

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Број захтева: 33/6-8.1.

Датум: 27.03.2018.

ВЕЋЕ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ
БИОТЕХНИЧКИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

**за давање сагласности на реферат о урађеној докторској дисертацији
за кандидата на докторским студијама**

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 4. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 186/15-пречишћени текст и 189/16), дате сагласност на одлуку о усвајању извештаја Комисије за оцену докторске дисертације:

Кандидат **МИЛОМИР (Бориша) БЛАГОЈЕВИЋ**, студент докторских студија на студијском програму Пољопривредне науке, модул Зоотехника, пријавио је докторску дисертацију под називом: "Утицај међусобног односа, фазе развића и инокулације на квалитет силажа једногодишњих легуминоза и жита",

из научне области Зоотехника.

Универзитет је дана 21.01.2015. године, својим актом 02-Број: 61206-54/2-15 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила: **"УТИЦАЈ МЕЂУСОБНОГ ОДНОСА, ФАЗЕ РАЗВИЋА И ИНОКУЛАЦИЈЕ НА КВАЛИТЕТ СИЛАЖЕ ЈЕДНОГОДИШЊИХ ЛЕГУМИНОЗА И ЖИТА"**.

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације образована је на седници одржаној 27.12.2017. године, одлуком Факултета број 33/3-7.1., у саставу:

име и презиме члана комисије, звање, научна област, установа у којој је запослен

1. др Ненад Ђорђевић, редовни професор, Исхрана домаћих и гајених животиња, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет,
2. др Горан Грубић, редовни професор, Исхрана домаћих и гајених животиња, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет,
3. др Саво Вучковић, редовни професор, Крмно биље и травњаци, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет,
4. др Бојан Стојановић, ванредни професор, Исхрана домаћих и гајених животиња, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет,
5. др Јордан Марковић, научни саветник, Биотехничке науке – пољопривреда, Институт за крмно биље у Крушевцу.

Наставно-научно веће факултета прихватило је реферат Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације на седници одржаној 27.03.2018. године.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Милица Петровић

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 33/6-8.1.
Датум: 27.03.2018. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 44. Статута Пољопривредног факултета, Наставно-научно веће Факултета на седници одржаној 27.03.2018. године, донело је

О Д Л У К У

I ПРИХВАТА СЕ извештај о позитивној оцени урађене докторске дисертације коју је поднео **МИЛОМИР БЛАГОЈЕВИЋ**, дипл. инж. и одобрава јавна одбрана дисертације по добијању сагласности од Универзитета, под насловом: **«УТИЦАЈ МЕЋУСОБНОГ ОДНОСА, ФАЗЕ РАЗВИЋА И ИНОКУЛАЦИЈЕ НА КВАЛИТЕТ СИЛАЖЕ ЈЕДНОГОДИШЊИХ ЛЕГУМИНОЗА И ЖИТА»**.

II Универзитет је дана 21.01.2015. године, актом 02 број 61206-54/2-15, дао сагласност на предлог теме докторске дисертације.

III Рад кандидата у часопису међународног значаја:

Blagojević, M., Đorđević, N., Dinić, B., Vasić, T., Milenković, J., Petrović, M., Marković, J. (2017): Determination of Green Forage and Silage Protein Degradability of Some Pea (*Pisum sativum* L.) + Oat (*Avena sativa* L.) Mixtures Grown in Serbia. Journal of Agricultural Sciences, 23, 415-422. e-ISSN: 2148-9297; P-ISSN: 1300-7580.
www.agri.ankara.edu.tr/journal

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
ДЕКАН**

(Проф. др Милица Петровић)

Доставити: кандидату, ментору др Ненаду Ђорђевићу, редовном професору, Институту за зоотехнику, Студентској служби и архиви.

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА**

Датум: 31.01.2018. год.

Предмет: Извештај комисије о оцени урађене докторске дисертације кандидата Миломира Благојевића, дипл. инж.

Одлуком Наставно-научног већа факултета број 33/3-7.1. од 27.12.2017. године именовани смо у Комисију за оцену урађене докторске дисертације Миломира Благојевића, дипл. инж., поднете 30.11.2017. године под насловом „Утицај међусобног односа, фазе развића и инокулације на квалитет силаже једногодишњих легуминоза и жита“. Пошто смо проучили докторску дисертацију, подносимо следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација Миломира Благојевића, дипл. инж., написана је на 214 страна текста. Текст дисертације укључује 78 табела, 6 графикана, 18 фотографија и 245 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 (стр. 4), 3. Научни циљ истраживања (стр. 5), 4. Преглед литературе (стр. 6 - 34), 5. Материјал и методе (стр. 35 - 40), 6. Резултати и дискусија (стр. 41 - 181), 7. Закључци (стр. 182 - 194), 8. Литература (стр. 195 - 213), 9. Биографија аутора (стр. 214), 10. Прилози. На крају текста дисертације налазе се обавезне изјаве. Поглавља: Преглед литературе, Материјал и методе, Резултати и дискусија, садрже више потпоглавља.

2. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДИСЕРТАЦИЈЕ

2.1. Увод. Висока економичност говедарске производње постиже се пре свега максималним коришћењем кабасте хране, уз минималан утрошак скупих смеша концентрата, чиме се уједно постиже добро здравље, дуговечност и задовољавајућа репродукција. Све веће летње температуре и све мање летњих падавина задњих година и деценија, актуелизовало је гајење озимих крмних култура, пре свега лептирњача, жита и њихових смеша, у циљу производње биљне масе за исхрану у свежег стању, спремање сена или силаже. С обзиром да је коришћење зелене масе ограничено временским условима, уз сталну промену хемијског састава и смањење хранљиве вредности, а спремање сена од ових култура отежано због честих пролећних киша и ниских температура, силирање је најбољи начин њиховог конзервација у циљу максималног очувања хранљиве и употребне вредности.

