

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Број захтева: 33/8-7.1.

Датум: 30.05.2018.

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 **АЛЕКСАНДАР (Божидар) МИЛЕТИЋ**, студент докторских студија на студијском програму Пољопривредне науке, модул Зоотехника, пријавио је докторску дисертацију под називом: "Ефекти коришћења сојине меласе у оброцима за краве у лактацији",

из научне области Зоотехника.

Универзитет је дана 18.11.2015. године, својим актом 02-08 Број: 61206-4877/2-15 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила: **"ЕФЕКТИ КОРИШЋЕЊА СОЈИНЕ МЕЛАСЕ У ОБРОЦИМА ЗА КРАВЕ У ЛАКТАЦИЈИ"**.

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације образована је на седници одржаној 27.03.2018. године, одлуком Факултета број 33/6-7.1., у саставу:

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

1. др Бојан Стојановић, ванредни 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 Ненад Ђорђевић, редовни професор, Исхрана домаћих и гајених животиња, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет,
4. др Весна Давидовић, доцент, Анатомија и физиологија домаћих и гајених животиња, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет,
5. др Михаило Радивојевић, доцент, Физиологија и исхрана преживара, Факултет еколошке пољопривреде Универзитет Едуконс у Сремској Каменици.

Наставно-научно веће факултета прихватило је реферат Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације на седници одржаној 30.05.2018. године.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Милица Петровић

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 33/8-7.1.
Датум: 30.05.2018. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу члана 44. Статута Пољопривредног факултета, Наставно-научно веће Факултета на седници одржаној 30.05.2018. године, донело је

О Д Л У К У

I ПРИХВАТА СЕ извештај о позитивној оцени урађене докторске дисертације коју је поднео **АЛЕКСАНДАР МИЛЕТИЋ**, дипл. инж. и одобрава јавна одбрана дисертације по добијању сагласности од Универзитета, под насловом: **«ЕФЕКТИ КОРИШЋЕЊА СОЈИНЕ МЕЛАСЕ У ОБРОЦИМА ЗА КРАВЕ У ЛАКТАЦИЈИ»**.

II Универзитет је дана 18.11.2015. године, актом 02-08 број 61206-4877/2-15, дао сагласност на предлог теме докторске дисертације.

III Рад кандидата у часопису међународног значаја:

Miletić, A., Stojanović, B., Grubić, G., Stojić, P., Radivojević, M., Joksimović - Todorović, M., Popovac, M., Obradović, S. (2017): The soybean molasses in diets for dairy cows. *Mljekarstvo* 67 (3), 217-225. doi: 10.15567/mljekarstvo.2017.0306

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
ДЕКАН**

(Проф. др Милица Петровић)

Доставити: кандидату, ментору др Бојану Стојановићу, ванредном професору, Институту за зоотехнику, Студентској служби и архиви.

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА**

Датум: 30.03.2018. год.

Предмет: Извештај Комисије о оцени урађене докторске дисертације кандидата Александра Милетића, дипл. инж.

Одлуком Наставно-научног већа факултета број 33/6-7.1 од 27.03.2018. године именовани смо у Комисију за оцenu урађене докторске дисертације **Александра Милетића, дипл. инж.**, поднете 27.02.2018. године под насловом „**ЕФЕКТИ КОРИШЋЕЊА СОЈИНЕ МЕЛАСЕ У ОБРОЦИМА ЗА КРАВЕ У ЛАКТАЦИЈИ**“. Пошто смо проучили докторску дисертацију, подносимо следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ОПШТИ ПОДАЦИ О ДИСЕРТАЦИЈИ

Докторска дисертација Александра Милетића, дипл. инж., написана је на укупно 182 стране, и садржи 48 табела, 23 графикона, 37 фотографија, као и 35 прилога. Текст дисертације укључује и 173 референце.

Докторска дисертација садржи: Насловну страну на српском и енглеском језику; Информације о ментору и члановима комисије; Резиме на српском и енглеском језику; Списак скраћеница коришћених у тексту; Садржај; Текст по поглављима; Литературу; Прилоге; Биографију и Изјаве. Текст дисертације се састоји из следећих поглавља: Увод (стр. 1 - 3), Научни циљ истраживања (стр. 4), Преглед литературе (стр. 5 - 68), Полазне хипотезе у истраживању (стр. 69), Материјал и методе истраживања (стр. 70 - 87), Резултати истраживања и дискусија (стр. 88 - 131), Закључак (стр. 132 - 135), Литература (стр. 136 - 154), Прилози (стр. 155 - 177), Биографија (178. стр.), Изјава о ауторству (179. стр.), Изјава о истовестности штампане и електронске верзије докторске дисертације (180. стр.) и Изјава о коришћењу (181-182. стр.).

2. ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ДИСЕРТАЦИЈЕ

2.1. Увод. Висока производња млека условљава потребу за хранивима разноврсног порекла, која квалитетом и специфичним особинама могу допринети повећању ефикасности коришћења производних потенцијала, побољшању репродуктивних способности и очувању здравља животиња. Исхрана крава специјализованих млечних раса, данас представља велики изазов, нарочито када је у питању снабдевеност енергијом. Обезбеђеност енергијом је један од основних ограничавајућих фактора у интензивној производњи млека. Дефицит енергије у одређеним фазама лактације може да доведе до озбиљних поремећаја у производњи, здрављу и репродукцији. У поступку конципирања оброка за високопроизводне краве, важно је обезбедити довољну количину лако доступне енергије у облику једноставних шећера, чијом се брзом разградњом, буражна микрофлора снабдева потребном енергијом за свој развој. Оптимално балансирање структурних и неструктурних угљених хидрата у obroку високопроизводних крава је неопходно за стабилну руминалну ферментацију и високу производњу млека. Будући да обим и интензитет

