

Vpliv sezone na in vitro razgradljivost in fermentabilnost krmil v vampovem soku navadnega jelena (*Cervus elaphus* L.)

Andrej LAVRENČIČ^{1,2}, Darko VETERNIK³

Delo je prispelo 10. decembra 2018, sprejeto 25. oktobra 2021
Received December 10, 2018; accepted October 25, 2021.

Vpliv sezone na in vitro razgradljivost in fermentabilnost krmil v vampovem soku navadnega jelena (*Cervus elaphus* L.)

Izvleček: Prehod iz poletja v zimo povzroči spremembe v fiziologiji prebavnega trakta navadnega jelena in v tam prisotnih prebavnih procesih. Zato je bil namen raziskave ugotoviti, kako sezona vpliva na in vitro navidezno (*iv*NRSS) in pravo razgradljivost suhe snovi (*iv*PRSS), na kazalnike in vitro tvorbe plina in na sproščanje hlapnih maščobnih kislin (HMK) iz enajstih krmil, ki jih zauživajo ali dokrmeljemo košutam navadnega jelena v Sloveniji (plodovi kostanja in gradna ter želod in dva vzorca sveže trave, dva vzorca mrve in travne silaže, jabolčne tropine in koreni sladkorne pese). *iv*NRSS in *iv*PRSS, določeni z inkubacijo krmil v puferiranem vampovem soku, se med sezonama nista razlikovali, prav tako tudi nismo ugotovili velikih razlik pri večini kazalnikov produkcije plina. Le kazalnik »C« (specifična hitrost tvorbe plina) je bil večji ($p < 0,05$) v zimski sezoni. Tudi količine HMK so bile med sezonama zelo podobne. Vendar pa je bil delež očetne kisline pogosto nekoliko večji pozimi kot jeseni ($0,05 < p < 0,10$), medtem ko sta bila deleža propionske in maslene kisline pri krmilih, ki so vsebovala več vlaknine, večja ($0,05 < p < 0,10$) jeseni kot pozimi. Nasprotno pa smo ob inkubaciji krmil, ki vsebujejo veliko škroba (želod in kostanj), določili večji ($p < 0,05$) delež propionske kisline pozimi, medtem ko je bil pri teh krmilih delež maslene kisline večji ($p < 0,05$) jeseni. Čeprav sta bila tako število uporabljениh substratov ($n = 11$) kot število živali ($n = 6$), darovalk vampovega soka, majhna, pa ti rezultati kažejo na spremembo presnove vampovih mikroorganizmov med jesenjo in zimo.

Ključne besede: navadni jelen; *Cervus elaphus* L.; prehrana živali; sezona; krmila; in vitro prebavljivost; in vitro produkcija plina; hlapne maščobne kisline; vamp

The effect of season on in vitro degradability and fermentability of feeds in red deers' (*Cervus elaphus* L.) rumen fluid

Abstract: Transition from summer to winter changes red deer digestive tract physiology and digestive processes. The objective of the trial was to determine the effects of season on in vitro apparent (*iv*ADMD) and true dry matter (*iv*T-DMD) digestibility, in vitro gas production parameters and short-chain fatty acid synthesis (SCFA) in red deer hinds of eleven substrates naturally occurring in Slovenia (chestnut fruits, acorns of common and sessile oak, two fresh grasses) and those frequently used in supplemental red deer feeding (two grass hays and two grass silages, apple pomace and sugar beet roots). There were no differences in *iv*ADMD, *iv*TDMD, determined by incubation of feeds in buffered rumen fluid, as there were no differences in majority of gas production parameters between autumn and winter season. Only the parameter "C" (specific gas production rate) was frequently higher ($p < 0.05$) in winter season than in autumn season. The amounts of SCFA were similar between two seasons. However, the proportion of acetic acid tended to be higher in winter, while the proportions of propionic and butyric acid tended to be higher in autumn than in winter especially in high fibre feeds. On contrary, in high starch feeds such as oak acorns and chestnut fruits, the proportion of propionic acid was higher ($p < 0.05$) in winter, while of butyric acid in autumn ($p < 0.05$). Despite the fact that the number of used substrates ($n = 11$) and animal rumen fluid donors ($n = 6$) were small, these results indicate a shift in rumen microbial metabolism between autumn and winter season.

Key words: red deer; *Cervus elaphus* L.; animal nutrition; season; feed; in vitro digestibility; in vitro gas production; short-chain fatty acids; rumen

1 Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko, Ljubljana, Slovenija

2 Korespondenčni avtor, e-naslov: andrej.lavrencic@bf.uni-lj.si

3 LPN Kozorog Kamnik, Kamnik, Slovenija

1 UVOD

Uspešno upravljanje s populacijo navadnega jelena (*Cervus elaphus* L.) in s tem povezano preprečevanje škod na gozdnem drevju, še posebej na območjih, kjer je populacija jelenov zelo številčna, je v veliki meri odvisno od poznavanja navad jelenov in od njihove učinkovitosti izkoriščanja naravnih virov. Pri tem pogosto navajamo razlike v obnašanju jelenov med hranjenjem, ki so povezane s prisotnostjo plenilcev in obstojem kakovostnega kritja, ter razlike, povezane z oblikovanjem skupin, ki pa so odvisne od socialnih povezav, gostote živali na posameznem območju in stopnje vznemirjanja živali (Hafner in Černe, 2015).

Podobno kot druge živali so tudi prežvekovalci podvrženi naravnim ritmom pridobivanja in izgubljanja telesne mase, zauživanja krme, porabe energije, presnove in razmnoževanja. Dva pomembna mehanizma, ki vplivata na navedene kazalnike, sta razpoložljivost prehranskih virov in dolžina dneva (Claus in sod., 2010), za katera pa ni povsem jasno, ali delujeta povsem ločeno ali v različnih kombinacijah. Zauživanje krme in prirast telesne mase sta najmanjša v zimski in največja v poletni sezoni (Milne in sod., 1978, Stevens in sod., 2003; Arnold in sod., 2004). Sibbald in Milne (1993), Arnold in sod. (2015) ter Weckerly in sod. (2018) navajajo, da se v poletni sezoni pri jelenih povečata tudi napolnjenost in masa prebavil (vamp in siriščnik). Weckerly in sod. (2018) so pri belorepem jelenu (*Odocoileus virginianus*) ugotovili, da je masa prebavil povezana predvsem z napolnjenostjo prebavil (digesta load) in ne s hranilno vrednostjo krme. Ker je napolnjenost prebavil dobro povezana s prostornino vampa, je logično, da je v zimski sezoni manjša tudi prostornina predželodcev in drugih jelenovih prebavnih organov (Hofmann, 1985; Sibbald in Milne, 1993; Arnold in sod., 2015). Z manjšo prostornino predželodcev pa je povezana tudi dnevno zaužita količina energije, ki je v pozni jeseni in zgodnji zimi najmanjša, svoj vrh pa doseže med junijem in oktobrom (Arnold in sod., 2015).

