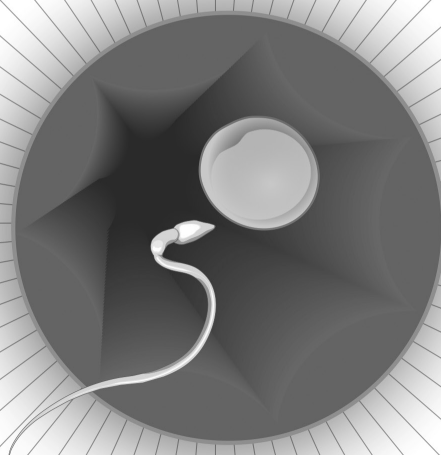




UNIVERZITET U BEOGRADU
FAKULTET VETERINARSKЕ MEDICINE

NAUČNI SIMPOZIJUM
REPRODUKCIJA DOMAĆIH ŽIVOTINJA

Divčibare, 12 -15. oktobar 2017.



ZBORNİK PREDAVANJA

8. NAUČNI SIMPOZIJUM „REPRODUKCIJA DOMAĆIH ŽIVOTINJA“
VIII SCIENTIFIC SYMPOSIUM „REPRODUCTION OF DOMESTIC ANIMALS“

– Zbornik radova / *Proceedings* –

Pokrovitelj / *Sponsored by*

Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije
Ministry of Education, Science and Technological Development Republic of Serbia

Organizatori / *Organized by*

Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu
Faculty of Veterinary Medicine, University of Belgrade

Dekan Fakulteta veterinarske medicine
Dean of the Faculty of Veterinary Medicine
Prof. dr Vlado Teodorović

Katedra za porodiljstvo, sterilitet i veštačko osemenjavanje
Department of Reproduction, Fertility and Artificial Insemination

Počasni predsednik / *Honorary Chairmen*

Prof. dr Vojislav Pavlović

Predsednik / *Chairmen*

Prof. dr Slobodanka Vakanjac

Sekretar / *Secretary*

Prof. dr Dragan Gvozdić

Organizacioni odbor / *Organizing Committee*

Prof. dr Milorad Mirilović, Prof. dr Dragan Šefer, Prof. dr Miroslav Ćirković, Dr sc. Željko Sladojević, Dr sc. Zoran Rašić, Mr sc. Saša Bošković, Dr sc. Dobrila Jakić-Dimić, Dr sc. Goran Jakovljević, Dr sc. Rodoljub Trkulja, Dragiša Petrović, Maja Gabrić

Naučni odbor / *Scientific Committee*

Prof. dr Miloš Pavlović, Prof. dr Danijela Kirovski, Doc. dr Vladimir Magaš,
Prof. dr Toni Dovenski, Prof. dr Otto Szenci

Sekretarijat / *Secretariat*

Prof. dr Dragan Gvozdić, Maja Gabrić

Odgovorni urednik / *Editor in Chief*

Prof. dr Miodrag Lazarević

Grafički dizajn i izrada korica / *Cover design*

Prof. dr Ivan B Jovanović

Tehnički urednik / *Technical Editor*

Gordana Lazarević

Izdavač / *Publisher*

Fakultet veterinarske medicine, Beograd
Centar za izdavačku delatnost i promet učila

Štampa / *Printing*

Naučna KMD, Beograd

Tiraž: 400 primeraka

SADRŽAJ

PLENARNI REFERATI

- 1. Szelenyi Zoltan:**
Recent experiences with prostaglandin treatment of dairy cows
Nova iskustva sa prostaglandinskim tretmanom mlečnih krava 3
- 2. Szenci Ottó:**
Importance of monitoring calving to decrease stillbirth rate
in dairy farm
*Značaj monitoringa teljenja u cilju smanjenja uginuća fetusa i
rađanja mrtve teladi na farmi muznih krava* 17
- 3. Dovenski Toni, Grizelj Juraj, Ilievska Ksenija,
Atanasov Branko, Vince Silvijo, Nikolovski Martin,
Dovenska Monika, Giadinis D Nektarios:**
Abortusi kod malih preživara (ovaca i koza)
Abortions in small ruminants (abortions in sheep and goats) 39
- 4. Petrović Miloš:**
Poremećaji reprodukcije kod ovnova i ovaca usled infekcije
sa *Brucella ovis*
*Reproduction disorders in small ruminants caused by
Brucella ovis infection* 49
- 5. Pavlović Miloš:**
Infektivni abortus kod mlečnih krava
Infectious abortions in cattle 65
- 6. Klinc Primož, Kosec Marjan:**
Use of assisted reproductive techniques for gene preservation
in equine
*Primena tehnika asistirane reprodukcije u očuvanju gena
kod ekvida* 79

- 7. Zambelli Daniele:**
Clinical approach to prostatic diseases in the dog
Klinički pristup oboljenjima prostate kod pasa 97
- 8. Opsomer Geert, de Kruif Aart, Noordhuizen Jos:**
Dairy herd health management: current state and perspectives
Upravljanje farmom muznih krava: aktuelni status i perspektive 117
- 9. Mari Gaetano:**
Critical review of timed artificial insemination in dairy and beef cattle
Kritički osvrt na tempirano veštačko osemenjavanje mlečnih i tovnih goveda 145
- 10. Bajcsy, Árpád Csaba:**
Differential diagnosis of some important periparturient diseases in recumbent dairy cows
Diferencijalna dijagnoza nekih značajnih peripartalnih oboljenja kod "ležećih" krava 165
- 11. Šefer Dragan, Radulović Stamen, Marković Radmila:**
Antinutritivne materije kao permanentni faktori rizika u ishrani visokomlečnih krava
Antinutritive factors as permanent risk factors in the diet of high-yielding cows 185
- 12. Đurić Miloje, Prodanović Radiša, Magaš Vladimir:**
Komparativni prikaz reproduktivnih parametara autohtonih i visokomlečnih rasa krava
Comparative review of reproductive parameters in autochtone cattle breed and high yielding dairy cows 199

KRATKA SAOPŠTENJA

- 13. Milovanović Aleksandar, Lazarević Miodrag, Milanov Dubravka, Barna Tomislav:**
Primena manan oligosaharida u terapiji puerperalnih infekcija mlečnih krava
Mannan oligosacharides in the therapy of dairy cows puerperal infections 209

