

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

MIHAELA TURKOVIĆ

**UTJECAJ GNOJIDBE NA
PROBAVLJIVOST, SADRŽAJ SIROVIH
PROTEINA I METABOLIČKE ENERGIJE
KRME S POLUPRIRODNOG PAŠNJAKA**

DIPLOMSKI RAD

ZAGREB, 2017.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij
Biljne znanosti

MIHAELA TURKOVIĆ

**UTJECAJ GNOJIDBE NA
PROBAVLJIVOST, SADRŽAJ SIROVIH
PROTEINA I METABOLIČKE ENERGIJE
KRME S POLUPRIRODNOG TRAVNJAKA**

DIPLOMSKI RAD

Mentor: izv. prof. dr. sc, Krešimir Bošnjak

Zagreb, 2017.

Ovaj diplomski rad je ocijenjen i obranjen dana _____

s ocjenom _____ pred Stručnim povjerenstvom u sastavu:

1. izv. prof. dr. sc, Krešimir Bošnjak _____

2. izv. prof. dr. sc. Marina Vranić _____

3. Doc. dr. sc. Goran Kiš _____

SAŽETAK

Cilj ovog rada bio je utvrditi utjecaj gnojidbe dušikom (N) na probavljivost, sadržaj sirovih proteina i metaboličke energije krme na poluprirodnom travnjaku. Tijekom tri godine (2002., 2003. i 2004. godine) na pokusnom pašnjaku „Centra za travnjaštvo“ Agronomskog fakulteta u Zagrebu provedeno je istraživanje na poluprirodnom travnjaku, u uvjetima rotacijskog napasivanja ovčama. Istraživan je utjecaj gnojidbe dušikom u količinama od 35 kg ha⁻¹ god⁻¹ dušika (N35), 100 kg ha⁻¹ god⁻¹ dušika (N100) i 150 kg ha⁻¹ god⁻¹ dušika (N150) na produktivnost pašnjaka i hranjivost dostupne biljne mase. Rezultati istraživanja pokazali su utjecaj ekstenzivnijih mjera gospodarenja pašnjakom na promjenu hranidbene vrijednosti dostupne krme. Utjecaj primjene N na hranidbenu vrijednost dostupne mase utvrđen je samo u smanjenom sadržaju sirovih bjelančevina (SB) kod gnojidbe sa 35 kg N ha⁻¹ god⁻¹ u uspoređi s višim količinama primijenjenog N. Probavljivost organske tvari (OT) krme pokazala se najvećom kod primjene 100 kg N ha⁻¹ god⁻¹ gdje je iznosila 734,9 g kg⁻¹ ST. Najveća probavljivost OT krme utvrđena je tijekom vegetacijske sezone 2003. godine (757,3 g kg⁻¹ ST), dok je u 2002. i 2004. probavljivost OT iznosila 702,3 i 741,6 g kg⁻¹ ST, respektivno. Sadržaj metaboličke energije (ME) nije se značajno mijenjao kod različitih količina N gnojidbe, kao ni s obzirom na vegetacijsku sezonu uzgoja. Unatoč tome, najveći sadržaj ME utvrđen je kod gnojidbe sa 100 kg N ha⁻¹ god⁻¹ (10 MJ kg⁻¹ ST), te u vegetacijskoj sezoni 2003. godine (10,3 MJ kg⁻¹ ST).

Ključne riječi: gnojidba dušikom, poluprirodni travnjak, sirove bjelančevine, probavljivost organske tvari, metabolička energija

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the effect of nitrogen (N) fertilization on digestibility, crude protein and metabolic energy content in feed on semi-natural grasslands. Over the course of three years (2002, 2003 and 2004) a research was conducted on the Zagreb Faculty of Agriculture's "Center of Grassland" experimental pasture, on semi-natural grassland that was rotary grazed with sheep. The subject of study was the effect of nitrogen fertilization in quantities of 35 kg ha⁻¹ yr⁻¹ of nitrogen (N35), 100 kg ha⁻¹ yr⁻¹ of nitrogen (N100) and 150 kg ha⁻¹ yr⁻¹ of nitrogen (N150) on the productivity of pastures and nutritional values of available plant mass. The study results showed the effect that the more extensive pasture management measures had on the nutritional value of the available feed. The impact of the application of N on the nutritional value of available mass was found only in the reduced content of crude protein (CP) in fertilization with 35 kg N ha⁻¹ yr⁻¹ in comparison with higher levels of applied N. The digestibility of organic matter (OM) of the feed proved to be the highest in the application of 100 kg N ha⁻¹ yr⁻¹, where it amounted to 734.9 g kg⁻¹ DM. The highest digestibility of the feed's OM was found during the growing season in 2003 (757.3 g kg⁻¹ DM), while in 2002 and 2004, the digestibility of the OM was 702.3 and 741.6 g kg⁻¹ DM respectively. The metabolized energy (ME) content was neither significantly changed by different amounts of N fertilization, nor with respect to the vegetation growing season. Nevertheless, the highest content of ME was determined in fertilization with 100 kg N ha⁻¹ yr⁻¹ (10 MJ kg⁻¹ DM), and in the growing season in 2003 (10.3 MJ kg⁻¹ DM).

Keywords: nitrogen fertilization, semi-natural grassland, crude protein, organic matter digestibility, metabolized energy

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	2
2.1. Dušik	2
2.2. Dušik u tlu	2
2.3. Dušik u biljkama	3
2.4. Proteini	4
2.5. Probava.....	6
2.6. Probavljivost.....	6
2.7. Čimbenici probavljivosti	7
2.8. Utvrđivanje probavljivosti krme.....	8
2.9. Energija, metabolizam preživača i novije energetske jedinice.....	11
2.9.1 Ukupna bruto energija	11
2.9.2 Probavljiva energija (PE)	12
2.9.3 Metabolička energija (ME).....	12
2.9.4 Neto energija (NE)	13
2.10. Utjecaj dušične gnojidbe na rast, kemijski sastav i probavljivost biljne mase sa travnjaka.....	13
3. MATERIJALI I METODE ISTRAŽIVANJA	15
3.1. Lokacija i eksperimentalni travnjak	15
3.2. Tretmani i napasivanje	15
3.3. Istraživani pokazatelji.....	16
3.4. Mjerenja na travnjaku.....	17
3.5. Kemijske analize biljnog materijala i dinamika razgradnje	17
4. REZULTATI I RASPRAVA	18
4.1. Sadržaj sirovih bjelančevina.....	18
4.2 Probavljivost organske tvari (OT).....	19
4.3 Metabolička energija	21
5. ZAKLJUČAK	23
6. LITERATURA.....	24
7. ŽIVOTOPIS	26

1. UVOD

Gnojidba je agrotehnička mjera koja povećava produktivnost tla i uloženog rada u poljoprivrednoj proizvodnji. Budući da u sastav biljaka ulazi čitav niz elemenata koje biljke usvajaju iz tla ili atmosfere, a neki su posebice dušik, fosfor i kalij, potrebni u velikim količinama, gnojidba je zapravo neizostavna agrotehnička mjera od prvorazrednog značenja. Mnogi hranjivi elementi vraćaju se prirodnim putem u tlo, ali znatan ih se dio odnosi žetvom, dok se jedan dio biljnih hranjiva iz tla ne nadoknađuje, tlo siromaši i prinos opada. Iz ukupnih rezervi u tlu, koje su višestruko veće od potrebe biljaka, jedan dio hraniva se neprekidno mijenja u oblike povoljne za ishranu bilja, ali se taj proces u pravilu odvija znatno sporije od gubitka i odnošenja urodom pa se gnojidba javlja kao najvažnija agrotehnička mjera za osiguranje visokih i stabilnih prinosa uz očuvanje efektivne plodnosti tla. (Vukadinović i sur., 2013.)

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj gnojidbe dušikom (N) na probavljivost, sadržaj sirovih proteina i metaboličke energije krme s poluprirodnog pašnjaka.

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Dušik

Porijeklom je iz atmosfere, ali se usvaja u mineralnom obliku i zato se svrstava u grupu mineralnih elemenata. Sastavni je dio proteina, nukleinskih kiselina, fotosintetskih pigmenata, amina, amida i drugih spojeva koji čine osnovu života pa kemija ovog elementa čini najvažniji dio agrokemije, odnosno ishrane bilja. Značaj dušika je to veći što ga samo mali broj organizama može koristiti iz atmosfere u plinovitom obliku. Za prevođenje molekularnog oblika dušika do amonijskog ili nitratnog oblika, u kojem ga biljke usvajaju, potrebna je velika količina energije. S druge strane dušik se lako vraća u molekularno stanje u kojem je najstabilniji pa se lako gubi iz tla.

2.2. Dušik u tlu

Dušik se u tlu nalazi u obliku organskih i anorganskih spojeva. Organski dio predstavljen je humusom te biljnim i životinjskim ostacima. Dušik u tlu, većim dijelom se nalazi vezan u organskom obliku 96-99 %. Tla se razlikuju po sadržaju humusa i općenito organske tvari, a on je glavni izvor dušika u procesu mineralizacije.

Mineralni dio koji je potpuno raspoloživ za usvajanje, samo je mali dio ukupnog dušika tla, uglavnom u količini koja je nedovoljna za dobru ishranu poljoprivrednih biljaka. Zbog male količine u tlu, a velikih potreba u ishrani bilja, u suvremenoj poljoprivrednoj proizvodnji primjena dušika gnojidbom nezamjenjiva je agrotehnička mjera. Ukupna količina N u tlu ovisi o nizu činitelja kao što su klima, vegetacija, topografija terena, matični supstrat, starost tla itd.

