

Upotreba probiotika *Bacillus subtilis* u tovu pilića

Živković, Alojzije

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:178976>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-14**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

**UPOTREBA PROBIOTIKA *BACILLUS SUBTILIS* U TOVU
PILIĆA**

DIPLOMSKI RAD

Alojzije Živković

Zagreb, rujan, 2024.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:

Hranidba životinja i hrana

**UPOTREBA PROBIOTIKA *BACILLUS SUBTILIS* U TOVU
PILIĆA**

DIPLOMSKI RAD

Alojzije Živković

Mentor:

prof.dr.sc. Goran Kiš

Zagreb, rujan, 2024.

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET**

**IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI**

Ja, **Alojzije Živković**, JMBAG 0178115356, rođen 12.02.1999. u Slavonskom Brodu, izjavljujem da sam samostalno izradio diplomski rad pod naslovom:

UPOTREBA PROBIOTIKA *BACILLUS SUBTILIS* U TOVU PILIĆA

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studenta

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta **Alojzije Živkovića**, JMBAG 0178115356, naslova

UPOTREBA PROBIOTIKA *BACILLUS SUBTILIS* U TOVU PILIĆA

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

- | | | | |
|----|--------------------------------------|--------|-------|
| 1. | Prof.dr.sc. Goran Kiš | mentor | _____ |
| 2. | Prof. dr. sc. Jasna Pintar | član | _____ |
| 3. | Izv. prof. dr. sc. Dalibor Bedeković | član | _____ |

Sadržaj

1. UVOD	1
2. PREGLED LITERATURE	3
2.1. Prebiotici, probiotici, simbiotici	3
2.2. Karakteristike idealnih probiotika .	5
2.3. Mehanizmi djelovanja probiotika	6
2.4. Prednosti probiotika za perad	8
2.5. Oblici probiotika	9
2.6. Utjecaj probiotika na tjelesne mase	9
2.7. Učinci probiotika na osobine pilećeg mesa	9
2.8. <i>Bacillus subtilis</i>	10
3. HIPOTEZA I CILJ ISTRAŽIVANJA	13
4. MATERIJAL I METODE	14
4.1. Odvijanje istraživanja	14
4.2. Hranidba pilića	14
4.3. Usmrćivanje i rasijecanje pilića	16
4.4. Statistička analiza	16
5. REZULTATI ISTRAŽIVANJA I DISKUSIJA	17
6. ZAKLJUČAK	23
7. POPIS LITERATURE	24
8. ŽIVOTOPIS	32

Sažetak

Diplomskog rada studenta Alojzija Živkovića, naslova

UPOTREBA PROBIOTIKA *BACILLUS SUBTILIS* U TOVU PILIĆA

Promotori rasta su dodaci koji se koriste u hranidbi životinja za poboljšanje produktivnosti. Većinom su antibakterijski proizvodi i kokcidiostatici koji se terapijski koriste do pred samo klanje. Ograničenja upotrebe antibiotika koje je uvela Europska unija potražnjom potrošača za proizvodima bez antimikrobnih ostataka naveli su proizvođače da pronađu alternative. Probiotici su proizvodi živih mikroorganizama koji blagotvorno utječu na domaćina, poboljšavajući crijevnu mikrobnu ravnotežu. Poboljšavaju iskorištenje hrane uz tendenciju povećanja upotrebe u smjesama jer ne ostavljaju ostatke u okolišu, tijelu životinje i ne uzrokuju rezistenciju kod ljudi u usporedbi s antibioticima. Stoga je cilj ovog rada bio utvrditi učinak probiotika na bazi *Bacillus subtilis* na proizvodne rezultate i klaoničke pokazatelje trupa pilića. Pokus je proveden na 240 pilića hibrida Ross 308 raspoređenih u dvije skupine, kontrolna i pokusna, kojoj je dodano 40 g/t probiotika (*Bacillus subtilis* DSM 28343). Masa pilića, konzumacija i mortalitet pratio se tijekom cijelog tova i na temelju njih izračunati su prirast tjelesne mase i konverzija. Na kraju tova od 20 pilića svakog tretmana utvrđeni su klaonički pokazatelji trupa (randman; udjeli krila, bataka, zabataka, prsa, filea, leđa, te abdominalne masti, mase želuca i jetre). Korištenje probiotika na bazi *Bacillus subtilis* kod brojlera rezultiralo je na kraju tova od 35 dana smanjenjem prosječne tjelesne mase i prirasta. Pilići koji su dobivali probiotik ostvarili su 18% više abdominalne masti te višu konverziju hrane u odnosu na kontrolnu skupinu. Temeljem dobivenih rezultata, zaključujemo da dodavanje probiotika u krmne smjese za brojlere, u standardiziranom načinu proizvodnje, ne poboljšava proizvodne rezultate pilića u tovu. Međutim, potrebna su daljnja istraživanja učinka probiotika kao alternative antibioticima i njihovog utjecaja na zdravlje i proizvodne rezultate pilića u tovu.

Ključne riječi: probiotici, *Bacillus subtilis*, tov, pilići

Summary

Of the master's thesis - student Alojzije Živković, entitled

USE OF *BACILLUS SUBTILIS* PROBIOTICS IN CHICKEN FATTENING

Growth promoters are additives used in animal nutrition to improve productivity. Most of them are antibacterial products and coccidiostats that are used therapeutically until just before slaughter. Restrictions on the use of antibiotics introduced by the EU along with consumer demand for products without antimicrobial residues have led manufacturers to find alternatives. Probiotics are products of living microorganisms that have a beneficial effect on the host, improving the intestinal microbial balance. They improve feed utilization with a tendency to increase their use in mixtures because they do not leave residues in the environment, the animal's body and do not cause resistance in humans compared to antibiotics. Therefore, the aim of this work was to determine the effect of probiotics based on *Bacillus subtilis* on production results and slaughter indicators of chicken carcasses. The experiment was conducted on 240 Ross 308 hybrid chickens divided into two groups, control and experimental, with 40 g/t of probiotics (*Bacillus subtilis* DSM 28343). Chicken weight, consumption and mortality were monitored throughout the fattening period, and body weight gain and conversion were calculated. After 35 days, 20 chickens of each group, carcass slaughter indicators were determined (randman; proportions of wings, drumsticks, rumps, breast, fillet, back, and abdominal fat, stomach and liver mass). The use of probiotics, *Bacillus subtilis*, in broilers resulted decrease in average body weight and growth. Chickens that received the probiotic achieved 18% more abdominal fat and higher feed conversion compared to the control. Based on the obtained results, we conclude that the addition of probiotics to feed mixtures for broilers, in a standardized production method, does not improve the production results of chickens for fattening. However, further research is needed on the effect of probiotics as an alternative to antibiotics and their impact on the health and production performance of broiler chickens.

