a krave III grupe 40 g Tanimila SCC.

U tabelama 4.1.1. A i 4.1.1. B prikazani su sastav obroka i recepture koncentrata za krave u ogledu.

Tabela 4.1.1.A. Sastav i ishrambeni pokazatelji obroka krava u ogledu

Hraniva	Kg/dan
Seno lucerke	2,00
Senaža lucerke	5,00
Senaža tritikalea	4,00
Silaža cele biljke kukuruza	18,00
Silirani repin rezanac	3,00
Sirovi pivski treber	3,00
Melasa šećerne repe	2,00
Smeša koncentrata	10,50
Ishrambeni pokazatelji	
SM, kg/dan	23,90
Ukupni protein, % SM	17,20
Razgradivi protein, % SM	11,20
Nerazgradivi protein, % SM	6,00
NDF iz kabaste hrane, % SM	22,80
NEL, MJ/kg SM	6,65

Tabela 4.1.1.B. Recepture koncentrata, %

Sirovina	Grupa I	Grupa II	Grupa III
	%		
Ječam	10,00	10,00	10,00
Kukuruz	40,00	39,80	39,60
Pšenica	8,00	8,00	8,00
Uljana repica	8,00	8,00	8,00
Punomasni sojin griz	10,40	10,40	10,40
Sojina pogača	18,50	18,50	18,50
Monokalcijum fosfat	0,90	0,90	0,90
VMP	1,60	1,60	1,60
Soda bikarbona	0,90	0,90	0,90
Stočna kreda	1,10	1,10	1,10
Stočna so	0,60	0,60	0,60
Tanimil SCC	0,00	0,20	0,40
UKUPNO	100,00	100,00	100,00

4.1.2. Uzorkovanje krvi krava za laboratorijska ispitivanja

Uzorkovanje krvi za laboratorijska ispitivanja parametara metaboličkog profila krava vršeno je punkcijom repne vene (*vena coccigea*) kod svih krava u ogledu. Uzorci krvi uzimani su u sterilne vakutajnere bez antikoagulansa, 4 do 6 časova nakon jutarnjeg hranjenja, 60. dana ogleda i na kraju oglednog perioda. Uzorci su nakon spontane koagulacije u trajanju od 30 minuta centrifugovani na 3000 obrtaja u trajanju od 10 minuta. Serum su do ispitivanja čuvani na -20°C.

4.2. Metode ispitivanja metaboličkog profila, proizvodnih i reproduktivnih parametara

4.2.1. Ispitivanje biohemijskih parametara krvi

U uzorcima seruma kontrolne i oglednih grupa krava određivani su koncentracija glukoze, β -hidroksibuterne kiseline (BHBA), ukupnih proteina, albumina, uree, kalcijuma, fosfora i magnezijuma na kraju oglednog perioda. Koncentracija uree u serumima krava kontrolne i oglednih grupe izmerena je i 60. dana ogleda.

Analize biohemijskih parametara krvi sprovedene su na namenskom uređaju (Rayto Life and Analytical Sciences Co.,Ltd., 2016) u laboratoriji Centra za stočarstvo Poljoprivredne korporacije „Beograd”.



Slika 10. Uređaj za ispitivanje biohemijskih sastojaka krvi - Rayto Life and Analytical Sciences

(Izvor: https://healthmanagement.org/uploads/product_image/mp_img_185257.jpg.pagespeed.ce.fvsvbGeA8q.jpg)

Pristupljeno 07.02.2020.

Sadržaj glukoze, β -hidroksibuterne kiseline (BHBA), ukupnih proteina, albumina, uree, kalcijuma, fosfora i magnezijuma je određen iz krvnog seruma. Koncentracija ovih parametara metaboličkog profila je utvrđena pomoću namenskih test paketa (Bio Merieux), upotrebom spektrofotometra RAYTO-1904c.

Koncentracija glukoze iz krvnog seruma je određena na aparatu RAYTO-1904c, korišćenjem reagenasa (Randox), metodom vlažne biohemije (Trinder, 1969).

Koncentracija β -hidroksibuterne kiseline (BHBA) iz krvnog seruma je određena primenom testa RANBUT (Randox Laboratories, Cruclin, UK), kinetičkom enzimskom metodom koja se zasniva na oksidaciji D-3-hidroksibutirata u acetoacetat uz pomoć enzima 3-hidroksibutirat dehidrogenaze, pri čemu dolazi do redukcije koenzima NAD^+ u $\text{NADH} + \text{H}^+$. Količina $\text{NADH} + \text{H}^+$ koji nastaje, direktno je proporcionalna količini D-3-hidroksibutirata koji je prisutan u uzorku krvne plazme.

Određivanje sadržaja ukupnih proteina u krvnom serumu krava vršeno je Biuretskom metodom. Ova metoda se zasniva na reakciji jona bakra koji u alkalnoj sredini reaguju sa peptidnim vezama proteina i polipeptida koji sadrže najmanje dve peptidne veze, pri čemu se stvaraju

ljubičasto obojeni kompleksi. Apsorbanca nastalih kompleksa na 546 nm direktno je proporcionalna koncentraciji proteina u uzorku (*Gornall i sar., 1949*).

Spektrofotometrijsko određivanje koncentracije albumina u krvnom serumu krava je izvršeno POCT metodom koja se zasniva na specifičnom vezivanju anjonske boje bromkrezol zeleno i albumina pri kiseloj pH vrednosti. Intenzitet boje formiranog kompleksa je direktno proporcionalan koncentraciji albumina u uzorku (*Maruthamuthu i Kishore, 1988*).

Sadržaj uree u krvnom serumu krava je utvrđen enzimskom (UV) metodom (*Tietz, 1986*). Princip određivanja zasniva se na katalitičkom delovanju ureaze koja hidrolizuje ureu do amonijaka i ugljenik (IV)-oksida. Amonijak koji je nastao u ovoj reakciji gradi glutamat sa α -ketoglutaratom i NaOH, u prisustvu glutamat dehidrogenaze. Od koncentracije uree u serumu direktno zavisi brzina oksidacije NADH.

Koncentracija kalcijuma u krvnom serumu je utvrđena kolorimetrijskom metodom primenom o-krezolftaleinskog kompleksa (*Sarkar i Chauhan, 1967*). U alkalnom medijumu serumski kalcijum u reakciji sa o-krezolftalein ligandom formira kompleksno obojeno jedinjenje, a intenzitet boje novoformiranog jedinjenja je direktno proporcionalan koncentraciji kalcijuma u krvnom serumu.

Određivanje sadržaja neorganskog fosfata u krvnom serumu se zasniva na reakciji fosfatnih jona sa molibdenom. Fosfatni joni, u kiseloj sredini, reaguju sa molibdenom i dolazi do formiranja fosfomolibdatnog kompleksa. Fosfomolibdatni kompleks se meri spektrofotometrijski, direktnom ultravioletnom apsorpcijom na 340 nm (*Gamst i Try, 1980; Tietz, 2005*).

Koncentracija magnezijuma u serumima utvrđena je standardnim kitovima proizvođača Randox (UK), na aparatu RAYTO-1904c. U alkalnoj sredini magnezijumov jon stupa u reakciju sa ksilidin-plavim i nastaje purpurno crveni helat. Kalcijum se isključuje iz reakcije delovanjem EGTA sa kojim dolazi do formiranja kompleksa.

4.2.2. Kontrola mlečnosti krava

Kontrola proizvodnje mleka na farmi obavlja se redovno i sprovedena je u skladu sa standardnim zootehničkim principima (ICAR, 2005). Muža krava se obavlja dva puta dnevno, ujutru i uveče, polustacionarnim sistemom opreme za mužu. Tokom oglednog perioda vršene su kontrole proizvodnje mleka po A4 metodi kontrole mlečnosti. Pri svakoj kontroli merena je količina mleka uveče i ujutru, a vrednosti su zbirno zabeležene.

4.2.3. Uzorkovanje mleka za hemijsku analizu

Uzimanje uzoraka mleka za analizu hemijskog sastava sprovedeno je upotrebom adekvatne opreme. U ovu svrhu korišćen je uređaj *MK V Milk Meter*, novozelandske proizvodnje (Waikato Milking Systems NZ Ltd., 2002) prikazan na slici 11.



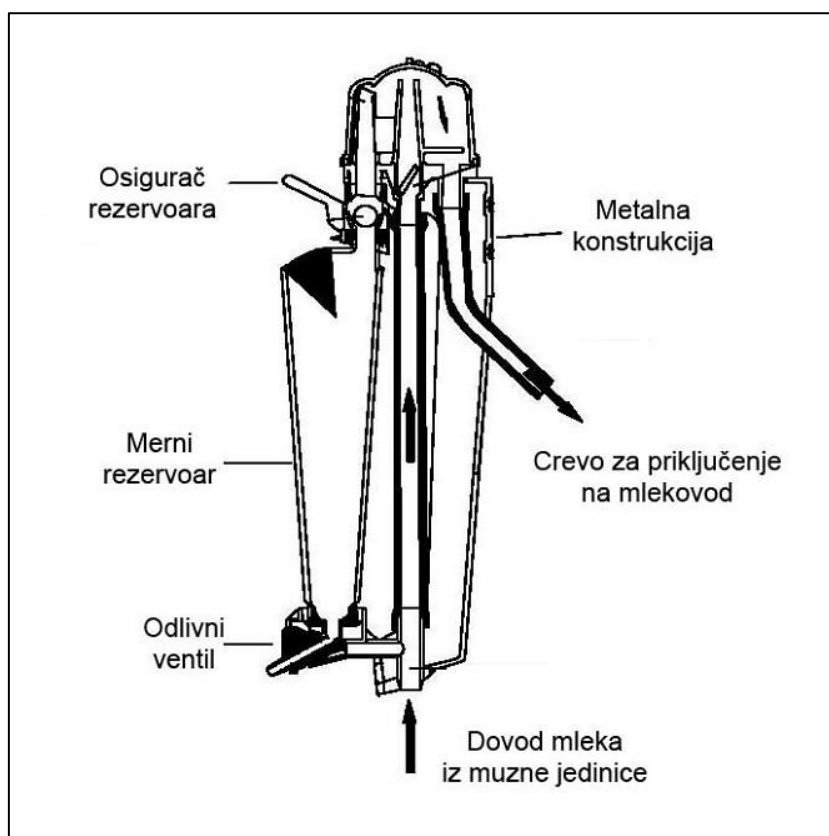
Slika 11. Waikato MK V Milk Meter

(Izvor: <http://www.valveexpo.com/upload/201607/23/201607231734311756.jpg>)

Pristupljeno 07.02.2020.

MK V Milk Meter je uređaj koji omogućava uzimanje reprezentativnog uzorka namuženog mleka, tako što se u cilindrični kalibrisani rezervoar, u toku cele muže, odлива adekvatna količina mleka. U toku svake faze muže, odvaja se količina mleka koja je proporcionalna količini mleka koja se u toku date faze namuže. Ovo je važno jer je jedna od elementarnih karakteristika pojedinih faza muže, suštinska razlika u pogledu hemijskog sastava mleka, a u prvom redu sadržaja mlečne masti. Na početku muže radi se o relativno malom sadržaju mlečne masti, dok je pri kraju muže ovaj sadržaj mnogo veći. *MK V Milk Meter* omogućava odvajanje uzorka u količini od 25 g po 1 kg namuženog mleka.

Na slici 12 je prikazana tehnička struktura uređaja koji je korišćen za uzimanje uzoraka mleka za analizu hemijskog sastava.



Slika 12. Crtež tehničke strukture uređaja Waikato MK V Milk Meter (Radivojević, 2010)

Uređaj je konstruisan tako da može da obezbedi uzimanje uzorka iz maksimalno namužene količine mleka od 42 kg po kravi. Ovaj uređaj je odobren za kontrolu produktivnosti od strane Međunarodnog komiteta za praćenje produktivnosti životinja, ICAR (International Committee for Animal Recording).

Mleko je nakon završetka muže i homogenizacije pomoću ovog uređaja, uzorkovano u plastične bočice u količini od oko 100 ml. Uzorci u bočicama su konzervisani dodatkom kalijum bihromata ($K_2Cr_2O_7$), u količini od 0,2-0,5% i odmah po obavljenju muži transportovani u laboratoriju. Konzervans je primenjen iz predostrožnosti zbog eventualnog kašnjenja u transportu uzorka i/ili obrade u laboratoriji.

Količina proizvedenog mleka korigovana je na 4% mast korigovano mleko (4%FCM) primenom sledeće formule (Gains, 1928, a citirali Gafaar i sar., 2010):

$$4\%FCM = 0,4 \times \text{proizvodnja mleka (kg)} + 15 \times \text{prinos masti (kg)}$$

Prinos proteina u mleku je izračunavan iz odnosa količine mleka i koncentracije proteina u mleku: prinos proteina u mleku = količina proizvedenog mleka x procenat proteina u mleku

4.2.4. Ispitivanje hemijskog sastava mleka

Analiza hemijskog sastava mleka sprovedena je u laboratoriji Eko Lab u Padinskoj Skeli. U tu svrhu primenjen je uređaj *Milko Scan 104/SN*. Ovaj uređaj funkcioniše na principu infracrvene spektroskopije (Foss Electric, 2002).

Ispitivanje sadržaja mlečne masti, proteina, laktoze i suve materije bez masti je izvršeno u svakom pojedinačnom uzorku mleka oglednih krava.

4.2.5. Ispitivanje reproduktivnih parametara

Reproduktivni parametri krava (trajanje servis perioda i broj utrošenih doza semena po koncepciji) praćeni su kroz veterinarsku evidenciju o grlima, koja se vodi na farmi. Sve životinje iz oglada bile su podvrgnute uobičajenim, fiksiranim hormonskim protokolima koji se svakodnevno primenjuju u praksi. Utvrđivanje steonosti vršeno je ultrazvućnom dijagnostikom 33. dana po osemenjavanju, a ponovni pregled 60. dana.

4.2.6. Statistićka obrada podataka

U analizi dobijenih rezultata sprovedenog oglada za ispitivane osobine utvrđeni su parametri deskriptivne statistike (aritmetićka sredina, standardna devijacija, standardna greška, koeficijent varijacije i interval varijacije). Pri testiranju i utvrđivanju statistićki znaćajnih razlika korišćena je jednofaktorska analiza varijanse (ANOVA). Pojedinaćna poređenja statistićki signifikantnih razlika raćena su pojedinaćnim Tukey testom. Signifikantnost razlika utvrđena je na nivoima znaćajnosti od $p < 0,05$ i $p < 0,01$. Svi rezultati prikazani su u tabelama i grafikonima. Statistićka analiza dobijenih rezultata uraćena je u statistićkom paketu PASW Statistics 18.

5. REZULTATI ISPITIVANJA

Rezultati ispitivanja su podeljeni u sledeća poglavlja: rezultati ispitivanja biohemijskih parametara krvi, rezultati ispitivanja proizvodnje mleka, rezultati ispitivanja hemijskog sastava mleka, rezultati ispitivanja reproduktivnih parametara krava.

5.1. Rezultati ispitivanja biohemijskih parametara krvi

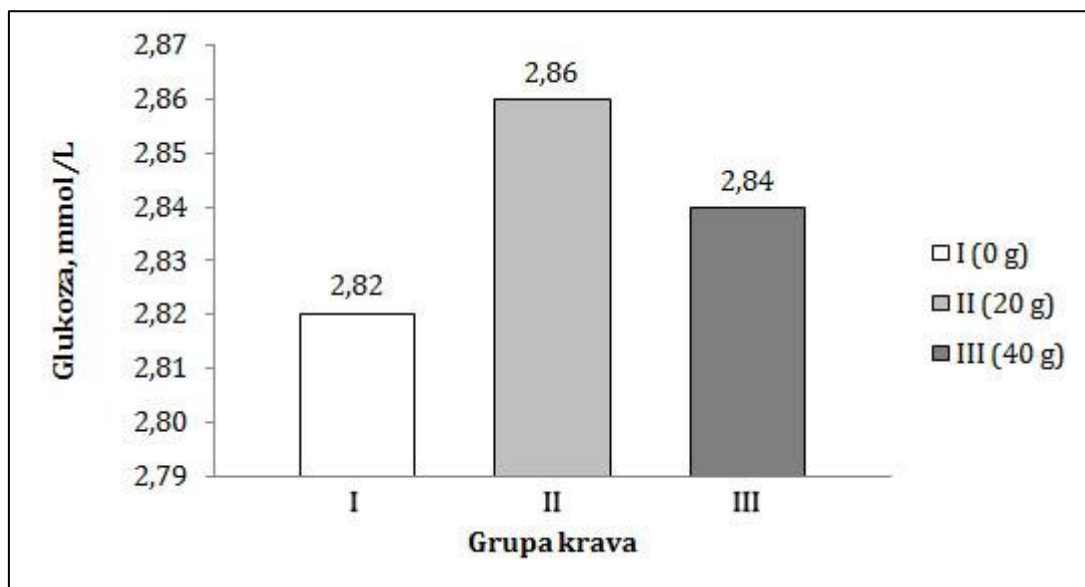
5.1.1. Koncentracija glukoze

U tabeli 5.1.1. su prikazani rezultati koncentracije glukoze u krvnom serumu krava na kraju oglednog perioda.

Tabela 5.1.1. Deskriptivni statistički parametri koncentracije glukoze (mmol/L) u krvnom serumu eksperimentalnih grupa krava

Grupa krava	n	\bar{X}	SD	SE	CV (%)	X min	X max
I (0 g)	13	2,82	0,36	0,09948	12,74	2,29	3,54
II (20 g)	13	2,86	0,24	0,06703	8,44	2,50	3,29
III (40 g)	13	2,84	0,29	0,08132	10,32	2,45	3,35

Prosečna vrednost koncentracija glukoze u krvi ispitivanih jedinki se kretala od $2,82 \pm 0,36$ mmol/l u kontrolnoj grupi, do $2,86 \pm 0,24$ mmol/L u grupi krava kojoj je u obroke dodavano 20g Tanimila SCC. Statističkom analizom koncentracije glukoze u krvnom serumu oglednih krava je ustanovljeno da ne postoje statistički značajne razlike, a utvrđene vrednosti sve tri grupe su bile u okviru fizioloških vrednosti. Rezultati su prikazani na grafikonu 5.1.1.



Grafikon 5.1.1. Koncentracija glukoze (mmol/L) u krvnom serumu krava na kraju oglednog perioda

5.1.2. Koncentracija β -hidroksibuterne kiseline (BHBA)

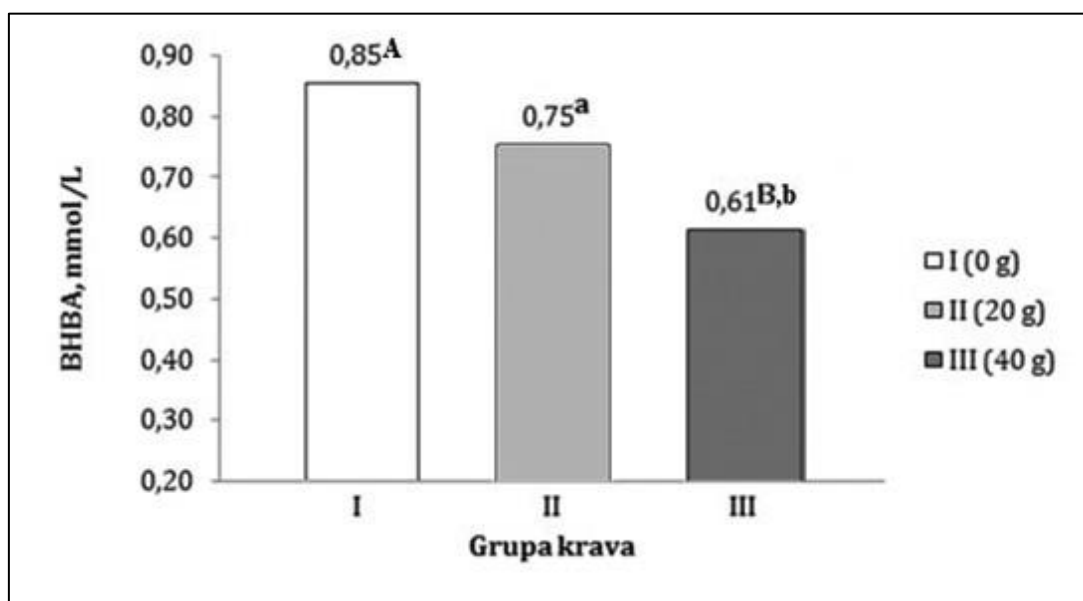
U tabeli 5.1.2. su prikazani rezultati koncentracije BHBA u krvnom serumu krava na kraju oglednog perioda.

Tabela 5.1.2. Deskriptivni statistički parametri koncentracije BHBA (mmol/L) u krvnom serumu eksperimentalnih grupa krava

Grupa krava	n	\bar{X}	SD	SE	CV (%)	X min	X max
I (0 g)	13	0,85 ^A	0,15	0,04265	17,99	0,68	1,26
II (20 g)	13	0,75 ^a	0,12	0,03348	16,03	0,59	0,93
III (40 g)	13	0,61 ^{B,b}	0,12	0,03306	19,44	0,44	0,91

Mala slova označavaju statistički značajnu razliku ($p < 0,05$), a velika slova statistički vrlo značajnu razliku ($p < 0,01$).

Najniža prosečna vrednost koncentracije BHBA u krvnom serumu izmerena je kod krava III grupe ($0,61 \pm 0,12$ mmol/L), koje su konzumirale 40 g preparata Tanimil SCC u obroku, a najviša kod krava I grupe ($0,85 \pm 0,15$ mmol/L), koje nisu konzumirale tanine. Statističkom analizom koncentracije BHBA je utvrđeno da postoji statistički vrlo značajna razlika ($p < 0,01$) u koncentraciji BHBA između krava I i III grupe, a statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u koncentraciji BHBA između krava II i III grupe. Rezultati su prikazani na grafikonu 5.1.2.



Grafikon 5.1.2. Koncentracija BHBA (mmol/L) u krvnom serumu krava na kraju oglednog perioda

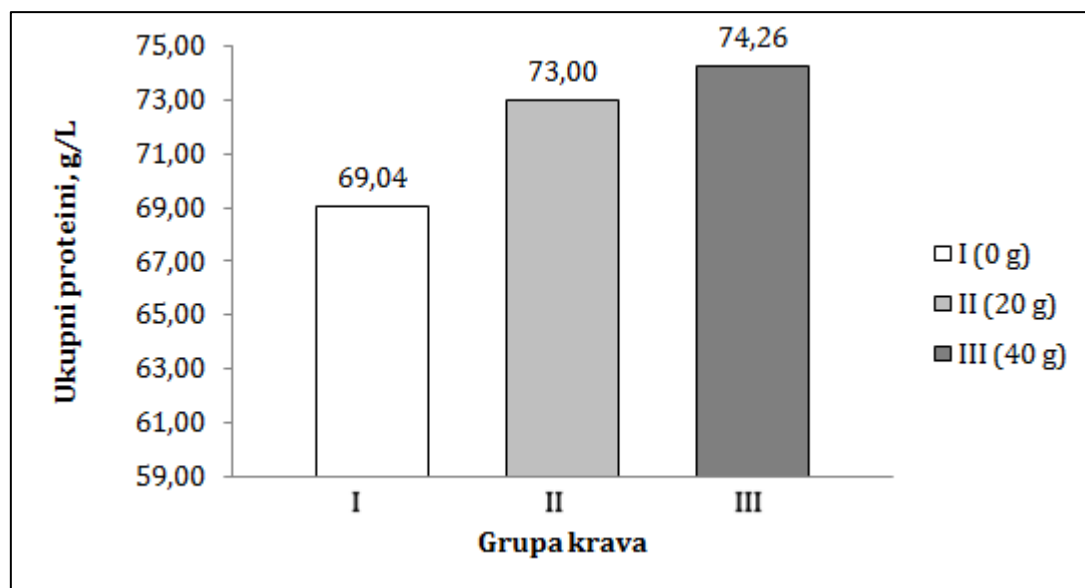
5.1.3. Koncentracija ukupnih proteina

U tabeli 5.1.3. su prikazani rezultati koncentracije ukupnih proteina u krvnom serumu krava na kraju oglednog perioda.

Tabela 5.1.3. Deskriptivni statistički parametri koncentracije ukupnih proteina (g/L) u krvnom serumu eksperimentalnih grupa krava

Grupa krava	n	\bar{X}	SD	SE	CV (%)	X min	X max
I (0 g)	13	69,04	5,73	1,58792	8,29	59,78	78,41
II (20 g)	13	73,00	6,09	1,68917	8,34	65,06	83,41
III (40 g)	13	74,26	6,07	1,68241	8,17	64,23	82,86

Analizom koncentracije ukupnih proteina je utvrđeno da su krave I grupe imale najnižu prosečnu vrednost ukupnih proteina u krvnom serumu ($69,04 \pm 5,73$ g/L), krave II grupe nešto veću ($73,00 \pm 6,09$ g/L), a najveću krave III grupe ($74,26 \pm 6,07$ g/L), koje su konzumirale 40 g preparata Tanimil SCC. Između grupa ne postoje statistički značajne razlike. Rezultati su prikazani na grafikonu 5.1.3.



Grafikon 5.1.3. Koncentracija ukupnih proteina (g/L) u krvnom serumu krava na kraju oglednog perioda

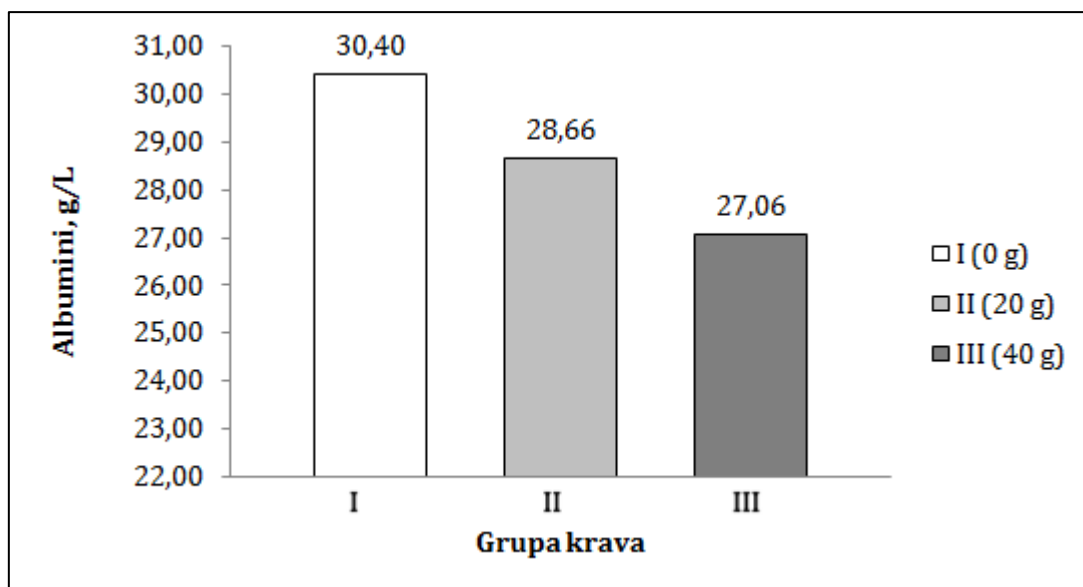
5.1.4. Koncentracija albumina

U tabeli 5.1.4. su prikazani rezultati koncentracije albumina u krvnom serumu krava na kraju oglednog perioda.

Tabela 5.1.4. Deskriptivni statistički parametri koncentracije albumina (g/L) u krvnom serumu eksperimentalnih grupa krava

Grupa krava	n	\bar{X}	SD	SE	CV (%)	X min	X max
I (0 g)	13	30,40	3,88	1,07632	12,76	24,14	37,89
II (20 g)	13	28,66	3,58	0,99360	12,50	23,67	35,76
III (40 g)	13	27,06	3,21	0,89133	11,88	22,98	34,18

Najniža prosečna vrednost koncentracije albumina u krvnom serumu ($27,06 \pm 3,21$ g/L) izmerena je kod III grupe krava, koja je dobijala 40 g preparata Tanimila SCC u obroku, a najviša ($30,40 \pm 3,88$ g/L) u kontrolnoj grupi, ali utvrđene razlike između grupa koje su konzumirale tanine i kontrolne grupe, nisu bile statistički značajne. Rezultati su prikazani na grafikonu 5.1.4.



Grafikon 5.1.4. Koncentracija albumina (g/L) u krvnom serumu krava na kraju oglednog perioda

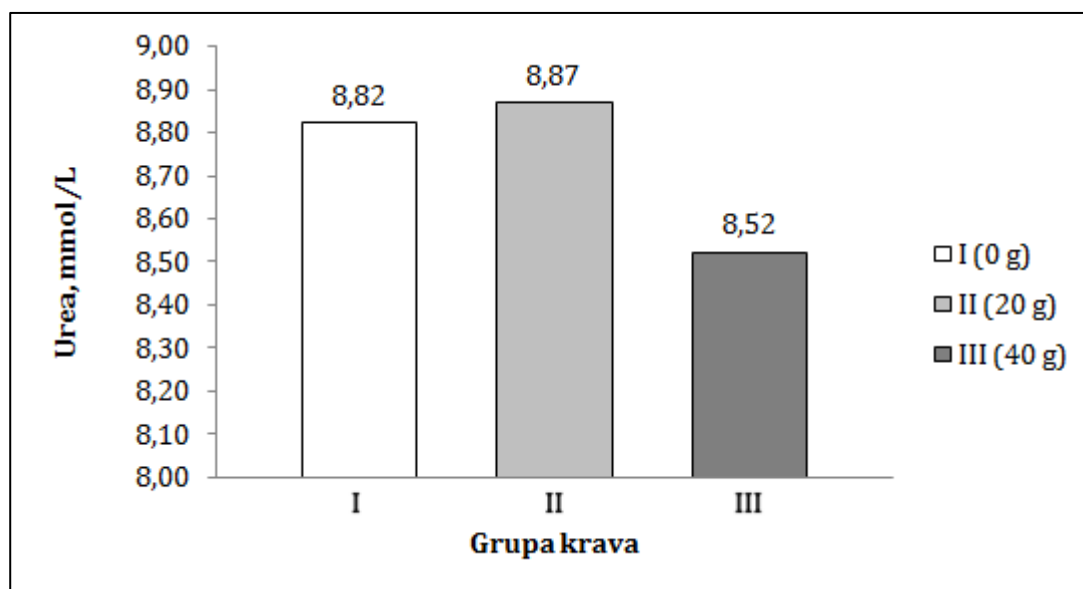
5.1.5. Koncentracija uree 60. dana ogleda i na kraju oglednog perioda

U tabeli 5.1.5.A. su prikazani rezultati koncentracije uree u krvnom serumu krava 60. dana ogleda.

Tabela 5.1.5.A. Deskriptivni statistički parametri koncentracije uree (mmol/L) u krvnom serumu eksperimentalnih grupa krava 60. dana ogleda

Grupa krava	n	\bar{X}	SD	SE	CV (%)	X min	X max
I (0 g)	13	8,82	1,26	0,34898	14,26	6,25	11,35
II (20 g)	13	8,87	1,09	0,30308	12,32	7,39	11,77
III (40 g)	13	8,52	1,69	0,46742	19,78	6,83	12,02

Najniža prosečna vrednost koncentracije uree 60. dana ogleda utvrđena je u krvnom serumu krava III grupe ($8,52 \pm 1,69$ mmol/L), koje su konzumirale 40 g Tanimila SCC u obroku, ali nije bilo statistički signifikantnih razlika u odnosu na kontrolnu grupu ($8,82 \pm 1,26$ mmol/L), kao ni u odnosu na II grupu koja je dobijala duplo manju dozu tanina ($8,87 \pm 1,09$ mmol/L). Rezultati su prikazani na grafikonu 5.1.5.A.



Grafikon 5.1.5.A. Koncentracija uree (mmol/L) u krvnom serumu krava 60. dana ogleda

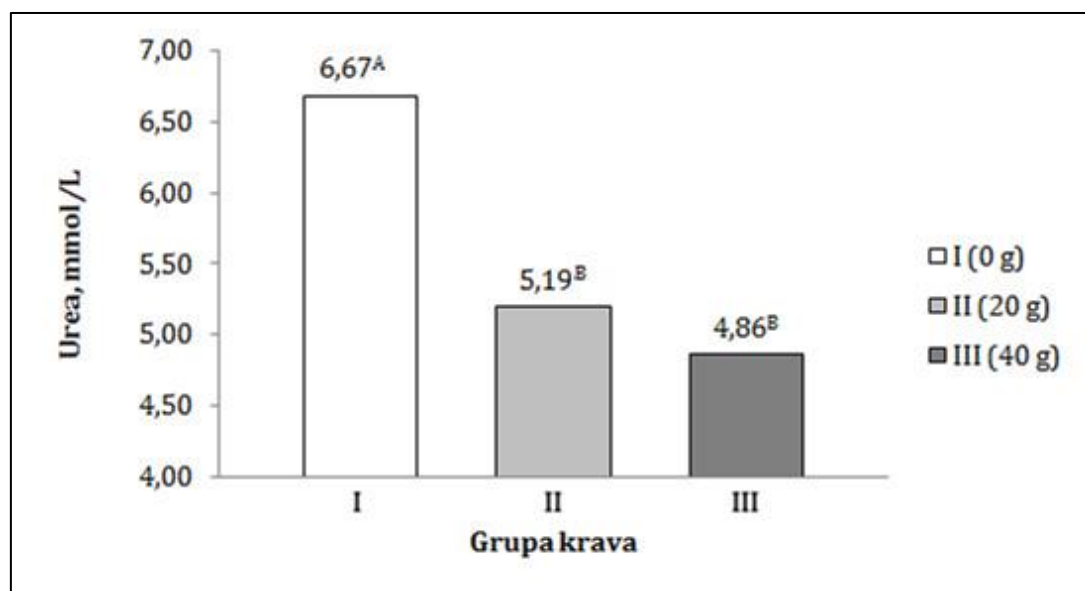
U tabeli 5.1.5.B. su prikazani rezultati koncentracije uree u krvnom serumu krava na kraju oglednog perioda.