U matičnom supstratu iz kojeg je neko tlo nastalo, nema dušika pa se on u procesu pedogeneze nakuplja isključivo pod utjecajem živih organizama. Najveći dio dušika u tlu je rezultat aktivnosti mikroorganizama, isključivo protokariota koji mogu vezati molekularni dušik iz atmosfere i graditi vlastitu organsku tvar, a zatim drugih nižih i na kraju viših organizama kada za njihove životne potrebe u tlu ima dovoljno dušika. Mehanizam mikrobiološkog vezivanja dušika funkcionira uz pomoć enzima nitrogenaze. Sustavi biljne proizvodnje imaju ogroman značaj za opskrbu tla dušičnim spojevima što je vezano i uz pH tla što je bitan faktor o kojem ovisi mikrobiološka aktivnost u tlu.

Na efekte gnojidbe u povećanju prinosa kod većine kultura najjače utječe dušik, zatim fosfor, kalij i ostali elementi. Gnojidba dušikom je najsloženija zbog posljedica koje može izazvati

prekomjerna gnojidba. Gnojidba se temelji na fiziološkim potrebama kulture i iznošenju dušika iz tla i prinosom. Na siromašnim se tlima koriste velike količine dušika i dodaje se onoliko N koliko se iz tla iznosi. Na srednje bogatim tlima, puna doza prema iznošenju umanjena je za 30 %, a na bogatom tlu se primjenjuju doze koje su od pune doze umanjene za 50 %. Najveće količine N gnojiva trebalo bi primjenjivati na tlima koji imaju niski sadržaj humusa, dok bi se kod visokog sadržaja humusa trebale primjenjivati niske i srednje količine N.

2.3. Dušik u biljkama

Suha tvar biljaka sadrži u prosjeku između 1 do 5% dušika što je u odnosu na ugljik vrlo mala količina. Biljke su veliki „sakupljači“ dušika, ugrađuju ga tijekom čitave vegetacije u organsku tvar obavljajući transformaciju mineralne u organsku formu, pa je raspoloživost dušika zbog velike potrebe i nedovoljne mobilizacije često ograničavajući činitelj rasta i prinosa.

Dušik se pretežito usvaja kao NO_3^- i NH_4^+ ion. U povoljnim uvjetima vjerojatno više od 90 % u nitratnom obliku, ali samo kad je proces nitrifikacije u tlu moguć ili je primijenjeno mineralno gnojivo koje sadrži nitrate. Usvajanje oba oblika je aktivan metabolički proces nasuprot elektrokemijskom gradijentu za što se troši energija. Bitno je naglasiti da je oko 70 % korijenom usvojenih svih kationa i aniona u formi NO_3^- ili NH_4^+ iona.

Ovisno o obliku dušika koji se usvaja dolazi do određenih promjena u metabolizmu. Usvajanjem nitrata proces ugradnje dušika u organsku tvar ne mora odmah započeti jer se nitratni oblik dušika (NO_3^-) kod dobre opskrbe dušikom akumulira u pojedinim organima, posebice lišću i peteljka, a biljka ga koristi nakon redukcije u procesu sinteze proteina.

Usvajanje većih količina amonijskog oblika dušika može biti štetno, naročito kod mladih biljaka jer zahtijeva znatan utrošak ugljikohidrata zbog potrebne tvorbe ketokiselina koje vežu usvojeni amonijski oblik dušika. Mogućnost akumulacije nitrata za biljke je vrlo povoljna jer se njihova redukcija i ugradnja obavljaju kad je to fiziološki potrebno. Ipak, preveliko nagomilavanje nitrata također nije dobro za biljke jer njegovom naknadnom i brzom redukcijom dolazi do intenziviranja procesa disanja, razgradnje rezervnih ugljikohidrata i pojačane sinteze proteina. Posljedice su produljenje vegetacije, intenzivni rast vegetativne mase, povećani sadržaj topivih oblika dušika (aminokiselina i amida) što kod nekih poljoprivrednih kultura može štetno utjecati na.

Povećani sadržaj nitrata u biljkama može biti posljedica suše (zbog povećane koncentracije nitrata u vodenoj fazi tla), visoke temperature (zbog povećane evapotranspiracije i usvajanja nitrata), zasjenjenosti biljaka u gustom sklopu ili oblačnog vremena (zbog reducirane sinteze bjelančevina), nedostatka fosfora, kalija ili kalcija te, a najčešće, zbog pretjerane uporabe dušičnih gnojiva.

Intenzitet nitratne redukcije najveći je u mladom lišću, pa ono sadrži i najveće količine dušika u odnosu na ostale vegetativne organe biljaka. Nakupljanje nitrata u lišću ili peteljka može se iskoristiti za procjenu ishranjenosti biljaka s dušikom, posebice kod vrsta gdje višak reduciranog dušika na kraju vegetacije može izazvati ekspanziju formiranja novog lišća (*retrovegetacija kod šećerne repe*) uz pad koncentracije saharoze.

Opskrbljenost biljaka s dovoljnom količinom dušika ima izuzetan značaj za njezin vegetativni i generativni razvoj. U kontekstu poljoprivredne proizvodnje dušik se smatra hranjivom koji znatno utječe na formiranje prinosa. (Vukadinović 2011.)

Kod zaustavljanja disanja korijena ili snižavanjem temperature, intenzitet usvajanja N se smanjuje. Ipak usvajanje dušika, posebice nitrata, vrlo je brz proces. Kod viših pH vrijednosti tla biljke preferiraju amonijski oblik dušika, a kod nižih pH vrijednosti nitratni.

Suvišak dušika na početku vegetacije može biti vrlo štetan jer se biljke tada plitko ukorjenjuju, a to u kasnijim fazama rasta, posebice u sušnim uvjetima može izazvati znatne probleme u opskrbi biljaka hranivima i vodom. Različite biljne vrste, kultivari ili hibridi različito reagiraju na ishranu dušikom.

Suvišak dušika rezultira porastom vegetacijskih organa uz intenzivnu modrozelenu boju lišća. Smanjuje se otpornost na bolesti i štetnike, pojavljuje se polijeganje i produžuje se vegetacija. Na lakim i propusnim tlima dolazi do ispiranja nitrata i onečišćavanja podzemnih voda.

Nedostatak raspoloživog dušika ima vidljive negativne posljedice. Biljke zaostaju u rastu, a listovi postaju svjetlozeleni do žuti (zbog manjeg sadržaja klorofila što uzrokuje niži intenzitet fotosinteze). Biljke brže stare što u konačnici dovodi do vrlo niskih prinosa.

2.4. Proteini

Po svojoj kemijskoj prirodi proteini su veoma kompleksni, organski, dušični spojevi velike relativne molekulske mase. Sirovi proteini ili sirove bjelančevine su sve tvari koje sadrže dušik, a obuhvaćaju prave bjelančevine koje su sastavljene od aminokiselina i spojeva

neproteinskog dušika. Prave bjelančevine su polimeri aminokiselina povezanih peptidnom vezom dok neproteinski dušik čine svi spojevi dušika koji nisu pravi protein, a to su amonijak, urea, derivati aminokiselina, DNK, RNK i drugi spojevi.

Odrasli preživaci pored proteinskog koriste i neproteinski dušik. Zbog odsustva predželudaca kao i djela organa za probavu i mikroorganizmima u njima, monogastrične životinje ne mogu koristiti neproteinske dušične spojeve. (Jovanović i sur., 2001.)

Za određivanje sirovih bjelančevina u hrani za životinje, najčešće se koristi tzv „Kjedlah“ metoda, a ona se temelji na razaranju, destilaciji i filtraciji uzoraka, pri čemu se posredno preko određivanja količine N mjeri udio bjelančevina.

Sadržaj sirovih proteina u biljnoj masi određuje se razaranjem uzorka u koncentriranoj sumpornoj kiselini (H_2SO_4) uz dodatak katalizatora (soli Cu, Se, Hg, Va ili Ti) pri čemu se sav protein prevodi u $(NH_4)_2 SO_4$. Zatim se ta mješavina hladi, razrjeđuje se vodom i dodaje se NaOH radi stvaranja alkalnih uvjeta. Dodaje se para tijekom alkalne digestije i oslobađa se amonijak kao plin, zatim se provodi destilacija i dodaje H_3BO_4 . Amonijak se veže sa bornom kiselinom uz dodatak indikatora. Utrošak kiseline je u direktnoj korelaciji sa količinom amonijaka. Frakcija sirovih proteina izračunava se računskim putem, na bazi prethodno utvrđenog sadržaja dušika u uzorku, Kjeldahl metodom. Budući da proteini sadrže u prosjeku 16 % dušika, sadržaj sirovih proteina dobiva se množenjem sadržaja sa 6,25 ili 100/16. (ISO 2005.)

