

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА
Датум: 03.11.2014.г.**

Предмет: Извештај комисије о оцени урађене докторске дисертације кандидата мр Јордана Марковића

Одлуком Наставно-научног већа факултета број 290/1-8.4. од 29.10.2014. године именовани смо у Комисију за оцену урађене докторске дисертације мр Јордана Марковића поднете 24.09.2014.г. под насловом “Утицај фенофазе развића на заступљеност лигнина и хранљиву вредност луцерке и црвене детелине”. Пошто смо проучили докторску дисертацију, подносимо следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација мр Јордана Марковића, написана је на 190 страна текста. Текст дисертације укључује и 73 табела, 20 графикона и 265 референци.

Испред основног текста дат је списак скраћеница коришћених у тексту и написан је резиме са кључним речима на српском и енглеском језику. Дисертација се састоји од 10 основних поглавља: 1. Увод (стр.1-3), 2. Основне хипотезе од којих се полази (4). 3. Научни циљ истраживања (стр. 5), 4. Преглед литературе (стр. 6-31), 5. Материјал и методе (стр. 32-45), 6. Резултати и дискусија (стр. 46-162), 7. Закључци (стр. 163-169), 8. Литература (стр. 170-188), 9. Биографија аутора (стр. 189), 10 Прилози: 1. – Изјава о ауторству (стр. 191), Прилог 2. – Изјава о истоветности штапане и електронске верзије докторског рада (стр. 192), Прилог 3. – Изјава о коришћењу (стр. 193).

2. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДИСЕРТАЦИЈЕ

2.1. Увод

Луцерка и црвена детелина, као најважније вишегодишње крмне легуминозе, заузимају значајно место у производњи квалитетне сточне хране. Услед промена у хемијском саставу биљног организма у току његовог развоја, посебно је важно да се правим моментом косидбе, односно почетком испаше или коришћења у зеленом стању усклади принос и хранљивост. Централно место у променама хранљиве вредности крмних биљака игра лигнин који се умрежава са угљеним хидратима и протеинима и чини их резистентним на микробиолошку разградњу у органима за варење преживара. Аутор наводи да су подаци о утицају времена косидбе у различитим фазама зрелости и

различитим откосима о овим хранљивим својствима луцерке и црвене детелина оскудни и да је због тога овај рад посвећен тим факторима.

2.2. Основне хипотезе од којих се полази

Основна хипотеза од које се полази је да у каснијим фазама развића луцерке (*Medicago sativa* L.) и црвене детелине (*Trifolium pratense* L.) долази до повећања удела влакана и лигнина услед чега се смањује њихова сварљивост и хранљива вредност услед утицаја на брзину разлагања и пасаже кроз дигестивни тракт.

2.3. Научни циљ истраживања

Циљ ових истраживања је био да се утврде разлике у садржају лигнина код испитиваних крмних култура у зависности од старости биљака, као и утицај лигнификације ћелијских зидова на сварљивост ових хранива. На основу ових података може да се одреди најповољнији тренутак за испашу или кошење и спремање сена, сенаже и силаже.

2.4. Преглед литературе

2.4.1. Принос суве масе луцерке и црвене детелине

Захтеви домаћих животиња за квалитетнијом крмом, веће хранљиве вредности доводе до промена схватања у одређивању времена кошења луцерке и црвене детелине. Са кошењем луцерке и црвене детелине у каснијим фазама развића, хранљива вредност опада, док садржај суве материје и проценат шећера у корену и круни корена расту до фазе пуног цветања. Сматра се да кошењем луцерке у почетку цветања (10% цветалих биљака) најбоље се комбинују оптимални принос биљке њена хранљива вредност и дужина трајања луцеришта (Craši *et al.*, 2001).

Принос суве масе луцерке је већи уколико су биљке старије и уколико су дужи временски интервали између две косидбе. Теоретски, максималан принос суве масе би се добио када су биљке луцерке у пуном цветању. Међутим, због старијих листова и опадања листова са приземних делова биљака највећи принос се добија када се луцерка коси у моменту од 50% исцветалих биљака (Катић *и сар.*, 2007). Супротно приносу, нутритивни квалитет опада са развићем биљака. Зато је прави моменат за кошење луцерке најбоље одредити као компромис између врхунског квалитета и максималног приноса. Дужи интервали између 2 узастопне косидбе даће већи принос и дужи век луцеришта, али истовремено и лошији квалитет. Супротно томе, краћи интервали између косидби даће далеко бољи квалитет, али мањи принос и краћи век трајања луцеришта. При оптималним условима, минималан интервал између првог и другог откоса или другог и трећег откоса треба да буде 30-50 дана. Овај период зависи од климатских услова и особина луцерке – сорте, варијетета и др.