За наше климатске услове сточни грашак и грахорица су најзначајније једногодишње лептирњаче које се гаје за производњу кабасте сточне хране, и користе

се као зелена храна, у виду сена или силаже. Због својих специфичности (склоности ка полагању и високог пуферског капацитета) најчешће се гаје у смеши са стрним житима, као потпорним усевима, како би се на тај начин спречило или умањило полагање, смањено пуферски капацитет, а уједно добила биомаса погоднија за силирање. У многим, до сада изведеним огледима, доказано је да се гајењем оваквих смеша у односу на лептирњаче гајене у монокултури добија већи принос суве материје, енергије и протеина по хектару, као и боље избалансиран однос хранљивих материја. И поред наведених чињеница, за праксу остаје као највећи проблем прецизирање односа клијавих зрна лептирњаче и жита у смеши, избор оптималне фазе за коришћење и употреба додатака при силирању у циљу постизања највећег приноса сварљивих хранљивих материја по јединици површине. Осим тога, савремени нормативи за исхрану преживара захтевају детаљно познавање фракција протеина и угљених хидрата у оброцима, што директно зависи од међусобног удела лептирњача и жита у смеши, фазе искоришћавања и квалитета ферментације.

2.2. Преглед литературе. У поглављу Преглед литературе које има 8 потпоглавља детаљно су обрађени доступни литературни подаци из области која је предмет проучавања дисертације. У првом потпоглављу *Порекло и значај сточног грашка, грахорице и овса у исхрани домаћих животиња* говори се о постојбини и распрострањености ових крмних култура, као и о њиховој хранљивој и употребној вредности. У другом потпоглављу *Принос биомасе и суве материје чистих усева сточног грашка, грахорице, овса и њихових смеша* изнети су резултати претходних истраживања приноса наведених крмних врста. У здруженим усевима принос суве материје и садржај сирових протеина је првенствено под утицајем учешћа појединачних компонената у смеши. У трећем потпоглављу *Хранљива вредност једногодишњих легуминоза и њихових смеша са житима* детаљно су описани проблеми избора оптималне фазе за коришћење испитиваних култура због чињенице да се хемијски састав једногодишњих лептирњача и жита не мења на исти начин као хемијски састав трава и вишегодишњих лептирњача, пре свега због утицаја удела зрна и махуна у укупној биљној маси. У четвртном потпоглављу *Разградивост протеина у бурагу* приказан је значај проучавања фракција протеина и угљених хидрата у obroку за преживаре, што је неопходно за примену савремених модела у исхрани преживара као што је CNCPS (Cornell Net Carbohydrate Protein System; Fox et al., 2003). Прецизно познавање фракција протеина и угљених хидрата у кабастом и концентрованом делу obroка и њихово оптимално балансирање, омогућава максималну активност симбиотске микрофлоре у циљу адекватног коришћења енергије из угљених хидрата и максималну микробијалну синтезу протеина, који ће бити искоришћени у танком цреву. У петом потпоглављу *Протеолитички процеси током силирања*, говори се о протеолизи у силираном материјалу, која је изузетно значајна за крајњи однос протеинских фракција у силираној храни. При томе се износе бројни литературни подаци о степену, интензитету и начину контроле протеолитичких процеса, који су штетни за хранљиву и употребну вредност силаже, због повећања фракције растворљивих и разградивих протеина. Као најефикаснији начини за ограничавање интензитета протеолизе наводе се провењавање и брзо смањење рН вредности на оптималне вредности, што се може постићи употребом савремених инкуланата на бази хомо- и хетероферментативних бактерија млечне киселине. Шесто потпоглавље *Угљенохидратне фракције* говори о класификацији угљених хидрата у obroку за преживаре у зависности од садржаја енергије и њиховог утицаја на синтезу микробијалних протеина. Угљенохидратне фракције које чине невлакнасти угљени хидрати се међусобно разликују по брзини и стопи ферментације, производима

ферментације и доприносу синтези микробијалних протеина, а самим тим и по утицају на перформансе животиња. CNCPS систем (Fox et al., 2003) управо узима у обзир ове варијације у компонентама угљених хидрата како би се што адекватније обезбедила неопходна метаболичка енергија и максимализовала синтеза микробијалних протеина при формулисању оброка за млечне краве. Оброци који садрже прекомерне количине NFC (Non Fiber Carbohydrates), лако сварљиве CHO (угљени хидрати) или неогговарајућу количину влакана, неће дуго одржати стабилност ферментације у бурагу, и могу изазвати ексцесе у конзумацији SM (суве материје) или друге здравствене проблеме као што су кетоза, ацидоза, дислокација абомасума и др. На удео појединих угљенохидратних фракција у силираној храни утиче фаза искоришћавања биљака, али и интезитет микробиолошких процеса у току ферментације. Седмо потпоглавље **Сварљивост легуминоза и жита** указује на чињеницу да летирњаче у оброку доприносе већем садржају азота и минерала у бурагу, што повећава активност буражних микроорганизама, те самим тим обезбеђују боље варење и пасажу хране кроз дигестивни тракт. Однос између неструктурних угљених хидрата, лакоприступачног скроба и NDF (Neutral Detergent Fiber) у оброку је веома важан за одржавање нормалног функционисања румена. Према литературним наводима однос између NDF из кабастих хранива и лако разградивог скроба треба да буде 1:1 како би се избегла депресија у дигестији влакана и обезбедила нормална функција бурага, док се максимална производња млека постиже када је однос између неструктурних угљених хидрата и NDF 0,9 до 1,2. Задње потпоглавље **Погодност смеша за силирање** говори о још једној за праксу важној чињеници, а то је да легуминозна компонента у смешама за силирање делује негативно на квалитет ферментације, добијене производе и употребну вредност силаже, и поред изузетно значајног позитивног утицаја на хранљиву вредност силаже. Због тога је гајење лептирњача у смеси са житима нарочито важно јер се решава проблем недовољне количине ферментабилних угљених хидрата за силирање и високе пуферске вредности.