Detaljniji prikaz bjelančevinaste vrijednosti krmiva je analitičko identificiranje aminokiselinskog sastava bjelančevina, a on se provodi metodom visokotlačne tekuće kromatografije (HPLC) i obrnuto fazne visokotlačne tekuće kromatografije (RP HPCL). Pored ovih metoda, određivanje aminokiselina se može izvoditi i brzom bjelančevinastom tekućom kromatografijom (FPLC), te masenom spektrometrijom (MS), kapilarnom elektroforezom visokog učinka (HPCE) i nulearnom magnetnom rezonancom (NMR). HPLC metodom hidroliza aminokiselina se odvija u kiselom hidrolizatu, što se radi za većinu aminokiselina, izuzev metionina, cisteina i triptofana. Hidroliza se provodi 24h na temperaturi od $110^{\circ}C$, pri čemu se aminokiseline u potpunosti oslobode. Aminokiseline se potom vežu na fenilzotiocijanat u novi fluorescentni kompleksni spoj, a na osnovi različite vrijednosti pH i jačine polariteta pufera amnikoseline se pojedinačno odvajaju. Količinu svake aminokiseline mjeri detektor na osnovi njene karakteristične boje, a izračunava se usporedbom površine njenog kromatograma sa površinom kromatograma standarda. (Tswett, 1906.)

2.5. Probava

Osnovna pretpostavka održanja organizma životinje na životu je neprekidna razmjena tvari između organizma i okolne prirode. Procesom hranjenja životinja spaja ovu nerazdvojnu cjelinu između prirode i organizma životinje. Vezu između njih čine razne organske i anorganske hranjive tvari koje životinjski organizam prima u vidu stočnih krmiva. Tijekom njihova prolaska kroz probavni sustav one se razgrađuju i potom iskorištavaju u organizmu. No, kako se anatomske-fiziološke svojstva ovog sustava u određenoj mjeri razlikuju kod pojedinih vrsta životinja, to će izbor krmiva, njihova količina i stupanj iskorištenja također biti različiti. (Domaćinović, 2006.)

Proteini, škrob, vlakna i lipidi su u hrani u obliku velikih, složenih i netopljivih molekula koje moraju biti pretvorene u topljive, male i jednostavne tvari da bi mogle proći kroz mukozu crijeva u krv i limfu i s njima doći do mjesta djelovanja i izgradnje organizma. Razlaganje molekula hrane je probava, upijanje probavljenih tvari je apsorpcija, a defekacija je izbacivanje neprobavljenih tvari hrane i izlučevina u probavilo fecesom. (Grbeša, 2015.)

2.6. Probavljivost

Probavljivost je stupanj iskorištenja hrane tijekom prolaska kroz probavni sustav.

Hranjive tvari krmiva dolaskom u probavni sustav podvrgnute su mnogim hidrolitičkim procesima u cilju razgradnje do takvih oblika u kojem mogu biti korisni za organizam. Razgradnja je preduvjet za resorpciju konzumirane hrane u probavnom sustavu. Stavi li se u odnos količina probavljene hranjive tvari i količina ukupno primljene hranjive tvari dobiva se probavljiva tvar.

Probavljivost možemo izraziti sa koeficijentom ili postotkom od ukupno primljene hrane. Ispitivanje probavljivosti krmiva i njihovih hranjivih tvari provodi se praktičnim pokusima na životinjama jednom od poznatih metoda ispitivanja probavljivosti. Najčešće se u praksi probavljivost krmiva utvrđuje upotrebom direktne i indirektne metode, a tek sporadično i drugih triju :diferencijalne, semilaboratorijske i laboratorijske. (Domaćinović, 2006.)

2.7. Čimbenici probavljivosti

Probavljivost kao prvi stadij na putu procjene nutritivne vrijednosti krmiva mijenja se u manjoj ili većoj mjeri, i ovisi o djelovanju više čimbenika tijekom procesa probave. Na uspjeh probavljivosti krmiva ili hranjive tvari u njemu prvenstveno velik utjecaj ima vrsta životinje, karakter primljene hrane, potom starosna dob životinje, količina hrane, priprema hrane, individualnost i drugo.

Razlike u probavljivosti hrane između različitih vrsta životinja vezane su uz građu probavnog sustava i njihovu fiziološku funkciju. Životinje sa složenim želucem-preživači, zahvaljujući dobro razvijenoj mikroflori buraga znatno bolje koriste gruba-voluminozna krmiva bogata celulozom od nepreživača. Razlike su uočljive čak između pojedinih preživača. Tako goveda bolje koriste ova krmiva od ovaca, što se objašnjava većom zapreminom buraga i bogatstvom mikroflora.

Životinje s jednostavnim želucem, nepreživači, hranu probavljaju enzimima probavnih sokova vlastitog organizma i najbolje koriste koncentrirana krmiva s malim udjelom sirove vlaknine. Povećani udio celuloze značajno utječe i na probavljivost drugih organskih hranjivih tvari, obzirom da celuloza koja gradi stjenku stanice ne omogućava enzimima pristup do drugih tvari u samoj stanici

Probavljivost može znatno varirati, ovisno o sustavu obroka. Ovo posebno vrijedi kod voluminoznih krmiva, gdje količina pojedinih hranjivih tvari ovisi o stadiju vegetacije, načinu spremanja i dr. Kod mnogostaničnih životinja sa enzimatskom probavom sastav obroka, odnosno jedna vrsta hrane nema velikog utjecaja na probavljivost druge vrste. Kod preživača je ovaj utjecaj izraženiji jer probava ovisi o sastavu i količini mikroorganizama u buragu. Da bi probavljivost bila potpuna, potrebno je da odnos bjelančevina i drugih hranjivih tvari bude 1:8. (Domaćinović, 2006.)

Na probavljivost utječe i količina hrane u obroku. Obilna hranidba je nepoželjna jer ubrzava prolaz ingesta kroz probavni sustav i smanjuje vrijeme djelovanja probavnih sokova. Istodobno se smanjuje i vrijeme resorpcije probavljivih tvari, što izravno utječe na manju probavljivost. Sniženje probavljivosti pri obilnoj hranidbi jače je izraženo kod preživača nego kod nepreživača, i to osobito kod nisko produktivnih životinja.

Starost životinja može utjecati na probavljivost hrane. Mlade kategorije životinja, zbog postupnog razvoja funkcija probavnih organa ne mogu kvalitetno koristiti krmiva bogata sirovim vlaknima.

Mehanička priprema hrane: sjeckanje, mljevenje voluminoznih krmiva za ovce i goveda pokazuje promjenjive rezultate koji bitno utječu na probavljivost. Kemijskim metodama pripreme, djelovanjem lužine, izdvajaju se inkrustrirajuće tvari iz voluminoznih krmiva i samim time povećavaju iskorištenje sirove celuloze iz tretiranog krmiva.. Toplinska obrada krmiva uništava tripsin inhibitor i povećava probavljivost bjelančevina, a novijim metodama toplinske obrade značajno se povećava probavljivost ugljikohidrata.

Individualnost životinje individualno gledano, svaki organizam ima različitu sposobnost probavljanja hrane. Ipak u odnosu na prethodne, ovaj čimbenik nema veći utjecaj. Individualno svojstvo probave temelji se na činjenici da je svaka životinja drugačijeg temperamenta, da ima specifičnu građu zuba i da nije istog zdravstvenog svojstva.

2.8. Utvrđivanje probavljivosti krme

Probavljivost krmiva možemo procijeniti utvrđivanjem probavljivosti energije ili hranjivih tvari konzumirane hrane *in vivo*, *in situ*, *in vitro* i *enzimatskim metodama*.

In vivo metodama se određuje ukupna probavljivost suhe organske ili hranjive tvari u cijelom probavnom traktu žive životinje. Mjeri se količina pojedene i u fecesu izlučene hranjive tvari. Ovom metodom određuje se koliko je hranjive tvari nestalo u probavnom traktu, ali ne i apsorbiranu količinu hranjivih tvari. (Grbeša, 2015.)

In vivo određivanje probavljivosti indirektnom metodom zasniva se na praćenju odnosa između inertne i hranjive tvari u konzumiranoj hrani, te inertne tvari i hranjive tvari u izlučenom fecesu. Indirektna metoda probavljivosti krmiva razvijena je sa ciljem značajnijeg pojednostavljenja i pojeftinjenja izvođenja praktičnog dijela pokusa, što inače nije moguće kod direktne metode. Olakšavajuća je okolnost indirektno metode da u njoj nije potrebna kolekcija ukupnog fecesa, već se zadovoljava uzimanjem jednog dnevnog uzorka fecesa. Ova metoda se još u praksi naziva metoda indikatora. (Domaćinović, 2006.)

In vivo totalna kolekcija fecesa je tehnika ispitivanja probavljivosti koja se temelji na principu praćenja razlike između količine hrane, odnosno količine hranjive tvari obroka i količine istih tvari izlučenih u izmetu. Praktični dio pokusa počinje izborom pokusnih životinja. Bitan preduvjet za dobivanje reprezentativnih rezultata je izbor zdravih životinja, dobre kondicije, ujednačenih po spolu, dobi i tjelesnoj masi. Pokusne životinje, najmanje tri se potom useljavaju u predviđene pokusne prostorije, najčešće sa ugrađenim kavezima, i

počinje pripremno razdoblje. U ovom razdoblju se životinje privikavaju na ispitivanu hranu, čisteći probavne organe od prethodne hrane. Vremenski gledano, pripremno razdoblje traje od 7-10 dana kod monogastričnih i 14-20 dana kod poligastričnih životinja. Za određivanje dužine trajanja pripremnog razdoblja nekada se koriste markeri (neprobavljive inertne tvari). Na pripremno razdoblje se nastavlja razdoblje ispitivanja koje traje 10, a u iznimnim slučajevima i do 20 dana. Tijekom ovog razdoblja ako je ispitivanje direktnom metodom, vodi se točna evidencija o konzumaciji hrane kao i o defekaciji pokusnih životinja. Cjelodnevno prikupljeni izmet se homogenizira i od ukupne mase zadržava u posudama sa formaldehidom oko 20-40 %. Poželjna temperatura hladnjaka tijekom skladištenja je 4°C. Dobivene vrijednosti o količini konzumirane hrane i izlučenog izmeta, kao i rezultati kemijske analize hranjivih tvari obrađuju se računskim putem po formuli za prividnu ili pravu probavljivost.