ферментације и микробијелне синтезе у бурагу, у великој мери зависи од доступних угљених хидрата, ова компонента оброка би требало да укључује и фракције брзе и умерене сварљивости, како би се омогућило континуирано и стабилно снабдевање енергијом. Овако формулисани оброци су предуслов оптималне ферментације и микробијелне продукције у бурагу, што представља значајан извор енергије и протеина за производњу млека. У том смислу, посебно интересантно храниво представља сојина меласа. Она се добија као споредни производ при производњи сојиног протеинског концентрата, одвајањем растворљивих шећера у разблаженом етанолу. За разлику од осталих високовредних хранива добијених директном прерадом зрна соје, а која представљају извор квалитетних протеина, сојина меласа се може сматрати добрим извором енергије. То се објашњава високом концентрацијом лако доступних угљених хидрата - шећера у овом храниву, што га чини потенцијално врло интересантним у исхрани крава у лактацији. Истраживања која су везана за употребу сојине меласе у исхрани музних крава готово и да нема, мада је установљено да укључивање сојине меласе у оброке за товну јунад, повољно утиче на остварене дневне прирасте. У нашим условима производње, сојина меласа представља ново храниво, које има потенцијал у исхрани крава у лактацији.

2.2. Научни циљ истраживања. Основни циљ овог истраживања био је детерминисање утицаја сојине меласе у оброцима за исхрану крава у лактацији, на поједине производне и физиолошке показатеље, и да на основу добијених резултата, укаже на могућност, ефекте и значај коришћења овог хранива. Сојина меласа је храниво, чија употреба у исхрани музних крава, до сада није значајније истраживана. Знатно присутнија и обимнија истраживања се односе на ефекте укључивања меласе шећерне репе и шећерне трске у оброке за музне краве. Треба нагласити да се ради о сродним, али ипак различитим хранивима, како у погледу порекла, технологије добијања, тако и у погледу хемијског састава. Имајући у виду сталну потребу за унапређењем производње млека, обезбеђењем квалитетне исхране, побољшањем репродукције и очувањем здравља музних крава, циљеви истраживања су обухватили: утврђивање могућности укључивања сојине меласе у комплетно мешане оброке за краве у лактацији; утврђивање ефекта укључивања сојине меласе у комплетно мешане оброке за краве у лактацији, на принос и хемијски састав млека; испитивање утицаја коришћења сојине меласе у оброцима за краве у лактацији, на важније показатеље метаболичког профила; испитивање утицаја коришћења сојине меласе у комплетно мешаним оброцима за музне краве, на важније параметре буражног садржаја; детерминисање ефекта укључивања меласе од соје на оцену телесне кондиције крава у лактацији. На основу утврђених резултата, разматрана је могућност и начин употребе сојине меласе у исхрани музних крава, и формулисани закључци о оправданости употребе овог хранива у исхрани крава у лактацији. Имајући у виду одсуство истраживања коришћења сојине меласе у исхрани музних крава, резултати овог истраживања су поређени са резултатима употребе меласе шећерне репе или шећерне трске.

2.3. Преглед литературе. У овом поглављу детаљно су обрађени резултати истраживања других аутора који су везани за циљ и предмет дисертације, при чему је коришћено 174 литературних извора. Доступни литературни извори су груписани и приказани у оквиру три основна подпоглавља: **3.1. Угљени хидрати и њихов значај у исхрани животиња**, које обухвата два дела, и то 3.1.1. *Угљени хидрати у исхрани крава у лактацији*, и 3.1.2. *Нижи угљени хидрати у исхрани крава*; **3.2. Основне особине меласе као хранива за преживаре**, које се састоји из целина 3.2.1. *Хемијски*

састав меласе шећерне репе и шећерне трске, и 3.2.2. Хемијски састав сојине меласе; **3.3. Ефекти примене шећера и меласе у исхрани високопроизводних крава у лактацији**, које се састоји из пет целина, и то 3.3.1. Утицај коришћења шећера и меласе на принос и хемијски састав млека, где је као посебан део 3.3.1.1. разматран Утицај коришћења шећера и меласе на однос концентрације масти и протеина у млеку; 3.3.2. Утицај коришћења шећера и меласе у оброцима за краве, на ефикасност искоришћавања хране за производњу млека, 3.3.3. Утицај коришћења шећера и меласе у исхрани музних крава, на биохемијске параметре крви, 3.3.4. Утицај коришћења шећера и меласе у исхрани крава у лактацији, на параметре интратруминалне средине и 3.3.5. Утицај коришћења шећера и меласе у оброцима, на телесну кондицију крава.

Детаљно је приказана подела угљених хидрата са аспекта хемијске структуре, као и доступности за искоришћавање код животиња преживара. Посебно је обрађена улога и значај структурних и неструктурних угљених хидрата у исхрани крава у лактацији, као и специфичности њиховог искоришћавања у румену. Дата је актуелна класификација фракција угљених хидрата према брзини разградње у бурагу која је дефинисана у оквиру Cornell Net Carbohydrate and Protein System - CNCPS (Tylutki et al., 2008). У овом моделу угљени хидрати су класификовани у 8 група, у зависности од начина и интензитета њихове метаболичке трансформације и доступности за преживаре. Приказан је просечан садржај појединих фракција структурних и неструктурних угљених хидрата у хранивима која се користе у исхрани музних крава, као и нормативи које треба да обезбеде оптимално избалансирани оброци. Наглашено је да скроб и влакна представљају примарне угљене хидрате у исхрани крава у лактацији, али да и шећери могу бити добар алтернативан извор енергије, и да је њихов утицај на ферментацију у бурагу и продуктивност животиња од великог значаја приликом састављања оброка. Разградња шећера у бурагу је потпуна, и њихова стопа ферментације се креће од 264 до 738 %/h. За разлику од шећера, ефикасност разградње скроба у бурагу је нижа, и зависи од његове структуре и начина обраде хранива.

