

UČINAK DODATKA ALUVIJALNOG DEPOZITNOG HOLOCENSKOG MINERALA (ADNEM) U KRMU TOVNIH PILIĆA FARMSKOG UZGOJA NA TVORBU KOLAGENA U NJIHOVU MIŠIĆJU

Hrvoje Mazija³, Zlatko Janječić¹ Helga Medić⁴, Dalibor Bedeković¹, Mirta Balenović², Marijan Andrašec³, Bratko Filipič³

¹ Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet, Zavod za hranidbu životinja, Zagreb, Hrvatska

² Hrvatski veterinarski institut, Centar za peradarstvo, Zagreb, Hrvatska

³ Institut za eksperimentalnu i translacijsku onkologiju, Zagreb, Hrvatska

⁴ Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno biotehnološki fakultet, Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo, Zagreb, Hrvatska

Sažetak

Nastavljeno je istraživanje povoljnog učinka dodatka 0,5% aluvijalnog depozitnog nanosa holocenskog minerala (ADNEM) u krmu tovnih pilića, ali na način kojim bi se spoznalo optimalno razdoblje tova za njegovu primjenu s obzirom na proizvodni uspjeh i tvorbu kolagena u prsnom mišićju. Preliminarnim ograničenim istraživanjem postignut je bolji učinak dodatka 0,5% negoli 1,0% ADNEM-a. Zato je u ovom mikropokusu ADNEM dodavan skupinama pilića bilo u početnu, završnu I. odnosno završnu II. smjesu u količini od 0,5% te su bilježeni pokazatelji uspješnosti tova. Dvije usporedne skupine pilića jele su ADNEM (0,5%) tijekom cijelog razdoblja tova odnosno uopće ga nisu jele. Pokazalo se da je ADNEM dodan u prvih 11 dana tova jednako učinkovit kao i onaj koji se davao tijekom svih 35 dana tova. Tvorba kolagena u utovljenih pilića dviju kontrolnih skupina bila je veća kod skupine koja je neprestano jela hranu s dodanim 0,5% ADNEM-a. S obzirom na relativno malen broj pretraženih uzoraka mišićja ovaj se rezultat ne može nužno pripisati povećanoj tvorbi kolagena, već i drugim čimbenicima, ponajprije mineralnom sastavu ADNEM-a, ali i dobi pilića. Uspjeh makropokusa u farmskom tovu pilića potvrdio je zapažanja u oba preliminarna pokusa. Pilići koji su jeli dodani ADNEM (34.900 pilića) postigli su europski indeks učinkovitosti (EPEF) 342, a oni koji ga nisu jeli 327, što je za 15 indeksnih jedinica manje. Također u dobi četiri tjedna tjelesna masa im je bila 1555 g prema 1438 g, što ukazuje na mogućnost skraćivanja tova ako se u krmnu smjesu primiješa 0,5% ADNEM-a. Najznačajnije je zapažanje uspješnosti mehaničkog odvajanja prsnog mišićja, koja je u pilića s dodanim ADNEM-om bila potpuna, dok je usporedno u pilića bez dodanog ADNEM-a u krmnu smjesu približno 2% mišića bilo gnjecavo i neiskoristivo za stavljanje na tržište kao file. Potreban je nastavak istraživanja kako bi se razjasnili čimbenici koji dovode do poboljšanja proizvodne uspješnosti tova pilića uz primjenu ADNEM-a.

Ključne riječi: tovni pilići, aluvijalni depozitni nanos erodiranih minerala, krmna smjesa, kolagen

Uvod

Glavnina holocenskih aluvijalnih mineralnih pijesaka (HAMP) zbog svojeg neutralnog djelovanja korištena je uglavnom u usporednim istraživanjima učinka mineralnih dodataka krmnim smjesama. Kao negativne kontrole uspoređeni su s nekim zeolitima te nisu imali učinka na zdravlje ili proizvodna svojstva kokoši nesilica (Olver, 1997.). Tek su u posljednjih nekoliko godina privukli značajniju pozornost istraživača, ali i praktičara s obzirom na očitovane učinke što su vezani uz različitost njihova kemijskog sastava

odnosno geografskog područja iz kojeg su potekli. Primijenjeni kao dodatak stočnoj hrani, napose peradi, tovnih pilića i kokoši nesilica očitovali su različite povoljne učinke. Sažeto, ti se povoljni učinci odnose općenito na zdravlje i proizvodna svojstva tovnih pilića (Trkulja, 2012., Janječić i sur., 2017.), bolju aktivnost imunostanog sustava očitovanu poboljšanjem uspjeha cijepljenja protiv newcastleske bolesti (Vidović, 2011.) odnosno Marekove bolesti (Kokić, 2012.). Također, ublažili su i tzv. sindrom crnih kostiju (Lyon i sur., 1976.). Spektar različitosti učinaka mogao se je pripisati razlikama u kemijskom sastavu tih pijesaka, što je neposredno

povezano s njihovim već spomenutim određenim geografskim podrijetlom.

Porječje rijeke Drave, s obzirom na geološke različitosti kojim se njen sliv prostire moglo je tako sadržavati holocenske aluvijalne minerale za koje se zna da imaju neki biološki učinak. Potvrdila je to analiza pijeska s lokacije Okrugljača u blizini grada Virovitice, koja je obavljena u Hrvatskom geološkom institutu, Zavodu za mineralne sirovine, Zagreb, Sachsova 2. i u cijelosti opisana u prethodnim istraživanjima (Janječić i sur., 2017.). S obzirom na to da se radi o aluvijalnom depozitnom nanosu erodiranih minerala, ovaj je pijesak nazvan akronimom ADNEM i kao takav registriran pa mu je izdana uporabna dozvola od strane relevantnih institucija.

Nađeno je ukupno 10 mineralnih oksida odnosno 52 elementa. Najviše je SiO_2 (88,71%), a zatim AlO_3 (5,37%). Od esencijalnih elemenata za perad tu se nalaze kalcij, natrij, fosfor i klor, a od mikroelemenata mangan, željezo, bakar, cink, jod, molibden, krom i selen (Klassing i Barnes, 1988.). Moguća esencijalna uloga drugih mikroelemenata nije još dovoljno istražena, što se odnosi na bor, arsen, fluor, nikal, rubidij, vanadij i još neke rijetke minerale. Nađene količine moguće toksičnih mikroelemenata manje su od dopuštenih (NRC, 2005.). Thirulogachandar i sur. (2014) te Suganya i sur. (2016.) opisuju toksičnost nekih minerala za perad, naročito metala od kojih su neki izrazito toksični i za ljude. Zato treba voditi računa o njihovim količinama u hrani kako ne bi štetno djelovali na perad, ali i na konzumenta proizvoda od peradi (meso, jaja, prerađevine). U tom smislu najznačajniji su olovo, arsen, kadmij, vanadij, živa, cink i bakar.

Za ADNEM je dokazano povoljno djelovanje na zdravlje i proizvodna svojstva tovnih pilića (Janječić i sur., 2017.). Primiješan krmnim smjesama za tov pilića (početna, završna I. i završna II.) u količinama 0,5% odnosno 1,0% očitovao je povoljne učinke i to napose dodanih 0,5%. Proizvodni uspjeh izražen europskim faktorom učinkovitosti proizvodnje (EPEF, *European Production Efficacy Factor*) (Marcu i sur., 2013.) u kontrolnih pilića koji nisu jeli dodani ADNEM iznosio je 398,49 (35. dana tova) odnosno 362,12 (42. dana tova), a u pokusnih 35. dana 395,27 te 449,89 (dodanih 0,5% ADNEM), a 42. dana 380,05 i 427,37 (dodanih 1,0% ADNEM). Iako su obje dodane količine ADNEM-a povoljno djelovale, dodanih 0,5% pokazalo se osobito značajnim (razlika od kontrole 42. dana tova iznosi 87,77 indeksnih jedinica). Trbušne masti u obje pokusne skupine bilo je manje u odnosu na kontrolnu kojoj hranom nije primiješan ADNEM.

Treba naglasiti da masa netom izleženih pilića nije u korelaciji s masom utovljenih pilića, nego s njihovom masom u dobi sedam dana (Decuyper, 1979; Tona i sur., 2003; Tona i sur., 2005.; Michalcuk i sur., 2011.). Zbog toga je treba uzeti u obzir u predviđanju konačne mase pilića i kao dokaz kvalitete jednodnevnih pilića (Deeming, 1995; Tona i sur., 2003.).