S prehranskega vidika so v prehrani navadnega jelena pomembni predvsem obnašanje med zauživanjem krme, sposobnost jelenov za prebavo večjih količin krme, učinkovito izkoriščanje hranljivih snovi in končnih produktov prebave ter zmožnost živali, da zadostijo potrebam po hranljivih snoveh (Milne in sod., 1978). V splošnem velja, da so razlike v fermentaciji in razgradnji krme in hranljivih snovi v predželodcih povezane z razlikami v kemični sestavi zaužitih obrokov. Palmer in sod. (1976) navajajo, da lahko pričakujemo veliko variabilnost v aktivnosti vampovega soka med jeleni iz naravnega okolja, saj ti jeleni zauživajo zelo raznoliko krmo, od dobro prebavljivih sadežev in semen do sla-

bo prebavljive voluminozne krme. Prav tako pa lahko pričakujemo veliko variabilnost v aktivnosti vampovega soka med sezonami, saj se razpoložljivost naravnih prehranskih virov med sezonami zelo spreminja, spreminja pa se lahko tudi zaradi dokrmeljevanja jelenov v obdobju pomanjkanja naravnih virov krme.

Namen naše raziskave je bil ugotoviti, ali sezona vpliva na aktivnost vampovega soka navadnega jelena. Kriteriji, ki smo jim sledili, so bili in vitro navidezna in prava razgradljivost suhe snovi, kazalniki in vitro tvorbe plina in količina in vitro tvorjenih hlapnih maščobnih kislin ter razmerja med njimi. Pri tem smo uporabili krmo, ki jo jeleni običajno najdejo v naravi ali pa so sestavni del obroka pri zimskem dokrmeljevanju.

2 MATERIAL IN METODE

V študiji smo uporabili 11 krmil, ki jih pogosto najdemo bodisi v naravnem okolju bodisi jih pogosto uporabljamo pri zimskem dokrmeljevanju navadnega jelena. Vsa ta krmila smo uporabili že v prejšnjih poskusih (Lavrenčič in Veternik, 2018a in b). Krmila iz naravnega okolja jelena so bila: dva vzorca sveže trave-paše (z območja Jelendola in Kokre), plodovi divjega kostanja (*Aesculus hippocastanum*) ter želod doba (*Quercus robur*) in gradna (*Quercus petraea*). Vzorci krmil, ki so bila namenjena dokrmeljevanju, so bili: dva vzorca mrve in travne silaže (z območja Jelendola in Kokre), koreni sladkorne pese in jabolčne tropine. Vzorce paše, korenov sladkorne pese in jabolčnih tropin smo pred kemijskimi analizami in inkubacijo v vampovem soku v 48 urah posušili pri 60 °C. Suhe vzorce smo zmleli skozi 1 mm sito in analizirali na vsebnost surovih beljakovin (SB), surovega pepela (SP), surovih maščob (SM) in surove vlaknine (SV) z metodami po Neumann in Bassler (1986), medtem ko smo vsebnosti v nevtralnem detergentu netopne vlaknine analizirali z aparatom ANKOM²²⁰ Fibre Analyser (Ankom Technology, Macedon, NY) z metodo po avtorjih Goering in Van Soest (1970), pri čemer pa smo uporabili natrijev sulfit. Kemična sestava uporabljenih krmil je podana v preglednici 1.

Za primerjavo značilnosti vampovega soka smo izbrali dve sezoni. Za jesensko sezono smo vzeli mesece september, oktober in november, medtem ko so zimsko sezono predstavljali meseci december, januar in februar. V lovni sezoni smo uplenili šest košut, od tega štiri jeseni, med sredino septembra in sredino oktobra 2011, dve pa pozimi, prvo v sredini decembra 2011, drugo pa v januarju 2012, za kar smo dobili posebno dovoljenje Ministrstva za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano (št. 341-1/2012/6 z dne 18. 1. 2012). Da-

tumi uplenitev so bili v skladu z začetkom zimskega dokrmeljevanja jelenov, ki ga v Lovišču s posebnim namenom (LPN) Kozorog Kamnik začnejo izvajati konec novembra ne glede na vremenske in snežne razmere. V celotni zimi 2011-2012 je bilo jelenjadi ponujeno skupno približno 30 ton sena, travne silaže in sladkorne pese, vendar pa živali krmišča niso redno obiskovale. Ocenjujemo, da je bila številčnost jelenjadi na krmiščih le okoli 30 % v primerjavi s številčnostjo v zimah, ki so bile bogate s snežno odejo. Košute smo v tem LPN uplenili tako na območju Jelendola (46°24'27.79" N in 14°24'30.65" E; 850 m nadmorske višine; občina Tržič) kot na območju lovskega revirja Kokra (46°21'57.37" N in 14°25'25.36" E; 925 m nadmorske višine; občina Preddvor). Takoj po uplenitvi smo iz živali odstranili vamp in ga v največ 45 minutah v zaprti, toplotno izolirani posodi prepeljali v laboratorij. Vsako inkubacijo, ki je predstavljala eno serijo, smo opravili za vsako žival posebej.

In vitro navidezno in pravo razgradljivost suhe snovi (*ivNRSS* in *ivPRSS*) smo določili po postopkih, ki sta jih opisala Lavrenčič in Veternik (2018a). Iz vsebine vampa vsake košute posebej smo pripravili inokulum tako, da smo vampovo vsebino ročno oželi skozi štiri pasti bombažne gaze in jo razredčili z raztopino pufrja v razmerju 1 : 2 (v/v). Okoli 450 mg zmletega krmila smo zatehtali v filtrske vrečke ANKOM F57 (ANKOM Technology, Macedon, NY, USA) in jih toplotno zavarili. Za vsako krmilo smo pripravili štiri vrečke in jih po 2 vstavili v 2 inkubacijski posodi (2 vrečki/posodo). V vsako posodo smo vstavili 24 vrečk F57 (2 vrečki/krmilo + dve prazni vrečki (slepi vzorec)) in dodali dva litra puferiranega vampovega soka, ki smo ga predhodno prepihovali z ogljikovim dioksidom. Posode smo vstavili v inkubator na 39 °C za 24 h. V času inkubacije je bilo zagotovljeno mešanje puferiranega vampovega soka v inkubacijskih posodah. Po končani inkubaciji smo vrečke intenzivno sprali pod tekočo vodo, posušili in stehali ter izračunali *ivNRSS*. Vrečke smo v nadaljevanju tretirali še 1 uro v raztopini nevtralnega detergenta (ND) pri 100 °C v aparaturi ANKOM²²⁰ fibre analyser (ANKOM Technology, Macedon, NY, USA), jih sprali v vodi, posušili in stehali ter izračunali in vitro pravo razgradljivost suhe snovi (*ivPRSS*). Obe, tako *ivNRSS* kot *ivPRSS*, sta bili izračunani kot delež med razliko zatehte suhe snovi vzorca in ostankom suhe snovi v vrečki po inkubaciji oz. obdelavi vzorca z ND. Dobljene *ivNRSS* in *ivPRSS* smo nato korigirali na izgubo mase slepega vzorca (prazne vrečke) med inkubacijo oz. obdelavo z ND (količnik med maso oprane in posušene prazne vrečke po inkubaciji oz. obdelavi z ND in maso neinkubirane oz. z ND neobdelane prazne vrečke).