2.3. Циљеви и хипотезе. Главни циљ ових истраживања је био у утврђивању степена утицаја сваког од дефинисаних фактора (односа легуминоза и жита у биомаси, фенофазе развића посматраних биљних врста у време искоришћавања и употребе бактеријских инокуланата) на настале промене у хемијском саставу, количини протеинских и угљенохидратних фракција, сварљивости и параметрима квалитета комбинованих силажа.

Акценат ових истраживања је био на избору одговарајуће комбинације испитиваних фактора (фаза искоришћавања и примена инокуланата) за сваку врсту смеше (зависно од учешћа легуминозне компоненте, односно удела клијавих семена лептирњаче и жита у смеси), како би се добила силажа која ће по квалитету и хранљивој вредности моћи максимално да задовољи потребе говеда у интензивној производњи.

Испитивањем сварљивости и хранљиве вредности смеша и силажа, као и удела протеинских и угљенохидратних фракција, добијени су подаци корисни за оптимизацију процеса силирања сваке од испитиваних комбинација, што ће олакшати избор и планирање система и начина исхране. Утврђивањем оптималне фазе искоришћавања за сваку од комбинација омогућено је добијање силаже најбољег квалитета и сварљивости.

Основне хипотезе од којих се пошло при планирању експеримента ове дисертације заснивале су се на претпоставци да ће међусобни однос лептирњаче и жита у смеси, фаза развића и употреба инокуланта значајно утицати на хранљиву вредност и квалитет силажа, као и на однос појединих протеинских и угљенохидратних

фракција. Добијени резултати испитивања потврдили су почетне хипотезе и омогућили применљивост резултата у пракси.

Новина у овој дисертацији је у детаљним хемијским анализама којима су добијени подаци за фракције протеина и угљених хидрата у зеленој маси и силажи, у складу са захтевима Cornell Net Carbohydrate Protein System. Захваљујући томе, резултати ове дисертације могу се укључити у савремене програме за оптимизацију obroка за преживаре, и пружити додатне и још сигурније аргументе за избор најоптималнијег решења (комбинације испитиваних фактора).

2.4. Материјал и методе истраживања. Истраживања за потребе докторске дисертације изведена су на огледном добру Института за крмно биље Крушевац (локација Глободер), као и у лабораторији наведеног Института. У пољском (двофакторијалном) делу огледа као почетни биљни материјал коришћени су озими сточни грашак (сорта НС Пионир), озима грахорица (сорта Неопланта) и овас (сорта Вранац), гајени као чисти усеви или као смеше, а испитивани фактори су били: а) однос легуминоза и жита у смеши (према броју клијавих зрна) и б) фаза искоришћавања. У огледу су испитивана три односа легуминоза и жита: а₁) 1:1,5; а₂) 1:1 и а₃) 1:0,5. Као параметар за одређивање момента искоришћавања узета је фаза развића легуминозне биљне врсте у смеши. Кошење биомасе и силирање обављено је кроз три фазе и то: б₁) Фаза почетка цветања легуминозне компоненте у смеши; б₂) Фаза формирања првог спрата махуна на легуминозама и б₃) Фаза наливања зрна у махунама. Лабораторијски део огледа (трофакторијални) у којем је испитиван квалитет силажа, поред претходно наведена два фактора садржао је и трећи фактор истраживања који се односио на коришћење бактеријског инокуланта при силирању (без и са). У ту сврху је употребљен инокулант BioStabil Plus који садржи комбинацију хомоферментативних бактерија (*Lactobacillus plantarum* и *Enterococcus faecium*) и хетероферментативних бактерија (*Lactobacillus brevis*) у концентрацији од 5×10^{10} cfu по граму инокуланта. Наведени инокулант је примењен у количини од 0,005 г кг⁻¹ биомасе, у виду воденог раствора.

Сви третмани су силирани у три понављања, а узорковање силажа је обављено сукцесивно по фазама како су и силирани, након 90 дана, рачунајући од дана силирања дате комбинације (однос легуминоза и жита у смеши $\times$ фаза искоришћавања). За сваки узорак почетног материјала обављено је испитивање погодности биомасе за силирање, односно утврђивање пуферског капацитета и нивоа укупних шећера, на основу којих је израчунат однос ова два параметра. У циљу утврђивања квалитета силажа испитани су рН вредност, количина сирћетне и бутерне киселине (Wiegner, 1926), количина млечне киселине (рачунским путем) и количина амонијачног и растворљивог азота модификованом методом по Kjeldahl-у (Dulphy and Demarquilly, 1981).

У оквиру Weende система анализе из узорака почетног материјала и силажа одређен је стандардни хемијски састав према AOAC методама (2001). Детергент системом анализе одређени су: NDF влакна (Van Soest and Robertson, 1980), ADF (Acid Detergent Fiber) влакна (AOAC, 2001; 973.18), количина хемицелулозе-HCL (рачунским путем) и количина лигнина-ADL (Van Soest and Robertson, 1980). *In vitro* сварљивост суве материје одређена је мерењем остатка након сукцесивне хидролизе помоћу ензима пепсина и целулазе (De Boever et al., 1986). По методи Licitra et al. (1996) одређени су прави протеини и непротеински азот, затим нерастворљиви протеини, као и протеини везани за NDF и ADF, а на основу којих су по методи Fox et al. (2003) израчунате и приказане PA, PB₁, PB₂, PB₃ и PC фракције протеина. Рачунским путем, одузимањем количине сирових протеина, сирових масти и сировог пепела од 1000 g, одређена је количина укупних угљених хидрата (CHO) у почетном материјалу и силажама по

моделу NRC (2001), док су по методи Hall et al. (1999) растварањем у 80% етанолу одређени шећери мале молекулске масе - моносахариди и олигосахариди. На основу ових резултата, а према постојећој CNCPS шеми (Fox et al., 2003) неструктурни угљени хидрати приказани су кроз CA, CB₁, CB₂, CB₃ и CC фракције.