Насупрот луцерки, црвена детелина је биљка хумиднијих области. Приноси варирају из године у годину, у зависности од количине водених талоба током вегетације. За њен успешан развој, оптималне количине падавина износе 800 мм годишње (Катић *и сар.*, 2005). Сматра се да је оптимална фаза кошења црвене детелине када се појави око 20-25% цвасти. У овој фази сварљивост суве материје варира између 65-70%, након чега опада.

2.4.2. *Хранљива вредност луцерке и црвене детелине*

Одређивање хемијског састава и хранљиве вредности хранива на основи фракције протеина и угљених хидрата, као и параметара процеса деградације у румену су важни за предвиђање хранљиве вредности оброка и процене производних перформанси животиња. Модел развијен на универзитету Корнел, познат као CNCPS (*Cornell Net Carbohydrates and Protein System*) се базира на процени степена разградње сваке фракције протеина и угљених хидрата. Интеракције различитих компонената хране се разматрају у циљу максималне микробијалне производње, смањења губитака азота и утврђивања оних нутријената који пролазе кроз бураг неразграђени (Da Silva *et al.*, 2013).

2.4.3. *Значај и подела угљених хидрата у кабастим хранивима*

Угљени хидрати (СНО) чине највећи део масе хранљивих материја у оброцима крава музара – преко 65% суве материје (Varga *et al.* 1998). Присутни су у две основне форме: структурни (FC) и неструктурни угљени хидрати (NSC). Неадекватан садржај ових материја у оброку може да изазове озбиљне метаболичке поремећаје (ацидоза, дислокација абомазума, кетоза). Одговарајућа структура угљених хидрата у оброку од великог је значаја за варење у бурагу и обезбеђење знатних количина енергије, за синтезу микробијалних протеина и за одржавање стабилног нивоа ферментације.

Угљени хидрати се могу класификовати према брзини разлагања у бурагу. Фракцију А која се брзо разграђује чине шећери, фракцију В₁ чини скроб који се разграђује средњом брзином, као и фракција В₂ коју чине растворљива влакна. Фракцију В₃ чине споро разградиви угљени хидрати, односно доступни део ћелијског зида. Највећим делом фракцију С чини лигнин, који је за животињу недоступан (Lanzas *et al.*, 2007).

2.4.4. *Балансирање оброка на основу удела угљених хидрата*

Ефикасан систем за формулисање оброка за преживаре треба да дефинише горње и доње границе за најважније компоненте оброка и да пружи нутриционистима и фармерима могућност да изаберу најпрофитабилнији, најефективнији и најефикаснији могући оброк. Уколико оброци садрже висок ниво влакана, енергетска вредност оброка је ниска, ограничено је конзумирање и перформансе животиња – производња млека и меса се смањује. С друге стране, уколико оброци садрже недовољно влакана перформансе животиња ће такође бити ограничене, а нису ретки ни здравствени, односно метаболички поремећаји (Mertens, 1996).

2.4.5. *Фракције протеина у храни за животиње*

Протеинску фракцију А, односно непротеинска азотна једињења (NPN), чини азот који се раствара у пуферу и не таложи се реагенсима као што је трихлор сирћетна киселина, која таложи протеине. Ову фракцију чине слободне аминокиселине, амонијачна једињења, амиди, амини, уреиди, нуклеотиди и нитрати. Ова једињења се у бурагу веома брзо хидролизују до амонијака. Сав растворљиви протеин у покошеној зеленој маси и силажама је у облику NPN.

Фракцију В силових протеина представља прави протеин који је потенцијално разградив у бурагу. У којој мери су ове фракције разградиве у бурагу зависи од њихове појединачне брзине разградивости и брзине пасаже кроз дигестивни систем.

Подфракција V_1 је проценат сирових протеина који је растворљив у боратно-фосфатном пуферу чија рН одговара вредности рН у бурагу, и који се не таложи деловањем трихлорсирћетне киселине. Сматра се да се веома брзо разлаже у бурагу са стопом деградације од преко 100%/h. Чини је мали део растворљивих протеина који износи око 5% код кабастих и око 10% код концентрованих хранива. Подфракција V_2 представља протеине који се добијају из разлике протеина који су нерастворни у пуферу и протеина који су нерастворни у раствору неутралног детерцента. Степен разлагања ове фракције је 3-16%/h. Подфракција V_3 се споро разлаже у бурагу (< 2%/h) пошто је чине протеини везани за ћелијски зид биљног материјала. Хемијски се одређује као протеин који је нерастворљив у раствору неутралног детерцента, и зато највећи део ове подфракције пролази кроз бураг неразграђен.