Hranjiv unos - hranjiva u izmetu

$$\text{Hranjiva probavljivost (\%)} = \frac{\text{-----}}{\text{Hranjiv unos}} \times 100$$

Prividna se razlikuje od prave probavljivosti jer ne evidentira količinu suhe tvari izmeta metaboličkog porijekla. (Domaćinović, 2006.)

In vivo diferencijalna metoda je izračun probavljivosti hranjivih tvari u ispitnoj prehrani a temelji se na pretpostavci da je probavljivost mješovite prehrane jednaka zbroju proporcija prehrane dobivene od svakog sastojka. Probavljivost hranjivih tvari koje se pune u obliku miješane stočne hrane izračunava se na sljedeći način.

$$(A) - (B) (C) \times 100$$

$$\text{Probavljivost hranjivih tvari u ispitivanoj hrani (\%)} = \frac{\text{-----}}{\text{D}}$$

A = Probavljivost hranjivih tvari u ukupnoj prehrani; B = Probavljivost hranjivih tvari u bazalnoj prehrani (obično je već određeno kad se pune same); C = udio ukupnih hranjiva u hranidbi dobivenih od bazalnih obroka; (D) omjer ukupne hranjive tvari u hranidbi isporučenoj s ispitanom hranom.

In vivo metode su vrlo komplicirane, skupe i nepogodne za brže rutinske analize. Za krmiva preživača izuzetno je važno znati kolika je njihova probava u predželucima kao glavnom

mjestu mikrobiološke razgradnje hrane. Mikroorganizmi buraga kao hranidbeni supstrat koristi razgradljivu ili fermentirajuću organsku tvar krmiva.

In vitro metode mogu koristiti mješavine glavnih enzima i/ili mikroorganizama iz živih životinja s puferima u uređaju. *In vitro* metode su brze i jeftine i na jednostavan način oponašaju glavne procese probave u probavnom sustavu.

Enzimatske metode su također *in vitro* metode koje koriste mješavine glavnih enzima s puferima koji u uređaju oponašaju glavne procese probave. Umjesto mikroorganizama iz životinja koriste se komercijalno dostupni enzimi. (Grbeša, 2015.)

Od kasnih 1970-ih sve se više proširuje upotreba *in-vitro* tvorbe plina u utvrđivanju svojstava probavljivosti i dinamike fermentacije krmiva za preživače. (Theodorou i sur., 1994., 1998.)

In vitro proizvodnja plina se naširoko koristi za proučavanje brzine i opsega vrenja organskih tvari i tekućina u buragu, te su automatizirani sustavi u potpunosti dostupni. Automatizirana oprema proizvodnje plina u sustavu koristi električni ventil kako bi se spriječio tlak boce i otklonila mogućnost da plin izlazi. Oprema za proizvodnju plina je adaptirana tako da se male količine (10L) plina mogu uzeti iz gornjeg prostora, te analizirati na koncentraciju metana. (Cone i sur., 1996.) Metodološka pitanja vezana uz *in vitro* proizvodnju plina nisu nebitna, a obuhvaćaju ona koja se odnose na različite uređaje koji se upotrebljavaju (npr. šprice) i stvarna sredstva za mjerenje proizvodnje plina. Učinci faktora koji mogu utjecati na *in vitro* fermentacije su izvor i priprema inokuluma, sastav i priprema podloge, te oni mogu utjecati na izmjerenu proizvodnju plina. (Krishnamoorthy i sur., 2015.)

In situ metodama se određuje probavljivost hranjivih tvari u glavnim mjestima probave. Tako se u preživača određuje probavljivost u buragu, konja u debelom crijevu, a svinja u prvom dijelu tankog crijeva. Tehnika *in situ* najlonska vrećica je tehnika koja se najčešće koristi za određivanje kemijskih komponenata hrane, kao što su suhe tvari (ST), sirovi proteini (SP), neutralna detergent sredstva vlakana, minerali i elementi u tragovima, te se smatra referentnom metodom za određivanje svojstava razgradnje krmiva u buragu. (Ali i sur., 2014.)

Najlonske vrećice koje mogu biti veličine 5-15 cm, pune se (2-3 g) hranom za životinje. Vrećice u buragu su osigurane vrpčama kako bi se spriječila izloženost probave mikrobima. Nakon nekog vremena, vrećice se vade, ispiru vodom, suše i zatim se mjeri ostatak taloga. U obzir treba uzeti veličinu pora vrećice, koje bi trebale biti dovoljno male da se spriječi prolazak hrane iz vrećice, ali ujedno i dovoljno velike da se omogući ulaz mikroba. Najlonska

vrećica odnosno *in situ* tehnika je vrlo korisna za procjenu kinetičkih aspekata probave u preživača. (Khan M i sur., 2003.)

2.9. Energija, metabolizam preživača i novije energetske jedinice

Sve vrste organizama od jednostaničnog do razvijenih životinja za svoj život trebaju energiju koju ne mogu stvoriti već je uzimaju iz okoline i transformiraju iz jednog oblika u drugi (fotosintezom, hranom). Energija postoji u brojnim oblicima kao što su: kemijska, mehanička, toplinska i kao takva potrebna je životinji za sve tjelesne funkcije.

Metabolizam životinje treba jednostavne i čiste hranjive tvari, vodu, monosaharide, hlapljive masne kiseline, aminokiseline, vitamine, minerale, esencijalne masne kiseline i kisik, a u hrani se one nalaze često u složenoj formi. Aminokiseline u proteinu, masne kiseline u lipidima, monosaharidi u škrobu ili vlaknima, minerali u kompleksima i solima i dr.

Prema zakonima termodinamike životinje niti mogu stvoriti niti razoriti energiju, već je samo mogu pretvoriti iz jednog oblika u drugi. Prelazak energije iz jednog oblika u drugi naziva se rad ili snaga. Najveći dio pojedene hrane i probavljenih hranjivih tvari životinja koristi kao izvor energije. Životinja najveći dio vremena troši za podmirenje energetske potrebe. Najveći dio metaboličke aktivnosti u tijelu je usmjeren na energiju. Domaće životinje moraju svakodnevno dobivati energiju iz svoje okoline u obliku kemijski vezane energije hrane. U većini, ako i ne i u svih domaćih životinja nedovoljna opskrba energijom mnogo češće uzrokuje zakržljalogost i ograničenje proizvodnje nego deficit bilo koje druge hranjive tvari.

Životinje jedu onoliko hrane koliko im je potrebno za zadovoljavanje energetske potrebe, te se na sadržaj energije vežu potrebe u svim ostalim hranjivima.

Probavom hrane oslobađaju se hranjive tvari čijim „spaljivanjem“ se oslobađa energija potrebna za održavanje rada osnovnih tjelesnih funkcija životinje kao što je rad dišnog i probavnog sustava, te kruženje krvi i rast.

2.9.1 Ukupna bruto energija

Polazeći od dotadašnjih znanja o energetske vrednovanju krmiva, razvijali su se novi sustavi za ocjenu energetske hranjive vrijednosti krmiva za različite vrste životinja. Za razliku od starijih praktičnih jedinica, koje su neizravno mjerile energiju krmiva, noviji sustavi energetske vrijednosti krmiva mjere izravno jedinicama za energiju, u početku kalorijama a

potom džulima. Novi sustavi ocjene energetske vrijednosti nastali su na osnovi Kellnerovog škrobnog ekvivalenta i predlažu računanje energetske vrijednosti krmiva u bruto energiji, probavljivoj energiji, metaboličkoj energiji i neto energiji. (Kellner, 1900.)

Ukupna energija predstavlja potencijalnu fizičku energiju krmiva vezanu u formi kemijskih veza kompleksnih organskih spojeva krmiva, a oslobađa se u vidu toplinske energije potpunim sagorijevanjem ili oksidacijom energetskih hranjivih tvari do CO₂ i H₂O. Anorganske hranjive tvari prisutne u krmivima, voda i pepeo, nemaju energetske vrijednosti za organizam životinje. (Domaćinović, 2006.)

2.9.2 Probavljiva energija (PE)

Probavljiva energija je prvi oblik energije nastala tijekom metabolizma energetskih hranjivih tvari hrane u organizmu životinje. Ova energija predstavlja energiju probavljenih hranjivih tvari hrane, odnosno, ukupna energija hrane umanjena za energiju neprobavljenih hranjivih tvari (fecesa). Ova probavljiva energija se još definira kao prividna probavljiva energija i razlikuje se od prave probavljive energije jer ne uzima u obzir energiju hranjivih tvari endogenog porijekla izlučenih sa fecesom.

U praktičnim okolnostima uglavnom se procjenjuje prividna probavljiva energija, jer je utvrđivanje energije endogenog porijekla vrlo složen postupak. Kod računanja probavljive energije voluminoznih krmiva, kod kojih je udio vlaknine značajan, nastaju znatne razlike u vrijednosti iste energije kod monogastričnih i poligastričnih životinja. Razlika nastaje zbog mikrobiološkog načina razgradnje hranjivih tvari u predželucima preživača i oslobađanja veće količine plinova i topline koji su za organizam izgubljeni, a predstavljaju dio probavljenih ugljikohidrata hrane.