Хранива која су богата шећерима могу представљати значајан додатни извор енергије за краве у раној лактацији, јер повећавају концентрацију укупне енергије у obroку, као и садржај лако искористиве енергије у бурагу. Основна карактеристика сојине меласе се огледа у садржају лако доступних угљених хидрата, односно шећера. Међутим, заступљеност појединих шећера у сојиној меласи значајно се разликује од заступљености шећера у другим меласама. Меласа од соје се одликује мањим садржајем дисахарида - сахарозе (18,5%) у односу на репину меласу, али знатно већим садржајем олигосахарида - рафинозе (25,5%) и стахиозе (34,2%).

У поступку конципирања оброка за краве у лактацији и нормирања количине угљених хидрата, неопходно је уважавати критеријуме везане за разградивост скроба у бурагу и садржај шећера, који су потребни за нормално снабдевање руминалне микрофлоре енергијом. Већа количина споро разградивог скроба из зрна кукуруза у obroку, захтева и већу количину шећера, како би биле задовољене енергетске потребе руминалне микрофлоре. Употреба шећера у исхрани крава у лактацији може да повећа концентрацију бутирата у бурагу и да смањи моларни удео пропионата. Брзом ферментацијом сахарозе у бурагу, производи се иста количина ацетата, смањује концентрација пропионата и производи већа количина бутирата у поређењу са споријом ферментацијом скроба. Са друге стране, руминални микроорганизми који ферментишу шећере, утичу на активност микробијелне популације која разлаже влакна. Употреба хранива са високим уделом шећера у оброцима крава у лактацији, може смањити сварљивост влакана, снижавањем руминалне рН вредности. У оптимално формулисаним оброцима, шећери не морају да утичу на смањење рН вредности у бурагу. Већи број истраживања указује да се рН вредност у бурагу не

мења, или показује тенденцију повећања, када се скроб делимично замени сахарозом. Употреба шећера у исхрани крава у лактацији, повећава промет материја у бурагу и производњу микробијелне масе, тако да мање органске материје остаје на располагању за производњу испарљивих масних киселина. Микробиолошка синтеза гликогена из сахарозе у бурагу представља краткорочну енергетску залиху, што привремено редукује производњу испарљивих масних киселина, доприносећи већој буражној рН вредности. На тај начин, успоравање ферментације, производњом гликогена може да ублажи утицај шећера на руминалну рН вредност. Шећери у исхрани музних крава, могу да побољшају ефикасност искоришћавања азота у бурагу, при чему повећана снабдевеност буражних микроорганизама лако доступним шећерима, смањује концентрацију амонијачног азота у течном садржају бурага и повећава принос протеина млека. Руминални микроорганизми који користе шећере за синтезу микробијелног протеина, имају потенцијал да брже напусте румен са течним садржајем бурага, и буду ефикасније искоришћени за синтезу протеина млека.

Укључивање шећера, уместо дела скроба, у оброцима за краве у лактацији, нема утицаја на производњу млека, или је производња млека повећана додавањем шећера у оброк до одређене концентрације, док по неким истраживањима, долази и до смањења приноса млека. Већи број истраживања указује да се код музних крава, на оброцима са додатим шећерима, повећао, или је постојала тенденција повећања приноса млечне масти. Оптимално учешће шећера, које има позитиван ефекат на конверзију конзумиране СМ и ОМ оброка, за производњу млека, износи до 5% у СМ. Делимична замена зрна кукуруза, сахарозом из меласе у obroку крава у лактацији, повећава ферментацију ОМ и синтезу микробијелног протеина у бурагу, на рачун амонијачног азота, што последично доводи до смањења концентрације урее у крви. Делимична замена скроба, шећером из меласе у obroку крава у лактацији, смањује моларни удео пропионата у садржају бурага, или он остаје непромењен, што има за последицу нешто нижи садржај глукозе у плазми. Брзо ферментабилни угљени хидрати у исхрани крава у лактацији, могу повећати моларну пропорцију бутерне киселине у бурагу, која стимулише развој буражних папила, чиме се повећава капацитет апсорпције испарљивих масних киселина и спречава смањење буражне рН вредности. Додавање меласе у концентрацији до 10 % СМ оброка, утиче позитивно на оцену телесне кондиције крава током првих 100 дана лактације, док веће учешће меласе има неповољан ефекат на ОТК.

2.4. Полазне хипотезе у истраживању. Основна хипотеза од које се пошло у овом истраживању је да у исхрани високо производних крава, веома важну улогу имају хранива која су извор лако растворљивих угљених хидрата у obroку. Сојина меласа може представљати значајно храниво у исхрани музних крава, имајући у виду чињеницу да садржи довољну количину једноставних шећера, чијом се брзом разградњом руминална микрофлора снабдева потребном енергијом за свој развој. На тај начин се у бурагу повећава микробијелна продукција и промет материја. Поред тога, резултат деловања додатих шећера, огледа се и у бољем искоришћавању непротеинског азота који настаје ферментацијом у бурагу или је присутан у obroку крава. Једноставни угљени хидрати, какве доминантно садржи сојина меласа, доприносе и повећању пропорције бутерне киселине, која стимулише проток крви кроз епител бурага и повећава капацитет апсорпције нижих масних киселина из епителних ћелија у крвоток. Може се очекивати да употреба сојине меласе у исхрани крава у лактацији допринесе ефикаснијем искоришћавању конзумираног оброка, одржавању оптималне рН вредности руминалног садржаја, обезбеђивању услова за развој руминалних микроорганизама и максималне продукције микробијалног протеина. То