Фракцију С чини протеин повезан са лигнином, комплексима танина, као и продуктима Маилард-ових реакција. Протеини ове групе не могу да се разложе ни у бурагу, нити у танким цревима, тако да су за животињу недоступни. Удео ове фракције се одређује као протеин који је нерастворљив у раствору киселог детерцента.

2.4.6. Лигнин и утицај степена лигнификације ћелијских зидова на сварљивост

Ћелијски зид је сума различитих компоненти чије интеракције диктирају његову структуру и функцију. Кључни елемент који има водећу улогу у регулисању деградације ћелијског зида је лигнин, уз додатну подршку молекула који га умрежавају са осталим компонентама зида.

Лигнини се дефинишу као „полимерни природни производи који настају из ензимски инициране полимеризације три примарна прекурсора“ (Lai and Sarkanen, 1971). Количина лигнина је већа у легуминозама у односу на траве. Између легуминоза, бела и црвена детелина садрже мање лигнина од луцерке и жутог звездана (Vuxton and Hornstein, 1986). Количина лигнина се генерално повећава са напредовањем фазе развића, како у листовима тако и у стаблу (Åman, 1984).

Редукција количине влакана у биљним органима легуминоза које се користе као крмне биљке је један од најважнијих циљева оплемењивачких програма усмерених ка повећању квалитета и сварљивости ових биљака.

2.5. Материјал и методе истраживања

У току реализације постављених циљева извршена су истраживања на огледном пољу Института за крмно биље у Крушевцу (локација Глободер). Испитиване су промене хемијског састава са фазама развића у различитим откосима две сорте луцерке (Крушевачка 28 и америчке популације (Г+13Р+ЦЗ) и две сорте црвене детелине (Крушевачка 32 – тетраплоидна сорта и Крушевачка 39 – диплоидна сорта)

Експеримент је изведен по моделу полифакторијалног огледа, посебно по врстама, за луцерку $2 \times 3 \times 4$ и за црвену детелину $2 \times 3 \times 3$ у три понављања.

Фактори истраживања за луцерку су били: Сорта – фактор А: (a_1 - домаћа сорта луцерке, К-28, a_2 - популација Г+13Р+ЦЗ, америчког порекла. Фаза развића – фактор Б, узорци су кошени у три фазе развића у сваком откосу: (b_1 - средина бутонизације, b_2 - почетак цветања (10-15% цвета), b_3 - 50-60% цвета. Откос – фактор Ц (c_1 – први откос, c_2 – други откос, c_3 - трећи откос, c_4 – четврти откос).

Фактори истраживања за црвену детелину су били: Сорта – фактор А (a_1 – тетраплоидна сорта црвене детелине, К-32, a_2 – диплоидна сорта црвене детелине, К-39). Фаза развића – фактор Б, узорци су кошени у три фазе развића у сваком откосу (b_1

- средина бутонизације, б₂ - почетак цветања (10-15% цвета), б₃ - 50-60% цвета). Откос – фактор Ц (ц₁ – први откос, ц₂ – други откос, ц₃ - трећи откос)

У оквиру Веенде система хемијске анализе одређен је садржај сировог пепела, сирових протеина, сирове целулозе, сирових масти и безазотних екстрактивних супстанци.

Количина сировог пепела је одређена сувим спаљивањем узорка на 550°C и мерењем пепела (АОАС, 942.05)..

Количина сирових протеина је израчуната индиректно, преко количине укупног азота који је одређен методом по Kjeldahl-у на апарату TECATOR Kjeltex Auto Analyzer 1030 (АОАС, 984.13).

Количина сирове целулозе је одређена сукцесивном хидролизом узорка разблаженим раствором H₂SO₄ и NaOH (АОАС, 978.10).

Количина сирових масти је одређена по Soxhlett-у, модификација по Рушковском, са анхидрованим етром (Ђорђевић и сар., 2003).

Количина безазотних екстрактивних материја – БЕМ је одређена рачунским путем, одузимањем укупне количине сирових протеина, сирове целулозе, сирових масти и сировог пепела од 1000 g.

Принос сирових протеина је одређен рачунским путем, на основу приноса суве материје и утврђене количине сирових протеина у сувој материји.