- 14. Petrović Slobodan, Lazarević Miodrag, Jakovljević Goran, Milovanović Aleksandar:**
Nova saznanja o proteinima semene plazme bika
New findings regarding bulls seminal plasma proteins 217
- 15. Savić Radovanović Radoslava, Zdravković Nemanja, Čupić Srećko, Pešić Nemanja, Babić Milijana:**
Učestalost pojave supkliničkih mastitisa krava na farmi
– prikaz slučaja
The incidence of subclinical mastitis in cows at the farm
– *A case report* 231
- 16. Savić Radovanović Radoslava, Jović Slavoljub, Davidović Vesna, Zdravković Nemanja, Babić Milijana:**
Oksidativni stres kod mastitisa
Oxidative stress in mastitis 237
- 17. Urošević I. Miroslav, Vakanjac Slobodanka, Čengić Benjamin, Stojanac Nenad, Savović Milan:**
Organizacija veštačkog osemenjavanja kopitara u EU
i situacija u Srbiji
Organization of equine artificial insemination in the EU
and situation in Serbia 243
- 18. Fratrić Natalija, Gvozdić Dragan, Stojić Milica:**
Aktuelni trend u ispitivanju kvaliteta kolostruma kod mlečnih krava
i neadekvatnog transfera pasivnog imuniteta kod teladi
Current trends in testing the quality of colostrum in dairy cows
and failure of passive transfer in calves 245
- 19. Milovanović Aleksandar, Mašić Aleksandar, Barna Tomislav, Apić Jelena, Jovičin Milovan, Lazarević Miodrag:**
Dijagnoza supkliničkog endometritisa kod krava u trenutku
osemenjavanja – primena novog katetera
Diagnosis of (sub) clinical endometritis in cows at the moment
of insemination - application of new catheter 251
- 20. Obrenović Sonja, Pepić Marijana, Bacić Dragan, Stanković Branislav, Bojkovski Jovan, Urošević Miroslav, Vakanjac Slobodanka:**
Reproduktivni i respiratorni sindrom svinja (PRRS)
– epizootiološki i klinički aspekt
Reproductive and respiratory pig syndrome (PRRS) epizootiological
and clinical view 263

21. Vakanjac Slobodanka, Maletić Milan, Nedić Svetlana, Obrenović Sonja, Bojkovski Jovan: Puerperijum krmače i oboljenja prasadi na sisi <i>Puerperium in sows and disorders of suckling piglets</i>	271
22. Marinković Miodrag: Primena hormona u prevenciji i terapiji <i>retentio secundinarum</i> i njihov uticaj na puerperijum i reproduktivne parametre krava <i>The use of hormones in prevention and therapy of retained fetal membranes and their effect on puerperium and reproductive parameters in cows</i>	279
INDEKS AUTORA	285



**ANTINUTRIVNE MATERIJE KAO PERMANENTNI FAKTORI RIZIKA
U ISHRANI VISOKOMLEČNIH KRAVA**

**ANTINUTRITIVE FACTORS AS PERMANENT RISK FACTORS
IN THE DIET OF HIGH-YIELDING COWS**

Šefer Dragan, Radulović Stamen, Marković Radmila

Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu – Katedra za ishranu i botaniku

Kratak sadržaj

Predviđeni porast brojnosti ljudske populacije, kao i ograničena dostupnost zemljišta za povećanje proizvodnje hrane, nedvosmisleno nameću potrebu za intenziviranjem poljoprivredne proizvodnje, uvođenjem visokokvalitetnih rasa i poboljšanjem kvaliteta hrane za životinje. Pred nutricioniste je postavljen komplikovan zadatak identifikovanja komponenti koje mogu negativno uticati na iskoristivost hranljivih materija i posledično ograničiti produktivnost životinja, kao i utvrđivanje mehanizama za prevazilaženje navedenih problema. O štetnim efektima antinutritivnih faktora uglavnom se govori kod monogastričnih životinja, ali se ovi faktori, u zavisnosti od stepena razgradnje od strane mikrobiote, sve češće razmatraju kao uzrok problema u ishrani preživara. U tom pogledu, najviše pažnje usmereno je ka nitratima, oksalatima i taninima.

Ključne reči: antinutritivne materije, hrana za životinje, preživari

Summary

The projected increase in the number of human populations, as well as the limited availability of land to increase food production, definitely imposes the need for intensification of agricultural production, the introduction of high quality breeds and the improvement of the quality of animal feed. Nutritionists have a complex task of identifying components that can negatively affect the utilization of nutrients and consequently limit the productivity of animals, as well as identifying mechanisms to overcome these problems. Although the harmful effects of antinutritive factors are mainly reported in monogastric animals, these factors, depending on the degree of degradation by the rumen microbiota, are increasingly considered as the cause of the problem of dietary nutrition. In this respect, the most attention is focused on nitrates, oxalates and tannins.

Key words: animal feed, antinutritive substances, ruminants

Uvod

Predviđeni porast brojnosti ljudske populacije, kao i ograničena dostupnost zemljišta za povećano snabdevanje hranom, nedvosmisleno nameću potrebu za intenziviranjem poljoprivredne proizvodnje, uvođenjem visoko kvalitetnih rasa i poboljšanjem kvaliteta hrane za životinje. Pred nutricioniste je postavljen komplikovan zadatak identifikovanja antinutritivnih komponenti koje mogu negativno uticati na iskoristljivost hranljivih materija i posledično ograničiti produktivnost životinja, kao i pronalaženje najprihvatljivijih mehanizama za prevazilaženje navedenih problema. Antinutritivne materije se najčešće definišu kao supstance koje se proizvode tokom metaboličkih procesa u biljkama, a u ishrani životinja ispoljavaju efekat suprotan optimalnom. U literaturi se često označavaju kao „toksične“, ali navedeni naziv nije u potpunosti adekvatan, s obzirom da ove materije ispoljavaju letalan efekat samo kada ih životinje unesu u organizam u izuzetno velikim količinama. U najvećem broju slučajeva, one izazivaju smanjen porast životinja, lošiju konverziju hrane, hormonalne promene i oštećenja različitih organa. Mada se o štetnim efektima antinutritivnih materija uglavnom govori kod monogastričnih životinja, ovi faktori se, u zavisnosti od stepena razgradnje od strane mikrobiote buraga, sve češće razmatraju kao uzrok brojnih problema u ishrani preživara. U tom pogledu, najveća pažnja istraživača je usmerena ka ispitivanju štetnih efekata nitrata, oksalata i tanina.

Nitrati kao antinutritivne materije

Toksičnost nitrata u ishrani goveda, prvi put opisana je u Nebraski 1895. godine pri konzumaciji kukuruzne stabljike, ali nitrat nije tada prepoznat kao glavni uzrok trovanja. Tek krajem tridesetih godina prošlog veka, nakon trovanja životinja senom ovsa u Severnoj i Južnoj Dakoti, nitrati dobijaju veću pažnju istraživača (Launchbaugh, 2001). Trovanje nitratom preciznije se opisuje kao trovanje nitritom, jer se nakon konzumacije, nitrat (NO_3) u buragu goveda prevodi do nitrita (NO_2), zatim do amonijaka, aminokiselina i konačno do proteina. Maksimalna degradacija nitrata se odigrava pri pH vrednosti buraga od 6,5 a redukcija nitrita pri pH 5,6. Nitrati biljaka predstavljaju uobičajen supstrat za buražne mikroorganizme i oni su dobro "opremljeni" za njihovu razgradnju. Međutim, kada je u biljkama nivo nitrata visok, životinje ne mogu u potpunosti dovršiti razgradnju nitrata što rezultira akumuliranjem intermedijarnog nitrita. Nitrit se dalje apsorbuje u krvotok direktno kroz zid buraga i prevodi hemoglobin u methemoglobin, koji ne može efikasno transportovati kiseonik kroz telo životinje, kao ni do fetalne membrane, zbog čega je toksičnost nitrata često povezana sa povećanom incidencijom abortusa. Krv poprima čokoladno-braon boju, umesto uobičajene svetlo crvene, a životinja koja umre od trovanja nitratom (nitritom) zapravo umre od asfiksije, ili nedostatka kiseonika (Benjamin, 2006). Smrt nastupa ukoliko je više od 80% ukupnog hemoglobina zamenjeno methemoglobinom (u fiziološkim uslovima methemoglobin čini 2-3% ukupnog hemoglobina). Nitrit u buragu deluje toksično na celulolitičke