Probavljiva energija krmiva može se procijeniti i računskim putem, na osnovi kemijske analize sadržaja organskih hranjivih tvari, njihovih koeficijenata probavljivosti te zbrajanjem energetskih vrijednosti pojedinih hranjivih tvari.

2.9.3 Metabolička energija (ME)

Metabolička energija se smatra vrlo važnim oblikom energije u okviru novijih sustava energetskog vrednovanja krmiva, a koristi se pri procjeni energetske vrijednosti hrane za svinje i perad. Metabolička energija nastaje nakon što se intermedijarnom mijenom energetske tvari u stanici organizma probavljiva energija umanjuje za gubitke energije plinova i

energije mokraće. Ovom energijom organizam zadovoljava brojne vitalne fiziološke funkcije, kao uzdržne tako i produktivne: sintezu mišićnog tkiva, mlijeka, masti jaja i drugih proizvoda, te se metabolička energija još naziva i fiziološki korisna energija. Stupanj iskorištenja probavljive energije u metaboličku razlikuje se značajnije između preživača i nepreživača, odnosno, niži stupanj iskorištenja je kod preživača i biljojeda, a opravdava se većim gubicima toplinske energije plinova nastalih mikrobiološkom razgradnjom vlaknine u probavnom sustavu, koji se kreću oko 10-12% probavljive energije. Uz gubitke energije mokraće oko 6% procjenjuje se da kod preživača ukupni gubici umanjuju probavljivu energiju za 18%. Kod nepreživača su gubici plinova vrlo mali, ali zato dominiraju gubici energije dušičnih spojeva mokraće i nedušičnih spojeva, i ukupno iznose oko 5%.

Iako promjenjivi karakter vrijednosti čimbenika koji utječu na količinu iskorištene metaboličke energije hrane otežava točnije procjenjivanje metaboličke energije neizravno, predložen je najjednostavniji računski model računanja metaboličke energije iz probavljive energije, sa točnošću do 3%.

ME za preživače = $PE \times 0,82$

ME za nepreživače = $PE \times 0,95$

2.9.4 Neto energija (NE)

U organskoj tvari hrane pohranjena je kemijska energija, koja se brojnim biokemijskim reakcijama oslobađa i prelazi u mehaničku ili toplinsku energiju, korisnu za obavljanje različitih fizioloških aktivnosti u organizmu. Neto energija je krajnji korisni produkt metabolizma energije hranjivih tvari kojeg organizam životinje u potpunosti koristi za uzdržne i proizvodne potrebe, kao što su: rast, proizvodnja i reprodukcija. Nastaje kao razlika metaboličke energije umanjene za gubitak toplinske energije nastale u probavnom sustavu, i u stanicama perifernih tkiva pri transformaciji jednog oblika energije u drugi. (Domaćinović, 2006.)

2.10. Utjecaj dušične gnojidbe na rast, kemijski sastav i probavljivost biljne mase sa travnjaka

Proizvodnja krme na prirodnim travnjacima određena je klimom, fertilnošću tla, florističkim sastavom tratine i načinom iskorištavanja travnjaka. Jedan od ključnih limitirajućih činitelja u proizvodnji krme na travnjacima je nedovoljna opskrba biljaka pristupačnim N, koji se sporo mineralizira iz organske tvari tla, i košnja travnjaka u kasnim stadijima razvoja tratine.

Korištenjem travnjaka iz tla se iznose velike količine biljnih hranjiva, čime se tlo osiromašuje, odnosno gubi plodnost. Količine N gnojiva, primjenom kojih se dobivaju ekonomski optimalni prinosi krme, često puta su pretjerane te predstavljaju potencijalne izvore onečišćenja okoline nitratima.

Kako su sirovi proteini po definiciji tvari koje u svom sastavu sadrže dušik, oni su najviše pod utjecajem gnojidbe tim elementom.

Gnojidba dušičnim gnojivima neophodna je za rast i razvoj tratine, bolje busanje trava, bolje iskorištavanje ostalih hraniva iz tla, veću hranidbenu vrijednost krme povećanjem sadržaja sirovih i probavljivih proteina. S obzirom na to da je cijena mineralnih gnojiva visoka, travnjake treba gnojiti racionalno.

Racionalna gnojidba je primjena one količine gnojiva koja odgovara potrebama biljke, stanju usjeva, plodnosti tla, a istovremeno vodi računa o klimatskim uvjetima i mogućem prinosu. Da bismo odredili pravilne količine gnojiva, potrebno je napraviti kemijsku analizu tla te znati koliko se hranjiva iznese iz tla prinosom. Razliku bi trebalo nadoknaditi gnojidbom. Ukoliko je tlo dobro opskrbljeno hranjivima, potrebno je vratiti samo one količine hranjiva koje smo iznijeli prinosom.

Na tlima srednje opskrbljenosti hranjivima vraća se više hranjiva u cilju podizanja njegove plodnosti, dok se na tlima slabe opskrbljenosti hranjivima gnoji još većim količinama gnojiva, tako da tlu povećamo efektivnu plodnost barem na razinu srednje opskrbljenosti (a još bolje dobre opskrbljenosti hranjivima).

Dušik (N) osigurava brzi porast biljne mase i povećava sadržaj bjelančevina, a smanjuje postotak vlaknine u krmi. Količine dušika ovise o botaničkom sastavu travnjaka, načinu korištenja travnjaka, tipu tla (plodnosti tla), planiranom prinosu i gnojenju ostalima hranjivima.

Upotrebom N gnojiva, neznatno se ubrzava klanje trava zbog čega se morfološka struktura vrlo malo mijenja, pogotovo kada je u pitanju zastupljenost lišća u ukupnom prinosu. Gnojidba N smanjuje sadržaj suhe tvari uz povećanje sadržaja sirovih proteina, naime pod utjecajem povećanih doza dušika brže se povećava sadržaj sirovih proteina.

Povećanje sadržaja sirovih proteina u suhoj tvari biljne mase s travnjaka je znatno veće ukoliko se travna masa iskorištava ranije sa većom upotrebom N gnojiva mora se imati na umu i povećanje nitratnog oblika dušika čiji je prag toksičnosti 0,22 % od suhe tvari.

Nagomilavanje nitratnog oblika dušika u biljkama se može smanjiti primjenom dušika u više navrata tokom godine ili primjenom amonijevih gnojiva. Sa povećanjem sadržaja dušičnih tvari u biljkama, zbog primjene dušičnih gnojiva dolazi do opadanja sadržaja topljivih

ugljikohidrata. Također dušična gnojiva mogu utjecati na povećan sadržaj sirove celuloze u suhoj tvari. (Leto., J. 2011)

3. MATERIJALI I METODE ISTRAŽIVANJA

3.1. Lokacija i eksperimentalni travnjak

Tijekom tri godine istraživanja (2002., 2003. i 2004. godine), na pokusnom pašnjaku „Centra za travnjaštvo“ Agronomskog fakulteta u Zagrebu praćen je utjecaj smanjenih količina mineralnog dušika na probavljivost, sadržaj sirovih proteina i metaboličke energije krme s poluprirodnog pašnjaka u uvjetima rotacijskog napasivanja ovčama.

Istraživanje je provedeno na sjevernim obroncima Medvednice na 636 m nadmorske visine, na poluprirodnom travnjaku, zajednice *Arrhenatheretum medioeuropaeum*.

Prije početka istraživanja pašnjak je korišten kombinirano, košnjom i napasivanjem goveda.

3.2. Tretmani i napasivanje

Tretmani su uključivali tri razine gnojidbe dušikom u količinama od N35 (35 kg ha⁻¹ god⁻¹ dušika), N100 (100 kg ha⁻¹ god⁻¹ dušika) i N150 (150 kg ha⁻¹ god⁻¹ dušika).

Istraživanje je bilo postavljeno po slučajnom bloknom rasporedu.

PK gnojidba i dio N gnojidbe obavljani su u proljeće, prije kretanja vegetacije, primjenom 500 kg ha⁻¹ kompleksnog gnojiva NPK: 7:20:30. Ukupna godišnja količina dušika kod tretmana N35 dana je primjenom NPK gnojiva u rano proljeće. Ostatak dušika kod tretmana N100 i N150 bio je dodan primjenom KAN-a u tri jednake aplikacije, nakon prva tri turnusa napasivanja, u svakoj godini istraživanja (Bošnjak, 2008.)

Godišnje količine primijenjenih biljnih hraniva prikazane su u tablici 1.

Tablica 1: Godišnje količine primijenjenih hraniva:

Gnojidbeni tretman	Hranivo (kg ha ⁻¹ god ⁻¹)		
	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
N35	35	100	150
N100	100	100	150
N150	150	100	150

U prvoj godini istraživanja ukupno je bilo 5 turnusa napasivanja, dok je u 2003. bilo 3, a u 2004. godini 7 turnusa napasivanja. Datumi turnusa napasivanja prikazani su u tablici 2.

Tablica 2: Datumi turnusa napasivanja u pojedinim godinama napasivanja

Godina	I	II	III	IV	V	VI	VII
2002	23.5.	11.6	1.7.	1.8.	2.9.	-	-
2003	5.5.	29.5.	28.7.	-	-	-	-
2004	28.4.	17.5.	31.5.	23.6.	15.7.	2.8.	16.8.