NDF (*Neutral Detergent Fiber*) – влакна нерастворна у раствору неутралног детерџента је одређен без коришћења Na₂SO₃ према методи Van Soest and Robertson (1980).

ADF (*Acid Detergent Fiber*) – је одређен као фракција хране нерастворљива у раствору киселог детерџента, а количина лигнина третирањем овог нерастворљивог остатка 72%-ним раствором H₂SO₄ у току 3 сата (АОАС, 978.13).

Хемицелулозе су одређене на основу разлике фракције хране нерастворљиве у раствору неутралног детерџента и фракције хране нерастворљиве у раствору киселог детерџента.

TESC (*Total Etanol Soluble Carbohydrates*) које чине неструктурни угљени хидрати – моносахариди и дисахариди су одређени спектрофотометријски методом Dubois *et al.* (1956) уз претходну екстракцију узорка 80%-ним раствором етанола (Hall *et al.*, 1999).

Сварљивост суве материје је одређена на основу методе De Voevar *et al.* (1986) третирањем узорка киселим раствором пепсина (24 h на 40°C), а потом раствором целулазе у ацетатном пуферу, рН = 4,8 (24 h на 40°C).

Принос сварљиве суве материје је одређен рачунским путем, на основу приноса суве материје и одређене сварљивости суве материје.

Протеинске фракције у хранивима су одређене према методи Licitra *et al.* (1996).

Прави протеини – TP (*True Protein*) су одређени таложењем протеина са одговарајућим реагенсом – трихлорсирћетном киселином, и у талогу је одређена количина азота према Kjeldahl -у и помножена фактором 6,25.

Непротеински азот – NPN (*Non Protein Nitrogen*) је израчунат као разлика између укупне количине протеина и правих протеина.

Нерастворљиви протеини – IP (*Insoluble Protein*) су одређени као количина азота у остатку који се не раствара у раствору пуфера чије рН одговара рН румена, и множењем са фактором 6,25.

Растворљиви протеини – SolP (*Soluble Protein*) су израчунати из разлике укупне количине протеина у хранивима и количине нерастворљивих протеина.

Азот везан за ћелијски зид – NDICP (*Neutral Detergent Insoluble Crude Protein*) је одређен као количина азота у остатку узорка нерастворљивом у раствору неутралног детерџента, и множењем са фактором 6,25.

Недоступни протеини – ADICP (*Acid Detergent Insoluble Crude Protein*) је одређен као азот у остатку узорка који је нерастворљив у раствору киселог детерџента, и множењем са фактором 6,25.

Протеинске и угљенохидратне фракције према CNCPS систему су добијене следећим поступцима (Sniffen *et al.*, 1992; Fox *et al.*, 2003):

РА фракција сирових протеина – лако растворљиви протеини које чини непротеински азот

РС фракција сирових протеина – потпуно недоступни сирови протеини које представља ADICP

РВ фракција сирових протеина – потенцијално разградива фракција представља разлику између укупних сирових протеина и суме растворљивих и недоступних протеина: $PB = CP - (NPN + ADICP)$

СА фракција угљених хидрата – лако растворљиви и брзоразградиви угљени хидрати које чине TESC (*Total Etanol Soluble Carbohydrates*) – моносахариди и дисахариди

СВ₁ фракција угљених хидрата – брзо разградиви угљени хидрати – скроб

СВ₂ фракција угљених хидрата – чине их невлакнасти угљени хидрати који се разграђују средњом брзином: $CB_2 = NFC - TESC - skrob$

СВ₃ фракција угљених хидрата јесу споро разградиви угљени хидрати, односно доступни део ћелијског зида:

$$CB_3 = (NDF - NDICP) - CC$$

СС фракција угљених хидрата – које представљају потпуно неразградиви, односно недоступни угљени хидрати повезани са лигнином:

$$CC = NDF \times (Lignin / NDF) \times 2,4$$

Статистичка обрада података

Добијени подаци обрађивани су методом анализе варијансе (Stat.Soft., Statistica ver. 6, 2003).