Keywords: probiotics, *Bacillus subtilis*, fattening, chickens

1. UVOD

Promotori rasta su dodaci koji se koriste u hranidbi životinja, te su odgovorni za poboljšanje produktivnosti, posebno u ranim fazama uzgoja. Većinom su antibakterijski proizvodi i kokcidiostatici koji se u određenim dozama terapijski koriste gotovo cijeli životni vijek životinje do pred samo klanje (Lorençon i sur., 2007.).

Međutim, ograničenja upotrebe antibiotika, koja je nametnula Europska unija od siječnja 2006., zajedno s potražnjom potrošača za proizvodima bez antimikrobnih ostataka i zabrinutošću povezanom s razvojem unakrsne bakterijske rezistencije među ljudima, naveli su proizvođače i istraživače da otkriju alternative uobičajenim sredstvima za poticanje rasta, koja, prema Corrêa i sur. (2003), ne bi trebalo smanjiti razinu produktivnosti koju postižu uzgajivači peradi.

Probiotici su proizvodi živih mikroorganizama koji blagotvorno utječu na domaćina, poboljšavajući crijevnu mikrobnu ravnotežu. (Fuller, 1989.). Ovi proizvodi mogu sadržavati dobro poznate i kvantificirane bakterije ili nedefinirane bakterijske kulture, općenito sastavljene od jednog ili više sljedećih mikroorganizama: *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus* ili kvasci (Mulder, 1991.).

Prema Traldiju i sur. (2007.), probiotici mogu poboljšati iskorištavanje hrane i time smanjiti izlučivanje hranjivih tvari. Nadalje, postoji tendencija povećanja upotrebe probiotika u hrani za životinje, što je razumnija opcija, budući da ne ostavljaju ostatke u okolišu, tijelu životinje i ne uzrokuju rezistenciju kod ljudi u usporedbi s antibioticima (Nepomuceno i Andreatti, 2000).

Probiotike također možemo nazvati nepatogenim živim organizmima koji su prisutni u nekim namirnicama te imaju pozitivne učinke na zdravlje domaćina ako u organizam uđu u dovoljnoj količini. Imani i sur. (2013.), zaključili su da terapija probioticima kao jeftina i neinvazivna strategija može smanjiti patofiziološke simptome i smanjiti bolesti jetre.

Khani i sur. (2012.), izvijestili su o različitim potencijalnim pozitivnim učincima, uključujući poboljšanje zdravlja probavnog sustava, povećanje tjelesnog imuniteta, smanjenje simptoma intolerancije na laktozu, smanjenje alergija, smanjenje rizika od određenih vrsta raka, liječenje kolitisa, smanjenje koncentracije kolesterola u serumu, smanjenje krvnog tlaka, te ublažavanje respiratornih i *Helicobacter pylori* infekcija.

U prirodi, mladunčad životinja dobiva zaštitnu floru od majki ili okoline. Unatoč tome, suvremene metode poroda i postpartalne skrbi ograničavaju kontakt s majkama i osiguravaju sintetičku hranu i okruženje. Zbog toga više ne postoje neki prirodni dijelovi mikroflore probavnog sustava dojenčadi koji uzrokuju otpornost na bolesti. Prehrana ljudi, korištenje antibiotika i stres također utječu na floru kod odraslih osoba. Primjena probiotičkih dodataka može nadoknaditi ovaj nedostatak. Dakle, upotrebom ovih spojeva ne nastaje nešto što prirodno ne postoji. Dapače, u potpunosti regenerira zaštitnu sposobnost flore (Afshar Mazandaran, 2001.).

2. PREGLED LITERATURE

2.1. Prebiotici, probiotici, simbiotici

Prebiotici su hranidbeni nutrijenti koji su neprobavljivi ili slabo probavljivi u probavnom sustavu, a njihov pozitivan učinak na ljudsko zdravlje je kroz poticanje rasta ili povećanje aktivnosti ograničenog broja probiotičkih bakterija u debelom crijevu. Tu ulogu igraju minimalno probavljeni i fermentabilni ugljikohidrati u tankom crijevu, što dovodi do rasta bifidobakterija i nekih gram-pozitivnih bakterija. Zapravo, ugljikohidrati prolaze kroz tanko crijevo, prelaze u niže dijelove i postaju dostupni bakterijama u debelom crijevu. Laktuloza, galaktooligosaharidi, fruktooligosaharidi, inulin i njihovi hidrolizirani metaboliti, maltooligosaharid, spadaju među prebiotike koji se najčešće koriste u prehrani ljudi.

Probiotici poboljšavaju performanse i zdravstveni status ptica kompetitivnim isključivanjem i stvaranjem ravnoteže u mikrobnoj populaciji u probavnom sustavu (Stavric, 2008.). Pojam "probiotik" potječe od grčke riječi "probios" što znači "za život". Probiotici su opisani kao suprotnost antibiotici. Dok antibiotici uništavaju život, probiotici izgrađuju ili potiču život.

Parker (1974.) je prvi upotrijebio riječ "probiotik" za opisivanje mikroorganizama i tvari koje doprinose ravnoteži crijevnih mikroba. Intenzivan proizvodni sustav peradarske industrije stvara veliki stres za ptice. Dobiveni su korisni učinci primjenom probiotika na proizvodne parametre tovnih pilića (Katoch i sur., 1996.; Samantha i Biswas, 1997.; Rincon i sur., 2000.). Ghadban (2002.) je raspravljao o uporabi probiotika i metodama primjene. Većina probiotika sada dostupnih na tržištu sadrži laktobacile, laktokočke, kulture kvasca same ili u kombinaciji.

Na temelju Fullerovih definicija (1992.), probiotici su mikrobnih hranidbenih dodaci koji imaju pozitivne učinke na domaćina poboljšanjem mikrobne ravnoteže u crijevima. Ova definicija naglašava živu prirodu probiotika pa ga možemo nazvati živim mikroorganizmom iz jedne ili više kultura koji poboljšava korisnu autohtonu mikrofloru domaćina (Ghadban, 2002.). Probiotici su prvi put korišteni 1954. godine za označavanje tvari koje su potrebne za zdrav život. Umjesto toga, Rather i sur. (2015.), uključili su bakterijske metabolite i mrtvu bakterijsku kulturu u definiciju probiotika. Primjenjuju se u hranidbi domaćih životinja za povećanje prirasta tjelesne mase za poboljšanje konverzije krme. Mikroorganizmi kao što su miješane

kulture različitih mikroba, gljivica, posebno gljiva i kvasaca, te bakterije ranije su se koristili kao probiotici. Za liječenje infekcije *Eimeria tenella* kod pilića, divlju gljivu *Ganoderma lucidum* koristili su Ogbe i sur. (2009.).