Zbog povoljnih rezultata primjene ADNEM-a u pokusnim uvjetima (Janječić i sur., 2017.) u mikropokusu istražen je

mogući učinak dodatka ADNEM-a u krmnoj smjesi na količinu aminokiseline hidroksiprolin u prsnom mišićnom tkivu tovnih pilića. Ova je aminokiselina sadržana u kolagenu koji je pak jedan od najznačajnijih pokazatelja nježnosti mesa. Kao najzastupljenija bjelancevina u organizmu kolagen čini glavninu vezivnog tkiva (Hultin, 1985.; Bechtel, 1986.). Jedinstvene je strukture prilagođene prvenstveno otporu istezanja. Kolagensku nit čine tri polipeptidna lanca (tropokolagen). Njihova stabilnost određena je ionskim i hidrofobnim međudjelovanjem (Pearson i Young, 1989.). Vezivno tkivo mišićja, međutim, ne igra glavnu ulogu u mekoći mišićja mlađe peradi (pilića dobi 6-8 tjedana), jer križne veze kolagenih vlakana još nisu oblikovane pa zato kolagen hidrolizira kuhanjem (meso postaje mekše). Porastom dobi životinje povećava se čvrstoća mesa koja se termičkom obradom u odrasle više ne smanjuje.

Različitost uspjeha primjene ADNEM-a s obzirom na dob tovnih pilića potakla nas je na nastavak istraživanja kojima se nastojalo utvrditi u kojem razdoblju tova pilića primiješani ADNEM djeluje najpovoljnije ne samo na proizvodna svojstva, nego posebice na kakvoću mesa odnosno njegovu nježnost. Zato se je dio istraživanja odnosio i na primjenu ADNEM-a na način da je dodavan u različitoj fazi tova u krmnu smjesu (početnu, završnu I. odnosno završnu II.). Tako se nastojalo utvrditi kada je optimalno dodavati ga s obzirom na očekivani učinak, tj. na optimalnu količinu kolagena (hidroksiprolina) u mišićju te njihovu nježnost. Njegova količina mogla bi biti i pokazatelj očekivane tehnološke uspješnosti otkoštavanja mišićja (napose osobito vrijednog prsnog, *mm. pectorales*) pri mehaničkoj klaoničkoj obradi trupova pilića. Treba naglasiti da na uspjeh mehaničke obrade trupova značajno utječe i razvoj mrtvačke ukočenosti mesa (*rigor mortis*) pa ono postaje čvršće i podložnije toj obradi. U tom smislu i veličina pilića (trajanje i način tova) imat će značajnu ulogu (Cavitt i sur., 2001.; Dawson i sur., 1987.; Dodge i sur., 1959.).

Zasebno, ovaj je pripravak korišten i u makropokusu, tj. farmskom tovu pilića (farma tovnih pilića u Istri). Uz ocjenu uspješnosti tova, u ovih je pilića ocijenjeno i svojstvo strojnog odvajanja prsnog mišićja. Učinjeno je to posredno, subjektivnom procjenom postotka odbačaja prsnog mišićja nakon mehaničke obrade trupova, zapravo usporedbom skupina pilića koje nisu odnosno jesu dobivale ADNEM primiješan (0,5%) krmnoj smjesi.

Materijal i metode

Pilići u mikropokusu

Istraživanje je započeto s 200 netom izleženih pilića oba spola (tovni hibrid Ross) podrijetlom iz valionice „Valipile“, Sessvetski Kraljevec. Razvrstani su slučajnim izborom u pet pokusnih skupina te smješteni u 10 kaveza (po 20 pilića u svaki) nastambe za pokuse Zavoda za hranidbu životinja Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Prostor je pripremljen za prijam pilića prema standardima za njihov podni uzgoj, a očekivana im je tjelesna masa bila 33 kg/m² na kraju pokusa, koji je tako određen na 35 dana. Prostor je

grijan radijatorima i pomoću infracrvenih žarulja kako bi se stalno održavala optimalna temperatura prostora tijekom trajanja pokusa. Svi su pilići nakon vaganja smješteni na prostirku od drvnih strugotina debljine približno 10 cm, koja je prvih sedam dana prekrivena debljim papirom kako bi se spriječio rasap krme i jedenje stelje (opasnost od opstipacije).

Krmne smjese i hranidba pilića

U ovom pokusu je istraživao utjecaj dodatka 0,5% ADNEM-a u krmne smjese u različitom razdoblju tova pilića, što je temeljeno na rezultatima preliminarnih istraživanja u kojima se pokazala učinkovitijom negoli dodanih 1,0% (Janječić i sur., 2017.). Pet pokusnih skupina pilića u dva ponavljanja (ukupno 10 kaveza) je tijekom istraživanja jelo krmne smjese kako je prikazano u tablici 1.

Sve korištene krmne smjese izrađene su u TSH „Valipile“, Sesvetski Kraljevec, a iz već dostavljenih količina uzeti su uzorci za pretragu. Kemijski sastav (određen na Zavodu za hranidbu životinja Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu) prikazan je u tablici 2.

Pilići su prvih sedam dana jeli krmnu smjesu *ad libitum* iz okruglih plastičnih podnih hranilica, a zatim do kraja istraživanja iz pocinčanih okruglih visećih hranilica kapaciteta 10 kg. ADNEM je ručno primiješan u gotove krmne smjese u pokusnom prostoru. Pilići su prvih sedam dana pili iz okruglih pojilica kapaciteta 3 L, a zatim do kraja istraživanja iz visećih automatskih okruglih pojilica koje su podizane sukladno s porastom pilića. Na taj se način poticalo jačanje mišićja nogu, sprječavalo onečišćenje vode fecesom i pojava prsnih žuljeva (*bursitis praesternalis*), što umanjuje klaoničku vrijednost.

Tablica 1. Primijenjene krmne smjese tijekom tova pilića

Table 1. Broiler feed mixtures applied during fattening period

Pokusna skupina / Study group	A	B	C	D	K***
Krmna smjesa / Feed mixture	Primijenjen ADNEM (dana) / ADNEM admixed (days)				
Početna** / Initial**	(0-11)	S*	S	S	(0-11)
Završna I** / Final**	S	(12-28)	S	S	(12-28)
Završna II / Final **	S	S	(29-35)	S	(29-35)

*S – standardna krmna smjesa / standard feed mixture

**u smjesu primiješan kokcidostatik / coccidiostat admixed to feeding mixture

***u dobi od 2. do 6. dana u pitku vodu dodan antibiotik enrofloxacin (Enroxil® 10%) / antibiotic enrofloxacin (Enroxil® 10%) added to drinking water at the age of 2 to 6 days

Pilići A su dobivali ADNEM u prvih 11 dana / Group A received ADNEM in the first 11 days

Pilići B su dobivali ADNEM od 12. do 28. dana / Group B received ADNEM from day 12 to day 28

Pilići C su dobivali ADNEM od 29. do 35. dana / Group C received ADNEM from day 29 to day 35

Pilići D ne dobivaju ADNEM tijekom trajanja tova / Group D did not receive ADNEM during fattening period

Pilići K dobivaju ADNEM cijelo vrijeme tova, od 1. do 35. dana / Group K received ADNEM throughout fattening period, from day 1 to day 35

Tablica 2. Kemijski sastav krmnih smjesa korištenih u pokusu

Table 2. Chemical composition of feeding mixtures used in the experiment

Pokazatelj / Indicator	Jedinica / Unit	Početna / Initial	Završna I. / Final I	Završna II. / Final II
Vlaga / Moisture	g/kg	113	108	106
Pepeo / Ashes	g/kg	56	56	52
Sirovi protein / Raw protein	g/kg	224,8	202,4	181,1
Mast / Fat	g/kg	60	53	68
Sirova vlakna / Raw fiber	g/kg	17	15	19
Kalcij / Calcium	g/kg	10,3	10,0	9,7
Fosfor / Phosphorus	g/kg	6,5	6,4	5,8
Natrij / Sodium	g/kg	1,6	1,6	1,6
Šećer / Sugar	g/kg	390,6	395,8	411,2
Škrob / Starch	g/kg	50,0	53,9	54,2

Određivanje kolagena (hidroksiprolina) u prsnom mišićju

Uzorci prsnog mišićja (mm. *pectorales superficialis*) uzeti su na kraju pokusa u dobi pilića 35 dana i to jedino od muških jedinki. Do pretrage čuvani su u zamrzivaču pri -18 °C. Količina kolagena određena je posredno, određivanjem hidroksiprolina, prema normi HRN ISO 3496:1994 - Meso i mesni proizvodi (Anon.,1994.).

U metodu je uključena hidroliza testnog dijela uzorka sa 7 N sumporastom kiselinom pri 105 °C, nakon čega se uzorak filtrira, hidrolizat otapa, a hidroksiprolin oksidira uz kloramin-T i 4-dimetilbenzaldehyd. Postupak je opisao Kolar (1990.). Pri toj reakciji nastaje crveno obojeni *p*-dimetil-amino benzaldehyd, a intenzitet boje (količina hidroksiprolina) odredi se spektrofotometrijski pri valnoj dužini 558 nm. Količina ukupnog kolagena dobiva se množenjem postignutog nalaza faktorom 8.