bakterije što dovodi do smanjene svarljivosti vlakana u buragu i posledično smanjenog unosa hrane i proizvodnje mleka. Faktori koji utiču na stepen trovanja nitratom obuhvataju brzinu i količinu unetog nitrata, vrstu biljke, nivo energije ili izbalansiranosti obroka. Potrebna je dvostruko veća količina nitrata da izazove smrt preživara ukoliko se obrokom unese tokom 24-48 časova u odnosu na unos tokom 4-6 časovnog perioda ishrane. Takođe, ukoliko se unose hraniva sa visokim sadržajem nitrata, podela ukupnog obroka na veći broj manjih porcija može pomoći u prilagođavanju životinja. Preporučuje se i istovremena upotreba zrnavlja u obroku čime se obezbeđuje dovoljna količina energije neophodne za degradaciju nitrata u bakterijama buraga (Rasby i sar., 2014). Benjamin (2006), je u svom ogledu dokazao da su ovce i goveda pri ishrani neizbalansiranim obrokom podložniji trovanju nitratom. Ukoliko mikroorganizmi nisu opskrbljeni dovoljnom količinom razgradivih ugljenih hidrata ili proteina, njihova stopa rasta (i brojnost populacije) će se smanjiti a time i sposobnost za potpuno pretvaranje nitrata u amonijak. Sa druge strane, nepoželjan je i suviše visok nivo N (sirovi protein), koji se brzo rastvara u buragu i može negativno uticati na rast mikroba. Takođe, visok nivo fermentabilnih ugljenih hidrata u buragu može dovesti do prekomerne proizvodnje mlečne kiseline i smanjiti rast bakterija, kao i protozoa, koje se smatraju efikasnim u procesu degradiranja nitrata.

Prvi znaci intoksikacije goveda nitratom su smanjeni unos hrane i pad proizvodnje mleka, bez promena u sadržaju proteina i masti. U ogledu koji je sproveo Farra (1971), krave koje su putem hrane unosile 2% nitrata, tokom 16 nedelja, imale su 20 kg nižu telesnu masu i nižu proizvodnju mleka za 4L/danu u odnosu na kontrolnu grupu. Naredni subakutni znaci intoksikacije nitratom podrazumevaju povećanu pojavu spontanih abortusa, ubrzano disanje i rad srca, kao i pojavu plave boje sluzokože zbog nedostatka kiseonika. Telad poreklom od ovih krava su prevremeno rođena (1-4 nedelje) i obično uginu nakon 18-24 časa nakon rođenja. U slučajevima akutnog trovanja, goveda ispoljavaju atipično agresivno ponašanje, koje dodatno pogoršava postojeće stanje, zbog veće potrebe tkiva za kiseonikom usled veće mišićne aktivnosti, tako da se životinja može srušiti i uginuti usled nedostatka kiseonika.

Prisustvo nitrata u biljkama

Za pojedine krmne biljke kao što su sudanska trava, muhar, (Andrevs i Kumar, 1992) ovas (Singh i sar., 2000), proso, šećerna repa, lan i uljana repica (Johnson i sar., 1983) utvrđena je velika mogućnost akumuliranja nitrata do potencijalno otrovnog nivoa. Ipak, u većini biljaka pod fiziološkim uslovima nitrati se degradiraju putem biljnih enzima do azotnih oblika koji ne predstavljaju opasnost u ishrani životinja. Faktori koji dovode do povećanja nivoa nitrata u zemljištu ili usporavaju rast biljaka, istovremeno dovode do akumuliranja nitrata u biljkama što nakon dostizanja kritičnog nivoa prevazilazi sposobnost biljnih enzima za degradaciju. Takođe, suša, oblačno vreme, kao i niske temperature, negativno utiču na

aktivnost ovih enzima. U principu, prekomerna primena azotnih đubriva je jedan od najvažnijih faktora koji dovode do nepoželjne akumulacije nitrata u biljkama. Značajno je i prirodno prisustvo nitrata u podzemnim vodama i njihova naknadna kontaminacija, iako je za ovaj proces potreban dug period i visoka izloženost, kao i primena stajskog đubriva. Unutar biljke, većina nitrata se akumulira upravo u delovima koji su najbliži tlu (najniži nivo degradirajućih enzima) i to u stablu, listovima i vrlo malo u zrnu (Singh i sar., 2000). Ukoliko se stabljika kukuruza odreže na visini od 6-8 inča (15-20 cm) sadržaj nitrata se može smanjiti za 20-25% u poređenju sa biljkom koja je odrezana na visini od 2-4 inča (5-10 cm) od zemlje (Rasby i sar., 2014). Singh i sar. (2000) su proučavali stepen akumulacije nitrata u ovsu. Uzorci su uzimani prvo 70og dana nakon setve a zatim u fazi kada je procvetalo 50% biljaka. Njihovi rezultati su ukazali da je koncentracija nitrata znatno manja kada su uzorci sakupljeni pri 50% cvetanja čime su potvrdili podatak da sadržaj nitrata opada sa vegetacijskim stadijumom u biljci. Ipak, ukoliko biljka raste na podlozi sa visokim nivoom nitrata ili u stresnim vremenskim prilikama, viši sadržaj nitrata će se javiti u starijem periodu fenofaze.

Nakon obavljene žetve, siliranjem se na najefikasnij način može smanjiti nivo nitrata u biljkama, pri čemu sam stepen smanjenja zavisi od vrste useva i zahteva produženo vreme siliranja i viši nivo fermentabilnih ugljenih hidrata u silažnoj masi. Skidanje useva za siliranje ne treba obavljati tokom 3-4 dana nakon kiše kada je sadržaj nitrata u biljci povećan. Razgradnju nitrata tokom siliranja obavljaju enzimi reduktaze, poreklom iz enterobakterija, klostridija i laktobacila, pri čemu se najveći značaj pripisuje enterobakterijama. Razgradnja nitrata najintenzivnija je u toku prvih dana silažnog procesa (7-10 dana) kada je pH vrednost iznad 5,0. Nakon pada pH vrednosti ispod 5,5, aktivnost reduktaza se značajno smanjuje (Spelstra S., 1985, 1987). Pravilno izvedenim postupkom siliranja sadržaj nitrata se može smanjiti za 30-60%. Sušenjem biljka i proizvodnjom sena ne može se značajnije uticati na sadržaj nitrata u hrani (Hancock D., 2014).

Preporuke za bezbednu upotrebu nitrata

Količina prisutnih nitrata u suvoj materiji hrane i vodi izražava se u ppm azotnog nitrata (NO_3N) ili nitrata jona (NO_3^-) pri čemu se koristi faktor konvertovanja od 4,43 tako da je količina nitrata jona jednaka 4,43 x količina azotnog nitrata. Iako su pitanja vezana za definiisanje sigurnih nivoa nitrata u biljkama često kontradiktorna, većina autora je saglasna da nivo do približno 3500 ppm nitrata azota u ukupno unetoj suvoj materiji obroka zajedno sa nitratom iz vode nije dovoljan za akutno trovanje životinja. Međutim nivoi nitrata koji mogu izazvati subakutne probleme manje su precizni, ali se smatra da su vrednosti ispod 1000 ppm ukupnog unosa nitrata sigurne za sve vrste mlečnih životinja. Kako se nivoi povećavaju sa 1000 do 3500 ppm rizik od nastanka subakutnog trovanja će se povećavati. Trovanje nitrata (pri upotrebi obroka koji ima nizak nivo nitrata) neće se ispoljiti ukoliko je količina nitrata azota u vodi ispod 100 ppm (Rasby i sar.,

2014). U tabeli 1 prikazane su preporuke o ishrani preživara pri različitom sadržaju nitrata u obroku.