Tabela 5.1.5.B. Deskriptivni statistički parametri koncentracije uree (mmol/L) u krvnom serumu eksperimentalnih grupa krava na kraju oglednog perioda

Grupa krava	n	\bar{X}	SD	SE	CV (%)	X min	X max
I (0 g)	13	6,67 ^A	0,67	0,18651	10,08	5,76	7,90
II (20 g)	13	5,19 ^B	0,87	0,24083	16,73	3,99	6,55
III (40 g)	13	4,86 ^B	0,62	0,17244	12,81	3,93	5,82

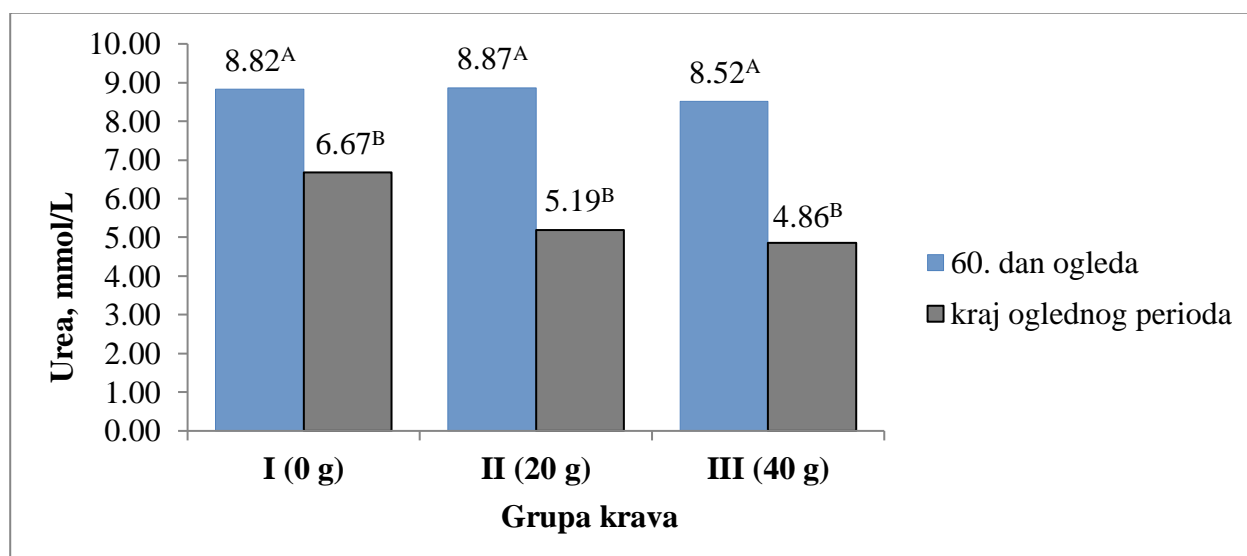
Mala slova označavaju statistički značajnu razliku ($p < 0,05$), a velika slova statistički vrlo značajnu razliku ($p < 0,01$).

Statističkom analizom je utvrđeno da je na kraju oglednog perioda prosečna koncentracija uree u krvnom serumu krava II ($5,19 \pm 0,87$ mmol/L) i III grupe ($4,86 \pm 0,62$ mmol/L) bila statistički vrlo značajno niža ($p < 0,01$) u odnosu na krave I grupe ($6,67 \pm 0,67$ mmol/L), a kao rezultat konzumiranja preporučene doze tanina. Iako je konzumacija Tanimila SCC u količini od 40 g/dan dovela do smanjenja sadržaja uree u krvnom serumu u odnosu na krave II grupe, koje su konzumirale 20 g Tanimila SCC/dan, ta razlika nije bila statistički značajna. Rezultati su prikazani na grafikonu 5.1.5.B.



Grafikon 5.1.5.B. Koncentracija uree (mmol/L) u krvnom serumu krava na kraju oglednog perioda

Poređenjem prosečnih koncentracija uree u krvnim serumima I grupe krava, koja nije konzumirala tanine u obroku, zapaža se veoma značajno ($p < 0,01$) smanjenje koncentracije uree (24,38%) na kraju oglednog perioda u odnosu na 60. dan ogleda. Kod II grupe krava, koja je konzumirala 20 g Tanimila SCC, prosečna koncentracija uree bila je za 41,49% niža na kraju oglednog perioda u odnosu na 60. dan ogleda, što je statistički veoma značajno ($p < 0,01$). Krave III grupe, koje su konzumirale 40 g Tanimila SCC, imale su za 42,96% nižu prosečnu koncentraciju uree u serumu na kraju oglednog perioda u odnosu na 60. dan ogleda, a to je takođe statistički veoma značajno ($p < 0,01$). Iako je kod sve tri grupe krava u ogledu koncentracija uree bila veoma značajno niža na kraju oglednog perioda u poređenju sa 60. danom, najveće smanjenje prosečnih vrednosti koncentracije uree zabeleženo je kod II i III grupe krava, odnosno krava koje su konzumirale tanine u obroku. Rezultati su prikazani na grafikonu 5.1.5.C.



Grafikon 5.1.5.C. Odnos koncentracije uree (mmol/L) 60. dana ogleda i na kraju oglednog perioda

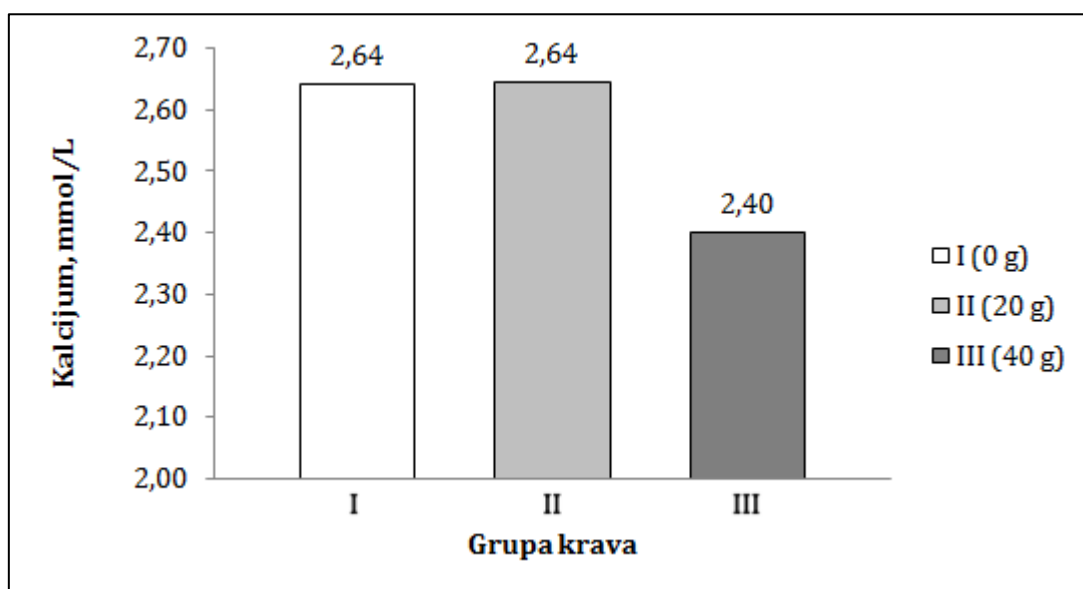
5.1.6. Koncentracija kalcijuma (Ca)

U tabeli 5.1.6. su prikazani rezultati koncentracije kalcijuma u krvnom serumu krava na kraju oglednog perioda.

Tabela 5.1.6. Deskriptivni statistički parametri koncentracije kalcijuma (mmol/L) u krvnom serumu eksperimentalnih grupa krava

Grupa krava	n	\bar{X}	SD	SE	CV (%)	X min	X max
I (0 g)	13	2,64	0,28	0,07899	10,78	2,17	3,06
II (20 g)	13	2,64	0,28	0,07630	10,41	2,18	3,04
III (40 g)	13	2,40	0,23	0,06414	9,64	2,10	2,80

Analizom koncentracije kalcijuma u krvnom serumu oglednih krava je utvrđeno da su krave I i II grupe imale isti prosečan nivo kalcijuma u krvi ($2,64 \pm 0,28$ mmol/L), dok su krave III grupe imale nešto niži prosečan nivo kalcijuma ($2,40 \pm 0,23$ mmol/L). Izmerene vrednosti su u fiziološkim granicama i nisu utvrđene statistički značajne razlike između grupa. Rezultati su prikazani na grafikonu 5.1.6.



Grafikon 5.1.6. Koncentracija kalcijuma (mmol/L) u krvnom serumu krava na kraju oglednog perioda

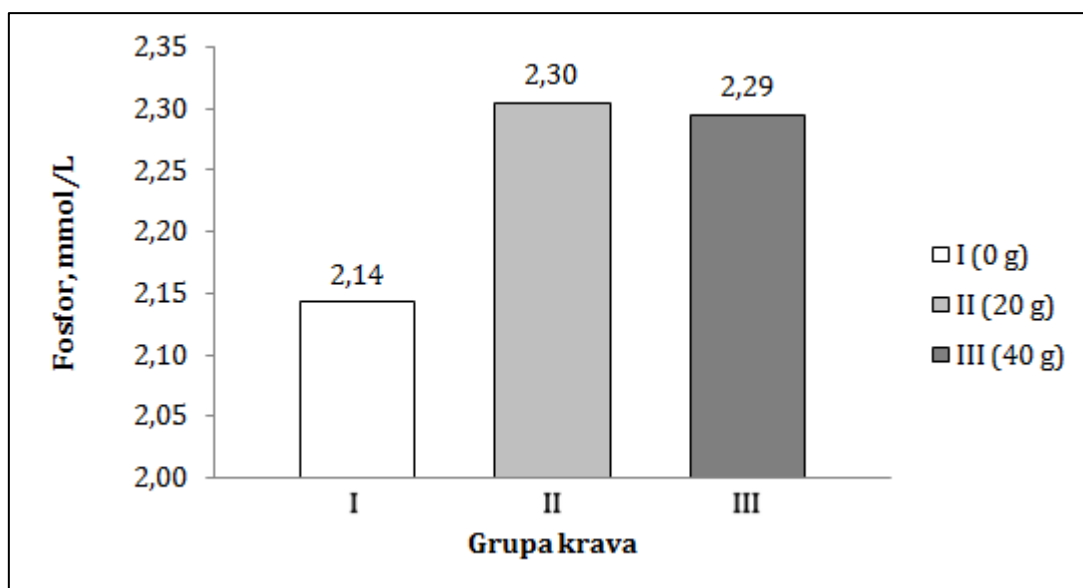
5.1.7. Koncentracija fosfora (P)

U tabeli 5.1.7. su prikazani rezultati koncentracije fosfora u krvnom serumu krava na kraju oglednog perioda.

Tabela 5.1.7. Deskriptivni statistički parametri koncentracije fosfora (mmol/L) u krvnom serumu eksperimentalnih grupa krava

Grupa krava	n	\bar{X}	SD	SE	CV (%)	X min	X max
I (0 g)	13	2,14	0,29	0,08039	13,53	1,53	2,52
II (20 g)	13	2,30	0,23	0,06421	10,05	1,84	2,62
III (40 g)	13	2,29	0,14	0,03910	6,14	1,97	2,55

Koncentracija fosfora se kretala od $2,14 \pm 0,29$ mmol/L u krvnom serumu kontrolne grupe do $2,30 \pm 0,23$ mmol/L kod grupe koja je dobijala 20 g preparata koji sadrži tanine. Utvrđene vrednosti su bile u okvirima fizioloških granica i nije bilo statistički značajnih razlika među grupama. Rezultati su prikazani na grafikonu 5.1.7.



Grafikon 5.1.7. Koncentracija fosfora (mmol/L) u krvnom serumu krava na kraju oglednog perioda

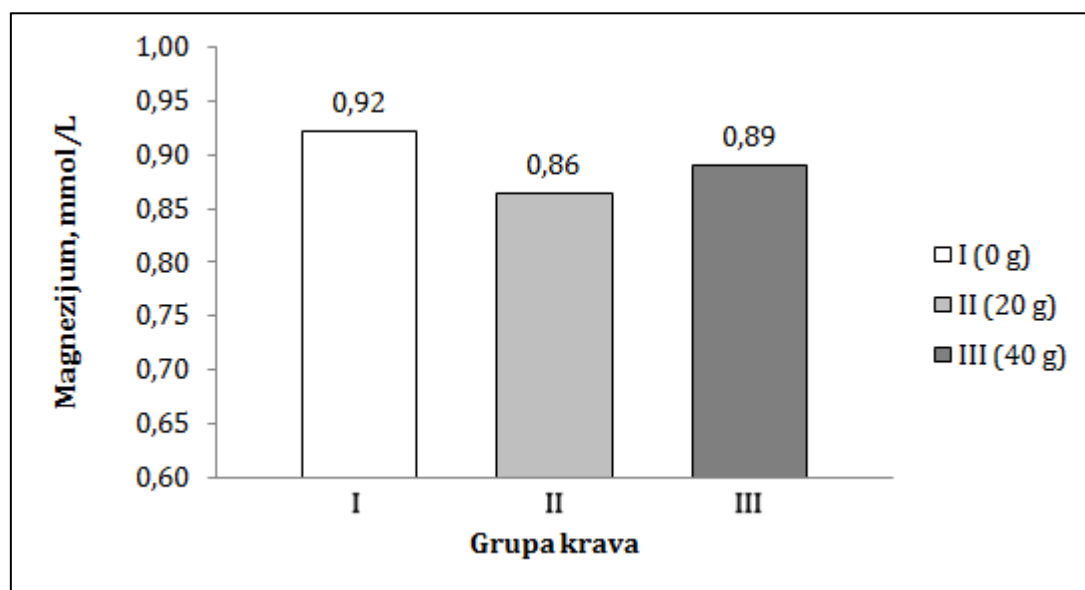
5.1.8. Koncentracija magnezijuma (Mg)

U tabeli 5.1.8. su prikazani rezultati koncentracije magnezijuma u krvnom serumu krava na kraju oglednog perioda.

Tabela 5.1.8. Deskriptivni statistički parametri koncentracije magnezijuma (mmol/L) u krvnom serumu eksperimentalnih grupa krava

Grupa krava	n	\bar{X}	SD	SE	CV (%)	X min	X max
I (0 g)	13	0,92	0,10	0,02863	11,19	0,74	1,10
II (20 g)	13	0,86	0,10	0,02649	11,06	0,67	1,07
III (40 g)	13	0,89	0,11	0,02913	11,80	0,69	1,11

Nisu utvrđene statistički značajne razlike u koncentraciji magnezijuma između kontrolne grupe ($0,92 \pm 0,10$ mmol/L) i oglednih grupa krava ($0,86 \pm 0,10$ mmol/L i $0,89 \pm 0,11$ mmol/L). Rezultati su prikazani na grafikonu 5.1.8.



Grafikon 5.1.8. Koncentracija magnezijuma (mmol/L) u krvnom serumu krava na kraju oglednog perioda

5.2. Rezultati ispitivanja proizvodnje mleka

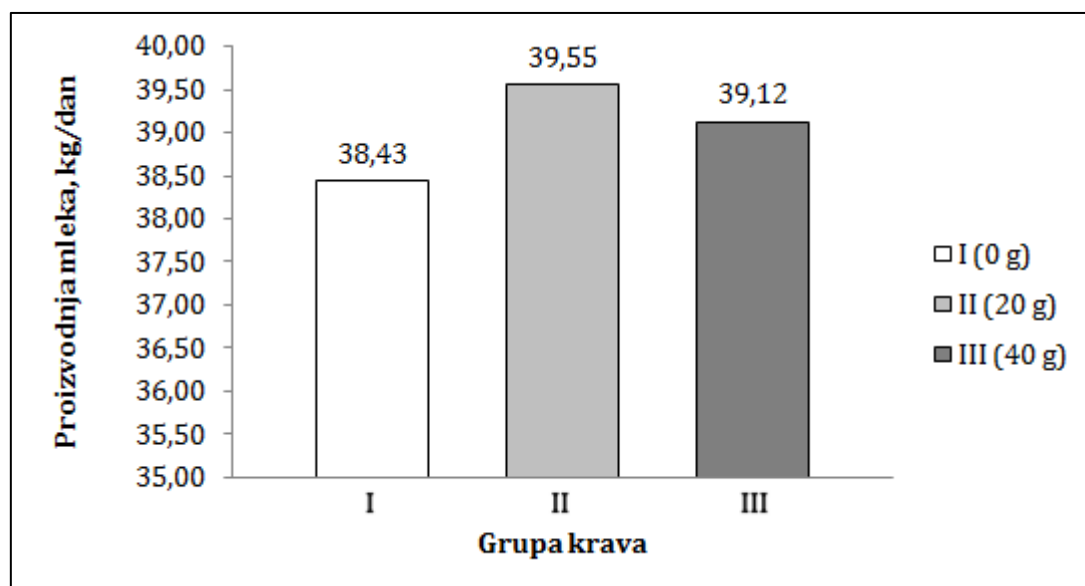
5.2.1. Količina proizvedenog mleka

U tabeli 5.2.1. su prikazani rezultati proizvodnje mleka krava u ogledu.

Tabela 5.2.1. Deskriptivni statistički parametri proizvodnje mleka (kg/dan) krava u ogledu

Grupa krava	n	\bar{X}	SD	SE	CV (%)	X min	X max
I (0 g)	13	38,43	4,62	1,28066	12,02	29,40	46,63
II (20 g)	13	39,55	3,98	1,10515	10,08	30,31	45,57
III (40 g)	13	39,12	5,86	1,62482	14,98	29,23	50,49

Rezultati analize prinosa mleka ukazuju da utvrđene razlike nisu statistički signifikantne, ali su krave, koje su u toku eksperimentalnog perioda konzumirale obrok sa taninima, ostvarile veći prosečan prinos mleka u odnosu na krave koje su konzumirale obrok bez tanina. Ovo povećanje iznosi 2,91% kod grupe krava koja je unosila 20 g Tanimila SCC dnevno, a 1,8% kod grupe krava kojoj je u obrok dodavano 40 g ovog preparata dnevno. Rezultati su prikazani na grafikonu 5.2.1.



Grafikon 5.2.1. Proizvodnja mleka (kg/dan) krava u ogledu

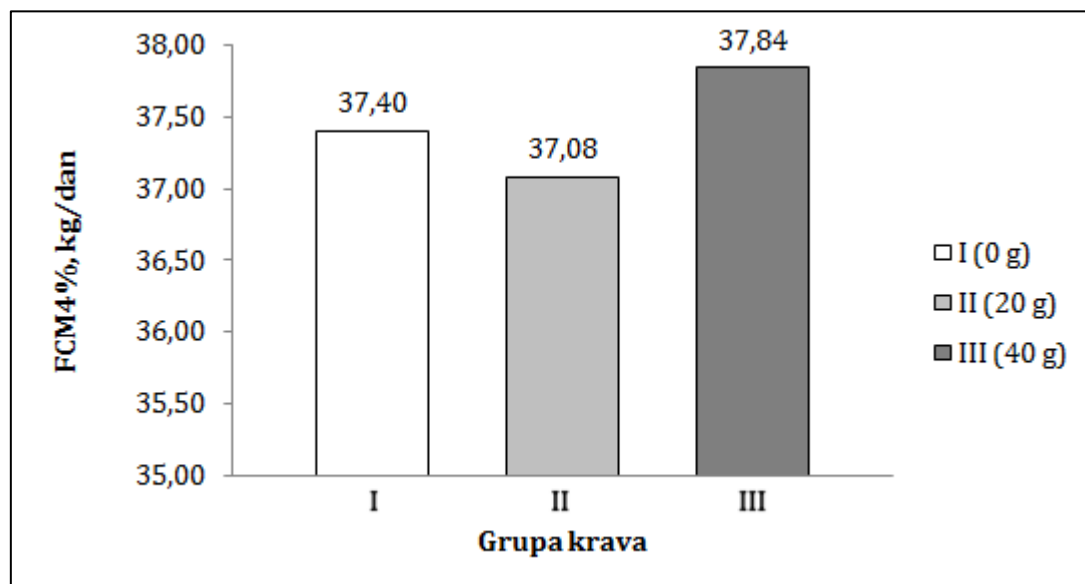
5.2.2. Količina proizvedenog mleka korigovana na sadržaj mlečne masti od 4%

U tabeli 5.2.2. su prikazani rezultati proizvodnje mleka krava u ogledu korigovane na sadržaj mlečne masti od 4%.

Tabela 5.2.2. Deskriptivni statistički parametri proizvodnje mleka (kg/dan) krava u ogledu korigovanog na sadržaj mlečne masti od 4%

Grupa krava	n	\bar{X}	SD	SE	CV (%)	X min	X max
I (0 g)	13	37,40	6,71	1,85995	17,93	25,49	51,30
II (20 g)	13	37,08	5,00	1,38775	13,49	28,51	45,11
III (40 g)	13	37,84	5,99	1,66133	15,83	27,92	49,31

Statističkom analizom količine proizvedenog mleka korigovane na sadržaj mlečne masti od 4% najveća vrednost je utvrđena kod krava III grupe (37,84±5,99 kg/dan), ali ta vrednost nije bila statistički signifikantno veća u odnosu na I grupu (37,40±6,71 kg/dan) i II grupu krava (37,08±5,00 kg/dan). Pošto je prinos mleka korigovanog na 4% mlečne masti istovremeno uslovljen produkcijom mleka i sadržajem mlečne masti, kod II ogledne grupe krava je registrovan manji prinos 4% FCM za 0,86% u odnosu na kontrolnu grupu, dok je III ogledna grupa imala veći prinos 4% FCM za 1,16% u odnosu na kontrolnu grupu i za 2,01% u odnosu na grupu koja je konzumirala duplo manju dozu Tanimila SCC. Rezultati ispitivanja su prikazani na grafikonu 5.2.2.



Grafikon 5.2.2. Količina proizvedenog mleka, korigovana na sadržaj mlečne masti od 4% (FCM 4%-Fat Corrected Milk)

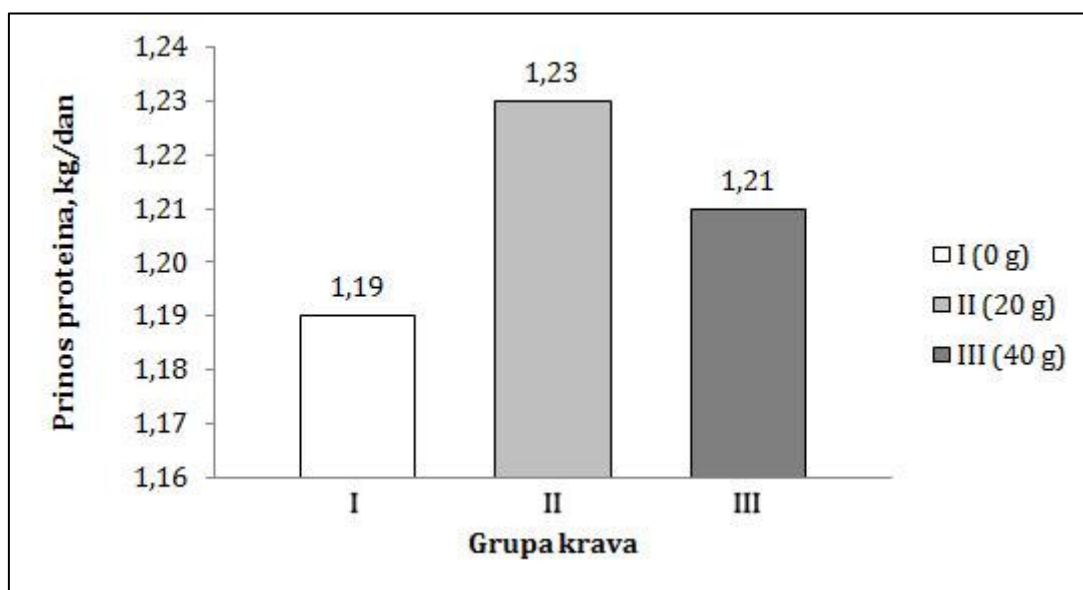
5.2.3. Prinos proteina

U tabeli 5.2.3. su prikazani rezultati prinosa proteina mleka krava u ogledu.

Tabela 5.2.3. Deskriptivni statistički parametri prinosa proteina mleka (kg/dan) krava u ogledu

Grupa krava	n	\bar{X}	SD	SE	CV (%)	X min	X max
I (0 g)	13	1,19	0,15	0,04293	13,06	0,92	1,49
II (20 g)	13	1,23	0,14	0,03848	11,30	0,97	1,45
III (40 g)	13	1,21	0,19	0,05268	15,65	0,86	1,59

Prosečan prinos proteina mleka je bio najveći kod II grupe krava ($1,23 \pm 0,14$ kg/dan), nešto niži kod III grupe ($1,21 \pm 0,19$ kg/dan), a najniži kod krava I grupe ($1,19 \pm 0,15$ kg/dan), koje nisu konzumirale tanine u obroku. Analizom prinosa proteina mleka (kg/dan) krava u ogledu je utvrđeno da nema statistički značajnih razlika između grupa. Rezultati su prikazani na grafikonu 5.2.3.



Grafikon 5.2.3. Prinos proteina mleka (kg/dan) krava u ogledu

5.3. Rezultati ispitivanja hemijskog sastava mleka

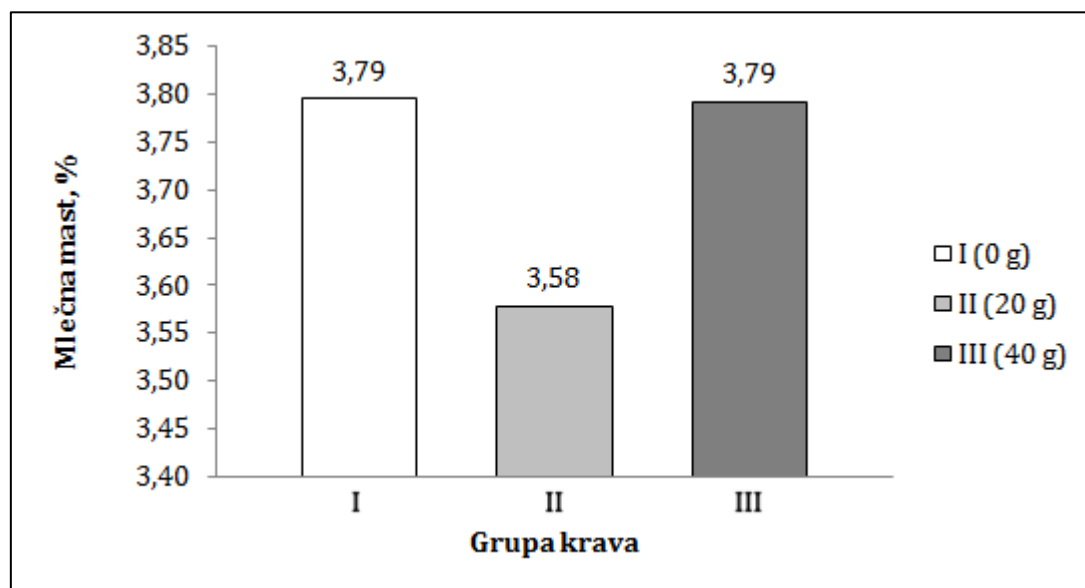
5.3.1. Koncentracija mlečne masti

U tabeli 5.3.1. su prikazani rezultati koncentracije mlečne masti kod krava u ogledu.

Tabela 5.3.1. Deskriptivni statistički parametri koncentracije mlečne masti (%) kod krava u ogledu

Grupa krava	n	\bar{X}	SD	SE	CV (%)	X min	X max
I (0 g)	13	3,79	0,61	0,16793	15,96	2,96	4,67
II (20 g)	13	3,58	0,49	0,13639	13,75	2,83	4,62
III (40 g)	13	3,79	0,47	0,13058	12,42	3,04	4,54

Prosečna koncentracija mlečne masti u I grupi krava je iznosila $3,79 \pm 0,61\%$, u II grupi $3,58 \pm 0,49\%$, a u III grupi $3,79 \pm 0,47\%$. Statističkom analizom je utvrđeno da nema statistički značajnih razlika između utvrđenih vrednosti. Rezultati su prikazani na grafikonu 5.3.1.



Grafikon 5.3.1. Koncentracija mlečne masti (%) kod krava u ogledu

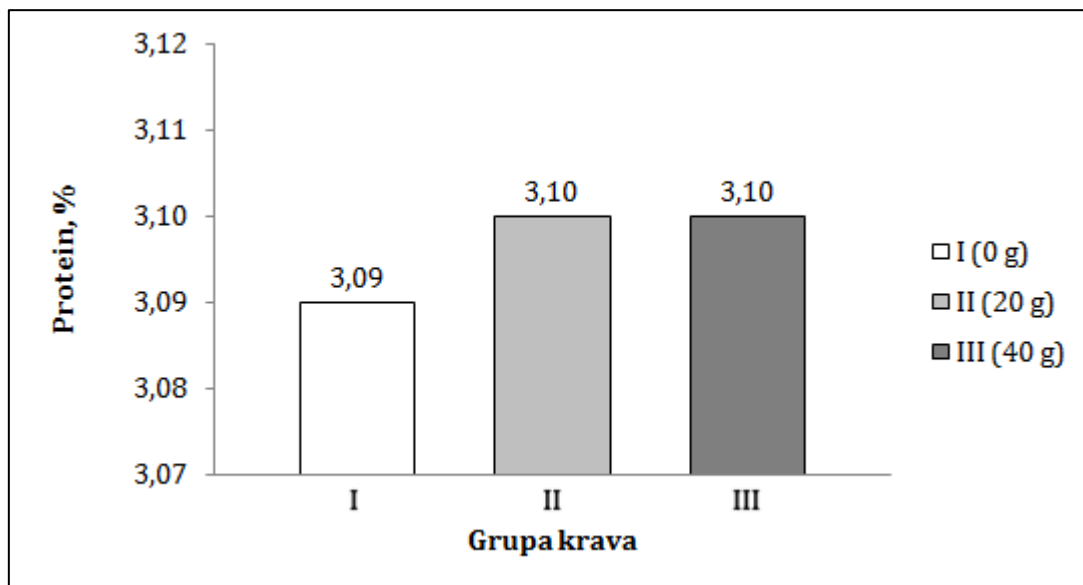
5.3.2. Koncentracija proteina

U tabeli 5.3.2. su prikazani rezultati koncentracije proteina mleka kod krava u ogledu.

Tabela 5.3.2. Deskriptivni statistički parametri koncentracije proteina mleka (%) kod krava u ogledu

Grupa krava	n	\bar{X}	SD	SE	CV (%)	X min	X max
I (0 g)	13	3,09	0,13	0,03538	4,13	2,83	3,26
II (20 g)	13	3,10	0,10	0,02738	3,18	2,88	3,22
III (40 g)	13	3,10	0,14	0,03846	4,48	2,93	3,34

Prosečna koncentracija proteina mleka (%) je bila ujednačena u sve tri grupe krava i kretala se od $3,09 \pm 0,13\%$ kod kontrolne grupe, do $3,10 \pm 0,10\%$ i $3,10 \pm 0,14\%$ kod grupa koje su u obrocima konzumirale tanine. Nisu utvrđene signifikantne razlike između izmerenih vrednosti. Rezultati su prikazani na grafikonu 5.3.2.