Статистичка обрада података обављена је анализом варијансе за шта је коришћен рачунарски програм STATISTICA-7.1 (StatSoft, 2006). Разлике између средњих вредности третмана тестиране су Fisher-овим тестом на нивоу значајности од 95%. Сви резултати су приказани табеларно или графиконима.

2.5. Резултати истраживања и дискусија. Дати су у шест потпоглавља, при чему се свако од њих састоји од више мањих целина, зависно од параметара које обрађује. Резултати су приказани текстом, табелама и графиконима, поређени са литературним изворима и дискутовани, уз тумачење промена и разлика између праћених параметара.

Принос зелене масе и суве материје (SM) је један од најважнијих показатеља продуктивности крмних биљака у одређеним агроеколошким условима производње. У обављеним испитивањима која су била предмет ове дисертације, утврђен је највећи принос зелене масе чистог усева овса у првој фази искоришћавања (59,7 т ха⁻¹), и највећи принос SM чистог усева овса у трећој фази искоришћавања (14,68 т ха⁻¹), у односу на сточни грашак и грахорицу у чистом усеву, као и на смеше летирињака и овса, у свим испитиваним фазама коришћења. У чистом усеву грахорице, кошеној у трећој фази развића остварен је најмањи принос зелене масе (20,0 т ха⁻¹) и SM (5,81 т ха⁻¹) у поређењу са испитиваним третманима. Највећи принос зелене масе и SM оствариле су смеше у којима је удео овса био највећи. Са растом и развићем биљака дошло је до смањења приноса зелене масе чистог усева овса и његових смеша са сточним грашком и грахорицом. Добијени резултати показују да су чисти усеви сточног грашка, грахорице и овса остварили висок удео у зеленој маси (>96,5%).

Фаза развића је са 95% значајности утицала на садржај SM у испитиваним смешама овса са сточним грашком и грахорицом. Просечне вредности за SM смеше показују да је највећи садржај суве материје установљен у фази када су се сточни грашак и грахорица налазили у фази наливања зрна у махунама (287,7 и 298,7 г кг⁻¹ SM) и исте су на граници оптималне влажности у силомаси за успешно силирање.

Испитивани фактори су за већину параметара хемијског састава и хранљиве вредности биомасе испољили сигнификантан утицај. Нарочито треба нагласити тренд повећања садржаја сирових протеина (SP) и смањења садржаја сирове целулозе (SC) у складу са повећањем удела легуминозне компоненте у смеси, као и тренд смањења садржаја SP и повећања садржаја SC упоредо са растом и развићем биљака (p<0,05), што је у складу са почетним хипотезама. Тако, на пример, са повећањем учешћа летирињаке у смеси дошло је до сигнификантног повећања садржаја SP (са 139,5 на 175,6 г кг⁻¹ за смешу са сточним грашком и са 125,9 на 152,8 г кг⁻¹ за смешу са грахорицом), укупних минералних материја-SPe (са 101,1 на 106,7 г кг⁻¹ за смешу са грахорицом) и калцијума (са 3,5 на 4,9 г кг⁻¹ за смешу са сточним грашком и са 3,9 на 5,1 г кг⁻¹ за смешу са грахорицом), и сигнификантног смањења садржаја SC (са 315,1 на 295,3 г кг⁻¹ за смешу са сточним грашком и са 341,2 на 326,6 г кг⁻¹ за смешу са грахорицом), SPe (са 104,6 на 98,5 г кг⁻¹ за смешу сточним грашком), безазотних екстрактивних материја-BEM (са 395,5 на 376,6 г кг⁻¹ за смешу са грахорицом) и фосфора (са 3,2 на 3,1 г кг⁻¹ за смешу са грахорицом).

Са растом и развићем биљака дошло је до статистички значајног смањења садржаја SP (са 164,7 на 149,6 г кг⁻¹ за смешу са сточним грашком), SPe (са 108,7 на 87,8 г кг⁻¹ за смешу са сточним грашком) и BEM (са 403,4 на 366,5 г кг⁻¹ за смешу са

грахорицом), и сигнификантног повећања садржаја SC (са 311,7 на 359,6 г кг⁻¹ за смешу са грахорицом), сирових масти-SMa (са 26,8 на 30,2 г кг⁻¹ за смешу са сточним грашком), BEM (са 393,5 на 434,1 г кг⁻¹ за смешу са сточним грашком) и фосфора (са 2,6 на 3,1 г кг⁻¹ за смешу са сточним грашком и са 2,7 на 3,4 г кг⁻¹ за смешу са грахорицом).

Испитивање садржаја ћелијског зида (ADF, NDF, хемицелулоза-HCL и лигнин-ADL) као и сварљивости биомасе испитиваних биљних врста и њихових смеша, нарочито су важне за практичну исхрану јер пружају максималан увид у реалну хранљиву вредност за разлику од претходно описаних и дискутованих параметара хемијског састава који представљају само потенцијалну хранљиву вредност. У том погледу највећи значај придаје се садржају лигнина који, инкорпорирајући се у кристалну целулозу, делује депресивно на сварљивост и коришћење оброка. У овим испитивањима утврђено је сигнификантно повећање садржаја лигнина упоредо са растом и развићем биљака (са 66,9 на 77,3 г кг⁻¹ за третман са сточним грашком и са 77,3 на 94,0 г кг⁻¹ за третман са грахорицом), услед чега је дошло и до статистички значајног смањења сварљивости (са 706,3 на 600,1 г кг⁻¹ за третман са сточним грашком и са 621,6 на 573,3 г кг⁻¹ за третман са грахорицом). Супротно томе, при повећању удела легуминозне компоненте у смеси дошло је до статистички значајног смањења садржаја лигнина у смеси са сточним грашком (са 78,0 на 73,8 г кг⁻¹), што је довело и до повећања сварљивости (са 630,0 на 687,9 г кг⁻¹).