би резултирало унапређењем производних резултата – принос, хемијски састав и квалитет млека, позитивним ефектом на кондицију крава током производног циклуса, као и на метаболички статус производних животиња и очување здравља крава. Резултати овог истраживања биће од великог значаја у погледу утврђивања ефеката коришћења, као и препорука за укључивање сојине меласе у оброке за музне краве. Нарочито са аспекта врло ограниченог броја претходних истраживања везаних за коришћење сојине меласе у исхрани говеда, а поготову валидације овог хранива у исхрани крава у лактацији, за разлику од сродних хранива.

2.5. Материјал и методе истраживања. Испитивање је спроведено на фарми музних крава АД “Војводина” у Старчеву, током летњег периода (мај - јул). Истраживање је обухватило 52 краве у лактацији, од чега је 40 крава било црно – беле расе са доминантним учешћем холштајн гена, и 12 крава сименталске расе. За потребе испитивања, краве су биле подељене у две групе - контролну и огледну. У свакој групи је било по 26 крава, при чему је 80% грла било у првој и другој лактацији. Групе су биле уједначене по количини произведеног млека, по фази лактације, лактацији по реду и телесној кондицији. У току огледа, краве су биле смештене у објекту капацитета 120 лежишта, са везаним системом држања. Експеримент је постављен као једнофакторијални оглед, са два третмана, где је испитиван утицај коришћење меласе од соје у комплетно мешаном obroку за краве у лактацији, на принос и хемијски састав млека, важније показатеље метаболичког профила крава у лактацији, параметре руминалне средине, као и на оцену телесне кондиције производних животиња. Експериментални период је трајао 70 дана. Краве у огледу су храњене комплетно мешаним оброцима (Total Mixed Ration, TMR), који су били уједначени по хранљивој вредности. У састав комплетно мешаног obroка за исхрану крава у огледној групи, укључена је сојина меласа у количини од 1 kg/дан (на рачун смањене количине силаже зрна кукуруза), док оброк који су конзумирале краве из контролне групе није садржао меласу соје. Изоенергетски оброци су обезбеђени већим садржајем силаже влажног зрна кукуруза у TMR-у који су конзумирале краве из контролне групе. Сојина меласа је пре употребе разређивана водом у односу 1 : 1. За потребе истраживања, сојина меласа је набављена из фабрике за прераду зрна соје “Сојапротеин А.Д. Бечеј”, где се добија као споредни производ при производњи сојиног протеинског концентрата. Основу кабастог дела obroка чинили су силажа целе биљке кукуруза и сено луцерке.

Анализа хемијског састава сојине меласе, њено микробиолошко и генетичко испитивање су обављени у СП Лабораторији АД Бечеј. Остала хранива и комплетно мешани оброци, анализирана су у Лабораторији за исхрану домаћих и гајених животиња на Пољопривредном факултету у Београду. За потребе хемијске анализе, узорци TMR-а су прикупљани два пута недељно током експерименталног периода. Прикупљени узорци су одмах замрзавани (- 20° C) и чувани за анализу. Аналитички садржај CM узорака је детерминисан сушењем на 105° C у лабораторијској сушници, током 5 часова. Узорци су уситњени коришћењем сита пречника 1 mm. Сирови протеини (СП) су детерминисани методом по Kjeldahl – у (метод 988.05; AOAC, 2002). Неутрална детерцентска влакна (NDF) су детерминисана методом по Van Soest – у коришћењем термо стабилне α -амилазе (A3306 Sigma Chemical Co., St Louis, MO, USA), (метод 2002:04, AOAC, 2002). Кисела детерцентска влакна (ADF) су одређена методом по Van Soest–у (метод 973.18, AOAC, 2002). Сирова маст је добијена методом по Soxhlet–у (метод 920.39; AOAC, 2002). Укупне минералне материје (пепео) одређене су жарењем узорака на температури 550 – 600° C у трајању од 4 часа.

Оброци су формулисани за краве телесне масе 650 kg, са производњом млека од 29 kg/дан, са 3,6 % млечне масти и 3,4 % протеина, коришћењем модела и програмског

пакета NRC (2001). Комплетно мешани оброк су краве добијале 2 пута дневно, у 06:00 h и 12:00 h. Дистрибуција комплетно мешаног obroка је обављена миксер приколицом типа Strautmann Verti Mix 900, капацитета 10 m³, са уграђеном вагом.

Контрола приноса млека је спроведена у складу са међународно признатим принципима (ICAR, 2005). Количина млека је мерена увече и ујутро, а вредности су збирно бележене. У току огледног периода урађене су 4 контроле хемијског састава млека, у интервалима од 15 - 20 дана. За потребе анализе хемијског састава млека, млеко је узорковано применом мерача млека под називом Waikato MK V, компаније Waikato Milking Systems NZ Limited. Хемијски састав млека (садржај млечне масти и протеина) је анализиран Milco Scan S 50 апаратом серије 130, тип 10900 (Foss Electric, Hillerod, Данска) у лабораторији Пољопривредног факултета у Новом Саду. Метода која је коришћена је квантитативна спектроскопија у инфрацрвеном делу спектра. Узорци у бочицама су конзервисани додатком калијум бихромата (K₂Cr₂O₇), у количини од 0,2 - 0,5%.