Inokulum za izvedbo plinskega testa smo pripra-

vi na enak način kot inokulum za določanje *ivNRSS* (Menke in Steingass, 1988; Lavrenčič in Veternik, 2018b). Okoli 200 mg zmletega krmila smo inkubirali v anaerobnih pogojih pri 39 °C v 100 ml steklenih brizgalkah, ki so vsebovale 30 ml puferiranega vampovega soka (inokuluma). Količino sproščenega plina smo odčitali po 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 36, 48, 72 in 96 urah. Po 24 urah smo tekočino dveh od štirih brizgalk prenesli v 50 ml centrifugirne epruvete in jih do analize na vsebnost hlapnih maščobnih kislin (HMK) zamrznili na -20 °C. V vsaki seriji smo inkubirali tri brizgalke s slepim vzorcem (vsebovale so samo inokulum brez substrata) in tri brizgalke s standardnim vzorcem.

Vse postopke od uplenitve živali do začetka inkubacije smo izvedli v manj kot 2 urah, v času, ki ga še kot primernege navajata tudi Schwartz and Nagy (1972).

Ekstrate za analizo HMK smo pripravili iz puferiranega vampovega soka po 24 urah inkubacije po modificirani metodi Holdeman in sod. (1977). HMK smo določili s plinskim kromatografom Hewlett Packard 5890 A (Hewlett Packard, Bellefonte, Pennsylvania, USA), opremljenim s split/splitless injektorjem in FID detektorjem. Za ločevanje HMK smo uporabili 30 m NUKOL TM, FUSED SILICA kapilarno kolono (SUPELCO, Bellefonte, Pennsylvania, USA).

Dobljene količine plina smo korigirali na 1 g suhe snovi krmila in tudi na količino plina, sproščenega iz slepega vzorca. Kazalnike plinskega testa smo za vsak substrat ocenili s pomočjo Gompertzove enačbe (Lavrenčič in sod., 1997): $Y_t = B \times \exp(-C \times \exp(-D \times t))$, kjer je Y_t količina sproščenega plina (ml/g DM) v času 't', 'B' največja količina sproščenega plina (skupna potencialna količina plina; ml/g SS); 'C' specifična hitrost sproščanja plina, na katero vpliva konstantni faktor 'D', s katerim opisujemo zmanjševanje specifične hitrosti tvorbe plina (ki je posledica zmanjševanja hitrosti rasti mikroorganizmov in zmanjševanja količine fermentabilnega substrata) in 't' čas v urah. Poleg kazalnikov tvorbe plina smo izračunali tudi količino plina, sproščenega po 24 urah inkubacije (GAS24; ml/g suhe snovi), s pomočjo prvega in drugega odvoda Gompertzove enačbe po času pa še največjo hitrost tvorbe plina (MFR) in čas, ko je bila dosežena največja hitrost tvorbe plina (TMFR; Lavrenčič in sod., 1997).

Neto količino HMK, sproščeno v 24 urah inkubacije, smo izračunali tako, da smo od bruto količine posameznih HMK odšteli posamezne HMK, ki so se sprostile v tem času v slepem vzorcu. Dobljene količine smo nato korigirali na 1 g inkubirane suhe snovi krmila.

Rezultate smo nato analizirali z enofaktorsko (one-way analysis of variance) analizo varianca s proceduro splošnega linearnega modela (GLM) statističnega paketa SAS/STAT version 9.4 (SAS,

2015). Primerjali smo kazalnike med sezonama (jesen vs zima) za vsako krmilo posebej. Rezultate predstavljamo kot povprečne razlike, dobljene s testom najmanjših kvadratov (least square means). Kot statistično značilne smo sprejeli razlike pri $p \leq 0,05$, medtem ko smo kot trende obravnavali razlike pri $0,05 < p < 0,10$.

3 REZULTATI

Vzorci, katerih sestavo navajamo v preglednici 1, sta v svoji raziskavi uporabila že Lavrenčič in Veternik (2018a). Med njimi je obstajala velika raznolikost v kemični sestavi in bi jih lahko v grobem razdelili v dve skupini: na voluminozno krmo, kamor uvrščamo svežo travo-pašo, mrvo in travne silaže ter glede na vsebnost surove vlaknine in NDV tudi jabolčne tropine, ki pa jih lahko, zaradi fizikalne strukture, uvrščamo tudi v skupino močne krme, za katero je značilna majhna vseb-

nost vlaknine (tako surove vlaknine kot NDV) in relativno velika vsebnost BDI in NVOH (preglednica 1).

Podatke o in vitro navidezni (*iv*NRSS) in pravi razgradljivosti suhe snovi (*iv*PRSS) obravnavanih krmil pri košutah v jesenski in zimski sezoni prikazujemo v preglednici 2. Tako *iv*NRSS in *iv*PRSS sta bili številčno večinoma vedno večji v jesenski sezoni kot pozimi, a smo le za svežo travo iz Jelendola in za korene sladkorne pese ugotovili trende ($0,05 < p < 0,10$) pri *iv*NRSS. Nasprotno pa so imeli plodovi divjega kostanja ter želod doba večje *iv*NRSS in *iv*PRSS pozimi kot jeseni, a je bila le *iv*PRSS želoda doba statistično večja ($p < 0,05$).

Kazalnike plinskega testa, ocenjene s pomočjo Gompertzovega modela, prikazujemo v preglednici 3. Skupna potencialna tvorba plina (kazalnik "B") je bila večinoma večja v zimski sezoni, čeprav so bile razlike statistično značilne ($p < 0,05$) le pri sveži travi iz Jelendola, jabolčnih tropinah, korenih sladkorne pese ter želodu gradna in doba. Velik vpliv sezone pa smo ugo-

Preglednica 1: Kemična sestava krmil, uporabljenih v poskusu
Table 1: Chemical composition of feeds used in the experiment

Krmilo / Feed	SS	SB	SM	SV	SP	BDI	NDV	NVOH
	DM	CP	EE	CF	Ash	NFE	NDF	NFC
	(g/kg)	(g/kg SS – g/kg DM)						
Sveža trava (Jelendol) Fresh grass (Jelendol)	202	203	29	197	64	506	440	171
Sveža trava (Kokra) Fresh grass (Kokra)	282	134	24	278	70	494	600	91
Travna silaža (Jelendol) Grass silage (Jelendol)	387	128	31	340	97	404	640	42
Travna silaža (Kokra) Grass silage (Kokra)	586	194	28	237	107	434	517	72
Mrva (Jelendol) Grass hay (Jelendol)	867	107	18	304	97	472	543	178
Mrva (Kokra) Grass hay (Kokra)	843	93	19	282	70	537	563	192
Jabolčne tropine Apple pomace	153	58	28	218	27	669	482	338
Koreni sladkorne pese Sugarbeet roots	202	68	5	61	27	840	141	695
Plodovi divjega kostanja Chestnut fruits	372	85	16	143	25	730	389	422
Želod gradna Sessile oak acorns	579	52	36	130	22	760	278	542
Želod doba Common oak acorns	508	53	37	134	22	753	291	532