Сигнификантан утицај испитиваних фактора на садржај сирових протеина у биомаси (из првог дела експеримента) у пракси исхране млечних говеда има ограничену применљивост због чињенице да се SP оброка састоје из више фракција које се разлажу различитом брзином и самим тим имају различити значај за преживаре. Због тога су у другом делу експеримента обављена детаљна испитивања садржаја тих фракција у зависности од утицаја испитиваних фактора. Треба нагласити да се код нас тек од скоро врше таква испитивања, због чега у овој дисертацији представљају значајну новину и допринос и струци и науци. У експерименту је утврђено смањење количине лако растворљивих протеина које чине непротеинска азотна једињења (РА фракција) у току развића биљака, тако да је њихова количина за смешу овса са грашком у фази наливања зрна 516,6 г кг⁻¹ SP, а за смешу овса са грахорицом у фази наливања зрна 448,9 г кг⁻¹ SP. При томе треба нагласити да се ради о протеинској фракцији са највећом брзином разградње, која учествује у укупном садржају протеина биомасе са највећим процентом (просечно за биомасе у фази почетка цветања грашка 542,3 г кг⁻¹ SP а за биомасе на почетку цветања грахорице 511,7 г кг⁻¹ SP). Супротно томе, утврђено је повећање фракције правих протеина који имају средњу разградивост у бурагу (PB₂ фракција) у току развића биљака, па су у фази наливања зрна за биомасе са грашком утврђене просечне вредности од 351,2 г кг⁻¹ SP а за биомасе са грахорицом 415,3 г кг⁻¹ SP. Количински је најмање заступљена фракција растворљивих правих протеина који се веома брзо разлажу у бурагу (PB₁ фракција), па самим тим и најмање утиче на степен коришћења укупних протеина у оброку. Овде треба издвојити чињеницу да лептирњаче садрже неколико пута већу количину фракције PB₁ протеина у односу на овас (1,7 г кг⁻¹ SP за сточни грашак и 2,4 г кг⁻¹ SP за грахорицу према 0,4 г кг⁻¹ SP за овас). Фракција PB₃ (фракција протеина која се у бурагу веома мало разлаже) такође је мало заступљена па је и од малог значаја за праксу исхране преживара. Најмање количине ове фракције утврђене су у третманима у фази наливања зрна, и то за биомасе са сточним грашком просечно 27,6 г кг⁻¹ SP а за биомасе са грахорицом 21,5 г кг⁻¹ SP. Сигнификантан утицај испитиваних фактора и повећање заступљености PC фракције (фракција сирових протеина која је повезана са лигнином и потпуно

недоступна за животиње) утврђен је само за смеше са грашком али не и са грахорицом.

Када су у питању угљени хидрати у испитиваним биомасама, њихово приказивање и дискутовање у виду сирове целулозе и безазотних екстрактивних материја, такође су недовољни за праксу исхране преживара. Зато су у овој дисертацији обављена детаљна испитивања садржаја појединих фракција угљених хидрата, због њиховог реалног и практичног значаја за исхрану, док за научна истраживања код нас представљају новину. Лакорастворљиви и брзоразградиви угљени хидрати, односно моно и дисахариди (СА фракција) у пракси имају велики утицај на ток буражне ферментације и рН вредност, мада су у овом огледу заступљени у мањој количини. Са зрењем биљака утврђено је сигнификантно смањење заступљености ове фракције, па су најмање количине утврђене у фази наливања зрна (просечно за биомасе са грашком $211,7 \text{ г кг}^{-1}$ СНО и за биомасе са грахорицом $114,4 \text{ г кг}^{-1}$ СНО) у односу на почетак цветања (просечно за биомасе са грашком $278,4 \text{ г кг}^{-1}$ СНО и за биомасе са грахорицом $189,1 \text{ г кг}^{-1}$ СНО). СВ₁ фракција (брзоразградиви угљени хидрати и скроб) у експерименту је била најмање заступљена, с обзиром да се полимеризација моносахарида и синтеза скроба врши тек при крају развића крмних биљака. Насупрот томе, најзаступљенија фракција је била СВ₃ (спороразградиви угљени хидрати, доступни део ћелијског зида), за коју су утврђене сигнификантно најмање количине у биомасама са највећим учешћем лептирњаче ($310,5 \text{ г кг}^{-1}$ СНО за третмане са сточним грашком и $324,6 \text{ г кг}^{-1}$ СНО за третмане са грахорицом). Овај тренд се може објаснити готово двоструко мањим садржајем СВ₃ фракције у лептирњачама у односу на овас. За разлику од тога, количина СВ₂ фракције (невлакнасти угљени хидрати који се разлажу средњом брзином) била је више заступљена у лептирњачама него у овсу, услед чега је у смешама са максималним уделом лептирњаче забележен сигнификантно највећи удео ове фракције ($183,9 \text{ г кг}^{-1}$ СНО за смеше са сточним грашком и $224,5 \text{ г кг}^{-1}$ СНО за смеше са грахорицом). Заступљеност СС фракције (потпуно неразградиви, недоступни део ћелијског зида повезан са лигнином) сигнификантно је расла са одмицањем фазе развића (са $163,6$ на $185,6 \text{ г кг}^{-1}$ СНО за третмане са сточним грашком и са $185,5$ на $224,5 \text{ г кг}^{-1}$ СНО за третмане са грахорицом). Тренд ових резултата је у складу са сигнификантним повећањем садржаја лигнина у току зрења биљака, и истовременог смањења сварљивости, о чему је било речи на претходној страни.

У другом делу експеримента који се односио на силаже од чистих култура и смеша са различитим уделом лептирњача и овса, поред претходно испитиваних фактора (фаза развића и међусобни однос лептирњаче и жита) укључен је и трећи фактор – употреба инокуланта, због његовог значаја и утицаја пре свега на параметре квалитета силажа, али и на хемијски састав и хранљиву вредност истих.