Grafikon 5.3.2. Koncentracija proteina mleka (%) kod krava u ogledu

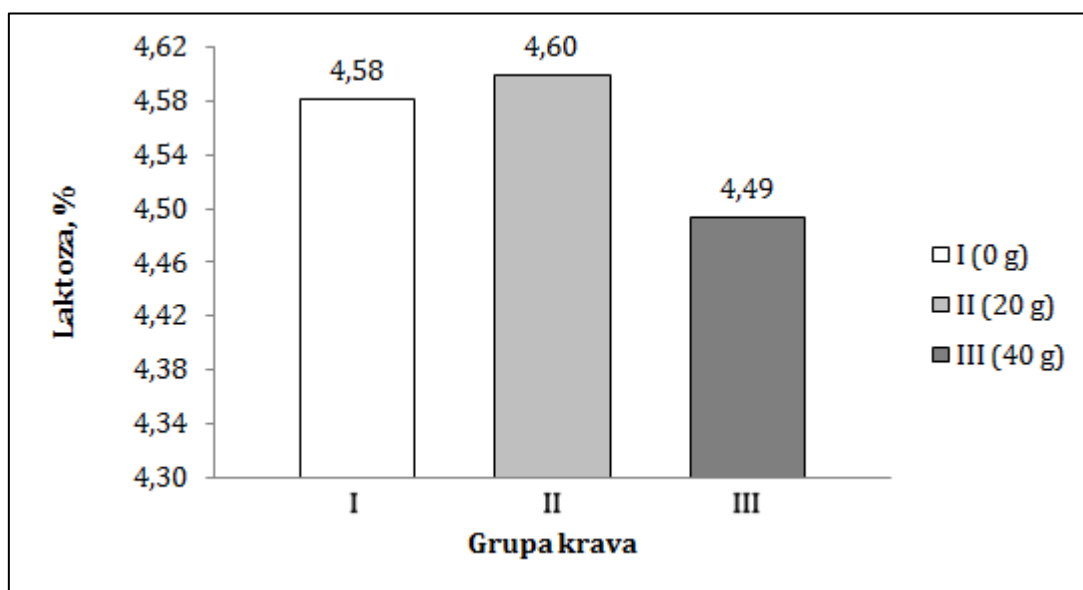
5.3.3. Koncentracija laktoze

U tabeli 5.3.3. su prikazani rezultati koncentracije laktoze u mleku kod krava u ogledu.

Tabela 5.3.3. Deskriptivni statistički parametri koncentracije laktoze u mleku (%) kod krava u ogledu

Grupa krava	n	\bar{X}	SD	SE	CV (%)	X min	X max
I (0 g)	13	4,58	0,13	0,03683	2,90	4,35	4,79
II (20 g)	13	4,60	0,10	0,02781	2,18	4,37	4,76
III (40 g)	13	4,49	0,19	0,05197	4,17	4,11	4,71

Prosečne vrednosti koncentracije laktoze nisu se statistički značajno razlikovale između krava I ($4,58 \pm 0,13\%$), II ($4,60 \pm 0,10\%$) i III grupe ($4,49 \pm 0,19\%$). Rezultati koncentracije laktoze su prikazani na grafikonu 5.3.3.



Grafikon 5.3.3. Koncentracija laktoze u mleku (%) kod krava u ogledu

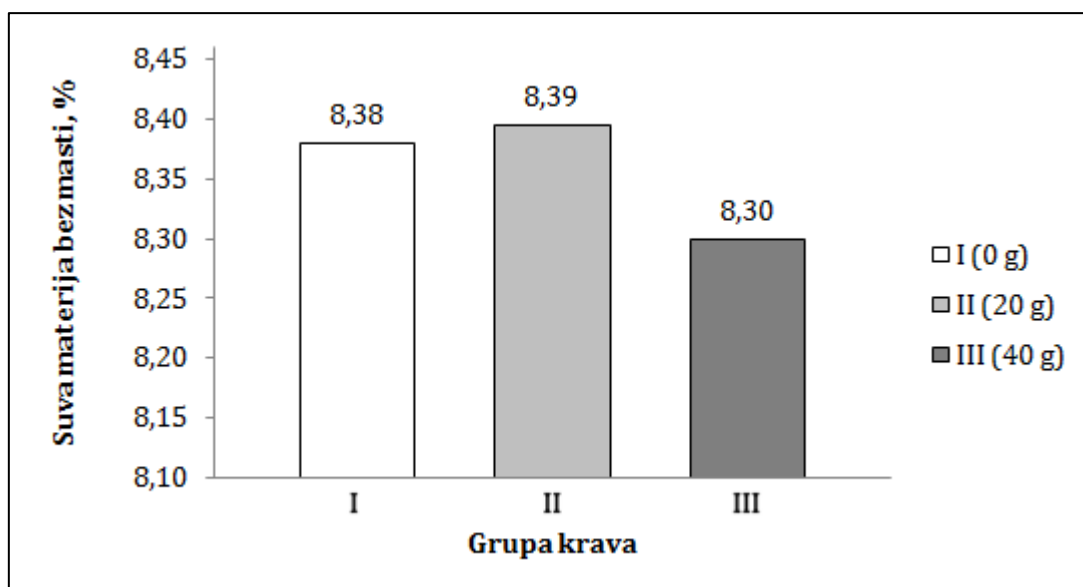
5.3.4. Koncentracija suve materije bez masti

U tabeli 5.3.4. su prikazani rezultati koncentracije suve materije bez masti u mleku kod krava u ogledu.

Tabela 5.3.4. Deskriptivni statistički parametri koncentracije suve materije bez masti u mleku (%) kod krava u ogledu

Grupa krava	N	\bar{X}	SD	SE	CV (%)	X min	X max
I (0 g)	13	8,38	0,24	0,06652	2,86	7,98	8,68
II (20 g)	13	8,39	0,18	0,05080	2,18	7,95	8,69
III (40 g)	13	8,30	0,24	0,06539	2,84	7,97	8,76

Suva materija bez masti (SMBM) je bila ujednačena kod sve tri grupe oglednih krava, tako da nisu utvrđene statistički signifikantne razlike između kontrolne grupe (8,38±0,24%) i grupa koje su dobijale 20 g (8,39±0,18%) i 40 g Tanimila SCC (8,30±0,24%). Rezultati su prikazani na grafikonu 5.3.4.



Grafikon 5.3.4. Koncentracija suve materije bez masti u mleku (%) kod krava u ogledu

5.4. Rezultati ispitivanja reproduktivnih parametara krava

5.4.1. Trajanje servis perioda

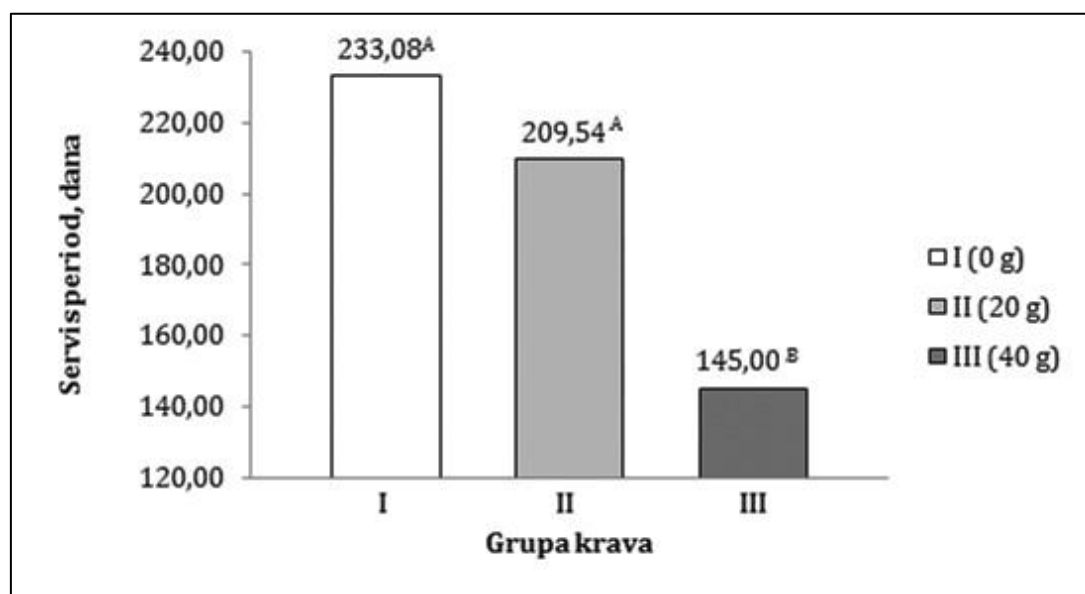
U tabeli 5.4.1. su prikazani rezultati trajanja servis perioda krava u ogledu.

Tabela 5.4.1. Deskriptivni statistički parametri trajanja servis perioda krava u ogledu

Grupa krava	N	\bar{X}	SD	SE	CV (%)	X min	X max
I (0 g)	13	233,08 ^A	26,33	7,30337	11,30	186,00	285,00
II (20 g)	13	209,54 ^A	32,79	9,09537	15,65	167,00	279,00
III (40 g)	13	145,00 ^B	21,78	6,03940	15,02	119,00	176,00

Mala slova označavaju statistički značajnu razliku ($p < 0,05$), a velika slova statistički vrlo značajnu razliku ($p < 0,01$)

Prosečno trajanje servis perioda III grupe krava ($145,00 \pm 21,78$ dana) je bilo statistički vrlo značajno niže ($p < 0,01$) u poređenju sa I ($233,08 \pm 26,33$ dana) i II ($209,54 \pm 32,79$ dana) grupom. Između I i II grupe nije bilo statistički značajnih razlika u trajanju servis perioda ($p > 0,05$). Rezultati trajanja servis perioda krava u ogledu su prikazani na grafikonu 5.4.1.



Grafikon 5.4.1. Trajanje servis perioda krava u ogledu, dana

5.4.2. Utrošak doza semena po koncepciji

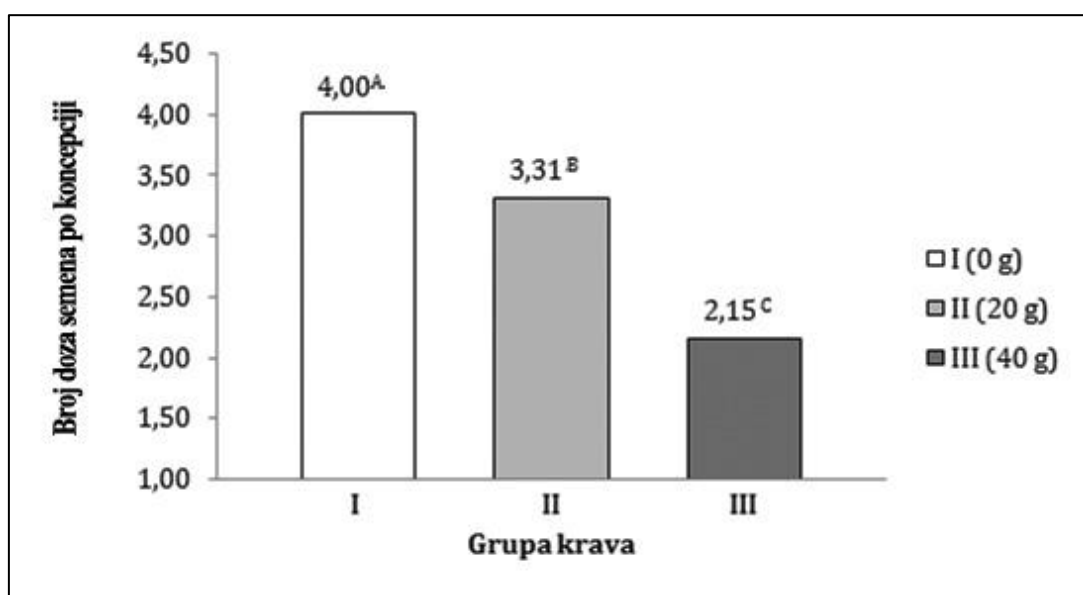
U tabeli 5.4.2. su prikazani rezultati utroška broja doza semena po koncepciji krava u ogledu.

Tabela 5.4.2. Deskriptivni statistički parametri utroška broja doza semena krava u ogledu

Grupa krava	N	\bar{X}	SD	SE	CV (%)	X min	X max
I (0 g)	13	4,00 ^A	0,58	0,16013	14,43	3,00	5,00
II (20 g)	13	3,31 ^B	0,48	0,13323	14,52	3,00	4,00
III (40 g)	13	2,15 ^C	0,38	0,10415	17,44	2,00	3,00

Mala slova označavaju statistički značajnu razliku ($p < 0,05$), a velika slova statistički vrlo značajnu razliku ($p < 0,01$)

Najmanji prosečan broj doza semena po koncepciji utrošen je u III grupi ($2,15 \pm 0,38$ doza) i to je bilo statistički vrlo značajno niže ($p < 0,01$) u odnosu na I ($4,00 \pm 0,58$ doza) i II ($3,31 \pm 0,48$ doza) grupu. Najveći broj doza semena po koncepciji ($4,00 \pm 0,58$ doza) utrošen je u grupi koja nije konzumirala tanine, što je u odnosu na II i III grupu bila statistički vrlo značajna razlika ($p < 0,01$). Razlika broja doza semena po koncepciji između krava koje su konzumirale tanine je takođe statistički vrlo signifikantna ($p < 0,01$), pri čemu se sa povećanjem količine konzumiranih tanina smanjivao broj doza semena po koncepciji. Rezultati utroška broja doza semena po koncepciji su prikazani na grafikonu 5.4.2.



Grafikon 5.4.2. Broj doza semena po koncepciji kod krava u ogledu

6. DISKUSIJA

Uključivanje ekstrakata različitih biljnih vrsta koje sadrže biološki aktivne sekundarne metabolite, uključujući i tanine, u ishranu preživara, predstavlja oblast kojoj se u nauci u novije vreme posvećuje puno pažnje, u cilju ispitivanja mogućnosti ovih jedinjenja da utiču na zdravstveno stanje, proizvodne i reproduktivne osobine životinja.

Biljne vrste koje sadrže tanine, zbog svog adstringentnog (oporog) ukusa sapsadaju u manje ukusna hraniva, koja životinje prilično nerado jedu, ukoliko nisu pomešana sa nekim drugim sastojcima.

U ishrani krava visoke mlečnosti, prednost kompletnih mešanih obroka u odnosu na klasičan način ishrane, ogleda se u tome što davanje miksirane hrane osim toga što pogoduje delovanju flore i faune u predželucima i sprečava nastajanje drastičnih promena pH sadržaja predželudaca, omogućava i bolju iskoristivost manje ukusnih hraniva, čime se povećava obim potrošnje hrane i proizvodnja mleka (*Šamanc i sar., 2006*).

6.1. Biohemijski parametri krvi krava

Pored ocene telesne kondicije (OTK) krava, u proceni zdravstvenog stanja koriste se vrednosti parametara metaboličkog profila, odnosno osnovnih biohemijskih sastojaka krvi. Oni pružaju podatke od neprocenjivog značaja o energetsom i metaboličkom statusu jedinke i mogu poslužiti kao značajan pokazatelj zdravlja, proizvodnje i ukupne produktivnosti visokoproizvodnih krava.

Utvrđivanje vrednosti parametara metaboličkog profila tj. biohemijskih sastojaka krvi, pre svega koncentracije glukoze, koncentracije β -hidroksibuterne kiseline (BHBA), koncentracije ukupnih proteina, albumina, uree, Ca, P i Mg ima veliki značaj u proceni zdravstvenog stanja životinja. Određivanje vrednosti ovih komponenata ima primenu i u predikciji proizvodnih i reproduktivnih osobina visokoproizvodnih mlečnih krava (*Radojičić i sar., 2007; Radojičić, 2013*).

Međutim, koncentracija glukoze se nije pokazala kao statistički značajan prediktivni pokazatelj energetskog statusa krava zbog osetljivosti na homeostatsku kontrolu (*Cozzi i sar., 2011*), ali njena vrednost ispod 2,3 mmol/L, u kombinaciji sa drugim parametrima, može da ukaže na nastanak različitih metaboličkih poremećaja (*Ospina i sar., 2010; Noworoozy i sar., 2011*).

U ranoj fazi laktacije koncentracija glukoze je niža kod visokomlečnih krava u odnosu na period pre teljenja, što se može objasniti činjenicom da tokom rane laktacije preživari nisu u stanju da konzumiraju optimalnu količinu u odgovarajućem odnosu kabaste i koncentrovane hrane, da bi se zadovoljile visoke metaboličke potrebe, a to dovodi do negativnog bilansa energije (*Šamanc i sar., 2011*). Prema *Šamancu i sar. (1993)* prosečna glikemija posle teljenja iznosi 2,41 mmol/L. *Jovanović i sar. (1987)* navode da je nivo glikemije prosečno 2,71 mmol/L na 10 dana pre teljenja, 2,40 mmol/L do 10 dana posle teljenja, u drugom mesecu laktacije 2,60 mmol/L, dok u petom mesecu laktacije iznosi prosečno 2,70 mmol/L.

Tanini mogu da utiču na vrednosti biohemijskih parametara u krvi. Mogu ih održavati u fiziološkim granicama (*Raghuvansi i sar., 2007*), smanjiti (*Joy i sar., 2001*) ili povećati (*Mohammed i sar., 2004*).

Rezultati naših ispitivanja ukazuju da nije bilo statistički značajnih razlika u koncentraciji glukoze na kraju oglednog perioda između krava kontrolne i krava oglednih grupa. Prosečna koncentracija glukoze je bila slična u sve tri grupe krava ($2,82 \pm 0,36$ mmol/L; $2,86 \pm 0,24$ mmol/L; $2,84 \pm 0,29$ mmol/L) i u okvirima fizioloških vrednosti. Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa istraživanjima *Raghuvansi i sar. (2007)*, *Rezaenia i sar. (2012)*, *Bohluli i sar. (2009)*, *Gholizadeh i sar. (2010)*, *Dey i De (2014)* koji su ustanovili da uključivanje tanina u ishranu mlečnih krava nije imalo efekta na koncentraciju glukoze u krvi, ali i u suprotnosti sa rezultatima više autora koji navode povećanje ili smanjenje koncentracije serumske glukoze usled delovanja tanina dodatih u hranu. Slične rezultate su publikovali *Davidović i sar. (2019)* koji su utvrdili da su vrednosti glukoze bile u fiziološkim okvirima kod krava koje su konzumirale tanine, kao i kod krava koje nisu konzumirale tanine i da nije bilo signifikantnih razlika ($p > 0,05$).

Istraživanja *Attia i sar. (2016)* pokazuju da je tretman krava u tranzicionom periodu sa 100 g komercijalnog preparata koji sadrži tanine smanjio koncentraciju glukoze, a dodatak 200 g istog preparata nije promenio vrednosti koncentracije glukoze u odnosu na kontrolu.

Rezaenia i sar. (2012) su utvrdili da uključivanje 5,5% tanina u suvoj materiji u ishranu mlečnih krava, u ranoj laktaciji, nema efekata na koncentraciju serumske glukoze. Slične rezultate su prijavili *Bohluli i sar. (2009)*. Takođe, *Gholizadeh i sar. (2010)* su izvestili da uključivanje 10% PBP silaže u ishranu mlečnih krava nije imalo efekta na koncentraciju glukoze. Suprotno, *Allam i sar. (2013)* su dokazali da su krave koje su hranili travnom vrstom (*Panicum antidotale*) imale niži ($p > 0,05$) nivo glukoze u pređenju sa grupom krava koja je hranjena lucerkom.

Dey i De (2014) su sprovedeli studiju radi ispitivanja efekata kondenzovanih tanina (CT) iz lišća *Ficus bengalensis* kod tovnih krava i ustanovili da su koncentracije glukoze u serumima svih eksperimentalnih krava bile u fiziološkim granicama i nisu pokazale značajne varijacije ($p > 0,05$) zbog modifikacije ishrane. Nasuprot tome, kod krava koje su napasane sa žutim zvezdanom (*Lotus corniculatus*) *Wang i sar. (1996a)* su ustanovili niže vrednosti glukoze u plazmi.

Sallam i sar. (2019) su u istraživanju sprovedenom na 30 bivolica ustanovili da je najveća koncentracija glukoze u krvi utvrđena kod grupe koja je konzumirala 200 g preparata sa taninima, dok je prosečna koncentracija glukoze bila niža kod bivolica iz kontrolne grupe i grupe koja je konzumirala 100 g preparata sa taninima.

Cozzi i sar. (2011) su ustanovili u svojim ispitivanjima da glukoza u krvi ne predstavlja pouzdan marker statusa energije kod goveda, zbog svoje homeostatske regulacije. Naime, organizam životinje strogim regulatornim mehanizmima homeostaze se trudi da održi njen konstantan nivo u krvi. Slične podatke su publikovali i drugi autori (*Herdt, 2000; Grünwaldt i sar., 2005*), što navodi na zaključak da kratkotrajna primena tanina nije mogla značajno promeniti vrednosti koncentracije glukoze kod oglednih grupa krava.

Kod krava u poslednjem mesecu graviditeta koncentracija β -hidroksibuterne kiseline (BHBA) je niža od 0,6 mmol/L i ta vrednost se smatra fiziološkom (*Ospina i sar., 2010*). Koncentracija β -hidroksibuterne kiseline u krvi krava od 0,6 mmol/L do 1 mmol/L je fiziološki prihvatljiva za krave na početku laktacije. Ona ukazuje na umerenu mobilizaciju masti iz telesnih rezervi u cilju održavanja energetske ravnoteže.

Prisustvo BHBA u krvi u koncentracijama većim od fizioloških ukazuje na postojanje negativnog bilansa energije i pojačanu mobilizaciju masti iz depoa. Lipoliza izaziva povećanje nivoa neesterifikovanih masnih kiselina (NEFA), koje putem krvi dospevaju u jetru i procesom β oksidacije razlažu do acetilkoenzima A. Ovo jedinjenje ulazi u ciklus trikarbonskih kiselina (Krebsov ciklus), u kome se oslobađa energija potrebna organizmu. Zbog nedovoljnog unošenja hrane u ranoj fazi laktacije, iz ugljenih hidrata se ne sintetiše dovoljno propionata u buragu, što dovodi do deficita oksalacetata. Ukoliko nema dovoljno oksalacetata u hepatocitima, nastali acetilkoenzim A se pretvara u ketonska tela (BHBA, acetoacetat, aceton) (*Herdt, 2000*). Subklinička ketoza je jedno od najvažnijih metaboličkih oboljenja visokomlečnih krava, koje se

karakteriše prisustvom povišene koncentracije ketonskih tela (1,2-1,4 mmol/L), a bez pojave kliničkih znakova. Dovodi do značajnih ekonomskih gubitaka, povećava rizik od nastajanja postpartalnih oboljenja (dislokacija sirišta, metritis, laminitis i klinička ketoza) i negativno utiče na reproduktivne karakteristike i proizvodnju mleka (*Mahrt i sar., 2014*)

Krave sa kliničkim znacima ketoze imaju koncentraciju BHBA višu od 2 mmol/L. Sva stanja organizma koja su praćena oštećenjem funkcije jetre praćena su i povećanom koncentracijom BHBA u krvi (*Reist i sar., 2002; Gaál, 2005*). Povećana koncentracija ove kiseline u krvi se zapaža pri ishrani silažom lošeg kvaliteta, koja sadrži visok procenat buterne kiseline i koja se prilikom resorpcije kroz zid rumena transformiše u β -hidroksibuternu kiselinu (*Grubić i Adamović, 2003*).

Pojedini autori su ustanovili da povišeni nivo glukoze u krvi smanjuje vrednosti ketonskih tela, odnosno koncentraciju β -hidroksibuterne kiseline u krvi krava (*Fronk i Schultz, 1979*). Takođe, *Behnam i sar. (2008)* su utvrdili da viši nivoi glukoze dovode do smanjenja koncentracije BHBA u krvi.

Naši rezultati su u saglasnosti sa istraživanjima autora koji tvrde da upotreba tanina dovodi do smanjenja koncentracije BHBA u krvi. Najniža vrednost prosečne koncentracije BHBA u krvi je izmerena kod krava III grupe (0,61±0,12 mmol/L), koje su konzumirale 40 g Tanimila SCC, a najviša kod krava kontrolne grupe (0,85±0,15 mmol/L) koje nisu konzumirale tanine. Uočena je statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u koncentraciji BHBA između krava II i III grupe, a statistički vrlo značajna razlika ($p < 0,01$) u koncentraciji BHBA između krava I i III grupe, na kraju oglednog perioda.

Rezultati našeg istraživanja su u saglasnosti sa rezultatima do kojih su došli *Davidović i sar. (2019)*. Naime, krave koje su konzumirale obroke sa dodatkom preparata na bazi tanina imale su signifikantno niže vrednosti koncentracije BHBA u krvi ($p < 0,05$) u odnosu na krave koje nisu konzumirale tanine u obroku (0,79 mmol/L vs 0,96 mmol/L).

Szczechowiak i sar. (2018) navode da su tanini povećali koncentraciju glukoze u krvi, dok su *Wang i sar. (1996)* utvrdili niže nivo glukoze u plazmi mlečnih ovaca koje su bile na tanifernoj paši sa *Lotus corniculatus*. Takođe, *Bjerre-Harpøth i sar. (2012)* su utvrdili da povećanje nivoa glukoze utiče na snižavanje koncentracije BHBA u krvi. Međutim, *Szczechowiak i sar. (2018)* su izvestili da je koncentracija BHBA u krvi bila nepromenjena kada su višetelke, holštajn rase, u srednjem stadijumu laktacije bile hranjene mešavinom 660 g ribljeg i sojinog ulja i 99 g ekstrakta brusnice (*Vaccinium vitis idea*) bogatog kondenzovanim taninima.

Rezultati naših istraživanja ukazuju da je najniža koncentracija BHBA utvrđena kod krava koje su konzumirale najvišu preporučenu dnevnu dozu (40 g preparata) tanina iz kore divljeg kestena, što navodi na zaključak da doza konzumiranih tanina igra značajnu ulogu u koncentraciji BHBA, s obzirom na činjenicu da su koncentracije glukoze bile približno iste kod sve tri grupe krava.

Koncentracija ukupnih proteina u krvnoj plazmi visokoproizvodnih krava kreće se od 58 do 81 g/L (*Rodostitis i sar., 2007*). Prema *Stojiću (2010)* koncentracija proteina u krvnoj plazmi iznosi 60-80 g/L i oni su kvantitativno i kvalitativno najvažniji organski sastojak ne samo plazme, nego i ostalih telesnih tečnosti. Prema *Forenbacheru (1993)* koncentracija ukupnih proteina u serumu krava iznosi 67,2 g/L (60-80 g/L), a u plazmi 83,2 g/L.

U našim ispitivanjima na kraju oglednog perioda najveća koncentracija ukupnih proteina (74,26±6,07 g/L) izmerena je kod krava III grupe, niža kod krava II grupe (73,00±6,09 g/L), a najniža kod krava I grupe (69,04±5,73 g/L), koje nisu konzumirale tanine u ishrani. Ove razlike nisu bile statistički značajne i ukazuju da različite doze tanina u ishrani nemaju štetne efekte na koncentraciju ukupnih proteina u krvi krava, što je u saglasnosti sa istraživanjima većine autora. Bez obzira što ove razlike nisu statistički značajne ($p > 0,05$), zapaža se da je najveća koncentracija proteina izmerena kod krava koje su konzumirale maksimalnu preporučenu dnevnu dozu tanina, što ukazuje na smanjenje ruminalne razgradnje proteina i povećanje protoka aminokiselina ka postruminalnim partijama digestivnog trakta. Naši rezultati nisu u saglasnosti sa rezultatima ispitivanja do kojih su došli *Attia i sar. (2016)*, *Allam i sar. (2013)*, a u saglasnosti su sa ispitivanjima *Dey i De (2014)*.

Rezultati istraživanja *Attia i sar. (2016)* ukazuju da je tretman sa 100 g komercijalnog preparata koji sadrži tanine doveo do značajnog smanjenja ($p < 0,05$) koncentracije ukupnih serumskih proteina u odnosu na kontrolnu grupu krava. Dodavanje 200 g ovog preparata nije promenilo vrednosti koncentracije globulina krvi kod ispitivanih krava. Slične rezultate su dobili *Allam i sar. (2013)*, koji su dokazali da su krave koje su hranjene travnom vrstom (*Panicum antidotale*) imale nižu ($p > 0,05$) koncentraciju ukupnih proteina u poređenju sa grupom krava koje su hranjene lucerkom. Nasuprot ovim rezultatima, *Dey i De (2014)* su ustanovili u svojim istraživanjima na tovnim kravama, da je koncentracija serumskih proteina, kao i odnos albumina i globulina ostao sličan kod svih životinja, što jasno ukazuje na to da niski nivoi CT u ishrani nisu imali nikakvog negativnog uticaja na biohemijske parametre krvi krava.

Albumini su najstabilniji i najhidrofilniji proteini krvi od kojih zavisi oko 80% koloido-osmotskog pritiska krvne plazme. Njihova sinteza se odvija u jetri. Od ukupnih proteina plazme 52-62% čine albumini koji predstavljaju rezervu proteina u organizmu. Imaju sposobnost reverzibilnog vezivanja mnogih neorganskih, organskih i biološki aktivnih jedinjenja i predstavljaju važan transportni sistem u krvnoj plazmi (*Jovanović i sar., 1984*). Fiziološka koncentracija albumina u krvnoj plazmi kod krava je od 30 do 45 g/L (*Stojić, 2010*). Prema *Forenbacheru (1993)* koncentracija albumina u serumu krava iznosi 31,6 g/L (27-38 g/L). Razgradnja albumina se odvija najvećim delom u jetri, ali i u drugim tkivima, uključujući mišiće, bubrege i kožu. U cirkulaciji albumin ima dve glavne funkcije. Značajna je determinanta koloidno-osmotskog pritiska plazme, a takođe je i glavni transportni protein (*Gurr i sar., 2002*).

Koncentracija albumina u plazmi krava je pod uticajem fiziološkog stanja i usko je povezana sa ishranom i količinom unetog azota. Usled nedostatka proteina u hrani (svarljivog azota) smanjuje se koncentracija albumina u krvi i dolazi do pada onkotskog pritiska krvne plazme. Zbog izlaska krvne plazme u međucelijski prostor može nastati i "gladni edem".

Dokazano je da koncentracija albumina u krvnom serumu krava nije u korelaciji sa količinom proizvedenog mleka i približno je ista kod visokoproizvodnih krava i krava sa niskom proizvodnjom mleka (*Blum i sar., 1983*).

Koncentracija albumina se, u odnosu na koncentraciju uree, menja relativno sporo, pa je za značajnije promene u koncentraciji albumina potrebno najmanje mesec dana. Iz tog razloga koncentracija uree daje sliku promene zastupljenosti proteina u hrani vrlo brzo, dok koncentracija albumina ukazuje na dugotrajni disbalans u metabolizmu proteina.

Brojni autori izveštavaju o povećanju koncentracije ukupnih proteina i albumina u toku letnje sezone (*Rasooli i sar., 2004; Ferreira i sar., 2009*), kao i u toplotnom stresu (*Koubkova i sar., 2002; Ferreira i sar., 2009*), što pripisuju gubitku ekstracelularne tečnosti, odnosno hemokoncentraciji.

U našem istraživanju najniža koncentracija albumina je izmerena na kraju oglednog perioda kod krava III grupe ($27,06 \pm 3,21$ g/L), nešto viša kod krava II grupe ($28,66 \pm 3,58$ g/L), a najviša kod krava I grupe ($30,40 \pm 3,88$ g/L). Razlike između grupa nisu bile statistički značajne ($p > 0,05$). Ovi rezultati su u saglasnosti sa istraživanjima *Attia i sar. (2016)* koji u svojim ispitivanjima nisu ustanovili značajne efekte primene različitih doza komercijalnog preparata sa taninima na koncentraciju albumina krvi krava u tranzicionom periodu. Slične rezultate publikovali su *Sallam i sar. (2019)*, koji su sprovedli ispitivanje uticaja različitih doza tanina na pojedine parametre metaboličkog profila kod bivolica.

Takođe, u saglasnosti su sa istraživanjima *Dey i De (2014)*. Sve izmerene vrednosti koncentracije albumina su bile u fiziološkim granicama, a merenje koncentracije albumina je značajan parametar funkcionalnog stanja ćelija jetre. Može se zaključiti da tanini nisu imali neželjenih efekata na koncentraciju albumina kod oglednih krava.

Pojedini autori su ispitivali odnos koncentracije albumina i globulina kada se životinje hrane dodatkom koji sadrži različite doze tanina. *Dey i De (2014)* su utvrdili da je odnos albumina i globulina ostao sličan kod svih životinja, tj. krava koje su konzumirale visoke i krava koje su konzumirale niske doze tanina.

Urea u krvi krava predstavlja značajan biohemijski parametar. Mikroflora predželudaca preživara razlaže proteine unete hranom preko aminokiselina do ketokiselina i amonijaka, koje zatim koriste za sintezu svojih proteina u prisustvu dovoljne količine lako svarljivih ugljenih hidrata, kao izvora energije. Višak amonijaka se zatim resorbuje, odlazi u jetru i koristi za sintezu uree. U peripartalnom periodu, kada krave smanje unos hrane, smanjeno je vezivanje i ugrađivanje NH_3 u mikrobne proteine. Posledično se pojačava resorpcija NH_3 preko sluzokože buraga i povećava nivo uree u krvi, mleku i urinu (*Spek i sar., 2013; Brinkhaus i sar., 2016*).