Lee i sur. (2007.), izvijestili su da se kvasac *Saccharomyces boulardii* također koristi za liječenje infekcije *Eimeria* u peradi. Kod peradi za kontrolu patogenih bakterijskih infekcija kvasac (*Saccharomyces cerevisiae*) i *Aspergillus oryzae* (gljivice) također su korišteni kao probiotici (Woo i sur. 2006.), dok se bakterijske vrste češće koriste kao probiotici od gljivičnih probiotičkih vrsta. Probiotici također imaju sposobnost eliminirati mnoge patogene bakterije kao što su *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Clostridium perfringens* i tako dalje (Iannitti i Palmieri, 2010.).

Kabir i sur. (2005.), je izvijestio da su najčešće korišteni probiotički mikrobi intestinalni sojevi, *E.coli*, *Lactobacillus casei*, *L.helveticus*, *L.plantarum*, *L.acidophilus*, *L.lactis*, *L.salivarius*, *Enterococcus faecium*, *E.faecalis* i *Bifidobacterium*.

Sinbiotici su kombinacija korisnih probiotičkih vrsta i prebiotičkih ugljikohidrata, a istovremena konzumacija ovih spojeva ima korisne sinergijske učinke. Zapravo, superiornost i glavni razlog za upotrebu sinbiotika je taj što bi, bez prebiotika, probiotik malo preživio u okolišu jer su prebiotici izvor hrane za probiotike (Markowiak, 2017.). Zbog blagotvornih i sinergijskih učinaka upotrebe mješavina probiotika i prebiotika u dobroj mjeri, preporuča se nazivati ih sinbioticima.

Pournazari i sur. (2017.), zaključili su da stresno okruženje uzrokuje razne bolesti brojlera. Probiotici, prebiotici i eterična ulja *Thymus vulgaris L.* mogu se koristiti u uzgoju peradi kao alternativa antibioticima. Hrana je sadržavala 1-2 g/kg *Fermacta*, 1-2 g/kg *Bioplus-a* i 0,5-1 g/kg eteričnog ulja *T. vulgaris L.* dok hrana kontrolne skupine nije sadržavala nikakve aditive. U usporedbi s kontrolnom skupinom, eterično ulje *Fermacto*, *Bioplus* i *T. vulgaris L.* dovelo je do povećanja tjelesne mase i konzumacije. U hranu je dodano s 2 g/kg *Fermacta*.

Štoviše, 1 g/kg eteričnog ulja *T. vulgaris L.* poboljšava omjer konverzije hrane (FCR), ali smanjuje relativnu težinu bataka i krila. Uočena je značajna razlika između skupina u krvnim parametrima. Stoga mikroorganizmi eteričnog ulja *Fermacto*, *Bioplus* i *T. vulgaris L.* poboljšavaju prosječni dnevni prirast brojlera s malim učinkom na trup, organe i komponente plazme. Prebiotski dodatak *Technomouse* značajno je utjecao na povećanje tjelesna mase, konzumacije, konverzije, promjene sastava krvi i imunoglobulina u purana. Ipak, razina proteina u hrani značajno je utjecala na prirast i konverzije u završnoj fazi, koncentraciju

mokraćne kiseline 98. dana i titar IgM 49. dana. Stoga ova studija pruža dokaze koji podupiru činjenicu da prebiotski dodaci u hrani za pure s različitim razinama proteina djeluje ne utječe na učinak rasta, biokemiju krvi ili inhibiciju hemaglutinacije. Razina bjelančevina u hrani imala je više utjecaja na ispitivane parametre u usporedbi s prebioticima (Vahabi-Asil, 2017.).

Karimi i sur. (2015.), istraživali su učinke nekih probiotika, uključujući Bioplus, PrimaLac, Tipax i Protexin na nojeve i otkrili da je, u tretmanima koji koriste BioPlus i PrimaLac, ukupna razina kolesterola (157 i 210 mg/dL) bila povećana u usporedbi s kontrolnom skupinom (119 mg/dL), ali je ukupni kolesterol blago smanjen za skupinu koja je primala Tipax (79 mg/dL) u hrani ($P > 0,05$). Posljedično, komercijalni probiotici imali su različite učinke na učinak rasta, karakteristike trupa i hematološke parametre.

2.2. Karakteristike idealnih probiotika

Idealan probiotik bi trebao imati sljedeće karakteristike:

- a) sposobnost ispoljavanja blagotvornih učinaka na životinju domaćina, tj. povećan rast ili otpornost na bolesti
- b) nepatogenost i netoksičnost za životinje i ljude
- c) prisutnost stanica sposobnih za život, po mogućnosti u velikom broju, iako minimalna učinkovita doza nije u potpunosti definirana
- d) sposobnost podnošenja obrade i skladištenja
- e) visoku toleranciju na žuč i želučanu kiselinu (nizak pH)
- f) sposobnost prianjanja na epitel ili sluz
- g) postojanost u crijevnom traktu
- h) sposobnost moduliranja imunološkog sustava
- i) sposobnost stvaranja inhibitornih spojeva
- j) sposobnost mijenjanja mikrobne aktivnosti

2.3. Mehanizmi djelovanja probiotika

Probiotici imaju niz načina djelovanja koji se temelje na kompetitivnom isključivanju patogenih bakterija, proizvodnji antibakterijskih tvari i proizvodnji organskih kiselina za inhibiciju svih patogena. Mazmanian i sur., (2008.); Tiwari i sur., (2012.); Roselli i sur. (2005.), pretpostavljali su da probiotici mogu regulirati proizvodnju protuupalnih citokina.

Probiotici imaju sposobnost reguliranja i održavanja funkcija crijevne barijere i homeostaze crijevne mikrobiote (Salminen i sur., 1996.), reguliraju enzimsku aktivnost crijeva i apsorpciju esencijalnih hranjivih tvari (Hooper i sur., 2002.; Timmerman i sur., 2005.; Gill 2003.), te sprječavaju aktivnost prokarcinogenih enzima i također ometaju patogene da nasele i zaraze sluznicu crijeva.