Статистичком анализом добијених резултата установљено је да примена инокуланта није значајно утицала на садржај SM, док су структура смеше и фаза развића оствариле значајан утицај на SM. При испитивању садржаја сирових протеина, утврђено је сигнификантно повећање њихове количине са повећањем учешћа легуминозне компоненте у смешама (са $118,7$ на $183,5 \text{ г кг}^{-1}$ SM за третмане са сточним грашком и са $117,8$ на $160,6 \text{ г кг}^{-1}$ SM за третмане са грахорицом). Коришћење инокуланта је обезбедило већу очуваност протеина у односу на нетретиране силаже, што се објашњава мањим губицима испарљивих азотних материја при сушењу узорака ($156,2 : 150,1 \text{ г кг}^{-1}$ SM за третмане са грашком и $142,5 : 140,7 \text{ г кг}^{-1}$ SM за третмане са грахорицом), при чему је сигнификантност разлика доказана само за третмане са грахорицом. Фаза развића је сигнификантно утицала на садржај сирове целулозе, чија се количина повећавала зрењем биљака (са $351,9$ на $368,6 \text{ г кг}^{-1}$ SM за третмане са

сточним грашком и са 332,4 на 367,3 г кг⁻¹ SM за третмане са грахорицом). Фактор инокулације није утицао на овај хемијски параметар с обзиром да бактерије млечне киселине које су у саставу коришћеног инокуланта не могу да разлажу целулозу. Међусобни однос лептирњаче и овса у смеши утицао је статистички значајно на количину SMa, чија се количина повећавала упоредо са повећањем легуминозне компоненте (са 351,9 на 368,6 г кг⁻¹ SM за третмане са сточним грашком и са 332,4 на 367,3 г кг⁻¹ SM за третмане са грахорицом), док се количина SMa, BEM и SPe сигнификантно смањивала.

При испитивању компоненти ћелијског зида, утврђено је сигнификантно смањење свих параметара (ADF, NDF, HCL, ADL) упоредо са повећањем удела лептирњаче у смеши, при чему треба истаћи смањење удела лигнина (са 91,7 на 81,6 г кг⁻¹ CHO за третмане са сточним грашком и са 102,1 на 93,1 г кг⁻¹ CHO за третмане са грахорицом). Резултат тога је сигнификантно повећање *in vitro* сварљивости силажа, и то за третмане са сточним грашком са 501,3 на 578,4 г кг⁻¹ SM, а за третмане са грахорицом са 507,9 на 587,0 г кг⁻¹ SM. Утицај коришћеног инокуланта на наведене параметре се није испољио, што је претходно објашњено изостанком целулолитичких ензима код бактерија млечне киселине. Насупрот томе, зрењем биљака дошло је до сигнификантног повећања количине NDF, HCL и ADL, услед чега је дошло до значајног смањења *in vitro* сварљивости (са 587,0 на 533,5 г кг⁻¹ SM за смеше са сточним грашком и са 590,4 на 539,8 г кг⁻¹ SM за смеше са грахорицом).

И у овом делу експеримента количински је најзаступљенија РА фракција протеина, за коју је утврђено сигнификантно повећање са порастом удела легуминозне компоненте у смеши (са 536,1 на 618,8 г кг⁻¹ SP за силаже са сточним грашком и са 527,9 на 596,9 г кг⁻¹ SP за силаже са грахорицом). Супротно од тога, пораст удела лептирњаче у смеши је довео до статистички значајног смањења количине PB₁, PB₃ и PC фракције. Фаза развића биљака је највише утицала на фракцију PB₂ за коју је утврђено сигнификантно повећање од фазе почетка цветања до фазе наливања зрна (са 213,7 на 258,2 г кг⁻¹ SP за смеше са сточним грашком и са 226,2 на 263,5 г кг⁻¹ SP за смеше са грахорицом). Инокулација биљног материјала је имала мали утицај на заступљеност фракција SP, због интеракције више хемијских параметара (SM, pH, базни минерални елементи).

Инокулација биљног материјала је довела до смањења количине CHO што се објашњава интензивнијим трошењем истих у току ферментације, мада је сигнификантност потврђена само за смеше са грахорицом. Повећање удела лептирњаче у смеши довело је до сигнификантног смањења садржаја CHO (са 734,5 на 692,6 г кг⁻¹ SM за смеше са сточним грашком и са 726,4 на 691,4 г кг⁻¹ SM за смеше са грахорицом), док је зрењем биљака дошло до статистички значајног повећања CHO (са 698,9 на 718,0 г кг⁻¹ SM за смеше са сточним грашком и са 691,7 на 705,3 г кг⁻¹ SM за смеше са грахорицом). И у овом делу експеримента количински најважније фракције су биле CB₂ и CB₃. За CB₂ је утврђено сигнификантно повећање са повећањем учешћа легуминозне компоненте у смеши (са 263,2 на 300,0 г кг⁻¹ CHO за смеше са сточним грашком и са 284,4 на 311,6 г кг⁻¹ CHO за смеше са грахорицом), што се објашњава као последица релативних промена у међусобном односу појединих фракција CHO, и то због интензивног трошења пре свега фракције CA и CB₁ у процесу силажне ферментације, без обзира на њихову релативно малу заступљеност у силажама. Насупрот томе, количина CB₃ се смањивала са повећањем удела лептирњаче у смеши (са 430,7 на 346,3 г кг⁻¹ CHO за смеше са сточним грашком и са 407,9 на 321,6 г кг⁻¹ CHO за смеше са грахорицом). Фракција CC је практично без значаја за ферментацију јер се ради о неразградивом и недоступном делу ћелијског зида, повезаног са

лигнином. За овај параметар утврђен је сигнификантан пораст упоредо са зрењем биљака, у складу са трендом из првог дела експеримента.