Brojni su faktori koji utiču na koncentraciju uree u krvi preživara. Višak proteina u ishrani dovodi do povećanja, a manjak do smanjenja koncentracije uree u krvi. Sa druge strane, za pravilno funkcionisanje bakterija u buragu neophodno je prisustvo energije, zbog čega nedovoljan sadržaj energije u obroku uslovljava smanjenu aktivnost mikroflora buraga, tako da ona ne može u celosti da iskoristi amonijak za sintezu sopstvenih proteina. Iz tog razloga je deficit ugljenih hidrata u ishrani praćen povećanjem koncentracije uree u krvi. Sezonske varijacije u koncentraciji uree mogu biti vrlo izražene i trebalo bi ih uzeti u obzir prilikom interpretacije rezultata metaboličkog profila (*Ronchi i sar., 1999*). Vreme hranjenja utiče na koncentraciju uree u krvi, pa zbog toga uzorke za metabolički profil treba uzimati 4 do 6 sati nakon hranjenja životinja. Dugotrajno gladovanje dovodi do povećanja koncentracije uree u krvi, zbog razgradnje telesnih tkiva. Povećana koncentracija uree u krvi se javlja i kod poremećaja funkcije bubrega. Nefritis je kod goveda relativno redak, tako da je uremija koja nastaje iz ovih razloga retka pojava.

Povišena ambijentalna temperatura dovodi do povećanja koncentracije uree u krvi krava (*Ronchi i sar., 1997; Koubkova i sar., 2002; Rasooli i sar., 2004*) usled katabolizma proteina i intenzivnijeg iskorišćavanja aminokiselina u procesima glukoneogeneze. Smanjenje koncentracije uree u krvi se javlja kod acidize zbog toga što se amonijak koristi za neutralizaciju kiselih produkata, a ne za sintezu uree.

Koncentracija uree u krvi je značajno povećana i u toplotnom stresu (*Cincović i sar., 2011*). *Orozco-Hernandez i Brisson (1995)* navode da je koncentracija uree u krvi krava u negativnoj korelaciji sa količinom proizvedenog mleka. Takođe, usled suficita sirovih proteina u obroku sve životinje u zapatu reaguju povećanjem koncentracije uree u serumu. Suficit proteina nastaje pri ishrani senažom ili nekontrolisanim dodavanjem krmnih smeša sa visokim sadržajem proteina. *Lotthammer (1991)* je utvrdio da gnojni endometritisi mogu nastati kao posledica ishrane koja je imala suficit proteina. Prema ovom autoru fiziološke prosečne vrednosti za ureu u serumu kod krava iznose 4,16 do 5,82 mmol/L. Krave starije od dve godine imaju fiziološke vrednosti za koncentraciju uree u krvi 2,0 do 6,0 mmol/L (*Blood, 1994; Radojičić i sar., 2014*).

Fiziološke vrednosti koncentracije uree u krvi goveda iznose 2,0 do 7,5 mmol/L (*Rodostitis i sar., 2007*), a navode se i vrednosti od 7,1 do 10,7 mmol/L (*Krnić i sar., 2003*).

Ekstremno povećanje koncentracije uree u krvi može ukazivati na slabost bubrega (*Forenbacher, 1993*).

Rezultati naših istraživanja ukazuju da se koncentracija uree 60. dana oglada nije statistički značajno razlikovala kod krava I, II i III grupe ($8,82 \pm 1,26$ mmol/L; $8,87 \pm 1,09$ mmol/L; $8,52 \pm 1,69$ mmol/L). Ove koncentracije uree u krvi krava izlaze iz okvira fizioloških granica koje navodi većina autora (*Blood, 1994; Radojičić i sar., 2014*). Međutim, na kraju oglednog perioda koncentracija uree je bila niža kod sve tri grupe krava. Najniža vrednost koncentracije uree utvrđena je u serumu III grupe krava ($4,86 \pm 0,62$ mmol/L), tj. kod krava koje su konzumirale preporučenu dnevnu dozu tanina u ishrani tokom 90 dana. Kod krava II grupe, koje su konzumirale polovinu preporučene doze tanina tokom 90 dana oglada, koncentracija uree bila je veća ($5,19 \pm 0,87$ mmol/L), a najveća vrednost izmerena je kod I grupe krava, koje u obroku nisu dobijale tanine ($6,67 \pm 0,67$ mmol/L). Postoji statistički vrlo značajna razlika ($p < 0,01$) između I i II grupe krava, kao i između I i III grupe krava, kao direktna posledica konzumacije tanina. Kod II i III grupe krava koncentracija uree kretala se u okviru fizioloških granica koje navodi većina autora, dok je kod krava kontrolne grupe utvrđena vrednost bila iznad fizioloških granica za taj stadijum proizvodno-reproduktivnog ciklusa. Niže koncentracije uree u krvi oglednih krava ukazuju na efikasnije korišćenje proteina hrane. Naime, smanjenje koncentracije uree u krvi odražava poboljšanje

metabolizma azotnih komponenata hrane i povećanje resorpcije esencijalnih aminokiselina (Mabjeesh, 2000).

Naši rezultati su u saglasnosti sa ranijim istraživanjima (Dey i De, 2014; Allam i sar., 2013; Davidović i sar., 2019) koji ukazuju na smanjenu razgradnju proteina i proizvodnju amonijaka u rumenu, a samim tim i na smanjenje apsorpcije amonijaka kroz zid buraga u krv. Dey i De (2014) su utvrdili značajno ($p < 0,05$) smanjenje koncentracije uree u serumu kod krava tovrne rase, koje su hranjene sa FBLM ishranom (*Ficus bengalensis*). Rezultati ogleda koji su sprovedeli Davidović i sar. (2019) ukazuju da se preparat na bazi tanina može uspešno koristiti u ishrani visokomlečnih krava, kao dodatak TMR obroku u količini od 40 g, jer zaštitno deluje na lako razgradive proteine hrane, smanjuje njihovu degradaciju u buragu i povoljno utiče na bolju iskoristivost proteina, što ima pozitivan efekat na značajno snižavanje koncentracije β -hidroksibuterne kiseline (BHBA) i uree u krvi i poboljšanje proizvodnih osobina. Rezultati istraživanja ovih autora ukazuju da je kod ogledne grupe krava koja je u hrani dobijala preparat na bazi tanina, prosečna koncentracija uree u krvi iznosila 5,89 mmol/L i ova vrednost je bila signifikantno niža ($p < 0,05$) u odnosu na kontrolnu grupu (6,93 mmol/L), koja nije dobijala preparat na bazi tanina.

Slično našim rezultatima, Sallam i sar. (2019) su ustanovili da je koncentracija uree u serumu bivolica bila najniža kod životinja koje su konzumirale najveću dozu preparata sa taninima. Najveću koncentraciju uree utvrdili su u serumima bivolica koje su konzumirale polovinu najveće doze tanina, dok je najniža prosečna koncentracija uree utvrđena kod bivolica koje nisu konzumirale tanine u obroku (kontrolna grupa). Ogled su sprovedeli na 30 bivolica, posle teljenja, u ranom stadijumu laktacije.

Woodvard (1988) je u svom istraživanju utvrdio da je koncentracija uree manja kada su ovce i koze bile hranjene mahunama koje su sadržavale tanine. Takođe, Waghorn i sar. (1994) su utvrdili da su ovce koje su hranjene čistim *L. pedunculatus* imale niže koncentracije uree u plazmi od ovaca koje su hranjene *L. pedunculatus* koji je tretiran polietilen glikolom za deaktiviranje tanina. Ben Salem i sar. (2005) su izvestili da ishrana taninima poreklom iz akacija (*Acacia cyanophylla*) dovodi do smanjenja koncentracije plazma uree, ruminalnog amonijaka i degradacije sojinog brašna *in situ*. Pored toga, smanjena proteoliza kod ovaca koje su dobijale akan cijanofil sa koncentratom može biti uzrokovana efektima tanina akacija na mikrobijalnu proteolitičku aktivnost (Jones i sar., 1993). Do sličnih rezultata su došli Allam i sar. (2013) koji su dokazali da su krave koje su hranili travnom vrstom (*Panicum antidotale*) imale nižu ($p > 0,05$) koncentraciju uree u poređenju sa grupom krava koje su hranili lucerkom. Može se zaključiti da kondenzovani tanini mogu povećati efikasnost iskorišćenja ruminalnog azota smanjenjem koncentracije ruminalnog amonijaka i dovesti do smanjenja koncentracije uree u krvi. Potpuna zamena lucerke travnom vrstom, u ishrani mlečnih krava, dovodi do smanjene koncentracije amonijaka i uree zbog smanjenja ruminalne degradacije proteina hrane usled vezivanja CT za protein.

Značajna istraživanja su obavili Attia i sar. (2016) koji su utvrdili da nije bilo značajnih efekata na koncentraciju uree u krvi, kod krava u tranzicionom periodu, koje su u ishrani dobijale 100 i 200 g kondenzovanih tanina, tokom 12 nedelja, u obliku komercijalnog preparata, u odnosu na krave koje nisu konzumirale preparat. Takođe, Rezaenia i sar. (2012) su utvrdili da uključivanje 5,5% tanina u ishranu mlečnih krava, u ranoj laktaciji, nije imalo efekata na koncentraciju uree u krvi. Zatim, Gholizadeh i sar. (2010) su izvestili da uključivanje 10% PBP silaže u ishranu mlečnih krava takođe nije imalo efekata na koncentraciju uree u krvi.

U sprovedenom istraživanju koncentracija makroelemenata (kalcijuma, fosfora, magnezijuma) u krvnom serumu eksperimentalnih grupa krava kretala se u okviru fizioloških vrednosti. Prosečna koncentracija kalcijuma u krvnom serumu I i II grupe krava bila je ista ($2,64 \pm 0,28$ mmol/L), dok je kod krava III grupe prosečan nivo kalcijuma bio neznatno niži ($2,40 \pm 0,23$ mmol/L). Utvrđene vrednosti su bile u okvirima fizioloških granica, a razlike između grupa nisu bile statistički značajne. Krave su na početku eksperimentalnog perioda izašle iz negativnog bilansa energije, a samim tim i negativnog bilansa kalcijuma, dok utvrđene vrednosti na kraju oglednog perioda ukazuju na dobru snabdevenost ovim makroelementom.

Prosečna vrednost koncentracije fosfora se kretala od $2,14 \pm 0,29$ mmol/L (kontrolna grupa) do $2,30 \pm 0,23$ mmol/L kod II grupe krava, koja je dobijala 20 g preparata Tanimil SCC. Ustanovljene vrednosti su bile u okviru fizioloških granica za visokomlečne krave, a razlike nisu bile signifikantne. Metabolizam kalcijuma i fosfora je veoma povezan, a u hranivima biljnog porekla nalaze se u formi fitata, iz kojih se lako iskorišćavaju zahvaljujući aktivnosti mikroorganizama buraga (*Stojić, 2010*).

Koncentracija magnezijuma u kontrolnoj grupi ($0,92 \pm 0,10$ mmol/L) i ogleđnim grupama krava ($0,86 \pm 0,10$ mmol/L i $0,89 \pm 0,11$ mmol/L) bila je u okviru fizioloških vrednosti i nije bilo statistički značajnih razlika. Resorpcija kalcijuma iz kabastih hraniva u normalnim uslovima je relativno niska (približno 25-35% ukupnog unosa kalcijuma) u poređenju sa resorpcijom magnezijuma i fosfora. Iz koncentrovanih hraniva resorpcija kalcijuma je oko 60%, a iz mineralnih hraniva, koja su dobar izvor kalcijuma, resorpcija je oko 70-90%. Većina regulatornih faktora su stimulatori za povećanje resorpcije kalcijuma, ali dodavanjem veće količine tanina i njegovim vezivanjem za kalcijum, ovaj mineral može postati nerastvorljiv i nedostupan za resorpciju u crevima (*Wongdee i sar., 2019*). *Naumann i sar. (2017)* navode da se kondenzovani tanini vezuju za minerale (Al, Ca, Co, Cu, Fe, Mg, Mn, P, Zn) i smanjuju njihovu biološku raspoloživost. Katjoni gvožđa i aluminijuma se vezuju za kondenzovane tanine pri pH nivoima od 3,20 ili nižim, dok se magnezijum, kalcijum, cink, bakar, mangan i kobalt vezuju za CT pri pH većem od 3,70. Ovi kompleksi su stabilni u širokom rasponu pH u celom gastrointestinalnom traktu. Pored direktnog vezivanja, minerali mogu uticati na interakciju kondenzovanih tanina sa proteinima iz hrane. Kalcijum poboljšava sposobnost vezivanja tanina epigalokatehin-3-galata sa β -laktoglobulinima u mleku, omogućavajući stvaranje većih i stabilnijih kompleksa kondenzovanih tanina i proteina (*Carnovale i sar., 2015*).

Rezultati našeg istraživanja ukazuju da dodavanje preporučenih doza tanina u obroke mlečnih krava nema negativan uticaj na koncentraciju kalcijuma, fosfora i magnezijuma, s obzirom da su se prosečne vrednosti ovih makroelemenata kretale u okviru fizioloških granica za vrstu i fazu proizvodno-reproduktivnog ciklusa.

6.2. Proizvodnja mleka

Količina proizvedenog mleka, koncentracija pojedinih sastojaka mleka, kao i njihov međusobni odnos u mleku koriste se kao pokazatelji uspešnosti proizvodnje i zdravlja životinja. Svi prekursori za sintezu sastojaka mleka dospevaju putem krvi do mlečne žlezde, pa se može zaključiti da sastav mleka u potpunosti odražava sastav krvi, odnosno sve promene njenog sastava do kojih dolazi usled metaboličkog prilagođavanja u toku laktacije. *Biswajit i sar. (2011)* navode da je koncentracija proteina u obroku usko povezana sa proizvodnjom mleka i da proizvodnja mleka raste sa porastom koncentracije proteina u ishrani.

Prosečna proizvodnja mleka tokom 90 dana ogleđa kod kontrolne grupe krava je iznosila $38,43 \pm 4,62$ kg, dok su kod grupa koje su konzumirale tanine zabeležene vrednosti $39,55 \pm 3,98$ kg (20 g Tanimila SCC) i $39,12 \pm 5,86$ kg (40 g Tanimila SCC). Razlike u proizvodnji mleka između eksperimentalnih grupa nisu bile statistički signifikantne, ali je kod krava ogleđnih grupa proizvodnja bila veća za 2,91% kod grupe krava koja je unosila polovinu maksimalne preporučene doze dnevno, a 1,8% kod grupe kojoj je u obrok dodavano 40 g ovog preparata dnevno. Prinos mleka korigovanog na 4% mlečne masti uslovljen je produkcijom mleka i sadržajem mlečne masti, tako da je kod II ogleđne grupe krava prinos od $37,08 \pm 5,00$ kg za 0,86% manji u odnosu na kontrolnu grupu ($37,40 \pm 6,71$ kg), dok je III ogleđna grupa ($37,84 \pm 5,99$ kg) imala veći prinos 4% FCM za 1,16% u odnosu na kontrolnu grupu i za 2,01% u odnosu na grupu koja je konzumirala duplo manju dozu Tanimila SCC. Prosečna koncentracija mlečne masti nije se statistički razlikovala između I ($3,79 \pm 0,61\%$), II ($3,58 \pm 0,49\%$) i III grupe krava ($3,79 \pm 0,47\%$).

Veći broj autora navodi da upotreba tanina poreklom od različitih biljnih vrsta dovodi do smanjenja ili povećanja količine mleka kod životinja koje su ih konzumirale, u odnosu na životinje koje nisu konzumirale tanine u ishrani (*Attia i sar., 2016; Wang i sar., 1996; Woodward i sar.,*

1999; Dey i De, 2014; Davidović i sar., 2019). Naši rezultati su u saglasnosti sa rezultatima istraživanja Aguerre i sar. (2016), koji su ustanovili da dodavanje mešavine ekstrakta tanina iz kuebracha i kestena (odnos 2:1) u obroke mlečnih krava nije značajno uticalo na proizvodnju mleka.

Maamouri i sar. (2011) su svoja ispitivanja sprovedi na ovcama i došli do sličnih rezultata, jer su utvrdili da zaštita proteina taninima akacija od mikrobne degradacije u rumenu nije rezultirala signifikantnim povećanjem proizvodnje mleka.

Prinos mleka i sastav mlečne masti nisu bili promenjeni prilikom dodavanja CT u ishrani mlečnih krava do 1,8% suve materije obroka (Aguerre i sar, 2010). Benchaar i Chouinard (2009) nisu utvrdili efekat suplementacije ishrane sa ekstraktom tanina kuebracho (*Schinopsis balansae*) (150 g/dan, 0,45% unošenja suve materije) na sastav masti mleka.

Neki autori su utvrdili da ishrana mlečnih krava sa dodatkom 100 ili 200 g komercijalnog preparata sa taninima dovodi do smanjenja ($p < 0,05$) dnevnog prinosa mleka od 30,17 kg do 26,34 kg i 25,92 kg kod krava oglednih grupa u odnosu na kontrolu, respektivno (Attia i sar., 2016).

Allam i sar. (2013) su pratili efekte zamene lucerke (*Medicago sativa*) travnom vrstom (*Panicum antidotale*) na unos suve materije, prinos mleka i hemijski sastav mleka. Rezultati su ukazali da je zamena lucerke travnom vrstom smanjila ($p < 0,05$) prinos mleka i količinu mleka korigovanu na sadržaj mlečne masti kod krava u laktaciji.

Studije drugih istraživača su pokazale da je zaštita proteina od degradacije mikrobiološkim procesom, pomoću tanina koji se dodaju u hranu, dovela do povećanja proizvodnje mleka kod krava (Woodward i sar, 1999). Wang i sar. (1996b) su utvrdili porast proizvodnje od 21% sredinom i krajem laktacije kod ovaca hranjenih *L. corniculatus* (44,5 g/kg TM CT) u odnosu na ovce kojima je dodat polietilen glikol koji dovodi do inaktivacije tanina.

Dey i De (2014) su ustanovili da je dodatak CT značajno ($p < 0,05$) povećao dnevni prinos mleka krava. Pобољшanje u proizvodnji mleka pomoću dejstva CT moglo bi se objasniti povećanjem snabdevanja aminokiselina na nivou tkiva usled zaštite proteina hrane od mikrobiološke razgradnje (Garg i sar., 2005; Dey i sar., 2008). Chalupa i Sniffen (1996) takođe su izvestili da povećanje snabdevanja esencijalnim aminokiselinama koje potiču od protektiranih proteina dovodi do povećanja proizvodnje mleka.

Mlečna mast potiče od nižih masnih kiselina resorbovanih u rumenu i delom masnih kiselina iz krvotoka, a njena sinteza odvija se u tkivu mlečne žlezde. Od masnih kiselina buraga najveći značaj u sintezi mlečne masti ima sirćetna kiselina koja pretežno nastaje digestijom sirovih vlakana iz obroka, a nešto manji i buterna kiselina koja se u zidu buraga prevodi u β -hidroksibuternu kiselinu (BHBA), koja se koristi za sintezu masti mleka. Masne kiseline iz cirkulacije koje su neophodne za sintezu mlečne masti potiču delom iz masti mobilisanih iz telesnih depoa, delom iz masnih kiselina resorbovanih iz digestivnog trakta, a jednim delom i iz masnih kiselina metabolisanih u jetri.

Kirovski i sar. (2012) navode niz faktora koji utiču na sadržaj mlečne masti, a to su: rasa goveda, ishrana, faza laktacije, starost krava i godišnje doba. Ovi autori navode da se prosečna koncentracija mlečne masti kod krava holštajn rase kreće između 3,2% i 3,6%. Kod krava simentalke rase prosečna koncentracija mlečne masti je nešto viša i kreće se između 3,6% i 4,0%. Ishrana bogata sirovim vlaknima dovodi do porasta koncentracije mlečne masti, dok ishrana pretežno koncentrovanim hranivima uzrokuje smanjenje koncentracije masti u mleku. Tokom letnjih meseci sa visokom relativnom vlažnošću vazduha koncentracija mlečne masti opada. Starije krave imaju nižu prosečnu koncentraciju masti u mleku.

Kadyere i sar. (2002) navode da koncentracija mlečne masti uglavnom opada usled pojave acidoze buraga koja se razvija u toku toplotnog stresa, što je česta pojava i na farmama u našoj zemlji tokom letnjeg perioda. Koncentracija mlečne masti je najviša na početku laktacije, a zatim se smanjuje od 25. do 50. dana laktacije, a nakon toga opet se povećava do 250. dana laktacije (Bauman i Griinari, 2003).

Sniženje koncentracije masti u mleku često je posledica nepovoljne ishrane krava u peripartalnom periodu i acidoze buraga, koja nastaje kao posledica preterane upotrebe

koncentrovanih hraniva, uz istovremeni nedostatak dovoljne količine kvalitetne kabašte hrane. Tada, usled smanjenja acetata u buragu nastaje nedovoljna sinteza mlečne masti. Toplotni stres ima za posledicu smanjenje konzumacije hrane, pa je redovno praćen smanjenjem koncentracije masti u mleku. Porast koncentracije masti u mleku je najčešće udružen sa pojačanom lipomobilizacijom.

Van Knegsel i sar. (2007) navode da pojačana lipomobilizacija usled porasta negativnog energetskog bilansa, dovodi do povišenja koncentracije slobodnih masnih kiselina u krvi, koji služe kao prekursori u sintezi mlečne masti i dovode do povišene koncentracije mlečne masti.

Proteini mleka se sintetišu u tkivu mlečne žlezde najvećim delom iz aminokiselina dospelih putem krvi, dok manjim delom potiču direktno iz krvi. Osnovni izvor aminokiselina za sintezu proteina u tkivu mlečne žlezde su aminokiseline poreklom iz digestivnog trakta koje nastaju razlaganjem mikrobnih proteina, dok ostatak čine aminokiseline iz proteina nerazgradivih u buragu, proteina poreklom iz raspadnutih ćelija crevnog epitela i aminokiselina sintetisanih u jetri. Koncentracija proteina u mleku krava zavisi od rase, ishrane, faze laktacije i starosti životinja. Krave holštajn rase imaju prosečnu koncentraciju proteina u mleku 3,06%, dok krave simentalke rase imaju 3,4% (*Kirovski i sar., 2012*). *Orešnik (2009)* navodi da je cilj kod savremenih rasa visokoproduktivnih krava postići vrednost sadržaja proteina u mleku 3,4%, što je u skladu sa tendencijom da se otkupna cena mleka formira na osnovu sadržaja proteina u mleku.

Smanjenje koncentracije proteina u mleku ispod donje fiziološke granice je najviše povezano sa unosom hraniva siromašnim u proteinima, dok je porast koncentracije proteina u mleku udružen sa ishranom bogatom u proteinima.

Veliki broj autora navodi da ukoliko obrok sadrži neadekvatan odnos energije i proteina, sinteza mikrobnih proteina je smanjena, a time i količina aminokiselina dostupnih za sintezu proteina mleka iz ovog izvora, što rezultira sniženjem koncentracije proteina mleka (*Jenkins i McGuire, 2006; Šamanc i sar., 2006; Horvat i sar., 2009*).

Laktoza je specifičan proizvod mlečne žlezde koji se nalazi samo u mleku. To je disaharid sastavljen od glukoze i galaktoze. Glukoza koja je neophodna za sintezu laktoze prelazi direktno iz krvi u ćelije mlečne žlezde. Koncentracija laktoze u mleku krava iznosi 4,70 do 4,90% i zavisi od zdravstvenog stanja mlečne žlezde (*Stojanović i Katić, 2004*). Kod zapaljenja mlečne žlezde dolazi do smanjenja koncentracije laktoze u mleku, a sadržaj ispod 4,69% govori o širokoj rasprostranjenosti mastitisa u zapatu (*Stojanović i Katić, 2004*).

Suva materija bez masti (SMBM) se u proceni kvaliteta mleka smatra jednim od prioritarnih pokazatelja, jer se snižavanje njenog sadržaja najčešće dovodi u vezu sa dodavanjem vode u mleko. Na osnovu brojnih istraživanja izrađene su tablice za orijentacionu procenu dodate vode u mleko (*Kiermeier i Lechner, 1973*). Na količinu SMBM značajno utiče stanje sekretornog epitela mlečne žlezde. Promena njegove funkcije je uslovljena fiziološkim statusom kod životinja (graviditet i polni ciklus), ali najčešće zapaljenskim procesima u mlečnoj žlezdi, tj. mastitisima (*Milohnoja i sar., 1989; Petrović, 1983*). Utvrđeno je da u toku transporta do mlekare koncentracija suve materije bez masti neznatno opada. Istraživanja u vezi s tim su pokazala da mleko posle muže sadrži više od 8,5% suve materije bez masti i da samo kod poremećaja u sekreciji (mastitis) ta vrednost opada (*Petrović, 1983*). Nesumnjivi uzrok niske vrednosti SMBM je dodavanje vode mleku.

Prosečan prinos proteina mleka utvrđen u našim ispitivanjima nije se statistički značajno razlikovao između grupa (1,19±0,15 kg/dan; 1,23±0,14 kg/dan; 1,21±0,19 kg/dan) tokom 90 dana ogleđa. Koncentracija proteina mleka je bila ujednačena u sve tri grupe krava (3,09±0,13%; 3,10±0,10%; 3,10±0,14%), a koncentracija laktoze u I (4,58±0,13%), II (4,60±0,10%) i III grupi (4,49±0,19%), kao i suve materije bez masti I (8,38±0,24%), II (8,39±0,18%) i III grupe krava (8,30±0,24%) nije se statistički značajno razlikovala. U našim istraživanjima, upotreba različitih doza tanina u ishrani visokoproduktivnih krava nije značajno uticala na koncentraciju komponenata mleka (mlečna mast, protein, laktoza, suva materija bez masti). Između ispitivanih grupa su utvrđene razlike u vrednostima ispitivanih parametara, ali te razlike nisu bile signifikantne.

Dobijeni rezultati su u saglasnosti sa istraživanjima *Attia i sar. (2016), Benchaar i sar. (2008)*, a delimično u saglasnosti sa rezultatima do kojih su došli *Allam i sar. (2013), Aguerre i sar. (2016), Dey i De (2014), Aguerre i sar. (2010) i Woodvard i sar. (1999)*. *Attia i sar. (2016)* su

utvrdili da dodatak različitih doza komercijalnog preparata sa taninima nije imao značajnog uticaja na mlečnu mast, procenat laktoze i prinos proteina i suve materije bez masti kod krava u ranoj laktaciji. *Benchaar i sar. (2008)* su izvestili da se sastav mleka nije menjao kada se CT dodaju u ishrani mlečnih krava. *Brinkhaus i sar. (2016)*, kao i *Broderick i sar. (2017)* nisu utvrdili značajan uticaj niskih koncentracija tanina na unos hrane, prinos mleka, koncentraciju i sastav proteina, koncentraciju azota, prinos laktoze, koncentraciju masti i promene profila masnih kiselina u mleku.

Waghorn (2008) navodi da je fiziološki status životinje jedan od faktora koji određuje reakciju preživara na ishranu koja sadrži kondenzovane tanine. U istraživanjima sprovedenim na jagnjadima (*Niezen i sar., 1998; Ramirez-Restrepo i sar., 2005*), muznim ovcama i kravama (*Wang i sar., 1996; Woodvard i sar., 2004*) je utvrđeno da su životinje sa većim potrebama za proteinima sposobne da odgovore na povećanje proteina u ishrani i time poboljšaju proizvodne osobine, kao odgovor na višak amino kiselina (*Barry i Manley, 1984*). *Wang i sar. (1996)* su ustanovili da veća dostupnost amino kiselina, posebno metionina, lizina i aminokiselina sa razgranatim lancima, mogu povećati sintezu mlečnih proteina i laktoze procesom glukoneogeneze, što rezultira povećanjem ukupne proizvodnje mleka.

Pored fiziološkog statusa životinje, količina tanina u ishrani, kao i kvalitet ishrane utiču na proizvodne osobine životinja. Unos do 50 g CT/kg suve materije doprinosi većoj raspoloživosti resorbovanih aminokiselina (*Min i sar., 2003*). Dodavanje kondenzovanih tanina u kombinaciji sa ishranom lošeg kvaliteta šteti proizvodnim osobinama životinja (*Waghorn, 2008*). Kod životinja koje konzumiraju obroke sa većim sadržajem vlakana, energija je prvi ograničavajući faktor za učinak tanina, jer ova vrsta ishrane dovodi do niskog prinosa isparljivih masnih kiselina. Dodavanje kondenzovanih tanina u ishranu može doprineti smanjenju svarljivosti vlakana zbog inhibicije bakterija koje vrše razgradnju vlakana, pa će svako povećanje resorpcije aminokiselina doprineti pre svega uspostavljanju energetskeg balansa u organizmu, a ne sintezi proteina (*Waghorn, 2008*).

Rezultati naših ispitivanja nisu u saglasnosti sa autorima koji navode da upotreba tanina u ishrani dovodi do značajnog smanjenja ili povećanja koncentracije komponenata mleka. *Wang i sar. (1996)* su sredinom i krajem laktacije kod ovaca u čijoj je ishrani bio zastupljen žuti zvezdan (*Lotus corniculatus*) u količini od 44,5 g/kg TM CT, u odnosu na ovce kojima je dodat polietilen glikol za inaktivaciju tanina, ustanovili povećanu proizvodnju proteina i laktoze, kao i smanjenje sadržaja masti u mleku. Ovo povećanje koncentracije proteina se može objasniti većom raspoloživošću aminokiselina u crevima, posebno metionina i lizina. Veća koncentracija laktoze se može objasniti većim snabdevanjem glukozom. Sinteza laktoze u mlečnoj žlezdi najviše se oslanja direktno na glukozu iz krvi i kod preživara glukoneogeneza pretežno se vrši iz propionske kiseline i aminokiselina. Prema tome, veća dostupnost aminokiselina bi doprinela većoj sintezi glukoze. Ovi autori su ukazali da se povećanje koncentracije laktoze dešava bez promene odnosa isparljivih masnih kiselina, čime je potvrđeno da nastaje usled delovanja tanina. Smanjenje koncentracije masti je pripisano efektu razblaživanja, kako se koncentracija laktoze i proteina povećavala. Razlog za ove efekte mogao bi biti povećanje snabdevanja proteinima zbog vezivanja proteina sa kondenzovanim taninima (*Patra i Saxena, 2011*), jer su efekti tanina na produktivnost preživara zavisili od kvaliteta i količine proteina u ishrani. *Woodvard i sar. (1999)* navode da se sadržaj proteina mleka povećao sa administriranjem tanina u ishrani kod mlečnih krava.

Aguerre i sar. (2010) su izvestili da se koncentracija mlečne masti povećala kada se kondenzovani tanini dodaju u količini od 0,45% suve materije hrane, dok je dodavanje CT u količini od 1,8% suve materije hrane smanjilo prinos proteina mleka.

Dey i De (2014) su utvrdili značajno ($p < 0,05$) povećanje sadržaja mlečne masti kod životinja hranjenih CT. Povećana mlečna mast i dnevni prinos mleka su imali aditivno značajan ($p < 0,01$) pozitivan efekat na prinos 4% korigovanog mleka kod krava kojima su dodavani CT. Poboljšanje u proizvodnji mleka pomoću dejstva CT može se objasniti povećanjem snabdevanja aminokiselina na nivou tkiva usled zaštite proteina u ishrani (*Garg i sar., 2005; Dey i sar., 2008*). Posebno metionin igra značajnu ulogu kao metil donor tokom sinteze mlečne masti, a takođe je i prekursor komponenti fosfolipida za sintezu holina (*Sharma i sar., 1988*). Upotreba listova *Ficus*

bengalensis obezbeđuje dodatne isparljive masne kiseline neophodne za sintezu mlečne masti kod krava u laktaciji, kako su u svojim istraživanjima izvestili *Wanapat i sar. (2000)*.

Allam i sar. (2013) su pratili efekte ishrane travnom vrstom bogatom taninima i lucerkom. Mlečna mast bila je viša ($p < 0,05$) kod ishrane travnom vrstom (*P. antidotale*), dok se koncentracije proteina mleka, laktoze i suve materije bez masti nisu razlikovale između dve grupe. Veći prinos mleka kod krava hranjenih lucerkom može biti zbog bolje iskoristivosti hranjivih materija u digestivnom traktu i povećane vrednosti za neto energiju.

Prema *Grainger i sar. (2009)* prinos mleka, mlečne masti i proteina su smanjeni kod mlečnih krava hranjenih kondenzovanim taninima. *Aguerre i sar. (2016)* su utvrdili trend linearnog smanjenja masti i proteina korigovanog mleka sa povećanjem nivoa tanina u ishrani.