У циљу утврђивања метаболичког профила, обављена је анализа биохемијских показатеља крви. Узорци крви за биохемијска испитивања су узети од сваког грла на почетку и на крају огледа. Крв је узимана пункцијом репне вене (*v. coccigea*), приближно три сата после јутарњег храњења. У узорцима крви је испитивана концентрација глукозе, укупних протеина, билирубина, урее, калцијума и фосфора. За узимање узорка крви коришћени су стандардни вакуумтајнери. Одмах након узимања, узорци су достављени лабораторији за дијагностичка испитивања Центра за сточарство ПКБ Корпорације а.д. Београд. У лабораторији су најпре узорци крви у стандардним вакуумтајнерима спонтано коагулисали на собној температури. Након тога је из пуне крви, центрифугирањем на 1000 обртаја у минути, у трајању од 20 минута, издвојен крвни серум. Садржај анализираних показатеља је одређен у крвном серуму. Концентрација свих напред наведених показатеља је утврђивана помоћу наменских тест пакета (Bio Merieux), употребом спектрофотометра RAYTO-1904с.

Анализа буражног садржаја обухватила је по 15 крава из обе групе, и спроведена је на крају огледа. У садржају бурага је анализирана рН вредност и број и покретљивост инфузорија. За узимање садржаја бурага коришћена је буражна сонда, при чему су узорци узимани три сата после јутарњег храњења. Запремина узетог узорка течног садржаја бурага износила је око 30 ml, при чему је уклањан површински слој који садржи највећу количину пљувачке, која привидно повећава рН вредност буражног садржаја. За мерење рН вредности узетог буражног садржаја, коришћен је дигитални рН-метар (рН Testo 206 – рН2). Анализа узорка течног садржаја бурага у циљу одређивања броја и покретљивости великих, средњих и малих протозоа, урађена је коришћењем светлосног микроскопа (Neelesh and Upadhyay, 2009; Cockcroft and Scott, 2015).

Оцена телесне кондиције (ОТК) је спроведена на почетку и на крају огледа, по методи предложеној од стране Elanco Animal Health Buetin (AL 8487). У оцењивању телесне кондиције су коришћене методе палпације и адспекције пет најважнијих анатомских регија: слабинске регије, регије седних кврга, регије сапи, регије кукова и регије корена репа. Оцена је изражена нумерички од 1 до 5.

Статистичка обрада прикупљених података обављена је применом рачунарског програма PASW Statistics 18 software (SPSS Inc, 2016). За оцену статистичких значајности разлика средњих вредности коришћен је Студентов t – тест. Статистичка значајност је одређена на нивоу значајности $p \leq 0,05$ и $p \leq 0,01$. За статистичку анализу података из истраживања коришћени су и показатељи дескриптивне статистике.

2.6. Резултати истраживања и дискусија. Приказани су у четири потпоглавља, при чему се поједина потпоглавља састоје од више целина, зависно од параметара које обрађују. Резултати су приказани текстом, табелама и графиконима, тумачени и дискутовани у поређењу са литературним изворима.

Резултати анализе приноса млека и компонената млека, на основу свакодневне регистрације произведене количине млека, и четири контроле хемијског састава млека, указују да су краве, које су у току експерименталног периода конзумирале оброк са сојином меласом, оствариле већи дневни принос млека за 4,94 % у односу на краве које су конзумирале оброк без сојине меласе. Будући да је принос млека коригованог на 4 % млечне масти истовремено условљен продукцијом млека и садржајем млечне масти, код огледне групе крава је регистрован и већи принос 4% МКМ за 5,03% у односу на контролну групу. Наведене разлике у приносу млека су биле статистички значајне ($p \leq 0,05$). Разлика у производњи млека између експерименталних група, у првој контроли млечности није била статистички значајна ($p > 0,05$), иако је код крава огледне групе та производња била већа за 3,47 %. Такође и разлика у количини произведеног млека коригованог на садржај млечне масти (4%) између експерименталних група крава, није била статистички значајна ($p > 0,05$). Садржај млечне масти у првој контроли је био готово идентичан код обе групе крава, док је садржај протеина код огледне групе био нешто већи, али разлика није била статистички значајна ($p > 0,05$). Принос млечне масти и протеина у експерименталним групама, био је у складу са количином произведеног млека и садржајем млечне масти, односно протеина. Утврђене разлике нису биле статистички значајне ($p > 0,05$). Огледна група крава у другој контроли млечности, имала је већи принос млека за 4,30 % у поређењу са контролном групом, али разлика није била статистички значајна ($p > 0,05$). Разлика у приносу млека коригованог на садржај млечне масти (4%) између експерименталних група у другој контроли, није била статистички значајна ($p > 0,05$). Када је у питању садржај млечне масти утврђен у другој контроли млечности, није утврђена статистички значајна разлика овог параметра између испитиваних група крава ($p > 0,05$). Слична је ситуација била и са садржајем протеина млека. Наиме, утврђена разлика између група у погледу садржаја протеина млека, није била статистички значајна ($p > 0,05$). Није утврђен значајан ефекат ($p > 0,05$) укључивања меласе соје у оброк крава, на принос масти и протеина млека, у другој контроли млечности. Просечна концентрација млечне масти код испитиваних група је била у оквиру физиолошких граница (код крава огледне групе $3,64 \pm 0,39\%$, а код крава контролне групе $3,62 \pm 0,28$). То указује на чињеницу да је снабдевање енергијом било задовољавајуће, и да код експерименталних група крава није постојала разлика у енергетском билансу, као и да је однос кабастог и концентрованог дела obroка био у оквиру препоручених вредности. Просечна концентрација протеина код огледне групе крава у другој контроли, износила је $3,49 \pm 0,42\%$, а код крава контролне групе $3,33 \pm 0,34$. Ове вредности су у границама оптималних, што указује на то да су краве храњене оброцима који су задовољавали њихове потребе у протеинима и енергији. У трећој контроли млечности, разлика у производњи млека између испитиваних група крава је била статистички веома значајна ($p < 0,01$), при чему се запажа да су краве које су у obroку добијале сојину меласу, имале већи принос млека за 11,75% у односу на контролну групу. Када је у питању принос млека коригован на 4% млечне масти, запажају се исти односи остварених резултата између експерименталних група крава, као и код количине намуженог млека. Наиме, утврђена разлика у приносу 4% МКМ између испитиваних група је била статистички веома значајна ($p < 0,01$), а изражена у релативној вредности, разлика је износила 11,50%. Утврђени садржај млечне масти и протеина у млеку у трећој контроли млечности био је уједначен код обе група испитиваних крава ($p > 0,05$).