Киселост силаже (pH) је заједнички параметар квалитета за различите методе којима се оцењује квалитет силаже. У овом експерименту су утврђене мање вредности pH у инокулисаним силажама у односу на силаже са природном микрофлором (4,49 : 4,58 за силаже са грашком и 4,48 : 4,54 за силаже са грахорицом). Инокулисане силаже су имале сигнификантно мањи садржај растворљивог азота (61,7 : 64,7 % SP за силаже са сточним грашком и 59,8 : 61,8 % SP за силаже са грахорицом) што је врло значајно за ефикасније коришћење азотних материја из силаже у преживара. Уједно, то се сматра и једним од најважнијих резултата инокулације силаже. Зрењем биљака дошло је сигнификантног повећања продукције млечне киселине (са 98,2 на 107,1 г кг⁻¹ SM за силаже са сточним грашком и са 108,8 на 114,2 г кг⁻¹ SM за силаже са грахорицом), што се може приписати погоднијим условима за млечнокиселинску ферментацију, односно већем садржају суве материје у силажама од касније кошеног (зрелијег) материјала. Инокулисане силаже су имале статистички мању количину сирћетне киселине (42,2 : 46,6 г кг⁻¹ SM за силаже са сточним грашком и 50,7 : 54,8 г кг⁻¹ SM за силаже са грахорицом), што је управо очекивани резултат употребе инокуланта на бази хомоферментативних бактерија млечне киселине. Квалитет свих силажа је оцењен Flieg-овом и DLG методом. Према DLG методи све силаже су оцењене највишом, односно првом класом. Према Flieg-овој методи са порастом удела сточног грашка у силажама дошло је до поправљања квалитета са друге на прву класу, док су све силаже са грахорицом оцењене другом класом. Без обзира на те разлике, а на основу коришћених метода, употребна вредност силаже је на високом нивоу.

2.6. Закључак. На основу обављених истраживања, статистичком анализом добијених података, поређењем са сличним истраживањима из литературе и тумачењем резултата, кандидат је дошао до већег броја закључака, који су значајни за науку и праксу, и у складу су са постављеним циљевима и хипотезама.

Принос зелене масе здружених усева испитиваних једногодишњих легуминоза – сточног грашка и грахорице са овсом показао је високу зависност у односу на структуру смеше и фазу развића. Са растом и развићем биљака дошло је до сигнификантног смањења приноса зелене масе чистог усева овса и његових смеша са сточним грашком и грахорицом.

Испитивани фактори су за већину параметара хемијског састава и хранљиве вредности биомасе испољили сигнификантан утицај. Нарочито треба нагласити тренд повећања садржаја силових протеина и смањења садржаја силових целулоза у складу са повећањем удела легуминозне компоненте у смеши, као и тренд смањења садржаја силових протеина и повећања садржаја силових целулоза упоредо са растом и развићем биљака ($p < 0,05$), што је у складу са почетним хипотезама.

У експерименту је утврђено сигнификантно повећање садржаја лигнина упоредо са растом и развићем биљака услед чега је дошло и до статистички значајног смањења сварљивости. Супротно томе, при повећању удела легуминозне компоненте у смеши дошло је до статистички значајног смањења садржаја лигнина у смеши са сточним грашком што је довело и до повећања сварљивости.

У току развића биљака дошло је до сигнификантног смањења количине РА фракције SP и сигнификантног повећања PB₂ фракције, што је значајно за праксу с обзиром да се ради о количински доминантним протеинским фракцијама које највише утичу на ток промена и коришћења SP. Количински су најмање биле заступљене PB₁ и PB₃ фракције, па самим тим су и најмање утицале на степен коришћења протеина.

Са зрењем биљака дошло је до сигнификантног смањења заступљености СА фракције. СВ₁ фракција у експерименту је била најмање заступљена, с обзиром да се полимеризација моносахарида и синтеза скроба врши тек при крају развића крмних биљака. Насупрот томе, најзаступљенија фракција је била СВ₃ за коју су утврђене сигнификантно најмање количине у биомасама са највећим учешћем лептирњача, што се објашњава готово двоструко мањим садржајем СВ₃ фракције у лептирњачама у односу на овас. Супротно томе, количина СВ₂ фракције била је већа у лептирњачама него у овсу, услед чега је у смешама са максималним уделом легуминоза забележен сигнификантно највећи удео ове фракције. Количина СС фракције сигнификантно је расла са одмицањем фазе развића што је у складу са сигнификантим повећањем садржаја лигнина и смањењем сварљивости у току зрења биљака.

Коришћење инокуланта није статистички значајно утицало на садржај SM у силажама, за разлику од структуре смеше и фазе развића које су оствариле значајан утицај. Утврђено је сигнификантно повећање количине SP у силажама са повећањем учешћа легуминозне компоненте у смешама. Инокулацијом силажа постигнута је већа очуваност протеина у односу на нетретиране силаже, што се објашњава мањим губицима испарљивих азотних материја при сушењу узорака. Фактор инокулације није сигнификантно утицао на садржај сирове целулозе у силажама, с обзиром да бактерије млечне киселине не садрже целулазе. Насупрот томе, зрењем биљака количина сирове целулозе, NDF, HCL и ADL се сигнификантно повећавала.

Инокулација биљног материјала је имала мали утицај на заступљеност фракција SP, што се објашњава интеракцијом више хемијских параметара (SM, pH, базни минерални елементи). Количински најзаступљенија протеинска фракција у силажама је PA, за коју је утврђено сигнификантно повећање са порастом удела легуминозне компоненте у силажама. Супротно од тога, пораст удела лептирњаче у силажи је довео до статистички значајног смањења количине PB₁, PB₃ и PC фракције. Фаза развића биљака је највише утицала на фракцију PB₂ за коју је утврђено сигнификантно повећање од фазе почетка цветања до фазе наливања зрна.