Tabela 1. Način upotrebe obroka za preživare u zavisnosti od sadržaja nitrata u hrani (Izvor: Sniffen i Chase, 1981)

Nitratni jon ppm	Nitratni azot ppm	Preporuke
<4400	<1000	Bezbedan, netoksični nivo
4500-6600	1100-1500	Bezbedan nivo za negravine Za gravidne ograničiti na manje od 50% SM obroka, potrebna adaptacija ili mešanje sa niskonitratnim hranivima
6700-8800	1600-2000	Ograničiti na manje od 50% SM obroka. Za gravidne potrebna adaptacija i mešanje sa niskonitratnim hranivima
8900-15400	2100-3500	Ograničiti na 35-40% SM obroka. Izbegavati davanje gravidnim životinjama
15500-17600	3600-4000	Ograničiti na manje od 25% SM obroka Izbegavati davanje gravidnim životinjama
>17600	>4000	NE KORISTITI

Oksalati kao antinutritivne materije

Oksalna kiselina predstavlja uobičajenu komponentu u biljkama i javlja se u dva oblika, kao rastvorljivi i nerastvorljivi oksalat. Rastvorljiva forma obično se stvara između oksalata i monovalentnih jona kao što su natrijum (Na^+), kalijum (K^+) i amonijum (NH_4^+), dok nerastvorljivu formu oksalata čine divalentni joni kalcijuma (Ca^{2+}), magnezijuma (Mg^{2+}) i gvožđa (Fe^{2+}) (Savage et al., 2000). Rastvorljivi oksalat se svrstava u jednu od brojnih anti-nutritivnih materija prisutnih u krmnim biljkama. Njegovi efekti se ostvaruju vezivanjem kalcijuma, magnezijuma i drugih minerala u tragovima kao što je gvožđe, čineći ih nedostupnim za usvajanje od strane domaćina. Ovim putem dolazi do poremećaja u metabolizmu Ca i P što uzrokuje preteranu mobilizaciju minerala iz kostiju. Demineralizovane kosti postaju fibrotične i pogrešno formirane, što izaziva niz problema. Uticaj oksalata na ograničavanje dostupnosti Ca prvi put su opisali McClugage i Mendel (1918) kada su uočili da psi hranjeni spanaćem (oksalatna biljka) zadržavaju manje Ca u organizmu u poređenju sa psima koji su hranjeni šargarepom, kao delom potpunog obroka. Smatra se da su među domaćim životinjama preživari manje osetljivi na oksalate, ali produžena ispaša, posebno kod prisustva tropskih trava (*Cenchrus ciliaris*, *Digitaria decumbens*, Muhar - *Setaria sphacelata* i *Pennisetum clandestinum*) i kod preživara može dovesti do jasno ispoljene hipokalcemije (Seavright et al., 1970). Blaney i sar. (1982) su dokazali da goveda pri ishrani navedenim biljkama mogu iskoristiti svega 50% unetog Ca. Takođe je visok nivo oksalata

utvrđen i u stočnoj repi a nakon konzumacije je kod životinja opisana pojava hipokalcemije i hipomagneziemije (El-Khoderi et al., 2008). Pri akutnom trovanju oksalatima dolazi do naglog pada nivoa Ca u krvi životinja čime se remeti normalna funkcija ćelija što dovodi do nastanka mišićnog tremora, slabosti, kolapsa i smrti. Hronična intoksikacija rezultira filtracijom nerastvorljivih Ca oksalata u bubrezima i oštećenjem bubrežnih tubula. Visok nivo oksalata u pašnjačkim biljkama smatra se glavnim faktorom formiranja urolita kod životinja na ispaši (McIntosh i sar., 1974). Prisustvo oksalata u hranivima negativno utiče na konzumaciju zbog specifičnog ukusa (ukus paljenja) i teksture kristala (iritacija). Niža konzumacija hrane negativno se odražava na proizvodne performanse životinja, uključujući i pad produkcije mleka, nivoa mlečne masti i kalcijuma.

Nakon konzumacije oksalatnih biljaka, u organizmu preživara moguća su četiri načina metabolisanja oksalata (Rahman i sar., 2012):

1. Rastvorljiv oksalat može se degradirati putem buražnih bakterija
2. Kada su u obroku prisutna hraniva koja sadrže visok nivo rastvorljivog oksalata i Ca, oksalatni joni u buragu ili crevima vezuje se za Ca^{2+} ili Mg^{2+} , i formira nerastvorljive oksalatne kristale, koji se onda ne mogu apsorbovati i eliminišu se iz organizma putem fecesa.
3. Kada je nivo Ca u hrani nizak, rastvorljiv oksalat ostaje rastvorljiv u tečnom delu sadržaja creva i lako se apsorbuje iz creva u krvotok. Ukoliko koncentracija oksalatnog jona dostigne visok nivo u krvi, nakon filtriranja preko bubrega, može se vezati za Ca^{2+} ili Mg^{2+} i formirati nerastvorljive kristale oksalata koji mogu dalje blokirati protok urina i uzrokovati otkazivanje bubrega
4. Nerastvorljivi oksalat iz unetih biljaka može proći kroz digestivni trakt bez štetnih uticaja na metabolizam.

Generalno, trovanje preživara oksalatima predstavlja kompleksno pitanje i zavisi od brojnih faktora koji obuhvataju hemijski oblik oksalata, starost životinje, brzinu unosa, količinu i kvalitet drugih hraniva u obroku, ukupnu količinu konzumiranog oksalata i prethodnu adaptaciju na ishranu koja sadrži oksalate. Mlađe životinje pokazuju veću osetljivost u odnosu na starije, dok su gravidne i krave u laktaciji (s obzirom da već putem mleka izlučuju značajne količine Ca) osetljivije u odnosu na zasušene i jalove. Ukoliko se konzumira u velikim količinama, dobro je poznato da oksalat ispoljava značajnu toksičnost jer je burag u tom slučaju "preplavljen" i ne može metabolisati oksalat, koji se stoga resorbuje u krvotok i formira nerastvorljive soli sa posledičnim štetnim uticajem na rad bubrega. Broj protozoa u buragu se tom prilikom smanjuje, kao i motilitet buraga. Seawright i saradnici (1970) su detaljno opisali slučaj trovanja i uginuća 27 muznih krava i 19 teladi koji su tokom tronedelnog perioda ispaše uneli veliku količinu oksalata. Osnovni patoanatomski nalaz ukazao je na prisustvo kristala kalcijum oksalata u tubulima korteksa bubrega uginulih životinja, praćeno hidropsnom degeneracijom, atrofijom tubularnog epitela, intersticijalnim edemom i hemoragijama.

Ispitivanja o štetnim efektima oksalata u ishrani preživara vršena su u većem broju eksperimenata ali precizan podatak o količini oksalata koja bi mogla biti prisutna u obroku, a bez smanjenja dostupnosti Ca, još uvek nije jasno definisan.