Nadalje, probiotici imaju sposobnost poboljšati apsorpciju proteina, kao i nekih minerala poput kalcija, željeza, mangana i bakra iz crijeva čineći kiselim pH crijeva; reguliraju proizvodnju sluznice, reguliraju funkcije epitela i povećavaju pokretljivost crijeva (Raghuwanski i sur., 2015.). Djeluju i kao imunomodulator (Salzman i sur., 2003.), budući da probiotici djeluju na stanice koje prezentiraju antigen domaćina, regulatorne T stanice, efektorske B i T stanice te enterocite (Oelschlaeger, 2010.). Probiotik može aktivirati različite imunološke stanice i ispoljiti imunomodulatorni učinak utječući na T-pomoćne stanice na specifičan način (Fong i sur., 2016.).

Probiotičke bakterije također mogu smanjiti rizik od kardiovaskularnih bolesti snižavanjem razine kolesterola u krvi životinje domaćina (Jones i sur., 2013.). Proizvodnja vodikovog peroksida i mliječne kiseline povećana je u crijevima kada su hranjeni probioticima, budući da probiotici imaju sposobnost pospješiti rast korisnih gram-pozitivnih bakterija i smanjiti broj crijevnih patogenih mikroba (Yang i sur., 2009.).

Povećanje otpornosti na kolonizaciju ili izravni patogen inhibicijski učinci važni su čimbenici koji probioticima omogućuju smanjenje učestalosti i trajanja bolesti. Dokazano je da različite vrste probiotika inhibiraju patogene bakterije in vitro i in vivo putem različitih mehanizama.

Probiotici u peradi djeluju na sljedeći način:

1. održavaju normalnu crijevnu mikrofloru kompetitivnim suprotstavljanjem i isključivanjem (Kizerwetter-Swida i sur., 2009.),
2. mijenjaju metabolizam povećanjem aktivnosti probavnih enzima i smanjenjem aktivnosti bakterijskih enzima i proizvodnje amonijaka (Yoon i sur., 2004.),

3. poboljšanje probave i količine hranjivih tvari (Awad i sur., 2006.),
4. aktiviranje imunološkog sustava (Apata, 2008.; Nayeopor i sur., 2007.).

Probiotici se mogu koristiti za kontrolu zoonoza i uobičajenih bolesti kod peradi. U tradicionalnim uvjetima, konkurentska isključenost u peradi pokazuje konzumaciju crijevnih mikroba koji se prirodno nalaze u peradi i pilićima koji su spremni za stavljanje u gnijezdo legla pilića. Otkrili su da su male količine izazivanja salmonele (1-10 stanica po kulturi) dovoljne za pojavu salmoneloze kod pilića. Štoviše, utvrdili su da su pilići najskloniji zarazi salmonelom u prvom tjednu nakon izlijeganja. Konzumacija vrste *Lactobacillus* nije stvorila zaštitu. Stoga su morali procijeniti nekontrolirani broj crijevnih bakterija kod odraslih pilića koji su bili otporni na *Salmonella infantis*. Ova metoda je kasnije nazvana Nurmi metoda ili kompetitivno isključenje. Metoda kompetitivnog isključivanja inokulacije jednodnevnih pilića s uzgojenom mikroflorom jasno pokazuje učinak crijevnih mikroba na crijevu funkciju i otpornost na bolesti (Stern i sur., 2001.; Nisbet i sur., 1998.).

Iako je kompetitivno isključivanje kompatibilno s definicijom probiotika, ova metoda umjesto toga daje uzgojene crijevne mikrobe dodavanja jedne ili više vrsta bakterija mikrobima stvorenim za svako pile. Inokulacija jednodnevnih pilića uzgojenih uz isključivanje konkurencije ili klasičnije probiotike djeluje kao dobar model za određivanje aktivnosti i učinkovitosti ovih mikroorganizama. Ovo je također komercijalno važno zbog sklonosti jednodnevnih pilića infekciji. Koristeći ovaj model, dokazano je da neki probiotici smanjuju kolonizaciju i prijenos *Salmonella* i *Campylobacter* (Fritts i sur., 2000.; Line i sur., 1998.).

Na temelju stope potrošnje, probiotici dopiru do velike količine mliječnokiselih bakterija crijevnim putem. Ovi mikroorganizmi su poznati po prilagođavanju crijevnog okoliša i dopremanju enzima i drugih korisnih tvari u crijeva (Marteau, 1993.).

Hranjenje pilića dodatkom *Lactobacillus acidophilus* ili mješavinom kultura *Lactobacillus* značajno ($P < 0,05$) povećava razinu amilaze nakon 40 dana hranjenja. Unosom probiotika (mješavina više vrsta *Lactobacillus* i *Streptococcus faecium*) povećava se aktivnost ugljikohidrata u tankom crijevu prašćića. *Lactobacillus* se kolonizira u crijevima i može izlučivati enzime, čime se povećava aktivnost crijevne amilaze (Duke, 1977.; Sissons, 1989.).

Utvrđeno je da probiotici mijenjaju crijevu pH vrijednost i mikrofloru kako bi olakšali aktivnost crijevnih enzima i probavu (Dierick, 1989.). Štoviše, probiotici mogu smanjiti stvaranje amonijaka u crijevima i time poboljšati zdravstveno stanje ptica (Chiang i sur., 1995.).

2.4. Prednosti probiotika za perad

Mnogo je korisnih svojstava probiotika za perad (Piva, 1998.; Jenkins i sur., 1999.):

1. imaju sposobnost modificiranja crijevne mikrobiote pilića
2. stimulativni učinak na imunološki sustav pilića
3. smanjenje upalne reakcije u domaćinu
4. sprječavanje kolonizacije patogena u crijevu
5. poboljšanje performansa životinje
6. sposobnost smanjenja kontaminacije lešine
7. snižavanje razine kolesterola u krvi što je korisno pilićima
8. smanjenje izlučivanja amonijaka i uree iz probavila pilića

2.5. Oblici probiotika

Probiotici su prisutni u različitim oblicima, na primjer u tekućini, prahu, vrećicama, pasti, tabletama, gelovima i granulama ili kapsulama i mnogim drugim različitim oblicima. Suhi oblici probiotika pokazali su povećanu otpornost na crijevnu okolinu i duži rok trajanja tijekom skladištenja. Dobra održivost probiotika u peradi dostupna je uz upotrebu hidroksipropil metilceluloze ftalata-55 kao matrice tableta (Iannitti i sur., 2010.).