2.6. Резултати и дискусија

Домаћа сорта луцерке је била продуктивнија у односу на америчку популацију луцерке ($p < 0,01$), али садржи већу количину сирове целулозе, CHO, TESC, NDF, ADF, хемицелулозе, СВ₃ фракције угљених хидрата, TP, NDICP, РВ₁ и РВ₃ фракције CP у односу на америчку популацију луцерке ($p < 0,01$). Тетраплоидна и диплоидна сорта црвене детелине се нису међусобно разликовале по приносу суве материје (CM), али у CM тетраплоидне сорте црвене детелине је установљена већа количина CP, сирових масти, TESC, NDF, хемицелулозе, СА и СВ₃ фракције угљених хидрата, NPN, SolP, ADICP, РА, РВ₁ и РС фракције CP, као и већи однос РВ:СВ и РС:СС ($p < 0,01$). Америчка популација луцерке и тетраплоидна сорта црвене детелине се карактеришу бољом сварљивошћу у односу на домаћу сорту луцерке, К-28 и диплоидну сорту црвене детелине ($p < 0,01$). Није установљена статистичка значајност за садржај сирових масти, NFC, СВ₂ фракције угљених хидрата, SolP и IP између испитиваних сорти луцерке и за садржај БЕМ, лигнина, СВ₁ и СС фракције угљених хидрата, РВ₂ фракције CP и однос РА:СА између испитиваних сорти црвене детелине.

Фаза развића није утицала само на садржај NFC и хемицелулозе у CM луцерке и БЕМ-а у CM црвене детелине. Са растом и развићем луцерке принос CM, количина сирове целулозе, CHO, NDF, лигнина, СС фракције угљених хидрата, ADICP, NDICP,

PВ1 и РС фракције сирових протеина се повећала ($p < 0,01$), док се садржај сировог пепела, СР, СА, СВ₁ и СВ₃ фракције угљених хидрата, NPN, сварљивост СМ и РС:СС однос смањивао у СМ луцерке ($p < 0,01$). У СМ црвене детелине се са напредовањем фазе развића принос СМ и садржај сирове целулозе, СНО, ТЕСС, NDF, ADF, лигнина, СА фракције угљених хидрата, ADICP и РС фракције СР повећавао, док се садржај сировог пепела, СР, СВ₁ фракције угљених хидрата, NPN и однос РА:СА и РС:СС, као и сварљивост СМ смањивао ($p < 0,01$).

Од првог до четвртог откоса луцерке се количина СР, РА и РВ₃ фракције СР и однос РВ:СВ повећала ($p < 0,01$), док се принос СМ и количина СНО и РВ₂ фракције СР смањила ($p < 0,01$). Од првог до трећег откоса црвене детелине се садржај сировог пепела, СР, БЕМ, лигнина, СВ₁, СВ₃ и СС фракције угљених хидрата, ТР, РВ₁ и РВ₂ фракције СР и однос РА:СА и РВ:СВ повећао ($p < 0,01$), док се садржај сирове целулозе, СНО, ТЕСС, NDF, хемичелулозе, СА фракције угљених хидрата, NPN, NDICP и РА фракције СР смањило ($p < 0,01$).

Принос СМ луцерке и црвене детелине зависио је од сва три испитивана фактора и њихових интеракција. Домаћа сорта луцерке, К-28, је значајно продуктивнија у односу на америчку популацију луцерке. Ова истраживања су потврдила констатацију да је прилагођеност сорте агроколошким условима важан фактор. Максималан принос и добар квалитет сорте К-28 се може постићи косидбом пет пута годишње. Посматрано по откосима и фазама развића, може се закључити да црвена детелина не заостаје за луцерком у приносу СМ. Може се рећи да остварује уједначен принос са америчком популацијом луцерке.

Највећи садржај сирових протеина је установљен у фенофази бутонизације ($212,6 \text{ g kg}^{-1}$ СМ луцерке, односно $195,8 \text{ g kg}^{-1}$ СМ црвене детелине). Посматрано по откосима, садржај сирових протеина се повећавао од првог ($175,7 \text{ g kg}^{-1}$ СМ) до четвртог откоса ($216,6 \text{ g kg}^{-1}$ СМ) луцерке, односно од првог ($156,6 \text{ g kg}^{-1}$ СМ) до трећег откоса ($197,0 \text{ g kg}^{-1}$ СМ) црвене детелине. Високе вредности сирових протеина у четвртог откосу луцерке и трећем откосу црвене детелине указују да су ови вегетациони периоди повољни за формирање лисне масе. Америчка популација луцерке се одликује већим садржајем сирових протеина у односу на домаћу сорту, К-28; тетраплоидна сорта црвене детелине садржи већу количину сирових протеина у односу на диплоидну сорту црвене детелине, а потребно је истаћи да у садржају сирових протеина не заостаје за луцерком. Већи садржај сирових протеина у тетраплоидној сорти црвене детелине је последица већег удела листа у СМ. Иако се садржај сирових протеина смањивао са растом и развићем, принос сирових протеина по јединици површине се повећавао, услед повећања укупног приноса СМ луцерке и црвене детелине.