Tolerantnost preživara na antinutritivni efekat oksalata

Preživari su tolerantniji na prisustvo oksalata u poređenju sa nepreživarima zbog sposobnosti buražnih bakterija da degradiraju oksalat do ugljen-dioksida i bezopasne mravlje kiseline koja dalje podleže procesu oksidacije u respiratornom lancu. Navedene bakterije uglavnom pripadaju aerobnim ili fakultativno anaerobnim vrstama koje koriste kiseonik kao krajnji akceptor elektrona. S obzirom da ove bakterije u buragu koriste isključivo oksalate kao supstrat za rast i razmnožavanje, povećanje njihove populacije je u direktnoj vezi sa količinom oksalata u hrani. Takođe je mala verovatnoća za postojanje kompeticije za navedenim supstratom pošto dominantne buražne bakterije koje vrše fermentaciju ugljenih hidrata poreklom iz hrane, ne mogu da koriste i oksalate. Allison i sar. (1977) su ukazali u svom eksperimentu na mogućnost prilagođavanja goveda i ovaca na postepeno povećavanje količine oksalata u hrani kao posledicu povećane sposobnosti degradacije od strane buražnih bakterija. Ukoliko se preživari postepeno izlože obroku sa visokim sadržajem oksalata tako da se prelazak na novi obrok izvrši u toku 4 dana, populacija buražnih bakterija sposobnih da degradiraju oksalat povećava se do nivoa koji je dovoljan da prevenira razvoj toksičnosti. U navedenom ogledu brzina degradacije oksalata u buragu povećana je sa početnih 0,05 $\mu\text{mol/ml}$ do 0,20 $\mu\text{mol/mL}$ po času, na kraju četvorodnevno perioda. Međutim, iako bakterije buraga mogu lako da metabolišu rastvorljiv oksalat, veći deo Ca-oksalata (nerastvorljivi) ipak prolazi neoštećen kroz digestivni trakt preživara jer većina bakterija u crevima i buragu ipak nije sposobna za njegovu degradaciju. Bakterija koja je označena kao najvažnija za degradiranje oksalata je *Oxalobacter formigenes*, sporo rastuća bakterija koja za svoj rast ne može koristiti druge podloge. Sposobnost ostalih crevnih mikorganizama u degradaciji oksalata manje je proučavana, ali za *Enterococcus faecalis* kao i neke mlečnokiselinske bakterije potvrđen je navedeni efekat (Rahman i sar., 2012) a njihov doprinos u toku prethodno opisanog procesa adaptacije može biti vrlo značajan. Dawson i sar. (1980) su prvi izolovali oksalat degradirajuću bakteriju koja je striktni anaerob i označili je kao OxB. Ova bakterija, za razliku od aerobnih vrsta, nema sposobnost oksidacije mravlje kiseline, dok za razliku od anaerobnih klostridija, koje takođe mogu degradirati oksalat, nema mogućnost proizvodnje spora.

Gladne i neadaptirane životinje su najpodložnije toksičnom dejstvu oksalata, dok preživari prilagođeni na obroke sa visokim sadržajem oksalata tolerišu nivoe koji su toksični ili smrtonosni za neadaptirane jedinke. Rahman i sar. (2012) smatraju da je nivo rastvorljivog oksalata od <2% suve materije obroka za preživare siguran kada je u pitanju toksičnost oksalata iako nivo Ca u krvi i pri navedenom nivou može biti smanjen. Smith i sar. (2013) navode da nivo rastvorljivog oksalata

veći od 2% SM kod preživara može izazvati nastanak akutne toksikoze. U slučaju nepreživara količina od <0,5% se smatra prihvatljivom granicom.

Preveniranje toksičnih efekata oksalata

Obroci bazirani na hranivima bogatim oksalatom za preživare su neadekvatni, i treba ih izbegavati, osim ako se životinje postepeno ne adaptiraju i omogući im se formiranje dovoljne populacije oksalat-degradirajućih bakterija. Životinje ne smeju biti gladne ili žedne dok se hrane ili napasaju navedenim biljkama. Adekvatan unos vode je neophodan da bi se sprečilo formiranje mokraćnog kamena. Životinje koje piju više vode izlučiće razređeniji urin, čime će se smanjiti i verovatnoća formiranja kamena. Korisna je dopunska upotreba dikalcijum fosfata u obroku pre i tokom izloženost oksalatima kao efikasno sredstvo za smanjenje proizvodnih gubitaka. Visok nivo Ca u obroku omogućava vezivanje za oksalat u buragu i prevodi ga u nerastvorljivu, i neresorptivnu formu (Ca-oksalat). Pojedina hraniva koja su bogata oksalatima mogu imati istovremeno i visok nivo Ca (*Medicago sativa*) što ih čini bezbednim u upotrebi. Ovakva hraniva bi trebalo da imaju, radi potpune sigurnosti, odgovarajući odnos Ca prema oksalatima najmanje 0,5:1 (Gardner, 2002). Takođe, agrotehničkim merama u vidu đubrenja pašnjaka kalcijumom, mogu se smanjiti negativni efekti oksalata. Marais i njegovi saradnici (1997) su koristili medijum sa različitim nivoom kalcijuma i pratili njegovo usvajanje u biljci. Prisustvo visokog nivoa Ca u medijumu rezultiralo je povećanjem sadržaja Ca u listovima i stabljici u odnosu na kontrolu (5,10 vs 2,47 i 2,21 vs 0,92 navedenim redosledom). Međutim, istovremeno je povećan i sadržaj nerastvorljivog oksalata (10,8 vs 7,1 i 3,3 vs 1,9 g/kg retrospektivno) što je ukazalo na manju dostupnost Ca i njegovo veće prisustvo u formi Ca oksalata. Obroci se mogu formulirati sa učešćem drugih biljaka koje ne sadrže oksalate, kako bi se smanjio njihov ukupan unos. Potapanjem hrane u vodu, tzv. izluživanjem, takođe se može smanjiti sadržaj oksalata i pomoći u smanjivanju toksičnosti. Pravljenje silaže od oksalatnih biljaka može biti još jedna opcija koju treba uzeti u obzir prilikom formiranja "bezbednih" obroka.

Tanini kao antinutritivne materije

Tanini su fenolna jedinjenja rastvorljiva u vodi, sa molekulskom težinom većom od 500 i mogućnošću precipitacije proteina iz vodenog rastvora. Tradicionalno se dele u dve grupe: hidrolizabilni i kondenzovani tanini. U biljkama predstavljaju prirodne proizvode sekundarnog metabolizma i obično biljke sadrže i jednu i drugu vrstu tanina (Reddi, 2001). Ove dve grupe se razlikuju u nutritivnim i toksičnim efektima. Kondenzovani tanini imaju izraženiji uticaj na smanjenje svarljivosti hranljivih materija u odnosu na hidrolizabilne tanine, kojima se, sa druge strane, pripisuju brojni toksični efekti zbog hidrolize u buragu (Patel i sar., 2013).