Принос млечне масти и протеина утврђен у овој контроли млечности показује другачији тренд у односу на садржај ових компонената. Наиме, установљено је да су разлике између експерименталних група крава у погледу приноса млечне масти и протеина биле статистички веома значајне ($p < 0,01$), при чему се запажа да су краве које су у оброку добијале сојину меласу имале већи принос млечне масти и протеина млека за 12,0, односно 13,25%, у односу на контролну групу. Разматрајући остварене резултате у трећој контроли млечности, уочава се статистички веома значајна разлика у погледу свих параметара млечности између испитиваних група крава, изузев када је у питању садржај млечне масти и протеина у млеку. Остварени резултати су потврдили полазне претпоставке о позитивном утицају сојине меласе на принос млека, млечне масти и протеина. Тај позитиван ефекат на производне резултате се испољио после одређеног периода њене употребе у оброцима огледне групе крава, што је и показала ова контрола млечности. У четвртој контроли млечности, може се запазити да је група крава која није конзумирала сојину меласу, остварила нешто већи принос млека у односу на огледну групу. Разлика у производњи млека између експерименталних група није била статистички значајна ($p > 0,05$). Интересантно је запазити да је ова контрола млечности показала најмањи принос млека код испитиваних група крава, у односу на све приказане контроле млечности. Вероватни разлог овој чињеници треба тражити у утицају других фактора који нису били обухваћени овим истраживањем, а чији су ефекти значајни за производњу млека (високе дневне температуре). Посматрајући принос млека коригован на 4 % млечне масти, у последњој контроли млечности се може установити исти однос остварених резултата међу испитиваним групама крава, као и када се посматра количина произведеног млека. Остварени принос 4% МКМ је био нешто већи код контролне групе крава у односу на огледну, али утврђена разлика није била статистички значајна ($p > 0,05$). Садржај млечне масти у последњој контроли млечности код испитиваних група крава је био готово идентичан. Ситуација са садржајем протеина у млеку је била нешто другачија. Утврђена разлика између група није била статистички значајна ($p > 0,05$), али је апсолутно већа вредност за огледну групу била уочљива. У последњој контроли млечности, однос између група у погледу приноса млечне масти је био сличан као и код количине произведеног млека. Наиме, контролна група крава је остварила нешто већи принос млечне масти у односу на огледну групу, али утврђена разлика није била статистички значајна ($p > 0,05$). Анализирајући принос протеина може се запазити идентична вредност овог параметра млечности код испитиваних група крава.

Установљено је да оброк са сојином меласом није имао статистички значајан ефекат на садржај и принос млечне масти. Иако утврђене разлике између експерименталних група крава у погледу вредности за садржај и принос млечне масти, нису биле статистички значајне ($p > 0,05$), коришћење сојине меласе је имало позитивне ефекте на наведене показатеље. Може се претпоставити да су лакорастворљиви угљени хидрати из сојине меласе, услед брзе ферментације у румену, допринели већој продукцији испарљивих масних киселина, првенствено бутирата, и последично већој синтези млечне масти у вимену. Поред тога, мале разлике у садржају млечне масти између експерименталних група крава, тумаче се чињеницом да је садржај NDF у оброцима (35,7, односно 36,7%), као и садржај NDF из кабасте хране (25,9, односно 26,1%), био изнад минималних препоручених вредности. Адекватан садржај влакана у оброку, уз лако доступну енергију из брзо ферментабилних угљених хидрата, доприноси већем интензитету и обиму целулолитичких процеса у румену, чиме се повећава продукција нижих масних киселина и стимулише синтеза млечне масти, али се повећава и ефикасност искоришћавања амонијачног азота и обим синтезе микробијелног протеина у румену.

У истраживању је утврђено да су краве које су конзумирале оброк са сојином меласом оствариле сигнификантно већи садржај и принос протеина млека ($p < 0,01$), у односу на краве из контролне групе (3,45 према 3,32%; 0,88 према 0,81 kg). Укључивање меласе соје у оброк, повећава учешће фракција угљених хидрата са већом брзином разградње у бурагу, што доприноси бољој снабдевености микроорганизама енергијом, и последично интензивнијој микробијелној синтези протеина из доступног непротеинског азота. Ефикаснија синтеза микробијелног протеина, смањује концентрацију амонијака у бурагу, што има за последицу већи садржај и принос протеина млека.

Однос концентрације протеина и масти у млеку је веома значајан, како са аспекта избалансираности obroка у погледу енергије и протеина, тако и са аспекта оптимизације интраруминалне микробијелне активности и различитих метаболичких ефеката. Установљене разлике у погледу односа протеин : маст између експерименталних група су биле статистички значајне ($p < 0,05$). Делимичном заменом силаже влажног зрна кукуруза, сојином меласом у obroку млечних крава, повећава се учешће брзо разградивих фракција угљених хидрата, односно шећера, што је имало повољан ефекат на производне резултате грла. То се, између осталог, односи и на садржај органских састојака млека, будући да је однос протеин : маст значајан показатељ обезбеђености високопроизводних крава енергијом. У истраживању је констатован шири однос концентрације протеина и масти у млеку, код крава које су конзумирале сојину меласу, при чему је ова вредност била у границама оптималног интервала, који се креће од 0,8 до 1,0.