SS = suha snov – DM = dry matter; SB = surove beljakovine – CP = crude protein; SM = surove maščobe – EE = ether extract; SV = surova vlaknina – CF = crude fiber; SP = surovi pepel – Ash = crude ash; BDI = brezdušični izvleček ($BDI = SS - (SP + SB + SM + SV)$) – NFE = nitrogen-free extract ($NFE = DM - (Ash + CP + EE + CF)$); NDV = v nevtralnem detergentu netopna vlaknina – NDF = neutral detergent fiber, NVOH = nevlaknasti ogljikovi hidrati ($NVOH = SS - (SP + SB + SM + NDV)$) – NFC = non-fiber carbohydrates ($NFC = DM - (Ash + CP + EE + NDF)$)

točili pri kazalniku »C« (specifični hitrosti razgradnje). Ta je bil večji ($p < 0,05$) pri večini krmil, inkubiranih v vampovem soku košut, uplenjenih v zimski sezoni. Izjema je bila samo mrva iz Jelendola, medtem ko smo pri korenih sladkorne pese in želodu gradna ugotovili le trend ($0,05 < p < 0,10$). Nasprotno pa se kazalnik »D« pri posameznih substratih med sezonama ni razlikoval ($p > 0,05$), čeprav je bil pri številnih substratih številčno manjši v jesenski sezoni. Statistično značilno ($p < 0,05$) različna kazalnika »D« smo dobili pri inkubaciji mrve iz Kokre in pri inkubaciji želoda gradna.

Pri primerjavi izračunanih kazalnikov tvorbe plina (preglednica 4) smo ugotovili, da se je v 24 urah sprostito več plina (GAS24) ob fermentaciji substratov, ki smo jih inkubirali v vampovem soku košut, uplenje-

nih v zimski sezoni, pri tem pa so bile razlike statistično značilne ($p < 0,05$) le za svežo travo iz Jelendola, za mrvo iz Kokre in korene sladkorne pese, medtem ko smo za mrvo iz Jelendola ugotovili le trend. Čas, ko je bila hitrost tvorbe plina največja (TMFR), je bil številčno večinoma daljši pri inkubaciji vzorcev v inokulumu, pripravljenim iz vampove vsebine košut, uplenjenih pozimi. Vendar pa smo statistično značilne razlike ($p < 0,05$) izračunali samo za nekatera krmila, pri inkubaciji sveže trave iz Jelendola, jabolčnih tropin ter za želode gradna in doba, medtem ko smo pri inkubaciji sveže trave iz Kokre, korenov sladkorne pese in plodov divjega kostanja izračunali zgolj trend ($0,05 < p < 0,10$). Tudi največja hitrost tvorbe plina (MFR) je bila večinoma večja ob inkubaciji vzorcev v inokulumu, pripra-

Preglednica 2: In vitro navidezna razgradljivost suhe snovi (*ivNRSS*; g/kg) in in vitro prava razgradljivost suhe snovi (*ivPRSS*) krmil, inkubiranih v inokulumih, pripravljenih iz vampove vsebine jeseni in pozimi uplenjenih košut

Table 2: In vitro apparent dry matter degradability (*ivADMD*; g/kg) and in vitro true dry matter digestibility (*ivTDMD*; g/kg) of feeds, incubated in inocula, prepared from rumen contents of hinds shot in autumn and winter

Krmilo Feed	<i>ivNRSS</i> <i>ivADMD</i>			<i>ivPRSS</i> <i>ivTDMD</i>		
	jesen autumn	zima winter	SED	jesen autumn	zima winter	SED
Sveža trava (Jelendol) Fresh grass (Jelendol)	646*	564*	44,8	801	750	34,4
Sveža trava (Kokra) Fresh grass (Kokra)	454	437	33,1	611	595	25,2
Travna silaža (Jelendol) Grass silage (Jelendol)	491	460	41,8	606	587	34,3
Travna silaža (Kokra) Grass silage (Kokra)	560	526	68,5	742	702	32,0
Mrva (Jelendol) Grass hay (Jelendol)	540	517	32,7	670	652	37,2
Mrva (Kokra) Grass hay (Kokra)	465	423	32,8	624	586	28,4
Jabolčne tropine Apple pomace	497	489	16,8	704	699	11,5
Koreni sladkorne pese Sugarbeet roots	934*	881*	24,7	960	939	13,1
Plodovi divjega kostanja Chestnut fruits	408	436	25,4	725	738	12,7
Želod gradna Sessile oak acorns	523	517	20,3	767	775	7,7
Želod doba Common oak acorns	506	542	39,4	755 ^b	791 ^a	13,2

ivNRSS = in vitro navidezna razgradljivost suhe snovi (mg/g SS) – *ivADMD* = in vitro apparent dry matter degradability (mg/g DM); *ivPRSS* = in vitro prava prebavljivost suhe snovi (mg/g SS) – *ivTDMD* = in vitro true dry matter digestibility (mg/g DM); SED = standardna napaka razlike – SED = standard error of the differenc

^{a,b} povprečja, označena z različnimi črkami znotraj parametra se statistično razlikujejo pri $p < 0,05$ – ^{a,b} means with different superscripts within parameter differ significantly ($p < 0,05$)

* povprečja znotraj parametra kažejo trende ($0,05 < p < 0,10$) – means within the parameter show trends ($0,05 < p < 0,10$)

vljenem iz vampove vsebine košut, uplenjenih v zimski sezoni, pri čemer pa smo statistično značilne razlike ($p < 0,05$) izračunali pri obeh mrvah (iz Jelendola in iz Kokre), pri korenih iz sladkorne pese in želodu gradna, medtem ko smo trend ($0,05 < p < 0,10$) izračunali le pri inkubaciji travne silaže iz Kokre.

V preglednici 5 prikazujemo podatke o količini sproščenih hlapnih maščobnih kislin (HMK) in njihovih deležih. Ob inkubaciji vzorcev v inokulumu, pripravljenem iz vampovega soka košut, uplenjenih pozimi, se je pri večini vzorcev sprostilo več HMK kot iz tistega, pripravljeneega iz vampovega soka jeseni uplenjenih košut. Kljub temu pa smo statistično značilne razlike ($p < 0,05$) izračunali le pri mrvi iz Jelendola, medtem ko smo pri jabolčnih tropinah in želodu gradna izračunali le trend ($0,05 < p < 0,10$). Nasprotno pa smo pri

inkubaciji sveže trave iz Kokre, travne silaže iz Jelendola in želoda doba ugotovili, da je bila produkcija HMK večja, če smo te vzorce inkubirali v inokulumu pripravljeneem iz vampa jeseni uplenjenih košut, pri tem pa je bila razlika statistično značilna ($p < 0,05$) le pri inkubaciji sveže trave iz Kokre. Pri 24-urni inkubaciji v vampovem soku košut, uplenjenih pozimi, smo v vseh vzorcih določili številčno večji delež očetne kisline, čeprav smo statistično značilno odstopanje ($p < 0,05$) zabeležili samo pri korenih sladkorne pese, trende ($0,05 < p < 0,10$) pa pri sveži travi iz Kokre, travni silaži iz Kokre, obeh vzorcih mrve in plodovih divjega kostanja. Nasprotno pa so bili deleži maslene kisline pri vseh vzorcih številčno večji v vampovem soku košut, uplenjenih jeseni, a smo statistično značilne razlike ($p < 0,05$) izračunali le pri vzorcih, uvrščenih v skupino