Hidrolizabilni tanini

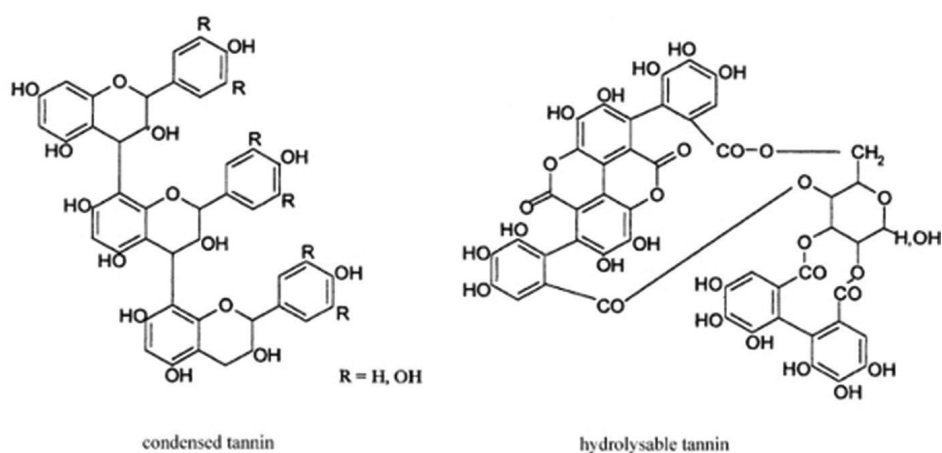
Hidrolizabilni tanini u hemijskom pogledu predstavljaju molekule koji sadrže ugljene hidrate, uglavnom D-glukozu, kao centralno jezgro. Hidroksilne grupe ovih ugljenih hidrata delimično su ili potpuno esterifikovane fenolnim grupama kao što su galinska kiselina (galotanini) ili elaginska kiselina (elagitanini). Hidrolizabilni tanini obično su prisutni u malim količinama u biljkama. U većem obimu su prisutni u hrastu, bagremu, eukaliptusu i listovima raznog drveća, gde mogu biti zastupljeni u količini od 200 g/kg, a u pojedinim vrstama čak i do 500 g/kg SM. Hidrolizabilni tanini su potencijalno otrovni i generalno se smatraju štetnim u ishrani životinja, ali se većina preživara može prilagoditi ishrani u kojoj su oni prisutni. Međutim, njihov prekomeran unos uzrokuje razvoj lezija na jetri i bubrezima, kao i letalan ishod kod preživara koji se obično javlja pet do deset dana nakon ekspozicije (Shewan-gzaw, 2016). Negativni efekti tanina u ishrani preživara mogu rezultirati i padom mlečnosti, pojavom sluzi u urinu i konstipacijom (Kumar i Singh, 1984).

Kondenzovani tanini

Kondenzovani tanini su najrasprostranjeniji među taninima. Predstavljaju oligomere ili polimere flavonoidnih jedinica (2-50) povezane ugljenikovim vezama koje nisu podložne hidrolizi. Označavaju se kondenzovanim zbog kondenzovane hemijske strukture, a takođe se u literaturi označavaju proantocianidinima (PA). Zbog varijabilnosti flavonoidnih jedinica, kondenzovani taninski polimeri imaju složenu strukturu i u zavisnosti od stepena polimerizacije mogu ili ne moraju biti rastvorljivi u vodi i organskim rastvaračima. Smatra se da je stvaranje kondenzovanih tanina u biljkama rezultat evolucije i oni predstavljaju odbrambeni mehanizam koji ih štiti od patogenih mikroorganizama, insekta ili životinja na paši (Shewan-gzaw, 2016). Njihovo prisustvo u biljkama može se smatrati praktičnim rešenjem za zaštitu proteina od degradacije u buragu, čime se povećava iskoristivost biljnih proteina u tankom crevu sa pozitivnim implikacijama na proizvodne pokazatelje životinja. Količina kondenzovanih tanina iznad 4% SM obroka smatra se toksičnom za preživare (Patel i sar., 2013). Ipak, postoji više dokaza o toksičnim efektima hidrolizabilnih u odnosu na kondenzovane tanine. Njihova toksičnost povezana je sa molekularnom težinom (McLeod, 1974) pri čemu se tanini sa visokom molekulskom težinom ne mogu apsorbovati u krvotok i ispoljiti štetne efekte. Molekularna težina hidrolizabilnih tanina je u opsegu vrednosti 500-3000 Da dok je kod kondenzovanih tanina utvrđena vrednost od 1000-20000 Da. Na slici 1 prikazana je hemijska struktura hidrolizabilnog (levo) i kondenzovanog tanina (desno).

Uprkos opštem mišljenju da se tanini mogu naći samo u biljnim vrstama poreklom iz tropskih ili suvih / polusuvih područja njihovo prisustvo potvrđeno je i u drugim regionima, npr. pod atlantskim ili mediteranskim uticajem. Depoi tanina u biljkama nalaze se u epidermisu listova i cvetovima, u principu, u delovima biljke koji su joj najviše vredni. Interesantno je da biljke sa većim depoom tanina formiraju manje listova u poređenju sa biljkama u kojima je nivo tanina marginalan (Co-

ley, 1986). Brojni izveštaji ukazuju da se nivo tanina u biljci nalazi pod uticajem ekoloških, sezonskih faktora kao i fenološkog razvoja. Ukratko, visoke temperature, neadekvatna dostupnost vode, ekstremni svetlosni intenzitet i loši kvalitet zemljišta povećavaju sadržaj tanina u biljci. Biljne vrste sa najvećim sadržajem tanina pripadaju familijama *Betulaceae* (*Betula*), *Cesalpiniaceae* (*Ceratonia*), *Cistaceae* (*Cistus*), *Cupresaceae* (*Juniperus*), *Ericaceae* (*Calluna*, *Erica*, *Vaccinium*), *Fagaceae* (*Castanea*, *Quercus*), *Leguminaceae* (*Cytisus*, *Genista*, *Lathyrus*, *Lotus*, *Medicago*, *Onobrychis*, *Trifolium*), *Poaceae* (*Holcus*, *Hordeum*, *Lolium*, *Sorghum*, *Triticum*), *Rosaceae* (*Crataegus*, *Rosa*, *Rubus*) i *Salicaceae* (*Salix*) (Shewangzaw, 2016).



Slika 1. Hemijska struktura hidrolizabilnog i kondenzovanog tanina (Izvor: McSweeney i sar., 2001)

Efekti tanina na unos hrane

Većina istraživača je saglasna da tanini negativno utiču na konzumaciju hrane, pri čemu efekti prvenstveno zavise od unete količine. Ukoliko se putem hrane unese visok nivo CT (uglavnom > 50 g/kg suve materije obroka) značajno se smanjuje unos hrane, dok pri srednjim ili niskim nivoom (<50 g/kg SM) negativni efekat se uglavnom neće ispoljiti. Efekat HT je takođe promenljiv i zavisi od unete količine. Donnelli i Anthoni (1969) su izneli da nivo tanina koji je potreban za odbijanje konzumacije hrane na pašnjacima iznosi ~ 20 mg/g suve materije. Postoje tri glavna mehanizma kojima se tumače navedeni efekti: smanjenje palatibilnosti hrane, usporavanje procesa varenja i razvoj uslovljene averzije. Smanjenje palatibilnosti može biti prouzrokovano reakcijom između tanina i pljuvačnih mukoproteina ili direktnom reakcijom sa receptorima ukusa, kada se izaziva senzacija astringenta (McLeod, 1974). Analizirajući drugi mogući mehanizam, Narjisse i sar. (1995)

su aplikovali tanine direktno u burag kako bi utvrdili da li su i drugi faktori, osim promene palatabilnosti, odgovorni za smanjenje unosa hrane. Usporavanje varenja suve materije u buragu remeti pražnjenje probavnog trakta, generiše signale da je životinja sita i daje informacije nervnim centrima uključenim u kontrolu unosa hrane, što značajnije utiče na unos hrane nego smanjena palatabilnost. Treći mehanizam se zasniva na negativnim post-prandijalnim posledicama koje nastaju nakon unošenja tanina i naknadog razvoja uslovljenih averzija posredovanih mikrobom fermetacijom u buragu.