6.3. Reproktivne osobine krava

Postoje brojna istraživanja u svetu, a i kod nas, o upotrebi biljnih ekstrakata u ishrani preživara i njihovom uticaju na reproduktivne osobine. U novije vreme veliki broj istraživanja posvećen je upotrebi tanina i njihovom uticaju na reproduktivne osobine preživara. Cilj svake intenzivne govedarske proizvodnje je da ostvari što veću proizvodnju mleka, uz istovremeno očuvanje zdravlja i reproduktivnog potencijala životinja. Samo redovno teljenje krava u intenzivnom mlečnom govedarstvu omogućava rentabilnu i isplativu proizvodnju. U suprotnom, opstanak farme i isplativost proizvodnje mogu biti dovedeni u pitanje. Iz tog razloga, posebno je važno smanjiti, što je moguće više, trajanje servis perioda kod visokoproduktivnih krava, kao i broj utrošenih doza semena po koncepciji, tj. smanjiti ukupne troškove u proizvodnji uz maksimalnu dobit. Ova dva parametra su veoma važna i moraju se pratiti kao pouzdan pokazatelj reproduktivne efikasnosti kod visokoproduktivnih rasa krava.

Veliki broj faktora utiče na reproduktivni status, redovnost polnog ciklusa, oplodnju jajne ćelije i razvoj embriona (*Caput, 1996*). Ulažu se veliki istraživački naponi u cilju utvrđivanja efekata konzumiranih proteina, odnosno koncentracije uree, na reproduktivne osobine životinja (*Biswajit i sar., 2011; Butler, 2005; Jankowska i sar., 2010*).

Jankowska i sar. (2010) su ispitivali uticaj nivoa uree i proteina u mleku na indekse plodnosti kod krava različite starosti. Niska plodnost utvrđena je kod prvotelki i drugotelki koje su hranjene obrocima deficitarnim u energiji, što ukazuje da ishrana krava treba da bude izbalansirana, jer neadekvatna ishrana dovodi do poremećaja u reprodukciji. Kod krava u trećoj i četvrtoj laktaciji visoki indeksi plodnosti su utvrđeni pri nižim i optimalnim nivoima uree u mleku.

Erlod i Butler (1993) i Erlod i sar. (1993) su izvestili da ishrana krava obrocima sa većom količinom lako razgradivih proteina u buragu povećava koncentraciju uree, menja pH vrednost materice, smanjuje stopu koncepcije i negativno utiče na plodnost, naročito ako je nedovoljno snabdevanje organizma potrebnom količinom energije. Iz tog razloga upotreba nerazgradivog izvora proteina u ishrani krava može omogućiti povećanje proizvodnje mleka i bez štetnih efekata na plodnost.

Utvrđeno je da povećane koncentracije uree u krvi utiču na duže razdoblje do prvog osemenjavanja, kao i na trajanje servis perioda, tj. produžen je broj dana od teljenja do koncepcije. Ovi parametri su posebno izraženi kod krava sa visokom proizvodnjom mleka. *Ferguson i sar. (1993)* su ukazali da su koncentracije uree u krvi veće od 20 mg/dL bile povezane sa sniženim stopama koncepcije kod visokomlečnih krava. Vrednost pH materice kontroliše enzim karboanhidraza, koji je prisutan u mnogim sekretornim epitelima, uključujući i reproduktivni trakt (*Rodriguez-Martinez i sar., 1991*) i deluje u selektivnom transportovanju jona vodonika i bikarbonata (*Swenson, 1991*). *Elrod i Butler (1993) i Elrod i sar. (1993)* su ustanovili da visoka koncentracija uree može da promeni pH vrednost materice menjajući aktivnost karboanhidraze tokom lutealne faze, ali ne i u toku estrusa. Uticaj proteinske ishrane na nivo kalijuma, fosfora i pH vrednost primećen je samo tokom lutealne faze. Iako posledice izmenjenih koncentracija minerala na embrionalnu funkciju nisu poznate, utvrđeno je da smanjenje pH ispod 7,2 (između 6,9 i 7,1) ugrožava embrionalni razvoj (*Edwards i sar., 1998*). S obzirom da je za razvoj embriona potrebno

odgovarajuće okruženje u materici, svaka promena takvog okruženja može uzrokovati povećanu embrionalnu smrtnost. Promene pH vrednosti u materici uzrokovane visokim koncentracijama uree u krvi stvaraju nepogodnu sredinu za razvoj embriona. Iako postoji mnogo pretpostavki kako bi urea mogla uticati na razvoj embriona, rezultati pojedinih istraživanja i analiza nisu potvrdili da su visoke koncentracije uree direktno povezane sa nepravilnim razvojem i smrtnošću embriona (*Biswajit i sar., 2011; Butler, 2005*).

Brojni istraživači navode da visoka koncentracija uree dovodi do smanjenja plodnosti delujući toksično na razvoj jajnika, implantaciju i embrion (*Sinclair i sar., 2000, McEvoy i sar., 1997*). Visoka koncentracija uree ispoljava toksičan efekat na jajovode, matericu i hipotalamo-hipofizno žlezdanu osovinu. *Butler (2005)* je sproveo ispitivanje na goveđim ćelijskim kulturama. Dokazao je da urea dovodi do promene pH vrednost na ćelijama i da dolazi do povećanja sekrecije prostaglandina F_{2α} koji ometa rast i razvoj embriona. Visoka koncentracija uree u krvnoj plazmi može da smanji vezivanje LH na receptore jajnika, što dovodi do smanjenja stope ovulacije i smanjene proizvodnje progesterona. *McEvoy i sar. (1997)* su u ogledu sprovedenom na ovcama došli do zaključka da višak uree utiče na održivost i metabolizam embriona i menja intenzitet razvoja fetusa.

Rezultati radova koji opisuju uticaj tanina na reproduktivne osobine preživara su dosta raznoliki. Uglavnom se smanjenje koncentracije uree u krvi i telesnim tečnostima dovodi u vezu sa uticajem tanina na poboljšanje reproduktivnih osobina preživara. Većina autora smatra da je doza konzumiranih tanina u obroku od presudnog značaja za ispoljavanje njihovih efekata. Zbog toga je neophodno utvrditi tačne doze tanina koje mogu ispoljiti pozitivan efekat na zdravlje i reprodukciju životinja. Takođe, navode da niže doze tanina u obroku ispoljavaju pozitivne efekte, za razliku od visokih doza, koje mogu biti i toksične (*Attia i sar, 2016, Sallam i sar., 2019, Min i sar., 2001*). *Min i sar. (2001)* smatraju da uticaj tanina na reproduktivnu efikasnost potiče od njihove sposobnosti da redukuju koncentraciju amonijaka u rumenu, a posledično i koncentraciju uree u krvi. Takođe, smatraju da niske koncentracije tanina dovode do poboljšanja reproduktivnih osobina, a da visoke koncentracije imaju štetan uticaj na reprodukciju, što je dokazano u eksperimentalnom istraživanju na ovcama.

Rezultati naših istraživanja ukazuju da je trajanje servis perioda kod krava III grupe, koje su konzumirale 40 g Tanimila SCC u obroku iznosilo $145,00 \pm 21,78$ dana i bilo je statistički vrlo značajno niže u poređenju sa I grupom ($233,08 \pm 26,33$ dana) i II grupom krava ($209,54 \pm 32,79$ dana). Utrošak broja doza semena po koncepciji bio je najmanji u III grupi ($2,15 \pm 0,38$ doza) i to je bilo statistički vrlo značajno niže u odnosu na I grupu ($4,00 \pm 0,58$ doza) i II grupu krava ($3,31 \pm 0,48$ doza). Dakle, najveći broj doza semena po koncepciji je utrošen kod grupe krava koja nije konzumirala tanine u hrani, a najmanji u grupi koja je konzumirala maksimalnu preporučenu dnevnu dozu tanina. Ovakvi rezultati mogu se pripisati direktnom delovanju tanina na bolju iskoristivost proteina iz hrane i smanjenje nivoa uree u krvi.

Brojna istraživanja idu u prilog navedenim rezultatima iz naših ispitivanja. Najveći broj dosadašnjih ispitivanja poboljšanje reproduktivnih osobina preživara usled delovanja tanina objašnjava smanjenjem koncentracije uree u krvi i drugim telesnim tečnostima. Povećana koncentracija uree u krvi i telesnim tečnostima deluje negativno na reprodukciju kod domaćih životinja tj. smanjena je koncepcija i povećana stopa embrionalnog mortaliteta, a publikovani su i radovi o toksičnom delovanju uree na zdravstveno stanje mlečnih krava.

Ispaša ovaca sa žutim zvezdanom (*L. corniculatus*) (17 g/kg SM CT) je dovela do povećanja plodnosti ovaca za 25% zbog povećanja stope ovulacije, a potom povećala procenat jagnjenja. Ovo je verovatno u vezi sa povećanim iskorišćenjem proteina hrane (*Min i sar., 1999*). Ovi autori su došli do zaključka da se pozitivni efekti tanina na reprodukciju ispoljavaju kada su životinje u slabijoj telesnoj kondiciji, kao i kada je koncentracija tanina u ishrani niska. Životinje koje su u slabijoj telesnoj kondiciji bolje iskorišćavaju proteine hrane. Pozitivan efekat na reprodukciju pripisuje se smanjenju stope razgradnje proteina u buragu do amonijaka, povećanoj resorpciji esencijalnih aminokiselina, a posebno aminokiselina razgranatog lanca.

Naši rezultati su u saglasnosti sa rezultatima istraživanja do kojih su došli *Kumar i sar. (2010)*. Ovi autori su u svom istraživanju utvrdili pozitivne efekte dodavanja ekstrakta korena *Asparagus racemosus* na reprodukciju krava. Istraživanje su obavili na 20 krava (15 steonih i 5 sveže oteljenih). Pojava estrusa kod krava nakon teljenja praćena je svakodnevno, a 7., 14., 21., 28., 35. i 42. dana po teljenju vršen je pregled uterusa, kako bi se ustanovilo reproduktivno zdravlje krava i stanje uterusa. Kod krava koje su u obroku dobijale ekstrakt korena *Asparagus racemosus* uočena je ranija pojava estrusa u odnosu na krave koje nisu konzumirale preparat. Autori smatraju da je to posledica estrogenih svojstava biljke *Asparagus racemosus* koja podstiču funkciju jajnika i dovode do brže i kompletne involucije materice, a posledično i do ranijeg uspostavljanja estralnog ciklusa kod krava. Krave koje su konzumirale preparat imale su kraći servis period i bolju koncepciju od krava kontrolne grupe, koja nije konzumirala preparat. Ovo može biti posledica antioksidativnog dejstva *Asparagus racemosus* na uterus, što pomaže u procesu začeća. Takođe, povećana koncentracija folikulostimulirajućeg i luteinizirajućeg hormona kod krava koje su konzumirale preparat poboljšava stopu koncepcije. Ovi istraživači su došli i do zaključka da povoljan uticaj dodavanja *Asparagus racemosus* na parametre metaboličkog profila, posebno povećanje koncentracije glukoze i smanjenje koncentracije uree u krvi, dovodi do poboljšanja reproduktivnih karakteristika krava.

Istraživanja *Sallam i sar. (2019)* sprovedena na 30 bivolica u ranom stadijumu laktacije, ukazuju da upotreba preparata na bazi tanina, tokom 10 nedelja, pokazuje delimično pozitivne efekte na reproduktivne osobine. Kod bivolica koje su konzumirale najveću dozu preparata na bazi tanina došlo je do smanjenja trajanja servis perioda i utroška broja doza semena, ali je procenat koncepcije nakon prvog osemenjavanja bio znatno niži u poređenju sa kravama kontrolne grupe i grupe koja je konzumirala polovinu najveće doze preparata sa taninima.

S obzirom na veoma raznolike rezultate o uticaju tanina na reproduktivne osobine preživara, do kojih su došli istraživači, *Sallam i sar. (2019)* smatraju da uticaj tanina na reproduktivne osobine preživara zavisi od doze, izvora i vrste tanina. Zaključili su da tanine treba upotrebljavati sa oprezom, jer je količina tanina u obroku od posebnog značaja za reprodukciju, kao i hemijska struktura tj. vrsta tanina od koje zavise reaktivnost i afinitet prema supstratu. Oni navode da je potrebno sprovesti dalja istraživanja koristeći različite proporcije proteina razgradivog u rumenu i proteina koji nije razgradiv u rumenu, da bi se potvrdili ovi rezultati i utvrdili mehanizmi delovanja kondenzovanih tanina u ishrani preživara. U našem ispitivanju uticaja dodavanja tanina u obroke na reproduktivne osobine krava pokazalo se da je doza konzumiranih tanina u obroku bila od značaja za ispoljavanje pozitivnih efekata na reprodukciju. Krave koje su konzumirale maksimalnu preporučenu dnevnu dozu tanina u obroku su ispoljile bolje parametre u reprodukciji u odnosu na krave koje su konzumirale polovinu preporučene dnevne doze i krave koje nisu konzumirale tanine.

Smith (1991) je u svom istraživanju došao do zaključka da pozitivni efekti tanina na reproduktivne osobine životinja nastaju kao posledica promene telesne mase, kondicije, unosa i apsorpcije proteina iz tankog creva, kao i povećanja koncentracije esencijalnih aminokiselina. Sve to dovodi do povećanja veličine i broja folikula, smanjenja atrezije folikula, kao i povećanja osetljivosti jajnika na dejstvo gonadotropina (*Bellows i sar., 1963, Downing i Scaramuzzi, 1991*).

Rezultati naših ispitivanja nisu u saglasnosti sa rezultatima koje su publikovali *Attia i sar. (2016)*. Ovi autori su utvrdili da je upotreba komercijalnog preparata sa taninima povećala otvorene dane tj. trajanje servis perioda i broj utrošenih doza semena po koncepciji, što je posledično smanjilo stopu koncepcije u odnosu na kontrolnu grupu krava. Krave koje su dobijale 100 i 200 g proizvoda sa taninima povećale su broj otvorenih dana i broj doza po koncepciji, a takođe su smanjile stopu koncepcije u odnosu na kontrolnu grupu krava. Oni smatraju da u budućim istraživanjima treba ispitati uticaj različitih odnosa proteina razgradivih u rumenu i proteina nerazgradivih u rumenu uz dodatak različitih komercijalnih preparata koji sadrže tanine. Takođe, izvestili su da posebnu pažnju treba posvetiti odabiru optimalne doze tanina u obroku, koja će ispoljiti pozitivne efekte na pojedine parametre, bez ispoljavanja negativnih efekata na zdravlje i reprodukciju životinja.

U istraživanju *Naumann i sar. (2017)* može se naći objašnjenje za raznolike rezultate koje upotreba tanina ispoljava na reproduktivne osobine preživara. Veliki problem u proučavanju uticaja tanina na organizam životinja predstavlja velika strukturna raznovrsnost kondenzovanih tanina i njihovo određivanje. Drugi problem koji se javlja prilikom ispitivanja uticaja tanina na organizam je kratkoročnost ispitivanja. To je značajan ograničavajući faktor za upoznavanje interakcije tanina i drugih jedinjenja koja se koriste u ishrani životinja. Ovi autori smatraju da buduća istraživanja treba usmeriti na proučavanje biološke aktivnosti tanina kada su u hrani osim njih prisutni i drugi metaboliti. Treba razviti prediktivne jednačine kojima bi se mogli izračunati efekti tanina kada se u hranivima pored tanina nađu i druga jedinjenja (organske kiseline, terpeni i njihovi derivati, alkaloidi i glikozidi) koja u kombinaciji sa mastima, vlaknima i proteinima imaju bitnu ulogu u ishrani preživara. Jedno od značajnih pitanja je da li su efekti koji nastaju u interakciji tanina sa drugim jedinjenjima aditivni, sinergistički ili antagonistički. Ovo navodi na zaključak da pored doze konzumiranih tanina, uticaj na reproduktivne performanse i zdravstveno stanje zavisi od vrste i strukture tanina, sastava hraniva i interakcije tanina sa drugim sastojcima hrane. Time bi se mogli objasniti dosta raznoliki rezultati uticaja tanina na zdravstveno stanje i reproduktivne karakteristike preživara.

Jorritsma i sar. (2003) su utvrdili negativan uticaj visoke koncentracije uree i amonijaka na reproduktivne osobine krava tokom rane laktacije. Krave sa visokim sadržajem uree u mleku pokazale su smanjenu koncepciju u prvoj laktaciji, ali ne i u narednim laktacijama (*Ferguson i sar., 1993*). Negativni uticaji azota iz uree u mleku na stopu začeca utvrđeni su samo kod krava u prvoj laktaciji, ali takvi efekti nisu pronađeni u drugoj i trećoj laktaciji. U analizama unutar stada, koncentracija azota iz uree u mleku (MUN, milk urea nitrogen) je imala minimalan uticaj na stopu začeca, ali je bila povezana sa većim brojem otvorenih dana tj. trajanjem servis perioda kod krava sa visokom proizvodnjom.

Rajala-Schultz i sar. (2001) su utvrdili da će krave sa koncentracijom azota iz uree u mleku (MUN, milk urea nitrogen) ispod 10 mg/dL gotovo dva i po puta verovatnije biti steone od krava sa koncentracijama azota iz uree u mleku iznad 15,4 mg/dL.

Posle ovulacije i formiranja žutog tela, progesteron stimuliše pretvaranje estradiola u manje aktivne estrogene, inhibira kontrakcije materice, neophodan je za održavanje graviditeta, utiče na imunološke procese između majke i embriona i vrši supresiju mehanizama koji bi mogli dovesti do odbacivanja embriona (*Stojić, 2010*). Količina i izvor proteina mogu uticati na nivo progesterona. *Swanson (1989)* je zabeležio pad progesterona u serumu kada je količina sirovih proteina u obrocima prevazišla potrebu za proteinima razgrađivim u rumenu. Međutim, treba uzeti u obzir izvor proteina, energetski status i starost životinje.

Smanjena proizvodnja ili upotreba glukoze u slučaju visokog sadržaja proteina razgrađivih u buragu, može rezultirati većom upotrebom telesnih rezervi za proizvodnju mleka. Ovo ometanje metabolizma glukoze može uticati na funkciju jajnika (*Staples i sar., 1998*).

Embrionalna smrtnost je ograničavajući faktor uspeha reprodukcije kod goveda. Oviduktalna tečnost pruža nutritivno okruženje za razvoj embriona, olakšava transport i sazrevanje gameta, oplodnju i zato je jonski sastav oviduktalne tečnosti izuzetno važan. Rani embrionalni razvoj zahteva odgovarajuće okruženje u jajovodu i materici. Varijacije u intrauterinom okruženju uzrokovane visokim koncentracijama uree u krvi mogu stvoriti nepovoljne uslove za rani razvoj embriona. Visoke koncentracije uree u krvi kod visokomlečnih krava smanjuju životnu sposobnost embriona kroz efekte na oocyte ili embrion, nedelju dana nakon osemenjavanja (*Rhoads i sar., 2006*).

Kada je koncentracija uree u rasponu od 5,7 do 6,8 mmol/L primećeno je smanjenje stope steonosti kod junica i krava holštajn rase za 30 i 20% (*Elrod i Butler, 1993; Butler i sar., 1996*). Koncentracija uree je povišena u sekretu materice krava koje su hranjene velikim količinama sirovih proteina (*Jordan i sar., 1983*) i u jajovodima i materici ovaca koje su hranjene dodatkom uree (*McEvoy i sar., 1997*).

Verovatno je da unos viška sirovih proteina takođe povećava koncentraciju uree u folikulu, mestu sazrevanja oocita (*Ocon i Hansen, 2003*). *Anderson i Barton (1987)* su sugerisali da

povišenje amonijaka u tkivu povezano sa visokim unosom sirovih proteina može odložiti uklanjanje infektivnih agenasa materice smanjenjem funkcije imunog sistema. Izloženost oocita visokim koncentracijama uree tokom procesa sazrevanja ometa sposobnost embriona formiranih nakon oplodnje da se razvijaju u fazi blastociste (*Ocon i Hansen, 2003*). U stadima sa učestalim reproduktivnim poremećajima, ishrana velikim količinama sirovih proteina koji se lako razgrađuju u rumenu može umanjiti plodnost, osim ako zdravstveni program stada ne predviđa ranu identifikaciju i lečenje problematičnih krava.

Međutim, *Gath i sar. (1999)* su utvrdili da tokom embriotransfera, uprkos koncentraciji uree većoj od 7 mmol/L, ni stopa oplodnje niti stopa preživljavanja zametaka kod junica recipijenata nisu ugroženi. Slično tome, *Kenny i sar. (2001)*, nisu utvrdili štetan uticaj visokog nivoa uree od 25 mmol/L na stopu preživljavanja embriona.

Tamminga (2006) navodi da na reprodukciju mlečnih goveda nepovoljno utiču negativan energetski bilans, kao i mobilizacija masti i proteina. Velika mobilizacija masti štetno utiče na rad jetre zbog nakupljanja neesterifikovanih masnih kiselina dugog lanca i pojave masne jetre. Ukoliko se u organizam unese velika količina lako razgrađivih proteina, koji se najvećim delom razgrade u rumenu, nastaje veća količina amonijaka i uree. Ovi autori smatraju da navedeni metaboliti štetno utiču na reproduktivne osobine i plodnost preživara i to tako što amonijak ometa proces ovulacije, dok urea negativno deluje nakon oplodnje. Urea dovodi do snižavanja pH vrednosti sekreta materice, što uzrokuje poremećaje u rastu i razvoju embriona. Zbog ovoga se preporučuje redukcija lako razgrađivih proteina u ishrani krava na 10% suve materije obroka.

Brojna ispitivanja koja se odnose na uticaj dodavanja tanina iz različitih izvora u obroke preživara na reproduktivnu efikasnost životinja, idu u prilog upotrebi tanina. Ovo se naročito odnosi na trajanje servis perioda odnosno vreme koje protekne od teljenja do koncepcije, kao i na broj utrošenih doza semena po koncepciji i procenat koncepcije. Većina autora je saglasna da pored telesne kondicije životinja i kvaliteta ishrane, vrsta i doza konzumiranih tanina u obroku ima značajnu ulogu u ispoljavanju efekata na reproduktivne parametre preživara, kao i da dalja istraživanja treba usmeriti ka iznalaženju optimalnih doza tanina u obroku.

Upotreba proizvoda Tanimil SCC u ishrani visokomlečnih krava u laktaciji ispoljila je pozitivane efekte na reproduktivne osobine. Minimalna preporučena dnevna doza preparata Tanimil SCC (20 g) smanjila je trajanje servis perioda, dok je broj utrošenih doza semena po koncepciji bio značajno niži ($p < 0,01$) kod krava koje su konzumirale tanine, u odnosu na krave koje u obroku nisu dobile preparat. Vrlo značajno smanjenje trajanja servis perioda i utroška doza semena po koncepciji ($p < 0,01$) utvrđeno je kod krava koje su konzumirale maksimalnu preporučenu dnevnu dozu preparata Tanimil SCC (40 g) u obroku, u odnosu na krave koje nisu dobijale preparat. Dodavanje preparata na bazi tanina, u obroke visokomlečnih krava u laktaciji, može poslužiti kao jedna od potencijalnih strategija za poboljšanje reproduktivne efikasnosti.

Kvalitetna reprodukcija uz istovremeno očuvanje zdravlja i dobrobiti mlečnih krava omogućavaju rentabilnu i uspešnu proizvodnju u intenzivnom mlečnom govedarstvu.

7. ZAKLJUČAK

Na osnovu dobijenih rezultata ispitivanja uticaja dodavanja različitih doza tanina iz kore divljeg kestena, u obroke visokoproduktivnih krava holštajn-frizijske rase, na parametre metaboličkog profila, proizvodne i reproduktivne osobine, može se zaključiti sledeće:

- 1) Prosečna vrednost koncentracije glukoze u krvi oglednih krava bila je u granicama fizioloških vrednosti kod sve tri grupe i kretala se od $2,82 \pm 0,36$ mmol/l u kontrolnoj grupi, do $2,86 \pm 0,24$ mmol/l u grupi krava koja je konzumirala polovinu maksimalne preporučene doze preparata (20g Tanimila SCC). Nisu utvrđene statistički značajne razlike između grupa.
- 2) Najviša prosečna vrednost koncentracije BHBA utvrđena je kod krava I grupe ($0,85 \pm 0,15$ mmol/L), koje nisu konzumirale tanine (kontrolna grupa). Najniža koncentracija BHBA ustanovljena je u krvnom serumu krava III grupe ($0,61 \pm 0,12$ mmol/L), koje su konzumirale maksimalnu preporučenu dozu preparata u obroku (40 g Tanimila SCC), pri čemu je koncentracija glukoze bila približno ista kod sve tri grupe krava, što ukazuje na doznu zavisnost nivoa BHBA od konzumiranih tanina. Utvrđeno je da postoji statistički vrlo značajna razlika ($p < 0,01$) u koncentraciji BHBA između krava I i III grupe, a statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u koncentraciji BHBA između krava II i III grupe.
- 3) Krave I grupe koje nisu dobijale tanine u obroku su imale najnižu prosečnu vrednost ukupnih proteina u krvnom serumu ($69,04 \pm 5,73$ g/L), krave II grupe imale su nešto veću ($73,00 \pm 6,09$ g/L), a najveću krave III grupe ($74,26 \pm 6,07$ g/L), koje su konzumirale maksimalnu preporučenu dnevnu dozu tanina u obroku tokom oglednog perioda. Utvrđene razlike nisu bile statistički značajne.
- 4) Najviša prosečna vrednost koncentracije albumina u krvnom serumu izmerena je kod kontrolne grupe krava ($30,40 \pm 3,88$ g/L), a najniža kod III grupe ($27,06 \pm 3,21$ g/L), koja je dobijala 40 g Tanimila SCC, ali ove razlike nisu statistički značajne.
- 5) U krvnom serumu III grupe krava koje su konzumirale 40 g Tanimila SCC utvrđena je najniža prosečna vrednost koncentracije uree 60. dana ogleđa ($8,52 \pm 1,69$ mmol/L), ali nije bilo statistički signifikantnih razlika u odnosu na kontrolnu grupu ($8,82 \pm 1,26$ mmol/L) i grupu koja je dobijala 20 g Tanimila SCC ($8,87 \pm 1,09$ mmol/L).
- 6) Na kraju oglednog perioda prosečna koncentracija uree u krvnom serumu krava II ($5,19 \pm 0,87$ mmol/L) i III grupe ($4,86 \pm 0,62$ mmol/L) je bila statistički vrlo značajno niža ($p < 0,01$) u odnosu na krave I grupe ($6,67 \pm 0,67$ mmol/L), koje nisu konzumirale tanine u

obroku. Ovo je rezultat konzumiranja preporučene dnevne doze tanina. Konzumacija Tanimila SCC u količini od 40 g/dan dovela je do smanjenja sadržaja uree u krvnom serumu u odnosu na krave koje su konzumirale 20 g Tanimila SCC/dan, ali ta razlika nije bila statistički signifikantna.

- 7) U krvnim serumima I grupe krava, koja nije konzumirala tanine u obroku, zapaža se veoma značajno ($p < 0,01$) smanjenje prosečne koncentracije uree (24,38%) na kraju oglelnog perioda u odnosu na 60. dan oglelna. Kod krava II grupe, koje su konzumirale 20 g Tanimila SCC, prosečna koncentracija uree bila je za 41,49% niža na kraju oglelnog perioda u odnosu na 60. dan oglelna, a to je statistički vrlo značajno ($p < 0,01$). Krave III grupe, koje su konzumirale 40 g Tanimil SCC, imale su za 42,96% nižu prosečnu koncentraciju uree u serumu na kraju oglelnog perioda u odnosu na 60. dan oglelna, što je statistički vrlo značajno ($p < 0,01$). Najveće smanjenje prosečnih vrednosti koncentracije uree utvrđeno je kod II i III grupe krava, odnosno kod krava koje su konzumirale Tanimil SCC u obroku.
- 8) Mada se kondenzovani tanini vezuju za minerale i smanjuju njihovu biološku raspoloživost, dodavanje preporučenih doza Tanimila SCC u obroke mlečnih krava nije imalo negativan uticaj na koncentraciju kalcijuma, fosfora i magnezijuma, s obzirom da su se prosečne vrednosti ovih makroelemenata kretale u okviru fizioloških granica za vrstu i fazu proizvodno-reproduktivnog ciklusa.
- 9) Krave I i II grupe su imale isti prosečan nivo kalcijuma u krvi ($2,64 \pm 0,28$ mmol/L), dok su krave III grupe imale niži prosečan nivo kalcijuma ($2,40 \pm 0,23$ mmol/L). Nisu utvrđene statistički značajne razlike između grupa.
- 10) Nisu utvrđene statistički signifikantne razlike između prosečnih koncentracija fosfora u krvnom serumu kontrolne grupe ($2,14 \pm 0,29$ mmol/L) i oglelnih grupa krava ($2,30 \pm 0,23$ mmol/L i $2,29 \pm 0,14$ mmol/L).
- 11) Između prosečnih vrednosti koncentracije magnezijuma u krvnom serumu kontrolne grupe ($0,92 \pm 0,10$ mmol/L) i oglelnih grupa krava ($0,86 \pm 0,10$ mmol/L i $0,89 \pm 0,11$ mmol/L) nije bilo statistički značajnih razlika.
- 12) Krave koje su u toku oglelnog perioda konzumirale obrok sa taninima, ostvarile su veći prosečan prinos mleka ($39,55 \pm 3,98$ kg/dan i $39,12 \pm 5,86$ kg/dan) u odnosu na krave koje su konzumirale obrok bez dodatka tanina ($38,43 \pm 4,62$). Kod grupe krava koja je unosila 20 g Tanimila SCC dnevno, ovo povećanje iznosi 2,91%, a kod grupe krava kojoj je u obrok dodavano 40 g ovog preparata dnevno, povećanje je bilo za 1,8%.
- 13) Najveća vrednost količine proizvedenog mleka korigovane na sadržaj mlečne masti od 4% je utvrđena kod krava III grupe ($37,84 \pm 5,99$ kg/dan), ali ta vrednost nije bila statistički značajno veća u odnosu na I grupu ($37,40 \pm 6,71$ kg/dan) i II grupu krava ($37,08 \pm 5,00$ kg/dan). Kod II grupe krava registrovan je manji prinos 4 % FCM za 0,86% u odnosu na kontrolnu grupu, dok je III grupa krava imala veći prinos 4 % FCM za 1,16% u odnosu na kontrolnu grupu i za 2,01% u odnosu na grupu koja je konzumirala 20 g Tanimila SCC u obroku.
- 14) Najveći prosečan prinos proteina mleka je bio kod II grupe krava ($1,23 \pm 0,14$ kg/dan), niži kod III grupe krava ($1,21 \pm 0,19$ kg/dan), a najniži kod I grupe krava ($1,19 \pm 0,15$ kg/dan), koje nisu konzumirale tanine u obroku. Nije bilo statistički značajnih razlika između grupa.

- 15) Utvrđeno je da ne postoje statistički značajne razlike u prosečnim koncentracijama mlečne masti I grupe ($3,79 \pm 0,61\%$), II grupe ($3,58 \pm 0,49\%$) i III grupe krava ($3,79 \pm 0,47\%$).
- 16) Koncentracija proteina mleka (%) je bila ujednačena u sve tri grupe krava ($3,09 \pm 0,13\%$; $3,10 \pm 0,10\%$ i $3,10 \pm 0,14\%$) i nisu utvrđene signifikantne razlike između izmerenih vrednosti.
- 17) Nije bilo statistički značajnih razlika u prosečnim vrednostima koncentracije laktoze između krava I ($4,58 \pm 0,13\%$), II ($4,60 \pm 0,10\%$) i III grupe ($4,49 \pm 0,19\%$).
- 18) Suva materija bez masti (SMBM) bila je ujednačena kod sve tri grupe krava i nisu utvrđene statistički značajne razlike između kontrolne grupe krava ($8,38 \pm 0,24\%$) i grupa krava koje su dobijale 20 g ($8,39 \pm 0,18\%$) i 40 g preparata Tanimil SCC ($8,30 \pm 0,24\%$).
- 19) Prosečno trajanje servis perioda kod III grupe krava ($145,00 \pm 21,78$ dana) je bilo statistički vrlo značajno niže ($p < 0,01$) u poređenju sa I ($233,08 \pm 26,33$ dana) i II ($209,54 \pm 32,79$ dana) grupom krava. Nije bilo statistički značajnih razlika u trajanju servis perioda ($p > 0,05$) između krava I i II grupe.
- 20) Najmanji broj doza semena po koncepciji je utrošen u III grupi krava ($2,15 \pm 0,38$ doza), koje su konzumirale maksimalnu preporučenu dozu tanina i to je bilo statistički vrlo značajno niže ($p < 0,01$) u odnosu na I grupu ($4,00 \pm 0,58$ doza) i II grupu krava ($3,31 \pm 0,48$ doza). Najveći broj doza semena po koncepciji ($4,00 \pm 0,58$ doza) utrošen je u grupi koja nije konzumirala tanine, što je u odnosu na II i III grupu bila statistički vrlo značajna razlika ($p < 0,01$). Sa povećanjem količine konzumiranih tanina smanjivao se broj utrošenih doza semena po koncepciji.
- 21) Signifikantno niža koncentracija uree u krvi krava koje su dobijale tanine, može ukazivati na efikasniju iskoristivost proteina hrane i dovesti u vezu sa skraćanjem trajanja servis perioda i smanjenjem broja utrošenih doza semena po koncepciji.
- 22) Na osnovu sprovedenog ispitivanja može se zaključiti da se Tanimil SCC koji sadrži 40% tanina iz kore divljeg kestena, može dodavati u obroke krava u laktaciji. Primena ovog preparata u preporučenoj dnevnoj dozi od 20 do 40 g ispoljava pozitivan efekat na zdravstveno stanje, pojedine parametre metaboličkog profila (BHBA i ureu), proizvodnju mleka i reproduktivne parametre tj. trajanje servis perioda i broj utrošenih doza semena po koncepciji. Nisu utvrđeni nepovoljni efekti primene tanina na ostale biohemijske parametre krvi i hemijski sastav mleka, tako da se ovaj preparat može uspešno koristiti u intenzivnoj proizvodnji mleka u cilju očuvanja zdravlja, proizvodne i reproduktivne efikasnosti visokomlečnih krava.