Инокулација биљног материјала је довела до смањења количине СНО што се објашњава интензивнијим трошењем истих у току ферментације, мада је сигнификантност потврђена само за смеше са грахорицом. Повећање удела лептирњаче у силажи довело је до сигнификантног смањења садржаја СНО, док је зрењем биљака дошло до статистички значајног повећања СНО. И у овом делу експеримента количински најважније фракције су биле СВ₂ и СВ₃. За СВ₂ је утврђено сигнификантно повећање са повећањем учешћа легуминозне компоненте у силажи, што се објашњава релативним променама у међусобном односу појединих фракција СНО услед интензивног трошења пре свега фракције СА и СВ₁ у процесу силажне ферментације. Насупрот томе, количина СВ₃ се смањивала са повећањем удела лептирњаче у силажи. За СС фракцију утврђен је сигнификантан пораст упоредо са зрењем биљака, у складу са трендом из првог дела експеримента.

У експерименту су утврђене мање вредности pH у инокулисаним силажама у односу на силаже са природном микрофлором, захваљујућу чему су инокулисане силаже имале и сигнификантно мањи садржај растворљивог азота, што је врло значајно за ефикасније коришћење азотних материја из силаже у преживара. Уједно, то се сматра и једним од најважнијих резултата инокулације силаже. Зрењем биљака дошло је до сигнификантног повећања продукције млечне киселине што се објашњава погоднијим условима за млечнокиселинску ферментацију, односно већим садржајем суве материје у силажама од касније кошеног (зрелијег) материјала. Инокулисане силаже су имале статистички мању количину сирћетне киселине, што је такође очекивани резултат употребе инокуланта на бази хомоферментативних бактерија

млечне киселине. Према DLG методи све силаже су оцењене првом класом. Према Flieg-у, са порастом удела сточног грашка у силажама дошло је до поправљања квалитета са друге на прву класу, док су све силаже са грахорицом оцењене другом класом. Без обзира на те разлике, употребна вредност силаже је на високом нивоу.

На основу резултата истраживања из ове дисертације може се извести генерални закључак да су испитивани фактори у значајној мери допринели променама хемијског састава, хранљиве вредности и квалитета, како биомасе тако и силажа чистих култура односно смеша једногодишњих легуминоза и жита. При томе, постигнути резултати и испољени трендови су у складу са циљевима и хипотезама постављеним на почетку извођења огледа.

Применљивост ових истраживања је највећа у делу испитивања фракција сирових протеина и угљених хидрата у биомаси и силажи од чистих култура и смеша овса, сточног грашка и грахорице, коришћењем CNCPS система (Fox et al., 2003). Детаљнијим познавањем хемијског састава и доступности појединих параметара хранљиве вредности хранива могу се постићи већа производња, добро здравље, дужи производни век и боља репродукција животиња.

Литература. У дисертацији је цитирано 245 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 с обзиром да је производња довољних количина квалитетне кабасте хране задњих година све више ограничена великим климатским променама на планети. Осим тога, реализована истраживања на одабраним крмним културама код нас до сада нису спроведена на тако великом броју параметара, захваљујући чему се добија много комплекснија слика о хемијском саставу, хранљивој и употребној вредности тако произведене хране за животиње. Резултати добијени проучавањем варирања фракција протеина и угљених хидрата под утицајем планираних фактора код испитиваних култура, не само да код нас представљају новину, већ имају директну применљивост у складу са захтевима Cornell Net Carbohydrate Protein System. Захваљујући томе, резултати ове дисертације могу се укључити у савремене програме за оптимизацију obroка за преживаре и пружити додатне и још сигурније аргументе за избор најоптималнијег решења (комбинације испитиваних фактора).

У току израде дисертације, у циљу правилног тумачења резултата и доношења закључака, кандидат је дефинисао предмет и програм истраживања, изабрао одговарајући материјал и актуелне методе, поставио циљ и хипотезе, проучио велики број претходних истраживања домаћих и страних аутора који су се бавили истом или сличном проблематиком, спровео истраживања, прикупио резултате, применио адекватне математичко – статистичке методе за анализу, поредио их са вредностима из истраживања других аутора и дискутовао у циљу извођења закључака. Постигнути резултати и испољени трендови су у складу са циљевима и хипотезама постављеним на почетку извођења огледа. Детаљном анализом дисертације Комисија закључује да је Кандидат у потпуности реализовао све што је планирано у пријави дисертације.

На основу изнетог, Комисија позитивно оцењује урађену докторску дисертацију Миломира Благојевића, дипл. инж., поднете под насловом „Утицај међусобног односа, фазе развића и инокулације на квалитет силаже једногодишњих легуминоза и жита“ и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, да прихвати ову оцену и омогући кандидату јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

1. Др Ненад Ђорђевић, редовни професор
Универзитет у Београду - Пољопривредни Факултет
Исхрана домаћих и гајених животиња

2. Др Горан Грубић, редовни професор
Универзитет у Београду - Пољопривредни Факултет
Исхрана домаћих и гајених животиња

3. Др Саво Вучковић, редовни професор
Универзитет у Београду - Пољопривредни Факултет
Крмно биље и травњаци

4. Др Бојан Стојановић, ванредни професор
Универзитет у Београду - Пољопривредни Факултет
Исхрана домаћих и гајених животиња

5. Др Јордан Марковић, научни сарадник
Институт за крмно биље Крушевац
Биотехничке науке - пољопривреда

Прилог:

Рад објављен у часопису са SCI листе:

Blagojević, M., Đorđević, N., Dinić, B., Vasić, T., Milenković, J., Petrović, M., Marković, J. (2017): Determination of Green Forage and Silage Protein Degradability of Some Pea (*Pisum sativum* L.) + Oat (*Avena sativa* L.) Mixtures Grown in Serbia. *Journal of Agricultural Sciences*, 23, 415-422. e-ISSN: 2148-9297; P-ISSN: 1300-7580.
www.agri.ankara.edu.tr/journal