2.6. Utjecaj probiotika na povećanje tjelesne mase

Mnoga su istraživanja otkrila da dodatak probiotika peradi ima konstruktivan utjecaj na zdravlje i učinak pilića. Uz dodatak probiotika (*Pediococcus acidilactici*) uočeni su poboljšani rezultati brojlera i smanjena razina kolesterola u krvi. Značajno poboljšanje u dnevnom prirastu i masi trupova uočeno je kod pokusnih ptica u odnosu na kontrolu tijekom svih razdoblja istraživanja od 6 tjedana i kod cijepljenih i kod necijepljenih ptica (Kabir i sur., 2004.). Dodatak mliječnog kefira od oko 2% kao prebiotika u vodu za piće mesnih pilića povećao bi učinak rasta brojlera, a također se može dodati u hranu za piliće. Za postizanje najboljeg učinka peradi samo je optimalna razina probiotika bila bolja od povećanja doza (količine) probiotika (Alkhalif i sur., 2010.). Smanjenje potreba za bjelančevinama kao i esencijalnim aminokiselinama primijećeno je kada su se spore *Bacillus subtilis* koristile kao probiotički dodatak stočnoj hrani i kao rezultat toga, troškovi proizvodnje po kilogramu prirasta tjelesna mase mogu se smanjiti (Mojtaba i sur., 2015.). Rajput i sur. (2013.) izvijestili su da dodatak *Saccharomyces boulardii* i *Bacillus subtilis* kao probiotika dovodi do poboljšanja žive tjelesne mase pileta, povećava burzu fabriciusa, kao i težinu timusa. Također, objavljeno je da je primijećeno značajno poboljšanje u debljanju i težini timusa i burze fabricicijuma u skupinama hranjenih probioticima (Alkhalif i sur., 2010.)

2.7. Učinci probiotika na osobine pilećeg mesa

Za preradu i skladištenje mesa vrlo su važna fizikalno-kemijska svojstva (pH, boja, tekstura itd.). Kako su ova fizikalno-kemijska svojstva međusobno povezana, mogu utjecati na kvalitetu mesa. Za preradu i skladištenje mesa, boja mesa i pH mesa je važno svojstvo kakvoće mesa, a ova oba svojstva zajedno treba uzeti u obzir za ocjenu kakvoće mesa (Węglarz, 2010.).

Gore navedene osobine usko su povezane sa sposobnošću zadržavanja vode u mesu, što je još jedna značajna karakteristika kvalitete mesa. Kada su tovne piliće hranili *Bacillus subtilis*-om, te kada je meso tih pilića pohranjeno u hladnoj komori na 7 dana, tijekom skladištenja uočeno je značajno smanjenje pH vrijednosti, a taj niži pH je koristan za skladištenje mesa (Abdulla i sur., 2017.). Značajno povećanje crvenila mesa prsa uočeno je kada je *Lactobacillus fermentum* dodan u vodu za piće brojlera kao probiotik (Haščik, 2015.), a crvenilo u mesu potrošači najviše vole (Jiang i sur., 2014.).

Međutim, drugim eksperimentom, Haščika i sur., (2015.), otkrili su značajna povećanja svjetline komada mesa bataka i prsa te također povećanu žutost i crvenilo u komadima bataka kada su brojlerima dodali probiotik u mješavini s pčelinjim peludom. Procijenjena su opća senzorska svojstva mesa i opisano je da dodatak probiotika u hranidbi tovnih pilića poboljšava kvalitetu mesa i mikrobiološke vrijednosti kroz skladištenje mesa prije i nakon smrzavanja (Kabir i sur., 2005.). Ukupni broj održivih bakterija bio je niži za meso dobiveno od pilića hranjenih probioticima u usporedbi s mesom kontrolnih ptica. Također, značajke kvalitete izgleda, sočnosti, teksture i prihvatljivosti mesnih okruglica bile su značajno veće kod ptica hranjenih probioticima, međutim kod ptica hranjenih probioticima, okus okruglica je bio lošiji (Mahajan i sur., 2000.).

S druge strane, poboljšana je mekoća i ukupna kvaliteta mesa kada su hranjeni staničnim komponentama *Saccharomyces cerevisiae* kao probioticima (Zhang i sur, 2005.). Mekoća mesa peradi, kao i drugih životinja, može se poboljšati dodatkom kvasca ili ekstrakta kvasca iz *Saccharomyces cerevisiae*.

2.8. *Bacillus subtilis*

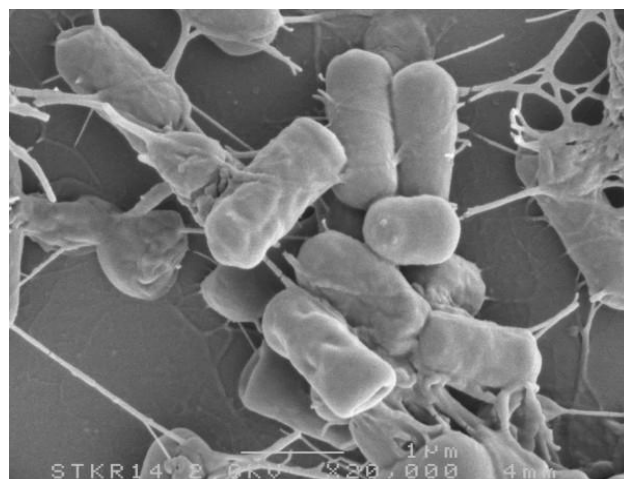
Bacillus subtilis je sporulirajuća štapičasta gram-pozitivna bakterija koja uspijeva u tlu. Kao i većina njegovih najbližih rođaka, *B. subtilis* je nepatogena, te je čak dobila status općenito priznate kao sigurne od strane *US Food and Drug Administration*. Prva poznata primjena *B. subtilis* datira više od tisuću godina, kada se već koristila za proizvodnju natto, japanskog prehrambenog proizvoda koji se sastojao od fermentiranih sojinih zrna.

Danas je *B. subtilis* najpoznatiji kao izvor korisnih enzima i finih biokemikalija te kao atraktivan domaćin za proizvodnju heterolognih proteina. Mnogi različiti enzimi, poput

proteaza i amilaza, koji potječu iz *B. subtilis* i srodnih vrsta ***Bacillus***, koriste se u industriji za širok raspon različitih primjena. Važno je da *B. subtilis* može proizvesti i izlučiti velike količine proteina u medij kulture. Stoga se ovaj organizam naširoko smatra plodnom "tvornicom stanica" za industrijske enzime i biofarmaceutike (Schallmeyer i sur., 2004.).