Садржај сирове целулозе се повећавао са растом и развићем луцерке и црвене детелине. Највећи садржај сирове целулозе је констатован у другом откосу луцерке, и најизраженије промене су у СМ домаће сорте луцерке, К-28 (од $313,9 \text{ g kg}^{-1}$ СМ у фенофази бутонизације до $407,6 \text{ g kg}^{-1}$ СМ када је више од 50% биљака процветало). У СМ црвене детелине установљен је значајно нижи садржај сирове целулозе. Због повољнијег односа лист:стабло у корист листа, тетраплоидна сорта црвене детелине садржи мању количину сирове целулозе. У СМ црвене детелине се садржај сирове целулозе смањивао од првог до трећег откоса.

На основу садржаја NDF-а у СМ црвене детелине може се закључити да се црвена детелина може ефикасно користити у исхрани високопроизводних млечних крава у свим испитиваним фазама развића. Најмањи садржај NDF-а у СМ црвене детелине је установљен у трећем откосу (од $343,4$ до $377,5 \text{ g kg}^{-1}$ СМ), те се може закључити да удео црвене детелине у оброку за млечне краве може бити већи. Највећа

количина NDF-а установљена је у СМ другог откоса луцерке, $>500 \text{ g kg}^{-1}$, а у овом вегетационом периоду луцерке је установљен и највећа количина сирове целулозе. Резултати истраживања показују да у СМ луцерке долази до брже синтезе NDF-а, што је последица већег удела стабла у укупној СМ. Највећи садржај ADF-а је такође установљен у другом откосу обе испитиване легуминозне врсте. Луцерка је богатија у количини ADF-а у односу на црвену детелину.

Фаза развића је значајно утицала на удео лигнина у СМ луцерке, а по откосима се утврђена количина лигнина повећавала од првог до трећег откоса. У четвртном откосу луцерке су установљене ниже вредности за садржај лигнина, вероватно због краћег трајања испитиваног вегетационог периода. Фаза развића није значајно утицала на садржај лигнина у СМ другог откоса диплоидне и трећег откоса обе испитиване сорте црвене детелине. У СМ црвене детелине је констатована значајно мања количина лигнина у фази када су биљке имале више од 50% цвета, у односу на садржај лигнина у СМ луцерке у фенофази бутонизације.

Фактори истраживања – фаза развића и откос су значајно утицали на сварљивост СМ луцерке и црвене детелине. Највећа сварљивост СМ је установљена у четвртном откосу луцерке ($754,4 \text{ g kg}^{-1}$ СМ), односно у трећем откосу црвене детелине ($820,1 \text{ g kg}^{-1}$ СМ), а најмања у другом откосу, што се може објаснити највећим учешћем структурних угљених хидрата у овом откосу луцерке и црвене детелине. Црвена детелина је сварљивија од луцерке и у каснијим фазама развића (више од 50% исцветалих биљака) у односу на луцерку када се налази у фенофази бутонизације. С обзиром да луцерка садржи већу количину структурних угљених хидрата и лигнина у односу на црвену детелину, било је очекивано да ће сварљивост бити мања. Између сорти луцерке у сварљивости се истиче америчка популација, што се опет објашњава чињеницом да иностране сорте више развијају лисну розету у односу на домаће сорте луцерке. Тетраплоидна сорта црвене детелине је била сварљивија у првом и другом откосу, због већег удела листа у коме се највећим делом и налазе лакосварљиве компоненте хранива. Резултати истраживања показују да удео лигнина у СМ крмних биљака – луцерке и црвене детелине највећим делом лимитира сварљивост. Изузетак представља четврти откос, у коме је установљен врло висока сварљивост СМ, али је у том откосу установљена и значајно мања количина структурних угљених хидрата и лигнина. Објашњење се може наћи у дужини трајања овог вегетационог периода, у коме су се биљке изузетно брзо развијале, као и да висока сварљивост СМ може бити последица структуре лигнина.

Највећа вредност лакоразградивих простих шећера је констатована почетком цветања у првом откосу домаће сорте луцерке ($85,4 \text{ g kg}^{-1}$ СМ) и диплоидне сорте црвене детелине ($133,2 \text{ g kg}^{-1}$ СМ), док је у СМ америчке популације луцерке и тетраплоидне сорте црвене детелине највећи садржај ове фракције угљених хидрата установљен када су биљке имале више од 50% цвета. Црвена детелина садржи већи удео ове фракције, као и већи удео невлакнастих угљених хидрата у СМ у односу на луцерку. Фаза развића није значајно утицала на удео невлакнастих угљених хидрата у СМ тетраплоидне сорте црвене детелине.