8. LITERATURA

1. Aerts R. J., Barry T. N., McNabb W. C. (1999): Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. *Agr Ecosyst Environ* 75, 1-12.
2. Aguerre M. J., Wattiaux M. A., Capozzolo M. C., Lencioni P., Cabral C. (2010): Effect of quebracho-chestnut tannin extracts at two dietary crude protein levels on performance and rumen fermentation of dairy cows. *J. Dairy Sci* 93, 445-446.
3. Aguerre M. J., Capozzolo M. C., Lencioni P., Cabral C., Wattiaux M. A. (2016): Effect of quebracho-chestnut tannin extracts at 2 dietary crude protein levels on performance, rumen fermentation, and nitrogen partitioning in dairy cows. *J. Dairy Sci* 99, 4476-4486.
4. Aguirre F. J. O., Medrano A. W., Aguilar G. A. G., Díaz J. A. L., Parrilla E. Á., Rosa L. A., Jimenez A. R. (2015): Hydrolysable tannins; biochemistry, nutritional & analytical aspects and health effects. *Nutr Hosp* 31, 55-66.
5. Aharoni Y., Gilboa N., Silanikove N. (1998): Models of suppressive effect of tannins. Analysis of the suppressive effect of tannins on ruminal degradation by compartmental models. *Anim Feed Sci Tech* 71, 251-267.
6. Allam A. M., Nagadi S. A., Bakhawain A. A., Sallam S. M. A. (2013): Impact of subtropical grass grown in arid region on methane emission, milk yield and composition in dairy cows. *Food Agric Environ* 11, 620-5.
7. Álvarez Del Pino M. C., Frutos P., Hervás G., Gómez A., Giráldez F. J., Mantecón, A. R. (2001): Efecto del contenido de taninos en la degradación ruminal *in vitro* de varios órganos de especies arbustivas. *ITEA, Prod Anim* 22, 355-357.
8. Anderson G. W., Barton B. (1987): Reproductive efficiency: Potential nutrition management interactions. *Proceedings of the New England Feed Dealers Conference*. University of Maine, Orono.
9. Attia M. F. A., Nour El-Din A. N. M., El-Zarkouny S. Z., El-Zaiat H. M., Zeitoun M. M., Sallam S. M. A. (2016): Impact of Quebracho Tannins Supplementation on Productive and Reproductive Efficiency of Dairy Cows. *Open J Anim Sci* 6, 269-88.
10. Austin P. J., Suchar L. A., Robbins C. T., Hagerman A. E. (1989): Tannins-binding proteins in saliva of deer and their absence in saliva of sheep and cattle. *J Chem Ecol* 15, 1335-1347.
11. Bae H. D., McAllister T. A., Yanke J., Cheng K. J., Muir A. D. (1993): Effects of condensed tannins on endoglucanase activity and filter paper digestion by *Fibrobacter succinogenes* S85. *Appl Environ Microb* 59, 2132-2138.
12. Balogun R. O., Jones R. J., Holmes J. H. G. (1998): Digestibility of some tropical browse species varying in tannin content. *Anim Feed Sci Tech* 76, 77-88.
13. Barry T. N., Duncan S. J. (1984): The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 1. Voluntary intake. *Brit J Nutr* 51, 485-491.
14. Barry T. N., Manley T. R. (1984): The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 2. Quantitative digestion of carbohydrate and proteins. *Br J Nutr* 51, 493-504.

15. Barry T. N. (1985): The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 3. Rates of body and wool growth. *Brit J Nutr* 54, 211-217.
16. Barry T. N., McNabb W. C. (1999): The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. *Brit J Nutr* 81, 263-272.
17. Barry T. N., McNeill D. M., McNabb W. C. (2001): Plant secondary compounds; their impact on nutritive value and upon animal production. São Paulo, Brasil, 445-452.
18. Bauman D. E. Griinari J. M. (2003): Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Anu Rev Nutr* 23, 203-207.
19. Beauchemin K. A., Kreuzer M., O'Mara F., McAllister T. A. (2008): Nutritional management for enteric methane abatement: a review. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 48, 21-27.
20. Bellows R. A., Pope A. L., Meyer R. K., Chapman A. B., Casida L. E. (1963): Physiological Mechanisms in Nutritionally-Induced Differences in Ovarian Activity of Mature Ewes. *Journal of Animal Science* 22, 93-100.
21. Ben Salem H., Nefzaoui A., Ben Salem L., Tisserand J. L. (1999): Different means of administering polyethylene glycol to sheep: effect on the nutritive value of *Acacia cyanophylla* Lindl. foliage. *Anim Sci* 68, 809-818.
22. Ben Salem H., Nefzaoui A., Ben Salem L., Tisserand J. L. (2000): Deactivation of condensed tannins an *Acacia cyanophylla* Lindl. foliage by polyethylene glycol in feed blocks. Effect on feed intake, diet digestibility, nitrogen balance, microbial synthesis and growth by sheep. *Livest Prod Sci* 64, 51-60.
23. Ben Salem H., Makkar H. P. S., Nefzaoui A., Hassayoun L., Abidi S. (2005): Benefit from the Association of Small Amounts of Tannin-Rich Shrub Foliage (*Acacia cyanophylla* Lindl.) with Soya Bean Meal Given as Supplements to Barbarine Sheep Fed on Oaten Hay. *Animal Feed Science and Technology* 122, 173-186.
24. Benchaar C., Calsamiglia S., Chaves A. V., Fraser G. R., Colombatto D., McAllister T. A., Beauchemin K. A. (2008): A Review of Plant-Derived Essential Oils in Ruminant Nutrition and Production. *Animal Feed Science and Technology* 145, 209-228.
25. Benchaar C., Chouinard P. Y. (2009): Assessment of the potential of cinnamaldehyde, condensed tannins, and saponins to modify milk fatty acid composition of dairy cows. *J Dairy Sci* 92, 3392-3396.
26. Berhane M. (2000): Studies on Feeding Some Indigenous Galactopietic Feed Supplement on Performance of Crossbred Cows. M.Sc. Thesis Submitted to JNKVV, Jabalpur (MP).
27. Biswajit R., Brahma B., Ghosh S., Pankaj P. K., Mandal G. (2011): Evaluation of milk urea concentration as useful indicator for dairy herd management: A review. *Asian J Anim Vet Adv* 6, 1-19.
28. Bjerre-Harpøth V., Frigens N. C., Thorup V. M., Loresn T., Damgaard B. M., Ingvarsten K. L., Moyes K. M. (2012): Metabolic and production profiles of dairy cows in response to decreased nutrient density to increase physiological imbalance at different stages of lactation. *J Dairy Sci* 95, 5, 2362-2382.
29. Blanchard T., Ferguson J., Love L., Takeda T., Henderson B., Hasler J., Chalupa W. (1990): Effect of Dietary Crude-Protein Type on Fertilization and Embryo Quality in Dairy Cattle. *American Journal of Veterinary Research* 51, 905-908.
30. Blauwiel R., Kincaid R. L. (1986): Effect of crude protein and solubility on performance and blood constituents of dairy cows. *J Dairy Sci* 69, 2091-2098.
31. Blood C. D. (1994): Pocket Companion of Veterinary Medicine. Chapter VII. Baillere Tindall, ISBN 0-7020-1695-0.
32. Blum J. W., Kunz P., Leuneberger H., Gautschi K., Keller N. (1983): Thyroid hormones, blood plasma metabolites and haematological parameters in relationship to milk yield in Dairy cows. *Animal Prod* 36, 39-104.

33. Blytt H. J., Guscar T. K., Butler L. G. (1988): Antinutritional effects and ecological significance of dietary condensed tannins may not be due to binding and inhibiting digestive enzymes. *J Chem Ecol* 14, 1455-1465.
34. Bode M. L., Gilbert R. O, Butler W. R. (2001): Effects of high plasma urea nitrogen levels on bovine embryo quality and development. *J Dairy Sci* 84, 1, 116. Relationships of Dietary Protein and Fertility, 167.
35. Bohluli A., Naserian A., Valizadeh R., Eftekhari F. (2009): The Effect of Pistachio By-Product on Nutrient Apparent Digestibility, Rumination Activity and Performance of M. F. A. Attia et al. 288 Holstein Dairy Cows in Early Lactation. *Journal of Water and Soil Science* 13, 167-179.
36. Brinkhaus A. G., Bee G., Silacci P., Kreuzer M., Dohme-Meier F. (2016): Effect of exchanging *Onobrychis viciifolia* and *Lotus corniculatus* for *Medicago sativa* on ruminal fermentation and nitrogen turnover in dairy cows. *J Dairy Sci* 99, 4384-4397.
37. Broderick G. A, Grabber J. H, Muck R. E, Hymes-Fecht U. C. (2017): Replacing alfalfa silage with tannin-containing birdsfoot trefoil silage in total mixed rations for lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 100, 3548–3562.
38. Bruinenberg M. H., Zom R. L. G., Valk H. (2002): Energy evaluation of fresh grass in the diets of lactating dairy cows. *Neth J Agric Sci* 50, 67–81.
39. Butler, W. R., Calaman, J. J., Beam, S. W. (1996): Plasma and milk urea nitrogen in relation to pregnancy rate in lactating dairy cattle. *J Anim Sci* 74, 858-865.
40. Butler W. R. (2005): Relationship of dietary protein and fertility. *Advances in Dairy Technology* 17, 159-168.
41. Butter N. L., Dawson J. M., Wakelin D., Buttery P. J. (2000): Effect of dietary tannin and protein concentration on nematode infection (*Trichostrongylus colubriformis*) in lambs. *J Agr Sci* 134, 89-99.
42. Canfield, R. W., Sniffen, C. J., Butler, W. R. (1990): Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. *J Dairy Sci* 73, 2342-2349.
43. Caput P. (1996): *Govedarstvo, Celeber d. o. o., Zagreb*
44. Carnovale V., Britten M., Couillard C., Bazinet L. (2015): Impact of calcium on the interactions between epigallocatechin-3-gallate and β -lactoglobulin. *Food Research International* 77, 565-571.
45. Carulla J. E., Kreuzer M., Machmuller A., Hess H. D. (2005): Supplementation of *Acacia mearnsii* tannins decreases methanogenesis and urinary nitrogen in forage-fed sheep. *Aust. J Agric Res* 56, 961–970.
46. Cassar G., Chapeau C., King G. J. (1994): Effects of increased dietary energy after mating on developmental uniformity and survival of porcine conceptuses. *J Anim Sci* 72, 1320-1324.
47. Chalupa W., Sniffen C. J. (1996): Protein and aminoacid nutrition in lactating dairy cattle-today and tomorrow. *Anim Feed Sci Technol* 58, 65–75.
48. Chamorro M. F., Passler T., Joiner K., Poppenga R. H., Bayne J., Walz P. H. (2013): Acute renal failure in 2 adult llamas after exposure to Oak trees (*Quercus* spp.). *The Canadian Veterinary Journal* 54, 61-64.
49. Chiquette J., Cheng K. J., Costerton J. W., Milligan L. P. (1988): Effect of tannins on the digestibility of two isosynthetic strains of birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.) using *in vitro* and *in sacco* techniques. *Can J Anim Sci* 68, 751-760.
50. Cincović M.R, Belić B., Toholj B., Potkonjak A., Stevančević M., Lako B., Radović I. (2011): Metabolic acclimation to heat stress in farm housed Holstein cows with different body condition scores. *African Journal of Biotechnology* 10, 50, 10293-10303.
51. Cozzi G., Ravarotto L., Gottardo F., Stefani A.L., Contiero B., Moro L., Brscic M., Dalvit P. (2011): Short communication: reference values for blood parameters in Holstein dairy cows: effects of parity, stage of lactation, and season of production. *J Dairy Sci* 94, 3895-3901.
52. Crings, E. E., Roffler, R. E. Deitelhoff, D. P. (1991): Response of dairy cows in early lactation to additions of cottonseed meal in alfalfa-based diet. *J Dairy Sci* 74, 2580-2587.

53. Davidović V., Jovetić B., Joksimović-Todorović M., Stojanović B., Lazarević M., Perišić P., Radivojević M., Maletić M., Miletić A. (2019): The effect of tannin supplementation of mid-lactation dairy cows diets on metabolic profile parameters and production characteristics. *Slovenian Veterinary Research* 56, 4, 143-151.
54. De Wit A. A. C., Cesar M. L. F., Kruip T. A. M. (2001): Effect of urea during in vitro maturation on nuclear maturation and embryo development of bovine cumulus-oocyte-complexes. *J Dairy Sci* 84, 1800-1804.
55. Dentinho M. T. P., Belo A. T., Bessa R. J. B. (2014): Digestion, ruminal fermentation and microbial nitrogen supply in sheep fed soybean meal treated with *Cistus ladanifer* L. tannins. *Small Ruminant Research* 119, 57- 64.
56. Devant M., Anglada A., Bach A. (2007): Effects of Plant Extract Supplementation on Rumen Fermentation and Metabolism in Young Holstein Bulls Consuming High Levels of Concentrate. *Animal Feed Science and Technology* 137, 46-57.
57. Dey A., Dutta N., Sharma K., Pattanaik A. K. (2008): Effect of dietary inclusion of *Ficus infectoria* leaves as a protectant of proteins on the performance of lambs. *Small Rum Res* 75, 105–114.
58. Dey A., De P. S. (2014): Influence of Condensed Tannins from *Ficus bengalensis* Leaves on Feed Utilization, Milk Production and Antioxidant Status of Crossbred Cows. *Asian-Australasian J Anim Sci* 27, 342-348.
59. Dijkstra J., Oenema O., Van Groenigen J. W., Spek J. W., Van Vuuren A. M., Bannink A. (2013): Diet effects on urine composition of cattle and N₂O emissions. *Animal* 7, 292.
60. Dillon P., Roche J. R., Shalloo L., Horan B. (2005): Optimising financial returns from grazing in temperate pastures. Pages 131– 147 in *Utilisation of Grazed Grass in Temperate Animal Systems*. Proc. Satellite Workshop, 20th Int. Grassl. Congr. Cork, Ireland. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands.
61. Downing J. A., Scaramuzzi R. J. (1991): Nutrient Effects on Ovulation Rate, Ovarian Function and the Secretion of Gonadotrophic and Metabolic Hormones. *Journal of Reproduction and Fertility* 43, 209-227.
62. Driedger A., Hatfield E. (1972): Influence of tannins on the nutritive value of soybean meal for ruminants. *J Anim Sci* 34, 465-468.
63. Dschaak C. M., Williams C. M., Holt M. S., Eun J. S., Young A. J., Min B. R. (2011): Effects of supplementing condensed tannin extract on intake, digestion, ruminal fermentation, and milk production of lactating dairy cows. *J Dairy Sci* 94, 2508-2519.
64. Ducker M. J., Haggett R. A., Fisher W. J., Morant S. V. (1985): Prediction of energy status in first lactation dairy heifers. *Anim Prod* 41, 167.
65. Dyck G. W. (1991): The effect of postmating diet intake on embryonic and fetal survival, and litter size in gilts. *Can. J. Anim Sci* 71, 675-681.
66. Edmonson A. J., Lean D., Weaver I. D., Farver T., Webster G. (1989): A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J Dairy Sci* 72, 68–78
67. Edwards L. J., Williams D. A., Gardner D. K. (1998): Intracellular pH of the mouse pre-implantation embryo: Amino acids act as buffers of intracellular pH. *Hum Reprod* 13, 3441-3448.
68. Elrod, C. C., Butler, W. R. (1993): Reduction of fertility and alteration of uterine pH in heifers fed excess ruminally degradable protein. *J Anim Sci* 71, 694-701.
69. Elrod, C. C., Van Amburgh, M., Butler, W. R. (1993): Alterations of pH in response to increased dietary protein in cattle are unique to the uterus. *J Anim Sci* 71, 702-706.
70. El-Zarkouny S. Z., Ghobashy H., Nour El-Din A. N. M., Abdel-Gauad E. I., Hassan G. A. (2007): Lambing and Embryonic Mortality Rates in Awassi and Barki Ewes and Their Crosses throughout Three Different Mating Seasons in the West Coastal Region of Egypt. *Alexandria Journal of Agricultural Research* 52, 15-24.

71. Fahey J., Boland M. P., O'Callaghan D. O. (1998): Effects of Dietary Urea on Embryo Development in Superovulated Donor Ewes and on Embryo Survival Following Transfer in Recipient Ewes. Proceedings of the British Society of Animal Science, 182.
72. Ferguson J. D., Chalupa W. (1989): Impact of protein nutrition on reproduction in dairy cows. J. Dairy Sci 72, 746-766.
73. Ferguson, J. D., Galligan, D. T., Blanchard, T., Reeves, M. (1993): Serum urea nitrogen and conception rate: The usefulness of test information. J. Dairy Sci 76, 3742-3746.
74. Ferreira F., Campos W. E., Carvalho A. U., Pires M. F. A., Martinez M. L., Silva M. V. G. B., Verneque R. S., Silva P. F. (2009): Clinical, hematological, biochemical, and hormonal parameters of cattle submitted to heat stress. Arq Bras Med Vet Zootec 61, 769-776
75. Foley W. J., Iason G. R., McArthur C. (1999): Role of secondary metabolites in the nutritional ecology of mammalian herbivores: how far have we come in 25 years? In: Nutritional ecology of herbivores (Jung H.J.G. and Fahey G.C.Jr., eds.). American Society of Animal Science, Illinois (USA), 130-209.
76. Forenbacher S. (1993): Klinička patologija probave i mjene tvari domaćih životinja. Školska knjiga, Zagreb.
77. Fronk T. J., Schultz L. H. (1979): Oral nicotinic acid as a treatment for ketosis. J. Dairy Sci 62, 1804-1807.
78. Frutos P., Hervás G., Giráldez F. J., Fernández M., Mantecón A. R. (2000): Digestive utilization of quebracho- treated soya bean meal in sheep. J Agr Sci 134, 101-108.
79. Frutos P., Hervás G., Ramos G., Giráldez F. J., Mantecón A. R. (2002): Condensed tannin content of several shrub species from a mountain area in northern Spain, and its relationship to various indicators of nutritive value. Anim Feed Sci Tech 95, 215-226.
80. Frutos P., Raso M., Hervás G., Mantecón A. R., Pérez V., Giráldez F. J. (2004): Is there any detrimental effect when a chestnut hydrolyzable tannins extract is included in the diet of finishing lambs? Anim Res 56, 127-136.
81. Gaál T. (2005): Sindrom masne jetre krava. IV simpozijum: "Ishrana, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda", 27.09.-01.10.2005., Subotica. Zbornik radova "Etiopatogeneza i dijagnostika poremećaja metabolizma i reprodukcije goveda", 163-168.
82. Gafaar H. M. A., Mohi El-Din A. M. A., El-Riedy K. F. A. (2010): Productive and reproductive performance of Friesian cows under different feeding system. Report and Opinion 2, 10, 33-40.
83. Gamst O., Try K. (1980): Determination of serum-phosphate without deproteinaza ultraviolet spectrophotometry of the phosphomolybdic acid complex. Scan J Clin Lab Invest 40, 483-486.
84. Garg S. K., Makkar H. P. S., Nagal K. B., Sharma S. K., Wadhwa D. R., Singh B. (1992): Oak (*Quercus incana*) leaf poisoning in cattle. Veterinary and Human Toxicology 34, 161-164.
85. Garg M. R., Sherasia P. L., Bhandari B. M., Gulati S. K., Scot T. W. (2005): Effect of feeding rumen protected protein on milk production in low yielding crossbred cows. Anim Nutr Feed Technol 5, 1-18.
86. Gath V. P., Lonergan P., Boland M. P., O'Callaghan D. (1999): Effect of diet type on establishment of pregnancy and embryo development in heifers. Theriogenology 51, 224-224.
87. Gath V. P., Crowe M. A., O'Callaghan D., Boland M. P., Duffy P., Lonergan P., Mulligan F. J. (2012): Effects of diet type on establishment of pregnancy and embryo development in beef heifers. Anim Reprod Sci 133, 139-45.
88. Getachew G., Makkar H. P. S., Becker K. (2000): Effect of Polyethylene Glycol on in Vitro Degradability of Nitrogen and Microbial Protein Synthesis from Tannin-Rich Browse and Herbaceous Legumes. British Journal of Nutrition 84, 73-83.
89. Ghaffari M. H., Tahmasbi A., Khorvash M., Naserian A. A., Vakili A. R. (2014): Effects of Pistachio By-Products in Replacement of Alfalfa Hay on Ruminal Fermentation, Blood Metabolites, and Milk Fatty Acid Composition in Saanen Dairy Goats Fed a Diet Containing Fish Oil. Journal of Applied Animal Research 42, 186-193.

90. Gholizadeh H., Naserian A. A., Valizadeh R., Tahmasebi, A. (2010): Effect of Feeding Pistachio Byproduct on Performance and Blood Metabolites in Holstein Dairy Cows. *International Journal of Agriculture and Biology* 12, 867-870.
91. Gilbert R.O., Shin S. T., Rabuffo T. S., Chandler S. K. (1996): An *in vitro* model for the study of bovine endometrial physiology and pathophysiology. *Proceedings of the 13th International Congress on Animal Reproduction*, June 30-July 4, Sydney, Australia, 2-10.
92. Gilboa N., Perevolotsky A., Landau S., Nitsan Z., Silanikove N. (2000): Increasing productivity in goats grazing Mediterranean woodland and scrubland by supplementation of polyethylene glycol. *Small Ruminant Res* 38, 183-190.
93. Giner-Chávez B. I. (1996): Condensed tannins in tropical forages. Doctoral Thesis. Cornell University. Ithaca, NY, USA.
94. Girard M., Dohme-Meier F., Wechsler D., Goy D., Kreuzer M., Bee G. (2016): Ability of three tanniferous forage legumes to modify quality of milk and Gruyere-type cheese. *J. Dairy Sci* 99, 205–220.
95. Gladine C., Morand C., Rock E., Gruffat D., Bauchart D., Durand D. (2007a): The antioxidative effect of plant extracts rich in polyphenols differs between liver and muscle tissues in rats fed n-3 PUFA rich diets. *Animal Feed Science and Technology* 139, 257-272.
96. Gladine C., Rock E., Morand C., Bauchart D., Durand D. (2007b): Bioavailability and antioxidant capacity of plant extracts rich in polyphenols, given as a single acute dose, in sheep made highly susceptible to lipoperoxidation. *British Journal of Nutrition* 98, 691-701.
97. Goel G., Makkar H. S. (2012): Methane mitigation from ruminants using tannins and saponins. *Tropical Animal Health and Production* 44, 729-739.
98. Goff J. P. (2008): The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Veterinary Journal* 176, 50-57.
99. Gornall A. G., Bardawill C. J., David M. M. (1949): Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *Journal of Biological Chemistry* 177, 2, 751-766.
100. Grainger C., Clarke T., Auldred M. J., Beauchemin K. A., McGinn S. M., Waghorn G. C. (2009): Potential Use of *Acacia mearnsii* Condensed Tannins to Reduce Methane Emissions and Nitrogen Excretion from Grazing Dairy Cows. *Canadian Journal of Animal Science* 89, 241-251.
101. Gravador R. S., Luciano G., Jongberg S., Bognanno M., Scerra M., Andersen M. L., Lund M. N., Priolo A. (2015): Fatty acids and oxidative stability of meat from lambs fed carob-containing diets. *Food Chemistry* 182, 27-34.
102. Grubić G., Adamović M., Koljajić V., Đorđević N. (1999): Ishrana krava i ocena telesne kondicije. XIII Savetovanje agronoma, veterinara i tehnologa. *Zbornik naučnih radova* 5, 1, 447–456, INI PKB Agroekonomik, Aranđelovac.
103. Grubić G., Adamović M. (2003): Ishrana visokoproduktivnih krava. Institut PKB Agroekonomik. Beograd.
104. Grünwaldt E. G., Guevara J. C., Estévez O. R., Vicente A., Rousselle H., Alcuten N., Aguerregar D., Stasi C. R. (2005): Biochemical and haematological measurements in beef cattle in Mendoza plain rangelands (Argentina). *Trop. Anim. Health Prod* 37, 527-540.
105. Gurr M.I., Harwood J.L., Frayn K.N. (2002): *Lipid Biochemistry. An Introduction* 5th edn, Oxford, Blacwell Science.
106. Hagerman A. E., Butler L. G. (1981): The specificity of proanthocyanidin- protein interactions. *J Biol Chem* 256, 4494–4497.
107. Hagerman A. E. (1989): Chemistry of tannin-protein complexation., In: *Chemistry and Significance of Condensed Tannins*. Hemingway, R. W., Karchesy, J. J. (Eds.). Springer US, New York, 323-333.
108. Hagerman A. E., Butler L. G. (1991): Tannins and lignins. In: *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites, Vol I: The chemical participants*, (Rosenthal G.A. and Berenbaum M.R., eds.), Academic Press, NY (USA), 355-388.

109. Hagerman A. E., Robbins C. T., Weerasuriya Y., Wilson T. C., McArthur C. (1992): Tannin chemistry in relation to digestion. *J Range Manage* 45, 57-62.
110. Harborne J. B. (1999): An overview of antinutritional factors in higher plants. In: *Secondary plants products. Antinutritional and beneficial actions in animal feeding* (Caygill J.C. and Mueller-Harvey I., eds.). Nottingham Univ Press, UK, 7-16.
111. Harris S. L., Clark D. A., Laboyrie P. J. (1998): Birdsfoot trefoil-An alternative legume for New Zealand dairy pasture. *Proc N Z Grassl Assoc* 60, 99-103.
112. Henke A., Dickhoefer U., Westreicher-Kristen E., Knappstein K., Molkentin J., Hasler M., Susenbeth A. (2017): Effect of dietary Quebracho tannin extract on feed intake, digestibility, excretion of urinary purine derivatives and milk production in dairy cows. *Arch Anim Nutr* 71, 1, 37-53.
113. Herdt T. H. (2000): Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Vet. Clin. North Am. Food Anim Pract* 16, 215-230.
114. Herdt T. H. (2000): Variability characteristics and test selection in herd-level nutritional metabolic profile testing. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 16, 387-403.
115. Hervás G., Frutos P., Serrano E., Mantecón A. R., Giráldez F. J. (2000): Effect of tannic acid on rumen degradation and intestinal digestion of treated soya bean meals in sheep. *J Agr Sci* 135, 305-310.
116. Hervás G., Álvarez Del Pino M. C., Giráldez F. J., Mantecón A. R., Frutos P. (2001): Effect of two types of tannin, in the presence or absence of PEG, on in vitro rumen fermentation in goats. *Proc of the 9th Seminar of the FAO-CIHEAM Sub-Network on sheep and goat nutrition, nutrition and feeding strategies of sheep and goats under harsh climates, Hammamet (Tunisia), 8-10 November. Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie, INRAT (Tunisia), 57.*
117. Hervás G., Frutos P., Giráldez F. J., Mantecón A. R., Álvarez Del Pino M. C. (2003a): Effect of different doses of quebracho tannins extract on rumen fermentation in ewes. *Anim Feed Sci Tech* 109, 65-78.
118. Hervás G., Mandaluniz N., Oregui L. M., Mantecón A. R., Frutos P. (2003b): Evolución anual del contenido de taninos del brezo (*Erica vagans*) y relación con otros parámetros indicativos de su valor nutritivo. *ITEA, Prod Anim* 99A, 69-84.
119. Hervás G., Pérez V., Giráldez F. J., Mantecón A. R., Almar M. M., Frutos P. (2003c): Intoxication of sheep with quebracho tannin extract. *J Comp Pathol* 129, 44-54.
120. Horvat, J., Kirovsk D., Šamanc, H., Dimitrijević B., Kiškarolj F., Bečkei Ž., Kilibarda N. (2009): Procena energetskeg statusa krava sa područja Subotice određivanjem organskih sastojaka mleka. *Zbornik radova XI regionalnog savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja „Clinica Veterinaria 2009“*, Subotica, 19.-21. jun, 2009, 99-101.
121. Hristov A. N., Oh J., Lee C., Meinen R., Montes F., Ott T., Firkins J., Rotz A., Dell C., Adesogan A., Yang W., Tricarico J., Kebreab E., Waghorn G., Dijkstra J., Oosting S. (2013): Mitigation of greenhouse gas emissions in livestock production - A review of technical options for non-CO₂ emissions, In: Gerber, P. J., Henderson, B., Makkar, H. P. S. (Eds.). *FAO Animal Production and Health Paper No. 177*. FAO, Rome, Italy.
122. Hymes-Fecht U. C., Broderick G. A., Muck R. E., Grabber J. H. (2013): Replacing alfalfa or red clover silage with birdsfoot trefoil silage in total mixed rations increases production of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci* 96, 460-469.
123. Iason, G. R., Hartley, S. E., Duncan, A. J. (1993): Chemical composition of *Calluna vulgaris* (Ericaceae): do responses to fertilizer vary with phenological stage? *Biochem Syst Ecol* 21, 315-321.
124. ICAR. International Committee for Animal Recording. *Analytical methods used in milk recording*, 2005.
https://www.icar.org/documents/milk_laboratories_leray/list_analytical_methods_in_milk_recording.pdf

125. Jackson F. S., McNabb W. C., Barry T. N., Foo Y. L., Peters J. S. (1996): The condensed tannin content of a range of subtropical and temperate forages and the reactivity of condensed tannin with ribulose-1,5-*bis*-phosphate carboxylase (Rubisco) protein. *J Sci Food Agr* 72, 483-492.
126. Jankowska M., Sawa A., Neja W. (2010): Effect of Milk urea and protein levels on fertility indices in cows. *Journal of Central European Agriculture* 11, 475-480.
127. Jayanegara A., Leiber F., Kreuzer M. (2012): Meta-analysis of the relationship between dietary tannin level and methane formation in ruminants from in vivo and in vitro experiments. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 96, 365-375.
128. Jenkins T. C., McGuire M. A. (2006): Major advances in nutrition: impact on milk composition. *J. Dairy Sci* 89, 1302-1310.
129. Johnson C. L. (1984): The effect of feeding in early lactation on feed intake, yields of milk, fat and protein, and on live-weight change over one lactation in dairy cows. *J Agric Sci (Camb)*, 103, 629.
130. Jones W. T., Mangan J. L. (1977): Complexes of the condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* scop.) with fraction 1 leaf protein and with submaxillary mucoprotein, and their reversal by polyethylene glycol and pH. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 28, 126-136.
131. Jones G. A., Jakober K. D., Bae H. D., McAllister T. A., Cheng, K. J. (1993): Some Interactions between Condensed Tannins of Forage Legumes. Some Interactions between Condensed Tannins of Forage Legumes, Bovin Serum Albumin, and Five Strains of Proteolytic Rumen Bacteria. *Proceedings of the World Conference on Animal Production* 36, 68-69.
132. Jones G. A., McAllister T. A., Muir A. D., Cheng K. J. (1994): Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. *Appl Environ Microb* 60, 1374-1378.
133. Jordan E. R., Chapman T. E., Holtan D. W., Swanson L. V. (1983): Relation of Dietary Crude Protein to Composition of Uterine Secretions and Blood in High-Producing Postpartum Dairy Cows. *J. Dairy Sci* 66, 1854-1862.
134. Jorritsma. R., Wensing T., Kruip T. A. M., Vos P. L. A. M., Noordhuizen J. P. T. M. (2003): Metabolic changes in early lactation and impaired reproductive performance in dairy cows. *Vet Res* 34, 11-26.
135. Jovanović M. J., Stamatović S., Šamanc H., Radojičić B., Ivanov I., Damnjanović Z., Jonić B., Arsić B., Ranđelović J., Stefanović M., Petković B. (1987): Prilog izučavanju metaboličkog profila krava u visokm graviditetu i pureperijumu. *Veterinarski glasnik* 41, 5, 343-349.
136. Jovanović M., Nikolić B., Savić V., Pavlović O., Anojčić M. (1984): Fiziologija domaćih životinja. Beograd-Zagreb, Zagreb.
137. Jovičin M., Šamanc H., Milovanović A., Kovačević M. (2005): Određivanje telesne kondicije životinja. Zbornik radova IV simpozijuma „Ishrana, reprodukcija i zaštita zdravlja goveda– Etiopatogeneza i dijagnostika poremećaja metabolizma reprodukcije goveda“, Subotica.
138. Joy P. P., Thomas J., Mathew S., Skaria B. P. (2001): Medicinal Plants. In: Bose, T.K., Kabir, J., Das, P. and Joy, P.P., Eds., *Tropical Horticulture*, Naya Prokash, Calcutta, 449-632.
139. Kadyere, C. T., Murphy, M. R., Silanikove, N., Maltz, E. (2002): Heat stress in lactating dairy cows: a review. *Livestock Production Science* 77, 59-91.
140. Kaneko J. J. (1989): *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Fourth Edition, Academic Press, 387-398.
141. Kaneko J. J., Harvey J. W., Bruss M. L. (1997): *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5th Edition, Academic Press, San Diego, California, 932.
142. Kaneko J. J. (2008): Carbohydrate Metabolism and its Diseases. In: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Sixth Edition, Elsevier, London, UK, 45–80.
143. Kenny D. A., Boland M. P., Diskin M. G., Sreenan J. M. (2001): Effect of pasture crude protein and fermentable energy supplementation on blood metabolite and progesterone concentration and embryo survival in heifers. *Anim Sci Abstr* 73, 501-512.