Efekti tanina na proces fermentacije u buragu

Tanini poreklom iz različitih biljnih vrsta ispoljavaju različite fizičke i hemijske osobine i stoga imaju veoma raznovrsna biološka svojstva. U ishrani preživara tanini mogu ostvariti korisne ali i štetne efekte, u zavisnosti od vrste i količine konzumiranog jedinjenja, kao i fizioloških karakteristika životinjske vrste. Najvažniju funkcionalnu karakteristiku tanina predstavlja sposobnost vezivanja za proteine, što čini osnov njihove biološke funkcije (Hagerman i Butler, 1991). Navedeni kompleksi se formiraju putem vodoničnih, jonskih i kovalentnih veza, kao i hidrofobnim interakcijama između aromatičnog prstena fenolne komponente i hidrofobnog dela proteina. Smanjena razgradnja buražnih proteina može se smatrati najznačajnijim korisnim efektom tanina. Afnitet tanina za ove molekule je veoma visok (posebno prema prolinu), a pH buražnog sadržaja favorizuje stvaranje kompleksa tanin-protein. Generalno, smanjena degradacija proteina rezultira nižom proizvodnjom amonijačnog azota i većim prilivom neamonijačnog azota u duodenum (Shewangzaw, 2016). Osim formiranja manje svarljivih kompleksa sa proteinima poreklom iz unete hrane, tanini mogu vezati i inhibirati endogene proteine poput digestivnih enzima. Pored opisanog dejstva, oni takođe ostvaruju efekte na ugljene hidrate, naročito hemicelulozu, celulozu, skrob i pektine. Negativan efekat tanina na degradaciju vlakana opisuje se kao sekundarni anti-nutritivi efekat. Kondenzovani tanini lakše inhibiraju aktivnost hemicelulaze u odnosu na celulazu (Waghorn, 1996), verovatno zbog činjenice da je celulaza povezana sa bakterijskim ćelijskim zidom, dok je hemicelulaza ekstracelularno i zbog toga je i osetljivija. Navedeno objašnjenje bi moglo potkrepiti rezultate brojnih istraživača o većoj otpornosti hemiceluloze u prisustvu tanina. Uporedo sa povećanjem koncentracije tanina u ishrani preživara, u buragu se smanjuje proizvodnja isparljivih masnih kiselina (VFA), sadržaj mikrobne DNK i RNA. Tanini su takođe helatni agensi i mogu smanjiti dostupnost određenih metalnih jona neophodnih za metabolizam mikroorganizama buraga. Sadanandan i Arora (1975) su dokazali da visoke količine tanina negativno utiču na iskorišćavanje fosfora od strane prisutne mikroflore. Tanini mogu smanjiti stepen razgradnje ćelijskog zida (biljne ćelije) vezivanjem za bakterijske enzime i (ili) formiranjem nerazgradivih kompleksa sa ugljenim hidratima ćelijskog zida. U pogledu inhibicije enzima, tanini mogu reagovati sa mikrobnim (i bakterijskim i gljivičnim) enzimima, inhibirajući njihovu aktivnost. Pojedini

autori ukazuju na to da tanini menjaju aktivnost bakterijskih proteolitičkih, celulolitičkih i drugih enzima, ali njihovo vezivanje za enzime - bilo da su bakterijski ili endogeni - ne podrazumeva obavezno i njihovu inhibiciju (Makkar i sar., 1988). Koначno, tanini mogu ostvariti direktan uticaj na mikrofloru buraga, promenom propustljivosti membrane bakterijske ćelije. Pojedine bakterije buraga mogu tolerisati prisustvo tanina (*S. gallolyticus*) ili reagovati promenom morfologije i sintezom glikokaliksa sa ciljem neutralizacije štetnih efekata (Frutos i sar., 2004).

Efekti tanina na svarljivost hranljivih materija

Tanini najviše utiču na svarljivost proteina hrane, ali kao što je prethodno izneto, ovaj efekat takođe mogu u različitom stepenu ispoljiti i prema ostalim komponentama hrane, poput celuloze (Kumar i Singh, 1984). Negativan uticaj tanina na svarljivost vlakana iz hrane zasniva se na interakciji sa lignocelulozom i preveniranjem mikrobne degradacije ili direktnim inhibitorskim uticajem na rast celulolitičkih bakterija što su McSweeney i sar. (2001) potvrdili na primeru *F. succinogenes* i *Ruminococcus spp.* Glavni efekat tanina na svarljivost proteina bazira se na njihovoj sposobnosti da formiraju vodonične veze koje su stabilne pri pH između 3,5 i 8). Ovi stabilni kompleksi raskidaju se pri pH vrednosti ispod 3,5 (kao na primer u abomazusu, pH 2,5-3) ili iznad 8 (na primer u duodenumu, pH 8), čime se ostvaruje jasan, koristan "bypass efekat". Međutim, navedeni kompleks ne mora obavezno i biti svaren u nižim partijama, dok sa druge strane, ukoliko je sadržaj tanina u hrani suviše visok ukupna dostupnost proteina (uključujući i varenje u nižim partijama) biće smanjena sa svim negativnim posledicama na proizvodne pokazatelje životinje. Očigledno je da je modifikacija svarljivosti povezana sa promenama procesa fermentacije unutar buraga, zajedno sa promenama varenja u crevima gde tanini mogu interagovati sa epitelom i/ili crevnim enzimima. Iako je jedan od najjasnijih dokaza smanjene svarljivosti hrane pri unosu tanina povećanje fekalnog izlučivanja azota, važno je uzeti u obzir da nakon unosa tanina dolazi i do povećane sekrecije endogenih proteina kao što su salivatorni glikoproteini, sluz, digestivni enzimi i povećana dekvamacija ćelija creva (Waghorn, 1996). S toga povećanje fekalnog azota može biti i posledica povećanja metaboličkog fekalnog azota, tj. azota endogenog porekla koji ne reflektuje smanjenje količine proteina koji se apsorbuju iz hrane. Opšti zaključak autora je da samo unos CT ispod 50 g/ kg SM obroka (10 - 40 g/kg) kod preživara poboljšava iskoristivost hrane, prevashodno zbog smanjene degradacije proteina i posledično veće dostupnosti (uglavnom esencijalnih) aminokiselina za resorpciju u tankom crevu (Shewangzaw, 2016).

Postupci za prevazilaženje negativnih efekata tanina

Informacije o postupcima za prevazilaženje negativnih efekata tanina od posebnog su interesa za uzgoj životinja na siromašnim područjima sa ograničenim

biljnim resursima i gde je većina dostupnih biljnih vrsta bogata taninima. Često se primenjuju tretmani pepelom drveta koji je dobar i jeftin izvor alkalija ili upotreba ureje. Otklanjanje lišća i naknadno skladištenje prihvaćeno je od strane poljoprivrednika kao laka praktična primena. Razvijen je i veliki broj novih alternativnih metoda poput tretmana polietilenglikolom-4000, polivinilpolipirolidonom i kalcijum hidroksidom koji sprečavaju formiranje kompleksa između tanina i proteina i pomažu u raskidanju već formiranih kompleksa na taj način oslobađajući protein za dalje iskorišćavanje. Fizičke metode, poput izluživanja i sušenja, kao i toplotni tretman hraniva takođe sa uspehom mogu smanjiti toksičan nivo tanina (Kumar i Singh, 1984; Frutos i sar., 2004; Patel i sar., 2013).