Travnjak je napasivan ovcama, pasmine šarole (Charolais), u dobi oko tri godine, prosječne tjelesne mase 70 kg. Napasivanje je bilo rotacijsko. Početak napasivanja ovcama bio je kod prosječne visine tratine od 13-15 cm. Na pregonima visoke zaposjednutosti paslo je 7, a na pregonu niske zaposjednutosti 4 ovce. Visina tratine je bila utvrđivana mjernim štapom, s naznačenim centimetrima i kliznim diskom od stiropora prema Whitney-u (1974), na osnovu 15 izmjera po glavnoj parceli, dva puta tjedno.

Uzorkovanje biljne mase je izvršeno neposredno prije svakog turnusa napasivanja, košnjom na visinu od 5 cm, sa 3 slučajno odabrana mjesta po parceli, upotrebom okvira površine 0,3 m². Uzorci su sušeni u sušioniku na 60°C u trajanju od 48 sati.

3.3. Istraživani pokazatelji

Praćeni su pokazatelji hranidbene vrijednosti u dostupnoj masi:

- a) sadržaj sirovih bjelančevina (SB [g kg⁻¹ ST])
- b) probavljivost OT (g OT kg⁻¹ konzumirane OT)
- c) metabolička energija (ME [MJ/kg⁻¹ ST])

3.4. Mjerenja na travnjaku

Uzorci za procjenu sadržaja SB, probavljivosti OT i sadržaja ME u dostupnoj biljnoj masi uzeti su neposredno prije svakog turnusa napasivanja, košnjom na visinu od 5 na 3 slučajno odabrana mjesta po parceli

Uzorci su sušeni u sušioniku na 60°C, tijekom 48 sati.

3.5. Kemijske analize biljnog materijala i dinamika razgradnje

Pokazatelji hranidbene vrijednosti utvrđeni su kemijskom analizom. Osušeni uzorci su samljeveni na veličinu čestica od 1 mm korištenjem mlina čekićara (Christy, Model 11).

Sadržaj dušika utvrđen je metodom po Kjeldahu (ISO 5983-1) korištenjem jedinice za razaranje, te automatske jedinice za destilaciju i titraciju uzoraka (Gerhardt). Sadržaj SB dobiven je množenjem utvrđenog sadržaja dušika sa 6,25

Dinamika razgradnje dostupne biljne mase utvrđena je automatskim sustavom proizvodnje plina (Cone i sur, 1996). Približno 400 mg organske tvari (OT) inkubirano je uz dodatak 60 ml puferiranog buražnog soka, u trajanju od 72 sata. Svaki uzorak je inkubiran u duplikatu u dvije serije. Buražni sok je uzet od četiri fistulirane ovce hranjene na uzdržnim potrebama, sijenom i koncentratom u omjeru 60:40 %.

Probavljivost OT (POT) je izračunata korištenjem formule (Gosselink i sur., 2004):

$$POT = 300 + 1,616 \times GP20 + 0,332 \times SB$$

Gdje je: GP20- količina proizvedenog plina (ml g^{-1} OT) nakon 20 h inkubacije; SB- sadržaj sirovih bjelančevina (g kg^{-1} ST)

Sadržaj ME je izračunata iz *in vitro* probavljivosti, ST na osnovi sljedeće formule (SCA, 1990):

$$ME (\text{MJ kg}^{-1} \text{ ST}) = [\text{POT} (\%) \times 0,16] - 1,8$$

Rezultati su obrađeni analizom varijance u programu MS Office (Excel).

4. REZULTATI I RASPRAVA

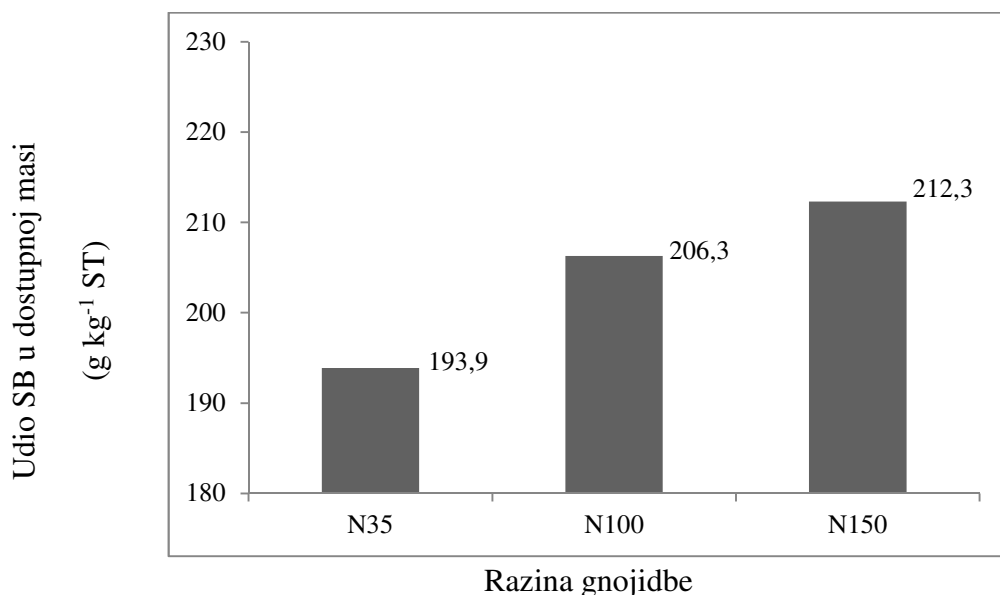
4.1. Sadržaj sirovih bjelančevina

Primjena različitih količina N utjecala je na promjenu sadržaja SB u dostupnoj masi (grafikon 1). Najviši sadržaj SB u dostupnoj masi utvrđen je kod gnojidbe od 150 kg N ha⁻¹ god⁻¹ (212,3 g kg⁻¹ ST). Smanjenjem gnojidbe na 100 kg N ha⁻¹ god⁻¹ (206,3 g kg⁻¹ ST) nije utvrđena značajna razlika u sadržaju sirovih bjelančevina u usporedbi s primjenom 150 kg N ha⁻¹ god⁻¹ (212,3 g kg⁻¹ ST).

Utjecaj primjene N na hranidbenu vrijednost dostupne mase utvrđen je u smanjenom sadržaju SB kod gnojidbe sa 35 kg N ha⁻¹ god⁻¹ (193,9 g kg⁻¹ ST) u usporedbi s višim količinama primijenjenog N.

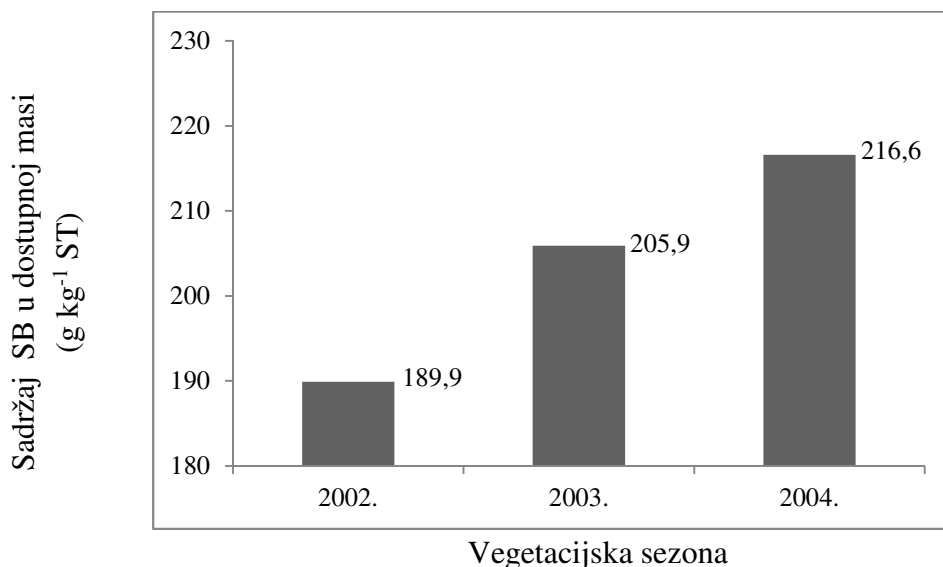
Sadržaj SB kod gnojidbe 35 kg N ha⁻¹ god⁻¹ iznosio je 193,9 g kg⁻¹ ST što je 18,4 g kg⁻¹ ST (9,48%) manje u usporedbi sa primjenom 150 kg N ha⁻¹ god⁻¹ (212,3 g kg⁻¹ ST) i 12,39 g kg⁻¹ ST (6,38 %) manje u usporedbi sa primjenom 100 kg N ha⁻¹ god⁻¹ (206,3 g kg⁻¹ ST).

Grafikon 1: Utjecaj gnojidbe dušikom na sadržaj SB travnjaka
LSD 0,05 = 10,66 g kg⁻¹ ST



Nisu utvrđene značajne razlike između godina uzgoja u sadržaju SB u biljnoj masi. (P<0,05) Sadržaj SB utvrđen u 2002., 2003. i 2004. godini iznosio je 189,9 , 205,9 i 216,6 g kg⁻¹ ST., respektivno (grafikon 2.)

Grafikon 2: Prosječni sadržaj SB u dostupnoj masi



Valk i sur., (2000) su utvrdili da smanjenje količine primijenjenog N rezultiraju smanjenjem sadržaja SB i smanjenom *in vitro* probavljivosti.