Preglednica 3: Ocenjeni kazalniki in vitro tvorbe plina krmil, inkubiranih v inokulumih, pripravljenih iz vampove vsebine jeseni in pozimi uplenjenih košut

Table 3: Estimated in vitro gas production parameters of feeds, incubated in inocula, prepared from rumen contents of hinds shot in autumn and winter

Krmilo Feed	B (ml/g SS – ml/g DM)			C			D		
	jesen autumn	zima winter	SED	jesen autumn	zima winter	SED	jesen autumn	zima winter	SED
Sveža trava (Jelendol) Fresh grass (Jelendol)	260 ^a	277 ^b	5,4	2,00 ^b	2,23 ^a	0,052	0,159	0,162	0,0064
Sveža trava (Kokra) Fresh grass (Kokra)	222	230	8,3	2,01 ^b	2,22 ^a	0,071	0,092	0,091	0,0087
Travna silaža (Jelendol) Grass silage (Jelendol)	226	225	10,1	2,51 ^b	2,79 ^a	0,149	0,109	0,113	0,0431
Travna silaža (Kokra) Grass silage (Kokra)	223	223	8,0	2,24 ^b	2,51 ^a	0,118	0,111	0,127	0,0151
Mrva (Jelendol) Grass hay (Jelendol)	229	235	7,8	2,04	2,24	0,152	0,132	0,150	0,0100
Mrva (Kokra) Grass hay (Kokra)	219	216	6,3	1,81 ^b	2,12 ^a	0,091	0,096 ^b	0,124 ^a	0,0107
Jabolčne tropine Apple pomace	307 ^b	342 ^a	18,1	2,32 ^b	2,57 ^a	0,111	0,216	0,170	0,2107
Koreni slad. pese Sugarbeet roots	339 ^b	380 ^a	6,6	2,15 [*]	2,43 [*]	0,144	0,305	0,293	0,0176
Plodovi div. kostanja Chestnut fruits	260	264	28,2	2,16 ^b	2,59 ^a	0,108	0,120	0,120	0,0125
Želod gradna Sessile oak acorns	278 ^b	293 ^a	5,7	2,48 [*]	2,75 [*]	0,135	0,160 ^a	0,131 ^b	0,0056
Želod doba Common oak acorns	279 ^b	294 ^a	5,4	2,51 ^b	3,09 ^a	0,106	0,131	0,126	0,0067

B = skupna potencialna tvorba plina – B = total potential gas production; C = relativna hitrost tvorbe plina, na katero vpliva konstantni kazalnik mikrobnne učinkovitosti D – C = relative gas production rate as affected by a constant factor of microbial efficiency D

SED = standardna napaka razlike – SED = standard error of the difference

^{a,b} povprečja, označena z različnimi črkami znotraj parametra se statistično razlikujejo pri $p < 0,05$ – ^{a,b} means with different superscripts within parameter differ significantly ($p < 0,05$)

* povprečja znotraj parametra kažejo trende ($0,05 < p < 0,10$) – means within the parameter show trends ($0,05 < p < 0,10$)

močnih krmil (koreni sladkorne pese, plodovi divjega kostanja ter želod doba in gradna), pri voluminozni krmi pa samo pri inkubaciji sveže trave iz Kokre. Ob inkubaciji vzorcev voluminozne krme in korenov sladkorne pese v vampovem soku košut, uplenjenih jeseni, smo zabeležili tudi številčno večji delež propionske kisline, medtem ko je bil pri inkubaciji plodov divjega kostanja ter želodu doba in gradna, delež propionske kisline večji, če smo jih inkubirali v vampovem soku košut, uplenjenih pozimi. Pri tem smo statistično značilne razlike določili pri plodovih divjega kostanja in želodu gradna. Pri mrvi iz Kokre, jabolčnih tropinah, korenih sladkorne pese in želodu doba pa smo ugotovili samo trend ($0,05 < p < 0,10$).

4 RAZPRAVA

Vpliv sezone na prebavljivost, razgradljivost in fermentabilnost hranljivih snovi je le redko obravnavan pri jelenih. V redkih virih avtorji (npr. Milne in sod., 1978; Sibbald in Milne, 1993; Freudenberg in sod., 1994; Domingue in sod., 1991) ugotavljajo, da v in vivo prebavljivosti organske, suhe snovi oz. dušika pri jelenih ni bilo velikih razlik med poletno in zimsko sezono. Nasprotno pa sta Jiang in Hudson (1996) ugotovila, da je bila in vivo prebavljivost paše veliko večja poleti kot pozimi, kar je povsem razumljivo, saj sta slednja v poskusu uporabila svežo travo oz. pašo, katere hranilna vrednost se je znotraj in med sezonami neprestano spreminjala, medtem ko so prej naštetih avtorji vedno

Preglednica 4: Ocenjeni kazalniki in vitro tvorbe plina krmil, inkubiranih v inokulumih, pripravljenih iz vampove vsebine jeseni in pozimi uplenjenih košut

Table 4: Calculated in vitro gas production parameters of feeds, incubated in inocula, prepared from rumen contents of hinds shot in autumn and winter

Krmilo Feed	GAS24 (ml/g SS – ml/g DM)			TMFR (h)			MFR (ml/h)		
	jesen autumn	zima winter	SED	jesen autumn	zima winter	SED	jesen autumn	zima winter	SED
Sveža trava (Jelendol) Fresh grass (Jelendol)	249 ^a	264 ^b	4,7	4,4 ^b	5,0 ^a	0,17	15,2	16,3	0,53
Sveža trava (Kokra) Fresh grass (Kokra)	174	177	2,9	7,3 [*]	8,9 [*]	0,57	7,3	7,6	0,45
Travna silaža (Jelendol) Grass silage (Jelendol)	183	186	10,6	8,4	9,1	1,38	10,7	9,3	3,33
Travna silaža (Kokra) Grass silage (Kokra)	190	197	8,1	7,1	7,3	0,69	9,5 [*]	10,3 [*]	1,14
Mrva (Jelendol) Grass hay (Jelendol)	209 [*]	220 [*]	5,4	5,3	5,4	0,40	11,1 ^b	13,0 ^a	0,69
Mrva (Kokra) Grass hay (Kokra)	179 ^b	192 ^a	4,1	6,4	6,2	0,50	7,5 ^b	9,7 ^a	0,66
Jabolčne tropine Apple pomace	301	327	16,9	3,3 ^b	5,6 ^a	0,97	23,7	21,4	10,76
Koreni slad. pese Sugarbeet roots	338 ^b	379 ^a	6,5	2,5 [*]	3,0 [*]	0,25	37,8 ^b	40,9 ^a	1,92
Plodovi div. kostanja Chestnut fruits	226	226	5,1	6,6 [*]	8,0 [*]	0,71	11,3	11,6	0,67
Želod gradna Sessile oak acorns	263	258	5,1	5,7 ^b	7,9 ^a	0,24	16,1 ^a	13,7 ^b	0,64
Želod doba Common oak acorns	249	252	4,0	7,0 ^b	9,0 ^a	0,22	13,4	13,6	0,59