B. subtilis genetski je vrlo podložan buduću da razvija genetsku sposobnost za vezanje i preuzimanje DNA. Ovo je jedan od glavnih razloga zašto se bacili intenzivno koriste u primijenjenim i temeljnim znanstvenim istraživanjima više od 50 godina. Godine 1990. započela je europsko-japanska istraživačka suradnja s ciljem sekvenciranja cijelog genoma *B. subtilis*. To je dovelo do objavljivanja cijele označene sekvence genoma Kunsta i suradnika 1997. godine.

Naknadni međunarodni projekt doveo je do identifikacije svih bitnih gena u *B. subtilis*. Danas je *B. subtilis* jedan od najbolje poznatih živih organizama i postao je paradigma za istraživanje Gram-pozitivnih bakterija. Dostupni su detaljni skupovi podataka o transkriptomu, proteomu, sekretomu i metabolomu *B. subtilis*, što predstavlja bogat izvor informacija za istraživanje vrsta *Bacillus* (Fischer i sur. 2005.) Važno je da relativno bliski odnosi između *B. subtilis* i klinički relevantnih gram-pozitivnih patogena također čine ovaj organizam vrlo relevantnim za istraživanje potencijalnih meta za nove antimikrobne i antiinfektivne lijekove.



Slika 1. Mikroskopski prikaz probiotika *Bacillus subtilis*
(www.researchgate.net)

Bacillus subtilis kao domaćin za proizvodnju proteina trenutno najčešće korišteni bakterijski domaćin za industrijsku proizvodnju heterolognih proteina je *Escherichia coli*. Prednosti njegove upotrebe kao proizvodnog domaćina za proteine su da se može lako uzgajati u velikim fermentacijama, i da je genetski podložan i sposoban proizvoditi velike količine proteina. Međutim, u *E. coli* proizvedeni proteini se obično nakupljaju unutar stanica gdje imaju visok potencijal agregacije, što rezultira stvaranjem inkluzijskih tijela. Za dobivanje proteina, inkluzijska tjelešca moraju biti odvojena od stanice, a proteini se potom moraju oporaviti iz inkluzijskih tjelešaca. Štoviše, vanjska membrana *E. coli*, i Gram-negativnih bakterija općenito, sadrži lipopolisaharid (LPS ili endotoksin), koji je visoko pirogen i treba ga potpuno ukloniti prije nego što se proizvedeni proteini mogu koristiti u kliničke svrhe. *B. subtilis* ima izvrsne kapacitete fermentacije koji su jednaki, ako ne i bolji, od *E. coli*. Osim toga, *B. subtilis* također je sposoban proizvoditi velike količine proteina. Međutim, za razliku od *E. coli*, *B. subtilis* nema vanjsku membranu i može izlučivati ​​proteine izravno u medij. Stoga se izlučeni proteini mogu lako pročistiti iz medija u njihovom aktivnom obliku, što znatno pojednostavljuje daljnju obradu.

Kao što je navedeno *Bacillus subtilis* je sposoban proizvoditi i izlučivati ​​velike količine proteina visoke kvalitete. Mnogo se već zna o mehanizmima koji utječu na biogenezu, membransku translokaciju i stabilnost ovih proteina. Nasuprot tome, naše trenutno razumijevanje biogeneze membranskih proteina i proteinskih kompleksa u *B. subtilis* je još uvijek relativno ograničeno. Unatoč tome, veliki potencijal *B. subtilis* za proizvodnju proteina daje uvjerenje da se ovaj svestrani organizam domaćin također može iskoristiti za proizvodnju proteinskih kompleksa i membranskih proteina kako bi se olakšala njihova funkcionalna i strukturna analiza (Himanen i sur., 1990.).

Zaključno, čini se da je *B. subtilis* savršeno postavljen za buduću primjenu kao ekspresijski sustav za proizvodnju proteinskih kompleksa i membranskih proteina, posebno onih koji potječu od Gram-pozitivnih bakterija i patogena. Istraživanja u ovom smjeru zasigurno će rezultirati tehničkim strategijama za prevladavanje trenutnih uskih grla i dovesti do razvoja superproduktivnih sojeva.

3. HIPOTEZA I CILJ ISTRAŽIVANJA

Promotori rasta su dodaci koji se koriste u hranidbi životinja za poboljšanje njihove produktivnosti. Većinom su to antibakterijski proizvodi i kokcidiostatici koji se terapijski koriste do pred samo klanje. Ograničenja upotrebe antibiotika koje je uvela EU, uz zahtjeve potrošača za proizvodima bez antimikrobnih ostataka, naveli su proizvođače da pronađu alternativu.

Stoga je na temelju dosadašnjih istraživanja postavljena sljedeća hipoteza:

Probiotici poboljšavaju iskorištenje hrane uz tendenciju povećanja upotrebe u smjesama jer ne ostavljaju ostatke u okolišu, tijelu životinje i ne uzrokuju rezistenciju kod ljudi u usporedbi s antibioticima.

Stoga je cilj ovog rada utvrditi učinak probiotika na bazi *Bacillus subtilis* na proizvodne rezultate i klaoničke pokazatelje trupa pilića.

4. MATERIJAL I METODE

4.1. Odvijanje istraživanja

U istraživanju je korišteno 240 pilića (Ross 308) porijeklom iz valionice „Valionica Hrašćanec“ Koprivnica u pokusnom peradnjaku Zavoda za hranidbu životinja. Slučajnim izborom pilići su raspoređeni u dvije hranidbene skupine, kontrolna i pokusna. Radi izbjegavanja pozicijskog efekta istraživane su skupine u pokusnom objektu raspoređene slučajnim odabirom. Svaka skupina imala je šest ponavljanja sa po 20 pilića. Istraživanje je trajalo 35 dana.

Istraživane skupine brojlera bile su smještene u prethodno pripremljen i dezinficiran objekt, pokusne površine 24m², odnosno, 10 pilića/m². Brojleri su bili držani podno u boksovima, prema tehnološkim normativima. Na betonski pod stavljena je stelja od suhe blanjevine, debljine sloja cca 10 cm. Skupine su u boksovima bile međusobno odijeljene žičanom mrežom. Uvjeti držanja bili su ujednačeni za sve skupine. Ventilacija je u objektu bila prirodna (gravitacijska) i aktivna (pomoću ventilatora), a brojleri su grijani infracrvenim žaruljama jačine 250 W. Pokusni objekt je dodatno grijan s dva električna radijatora. Temperatura u zoni boravka brojlera iznosila je 32 °C na početku pokusa, te je postupno snižavana podešavanjem visine žarulja.