Анализирајући телесну кондицију експерименталних група крава, установљена је просечна вредност за оцену телесне кондиције код крава које су конзумирале оброк са сојином меласом од 3,11, док је ова вредност за краве из контролне групе износила 3,14. Код испитиваних група крава разлике у просечним вредностима ОТК нису биле статистички значајне ($p > 0,05$). Уједначеност телесне кондиције код експерименталних група крава, на крају огледног периода, објашњава се чињеницом да су краве из обе експерименталне групе, са приближном ефикасношћу искоришћавале енергију из конзумираних obroка, за депоновање телесних резерви у мастима. Имајући у виду чињеницу да је просечна фаза лактације на крају експерименталног периода била 165 дана, може се констатовати да су краве у том периоду лактације имале задовољавајући апетит и да су количином конзумиране хране могле да подмире потребе за хранљивим материјама.

Од биохемијских параметара крви, анализирани су концентрација глукозе, укупног билирубина, укупног протеина, урее, калцијума и фосфора. Краве које су конзумирале оброк са сојином меласом, имале су нешто нижу концентрацију глукозе у крви (3,05 mmol/l), у односу на краве које нису конзумирале сојину меласу (3,26 mmol/l), при чему разлике нису биле статистички значајне ($p > 0,05$). Концентрација укупног билирубина у крви крава које су конзумирале сојину меласу, је слично концентрацији глукозе, била нижа за око 7 % у односу на контролну групу крава, при чему разлике нису биле статистички значајне ($p > 0,05$), (4,72 : 5,19 $\mu\text{mol/l}$). Концентрација протеина у крви експерименталних група крава је износила нешто изнад физиолошких вредности, 85,24 и 88,90 g/l, за огледну и контролну групу, респективно, при чему разлике између група нису биле статистички значајне ($p > 0,05$). Утврђене су статистички врло значајне разлике ($p \leq 0,01$) када је у питању садржај урее у крви. Садржај урее у крви крава огледне групе, био је значајно нижи (5,45 mmol/l) у односу на садржај урее у крви крава контролне групе (6,30 mmol/l). Коришћењем сојине меласе у исхрани крава у лактацији, повећава се количина лако доступне енергије неопходне за процесе микробијелне синтезе протеина у бурагу на бази

непротеинског азота, што има за последицу смањење концентрације урее у крвној плазми.

pH вредност садржаја румена је код обе групе крава била у оквиру оптималних вредности. Наиме, краве које су конзумирале оброк са сојином меласом су имале нешто нижу pH вредност бурага (6,87), у поређењу са кравама контролне групе (7,05), али разлике нису биле статистички значајне ($p>0,05$). Нешто нижа pH вредност код крава огледне групе се може приписати интензивнијој ферментацији шећера из сојине меласе, у румену, у односу на скроб из силаже влажног зрна кукуруза. Анализа бројности и покретљивости инфузорија у бурагу на крају експерименталног периода, је значајна са аспекта евалуације ефеката замене дела силаже зрна кукуруза, сојином меласом. Бројност малих, средњих и великих протозоа је била донекле уједначена код обе групе крава, а уочене разлике нису биле статистички значајне ($p>0,05$). За разлику од малих и средњих протозоа, чији је број био приближан код обе групе крава (3,67 и 3,53, односно 3,20 и 3,53, за огледну и контролну групу, респективно), број великих протозоа је био нешто већи код крава које су конзумирале оброк са већим садржајем скроба (4,53 и 5,0). Већи садржај скроба у оброку крава у лактацији, утиче на повећање бројности великих протозоа, обзиром на чињеницу да велике протозое у исхрани првенствено користе скроб. Као и код бројности протозоа, сличне тенденције су утврђене и код покретљивости протозоа. Наиме, није утврђена статистички значајна разлика у погледу покретљивости инфузорија, између огледне и контролне групе крава (2,60 : 2,67, на скали од 0 до 3), ($p>0,05$).

2.7. Закључак. На основу спроведеног истраживања, у коме су испитивани ефекти укључивања сојине меласе у комплетно мешани оброк за краве у лактацији, статистичком анализом добијених података, тумачењем резултата, и поређењем са ранијим истраживањима која су се односила на коришћење сродних хранива у оброцима за музне краве, кандидат је дошао до већег броја закључака, који су значајни за науку и праксу, и у складу су са постављеним циљевима и хипотезама.