Napomena:

Ovaj rad je finansiran sredstvima Ministarstva Republike Srbije u projektima br. III 46002 i 46009

Literatura

1. Allison MJ, Littledike ET, James LF, Changes in ruminal oxalate degradation rates associated with adaptation of oxalate ingestion, *J Anim Sci*, 1977, 45, 1173–9.
2. Andrews DJ and Kumar KA, Pearl millet for food, feed, and forage, *Adv Agron*, 1992, 48, 89-139.
3. Benjamin, DN, Effects of fertilizer application and cutting interval on nitrate accumulation in bermudagrass, MSc (Agri), Thesis, UnivTennessee, 2006.
4. Blaney B, Gartner R and Head T, The effects of oxalate in tropical grasses on calcium, phosphorus and magnesium availability to cattle, *J Agri Scie*, 1982, 99, 3, 533-9.
5. Coley PD, Costs and benefits of defense by tannins in a neotropical tree, *Oecologia*, 1986, 70, 238–41.
6. Dawson KA, Allison MJ, and Hartman PA, Isolation and Some Characteristics of Anaerobic Oxalate-Degrading Bacteria from the Rumen, *Appl Environ Microb*, 1980, 40, 4, 833 9.
7. Donnelly ED, Anthony WB, *Crop Sci*, 1969, 9, 361.
8. El-Khodery S, El-Boshy M, Gaafar K, Elmashad A, Hypocalcaemia in Ossimi sheep associated with feeding on beet tops (*Beta vulgaris*), *Turk J Vet Sci*, 2008, 32, 199–205.
9. Farra RA, Satter LD, Manipulation of the Ruminant Fermentation III Effect on Nitrate on Ruminant Fatty Acid Production and Milk Composition, *J Dairy Sci*, 1971, 54, 1018-34.
10. Frutos P, Hervás G, Giráldez FJ and Mantecón AR, Review Tannins and ruminant nutrition, *Span J Agri Res*, 2004, 2, 2, 191-202.
11. Gardner S, Keeping an Eye on Calcium Balance in Australian Horse Nutrition Horse Health Care Nutrition, Kentucky Equine Research, 2002, Brighton, Victoria, Australia.
12. Hagerman AE, Butler LG, Tannins and lignins In, Herbivores, their interactions with secondary plant metabolites, The chemical participants, (Rosenthal GA and Berenbaum MR, eds), Academic Press, NY (USA), 1991, I, 355-88.
13. Hancock DW, Nitrate Toxicity, The University of Georgia UGA Extension, 2014.
14. Johnson JL, Schneiderm NR, Kelling CL, Doster AR, Nitrate Exposure in Perinatal Beef Calves, 30th Proceedings Amer Assn Vet Lab Diagnosticians, 1983, 167-80.
15. Kumar KA and Sing M, Tannins, Their Adverse Role in Ruminant Nutrition, *J Agric Food Chem*, 1984, 32, 3.

8. naučni simpozijum "Reprodukcija domaćih životinja"

16. Launchbaugh K, Risk management to reduce livestock losses from toxic plants, Fort Worth, TX, Grazing Lands Technology Institute, 2001.
17. Makkar HPS, Singh B, Dawra RK, Effect of tannin-rich of oak (*Quercus incana*) on various microbial enzyme activities of the bovine rumen, *Brit J Nutr*, 1988, 60, 287-96.
18. Marais JP, Barnabas AD, and Figenschou DL, Effect of calcium nutrition on the formation of calcium oxalate in Kikuyu grass, *Proceedings XVIII International Grassland Congress, Canada*, 1997, Sesion 17, 45.
19. McClugage HB, and Mendel LB, *J Biol Chem*, 1918, XXXV, 353.
20. McIntosh RA, Pulseford MF, Spencer WG, Rosser H, A study of urolithiasis in grazing ruminants in Southern Australia, *Aust Vet J*, 1974, 50, 345-50.
21. Mcleod MN, Plant tannins - Their role in forage quality, *Nutr Abst*, 1974, 44, 803-12.
22. McSweeney CS, PALMER B, Mcneill DM, Krause DO, Microbial interactions with tannins, nutritional consequences for ruminants, *Anim Feed Sci Tech*, 2001, 91, 83-93.
23. Narjisse H, Elhonsali MA, Olsen JD, Effects of oak (*Quercus ilex*) tannins on digestion and nitrogen balance in sheep and goats, *Small Ruminant Res*, 1995, 18, 201-6.
24. Patel PA, Alagundagi SC and Salakinkop SR, The anti-nutritional factors in forages - A review, *Current Biotica*, 2013, 6, 4, 516-26.
25. Rahman MM, Abdullah RB and Wan Khadijah WE, A review of oxalate poisoning in domestic animals, tolerance and performance aspects, *J Anim Phys An N*, 2012, Blackwell Verlag GmbH.
26. Rasby RJ, Anderson BE, and Kononoff, Nitrates in livestock feeding, *NebGuide*, University of Nebraska-Lincoln Extension, Institute of Agrivulture and Natural Resources, 2014.
27. Reddy DV, *Principles of Animal Nutrition and Feed Technology* Oxford IBM Publishing Company Pvt Ltd, New Delhi, 2001.
28. Sadanandan KP, Arora SP, *Proceedings of the Symposium on the Use of Radiation and Radio Isotopes in Studies of Animal Production*, IVRI, Izatnagar, India, Dec, 1975, 16-18.
29. Savage GP, Vanhanen L, Mason SM, Ross A B, Effect of cooking on the soluble and insoluble oxalate content of some New Zealand foods, *J Food Compos Anal*, 2000, 13, 201-6.
30. Seawright AA, Groenendyk S, Silva KI, An outbreak of oxalate poisoning in cattle grazing *Setaria sphacelata*, 1970, *Aust Vet J*, 46, 293-6.
31. Shewangzaw A, Effect of dietary tannin source feeds on ruminal fermentation and production of cattle; A REVIEW, *Online J Anim Feed Res*, 2016, 6, 2, 45-56.
32. Singh A, Tiwana US, Tiwans MS and Puri KP, Effect of application method of level of nitrogen fertilizer on nitrate content in oat fodder, *Indian J Anim Nutr*, 2000, 17, 315-9.
33. Sniffen CJ and Chase LE, *Nitrates in Dairy Rations*, Department of Animal Science, Cornell University, 1988.
34. Spoelstra SF, Nitrate in Silage, *Grass Forage Sci*, 1985, 40,1-11.
35. Spoelstra SF, Inhibition of Clostridial Growth by Nitrate During the Early Phase of Silage Fermentation, *J Sci Food Agri*, 1987, 34,145-152.
36. Waghorn G, Condensed tannins and nutrient absorption from the small intestine, *Proc of the 1996 Canadian Society of Animal Science Annual Meeting*, Lethbridge, Canada (Rode LM, ed) 1996, 175-94.