*Makropokus – farmski tov pilića**Pokusna skupina*

ADNEM (0,5%) primiješan je u sve tri smjese (početna, završna I. i završna II.) za tov pilića smještenih u dvije nastambe moderne farme tovnih pilića u Istri (hale 4 i 5). U svaku nastambu useljeno je po 17.200 pilića izležanih u valionici Valipile d.o.o., Sesevski Kraljevec. Pilići u hali 4 bili su hibridi Cobb 500, podrijetlom od matičnog jata u dobi 34 tjedna. U hali 5 useljeni su pilići hibrida Ross 308 matičnog jata u dobi 27 tjedana. Tako je ADNEM primijenjen u krmnim smjesama kod ukupno 34.900 pilića.

Usporedna skupina

Usporednu skupinu činili su pilići kojima u krmnu smjesu nije primiješan ADNEM, smješteni na istoj farmi u hale 1, 2 i 3. Ukupno u sve tri nastambe smješteno je 50.300 jednodnevnih pilića, svi podrijetla matičnih jata hibrida Cobb 500 u dobi 29 tjedana, 17.000 pilića u hali 1 te također 17.000 pilića roditeljskog jata u dobi 28 tjedana. U hali 3 useljeno je 16.300 pilića matičnog jata u dobi 60 tjedana.

U obje skupine pilića korištena je istovjetna krmna smjesa proizvedena u TSH „Valipile“, Sesevski Kraljevec. Njen sastav opisan je u mikropokusu s razlikom što je za farmski uzgoj pilića ADNEM (0,5%) primiješan još u TSH „Valipile“, Sesevski Kraljevec.

Tov pilića u svih pet hala trajao je 35 dana te započeo u razdoblju od 20.2.-2.3. 2017. godine, što je značilo i približno istovjetne makroklimatske pa zato i istovjetne mikroklimatske uvjete u svih pet nastambi pilića.

Istraživanje je provedeno u skladu s Pravilnikom o zaštiti životinja koje se koriste u pokusima ili u druge znanstvene svrhe (NN 55/2013) koji je izdalo Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske, a koji je u skladu s legislativom Europske Unije.

Rezultati*Rezultati mikropokusa*

Tjelesne mase pilića (g), konverziju krmne smjese (kg/kg) te uginuće (apsolutni broj) tijekom 35 dana pokusa i prema pokusnim skupinama prikazujemo u tablici 3.

Najveći prirast do 27. dana života postigli su pilići skupine D (1762,56 g) kojima ADNEM uopće nije dodan u krmnu smjesu. Slično, u dobi 35 dana također najteži su pilići skupine D. Pilići koji su stalno jeli u krmnoj smjesi primiješani ADNEM (skupina K) lakši su od pilića skupine K za 1,84 grama. Značajan je, međutim, i prirast što su ga pilići pojedinih skupina ostvarili u razdoblju od 27. do 35. dana tova. Važno je to zbog uobičajene tjelesne mase pilića što se stavljaju na tržište. Oni lakši, „grill“, tove se do postizanja približno 1,5-1,8 kg žive vage i gospodarski su najisplativiji. Teži pilići tove se do 35 ili više dana, također ovisno o zahtjevu tržišta. Zbog navedenog zasebnom tablicom (tablica 3a.) prikazujemo ostvarene tjelesne mase pilića u razdoblju tova 27-35 dana. One upućuju na brzinu prirasta u tom razdoblju tova i odrednica su kojom bi se trebali rukovoditi proizvođači tovnih pilića.

Tablica 3. Kinetika prirasta (g), konverzija hrane (kg/kg) te uginuće* pilića tijekom mikropokusa**Table 3. Weight gain kinetics (g), feed conversion (kg/kg) and broiler deaths* during micro-experiment**

Dob pilića / Broiler age	A	B	C	D	K
1. dan / Day 1	48,70	48,48	47,00	49,28	48,33
11. dan / Day 11	366,10	367,63	367,67	375,30	359,28
27. dan / Day 27	1757,63	1725,26	1749,36	1762,56	1709,50
35. dan / Day 35	2602,63	2614,47	2564,47	2630,79	2628,95
Konverzija krmne smjese / Feed conversion	1,45	1,45	1,46	1,47	1,48
Uginuće 1.-35. dana / Deaths day 1-35	2	2	2	2	2

*od 1. do 27. dana po jedno pile uginulo u skupinama A, C i D, dva u skupini B / from day 1 to day 27, one death per group recorded in groups A, C and D, and two deaths in group B

*od 28. do 35. dana po jedno pile uginulo u skupinama A, C i D te dva u skupini K / from day 28 to day 35, one death per group recorded in groups A, C and D, and two deaths in group K

Tablica 3a. Postignuta tjelesna masa pilića 27. odnosno 35. dana tova i razlika ostvarenog prirasta (g)
Table 3a. Broiler body mass achieved on days 27 and 35 of fattening period and weight gain difference (g)

Pokusna skupina pilića / Study group	A	B	C	D	K
Tjelesna masa 27. dana / Body mass on day 27	1757,63	1725,26	1749,36	1762,56	1709,50
Tjelesna masa 35. dana / Body mass on day 35	2602,63	2614,47	2564,47	2630,79	2628,95
Prirast od 27. do 35. dana (g) Weight gain from day 27 to day 35 (g)	845,00	889,21	815,11	898,23	919,45
Prirast od 27. do 35. dana (%) Weight gain from day 27 to day 35 (%)	21,99	23,35	20,90	23,63	24,17

Najveći prirast tijekom završne faze tova postigli su pilići skupine K koji dobivaju ADNEM tijekom čitavog trajanja pokusa, od 1. do 35. dana, a razlika u postignutoj tjelesnoj masi u odnosu na piliće koji nisu dobivali ADNEM iznosi 21,22 grama. Između pilića koji ne jedu (D) i jedu (K) ADNEM najznačajnija je razlika i u relativnom prirastu te iznosi 23,63% prema 24,17%. Relativno najmanji prirast u toj fazi tova (20,90%) ostvarili su pilići koji su jeli dodani ADNEM jedino u posljednjoj fazi tova (završna II. smjesa)

Iz postignutih rezultata tova pilića pojedinih skupina izračunat je i europski indeks učinkovitosti (EPEF) prema niže navedenoj jednadžbi (Marcu i sur., 2013.), i to za razdoblja tova od 1. do 27. odnosno 35 dana tova. Učinjeno je to zbog tova pilića često kraćeg od 35 dana, što je uvjetovano genetskim svojstvima uzgajanog hibrida pilića, njihovom hranidbom te zahtjevima tržišta.

Rezultate prikazujemo u tablici 5.

$$\text{EPEF} = \frac{\text{Preživjeli pilići (x)} \times \text{Postignuta tjelesna masa (kg)}}{\text{Dob (dani)} \times \text{Konverzija krmne smjese \left(\frac{\text{kg}}{\text{kg}}\right)}} \times 100$$

Tablica 4. Konverzija krmne smjese pilića pokusnih skupina (kg/kg)
Table 4. Feed conversion according to broiler groups (kg/kg)

Pokusna skupina / Study group	A	B	C	D	K
11. dan / Day 11	1,14	1,12	1,14	1,13	1,13
27. dan / Day 27	1,45	1,49	1,43	1,45	1,46
35. dan / Day 35	1,77	1,73	1,82	1,84	1,86
1.- 35. dan / Day 1-35	1,45	1,45	1,46	1,47	1,48

Pilići A su dobivali ADNEM u prvih 11 dana / Group A received ADNEM in the first 11 days

Pilići B su dobivali ADNEM od 12. do 28. dana / Group B received ADNEM from day 12 to day 28

Pilići C su dobivali ADNEM od 29. do 35. dana / Group C received ADNEM from day 29 to day 35

Pilići D ne dobivaju ADNEM tijekom trajanja tova / Group D did not receive ADNEM during fattening period

Pilići K dobivaju ADNEM tijekom trajanja, od 1. do 35. dana / Group K received ADNEM throughout fattening period, from day 1 to day 35

Tablica 5. Europski indeks učinkovitosti (EPEF) u tovnih pilića kojima je u hranu primiješan 0,5% ADNEM u različitoj fazi tova
Table 5. European Production Efficiency Factor (EPEF) in broilers with ADNEM 0.5% admixed to feed

Pokusna skupina / Study group	A	B	C	D	K
EPEF od 1. do 27. dana tova / EPEF, fattening day 1-day 27	427,1	387,0	430,6	427,1	433,8
EPEF od 1. do 35. dana tova / EPEF, fattening day 1-day 35	461,1	454,0	450,9	460,1	457,0

Pilići A su dobivali ADNEM u prvih 11 dana / Group A received ADNEM in the first 11 days

Pilići B su dobivali ADNEM od 12. do 28. dana / Group B received ADNEM from day 12 to day 28

Pilići C su dobivali ADNEM od 29. do 35. dana / Group C received ADNEM from day 29 to day 35

Pilići D ne dobivaju ADNEM tijekom trajanja tova / Group D did not receive ADNEM during fattening period

Pilići K dobivaju ADNEM tijekom trajanja, od 1. do 35. dana / Group K received ADNEM throughout fattening period, from day 1 to day 35

Očividno, do dobi 27 dana najviši EPEF (433,8) postigli su pilići skupine K koji su stalno jeli hranu s dodanih 0,5% ADNEM-a. Međutim, pilići koji su ga jeli samo u prvih 11 dana života (skupina A) postigli su općenito najviši EPEF (461,1).