Краве које су конзумирале оброк са сојином меласом су оствариле значајно већи ($p<0,05$) просечан принос млека (4,94%) у односу на краве које нису добијале сојину меласу у оброку. Количина произведеног млека коригованог на садржај млечне масти (4 %), била је значајно већа за 5,03 % ($p<0,05$), код крава у чији је оброк била укључена сојина меласа (24,20 kg/дан), у односу на краве које у оброку нису добијале сојину меласу (23,04 kg/дан). Делимична замена силаже влажног зрна кукуруза, меласом од соје, није значајно утицала на садржај масти у млеку ($p>0,05$). Краве које су конзумирале оброк са сојином меласом оствариле су сигнификантно већи ($p<0,01$) садржај протеина у млеку, у односу на краве из контролне групе (3,45 према 3,32 %), при чему је и принос протеина млека био сигнификантно већи ($p<0,01$) код огледне групе крава (0,88 kg), у поређењу са контролном групом крава (0,81 kg). Нису утврђене значајне разлике ($p>0,05$) у погледу вредности за оцену телесне кондиције, између експерименталних група крава. Концентрација глукозе, укупног билирубина и протеина у крви, је била у физиолошким оквирима, при чему нису детерминисане значајне разлике између експерименталних група ($p>0,05$). Краве које су конзумирале оброк са сојином меласом, имале су сигнификантно нижи ($p<0,01$) садржај урее у крви (5,45 mmol/l), у односу на краве које нису добијале оброк са сојином меласом (6,30 mmol/l), што је показатељ ефикаснијег искоришћавања протеина из obroка. Концентрација Са и Р у крви, код обе анализиране групе крава је била у физиолошким границама, при чему разлике нису биле значајне ($p>0,05$). pH вредност садржаја румена је била у оквиру оптималног интервала и без значајних разлика ($p>0,05$), са нешто нижом вредношћу код крава које су конзумирале оброк са сојином меласом

(6,87), у поређењу са кравама контролне групе (7,05). Бројност малих, средњих и великих протозоа је била уједначена код обе испитиване групе крава, а разлике између група нису биле значајне ($p>0,05$). Експерименталне групе крава се скоро нису разликовале у погледу броју малих протозоа (3,67 : 3,53, за огледну и контролну групу, респективно), док је оцена бројности средњих протозоа била нешто већа у контролној групи крава (3,53) у односу на огледну групу (3,20). Такође, краве које су конзумирале оброк са већим садржајем скроба, имале су израженије већу вредност за број великих протозоа (5,00), у односу на краве у чији је оброк била укључена меласа соје (4,53). Покретљивост инфузорија у бурагу је била веома слична код обе групе крава, без значајних разлика ($p>0,05$), (2,60 : 2,67, на скали од 0 до 3, за огледну и контролну групу, респективно).

На основу свих добијених и анализираних резултата истраживања, закључено је да се сојина меласа може успешно користити у исхрани високопроизводних крава, као добар извор брзо ферментабилних угљених хидрата у румену. Употреба сојине меласе у исхрани крава у лактацији доприноси повећаној производњи млека, садржају и приносу протеина у млеку, при чему није утврђен значајан ефекат на садржај млечне масти. Укључивањем меласе соје у оброк, повећава се количина лако доступне енергије, која се ефикасно искоришћава од стране буражних микроорганизама и животиње домаћина. Коришћење меласе соје у оброцима за исхрану крава у лактацији, има позитиван ефекат на смањење садржаја урее у крви, као вероватни резултат већег обима синтезе микробијелног протеина у румену на бази непротеинског азота. Није утврђен значајан утицај коришћења сојине меласе на друге испитиване биохемијске параметре крви, на руминалну рН вредност, као и на бројност и структуру популације протозоа. Сазнања до којих се дошло указују на позитивне ефекте коришћења сојине меласе у оброцима за краве у лактацији.

2.8. Литература. У дисертацији су коришћене и цитиране 173 референце. Разматране референце су адекватне за тему и циљеве истраживања.

2.9. Прилози. У укупно 35 прилога детаљно су приказани резултати статистичке обраде добијених података из огледа, као и хранидбени показатељи obroка коришћених за исхрану експерименталних група крава.

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. Обезбеђење оптималног односа појединих фракција угљених хидрата, а нарочито лако разградивих у румену, од примарног је значаја за интензитет и обим микробијелне ферментације, а тиме и за ефикасност искоришћавања obroка, а нарочито конзумираних протеина, код крава у лактацији. Реализовано истраживање је показало да коришћење меласе соје у obroку за краве у лактацији, у количини од 3,6 % СМ obroка, као извора брзо ферментабилне фракције угљених хидрата, и лако доступне енергије, има значајан позитиван ефекат на принос млека, као и садржај и принос протеина млека, такође има значајан позитиван ефекат на садржај урее у крвној плазми, што указује на побољшано искоришћавање протеина из obroка. Осим тога, треба нагласити да коришћење сојине меласе у исхрани крава у лактацији, представља новину. На основу досадашњих сазнања из анализиране доступне литературе, научних истраживања која се односе на укључивање овог хранива у obroке за музне краве,

практично нема. Наведено, додатно указује на значај овог истраживања, и применљивост добијених резултата у практичној производњи, а који се односе на могућност и ефекте употребе меласе од соје у исхрани крава у лактацији.

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 резултате значајног броја претходних научних истраживања, домаћих и страних аутора, са сличном темом и предметом истраживања, спровео истраживање, 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 **Александра Милетића, дипл. инж.**, поднете под насловом „**ЕФЕКТИ КОРИШЋЕЊА СОЈИНЕ МЕЛАСЕ У ОБРОЦИМА ЗА КРАВЕ У ЛАКТАЦИЈИ**“ и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, да прихвати ову оцену и омогући кандидату јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

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

4. Др Весна Давидовић, доцент
Универзитет у Београду - Пољопривредни Факултет
Анатомија и физиологија домаћих и гајених животиња

5. Др Михаило Радивојевић, доцент
Универзитет Едуконс у Сремској Каменици, Факултет
еколошке пољопривреде
Физиологија и исхрана преживара

Прилог:

Рад објављен у часопису са SCI листе:

Miletić, A., Stojanović, B., Grubić, G., Stojić, P., Radivojević, M., Joksimović – Todorović, M., Popovac, M., Obradović, S. (2017): The soybean molasses in diets for dairy cows. *Mljekarstvo* 67 (3), 217-225. doi: 10.15567/mljekarstvo.2017.0306