GAS24 = prostornina plina, proizvedena v 24 urah inkubacije – Gas24 = gas volumen produced in 24 hours of incubation; MFR= največja hitrost tvorbe plina – MFR = maximum fermentation rate; TMFR = čas, ko je dosežena največja hitrost tvorbe plina – TMFR = time of maximum fermentation rate; SED = standardna napaka razlike – SED = standard error of the difference

^{a,b} povprečja, označena z različnimi črkami znotraj parametra se statistično razlikujejo pri $p < 0,05$ – ^{a,b} means with different superscripts within parameter differ significantly ($p < 0,05$)

* povprečja znotraj parametra kažejo trende ($0,05 < p < 0,10$) – means within the parameter show trends ($0,05 < p < 0,10$)

Preglednica 5: Količine in deleži hlapnih maščobnih kislin, ki so se sprostile iz krmil, inkubiranih v inokuliranih v vavpove vsebine v jeseni in pozimi uplenjenih košut
Table 5: Total amount of short-chain fatty acids and molar proportions of acetate, propionate and butyrate released from feeds, incubated in inocula, prepared from rumen contents of hinds shot in autumn and winter

Krmilo Feed	HMK – SCEFA (mmol/g SS – mmol/g DM)				Ac (g/g HMK – g/g SCEFA)				Pr (g/g HMK – g/g SCEFA)				Bu (g/g HMK – g/g SCEFA)			
	jesen autumn		zima winter		jesen autumn		zima winter		jesen autumn		zima winter		jesen autumn		zima winter	
	SED	SED	SED	SED	SED	SED	SED	SED	SED	SED	SED	SED	SED	SED	SED	SED
Sveža trava (Jelendol)	6,76	6,84	1,260	0,618	0,676	0,0680	0,269	0,237	0,0484	0,113	0,087	0,0205				
Fresh grass (Jelendol)	5,05 ^a	3,83 ^b	0,513	0,669*	0,729*	0,0287	0,222	0,192	0,0227	0,109 ^a	0,079 ^b	0,0121				
Sveža trava (Kokra)	4,79	6,13	1,622	0,593	0,628	0,0475	0,300	0,264	0,0410	0,107	0,108	0,0131				
Fresh grass (Kokra)	5,84	4,74	1,387	0,650*	0,712*	0,0139	0,270	0,220	0,0410	0,079	0,067	0,0095				
Travna silaža (Jelendol)	5,86 ^b	9,49 ^a	1,310	0,654*	0,716*	0,0398	0,241	0,203	0,0302	0,105	0,081	0,0147				
Grass silage (Jelendol)	4,44	4,83	0,861	0,669*	0,744*	0,0418	0,240*	0,188*	0,0324	0,091*	0,068*	0,0164				
Travna silaža (Kokra)	7,31*	11,24*	1,782	0,667	0,721	0,0243	0,204*	0,180*	0,0127	0,129	0,099	0,0341				
Grass hay (Kokra)	10,51	13,19	1,816	0,526 ^b	0,618 ^a	0,0384	0,320*	0,262*	0,3100	0,154 ^a	0,120 ^b	0,1305				
Jabolčne tropine Apple pomace	6,40	7,67	1,947	0,612*	0,663*	0,0230	0,135 ^b	0,163 ^a	0,0089	0,253 ^a	0,174 ^b	0,0350				
Koreni slad. pese Sugarbeet roots	7,15*	9,62*	1,111	0,661	0,692	0,0210	0,106 ^b	0,157 ^a	0,0176	0,234 ^a	0,151 ^b	0,0271				
Plodovi div. kostanja Chestnut fruits	7,77	7,61	1,401	0,610	0,646	0,0390	0,149*	0,198*	0,0271	0,241 ^a	0,156 ^b	0,0217				
Želod gradna Sessile oak acorns																
Želod doba Common oak acorns																

HMK = hlapne maščobne kisline – SCEFA = short-chain fatty acids; Ac = očetna kislina – Ac = acetic acid; Pr = propionska kislina – Pr = propionic acid; Bu = maslena kislina – Bu = butyric acid
 SED = standardna napaka razlike – SED = standard error of the difference

^{a,b} povprečja, označena z različnimi črkami znotraj parametra se statistično razlikujejo pri $p < 0,05$ – ^{a,b} means with different superscripts within parameter differ significantly ($p < 0,05$)
 * povprečja znotraj parametra kažejo trende ($0,05 < p < 0,10$) – means within the parameter show trends ($0,05 < p < 0,10$)

uporabili predhodno konzervirano voluminozno krmo (mrvo) in krmila.

Za razliko od in vitro pogojev, ki smo jih imeli v našem poskusu, so vsi zgoraj omenjeni avtorji ugotavljali prebavljivost oz. razgradljivost z in vivo metodami. V in vivo pogojih sta prebavljivost in razgradljivost hranljivih snovi pogojena s trajanjem zadrževanja krme v prebavilih, predvsem v predželodcih (MRT). Milne in sod. (1978), Domingue in sod. (1991), Sibbald in Milne (1993) in Freudenberger in sod. (1994) so ugotovili, da jeleni poleti zaužijejo več krme kot pozimi, kar bi ob nespremenjeni prebavljivosti hranljivih snovi pomenilo, da je poleti MRT krajši kot pozimi, kar je skladno z rezultati Domingue in sod. (1991), ki so ugotovili, da se poleti poveča iztok tekoče faze. Nasprotno pa Freudenberger in sod. (1994) ugotavljajo, da se poleti, kljub nespremenjenemu zauživanju krme, upočasni iztok lignina (marker) iz predželodcev, kar nakazuje na podaljšan MRT pri jelenih v poletni sezoni. Slednje je lahko posledica visokih temperatur okolja, povsem možno pa je tudi, da je to posledica večje prostornine (in mase) predželodcev pri jelenih v poletni sezoni (Sibbald in Milne, 1993; Arnold in sod., 2015).

Na *ivNRSS* in *ivPRSS* posameznih krmil vpliva tudi obrok, ki ga košute zauživajo (Gordon in sod., 2002). V pričujočem poskusu nismo mogli spremljati količin in vrste sestavin, ki so jih košute dejansko zaužile z obroki. Menimo, da so bili obroki po sestavi, kakovosti in hranilni vrednosti v jeseni in pozimi zelo podobne, saj košute poselijo predvsem območja, na katerih rastejo rastline z večjo hranilno vrednostjo (Barboza and Bowyer, 2000) in da košute izbirajo obroke tako, da je v njih najmanj 30 % trav (Adamič, 1990, cit. po Jerina, 2007). V sezoni 2011–2012 so imele košute jeseni na voljo tudi velike količine plodov kostanja, žira in želoda, ki so bili takrat dostopni v velikih količinah. Kljub temu, da so imele košute pozimi poleg plodov plodonosnega drevja na voljo tudi mrvo, travno silažo, jabolčne tropine in korene sladkorne pese, s katerimi delavci LPN redno dokrmiljujejo jelenjad na obeh območjih (D. Veternik, ustni vir, 25. januar 2012), slednjih niso zauživale v velikih količinah. Zato predvidevamo, da so bili jesenski in zimski obroki po svojih fizikalnih in kemijskih lastnostih zelo podobni.