144. Kiermeier D., Lechner E. (1973): Milch und Milcherzeugnisse, Verlag Paul Parey, Berlin-Hamburg, 266-271.
145. Kirovski, D., Šamanc H., Prodanović R. (2012): Procena energetskeg statusa krava na osnovu koncentracije masti, proteina i uree u mleku. Vet glasnik 66, 1-2, 97-110.
146. Koubkova M., Knížková I., Kunc P., Härtlová H., Flusser J., Doležal O. (2002): Influence of high environmental temperatures and evaporative cooling on some physiological, hematological and biochemical parameters in high-yielding dairy cows. Czech J Anim Sci 47, 8, 309-18.
147. Krnić J., Podžo M., Hodžić A., Hamamdžić M., Pašić-Juhas E., Mihaljević M. (2003): Metabolički profil krava u laktaciji i peripartalno. Veterinaria 52, 1-4, 75-86.
148. Kumar R., Singh M. (1984): Tannins: their adverse role in ruminant nutrition. J Agr Food Chem 32, 447-453.
149. Kumar R., Vaithyanathan S. (1990): Occurrence, nutritional significance and effect on animals of tannins in tree leaves. Anim. Feed Sci Technol 30, 21- 23.
150. Kumar S., Mehla R. K., Gupta A. K., Meena R. K. (2010): influence of *Asparagus racemosus* (Shatavari) supplementation during different stage of lactation on estrus behavior and reproductive performance in Karan Fries crossbred cows. Livestock Research for Rural Development 22, 5.
151. Larson S. F., Butler W. R., Currie W. B. (1996): Reduce fertility associated with low progesterone post breeding and increased milk urea nitrogen in lactating cows. J. Dairy Sci 80, 1288-1295.
152. Le Bourvellec C., Renarda C. M. G. C. (2012): Interactions between Polyphenols and Macromolecules: Quantification Methods and Mechanisms. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 52, 213-248.
153. Leinmüller E., Steingass H., Menke K. H. (1991): Tannins in ruminant feedstuffs. Biannual Collection of Recent German Contributions Concerning Development through Animal Research 33, 9-62.
154. Lobley G. E., Connell A., Lomax M. A., Brown D. S., Milne E., Calder A. G., Farningham D. A. H. (1995): Hepatic detoxification of ammonia in the ovine liver: Possible consequences for amino acid catabolism. Br. J. Nutr 73, 667-685.
155. Lopez S., Newbol C. J. (2007): Analysis of methane, In: Makkar, H. P. S., Vercoe, P. E. (Eds.), Measuring methane production from ruminants. FAO, IAEA, Springer, The Netherlands, 1-13.
156. López-Andrés P., Luciano G., Vasta V., Gibson T. M., Biondi L., Priolo A., Mueller-Harvey I. (2013): Dietary quebracho tannins are not absorbed, but increase the antioxidant capacity of liver and plasma in sheep. British Journal of Nutrition 110, 632-639.
157. Lotthammer K. H. (1991): Einfüsse und Folgen unausgeglichener Fütterung auf Gesundheit und Fruchtbarkeit des Milchschrindes. Zbornik radova XX seminara za inovaciju znanja veterinarara, Beograd.
158. Luciano G., Vasta V., Monahan F. J., López-Andrés P., Biondi L., Lanza M., Priolo A. (2011): Antioxidant status, colour stability and myoglobin resistance to oxidation of *longissimus dorsi* muscle from lambs fed a tannin-containing diet. Food Chemistry 124, 1036-1042.
159. Maamouri O., Atti N., Kraiem K., Mahouachi M. (2011): Effects of Concentrate and Acacia cyanophylla Foliage Supplementation on Nitrogen Balance and Milk Production of Grazing Ewes. Livestock Science 139, 264-270.
160. Mabweesh S. J., Galindez J., Kroll O., Arieli A. (2000): The effect of roasting nonlinted whole cottonseed on milk production by dairy cows. J Dairy Sci 83, 2557-2563.
161. Mahrt A., Burfeind O., Heuwieser W. (2014): Effect of time and sampling location on concentrations of β -hydroxybutyric acid in dairy cows. J Dairy Sci 97, 1, 291-298.
162. Makkar H. P. S., Singh B., Dawra R. K. (1988): Effect of tannin-rich oak (*Quercus incana*) on various microbial enzyme activities of the bovine rumen. Brit J Nutr 60, 287-296.

163. Makkar H. P. S., Blümmel M., Becker K. (1995): Formation of complexes between polyvinyl pyrrolidones or polyethylene glycol and tannins, and their implication in gas production and true digestibility in *in vitro* techniques. *Brit J Nutr* 73, 897-913.
164. Makkar H. P. S., Becker K. (1998): Adaptation of cattle to tannins: role of protein-rich proteins in oak-fed cattle. *Anim Sci* 67, 277-281.
165. Makkar H. P. S. (2001): Chemical, protein precipitation and bioassays for tannins, effect and fate of tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tanninrich feeds. Proc of the 9th Seminar of the FAO-CIHEAM sub-network on sheep and goat nutrition, nutrition and feeding strategies of sheep and goats under harsh climates, Hammamet (Tunisia), 8-10 November. Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisie, INRAT (Tunisia), 60.
166. Makkar H. P. S. (2003): Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Ruminant Research* 49, 241-256.
167. Makkar H. P. S., Francis G., Becker K. (2007): Bioactivity of phytochemicals in some lesser-known plants and their effects and potential applications in livestock and aquaculture production systems. *Animal* 1, 1371-1391.
168. Mangan J. L. (1988): Nutritional effects of tannins in animal feeds. *Nutr Res Rev* 1, 209-231.
169. Maruthamuthu M., Kishore S. (1988): Bromocresol green as a new spectrophotometric probe for serum albumins. *Proc. Indian Acad. Sci. (Chem. Sci.)* 100, 6, 525-533.
170. McAllister T. A., Bae H. D., Jones G. A., Cheng K. J. (1994a): Microbial attachment and feed digestion in the rumen. *J Anim Sci* 72, 3004-3018.
171. McAllister T. A., Bae H. D., Yanke L. J., Cheng K. J., Muir A. (1994b): Effect of condensed tannins from birdsfoot trefoil on the endoglucanase activity and the digestion of cellulose filter paper by ruminal fungi. *Can J Microbiol* 40, 298-305.
172. McArthur C., Sanson G. D., Beal A. M. (1995): Salivary proline-rich proteins in mammals: roles in oral homeostasis and counteracting dietary tannin. *J Chem Ecol* 21, 663-691.
173. McEvoy T. G., Robinson J. J., Aitken R. P., Findlay P. A., Robertson I.S. (1997): Dietary excesses of urea influence the viability and metabolism of preimplantation sheep embryos and may affect fetal growth among survivors. *Anim Reprod Sci* 47, 71-90.
174. McLeod M. N. (1974): Plant tannins-Their role in forage quality. *Nutr Abst Rev* 44, 803-812.
175. McMahan L. R., Majak W., McAllister T. A., Hall J. W., Jones G. A., Popp J. D., Cheng K. J. (1999): Effect of sainfoin on *in vitro* digestion of fresh alfalfa and bloat in steers. *Can J Anim Sci* 79, 203-212.
176. McMahan L. R., McAllister T. A., Berg B. P., Majak W., Acharya S. N., Popp J. D., Coulman B. E., Wang Y., Cheng K. J. (2000): A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal fermentation and bloat in grazing cattle. *Can J Plant Sci* 80, 469-485.
177. McSweeney C. S., Kennedy P. M., John A. (1988): Effect of ingestion of hydrolysable tannins in *Terminalia oblongata* on digestion in sheep fed *Stylosanthes hamata*. *Aust J Agr Res* 39, 235-244.
178. McSweeney C. S., Palmer B., McNeill D. M., Krause D. O. (2001): Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Anim Feed Sci Tech* 91, 83-93.
179. Mehansho H., Butler L. G., Carlson D. M. (1987): Dietary tannins and salivary proline rich proteins: 200 *P. Frutos et al. / Span J Agric Res* (2004) 2 (2), 191-202 interactions, induction and defence mechanisms. *Annu Rev Nutr* 7, 423-440.
180. Milohnoja U., Valinger E., Miljković V., Marić I. (1989): Zbornik uvodnih referata i kratkih sadržaja IV simpozijuma o suzbijanju mastitisa radi povećanja proizvodnje i boljeg kvaliteta mleka, Bled, 67-80.
181. Milovanović A., Jovičin M., Šamanc H. (2005): Ocenjivanje telesne kondicije krava holštajn-frizijske rase. *Veterinarska komora Srbije, Beograd*.
182. Min B. R., McNabb W. C., Barry T. N., Kemp P. D., Waghorn G. C., McDonald M. F. (1999): The Effect of Condensed Tannins in *Lotus corniculatus* upon Reproductive Efficiency and

- Wool Production in Sheep during Late Summer and Autumn. *The Journal of Agricultural Science* 132, 323-334.
183. Min B. R., Attwood G. T., McNabb W. C., Barry T. N. (2001): Effect of Condensed Tannins on Proteolytic Bacterial Populations in the Rumen and on Nitrogen Flow to the Abomasum of Sheep. *Journal of Animal Science* 79, 163.
 184. Min B. R., Barry T. N., Attwood G. T., McNabb W. C. (2003): The effect of condensed tannins on the nutrition of ruminants fed fresh temperate forages: a review. *Anim Feed Sci Tech* 106, 3-19.
 185. Min B. R., Hart S. P. (2003): Tannins for suppression of internal parasites. *J Anim Sci* 81, E. Suppl. 2, 102-109.
 186. Mitchel R. G. (2004): Milk Urea Nitrogen Concentration: Heritability and Genetic Correlations with Reproductive Performance and Disease in Holstein Cattle. Master's Thesis. University of Tennessee.
 187. Mohammed N., Ajisaka N., Lila Z. A., Hara K., Mikuni K., Kanda S., Itabashi H. (2004): Effect of Japanese Horseradish Oil on Methane Production and Ruminal Fermentation *in vitro* and in Steers. *Journal of Animal Science* 82, 1839-1846.
 188. Molan A. L., Waghorn G. C., Min B. R., McNabb W. C. (2000): The effect of condensed tannins from seven herbage on *Trichostrongylus colubriformis* larval migration *in vitro*. *Folia Parasitologica* 47, 39-44.
 189. Mole S., Waterman P. G. (1987): Tannic acid and proteolytic enzymes: enzyme inhibition or substrate deprivation? *Phytochemistry* 26, 99-102.
 190. Montossi F. M., Hodgson J., Morris S. T., Risso D. F. (1996): Effects of the condensed tannins on animal performance in lambs grazing Yorkshire fog (*Holcus lanatus*) and annual ryegrass (*Lolium multiflorum*) dominant swards. *Proc N Z Soc Anim Prod* 56, 118-121.
 191. Mueller-Harvey I., McAllan A. B. (1992): Tannins. Their biochemistry and nutritional properties. In: *Advances in plant cell biochemistry and biotechnology*, Vol. 1 (Morrison I.M., ed.). JAI Press Ltd., London (UK), 151-217.
 192. Mueller-Harvey I. (1999): Tannins: their nature and biological significance. In: *Secondary plants products. Antinutritional and beneficial actions in animal feeding* (Caygill J.C. and Mueller-Harvey I., eds.). Nottingham Univ Press (UK), 17-70.
 193. Mueller-Harvey I. (2006): Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *J Sci Food Agric* 86, 2010-2037.
 194. Murdiati T. B., McSweeney C. S., Campbell R. S. F., Stoltz D. S. (1990): Prevention of hydrolysable tannin toxicity in goats fed *Clidemia hirta* by calcium hydroxide supplementation. *J Appl Toxicol* 10, 325-331.
 195. Murdiati T., McSweeney C., Lowry J. (1992): Metabolism in sheep of gallic acid, tannic acid and hydrolysable tannin from *Terminalia oblongata*. *Australian Journal of Agricultural Research* 43, 1307-1319.
 196. Narjisse H., Elhonsali M. A., Olsen J. D. (1995): Effects of oak (*Quercus ilex*) tannins on digestion and nitrogen balance in sheep and goats. *Small Ruminant Res* 18, 201-206.
 197. Naumann H. D., Tedeschi L. O., Zeller W. E., Huntley N. F. (2017): The role of condensed tannins in ruminant animal production: advances, limitations and future directions. *R Bras Zootec* 12, 929-949.
 198. Niezen J. H., Waghorn T. S., Charleston W. A. G., Waghorn G. C. (1995): Growth and gastrointestinal nematode parasitism in lambs grazing either lucerne (*Medicago sativa*) or sulla (*Hedysarum coronarium*) with contains condensed tannins. *J Agr Sci* 125, 281-289.
 199. Niezen J. H., Robertson G. C., Waghorn G. C., Charleston W. A. G. (1998): Production, fecal egg counts and worm burdens of ewe lambs which grazed six contrasting forages. *Vet Parasit* 80, 15-27.
 200. Noworoozy Asl., A. Nazifi S., Rawshan Ghasrodashti A., Olugee A. (2011): Prevalence of subclinical ketosis in dairy cattle in the Southwestern Iran and detection of cutoff point for

- NEFA, and glucose concentration for diagnosis of subclinical ketosis. *Rev Vet Med* 100, 1, 38-43.
201. NRC (2001) Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th Edition, National Academy of Science, Washington DC.
 202. O'Callaghan D., Boland M. P. (1999): Nutritional Effects on Ovulation, Embryo Development and the Establishment of Pregnancy in Ruminants. *Animal Science* 68, 299-314.
 203. O'Donovan L., Brooker J. D. (2001): Effect of hydrolysable and condensed tannins on growth, morphology and metabolism of *Streptococcus gallolyticus* (*S. caprinus*) and *Streptococcus bovis*. *Microbiol* 147, 1025-1033.
 204. Ocon O. M., Hansen P. J. (2003): Disruption of bovine oocytes and preimplantation embryos by urea and acidic pH. *J. Dairy Sci* 86, 1194-1200.
 205. Orešnik A. (2009): Uticaj ishrane na proizvodnju i sastav mleka. zdravstveno stanje i plodnost visokomlečnih krava. Zbornik radova XI regionalnog savetovanja iz kliničke patologije i terapije životinja „Clinica Veterinaria 2009“, Subotica, 19.-21. jun 2009, 27-36.
 206. Orozco-Hernandez J. R., Brisson G. J. (1995): Juice extracted grass pellets and sodium Bicarbonate for cows fed timothy silage of two chop lengths. *J. Dairy Sci* 78, 2415-2423.
 207. Ospina P. A., Nydam D. V., Stokol T., Overton T. R. (2010): Evaluation of nonesterified fatty acids and B-hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. *J. Dairy Sci* 93, 20, 546-554.
 208. Pace V., Settineri D., Catillo G. (1993): Influenza di trattamenti con tannini sulla digestibilità in vitro della farina di soia. *Zootecnia i Nutricion Animali* 19, 73-79.
 209. Patra A. K., Sharma K., Dutta N., Pattanaik A. K. (2003): Response of gravid does to partial replacement of dietary protein by a leaf meal mixture of *Leucaena leucocephala*, *Morus alba* and *Azadirachta indica*. *Anim Feed Sci Technol* 109, 171-182.
 210. Patra A. K., Saxena J. (2011): Exploitation of dietary tannins to improve rumen metabolism and ruminant nutrition. *J Sci Food Agric* 91, 1, 24-37.
 211. Penning P. D., Orr R. J., Treacher T. T. (1988): Responses of Lactating Ewes Offered Fresh Herbage Indoors and When Grazing, to Supplements Containing Differing Protein Concentrations. *Animal Production* 46, 403-415.
 212. Perevolotsky A. (1994): Tannins in Mediterranean woodlands species: lack of response to browsing and thinning. *Oikos* 71, 333-340.
 213. Petrović M. (1983): Prilog rešavanju higijenskih i ekonomskih problema proizvodnje mleka sistematskom kontrolom infekcije mlečne žlezde. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine.
 214. Piluzza G., Sulas L., Bullitta S. (2014): Tannins in forage plants and their role in animal husbandry and environmental sustainability: a review. *Grass and Forage Science* 69, 32-48.
 215. Plumlee K. H., Johnson B., Galey F. D. (1998): Disease in cattle dosed orally with oak or tannic acid. In: Toxic plants and other natural toxicants, (Garland T. and Barr A.C., eds.), CAB International, Wallingford, UK, 549-553.
 216. Pomroy W. E., Hart S. P., Min B. R. (2002): Titration of efficacy of ivermectin and moxidectin against an ivermectin-resistant *Haemonchus contortus* Tannins in Ruminant Nutrition 39 derived from goat in the field. *Journal of Animal Science* 80 ,2, 30.
 217. Radivojević M. (2010): Efekti ishrane proizvodima od soje na proizvodne rezultate visokomlečnih krava. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet.
 218. Radojičić B., Đuričić B., Matarugić D., Kasagić D. (2007): Značaj hematološko-biohemijskih analiza u diferencijalnoj dijagnostici oboljenja visoko-mlečnih krava. 2. Kongres veterinarar Republike Srpske, 24-27 oktobar 2007, Veterinarski žurnal Republike Srpske, 7, 2, 128-133.
 219. Radojičić B. (2013): Opšta klinička dijagnostika kod domaćih papkara, Naučna KMD, Treće dopunjeno izdanje.
 220. Radojičić B., Bojkovski J., Jonić B., Čutuk R. (2014): Bolesti preživara. Univerzitet u Beogradu, Fakultet veterinarske medicine.

221. Raghuvansi S. K., Prasad R., Mishra A. S., Chaturvedi O. H., Tripathi M. K., Misra A. K., Saraswat B. L., Jakhmola R. C. (2007): Effect of Inclusion of Tree Leaves in Feed on Nutrient Utilization and Rumen Fermentation in Sheep. *Bioresource Technology* 98, 511-517.
222. Rajala-Schultz P. J., Saville W. J. A., Frazer G. S., Wittum T. E. (2001): Association between milk urea nitrogen and fertility in Ohio dairy cows. *J. Dairy Sci* 84, 482-489.
223. Ramírez-Restrepo C. A., Barry T. N. (2005a): Alternative temperate forages containing secondary compounds for improving sustainable productivity in grazing ruminants. *Animal Feed Science and Technology* 120, 179-201.
224. Ramírez-Restrepo C. A., Barry T. N., Pomroy W. E., López-Villalobos N., McNabb W. C., Kemp P. D. (2005b): Use of Lotus corniculatus containing condensed tannins to increase summer lamb growth under commercial dryland farming conditions with minimal anthelmintic drench input. *Animal Feed Science and Technology* 122, 197-217.
225. Rasooli A., Nouri M., Khadjeh G. H., Rasekh A. (2004): The influences of seasonal variations on thyroid activity and some biochemical parameters of cattle. *Iranian J Vet Res (University of Shiraz)*, 5 (2): Ser No 1Q 1383
226. Reed J. D. (1995): Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *Journal of Animal Science* 73, 1516-1528.
227. Reist M., Erdin D., Von Euw D., Tschuemperlin K., Leuenberger H., Chilliard Y., Hammon H. M., Morel C., Philipona C., Zbinden Y., Kuenzi N., Blum J. W. (2002): Estimation of energy balance at individual and herd level using blood and milk traits in high-yielding dairy cows. *J Dairy Sci* 85, 3314–3327.
228. Rezaeena A., Naserian A. A., Valizadeh R., Tahmasbi A. (2012): Effect of Using Different Levels of Pistachio By-Products Silage on Composition and Blood Parameters of Holstein Dairy Cows. *African Journal of Biotechnology* 11, 6192-6196.
229. Rhoades D. F. (1979): Evolution of plant chemical defence against herbivores. In: *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites* (Rosenthal G.A. and Janzen D.H., eds.). Academic Press, NY, USA, 3-54.
230. Rhoads M. L., Gilbert R. O., Lucy M. C., Butler W. R. (2004): Effects of urea infusion on the uterine luminal environment of dairy cows. *J. Dairy Sci* 87, 2896-2901.
231. Rhoads M. L., Rhoads R. P., Gilbert R. O., Toole R., Butler W. R. (2006): Detrimental effects of high plasma urea nitrogen levels on viability of embryos from lactating dairy cows. *Anim Reprod Sci* 91, 1-10.
232. Robbins C. T., Hanley T. A., Hagerman A. E., Hjeljord O., Baker D. L., Schartz C. C., Mautz W. W. (1987): Role of tannins in defending plants against ruminants: reduction in protein availability. *Ecology* 68, 98-107.
233. Robertson H. A., Niezen J. H., Waghorn G. C., Charleston W. A. G., Jinlong M. (1995): The effect of six herbage on liveweight gain, wool growth and faecal egg count of parasitised ewe lambs. *Proc N Z Soc Anim Prod* 55, 199-201.
234. Rochfort S., Parker A. J., Dunshea F. R. (2008): Plant bioactives for ruminant health and productivity. *Phytochemistry* 69, 299-322.
235. Rodostitis, O. M., Gay, C. C., Blood, D. C., Hinchkliff, K. W., Constable, P. D. (2007): Rumen acidosis. *Veterinary Medicine* 10, 314–325.
236. Rodriguez-Martinez H., Ekstedt E., Ridderstrale Y. (1991): Histochemical localization of carbonic anhydrase in the female genitalia of pigs during the oestrous cycle. *Acta Anat* 140, 41-47.
237. Ronchi B., Bernabucci U., Lacetera N. G., Nardone A. (1997): Effects of heat stress on metabolic-nutritional status of Holstein cows. *Zoot Nutr Anim* 23, 3-15.
238. Ronchi B., Bernabucci U., Lacetera N. G., Supplizi A. V., Nardone A. (1999): Distinct and common effects of heat stress and restricted feeding on metabolic status of Holstein heifers, *Zoot Nutr Anim* 25, 11–20

239. Roseler A. K., Ferguson J. D., Sniffen C. J., Herrema J. (1993): Dietary protein degradability effects on plasma and milk urea nitrogen and milk nonprotein nitrogen in Holstein cows. *J. Dairy Sci* 76, 525–534.
240. Rouissi H., Atti N., Mahouachi M., Rekik B. (2006): Effet de la complementation azotee sur les performances zootechniques de la chevre locale. *Tropicultura* 24, 111-114.
241. Salem A. Z. M., López S., Ranilla M. J., González J. S. (2013): Short- to medium-term effects of consumption of quebracho tannins on saliva production and composition in sheep and goats. *Journal of Animal Science* 91, 1341-1349.
242. Sallam S. M. A., Attia M. F. A., Nour El-Din A. N. M., El-Zarkouny S. Z., Saber A. M., El-Zaiat H. M., Zeitoun M. M. (2019): Involvement of Quebracho tannins in diet alters productive and reproductive efficiency of postpartum buffalo cows. *Animal Nutrition* 5, 80-86.
243. Sarkar R. B. C., Chauhan U. P. S. (1967): A new method for determining micro quantities of calcium in biological materials. *Anal Biochem* 20, 1, 155-166.
244. Scalbert A., Monties B., Janin G. (1989): Tannins in wood: comparison of different estimation methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 37, 1324-1329.
245. Scalbert A. (1991): Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry* 30, 3875-3883.
246. Schofield P., Mbugua D. M., Pell A. N. (2001): Analysis of condensed tannins: a review. *Anim Feed Sci Tech* 91, 21-40.
247. Schwab C. G. (1995): Protected proteins and amino acids for ruminants. In: *Biotechnology in animal feeds and animal feeding* (Wallace R.J. and Chesson A., eds.). V.C.H. Press, Weinheim (Germany), 115-141.
248. Sharma B. K., Erdman R. A. (1988): Abomasal infusion of choline and methionine with or without 2-amino-2-methyl-1-propanol for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci* 71, 2406–2411.
249. Silanikove N., Nitsan Z., Perevolotsky A. (1994): Effect of a daily supplementation of polyethylene glycol on intake and digestion of tannin-containing leaves (*Ceratonia siliqua*) by sheep. *J Agr Food Chem* 42, 2844-2847.
250. Silanikove N. (2000): The physiological basis of adaptation in goats to harsh environments. *Small Ruminant Res* 35, 181-193.
251. Silanikove N., Perevolotsky A., Provenza, F. D. (2001): Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. *Anim Feed Sci Technol* 91, 69-81.
252. Sinclair K. D., Sinclair L. A., Robinson J. J. (2000): Nitrogen metabolism and fertility in cattle: I. Adaptive changes in intake and metabolism to diets differing in their rate of energy and nitrogen release in the rumen. *J Anim Sci* 78, 2659-2669.
253. Smith J. F. (1988): Influence of Nutrition on Ovulation Rate in the Ewe. *Australian Journal of Biological Sciences* 41, 27-36.
254. Smith J. F. (1991): A Review of Recent Developments on the Effect of Nutrition on Ovulation Rate (the Flushing Effect) with Particular Reference to Research at Ruakura. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 51, 15-23.
255. Sonderman, J. P., Larson, L. L. (1989): Effect of dietary protein and exogenous gonadotropin-releasing hormone on circulating progesterone concentrations and performance of Holstein cows. *J. Dairy Sci* 72, 2179-2183.
256. Spek J. W., Bannink A., Gort G., Hendriks W. H., Dijkstra J. (2013): Interaction between dietary concentration of protein and sodium chloride on milk urea concentration, urinary urea excretion, renal recycling of urea, and urea transfer to the gastro intestinal tract in dairy cows. *J Dairy Sci* 96, 5734–5745.
257. Spier S. J., Smith B. P., Seawright A. A., Norman B. B., Ostrowski S. R., Oliver M. N. (1987): Oak toxicosis in cattle in northern California: clinical and pathologic findings. *J Am Vet Med Assoc* 191, 958-964.
258. SPSS Inc. PASW Statistics 18 software. Demo version of software 2016. https://www.spss.com/Registration/premium/consol056.cfm?%Demo_id=37

259. Staples C.R., Burke J. M., Thatcher W. W. (1998): Influence of supplemental fats of reproductive tissues and performance of lactating cows. *J. Dairy Sci* 81, 856-871.
260. Stojanović L., Katić V. (2004): Higijena mleka. Narodna biblioteka Srbije, Beograd. ISBN 86-82301-53-9. Grafopak, Arandelovac.
261. Stojanović B., Grubić G. (2008): Ishrana preživara. Praktikum. Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet.
262. Stojić V. (2010): Veterinarska fiziologija. V izmenjeno i dopunjeno izdanje. Narodna biblioteka Srbije, Beograd. ISBN 978-86-6021-028-1. Naučna KMD, Beograd.
263. Swanson L. V. (1989): Interaction of nutrition and reproduction. *J. Dairy Sci* 72, 746-766.
264. Swenson E. R. (1991): Distribution and Functions of Carbonic Anhydrase in the Gastrointestinal Tract. In: *The Carbonic Anhydrases: Cellular Physiology and Molecular Genetics*, Dodgson, S.J., R.E. Tashian, G. Gros and N.D. Carter (Eds.). Plenum Press, New York, 265-288.
265. Szczechowiak J., Szkudelska K., Szumacher-Strabel M., Sadkowski S., Kwozdz K., El-Sherbiny M., Kozłowska M., Rodriguez V., Cieslak A. (2018): Blood hormones, metabolic parameters and fatty acid proportion in dairy cows fed condensed tannins and oils blend. *Ann Anim Sci* 18, 155-166.
266. Šamanc H., Damjanović Z., Nikolić J. A., Radojičić B., Anđelković M., Lekić N. (1993): Endokrina regulacija metaboličkih procesa kod krava u graviditetu i laktaciji. *Veterinarski glasnik* 47, 319-327.
267. Šamanc H., Kirovski D., Dimitrijević B., Vujanac I., Damjanović Z., Polovina M. (2006): Procena energetskog statusa krava u laktaciji određivanjem organskih sastojaka mleka. *Veterinarski glasnik* 60, 5-6, 283-297.
268. Šamanc H., Kirovski D., Stojić V., Stojanović D., Vujanac I., Prodanović R., Bojković Kovačević S. (2011): Application of metabolic profile test in prediction and diagnosis of fatty liver in Holstein cows. *Acta Veterinaria. Beograd*, 61, 6, 543-553.
269. Tamminga S. (2006): The effect of the supply of rumen degradable protein and metabolisable protein on negative energy balance and fertility in dairy cows. *Animal Reproduction Science* 96, 227-239.
270. Tavendale M. H., Meagher L. P., Pacheco D., Walker N., Attwood G. T., Sivakumaran S. (2005): Methane production from in vitro rumen incubations with *Lotus pedunculatus* and *Medicago sativa*, and effects of extractable condensed tannin fractions on methanogenesis. *Animal Feed Science and Technology* 123-124, Part 1, 403-419.
271. Terril T. H., Rowan A. M., Douglas G. B., Barry T. N. (1992): Determination of extractable and bound condensed tannin concentrations in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. *J Sci Food Agric* 58, 321-329.
272. Terrill T. H., Waghorn G. C., Woolley D. J., McNabb W. C., Barry T. N. (1994): Assay and digestion of ¹⁴C-labelled condensed tannins in the gastrointestinal tract of sheep. *British Journal of Nutrition* 72, 467-477.
273. Theodoridou K., Aufrère J., Andueza D., Pourrat J., Le Morvan A., Stringano E., Mueller-Harvey I., Baumont R. (2010): Effects of condensed tannins in fresh sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) on in vivo and in situ digestion in sheep. *Animal Feed Science and Technology* 160, 23-38.
274. Tietz N. (1986): *Textbook of Clinical Chemistry*. W.B. Saunders Company. Philadelphia.
275. Tietz N. (2005): *Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*, 4th ed. Burtis CA, ER, Bruns DE. WB Saunders Co.
276. Trinder P. (1969): Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen receptor. *Annual Clinical Biochemistry* 6, 24-27.
277. Turner S. A., Waghorn G. C., Woodward S. L., Thomson N. A. (2005): Condensed tannins in birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) affect the detailed composition of milk from dairy cows. *Proc N Z Soc Anim Sci* 65, 283-289.