Nalaz hidroksiprolina* (kolagena) u prsnom mišićju pilića pokusnih skupina (35. dan tova) prikazujemo u tablici 6.

U odnosu na sve pokusne skupine, najviše je kolagena nađeno u prsnom mišićju pilića kojima ADNEM nije primiješan u hranu tijekom trajanja tova (1-35 dana). Manje ga je u pilića skupine K kojima je ADNEM primiješan u hranu tijekom 35 dana, gdje mu količina varira od najmanje 0,3416 do 0,6112. Ovo je razumljivo s obzirom na mali broj pretraženih uzoraka (svega pet).

Rezultat tova pilića na farmi

Kod tova pilića na farmi u cijelosti je poštivan temeljni princip farmskog uzgoja peradi „sve unutra – sve van“, uz istovjetnu osnovnu hranidbu i mikroklimatske uvjete pa se razlike u postignutim rezultatima mogu pripisati isključivo primjeni 0,5% ADNEM-a. Doduše, valja pripomenuti da su pilići podrijetla različitih tovnih hibrida kokoši koji su se razlikovali u dobi.

Broj i tjelesna masa (g) te uginuće (%) pilića tovljenih s dodanih 0,5 ADNEM-a u krmnu smjesu ili bez njega (farmski uzgoj) prikazujemo u tablici 7.

Tablica 8. prikazuje skupne rezultate (tjelesnu masu) pilića u peradnjacima gdje su s krmom dobivali ADNEM i usporedno s pilićima koji ga nisu jeli.

Tablica 6. Nalaz hidroksiprolina* (kolagena) u prsnom mišićju pilića pokusnih skupina (35. dan tova)

Table 6. Hydroxyproline* (collagen) finding in broiler breast muscles (fattening day 35)

Pokusna skupina pilića / Study group	K**	K	K	K	K	D***
Nalaz kolagena (%) / Collagen finding (%)	0,6112	0,3416	0,4264	0,4552	0,4328	0,684

*aminokiselina zastupljena s 12,5% u kolagenu / *12.5% of amino acid present in collagen

**K – Pilićima u hrani primiješan ADNEM tijekom trajanja tova / **K – ADNEM admixed to broiler feed during fattening period

***D – Pilićima u hranu nije primiješan ADNEM tijekom trajanja tova / ***D – ADNEM admixed to broiler feed throughout fattening period

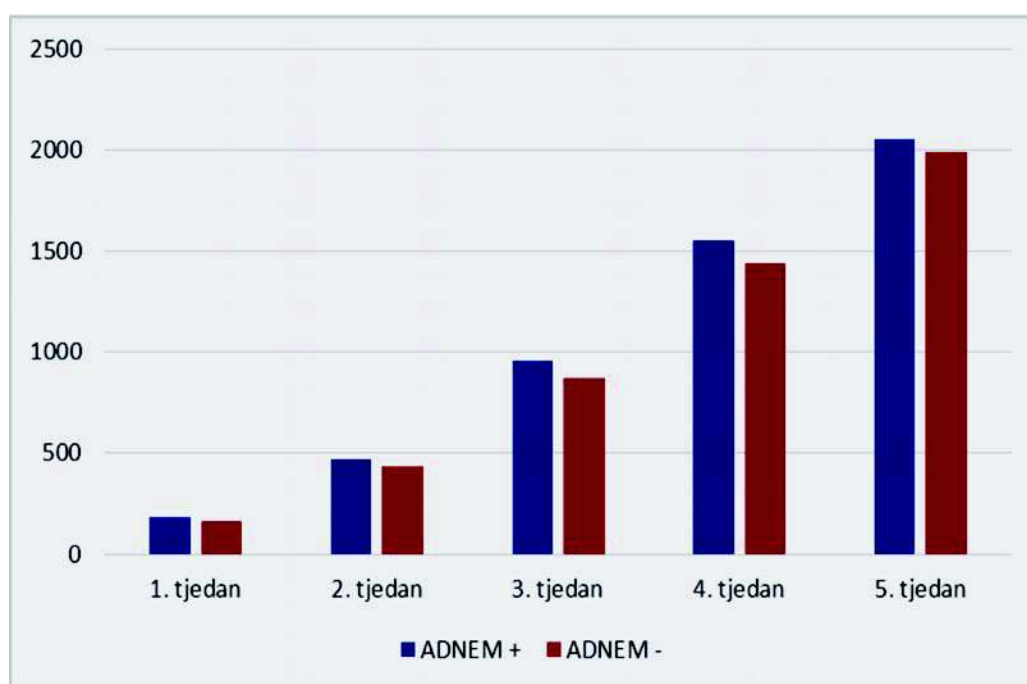
Tablica 7. Broj i tjelesna masa (g) te uginuće (%) pilića tovljenih sa ili bez dodanih 0,5% ADNEM-au krmnu smjesu (farmski uzgoj)

Table 7. Number, body mass (g) and deaths (%) of broilers fattened with or without 0.5% ADNEM added to feeding mixture (farm breeding)

Hibrid i dob roditelja pilića (tj.) Hybrid and parental age (wks)	Hala i broj useljenih pilića Barn and number of broilers	1. tjedan Week 1	2. tjedan Week 2	3. tjedan Week 3	4. tjedan Week 4	5. tjedan Week 5	Ukupno uginuće (%) Total deaths (%)	Očekivana tjelesna masa (g) Expected body mass (g)	Ostvarena tjelesna masa (g) Achieved body mass (g)
Cobb 500 (29)	I. 17.000	146	432	871	1457	2020	0,32	2000	2020
Cobb 500 (28)	II. 17.000	152	427	847	1368	1940	0,29	2000	1940
Cobb 500 (60)	III. 16.300	178	432	887	1490	2020	0,51	2000	2020
Ukupno ili Ø (hale I., II. i III.) bez ADNEM-a / Total or Ø (barns I, II and III without ADNEM)	50.300	158,7	430,3	868,3	1438	1993	0,37	2000	1993
Cobb 500 (34)	IV. 17.200	192	470	934	1520	2070	0,22	2000	2070
Ross 308 (27)	V. 17.700	173	462	977	1590	2040	0,58	2000	2040
Ukupno ili Ø (hale IV i V) dodan ADNEM Total or Ø (barns IV and V) - ADNEM added	34.900	182,5	466	955,5	1555	2055	0,40	2000	2055,0

Tablica 8. Usporedba dinamike rasta tovnih pilića farmskog uzgoja kojima je u hranu dodan ADNEM i kontrola koje ga nisu jele (g)
Table 8. Comparison of farm broiler growth dynamics with and without ADNEM added (g)

1. tjedan / Week 1	2. tjedan / Week 2	3. tjedan / Week 3	4. tjedan / Week 4	5. tjedan / Week 5
(ADNEM+)	(ADNEM+)	(ADNEM+)	(ADNEM+)	(ADNEM+)
173+192 = Ø 182,5	462+470 = Ø 466,0	977+934 = Ø 955,5	1590+1520 = Ø 1555,5	2040+2070 = Ø 2055,0
(ADNEM-)	(ADNEM-)	(ADNEM-)	(ADNEM-)	(ADNEM-)
178+152+146 = Ø 158,7	432+427+432 = Ø 430,3	887+847+871 = Ø 868,3	1490+1368+1457= Ø 1438,0	2020+1940+2020= Ø 1993,0


Slika 1. Prosječna dinamika rasta pilića koji su jeli ADNEM dodan u krmnoj smjesi u odnosu na piliće koji ga nisu jeli
Figure 1. Average growth dynamics in broilers receiving ADNEM added to feed versus those that did not receive ADNEM

Počevši od prvog tjedna tova pa sve do njegova kraja u dobi 35 dana pilići koji su jeli ADNEM bili su teži. No ta razlika nije se linearno povećavala, već je relativno najmanja. Treba naglasiti da je masa pilića nakon sedam dana tova u skupini koja je jela ADNEM bila za 23,8 grama veća (182,5 g prema 158,7 g), što je bila naznaka predviđanja veće konačne mase utovljenih pilića.

Iz postignutih rezultata tova pilića obiju skupina izračunati su i EPEF te oni u dobi 35 dana za skupinu koja je jela dodanih 0,5% ADNEM-a u krmi iznosi 342, a onih usporednih 327, što čini značajnu razliku od 15 indeksnih jedinica.