V nam dostopni literaturi nismo uspeli dobiti nobenih podatkov o vplivu sezone na kazalnike tvorbe plina pri navadnem jelenju. Dobljeni kazalniki tvorbe plina, predvsem skupna potencialna tvorba plina in produkcija plina v prvih 24 urah inkubacije, se niso razlikovali od tistih, ki sta jih Lavrenčič in Veternik (2018b) določila ob fermentaciji teh krmil v pufiriranem vampovem soku ovac. Skupna potencialna tvorba plina v zimski sezoni je bila večja predvsem pri vzorcih

močne krme, medtem ko pri inkubaciji vzorcev voluminozne krme nismo zaznali večjih razlik. Prav tako večjih razlik nismo zaznali pri kazalniku D, medtem ko je bil kazalnik C v zimski sezoni pri večini krmil večji kot jeseni (preglednica 3). Posledica teh sprememb v kazalnikih tvorbe plina je podaljšan čas, v katerem tvorba plina doseže največjo hitrost, kar je še posebej izrazito pri močni krmi (preglednica 4). Vendar pa se prostornina v 24 urah proizvedenega plina ni bistveno razlikovala med sezonama, prav tako pa med sezonama ni bilo bistvenih razlik v *ivPRSS*. Tudi količine sproščenih hlapnih maščobnih kislin se med sezonama niso razlikovale, čeprav smo nekoliko večje količine HMK določili pri skoraj vseh substratih v zimski sezoni. Tudi Domingue in sod. (1991) pri navadnem jelenju niso ugotovili statistično značilnih razlik v količini sproščenih HMK, medtem ko Freudenberger in sod. (1994) in DeLiberto in sod. (1989) pri belorepem jelenju (*Odocoileus virginianus*) navajajo večjo sintezo HMK v poletni kot v zimski sezoni, kar utemeljujejo z večjo prostornino predželodcev v poletni sezoni, zaradi česar se MRT podaljša, s tem pa se podaljšata tako čas delovanja kot aktivnost mikroorganizmov. Nasprotno pa Arnold in sod. (2015) navajajo, da je učinkovitost prebave največja pozimi, saj se zaradi podaljšanega MRT, ki je posledica manjšega zauživanja krme in manjše velikosti prebavnih organov, poveča sinteza HMK. Vendar pa DeLiberto in sod. (1989) niso ugotovili nobenih razlik v sproščanju HMK med jesensko in zimsko sezono.

So se pa v preučevanih sezonah razlikovali deleži tvorjenih posameznih HMK. Tako se je pri fermentaciji v predželodcih košut jeseni tvoril manjši delež očetne kisline (trend) kot pozimi, medtem ko sta bila jeseni deleža propionske in maslene kisline običajno večja kot pozimi. Le deleži propionske kisline, ki so nastale ob fermentaciji plodov kostanja in želoda, so bili večji pozimi kot jeseni. Razlike v deležih propionske in maslene kisline med preučevanima sezonama so posebej izrazite pri krmi z majhno vsebnostjo vlaknine, ne pa tudi pri voluminozni krmi. Ozka razmerja med očetno in propionsko kislino so značilna za obroke, v katerih prevladuje močna krma in vsebujejo veliko fermentabilnih ogljikovih hidratov. V našem primeru je takšne obroke jelenjad zauživala v obeh sezonah, saj je bil takrat obrod plodonosnih vrst dreves, ko sta hrast in bukev, izjemno velik, obenem pa jelenjad ni množično obiskovala njej namenjenih krmišč. Vendar pa smo pri večini krmil izračunali (podatki niso prikazani) nekoliko širše razmerje med očetno in propionsko kislino ob njihovi fermentaciji v inokulumu, pripravljenem iz vampove vsebine košut, uplenjenih pozimi. Samo pri krmilih, ki vsebujejo veliko škroba (plodovi kostanja in želod obeh hrastov), so bila razmerja med očetno in propionsko

kislino širša, ko smo jih določili v inokulumu, pripravljenim z vampovim sokom košut, uplenjenih jeseni. Iz propionske kisline se v procesu glukoneogeneze tvori glukoza, zato povečan delež propionske kisline v jesenski sezoni pomeni tudi boljšo oskrbo živali z energijo, kar sovпада z jelenjim rukom in potrebami po energiji za uspešno osemenitev pri samicah. Ocetna kislina je prekurzor za sintezo telesnih maščob. Za nalaganje telesnih maščob pa mora biti na razpolago dovolj NADPH, ki se tvori iz glukoze. Če glukoze oziroma NADPH primanjkuje, večina očetne kisline oksidira, zaradi česar se poveča tvorba presnovne toplote (Domingue in sod., 1991), ki pa jelenjadi omogoča večje možnosti za preživetje v mrzlih zimah.

5 SKLEPI

Pri inkubaciji vzorcev krmil v inokulumu, pripravljenem iz vampovega soka košut, uplenjenih v jesenski in zimski sezoni, nismo ugotovili večjih razlik v in vitro navidezni razgradljivosti (*iv*NRSS) in pravi razgradljivosti (*iv*PRSS) suhe snovi, kakor tudi ne v kazalnikih in vitro tvorbe plina, razen v kazalniku »C« (specifična hitrost tvorbe plina), ki je bil v zimski sezoni večji kot jeseni. Tudi razlike v količini sproščenih hlapnih maščobnih kislin (HMK) med sezonama niso bile velike. Zaradi velikega obroda plodonosnega drevja v jeseni 2011 in zaradi dokrmeljevanja košut s travno silažo, mrvo, jabolčnimi tropinami in koreni sladkorne pese predvidevamo, da se aktivnost mikroorganizmov v vampu košut ni bistveno spremenila. Predvidevamo, da bi bili tudi rezultati in vivo podobni, saj se srednji čas zadrževanja krme v prebavilih med sezonama ne spreminja bistveno, poleti zaradi večje prostornine prebavil, pozimi pa zaradi manjše količine zaužitih sestavin obroka.

Ugotovili pa smo, da so vampovi mikroorganizmi košut med sezonama nekoliko spremenili presnovo, kar se kaže v spremenjenih razmerjih med posameznimi HMK. Iz večje količine očetne kisline lahko košute dobijo več toplote, kar je pomembno predvsem v hudih zimah, iz večje količine propionske kisline jeseni pa potrebno energijo za uspešno reprodukcijo. Tudi deleži maslene kisline so bili večji jeseni, torej v času intenzivnega nalaganja telesnih rezerv. Te domneve bi morali še potrditi z dodatnimi in vitro raziskavami, predvsem pa bi morali v poskus vključiti večje število živali. Prav tako pa bi morali te domneve potrditi ali ovreči tudi z in vivo raziskavami na samih živalih ter v naravnem okolju.