Садржај недоступних – лигнифицираних структурних угљених хидрата се са растом и развићем биљака повећавао у обе испитиване биљне врсте. У СМ црвене детелине сорта није имала значајан утицај на промене ове фракције угљених хидрата, а у трећем откосу ни фаза развића. Како је у СМ луцерке установљен већи удео лигнина и структурних угљених хидрата у трећем откосу, то је и удео ове фракције највећи у трећем откосу.

Луцерка и црвена детелина се разликују у садржају и односу разградивих и неразградивих протеина у бурагу. Сорта је имала мањи утицај од фазе развића на удео

разградивих и неразградивих сирових протеина. Фаза развића и откос имали су значајан утицај на компоненте хранива разградиве у бурагу у СМ обе испитиване биљне врсте. Луцерка садржи већи удео РА фракције сирових протеина, односно непротеинског азота. У СМ домаће сорте луцерке најмањи садржај РА фракције сирових протеина је установљен у првом ($380,0 \text{ g kg}^{-1}$ СР) и четвртотом откосу ($381,9 \text{ g kg}^{-1}$ СР), а у СМ црвене детелине најмањи садржај ове фракције је у трећем откосу ($225,8 \text{ g kg}^{-1}$ СР). Како црвена детелина садржи мањи удео РА фракције сирових протеина и већи садржај РВ₃ фракције у односу на луцерку, значи да се протеини црвене детелине ефикасније искоришћавају у организму животиња. Садржај РА фракције сирових протеина се генерално повећава до почетка цветања, а затим се смањује. Највећа фракција сирових протеина је РВ₂ фракција сирових протеина, која се разграђује у бурагу средњим интензитетом. Највећи удео ове фракције је установљен у фенофази бутонизације. РС фракција, која представља лигнифициране протеине, се правилно повећавала само у првом откосу, док у осталим откосима није било могуће установити јасну тенденцију промена.

1.7. Закључци

На основу резултата ових истраживања може се закључити да луцерка и црвена детелина садрже већу количину азота у односу на оптималне вредности (25 g N kg^{-1} ОМ и 32 g N kg^{-1} СНО). Посебно је неповољан однос у трећем и четвртотом откосу луцерке, односно у трећем откосу црвене детелине. Највећи садржај сирових протеина је установљен у фенофази бутонизације ($212,6 \text{ g kg}^{-1}$ СМ луцерке, односно $195,8 \text{ g kg}^{-1}$ СМ црвене детелине). Посматрано по откосима, садржај сирових протеина се повећавао од првог ($175,7 \text{ g kg}^{-1}$ СМ) до четвртог откоса ($216,6 \text{ g kg}^{-1}$ СМ) луцерке, односно од првог ($156,6 \text{ g kg}^{-1}$ СМ) до трећег откоса ($197,0 \text{ g kg}^{-1}$ СМ) црвене детелине. У СМ црвене детелине је констатован мањи садржај РА фракције протеина и већи садржај СА фракције угљених хидрата, па је однос ових протеинских и угљенохидратних фракција повољнији у СМ црвене детелине, што потврђује констатацију да је азот из црвене детелине више искористив у односу на азот из луцерке. Фактори истраживања – фаза развића и откос су значајно утицали на сварљивост СМ луцерке и црвене детелине. Највећа сварљивост СМ је установљена у четвртотом откосу луцерке ($754,4 \text{ g kg}^{-1}$ СМ), односно у трећем откосу црвене детелине ($820,1 \text{ g kg}^{-1}$ СМ), а најмања у другом откосу, што се може објаснити највећим учешћем структурних угљених хидрата у овом откосу луцерке и црвене детелине.

Резултати ових истраживања указују да луцерку у првом откосу треба косити у касној вегетативној фази или почетком бутонизације, док наредне откосе треба косити касније. На тај начин било би могуће добити пет откоса висококвалитетног сена луцерке, чиме би се компензовао принос суве масе са високо квалитетним сеном луцерке.

Из свега изнетог се такође може закључити да се заменом кабасте хране лошијег квалитета са висококвалитетном луцерком и црвеном детелином у оброцима за музне краве може смањити количина концентроване хране у obroку, и да се може побољшати степен искоришћавања кабасте хране.

Сено луцерке и црвене детелине различитог квалитета може се користити у исхрани различитих врста и категорија животиња, као и у различитим фазама производног циклуса музних крава.