Slika 1. prikazuje prosječnu dinamiku rasta pilića koji su jeli ADNEM dodan u krmnoj smjesi u odnosu na piliće koji ga nisu jeli.

Rasprava i zaključci

Uspješnost industrijskog tova pilića određena je mnoštvom čimbenika, prvenstveno genetskim svojstvima hibrida, primijenjenom tehnologijom uzgoja, ipak u najznačajnijoj mjeri hranidbom te konačno i određenom svrhom tova koja može biti naznačena različitim ciljem. Uz navedeno, na uspjeh tova pilića značajno utječe zdravlje roditeljskog jata, masa rasplodnih jaja, masa netom izleženih pilića te naročito ona postignuta u sedmom danu tova (Decuyper, 1979; Tona i sur., 2003., Tona i sur., 2005.; Michalczuk i sur., 2011.). Michalczuk i sur. (2011.) istražili su učinak tjelesne mase netom izleženih pilića (Ross 308) na njihovo svojstvo tovnosti te utvrdili da je ono u negativnoj korelaciji s brzinom tova (rasta) pilića, osobito pri kraćem tovu, ali se u

produženom ta razlika gubi. Slično, Iqbal i sur. (2017.) zaključili su da masa jaja pozitivno utječe na kakvoću pilića, njihovu masu i duljinu trupa, ali ne i na konačnu tjelesnu masu, konverziju hrane i uginuće. Porastom dobi pilića ove se razlike smanjuju (Meijerhof, 2006.).

Kombinacijom kakvoće hranidbe i napose trajanjem tova te primijenjenim načinom mogu se postići željeni ciljevi koje u konačnici određuju konzumenti odnosno tržište. Stremljenja općenito su postizanje što je moguće veće tjelesne mase utovljenih pilića u što kraćem vremenu, no to istodobno isključuje mogućnost postizanja najkvalitetnijeg mesa s obzirom na teksturu i brojna organoleptička svojstva („zrelost“, mekoća, okus, boja). Zrelost se postiže dugotrajnijim tovom, također boja i okus, a mekoća skraćivanjem tova. Naime, kratkim tovom ne postiže se dovoljna tvorba kolagena pa je meso često premekano, a zato i nepodobno za mehaničku obradu (strojno odvajanje najvrjednijeg prsnog mišićja).

Opisane nedostatke kraćeg tova nastoji se ublažiti ili u cijelosti ukloniti odgovarajućom hranidbom koja bi trebala u vrlo kratkom vremenu osigurati dovoljnu brzinu rasta pilića, a istodobno omogućiti razvoj mišićja. Zato se u krmne smjese dodaju različiti pripravci, uglavnom mineralne mješavine, prirodnih izvora ili unaprijed određenog i priređenog sastava.

U preliminarnim istraživanjima (Janječić i sur., 2017.) upravo se je prirodnom mješavinom različitih minerala i mikroelemenata aluvijalnog podrijetla (ADNEM) dodanoj krmnoj smjesi tovnih pilića u količini 0,5% postigao vrlo povoljan uspjeh njihova tova. Rezultat opisanog makropokusa u cijelosti je potvrdio opravdanost primjene ADNEM-a na farmi tovnih pilića (tablica 8.). Postignuti rezultat tova značajno premašuje skupina pilića koja je jela ADNEM dodan u krmnu smjesu.

Uz navedeno, na uspjeh tova pilića značajno utječe zdravlje roditeljskog jata, masa rasplodnih jaja te masa netom izleženih pilića (Meijerhof, 2006., Mendes i sur., 2007., Wolanski i sur., 2007.). Dob roditeljskog jata također utječe na masu rasplodnih jaja pa tako posredno i na masu izleženih pilića, koja se općenito najčešće koristi kao pokazatelj kvalitete netom izleženih pilića (Decuypere i sur., 2002.).

Rezultati mikropokusa poslužili su za ocjenu opravdanosti primjene ADNEM-a u različitim fazama tova (početna, završna I. te II. krmna smjesa). U tih je pilića određena i količina hidroksiprolina (kolagena) kojom bi se mogli protumačiti rezultati makropokusa primjene ADNEM-a u farmerskom uzgoju pilića, odnosno klaonički uspjeh pri strojnom odvajanju prsnog mišićja. Svi pilići korišteni u pokusu bili su približno istovjetnih početnih tjelesnih masa. Ipak valja naglasiti da su pilići skupine D koji nisu jeli dodani ADNEM u krmnoj smjesi bili za 2,28 grama teži od pilića skupine C koji su jeli dodani ADNEM u dobi 20-35 dana. U tih je pilića ostvaren i najbrži prirast tijekom tova (tablica 3.). Spomenuta početna veća tjelesna masa sigurno je povoljno utjecala na brzinu rasta, kako to naglašavaju Michalczuk i sur. (2011.). Time se doduše mogu tumačiti postignuti prirasti do 27. dana tova (1762,56 g), ali ne i nakon toga, kako to ovi autori navode, jer se učinak tjelesne

mase pri leženju pilića gubi nakon četiri tjedna tova. Razliku u postignutom prirastu tjelesne mase pilića dobi od 27 do 35 dana zato treba pripisati dodanom ADNEM-u, a ta je najveća u pilića skupine K koja je jela ADNEM pridodan krmu u završnoj II. smjesi (tablica 3a.). U odnosu na skupinu D (898,23 g, bez ADNEM-a) ostvareni prirast pilića skupine K je 919,45 grama. Konverzija krmne smjese gotovo je istovjetna u pilića svih skupina i statistički se ne razlikuje. Tek je za 10 dag veća u skupini K (1,48 kg) u odnosu na skupinu D (1,47 kg).

Ova razlika, međutim, nije imala učinka na konačni uspjeh tova pilića skupina D odnosno K u dobi do 27 odnosno 35 dana. Izračunati EPEF (Marcu i sur., 2013.) prikazan u tablici 5. ukazuje na različitost uspješnosti tova pilića u pokusu s obzirom na razdoblje tova u kojem je krmu primiješan ADNEM. Do dobi 27 dana najuspješniji je tov pilića kojima je ADNEM dodavan tijekom cijelog trajanja tova (u sve tri krmne smjese) te iznosi 433,8 indeksnih jedinica. Međutim, pilići kojima je ADNEM davan u početnoj smjesi (prvih 11 dana života) postižu u dobi 35 dana najpovoljniji EPEF, što iznosi 461,1 indeksnih jedinica te je za 4,1 jedinicu veći od pilića koji stalno jedu primiješani ADNEM. Ovaj se rezultat može pripisati učinku ADNEM-a za koji je (doduše *in vitro*) dokazano da potiče tvorbu interferona (Šooš i sur., 2015., Filipič i sur., 2016.). Tim se učinkom može tumačiti općenito dobro zdravlje pilića u pokusu, koje je već opisano u preliminarnim istraživanjima (Janječić i sur., 2017.). Treba naglasiti da se pokusni uvjeti uvijek razlikuju od onih farmerskih te su i postignute vrijednosti EPEF više.

Uspješnost tova pilića farmerskog uzgoja dviju skupina od kojih je jedna jela u krmnu smjesu primiješan ADNEM (34.900 pilića smještenih u tri nastambe), a druga usporedna (50.300 pilića) bez dodanog ADNEM-a prikazana je tablicom 5.

Prosječno najveću tjelesnu masu jednako u dobi četiri i pet tjedana postigli su pilići kojima je u hranu primiješan ADNEM (1555 g i 2055 g). Postignuto uginuće u obje skupine pilića bilo je značajno manje od 1,00% (0,40%), što je zanemarivo i upućuje na općenito visok standard uzgoja pilića. Skupni rezultat za ove dvije skupine pilića prikazan tablicom 6. jasno ukazuje na uspješnost primjene ADNEM-a. Primiješanim ADNEM-om već u četvrtom tjednu tova pilići postižu prosječno 1555,5 g tjelesne mase u usporedbi sa skupinom bez dodanog ADNEM-a koja je za 175 g lakša (1438,0 g).

Ostvareni rezultat na kraju tova u dobi 35 dana još je značajniji kad pilići koji su jeli ADNEM postižu 2055,0 g, a oni koji ga nisu jeli 1993,0 grama, što je za 620 grama manje.

Upravo na ovom mjestu treba spomenuti rezultat određivanja količine kolagena (hidroksiprolina) u prsnom mišićju muških pilića u mikropokusu (Bonifer i Froning, 1996.), zakonski propisanim postupkom (Anon., 1994.). Tablicom 4. prikazani su rezultati analize prsnog mišićja (*mm. pectorales*), kojim bi se trebala opravdati svrha istraživanja. Naime, u pilića koji su jeli dodani ADNEM (0,5%) strojno odvajanje prsnog mišićja bilo je u cijelosti uspješno, dok je u skupini koja ga nije jela približno 2% ostalo oštećeno

(„filetirkom“) i tako izgubilo tržišnu vrijednost koju postiže prsni file. Na temelju dobivenih rezultata određivanja udjela kolagena ne može se tvrditi da je dodatak ADNEM-a imao utjecaj na udjel kolagena, već bi se to trebalo utvrditi sljedećim istraživanjem.