6 VIRI

- Arnold, W., Ruf, T., Reimoser S., Tataruch, F., Onderscheka, K., Schober F. (2004). Nocturnal hypometabolism as an overwintering strategy of red deer (*Cervus elaphus*). *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 286, R174–R181. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00593.2002>
- Arnold, W., Beiglböck, C., Burmeister, M., Guschlbauer, M., Lengauer, A., Schröder, B., ... Breves, G. (2015). Contrary seasonal changes of rates of nutrient uptake, organ mass, and voluntary food intake in red deer (*Cervus elaphus*). *American Journal of Physiology – Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 309(3), R277–R285. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00084.2015>
- Barbosa, P., Bowyer, R. T. (2000). Sexual segregation in dimorphic deer: a new gastrocentric hypothesis. *Journal of Mammalogy*, 81(2), 473–489. [https://doi.org/10.1644/1545-1542\(2000\)081%3C0473:SSIDDA%3E2.0.CO;2](https://doi.org/10.1644/1545-1542(2000)081%3C0473:SSIDDA%3E2.0.CO;2)
- Clauss, M., Hume, D. I., Hummel, J. (2010). Evolutionary adaptations of ruminants and their potential relevance for modern production systems. *Animal*, 4(7), 979–992. <https://doi.org/10.1017/S1751731110000388>
- DeLiberto, T. J., Pfister, J. A., Demarais, S., Van Vreede, G. (1989). Seasonal changes in physiological parameters of White-tailed deer in Oklahoma. *Journal of Wildlife Management*, 53(3), 533–539. <https://doi.org/10.2307/3809173>
- Domingue, B. M. F., Dellow, D. W. Wilson, P. R., Barry, T. N. (1991). Nitrogen metabolism, rumen fermentation, and water absorption in red deer, goats, and sheep. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 34(4), 391–400. <https://doi.org/10.1080/00288233.1991.10417682>
- Freudenberger, D. O., Tayakawa, K., Barry, T. N., Ball, A. J., Suttie, J. M. (1994). Seasonality in digestion and rumen metabolism in red deer (*Cervus elaphus*) fed on a forage diet. *British Journal of Nutrition*, 71(4), 489–499. <https://doi.org/10.1079/BJN19940157>
- Gordon, I. J., Pérez-Barbería, F. J., Cuartas, P. (2002). The influence of adaptation of rumen microflora on in vitro digestion of different forages by sheep and red deer. *Canadian Journal of Zoology*, 80(11), 1930–1937. <https://doi.org/10.1139/z02-179>
- Goering, H. K., Van Soest, P. J. (1970). *Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures and some applications)*. *Agriculture handbook 379*. Washington, DC, USA: ARS USDA.
- Hafner, M., Černe, B. (2015). Vplivi okoljskih dejavnikov na velikost skupin jelenjadi (*Cervus elaphus* L.) v vzhodnih Karavankah in Kamniško-Savinjskih Alpah. *Gozdarski Vestnik*, 73(3), 155–169.
- Hofmann, R. R. (1985). Digestive physiology of the deer – their morphophysiological specialisation and adaptation. V P. F. Fennesy in K. R. Drew (ur.), *Biology of Deer Production* (str. 393–407). Wellington: Bulletin 22 of The Royal Society of New Zealand.
- Holdeman, L. V., Cato, E. P., Moore, W. E. C. (1977). Ether extraction of volatile fatty acids. V: *Anaerobe laboratory manual* (str. 1–132). 4th edition. Virginia: Southern Printing Company.

- Jerina, K., 2007. The effects of habitat structure on red deer (*Cervus elaphus*) body mass. *Zbornik Gozdarstva in Lesarstva*, 82, 3–13.
- Jiang, Z., Hudson, R. J. (1996). Digestive responses of wapiti *Cervus elaphus Canadensis* to seasonal changes. *Acta Theriologica*, 41(4), 415–423. <https://doi.org/10.4098/AT.arch.96-40>
- Lavrenčič, A., Stefanon, B., Susmel, P. (1997). An evaluation of the Gompertz model in degradability studies of forage chemical components. *Animal Science*, 64(3), 423–431. <https://doi.org/10.1017/S1357729800016027>
- Lavrenčič, A., Veternik, D. (2018a). Differences between sheep and red deer in in vitro apparent and true digestibility of commonly used red deer feeds. *Acta Agriculturae Slovenica*, 112(1), 5–9. <https://doi.org/10.14720/aas.2018.112.1.1>
- Lavrenčič, A., Veternik, D. (2018b). Gas and short-chain fatty acid production from feeds commonly fed to red deer (*Cervus elaphus* L.) and incubated with rumen inoculum from red deer and sheep. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 102(5), 1146–1153. <https://doi.org/10.1111/jpn.12943>
- Menke, K. H., Steingass, H. (1988). Estimation of the energetic feed value obtained from chemical analysis and in vitro gas production using rumen fluid. *Animal Research and Development*, 28, 375–386.
- Milne, J. A., Macrae, J. C., Spence, A. M., Wilson, S. (1978). A comparison of the voluntary intake and digestion of a range of forages at different times of the year by the sheep and the red deer (*Cervus elaphus*). *British Journal of Nutrition*, 40(2), 347–357. <https://doi.org/10.1079/BJN19780131>
- Neumann, K., Bassler, R. (1976). *Methodenbuch, Band III*. Neudamm: Verlag J. Neumann.
- Palmer, W. L., Cowan, R. L., Amman, A. P. (1976). Effect of inoculum source on in vitro digestion of deer foods. *Journal of Wildlife Management*, 40(2), 301–307. <https://doi.org/10.2307/3800429>
- Sibbald, A. M., Milne, J. A. (1993). Physical characteristics of the alimentary tract in relation to seasonal changes in voluntary food intake by the red deer (*Cervus elaphus*). *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 120(1), 99–102. <https://doi.org/10.1017/S0021859600073640>
- Statistical Analysis Systems Institute (2015). *SAS/STAT user's guide: Statistics* (release 9.4). Cary, NC: SAS Institute.
- Schwartz, C. C., Nagy, J. G. (1972). Maintaining deer rumen fluid for in vitro digestion studies. *Journal of Wildlife Management*, 36(4), 1341–1343. <https://doi.org/10.2307/3799281>
- Stevens, D. R., Webster, J. R., Corson, I. D. (2003). Effects of seasonality and feed quality on the feed requirements and live weight gain of young deer – a review. V M. J. Casey (ed), *The nutrition and Management of Deer on Grazing Systems* (str. 17–23). <https://doi.org/10.33584/rps.9.2002.3418>
- Tilley, J. M. A., Terry, R. A. (1963). A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society*, 18(2), 104–111. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1963.tb00335.x>
- Weckerly, F. W., Bhaskar, G., Duarte, A., Luna, R. S., Starns, H. D. (2018). Heavier rumen-reticulum organs in white tailed deer is consistent with dietary bulk not quality. *Canadian Journal of Zoology*, 96(7), 748–752. <https://doi.org/10.1139/cjz-2017-0036>