Одређивање протеинских и угљенохидратних фракција у кабастим хранивима пружа могућност за процену природе протеина и угљених хидрата, као и правилно

формулисање оброка. Овај систем анализе хранива представља значајан напредак у процесу исхране и формулисању оброка за високопроизводне млечне краве, јер узима у обзир чињеницу да количина протеина разградивих и неразградивих у бурагу није константна и да удели ових фракција протеина у укупним протеинима неког хранива зависе од биохемијских процеса у биљкама током њиховог развоја, али и од правилне функције бурага и пасаже хране кроз дигестивни тракт.

Кандидат на крају закључује да за будућа истраживања остају питања: да ли фенолна једињења и мањи фрагменти лигнина представљају укупну количину лигнина заједно са синтетисаним полимером лигнина, као и да ли ова једињења имају подједнак ефекат на сварљивост ћелијских зидова, односно структурних угљених хидрата.

2.8. Литература

У дисертацији је цитирано 265 референци. Цитиране референце одговарају проучаваној проблематици.

ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

На основу анализе докторске дисертације, Комисија сматра да су изабрана тема као и резултати овог оригиналног и самосталног научног дела актуелни и значајни за науку и праксу. Спроведена истраживања нису раније изведена на тај начин у нашој земљи, а добијени резултати могу да доведу до ефикаснијег искоришћавања луцерке и црвене детелине у исхрани преживара, пре свега говеда, чиме се отвара пут, с једне стране повећању производње, а са друге смањењу трошкова исхране. Ваља напоменути да наша земља губи значајне количине производа, највише у говедарству, услед неадекватног и нестручног коришћења ових хранива.

Циљ ових истраживања био је да се уз помоћ одговарајућих хемијских анализа дође до оптималних решења у погледу искоришћавања две врсте легуминоза које су у нашој земљи најзначајније за исхрану животиња као кабаста храна. Истраживање је посебну пажњу посветило моменту кошења ових биљака, пошто је то први и основни фактор код кога зависи њихова хранљива вредност и кандидат је правилно закључио да постоји више решења овог проблема. У зависности од тога која врста и категорија животиња ће се хранити луцерком и црвеном детелином, било да је то зелена маса, сено, силажа или сенажа, мења се оптимално време за њихово кошење. Овај рад ће значајно допринети да се боље схвате механизми који утичу на промену хранљиве вредности испитиваних хранива, као и да се јасније дефинише прави тренутак за њихово кошење, водећи рачуна о планираној намени тих хранива у исхрани. Мишљење је Комисије да је овај рад у потпуности испунио задати циљ.

Програм дисертације представља јединствену целину. Хипотезе од којих кандидат полази су правилно постављене, коришћене методе су адекватне и савремене, тако да омогућују реално сагледавање значајности добијених резултата и реализацију програмских задатака. Кандидат је овим радом у потпуности реализовао све што је предвиђено Пријавом докторске дисертације.

На основу свега изнетог, Комисија позитивно оцењује урађену докторску дисертацију мр Јордана Марковића поднете под насловом “**Утицај фенофазе развића на заступљеност лигнина и хранљиву вредност луцерке и црвене детелине**” и предлаже Научно-наставном већу Пољопривредног факултета, Универзитета у Београду, да прихвати ову оцену и омогући кандидату да докторску дисертацију под наведеним насловом јавно брани.

03.11.2014.г.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

1. Др Горан Грубић, редовни професор
Универзитет у Београду - Пољопривредни Факултет, Земун
(Исхрана домаћих и гајених животиња)

2. Др Ненад Ђорђевић, редовни професор
Универзитет у Београду - Пољопривредни Факултет, Земун
(Исхрана домаћих и гајених животиња)

3. Др Мирослав Врвић, редовни професор
Универзитет у Београду - Хемијски Факултет, Београд
(Биохемија)

4. Др Александар Симић, доцент
Универзитет у Београду - Пољопривредни Факултет, Земун
(Крмно биље и травњаци)

5. Др Бора Динић, научни саветник
Институт за крмно биље, Крушевац
(Конзервисање сточне хране методом силирања)

Прилог:

Рад објављен у часопису са SCI листе

Marković, J., Štrbanović, D., Terzić, D., Djokić, D., Simić, A., Vrvić, M., Živković, S., (2012): Changes in lignin structure with maturation of alfalfa leaf and stem in relation to ruminants nutrition. African Journal of Agricultural Research Vol. 7(2), pp. 257-264, DOI: 10.5897/AJAR11.1485