U odnosu na sve pokusne skupine, najviše je kolagena nađeno u prsnom mišićju pilića kojima ADNEM nije primiješan u hranu. Manje ga je u pilića skupine K kojima je ADNEM primiješan u hranu tijekom cijelog trajanja tova (1-35 dana), gdje mu količina varira od najmanje 0,3416 do 0,6112. Ovo je razumljivo s obzirom na mali broj pretraženih uzoraka (svega pet). Medić i sur. (2010.) istražili su moguće djelovanje holocenskih minerala (MHM) na kakvoću mesa tovnih pilića dajući ih u hrani u količini od 0,5%, 1,0%, 1,5% i 2,0%. Dokazali su da primijenjene količine ne djeluju štetno, ali nemaju utjecaja na kakvoću mesa. U kontekstu naših istraživanja valja naglasiti da je ADNEM u odnosu na MHM što su ga spomenuti istraživači koristili (Anon., 2008.) različitog i kompleksnijeg kemijskog sastava.

Najveći prirast tijekom završnog dijela tova od 27. do 35. dana ostvarili su pilići koji su jeli ADNEM stalno primiješan u krmnu smjesu, što je razvidno iz mikropokusa. U farmskom pak uzgoju, pilići koji su jeli ADNEM ostvarili su već nakon sedam dana tova značajno veću tjelesnu masu, za 23,8 grama veća (182,5 g prema 158,7 g), što je bio pokazatelj postizanja veće tjelesne mase na kraju tova (Michalcuk i sur., 2011.). Pri kraju tova, već u dobi 28 dana, pilići koji su jeli ADNEM postigli su tjelesnu masu (1555 g) koja se može neposredno iskoristiti za proizvodnju „grill“ pilića, dok se to ne može reći za piliće koji ga nisu jeli (1438 g).

Zaključno možemo spomenuti da je ADNEM u cijelosti opravdao primjenu u tovu pilića, a vrijeme primjene u krmnoj smjesi mora biti određeno s obzirom na namjeru tova, bilo kratkotrajni ili produženi.

Konačno treba ustvrditi da ADNEM dodan u količini 0,5% u krmnu smjesu tovnih pilića ne dovodi do porasta količine kolagena u prsnom mišićju pri duljem tovu (35 dana), ali rezultat mikropokusa ne može biti zaključan s obzirom na relativno mali broj pretraženih uzoraka i pokusnih skupina.

Uz uspješniji tov pilića ADNEM ima i važnu gospodarsku vrijednost, jer smanjuje gubitke (približno 2%) koji nastaju pri standardnom mehaničkom odvajanju prsnog mišićja.

Zahvala

Istraživanja je dijelom omogućilo Valipile d.d., Ive Politea 62, 10361 Sesvetski Kraljevec. Također je potporu istraživanju dala šljunčara Atika d.o.o., Fra F. Pintarića 4, 33000 Virovitica.

Literatura

- ANON. (1994): Norma HRN ISO 3496:1994 standard. Meso i mesni proizvodi. Određivanje količine hidroksiprolina.
- ANON. (2008): Declaration, concerning common approaches to water management, flood protection, hydropower utilization and nature and biodiversity conservation in the Drava River

- basin. Symposium “Drava River Vision“, 23 to 25 September 2008., Maribor, Slovenia.
- BECHTEL, P. J. (1986): Muscle development and contractile proteins. In: Bechtel PJ, ed., Muscle as Food. New York: Academic Press, pp. 1-35.
- BONIFER, L. J., G. W. FRONING (1996): Chicken skin composition as affected by aqueous washings. J. Food Sci., 61, 895-898.
- CAVIT, L. C., C. M. OWENS, J. F. MEULLENET, R. K. GANDHAPUNENI, G. W. YOUIM (2001): Rigor development and meat quality of large and small broilers and the use of Allo-Kramere shear, needle puncture, and razor blade shear to measure texture. Poult. Sci., 80, 138 (Suppl. 1).
- DAWSON, P. L., D. M., JANKY, M. G. DUKES, L. D. THOMPSON, S. A. WOODWARD (1987): Effect of post mortem boning time during simulated commercial processing on the tenderness of broiler breast meat. Poult. Sci., 66, 1331-1333.
- Dodge, J. W., J. Stadelman (1959): Post-mortem aging of poultry meat and its effect on the tenderness of the breast muscles. Food Technol., 13, 81-84.
- DECUYPERE, E. (1979): The effect of incubation temperature patterns on morphological, physiological and reproduction criteria in Rhode Island Red birds. Agricultura, 27, 216-230.
- DECUYPERE, E., K. TONA, F. BAMELIS, C. CAREGHI, B. KEMPS, B. DE KETELAERE, J. DE BAERDEMAKER J., V. BRUGGEMAN (2002): Broiler breeders and egg factors interacting with incubation conditions for optimal hatchability and chick quality. Arch. Geflügelk Special Issue, 66, 56-57.
- DEEMING, D. C. (1995): What is chicken quality? World. Poult., 11 (2), 20-23.
- FILIPIĆ, B., I. GRADIŠNIK, M. PETROVEC, A. PEREYRA, H. MAZIJA (2016): Could enhanced induction of IFN- γ like molecules from chicken macrophages using Holocene minerals stimulate the immune response against *Dermanyssus galinae* infestation? Altex Procc. Linz 2016 – Eusaat 201., pp. 34.
- HULTIN, H. O. (1985): Characteristics of muscle tissue. In: Fennema OR, ed., Food Chemistry, 2nd ed. New York: Marcel Dekker, pp. 725-790.
- IQBAL, J., N. MUKHTAR, Z. UR REHMAN, S. H. KHAN, T. AHMAD, M. S. ANJUM, R. H. PASHA, S. UMAR (2017): Effects of egg weight on the egg quality, chick quality, and broiler performance at the later stages of production (week 60) in broiler breeders. J. Appl. Poult. Res., 26:183-191.
- JANJEČIĆ, Z., D. BEDEKOVIĆ, M. BALENOVIĆ, M. ANDRAŠEC, B. FILIPIĆ, M. KREŠIĆ, H. MAZIJA (2017): Učinci aluvijalnog depozitnog nanosa erodiranih minerala primijenjenog u tovu pilića. Zbornik radova Peradarski dani 2017., Šibenik, Hrvatka. 95-106.
- KLASING, K. C., D. M. BARNES (1988): Decreased Amino Acid Requirements of Growing Chicks Due to Immunologic Stress. Journal of Nutrition, 118 (9), 1158-1164.
- KOKIĆ, A. (2012): Utjecaj multikomponentnih holocenskih minerala (MHM) na tijek Marekove bolesti. Doktorski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb, 2012.
- KOLAR, K. (1990): Colorimetric determination of hydroxyproline as measure of collagen content in meat and meat products: NMKL collaborative study. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 73, 54-57.