4.2 Probavljivost organske tvari (OT)

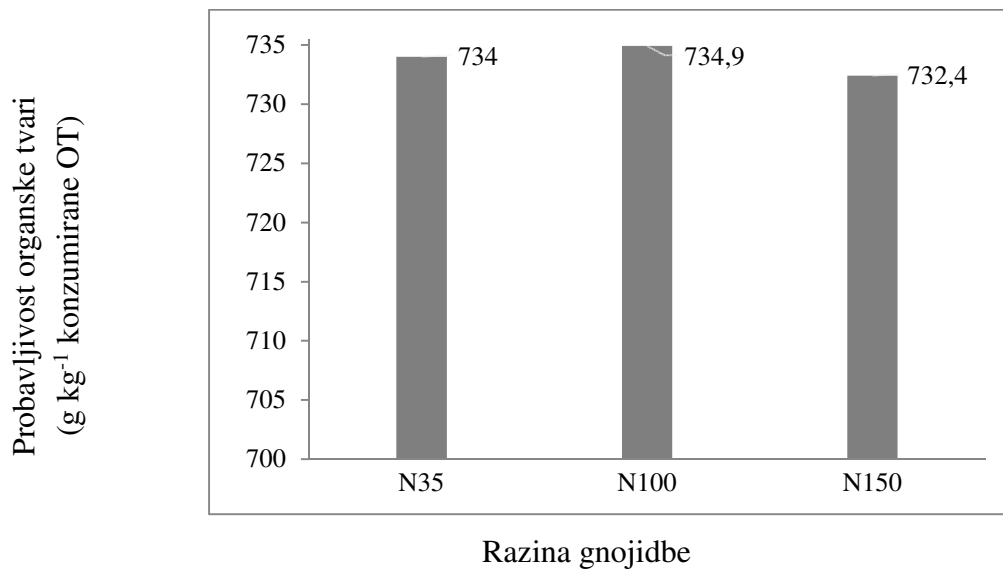
Nije utvrđen utjecaj gnojidbe na probavljivost OT ($P > 0,05$) što upućuje na zaključak da probavljivost organske tvari ne ovisi o gnojidbi dušikom (grafikon 3). Unatoč tome, najveća probavljivost OT utvrđena je kod gnojidbe $100 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ god}^{-1}$ gdje je iznosila $734,9 \text{ g kg}^{-1} \text{ ST}$. Povećanjem gnojidbe $150 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ god}^{-1}$ utvrđeno je smanjenje probavljivosti organske tvari na $732,4 \text{ g kg}^{-1} \text{ OT}$. Probavljivost organske tvari dostupne biljne mase kod gnojidbe $100 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ god}^{-1}$ bila je za $2,5 \text{ g kg}^{-1} \text{ OT}$ veća što predstavlja povećanje od $0,34 \%$

Probavljivost OT kod primjene $35 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ god}^{-1}$ iznosila je $734 \text{ g kg}^{-1} \text{ OT}$ što je za $0,9 \text{ g kg}^{-1} \text{ OT}$ ($0,12 \%$) manje u usporedbi sa primjenom $100 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ god}^{-1}$ ($734,9 \text{ g kg}^{-1} \text{ OT}$).

Probavljivost OT $35 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ god}^{-1}$ rezultirala je povećanjem od $1,6 \text{ g kg}^{-1} \text{ OT}$ ($0,21\%$) u usporedbi sa primjenom $150 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ god}^{-1}$ ($732,4 \text{ g kg}^{-1} \text{ OT}$).

Ovakvi rezultati u skladu su sa ranijim istraživanjima Salette (1982), te Peyraud i Astigarraga (1998) koji tvrde da se sadržaj probavljivosti OT više mijenja pod utjecajem starenja biljne mase nego kao reakcija na različite količine N.

Grafikon 3. Utjecaj gnojidbe dušikom na probavljivost organske tvari



Kod probavljivosti OT krme, s obzirom na vegetacijsku sezonu (grafikon 4.) utvrđena je značajna razlika probavljivosti OT dostupne biljne mase s obzirom na vegetacijsku sezonu uzgoja.

Probavljivost OT 2002. godine (702,3 g kg⁻¹ OT) za razliku od 2003. godine (757,3 g kg⁻¹ OT) bila je manja za 55 g kg⁻¹ ST što predstavlja smanjenje od 7,83 %.

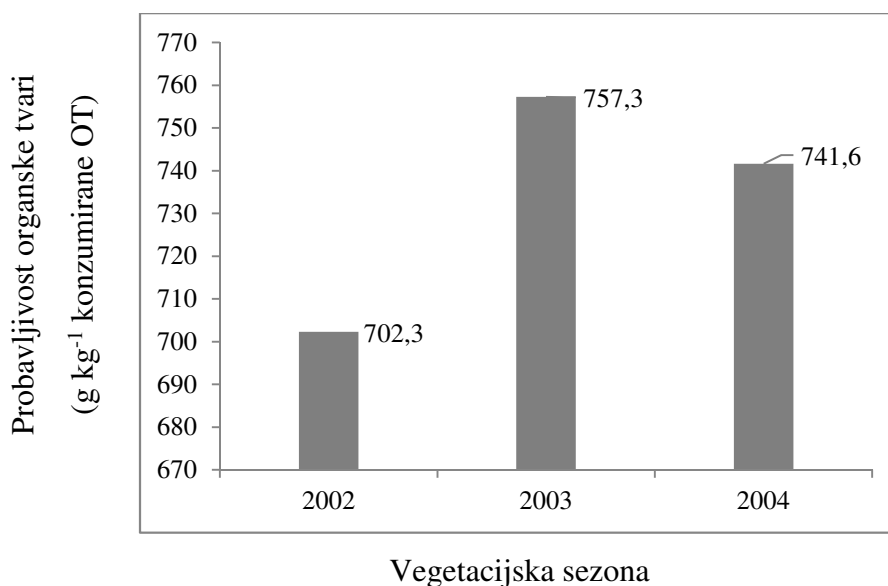
Tijekom vegetacijske sezone 2004. godine (741,6 g kg⁻¹ OT) utvrđeno je smanjenje probavljivosti OT dostupne biljne mase za 15,7 g kg⁻¹ ST u usporedbi sa 2003. godinom (757,3 g kg⁻¹ OT) što predstavlja smanjenje od 2,11 %.

Probavljivost organske tvari u vegetacijskoj sezoni 2004. godine (741,6 g kg⁻¹ OT) za razliku od 2002. godine (702,3 g kg⁻¹ OT) bila je veća za 39,3 g kg⁻¹ ST što predstavlja povećanje za 5,59 %.

Najveća probavljivost OT dostupne biljne mase utvrđena je tijekom vegetacijske sezone 2003. godine, gdje je u usporedbi sa 2002. godinom bila veća za 7,83% a u usporedbi sa 2004. godinom veća za 2,11 %.

Sve navedeno upućuje da kvaliteta biljne mase ovisi o botaničkom sastavu.

Grafikon 4. Probavljivost organske tvari s obzirom na vegetacijsku sezonu

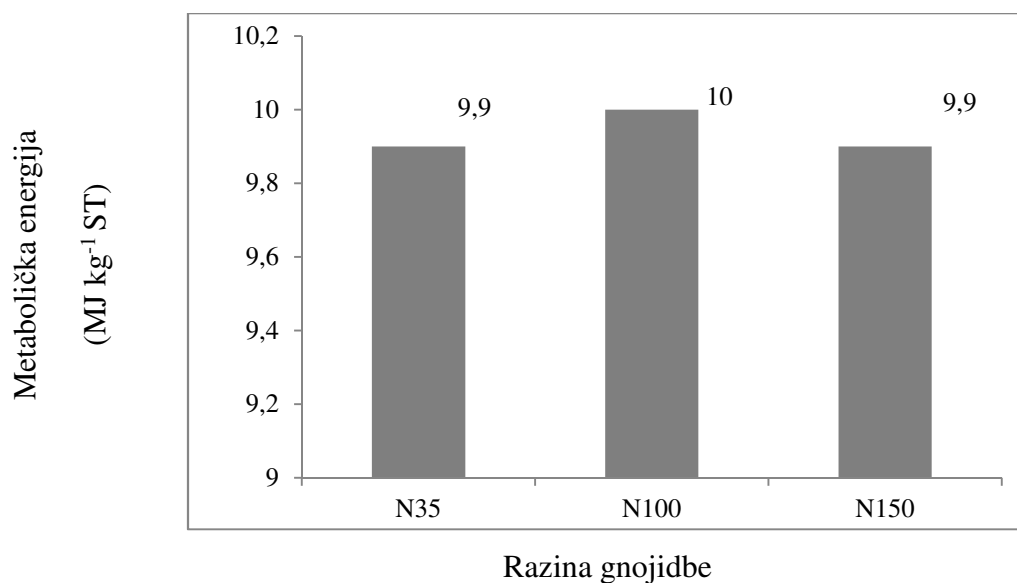


4.3 Metabolička energija

S obzirom na rezultate utjecaja gnojidbe N na sadržaj metaboličke energije (grafikon 5.) možemo zaključiti da ne postoji značajna razlika između utjecaja gnojidbe N i sadržaja metaboličke energije.

Najveći sadržaj metaboličke energije utvrđen je kod primjene $100 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ god}^{-1}$ ($10 \text{ MJ kg}^{-1} \text{ ST}$) i rezultirala povećanjem od $0,1 \text{ MJ kg}^{-1} \text{ ST}$ za razliku od primjene $35 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ god}^{-1}$ ($9,9 \text{ MJ kg}^{-1} \text{ ST}$) i primjene $150 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ god}^{-1}$ ($9,9 \text{ MJ kg}^{-1} \text{ ST}$), što predstavlja povećanje od 1,01 %.