4.2. Hranidba pilića

Pilići su hranjeni po volji prvih sedam dana iz podnih hranilica, a zatim do kraja istraživanja iz okruglih visećih hranilica kapaciteta 10 kg. Konstrukcija hranilice je smanjila rastep krmne smjese na minimum. Brojleri su u prvih sedam dana pili vodu iz okruglih plastičnih pojilica, a nakon toga iz automatskih okruglih visećih pojilica koje su svaki dan prane i jednom tjedno dezinficirane.

Hranidbeni tretman bio je podijeljen u tri faze. U prvoj fazi u dobi pilića od 1. do 14. dana pilići su konzumirali početnu krmnu smjesu s 22% sirovih proteina (SP), u drugoj fazi od 15. do 28. dana krmnu smjesu za piliće u porast s 20% SP, te na kraju od 29. do 35. dana za vršnu krmnu smjesu s 18% SP (Tablica 1).

Krmne smjese su proizvedene su u TSH „Kušić - promet“, te su po dolasku u pokusni objekt uzeti uzorci za analizu. U laboratoriju Zavoda za hranidbu životinja Agronomskog

fakulteta Sveučilišta u Zagrebu izvršeno je utvrđivanje kemijskog sastava krmnih smjesa, a rezultati su prikazani u Tablici 2.

Tablica 1. Sirovinski sastav krmnih smjesa (KS) za piliće (%)

Krmivo	Početna KS	Porast KS	Završna KS
Kukuruz	50,0	51,8	53,0
Sojina sačma, 46%	31,0	21,2	16,0
Lucerna	3,0	4,0	5,0
Protein Gold	5,0	3,0	4,0
Soja, tostirana	-	6,0	10,0
Stočno brašno	-	-	1,0
Kvasac	2,0	4,0	-
Ulje	4,0	5,0	6,0
Premiks, Kuškovit	5,0	5,0	5,0

Krmne smjese proizvedene su prema preporukama proizvođača Ross 308 pilića, te je u pokusnu krmnu smjesu dodano 40g/t probiotika (*Bacillus subtilis* DSM 28343).

Masa pilića, konzumacija i mortalitet praćeni su tijekom cijelog tova i na temelju njih izračunati prirasti tjelesne mase i konverzije krmnih smjesa.

Tablica 2. Kemijski sastav krmnih smjesa za piliće (%)

Krmivo	Početna KS	Porast KS	Završna KS
Suha tvar	75,84	76,90	74,99
Pepeo	6,69	6,33	5,88
Sirovi protein	22,09	20,07	18,06
Sirova vlakna	3,52	4,23	4,83
Sirova mast	6,61	8,72	10,39
Škrob	31,45	32,38	33,86
Šećer	2,15	2,21	2,36
Kalcij	1,15	1,00	1,03
Fosfor	0,64	0,62	0,61
Lizin	1,41	1,26	1,11
Metionin	0,59	0,54	0,45
Metabolička energija (MJ/kg)	12,52	13,04	13,55

4.3. Usmrćivanje i rasijecanje pilića

Na kraju tova na 20 pilića svakog tretmana utvrđeni su klaonički pokazatelji trupa pilića (randman; udjeli krila, bataka, zabataka, prsa, filea, leđa, te abdominalne masti, mase želuca i jetre).

Brojleri su ručno hvatani iz svakog pojedinog kaveza, vagani (vagom za vaganje živih brojlera Tefal s preciznošću mjerenja 1g) i stavljeni u lijevke za klanje gdje su prije svega omamljeni, te pomoću noža, vanjskim rezom, prerezivanjem vratnih krvnih žila izvršilo usmrćivanje. Nakon usmrćivanja uslijedilo je iskrvarenje (2-3 minute), a zatim i šurenje u vrućoj vodi (53-62 °C). Neposredno iza šurenja izvršeno je ručno čerupanje perja, evisceracija, pranje i hlađenje trupova (24 sata). Ohlađeni trupovi ručno su rasijecani na osnovne dijelove, vagani (vagom Mettler Toledo AB 204-S s preciznošću mjerenja 0.01g).

4.4. Statistička analiza

Istraživanje je provedeno kako bi se prikazao utjecaj dodatka probiotika na proizvodne rezultate u tovu pilića. Signifikantnost je utvrđena ako je $P < 0,05$. Statistička obrada dobivenih rezultata istraživanja provedena je korištenjem procedure MIXED unutar SAS 9.4. statističkog programa (SAS Institute 2015.).

5. REZULTATI ISTRAŽIVANJA I DISKUSIJA

Prosječna tjelesna masa i prirast tjelesne mase najvažniji su proizvodni parametri koji pokazuju uspješnost tova i prikazani su u Tablici 3. Na početku tova prosječna tjelesna masa pilića bila je ujednačena u svim skupinama i kretala se od 41,78 do 42,44 g. Analizom rezultata tvrdeno je da su najbolju prosječnu tjelesnu masu na kraju tova postigli pilići kontrolne K skupine (2268.80 g) – za 2,6% više u odnosu na piliće pokusne P skupine (2211,58 g).

Tablica 3. Tjelesne mase pilića hranjenih krmnim smjesama sa i bez probiotika (g)

DAN	TRET.	Prosjek	Mini.	Maks.	SD	SEM	CV
1	K	42.44	34,00	50,00	3.122	0.271	0.074
	P	41.78	33,00	52,00	3.398	0.294	0.081
14	K	452.05	208,00	612,00	68.544	6.012	0.152
	P	446.65	208,00	667,00	76.491	6.511	0.171
28	K	1541.95	1085,0	1962,0	148.482	13.388	0.096
	P	1520.83	971	1965	165.482	15.044	0.109
35	K	2268.80	2026,62	2249.86	228.352	20.507	0.101
	P	2211.58	1826.95	2242.48	289.988	26.472	0.131

TRET – tretman, K – Kontrola, P – Probiotik, N – broj pilića, SD – standardna devijacija, SEM – standardna greška prosijeka, CV – koeficijent varijabilnost

U Tablici 4. prikazane su prosječne vrijednosti konverzije pilića hranjenih krmnim smjesama sa i bez probiotika. Analizom varijance nisu utvrđene statistički značajne razlike ($p>0,05$) između srednjih vrijednosti konverzije krmnih smjesa sa i bez probiotika kod pilića

28. i 35. dana. Najvišu prosječnu konverziju ostvarili su pilići 35. dana iz kontrolne K skupine od 1.833 g. Dok je najmanja konverzija krmnim smjesa ostvarena u periodu od 1 do 14 dana, u pokusnoj P skupini od 1.282 g. Iz Tablice 3 i 4. možemo zaključiti da su pilići iz pokusnih P skupina manjih masa u odnosu na kontrolne K skupine, te analizom rezultata utroška hrane iskazanih kroz pokazatelje konverzije vidljivo je da su na kraju tova pilići pokusnih skupina ostvarili neznatno bolju konverziju hrane.