- LYON, C. E., W. E. TOWNSEND, R. L. WILSON JR. (1976): Objective color values of non-frozen and frozen broiler breasts and thighs. *Poult. Sci.*, 55, 1307-1312.
- MARCU, A., I. VACARU-OPRIȘ, G. DUMITRESCU, L. P. CIOCHINA, A. MARCU, M. NICULA, N. MARIOARA, P. IOAN, D. DOREL, K. BARTOLOMEU, M. COSMIN (2013): The influence of genetics on economic efficiency of broiler chickens growth. *Animal Science and Biotechnologies.*, 46 (2), 339-346.
- MEDIĆ, H., S. VIDAČEK, N. MARUŠIĆ, A. JURIĆ, T. PETRAK, H. MAZIJA (2010): Multicomponent Holocene Mineral Compound Given in Feed does not Influence Quality of Chicken Meat. XIIth European Poultry Conference Tours, Francuska, 23-27.08.2010.
- MENDES, M., D. ECMEL, E. ARSLAN (2007): Profile analysis and growth curve for body mass index of broiler chickens reared under different feed restrictions in early age. *Arch. Tierz.*, 50, 403-411.
- MICHALCZUK, M., M. STĘPIŃSKA, M. ŁUKASIEWICZ (2011): Effect of the initial body weight of Ross 308 chicken broilers on the rate of growth. *Ann. Warsaw Univ. of Life Sc. SGGW, Anim. Sci.*, 49, 121-125.
- MEIJERHOF, R. (2006): Chick size matters. *World Poult.*, 22, 30-31.
- N.R.C. (2005): Mineral tolerance of animals. 2nd ed. The National Academy, Washington, DC, 1-510.
- OLVER, M. D. (1997): Effect of feeding clinoptilolite (zeolite) on the performance of three strains of laying hens. *Br. Poult. Sci.*, 38 (2), 220-222.
- PEARSON, A. M., R. B. YOUNG (1989): *Muscle and Meat Biochemistry*. San Diego, CA, Academic Press.
- SUGANYA, T., S. SENTHILKUMAR, K. DEEPA, J. MURALIDHARAN, P. SASIKUMAR, N. MURTHUSAMY (2016): Metal toxicosis in poultry – a review. *Int. Sci. Environ. Technol.*, 5, 515-524.
- ŠOOŠ, E., B. FILIPIČ, S. MIKO, H. MAZIJA (2015): Farmaceutski pripravak za pojačanje antiproliferativne i proapoptotske aktivnosti humanih interferona holocenskim mineralima. Hrvatski glasnik intelektualnog vlasništva 5, Konsenzualni patent PK20130650.
- THIRULOGACHANDAR, M. E., M. RAJESWARI, S. RAMYA (2014): Assessment of heavy metal in Gallus and their impacts on human. *Int. J. Sci. Res. Pub.*, 4 (6), 1-8.
- TONA, K., F. BAMELIS, B. De KETELAERE, V. BRUGGEMAN, V. M. B. MORAES, J. BUYSE, O. ONAGBEASAN, E. DECUYPERE (2003): Effects of egg storage time on spread of hatch, chick quality, and chick juvenile growth. *Poult. Sci.*, 82, 736-741.
- TONA, K., O. ONAGBEASAN, B. De KETELAERE, V. BRUGGEMAN, E. DECUYPERE (2005): Interrelationship between chick quality parameters and the effect of individual parameter on broiler relative growth to 7 days of age. *Arch. Geflügelk.*, 69 (2), S. 67-72.
- TRKULJA, H. (2012): Utjecaj aluvijalnog mineralnog dodatka u hrani pilića na boju kostiju. Diplomski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Zagreb, 2012.
- VIDOVIĆ, M. (2011): Utjecaj aluvijalnog mineralnog dodatka u hrani na imuni odgovor pilića cijepljenih protiv newcastleske bolesti. Diplomski rad. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, 2011.
- WOLANSKI, N. J., R. A. RENEMA, F. E. ROBINSON, V. L. CARENEY, B. I. FANCHER (2007): Relationship among egg characteristics, chick measurements, and early growth traits in ten broiler breeder strains. *Poult. Sci.*, 86, 1784-1792.

EFFECT OF ADDING ALLUVIAL DEPOSIT HOLOCENE MINERALS (ADNEM) TO FARM BREEDING BROILER FEED ON COLLAGEN FORMATION IN THEIR MUSCLES

Summary

The present study continued investigating the favorable effects of admixing 0.5% alluvial deposit Holocene minerals (ADNEM) to fattening broiler feed, with the aim to identify optimal fattening period for its application considering productivity and collagen formation in breast muscles. The preliminary limited study had revealed better effect of adding 0.5% *versus* 1.0% ADNEM. Therefore, in this micro-experiment, 0.5% ADNEM was added to the initial, final I or final II feed mixture, with recording fattening performance indicators. Two comparable groups of broilers received ADNEM (0.5%) throughout the fattening period or did not receive it all. Study results showed ADNEM added to broiler feed during the first 11 days of fattening to be as effective as when added throughout the 35 days of fattening. Collagen formation in the two control groups of broilers was greater in the group that received ADNEM 0.5% throughout the fattening period. Considering the relatively small number of muscle samples analyzed, this result could not necessarily be attributed to the increased collagen formation but also to other factors, primarily ADNEM mineral contents, as well as to broiler age. The success of macro-experiment in farm broilers confirmed the observations from both preliminary experiments. The broilers that received ADNEM (34,900 broilers) achieved the European Production Efficiency Factor (EPEF) 342 *versus* 327 in those not receiving ADNEM, i.e. by 15 index units lower. In addition, at the age of 4 weeks, the respective body mass was 1555 g and 1438 g, suggesting the possible reduction in the length of fattening period with 0.5% ADNEM admixed to broiler feed. Most important was efficient mechanical separation of breast muscles, which could be completely performed in broilers with ADNEM added to feed, as compared with those without the addition of ADNEM where approximately 2% of muscles were clammy and unusable for marketing as fillets. The research should be continued to elucidate the factors that contribute to improved productivity of broiler fattening with the use of ADNEM.

Key words: fattening broilers, tovní pilići, alluvial deposit Holocene minerals (ADNEM), feeding mixture, collagen

INFEKCIJA KONZUMNIH NESILICA BAKTERIJOM *MANNHEIMIA HAEMOLYTICA*

Borka Šimpraga, Fani Krstulović, Luka Jurinović, Marina Tišljar, Marijana Sokolović

Hrvatski veterinarski institut, Centar za peradarstvo, Zagreb, Hrvatska

Sažetak

U radu je opisana infekcija konzumnih nesilica bakterijom *Mannheimia (M.) haemolytica* u četiri jata konzumnih nesilica u intenzivnom i ekstenzivnom uzgoju. Temeljem kliničkih znakova bolesti (podatci dobiveni od vlasnika jata i farmi) te makroskopske patološkoanatomske pretrage iz organa nesilica uzorkovanih tijekom razudbe napravljena je bakteriološka pretraga. Vrsta *M. haemolytica* dokazana je biokemijskom karakterizacijom pomoću API nizova, testovima na katalazu, oksidazu i pokretljivost, mikroskopskom pretragom i rastom na MacConkey agaru.

Prema rezultatima testa osjetljivosti vrsta *M. haemolytica* izdvojena iz organa nesilica iz sva četiri jata pokazala je osjetljivost prema norfloksacinu, enrofloksacinu, ciprofloksacinu i linkospektinu. Neosjetljivost prema ampicilinu i amoksicilinu pokazali su sojevi izdvojeni iz organa nesilica iz jata 1 i 2, dok je soj iz jata 4 pokazao neosjetljivost prema amoksicilinu s klavulanskom kiselinom, ampicilinu, amoksicilinu, oksitetraciklinu, tetraciklinu i cefalotinu.

Gljučne riječi: konzumne nesilice, infekcija, *Mannheimia haemolytica*, antimikrobna osjetljivost

Uvod

Bolesti dišnog sustava čest su i značajan uzrok velikih ekonomskih šteta u intenzivnoj peradarskoj proizvodnji izazvanih povećanom smrtnošću i troškovima liječenja oboljele peradi (Ahmed i sur., 2016.; Jammel i sur., 2016.). Poslijedica su infekcije bakterijskim i virusnim dišnim patogenima koji mogu biti i istodobno prisutni i utjecati jedni na druge (Marien i sur., 2007.; Siddique i sur., 2016.; Zaheer i sur., 2017.). Bakterijske vrste kao što su *Pasteurella multocida*, *Pasteurella gallinarum*, *Riemerella anatipestifer*, *Bordetella avium*, *Mannheimia haemolytica*, *Ornithobacter rhinotracheale*, *Klebsiella pneumoniae*, *Avibacterium paragallinarum*, *Gallibacterium anatis*, bakterija *Escherichia coli* i mnoge druge uzrokuju pojavu bolesti dišnog sustava u peradi (Hafez, 2002.; Saif i sur., 2003.; Pérez i sur., 2014.; Jones i sur., 2013.).

Vrsta *Mannheimia haemolytica* pripada rodu *Mannheimia*, jednom od 15 rodova obitelji *Pasteurellaceae* (Highlander, 2001.). Reklasifikacijom je nekadašnja *Pasteurella haemolytica* koja je sadržavala dva biovara temeljem razgradnje arabinoze – biovar A i trehaloze – biovar T preimenovana prema novom nazivlju, a u skladu s rezultatima DNA hibridizacije i sekvenciranja 16S RNA gena u vrstu *M. haemolytica* biovar A, dok su sojevi *P. haemolytica* biovar T

preimenovani u vrstu *P. trehalosi* koja je kasnije nazvana *Bibersteinia trehalosi* (De Ley i sur., 1990.; Dewhirst i sur., 1992.; Angen i sur., 1999.; Blackall i sur., 2007.). Serovarovi 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 13, 14 i 16 bivše vrste *P. haemolytica* pripali su vrsti *M. haemolytica*, serovarovi 3, 4, 10 i 15 vrsti *B. trehalosi*, a serovar 11 novoj vrsti *M. glucosida* (Mohamed i Abdelsalem, 2008.).