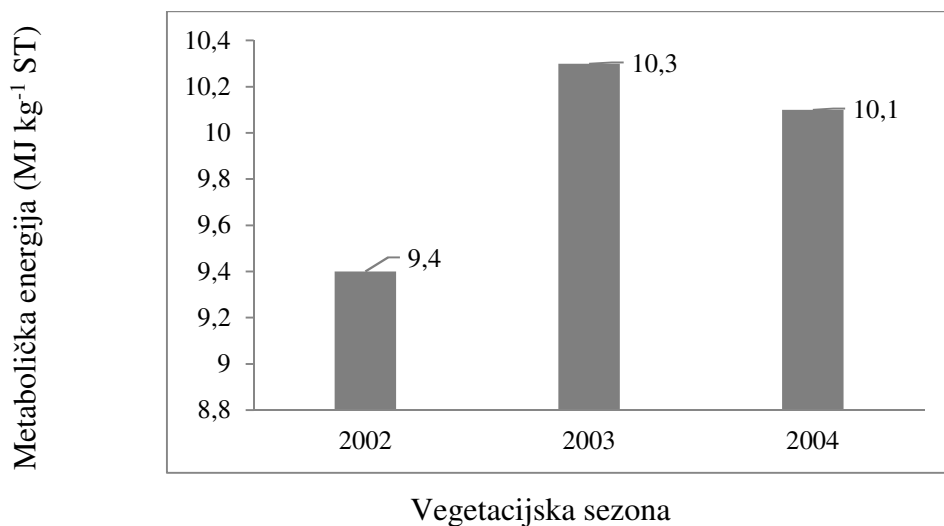
Grafikon 5. Utjecaj gnojidbe dušikom na sadržaj metaboličke energije



Sadržaj metaboličke energije u dostupnoj biljnoj masi nije se značajno razlikovao ovisno o vegetacijskoj sezoni uzgoja.

Najveći sadržaj metaboličke energije utvrđen je tijekom vegetacijske sezone 2003. godine gdje je sa svojih 10,3 MJ kg⁻¹ ST bio veći u usporedbi sa 2002. godinom za 0,9 MJ kg⁻¹ ST (9,57 %) i u usporedbi sa 2004. godinom veći za 0,2 MJ kg⁻¹ ST što predstavlja povećanje za 1,98 %.

Grafikon 6. Utjecaj vegetacijske sezone na sadržaj metaboličke energije



5. ZAKLJUČAK

Nakon provedenog istraživanja o utjecaju N gnojidbe na sadržaj sirovih bjelančevina, probavljivost organske tvari i sadržaj metaboličke energije, mogu se donijeti sljedeći zaključci:

- promjena količine primijenjenog N utjecala je na promjenu sadržaja SB u dostupnoj masi.
- utjecaj primjene N na hranidbenu vrijednost dostupne mase utvrđen je samo u smanjenom sadržaju SB kod gnojidbe sa $35 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ god}^{-1}$
- unatoč činjenici da nije utvrđen značajan utjecaj N gnojidbe na probavljivost OT dostupne biljne mase, najveći sadržaj probavljivosti OT utvrđen je kod gnojidbe $100 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ god}^{-1}$ ($734,9 \text{ g kg}^{-1} \text{ ST}$)
- s obzirom na vegetacijsku sezonu uzgoja utvrđena je značajna razlika između probavljivosti OT dostupne biljne mase i vegetacijske sezone uzgoja
- nije utvrđen utjecaj gnojidbe na sadržaj ME dostupne biljne mase
- za razliku od sadržaja SB i ME u dostupnoj biljnoj masi probavljivost OT je značajno varirala ovisno o vegetacijskoj sezoni, odnosno godini istraživanja

6. LITERATURA:

1. Ali, M., Cone, J.W., van Duinkerken, G., Klop, A., Kruisdijk, J., Blok, M.C., Bruinenberg, M., Hendriks, W.H., Relationship between chemical composition and in situ rumen degradation characteristics of grass silages in dairy cows, *NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences* 70-71 (2014) 9-25
2. Bošnjak, K. (2008). Utjecaj gnojidbe dušikom i pašnog opterećenja na produktivnost i kvalitetu planinskog pašnjaka. Agronomski fakultet, Zagreb
3. Cone, J. W., A. H. Van Gelder, G. J. W. Visscher and L. Oudshoorn. 1996). Influence of rumen fluid and Substrate concentration on fermentation kinetics measured with a fully automated time related gas production apparatus. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 61, 113-128.
4. Domaćinović, M. (2006). Hranidba domaćih životinja: osnove hranide. Sveučilište Josipa Juraja Strossmayera u Osijeku. Poljoprivredni fakultet, Osijek
5. Gosselink J.M.J., Dulphy J.P., Poncet C., Jailler M., Tamminga S., Cone J.W. (2004): Prediction of forage digestibility in ruminants using in situ and in vitro techniques. *Animal Feed science and Technology* 115, 227-246
6. Grbeša, D. (2015). <http://documents.tips/documents/02-ag1035kompendijum.html>, pogledano 2.2. 2017.
7. ISO 5983-1:2005. Animal feeding stuffs-Determination of nitrogen content and calculation of crude protein content. Part 1: Kjeldahl method
8. ISO 5983-2:2005. Animal feeding stuffs-Determination of nitrogen content and calculation of crude protein content. Part 2: Block digestion/steam distillation method
9. Jovanović, R., Dujić, D., Glamočić D. (2001). Ishrana domaćih životinja. 2. izmjenjeno i dopunjeno izdanje. Stylos, Novi Sad
10. Kellner, O. and A. Köhler. 1990. Untersuchungen über den stoffund energumsatz des erwachsenen rind bei erhaltungs-und produktions futter. *Landw. Versuchs. Stationen* 53:1.-474.
11. Khan, A. M., Nisa, M., Sarwar, M. (2003). Techniques Measuring Digestibility for the Nutritional Evaluation of Feeds, 1560-8530/2003/05-1-91-94
12. Krishnamoorthy, U., Rymer, C., Robinson, P. H., The in vitro gas production technique: Limitations and opportunities, *Animal Feed Science and Technology* 123-124 (2015) 1-7

13. Leto., J. (2011). Gnojidba travnjaka, Gospodarski list <https://www.agroklub.com/ratarstvo/gnojidba-travnjaka/5351/>, pogledano 8.3.2017.
14. Pelikan, W.F., Hendriks, W.H., Uwimana, G., Bongers, L. J. G. M., Becker, P. M., Cone, J. W., A novel method to determine simultaneously methane production during in vitro gas production using fully automated equipment, *Animal Feed Science and Technology* 168 (2011) 196-205
15. Peyraud, J.L., Astigarraga, L. (1998). Review of the effect of nitrogen fertilization on the chemical composition, intake, digestion and nutritive value of fresh herbage: consequences on animal nutrition and N balance, *Feed Science and Technology* 72, 235-259
16. Salette, J. (1982). The role of fertilizers in improving herbage quality and optimization of its utilization. *Proceedings of 12th International Potash Institute Congress*. 117-144
17. SCA. (1990): *Feeding Standards for Australian Livestock: Ruminants*. CSIRO Publications, 266 pages
18. Theodoru, M. K., B. A Williams, M.S.Dhanoa, A. B. McAllan, J. France (1994): A new gas production method using a pressure transducer to determine the fermentation kinetics of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci. Technol.* 48,185-197
19. Theodoru, M. K., R.S Lowman, Z.S. Davies, D. Cuddeford, E. Owen (1998): Principles of techniques that rely on gas measurement in ruminant nutrition. In: Deavile, E.R., Owen, E., Adesogan, A.T., Rymer, C., Huntington, J.A Lawrence, T.L.J. (Eds), *In vitro Techniques for Measuring Nutrient Supply to Ruminants*. Occasional publication, NO. 22 British Society of Animal Science, pp. 55-63
20. Tswett., M. (1906). Adsorptionsanalyse und chromatographische Methode. Anwendung auf die Chemie des Chlorophylls. *Berichte der Deutschen botanischen Gesellschaft*, 24:384-393
21. van der Valk, A.G. (2000). Vegetation dynamics and models. In H. R. Murkin, A.G. van der Valk and W. R. Clark, eds *Prairie Wetland Ecology: the contributions of the Marsh Ecology Research Program*, p.p. 125-62. Iowa State University Press, Ames, IA
22. Vukadinović, V., Bertić. B. (2013). *Fiziologija gnojidbe*. Osijek, Studio HS internet d.o.o., Osijek

7. ŽIVOTOPIS

Mihaela Turković rođena je 31. siječnja 1992. godine u Varaždinu. Osnovno školsko obrazovanje završila je u Osnovnoj školi Novi Marof. Nakon završene osnovne škole upisuje srednju školu „Arboretum Opeka“ Vinica, smjer agroturistički tehničar. Godine 2010. upisuje Visoko Gospodarsko učilište u Križevcima. Sudjeluje u Erasmus projektu na Fakulteti za kmetijstvo in biosistemske vede u Mariboru. Godine 2013. stječe naziv stručna prvostupnica (baccalaurea) inženjerka poljoprivrede. Nastavlja diplomski studij na Agronomskom fakultetu u Zagrebu studijski program Biljne znanosti. Diplomski studij završava 2017. godine.