278. Umezaki C., Fordney-Settlage D. S. (1975): In Vitro Studies on Cervical Contraception: Use of Urea as Spermicidal Agent. *Contraception*, 12, 465-476.
279. Van Knegsel A. T., Van den Brand H., Dijkstra J., Kemp B. (2007): Effects of dietary energy source on energy balance, metabolites and reproduction variables in dairy cows in early lactation. *Theriogenology* 68, 1, 274-280.
280. Van Soest P. J. (ed.) (1994): *Nutritional ecology of the ruminant*, 2nd ed. Cornell Univ Press. Ithaca, NY, USA, 476.
281. Vasta V., Nudda A., Cannas A., Lanza M., Priolo A. (2008): Alternative feed resources and their effects on the quality of meat and milk from small ruminants. *Animal Feed Science and Technology* 147, 223-246.
282. Vasta V., Luciano G. (2011): The effects of dietary consumption of plant secondary compounds on small ruminants' products quality. *Small Ruminant Research* 101, 150-159.
283. Veličković J. (2013): Hemijska analiza i antioksidativna aktivnost ekstraktata odabranih biljnih vrsta bogatih fenolnim jedinjenjima. Doktorska disertacija. Univerzitet u Nišu, Prirodno-matematički fakultet.
284. Waghorn G. C., Shelton I. D., McNabb W. C. (1994a): Effects of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* on its Tannins and ruminant nutrition 201 nutritive value for sheep. 1. Non-nitrogenous aspects. *J Agr Sci* 123, 99-107.
285. Waghorn G. C., Shelton I. D., McNabb W. C., McCutcheon S. N. (1994b): Effects of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* on its nutritive value for sheep. 2. Nitrogenous aspects. *J Agr Sci* 123, 109-119.
286. Waghorn G. (1996): Condensed tannins and nutrient absorption from the small intestine. Proc of the 1996 Canadian Society of Animal Science Annual Meeting, Lethbridge, Canada (Rode L.M., ed.), 175-194.
287. Waghorn G. C., Reed J. D., Ndlovu L. R. (1999): Condensed Tannins and Herbivore Nutrition. In: Buchanan-Smith, J.G., Bailey, L.D. and McCaughey, P., Eds., *Proceedings of the XVIII International Grasslands Congress*, Association Management Centre, Calgary, Alberta, 153-166.
288. Waghorn G. (2008): Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production-Progress and challenges. *Anim Feed Sci Technol* 147, 116-139.
289. Wallace J. M., Aitken R. P., Cheyne M. A. (1994): Effect of post-ovulation nutritional status in ewes on early conceptus survival and growth in vivo and luteotrophic protein secretion in vitro. *Reprod Fertil Dev* 6, 253-259.
290. Wanapat M., Puramongkon T., Siphuak W. (2000): Feeding of cassava hay for lactating dairy cows. *Asian-Aus J Anim Sci* 13, 478-482.
291. Wang Y., Waghorn G. C., Douglas G. B., Barry T. N., Wilson G. F. (1994): The effects of the condensed tannin in *Lotus corniculatus* upon nutrient metabolism and upon body and wool growth in grazing sheep. *Proc N Z Soc Anim Prod* 54, 219-222.
292. Wang Y., Douglas G. B., Waghorn G. C., Barry T. N., Foote A. G. (1996a): Effect of Condensed Tannins in *Lotus corniculatus* upon Lactation Performance in Ewes. *The Journal of Agricultural Science* 126, 353-362.
293. Wang Y., Waghorn G. C., McNabb W. C., Barry T. N., Hedley M. J., Shelton I. D. (1996b): Effects of condensed tannins in *Lotus corniculatus* upon the digestion of methionine and cysteine in the small intestine of sheep. *J Agr Sci* 127, 413-421.
294. Wang Y., Frutos P., Gruber M. Y., Ray H., McAllister T. A. (2003): Comparison of *in vitro* digestibility of parental and anthocyanin-containing *Lc*-transgenic alfalfa. Proc of the 2003 Canadian Society of Animal Science Annual Meeting. University of Saskatchewan, Saskatoon (Canada). 10-13 June, 27.
295. Wang Y., Majak W., McAllister T. A. (2012): Frothy bloat in ruminants: Cause, occurrence, and mitigation strategies. *Animal Feed Science and Technology* 172, 103-114.

296. Wongdee K., Rodrat M., Teerapornpantakit J., Krishnamra N., Charoenphandhu N. (2019): Factors inhibiting intestinal calcium absorption: hormones and luminal factors that prevent excessive calcium uptake. *The Journal of Physiological Sciences* 69, 683-696.
297. Woodward A. (1988): Chemical Composition of Browse in Relation to Relative Consumption of Species and Nitrogen Metabolism of Livestock in Southern Ethiopia. Ph.D. Dissertation. Cornell University, Ithaca, NY.
298. Woodward S. L., Auldred M. J., Laboyrie P. J., Jansen E. B. L. (1999): Effect of *Lotus corniculatus* and Condensed Tannins on Milk Yield and Milk Composition of Dairy Cows. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 59, 152-155.
299. Woodward S. L., Laboyrie P. J., Jansen E. B. L. (2000): *Lotus corniculatus* and condensed tannins-Effects on milk production by dairy cows. *Asian-australas. J Anim Sci* 13, 521-525.
300. Woodward S. L., Waghorn G. C., Laboyrie P. G. (2004): Condensed tannins in birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus*) reduce methane emissions from dairy cows. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 64, 160-164.
301. Yisehak K., De Boever J. L., Janssens G. P. J. (2014): The effect of supplementing leaves of four tannin-rich plant species with polyethylene glycol on digestibility and zootechnical performance of zebu bulls (*Bos indicus*). *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 98, 417-423.
302. Zhu J., Filippich L. J., Alsalami M. T. (1992): Tannic acid intoxication in sheep and mice. *Res Vet Sci* 53, 280-292.
303. Zucker W. V. (1983): Tannins: does structure determine function? An ecological perspective. *Am Nat* 121, 335-365.

PRILOZI

Prilog 1. Prosečna proizvodnja mleka pre početka ogleda, kg/dan (deskriptivna statistika)

Grupa	Obim uzorka (N)	Prosek (\bar{X})	Standardna devijacija	Standardna greška	Interval pouzdanosti za prosek (95%)		Minimum	Maksimum
					Donja granica	Gornja granica		
I	13	27,6154	3,09673	,85888	25,7440	29,4867	22,00	32,00
II	13	27,9231	2,59684	,72023	26,3538	29,4923	23,00	32,00
III	13	27,5385	2,87563	,79756	25,8007	29,2762	22,00	31,00
Ukupno	39	27,6923	2,79241	,44714	26,7871	28,5975	22,00	32,00

Prilog 2. Prosečna proizvodnja mleka pre početka ogleda, kg/dan (F test)

Variranje	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	F vrednost	Značajnost
Između grupa	1,077	2	,538	,066	,937
Unutar grupa	295,231	36	8,201		
Ukupno	296,308	38			

Prilog 3. Faza laktacije na početku ogleda, dana (deskriptivna statistika)

Grupa	Obim uzorka (N)	Prosek (\bar{X})	Standardna devijacija	Standardna greška	Interval pouzdanosti za prosek (95%)		Minimum	Maksimum
					Donja granica	Gornja granica		
I	13	59,6154	21,23495	5,88952	46,7832	72,4475	26,00	97,00
II	13	58,5385	16,01882	4,44282	48,8584	68,2185	31,00	83,00
III	13	59,3077	17,58970	4,87850	48,6783	69,9370	35,00	87,00
Ukupno	39	59,1538	17,92607	2,87047	53,3429	64,9648	26,00	97,00

Prilog 4. Faza laktacije na početku ogleda, dana (F test)

Variranje	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	F vrednost	Značajnost
Između grupa	8,000	2	4,000	,012	,988
Unutar grupa	12203,077	36	338,974		
Ukupno	12211,077	38			

Prilog 5. OTK na početku ogleda (deskriptivna statistika)

Grupa	Obim uzorka (N)	Prosek (\bar{X})	Standardna devijacija	Standardna greška	Interval pouzdanosti za prosek (95%)		Minimum	Maksimum
					Donja granica	Gornja granica		
I	13	2,9038	,26098	,07238	2,7461	3,0616	2,25	3,25
II	13	2,7885	,26705	,07407	2,6271	2,9498	2,25	3,25
III	13	2,8462	,34669	,09615	2,6367	3,0557	2,25	3,50
Ukupno	39	2,8462	,29028	,04648	2,7521	2,9403	2,25	3,50

Prilog 6. OTK na početku ogleda (F test)

Variranje	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	F vrednost	Značajnost
Između grupa	,087	2	,043	,500	,611
Unutar grupa	3,115	36	,087		
Ukupno	3,202	38			

Prilog 7. OTK na kraju oglednog perioda (deskriptivna statistika)

Grupa	Obim uzorka (N)	Prosek (\bar{X})	Standardna devijacija	Standardna greška	Interval pouzdanosti za prosek (95%)		Minimum	Maksimum
					Donja granica	Gornja granica		
I	13	2,8654	,21926	,06081	2,7329	2,9979	2,50	3,00
II	13	2,7692	,23852	,06615	2,6251	2,9134	2,50	3,00
III	13	2,8269	,18777	,05208	2,7135	2,9404	2,50	3,00
Ukupno	39	2,8205	,21421	,03430	2,7511	2,8900	2,50	3,00

Prilog 8. OTK na kraju oglednog perioda (F test)

Variranje	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	F vrednost	Značajnost
Između grupa	,061	2	,030	,651	,527
Unutar grupa	1,683	36	,047		
Ukupno	1,744	38			

Prilog 9. Koncentracija glukoze na kraju oglednog perioda, mmol/L (deskriptivna statistika)

Grupa	Obim uzorka (N)	Prosek (\bar{X})	Standardna devijacija	Standardna greška	Interval pouzdanosti za prosek (95%)		Minimum	Maksimum
					Donja granica	Gornja granica		
I	13	2,8154	,35867	,09948	2,5986	3,0321	2,29	3,54
II	13	2,8646	,24168	,06703	2,7186	3,0107	2,50	3,29
III	13	2,8423	,29321	,08132	2,6651	3,0195	2,45	3,35
Ukupno	39	2,8408	,29434	,04713	2,7454	2,9362	2,29	3,54

Prilog 10. Koncentracija glukoze na kraju oglednog perioda, mmol/L (F test)

Variranje	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	F vrednost	Značajnost
Između grupa	,016	2	,008	,087	,917
Unutar grupa	3,276	36	,091		
Ukupno	3,292	38			

Prilog 11. Koncentracija BHBA na kraju oglednog perioda, mmol/L (deskriptivna statistika)

Grupa	Obim uzorka (N)	Prosek (\bar{X})	Standardna devijacija	Standardna greška	Interval pouzdanosti za prosek (95%)		Minimum	Maksimum
					Donja granica	Gornja granica		
I	13	,8546	,15376	,04265	,7617	,9475	,68	1,26
II	13	,7531	,12072	,03348	,6801	,8260	,59	,93
III	13	,6131	,11919	,03306	,5411	,6851	,44	,91
Ukupno	39	,7403	,16315	,02613	,6874	,7931	,44	1,26

Prilog 12. Koncentracija BHBA na kraju oglednog perioda, mmol/L (F test)

Variranje	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	F vrednost	Značajnost
Između grupa	,382	2	,191	10,942	,000
Unutar grupa	,629	36	,017		
Ukupno	1,011	38			

Prilog 13. Koncentracija BHBA na kraju oglednog perioda, mmol/L (Tukey test)

(I) Grupa	(J) Grupa	Razlika proseka (I-J)	Standardna greška	Značajnost	Interval pouzdanosti (95%)	
					Donja granica	Gornja granica
I	II	,10154	,05185	,137	-,0252	,2283
	III	,24154(*)	,05185	,000	,1148	,3683
II	I	-,10154	,05185	,137	-,2283	,0252
	III	,14000(*)	,05185	,028	,0133	,2667
III	I	-,24154(*)	,05185	,000	-,3683	-,1148
	II	-,14000(*)	,05185	,028	-,2667	-,0133

Prilog 14. Koncentracija ukupnih proteina na kraju oglednog perioda, g/L (deskriptivna statistika)

Grupa	Obim uzorka (N)	Prosek (\bar{X})	Standardna devijacija	Standardna greška	Interval pouzdanosti za prosek (95%)		Minimum	Maksimum
					Donja granica	Gornja granica		
I	13	69,0415	5,72531	1,58792	65,5818	72,5013	59,78	78,41
II	13	72,9992	6,09037	1,68917	69,3189	76,6796	65,06	83,41
III	13	74,2608	6,06603	1,68241	70,5951	77,9264	64,23	82,86
Ukupno	39	72,1005	6,22566	,99690	70,0824	74,1186	59,78	83,41

Prilog 15. Koncentracija ukupnih proteina na kraju oglednog perioda, g/L (F test)

Variranje	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	F vrednost	Značajnost
Između grupa	192,812	2	96,406	2,711	,080
Unutar grupa	1280,023	36	35,556		
Ukupno	1472,835	38			

Prilog 16. Koncentracija albumina na kraju oglelnog perioda, g/L (deskriptivna statistika)

Grupa	Obim uzorka (N)	Prosek (\bar{X})	Standardna devijacija	Standardna greška	Interval pouzdanosti za prosek (95%)		Minimum	Maksimum
					Donja granica	Gornja granica		
I	13	30,4031	3,88073	1,07632	28,0580	32,7482	24,14	37,89
II	13	28,6577	3,58247	,99360	26,4928	30,8226	23,67	35,76
III	13	27,0562	3,21373	,89133	25,1141	28,9982	22,98	34,18
Ukupno	39	28,7056	3,73998	,59888	27,4933	29,9180	22,98	37,89

Prilog 17. Koncentracija albumina na kraju oglelnog perioda, g/L (F test)

Variranje	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	F vrednost	Značajnost
Između grupa	72,857	2	36,429	2,859	,070
Unutar grupa	458,666	36	12,741		
Ukupno	531,523	38			

Prilog 18. Koncentracija uree 60. dana oglela, mmol/L (deskriptivna statistika)

Grupa	Obim uzorka (N)	Prosek (\bar{X})	Standardna devijacija	Standardna greška	Interval pouzdanosti za prosek (95%)		Minimum	Maksimum
					Donja granica	Gornja granica		
I	13	8,8208	1,25825	,34898	8,0604	9,5811	6,25	11,35
II	13	8,8677	1,09276	,30308	8,2073	9,5280	7,39	11,77
III	13	8,5208	1,68531	,46742	7,5023	9,5392	6,83	12,02
Ukupno	39	8,7364	1,34097	,21473	8,3017	9,1711	6,25	12,02

Prilog 19. Koncentracija uree 60. dana oglela, mmol/L (F test)

Variranje	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	F vrednost	Značajnost
Između grupa	,921	2	,461	,246	,783
Unutar grupa	67,411	36	1,873		
Ukupno	68,332	38			

Prilog 20. Koncentracija uree na kraju oglednog perioda, mmol/L (deskriptivna statistika)

Grupa	Obim uzorka (N)	Prosek (\bar{X})	Standardna devijacija	Standardna greška	Interval pouzdanosti za prosek (95%)		Minimum	Maksimum
					Donja granica	Gornja granica		
I	13	6,6738	,67246	,18651	6,2675	7,0802	5,76	7,90
II	13	5,1915	,86831	,24083	4,6668	5,7163	3,99	6,55
III	13	4,8554	,62174	,17244	4,4797	5,2311	3,93	5,82
Total	39	5,5736	1,06935	,17123	5,2269	5,9202	3,93	7,90

Prilog 21. Koncentracija uree na kraju oglednog perioda, mmol/L (F test)

Variranje	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	F vrednost	Značajnost
Između grupa	24,340	2	12,170	22,923	,000
Unutar grupa	19,113	36	,531		
Ukupno	43,453	38			

Prilog 22. Koncentracija uree na kraju oglednog perioda, mmol/L (Tukey test)

(I) Grupa	(J) Grupa	Razlika proseka (I-J)	Standardna greška	Značajnost	Interval pouzdanosti (95%)	
					Donja granica	Gornja granica
I	II	1,48231(*)	,28579	,000	,7837	2,1809
	III	1,81846(*)	,28579	,000	1,1199	2,5170
II	I	-1,48231(*)	,28579	,000	-2,1809	-,7837
	III	,33615	,28579	,475	-,3624	1,0347
III	I	-1,81846(*)	,28579	,000	-2,5170	-1,1199
	II	-,33615	,28579	,475	-1,0347	,3624

Prilog 23. Poređenje prosečnih koncentracija uree 60. dana ogleda i na kraju oglednog perioda I grupa krava (t test)

Group Statistics					
	Dan ogleda	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
UREAmmol/L	60	13	8.8208	1.25825	.34898
	90	13	6.6738	.67246	.18651

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
UREAmmol/L	Equal variances assumed	1.418	.245	5.426	24	.000**	2.14692	.39569	1.33026	2.96358
	Equal variances not assumed			5.426	18.338	.000	2.14692	.39569	1.31671	2.97714

Prilog 24. Poređenje prosečnih koncentracija uree 60. dana ogleda i na kraju oglednog perioda II grupa krava (t test)

Group Statistics					
	Dan ogleda	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
UREAmmol/L	60	13	8.8677	1.09276	.30308
	90	13	5.1915	.86831	.24083

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
UREAmmol/L	Equal variances assumed	.011	.917	9.496	24	.000**	3.67615	.38711	2.87720	4.47511
	Equal variances not assumed			9.496	22.834	.000	3.67615	.38711	2.87504	4.47727

Prilog 25. Poređenje prosečnih koncentracija uree 60.dana ogleđa i na kraju ogleđnog perioda III grupa krava (t test)

Group Statistics					
	Dan ogleđa	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
UREAmmol/L	60	13	8.5208	1.68531	.46742
	90	13	4.8554	.62174	.17244

Independent Samples Test										
		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
UREAmmol/L	Equal variances assumed	5.755	.025	7.357	24	.000	3.66538	.49821	2.63712	4.69365
	Equal variances not assumed			7.357	15.207	.000**	3.66538	.49821	2.60473	4.72604

Prilog 26. Koncentracija kalcijuma na kraju ogleđnog perioda, mmol/L (deskriptivna statistika)

Grupa	Obim uzorka (N)	Prosek (\bar{X})	Standardna devijacija	Standardna greška	Interval pouzdanosti za prosek (95%)		Minimum	Maksimum
					Donja granica	Gornja granica		
I	13	2,6415	,28481	,07899	2,4694	2,8136	2,17	3,06
II	13	2,6438	,27509	,07630	2,4776	2,8101	2,18	3,04
III	13	2,3992	,23125	,06414	2,2595	2,5390	2,10	2,80
Ukupno	39	2,5615	,28270	,04527	2,4699	2,6532	2,10	3,06

Prilog 27. Koncentracija kalcijuma na kraju ogleđnog perioda, mmol/L (F test)

Variranje	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	F vrednost	Značajnost
Između grupa	,514	2	,257	3,665	,036
Unutar grupa	2,523	36	,070		
Ukupno	3,037	38			

Prilog 28. Koncentracija fosfora na kraju oglednog perioda, mmol/L (deskriptivna statistika)

Grupa	Obim uzorka (N)	Prosek (\bar{X})	Standardna devijacija	Standardna greška	Interval pouzdanosti za prosek (95%)		Minimum	Maksimum
					Donja granica	Gornja granica		
I	13	2,1423	,28986	,08039	1,9671	2,3175	1,53	2,52
II	13	2,3046	,23150	,06421	2,1647	2,4445	1,84	2,62
III	13	2,2946	,14099	,03910	2,2094	2,3798	1,97	2,55
Ukupno	39	2,2472	,23536	,03769	2,1709	2,3235	1,53	2,62

Prilog 29. Koncentracija fosfora na kraju oglednog perioda, mmol/L (F test)

Variranje	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	F vrednost	Značajnost
Između grupa	,215	2	,108	2,049	,144
Unutar grupa	1,890	36	,052		
Ukupno	2,105	38			

Prilog 30. Koncentracija magnezijuma na kraju oglednog perioda, mmol/L (deskriptivna statistika)

Grupa	Obim uzorka (N)	Prosek (\bar{X})	Standardna devijacija	Standardna greška	Interval pouzdanosti za prosek (95%)		Minimum	Maksimum
					Donja granica	Gornja granica		
I	13	,9223	,10321	,02863	,8599	,9847	,74	1,10
II	13	,8638	,09553	,02649	,8061	,9216	,67	1,07
III	13	,8900	,10504	,02913	,8265	,9535	,69	1,11
Ukupno	39	,8921	,10157	,01626	,8591	,9250	,67	1,11

Prilog 31. Koncentracija magnezijuma na kraju oglednog perioda, mmol/L (F test)

Variranje	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	F vrednost	Značajnost
Između grupa	,022	2	,011	1,086	,349
Unutar grupa	,370	36	,010		
Ukupno	,392	38			

Prilog 32. Proizvodnja mleka krava u ogledu, kg/dan (deskriptivna statistika)

Grupa	Obim uzorka (N)	Prosek (\bar{X})	Standardna devijacija	Standardna greška	Interval pouzdanosti za prosek (95%)		Minimum	Maksimum
					Donja granica	Gornja granica		
I	13	38,4269	4,61749	1,28066	35,6366	41,2172	29,40	46,63
II	13	39,5485	3,98467	1,10515	37,1405	41,9564	30,31	45,57
III	13	39,1185	5,85836	1,62482	35,5783	42,6586	29,23	50,49
Ukupno	39	39,0313	4,77536	,76467	37,4833	40,5793	29,23	50,49

Prilog 33. Proizvodnja mleka krava u ogledu, kg/dan (F test)

Variranje	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	F vrednost	Značajnost
Između grupa	8,324	2	4,162	,175	,841
Unutar grupa	858,231	36	23,840		
Ukupno	866,555	38			

Prilog 34. Proizvodnja mleka korigovanog na sadržaj mlečne masti od 4 % krava u ogledu, kg/dan (deskriptivna statistika)

Grupa	Obim uzorka (N)	Prosek (\bar{X})	Standardna devijacija	Standardna greška	Interval pouzdanosti za prosek (95%)		Minimum	Maksimum
					Donja granica	Gornja granica		
I	13	37,3985	6,70615	1,85995	33,3460	41,4509	25,49	51,30
II	13	37,0800	5,00362	1,38775	34,0563	40,1037	28,51	45,11
III	13	37,8385	5,99002	1,66133	34,2187	41,4582	27,92	49,31
Ukupno	39	37,4390	5,79119	,92733	35,5617	39,3163	25,49	51,30

Prilog 35. Proizvodnja mleka korigovanog na sadržaj mlečne masti od 4 % krava u ogledu, kg/dan (F test)

Variranje	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	F vrednost	Značajnost
Između grupa	3,771	2	1,886	,053	,948
Unutar grupa	1270,667	36	35,296		
Ukupno	1274,438	38			

Prilog 36. Prinos proteina mleka krava u ogledu, kg/dan (deskriptivna statistika)

Grupa	Obim uzorka (N)	Prosek (\bar{X})	Standardna devijacija	Standardna greška	Interval pouzdanosti za prosek (95%)		Minimum	Maksimum
					Donja granica	Gornja granica		
I	13	1,1854	,15479	,04293	1,0918	1,2789	,92	1,49
II	13	1,2277	,13875	,03848	1,1438	1,3115	,97	1,45
III	13	1,2138	,18994	,05268	1,0991	1,3286	,86	1,59
Ukupno	39	1,2090	,15924	,02550	1,1574	1,2606	,86	1,59

Prilog 37. Prinos proteina mleka krava u ogledu, kg/dan (F test)

Variranje	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	F vrednost	Značajnost
Između grupa	,012	2	,006	,229	,797
Unutar grupa	,951	36	,026		
Ukupno	,964	38			

Prilog 38. Koncentracija mlečne masti krava u ogledu, % (deskriptivna statistika)

Grupa	Obim uzorka (N)	Prosek (\bar{X})	Standardna devijacija	Standardna greška	Interval pouzdanosti za prosek (95%)		Minimum	Maksimum
					Donja granica	Gornja granica		
I	13	3,7946	,60548	,16793	3,4287	4,1605	2,96	4,67
II	13	3,5777	,49177	,13639	3,2805	3,8749	2,83	4,62
III	13	3,7908	,47081	,13058	3,5063	4,0753	3,04	4,54
Ukupno	39	3,7210	,52219	,08362	3,5518	3,8903	2,83	4,67

Prilog 39. Koncentracija mlečne masti krava u ogledu, % (F test)

Variranje	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	F vrednost	Značajnost
Između grupa	,401	2	,200	,724	,492
Unutar grupa	9,961	36	,277		
Ukupno	10,362	38			

Prilog 40. Koncentracija proteina mleka krava u ogledu, % (deskriptivna statistika)

Grupa	Obim uzorka (N)	Prosek (\bar{X})	Standardna devijacija	Standardna greška	Interval pouzdanosti za prosek (95%)		Minimum	Maksimum
					Donja granica	Gornja granica		
I	13	3,0869	,12757	,03538	3,0098	3,1640	2,83	3,26
II	13	3,1046	,09871	,02738	3,0450	3,1643	2,88	3,22
III	13	3,0985	,13868	,03846	3,0147	3,1823	2,93	3,34
Ukupno	39	3,0967	,11977	,01918	3,0578	3,1355	2,83	3,34

Prilog 41. Koncentracija proteina mleka krava u ogledu, % (F test)

Variranje	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	F vrednost	Značajnost
Između grupa	,002	2	,001	,070	,933
Unutar grupas	,543	36	,015		
Ukupno	,545	38			

Prilog 42. Koncentracija laktoze krava u ogledu, % (deskriptivna statistika)

Grupa	Obim uzorka (N)	Prosek (\bar{X})	Standardna devijacija	Standardna greška	Interval pouzdanosti za prosek (95%)		Minimum	Maksimum
					Donja granica	Gornja granica		
I	13	4,5815	,13278	,03683	4,5013	4,6618	4,35	4,79
II	13	4,5992	,10029	,02781	4,5386	4,6598	4,37	4,76
III	13	4,4938	,18737	,05197	4,3806	4,6071	4,11	4,71
Ukupno	39	4,5582	,14836	,02376	4,5101	4,6063	4,11	4,79

Prilog 43. Koncentracija laktoze krava u ogledu, % (F test)

Variranje	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	F vrednost	Značajnost
Između grupa	,083	2	,041	1,978	,153
Unutar grupa	,754	36	,021		
Ukupno	,836	38			

Prilog 44. Koncentracija suve materije bez masti krava u ogledu, % (deskriptivna statistika)

Grupa	Obim uzorka (N)	Prosek (\bar{X})	Standardna devijacija	Standardna greška	Interval pouzdanosti za prosek (95%)		Minimum	Maksimum
					Donja granica	Gornja granica		
I	13	8,3792	,23984	,06652	8,2343	8,5242	7,98	8,68
II	13	8,3946	,18315	,05080	8,2839	8,5053	7,95	8,69
III	13	8,2992	,23578	,06539	8,1568	8,4417	7,97	8,76
Ukupno	39	8,3577	,21933	,03512	8,2866	8,4288	7,95	8,76

Prilog 45. Koncentracija suve materije bez masti krava u ogledu, % (F test)

Variranje	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	F vrednost	Značajnost
Između grupa	,068	2	,034	,697	,504
Unutar grupa	1,760	36	,049		
Ukupno	1,828	38			

Prilog 46. Servis period krava u ogledu, dana (deskriptivna statistika)

Grupa	Obim uzorka (N)	Prosek (\bar{X})	Stand. devijacija	Stand. greška	Interval pouzdanosti za prosek (95%)		Minimum	Maksimum
					Donja granica	Gornja granica		
I	13	233,0769	26,33268	7,30337	217,1642	248,9896	186,00	285,00
II	13	209,5385	32,79384	9,09537	189,7213	229,3556	167,00	279,00
III	13	145,0000	21,77537	6,03940	131,8413	158,1587	119,00	176,00
Ukupno	39	195,8718	46,16400	7,39216	180,9072	210,8364	119,00	285,00

Prilog 47. Servis period krava u ogledu, dana (F test)

Variranje	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	F vrednost	Značajnost
Između grupa	54066,205	2	27033,103	36,156	,000
Unutar grupa	26916,154	36	747,671		
Ukupno	80982,359	38			

Prilog 48. Servis period krava u ogledu, dana (Tukey test)

(I) Grupa	(J) Grupa	Razlika proseka (I-J)	Standardna greška	Značajnost	Interval pouzdanosti (95%)	
					Donja granica	Gornja granica
I	II	23,53846	10,72503	,086	-2,6767	49,7536
	III	88,07692(*)	10,72503	,000	61,8618	114,2921
II	I	-23,53846	10,72503	,086	-49,7536	2,6767
	III	64,53846(*)	10,72503	,000	38,3233	90,7536
III	I	-88,07692(*)	10,72503	,000	-114,2921	-61,8618
	II	-64,53846(*)	10,72503	,000	-90,7536	-38,3233

Prilog 49. Utrošak broja doza semena krava u ogledu (deskriptivna statistika)

Grupa	Obim uzorka (N)	Prosek (\bar{X})	Standardna devijacija	Standardna greška	Interval pouzdanosti za prosek (95%)		Minimum	Maksimum
					Donja granica	Gornja granica		
I	13	4,0000	,57735	,16013	3,6511	4,3489	3,00	5,00
II	13	3,3077	,48038	,13323	3,0174	3,5980	3,00	4,00
III	13	2,1538	,37553	,10415	1,9269	2,3808	2,00	3,00
Ukupno	39	3,1538	,90433	,14481	2,8607	3,4470	2,00	5,00

Prilog 50. Utrošak broja doza semena krava u ogledu (F test)

Variranje	Suma kvadrata	Stepeni slobode	Sredina kvadrata	F vrednost	Značajnost
Između grupa	22,615	2	11,308	48,109	,000
Unutar grupa	8,462	36	,235		
Ukupno	31,077	38			

Prilog 51. Utrošak broja doza semena krava u ogledu (Tukey test)

(I) Grupa	(J) Grupa	Razlika proseka (I-J)	Standardna greška	Značajnost	Interval pouzdanosti (95%)	
					Donja granica	Gornja granica
I	II	,69231(*)	,19016	,002	,2275	1,1571
	III	1,84615(*)	,19016	,000	1,3813	2,3110
II	I	-,69231(*)	,19016	,002	-1,1571	-,2275
	III	1,15385(*)	,19016	,000	,6890	1,6187
III	I	-1,84615(*)	,19016	,000	-2,3110	-1,3813
	II	-1,15385(*)	,19016	,000	-1,6187	-,6890

Prilog 52. Izvori ilustracija

1. <http://www.valveexpo.com/upload/201607/23/201607231734311756.jpg>
2. <https://chemapps.stolaf.edu/jmol/jmol.php?model=C1>
3. <https://chemapps.stolaf.edu/jmol/jmol.php?model=C1C2C>
4. <https://chemapps.stolaf.edu/jmol/jmol.php?model=COc1cc>
5. <https://chemapps.stolaf.edu/jmol/jmol.php?model=O>
6. <https://chemapps.stolaf.edu/jmol/jmol.php?model=Oc1>
7. <https://chemapps.stolaf.edu/jmol/jmol.php?model=Oc1ccc>
8. https://healthmanagement.org/uploads/product_image/mp_img_185257.jpg.pagespeed.ce.fvsvbGeA8q.jpg

BIOGRAFIJA

Branko (Jovo) Jovetić je rođen 17.03.1982. godine u Beogradu, gde je završio osnovnu i srednju poljoprivrednu školu-smer veterinarski tehničar, kao učenik generacije. Fakultet veterinarske medicine u Beogradu upisao je školske 2001/2002. godine. Diplomirao je 2009. godine sa prosečnom ocenom 8,56 u toku studija. Specijalističke akademske studije na Fakultetu veterinarske medicine upisao je 2010. godine, a 2011. godine odbranio je specijalistički rad pod nazivom: „Korelacija broja somatskih ćelija i kvaliteta mleka na farmama visokomlečnih krava”, sa ocenom 10, na Katedri za higijenu i tehnologiju namirnica animalnog porekla. Užu specijalizaciju iz mikrobiologije namirnica animalnog porekla završio je 2013. godine na Fakultetu veterinarske medicine u Beogradu-Katedra za higijenu i tehnologiju namirnica animalnog porekla.

Od 2009. do 2019. godine radio je u Veterinarskoj stanici PKB, na poslovima zdravstvene zaštite i reprodukcije goveda, a od 2019. godine radi u svojoj veterinarskoj ambulanti u Novoj Pazovi.

Doktorske akademske studije upisao je školske 2014/2015. godine na Poljoprivrednom fakultetu Univerziteta u Beogradu, u Zemunu, studijski program-Poljoprivredne nauke, modul-Zootehnika.

Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora: **Branko J. Jovetić**
Broj indeksa: **ZO 14/34**

Izjavljujem

Da je doktorska disertacija pod naslovom:

**UTICAJ DODAVANJA TANINA U OBROKE NA METABOLIČKI PROFIL,
PROIZVODNE I REPRODUKTIVNE OSOBINE KRAVA HOLŠTAJN-FRIZIJSKE RASE**

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio autorska prava i koristio intelektualnu svojinu drugih lica.

Potpis autora

U Beogradu, 21. 09. 2020. godine

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: **Branko J. Jovetić**

Broj indeksa: **ZO 14/34**

Studijski program: **Poljoprivredne nauke**, modul Zootehnika

Naslov rada:

UTICAJ DODAVANJA TANINA U OBROKE NA METABOLIČKI PROFIL, PROIZVODNE I REPRODUKTIVNE OSOBINE KRAVA HOLŠTAJN-FRIZIJSKE RASE

Mentor: **Dr Vesna Davidović, vanredni profesor**

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao radi pohranjenja u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada. Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

Potpis autora

U Beogradu, 21. 09. 2020. godine

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku "Svetozar Marković" da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom

UTICAJ DODAVANJA TANINA U OBROKE NA METABOLIČKI PROFIL, PROIZVODNE I REPRODUKTIVNE OSOBINE KRAVA HOLŠTAJN-FRIZIJSKE RASE

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima sam predao u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio.

1. Autorstvo (CC BY)
 2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY – NC)
 - ③ Autorstvo – nekomercijalno - bez prerade (CC BY – NC – ND)
 4. Autorstvo – nekomercijalno - deliti pod istim uslovima (CC BY – NC – SA)
 5. Autorstvo - bez prerade (CC BY – ND)
 6. Autorstvo - deliti pod istim uslovima (CC BY – SA)
- (Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci.
Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave.)

Potpis autora

U Beogradu, 21. 09. 2020 godine

1. **Autorstvo.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. **Autorstvo – nekomercijalno.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. **Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. **Autorstvo – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. **Autorstvo – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.