Mannheimia haemolytica ime je dobila po njemačkom znanstveniku Walteru Mannheimu zaslužnom za doprinos novom nazivlju i reklasifikaciji porodice *Pasteurellaceae* (Mohamed i Abdelsalam, 2008.). To je gram-negativna, fakultativno anaerobna, nepokretna bakterija kokobacilarnog oblika, posjeduje enzime katalazu i citokrom-oksidazu i tvori kapsulu. Male sjajne kolonije izrasle na krvnom agaru nemaju mirisa i tvore usku zonu β-hemolize. Raste na hranjivim podlogama obogaćenim krvlju ili serumom i na MacConkey agaru u aerobnim uvjetima kroz 24 sata pri 37 °C. Razgrađuje laktozu, saharozu, maltozu i d-ksilozu, a ne razgrađuje d-trehalozu i t-arabinozu (Oppermann i sur., 2017.). *M. haemolytica* posjeduje čitav niz čimbenika virulencije, a virulencija djelomice ovisi o imunom statusu domaćina (Highlander, 2001.). Dvanaest serovarova *M. haemolytica* međusobno se razlikuju u strukturi genoma, površinskim antigenima i drugim osobinama pa su Davies i sur. (1997.) na temelju istraživanja zaključili da su izolati *M.*

haemolytica klonovi koji predstavljaju različite filogenetske linije. Imunološkom i biokemijskom karakterizacijom genskih proizvoda *M. haemolytica* identificirano je mnoštvo proteina i polisaharida koji su vrlo značajni za virulenciju. Najvažniji čimbenici virulencije su kapsula (Lo i sur., 2001.), različiti adhezini odnosno proteini vanjske membrane (Jaramillo i sur., 2000.), fimbrije i enzimi sialoglikoproteaze i neuraminidaze koje potiču kolonizaciju pluća (Highlander, 2001.), endotoksin (Welch i sur., 1995.) i leukotoksin (Burrows i sur., 1993.). Kapsula omogućava otpornost na fagocitozu i komplement u serumu (Highlander, 2001.). Proteini vanjske membrane i lipoproteini (fimbrijski adhezijski antigeni) potiču kolonizaciju pluća, a imaju ulogu i u otpornosti na komplement u serumu (Highlander, 2001.). Izvanstanični enzimi sialoglikoproteaze i neuraminidaze indirektno utječu na imuni odgovor domaćina i potiču kolonizaciju stanica pluća (Highlander, 2001.). Endotoksini oštećuju leukocite i imaju toksični učinak na endotelne stanice, a leukotoksini toksično djeluju na leukocite i stvarajući pore na staničnoj stijenci uzrokuju lizu leukocita. Enzimi iz liziranih leukocita i upalni citokini djeluju na slabljenje zaštitnih imunih mehanizama pluća te uzrokuju stvaranje upale i oštećenje plućnog tkiva.

Mannheimia haemolytica uobičajena je mikroflora dišnog sustava peradi, no u uvjetima stresa izazvanog prenapučenosti, povećanom količinom amonijaka, povećanom količinom prašine onečišćene bakterijama, glađu, žeđi, premještanjem životinja, visokim ili niskim temperaturama te infekcijama virusa ili mikoplazmi može izazvati infekciju dišnog sustava i septikemiju ((Highlander, 2001.; Malik i sur., 2005.; Mohamed i Abdel-Salam, 2008.; Nimmermark i sur., 2009.; Ali i sur., 2015.; Umar i sur., 2017.; Setta i sur., 2017.). Brisovi dušnika, sinusa i plućnog tkiva uginulih pilića bakteriološki su pretraženi na dokaz prisutnosti bakterija *E. coli*, *Bordetella avium*, *Salmonella* spp. i *M. Haemolytica*. Tijekom petogodišnjeg istraživanja od ukupno 600 uginulih pilića iz brisova njih 92 izdvojena je *M. Haemolytica*, što je ujedno bila i najčešće izdvojena vrsta (Malik i sur., 2005.). Pojavu bolesti s kliničkim simptomima sličnim pasterelozi u jatima rasplodnih nesilica opisali su Ali i sur. (2015.) koji su prvi dokazali spomenutu bakteriju kao primarni patogen. U jatima se pojavilo značajno smanjenje nesivosti i smrtnost od 4%. Makroskopskom patološkoanatomskom pretragom utvrđene su cijanoza krijeste i privjeska, upala zračnih vrećica, punokrvnost pluća, petehijska krvarenja na srcu, splenomegalija, nekrotična žarišta na jetri te *egg*-peritonitis. Bakteriološkom pretragom iz uzoraka organa izdvojena je *M. haemolytica* koja je dokazana biokemijskom karakterizacijom pomoću API nizova te mikroskopskom pretragom. Setta i sur. (2017.) opisali su pojavu bolesti u dva jata konzumnih nesilica linije WHITE SHAVER i Hi-Sex Brown dobi 195 dana u kojima je došlo do značajnog pada nesivosti, smanjenja potrošnje hrane od 40% te smrtnosti od 6%. Patološkoanatomskom pretragom utvrđeni su upala zračnih vrećica, perikarditis, perihepatitis, hepatomegalija i splenomegalija, punokrvnost pluća i crijeva i *egg* peritonitis. Tijekom razudbe uzorkovani su organi za bakteriološku pretragu kojom je na temelju hemolitičkih kolonija izraslih

na krvnom agaru i kolonija poraslih na MacConkey agaru, mikroskopske pretrage i molekularne identifikacije (PCR) dokazana vrsta *M. haemolytica*.

Umar i sur. (2017.) opisali su pojavu dišnih simptoma u podno držanih konzumnih nesilica dobi 52 tjedna, koji su se očitovali otečenjem krijesta i sinusa, mukoznim iscjerkom iz kljuna, hropcima uz zelenkasti proljev. Jato nesilica držano je blizu farme mliječnih krava i bikova. Tijekom patološkoanatomske pretrage iz razuđenih nesilica uzorkovani su brisevi jetre, slezene, cekalnih tonzila, jajovoda, dušnika, pluća i srca te mukozni sadržaj iz kljuna i sinusa za bakteriološku pretragu. Na temelju biokemijske karakterizacije hemolitičkih kolonija izraslih na krvnom agaru, razmazaka učinjenih iz bakterijske kulture i obojanih prema Gramu te molekularne identifikacije (PCR) dokazana je *M. haemolytica*. Test patogenosti učinjen je na embrioniranim kokošjim jajima i na zdravim konzumnim nesilicama dobi 8 tjedana sojem *M. haemolytica* izdvojenim iz organa uginulih nesilica dobi 52 tjedna. U embrioniranim kokošjim jajima već 48 sati nakon inokulacije uočena je 100%-tna smrtnost, dok su pokusno zaražene nesilice pokazivale blage simptome u obliku anoreksije, otežanog disanja, mukoznog iscjeka iz kljuna i zelenkasti proljev. Simptomi su nestali nakon jednog dana i nije bilo uginuća. Iz dušnika, pluća, srca, jetre i cekalnih tonzila izdvojena je *M. haemolytica*. Analiza sekvence pokazala je 99%-tnu sličnost s rDNA iz goveđeg soja *M. haemolytica* serovar A2.

U jatima od 170 mosušnih i 110 pekinških pataka koje su pokazivale dišne simptome i proljev tijekom makroskopske patološkoanatomske pretrage uzorkovani su jetra, srce, slezena, pluća, mozak i crijeva za bakteriološku pretragu. Vrsta *M. haemolytica* izdvojena je iz 9 pataka, dok je *P. multocida* dokazana u organima 114 pataka (Afifi i El-Nesr, 2013.).

Infekcije vrstom *M. haemolytica* (bivša *Pasteurella haemolytica*) rijetke su u ljudi. Opisan je slučaj komplikacije uzrokovane infekcijom premosnice na aorti vrstom *P. haemolytica* (sadašnja *M. haemolytica*) i β-hemolitičkim streptokom serološke skupine C u 50-godišnjeg bolesnika (Rivera i sur., 1994.). Izvor infekcije nije utvrđen, no nakon uklanjanja premosnice i šestotjedne intravenske primjene ampicilina bolesnik se potpuno oporavio.

Prvi slučaj bakterijskog krupa (bakterijski traheitis) opisan je u devetomjesečne djevojčice sa simptomima promuklog kašlja, otežanog disanja, visoke temperature i nesvjestice (Watanabe i sur., 1998.). Iako je najčešći uzočnik bakterijskog krupa bakterija *Staphylococcus aureus*, u opisanom slučaju iz sadržaja dušnika izdvojena je *P. haemolytica*. Izvor infekcije nije utvrđen.

U radu je opisana infekcija konzumnih nesilica bakterijom *M. haemolytica* u četiri jata konzumnih nesilica u ekstenzivnom i intenzivnom uzgoju.

Materijali i metode

Tijekom zimskih mjeseci krajem 2017. i početkom 2018. godine u dva ekstenzivno držana uzgoja konzumnih nesilica pojavila su se sporadična uginuća nesilica praćena kratkotrajnim padom nesivosti.