Tablica 4. Konverzije pilića hranjenih krmnim smjesama sa i bez probiotika (g/kg)

DAN	TRET.	Prosjek	SD	SEM	CV
1 - 14	K	1.412	0.244	0.100	0.173
	P	1.282	0.065	0.027	0.051
15 – 28	K	1.763	0.054	0.022	0.031
	P	1.725	0.051	0.021	0.030
29 -35	K	1.833	0.091	0.037	0.050
	P	1.720	0.187	0.077	0.109
1 - 35	K	1.836	0.244	0.1	0.173
	P	1.722	0.065	0.027	0.051

TRET. – tretman, K – Kontrola, P – Probiotik, N – broj pilića, SD – standardna devijacija, SEM – standardna greška prosijeka, CV – koeficijent varijabilnost

Slično našim rezultatima, pozitivne, ali ne i statistički značajne učinke probiotika na tjelesnu masu pilića tijekom tova, potvrdili su brojni autori (Brzoska i sur., 1999.; Onifade i sur., 1999.; Djouvinov i sur., 2005.). Primjena probiotika Vebac koji sadrži *Enterococcus faecium* M-74 u vodi za piće kod brojlerskih pilića tijekom 42 dana tova prema navodima Ivanković i sur. (1999.) dovela je do povećanja završne tjelesne mase za 10,8%.

Pozitivno djelovanje kulture *L. acidophilus* (izolirane iz acidofilnog mlijeka), koju je sadržavalo eksperimentalno probiotičko sredstvo, u skladu je s istraživanjima Aftahi i sur. (2006.) i Sultan i sur. (2006.), koji su ispitali utjecaj jogurta kao probiotika na proizvodne rezultate tovnih pilića. Pozitivne učinke primjene probiotičkog sredstva koje je sadržavalo inaktivirani pekarski kvasac, vitamin C i laktozu kod pilića u tovu utvrdili su Softić i sur. (2003.), te Kavazović i sur. (2004.)

Tablica 5. Klaonički pokazatelji i udio pojedinih dijelova trupa pilića, %

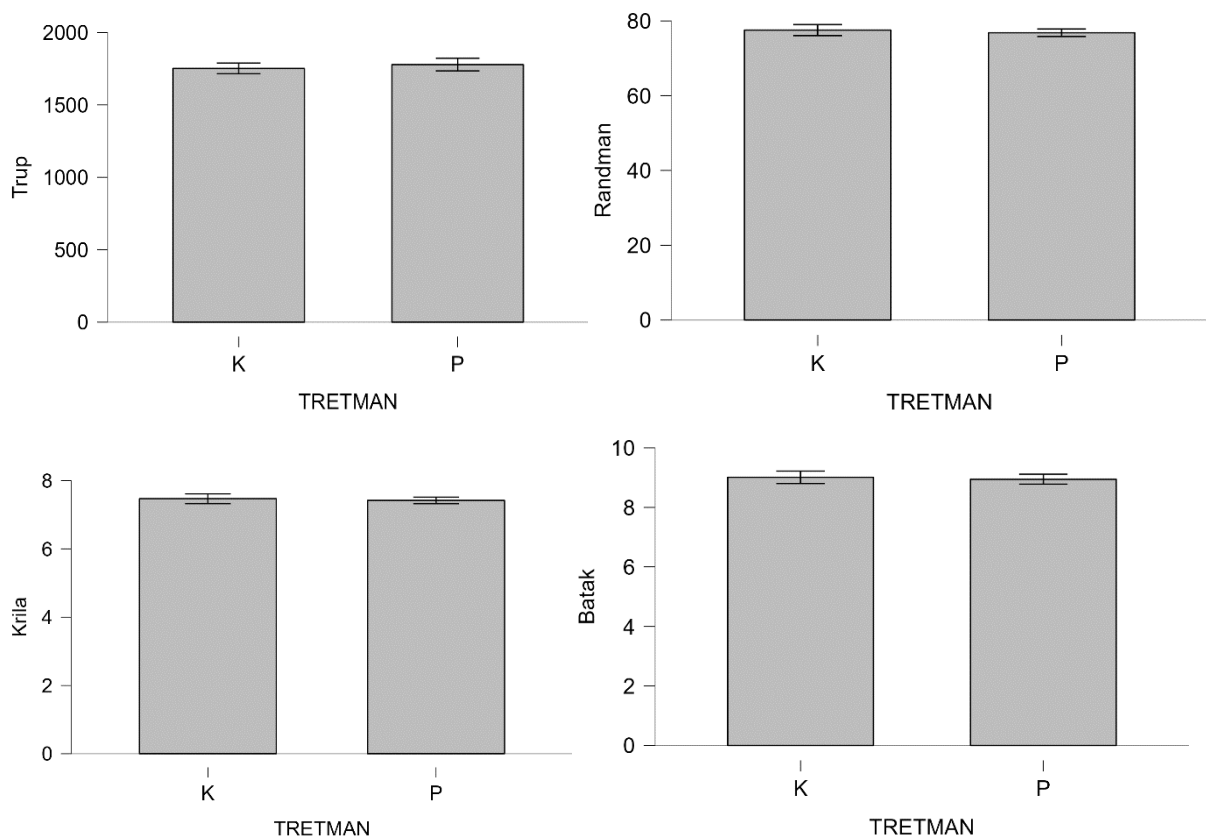
	Tret.	Pros.	SEM	SD	CV	Mini.	Maksi.	p-vrij.
Trup, g	K	1752	37.10	165.93	0.10	1463	2010	0.647
	P	1778	43.94	196.51	0.11	1346	2183	
Randman	K	77.54	1.47	6.572	0.085	59.28	90.34	0.698
	P	76.84	1.01	4.519	0.059	72.52	91.24	
Krila	K	7.471	0.143	0.64	0.086	6.15	8.87	0.780
	P	7.423	0.096	0.428	0.058	6.86	8.5	
Batak	K	9.011	0.209	0.934	0.104	6.91	11.01	0.811
	P	8.947	0.168	0.751	0.084	7.99	11.29	
Zabatak	K	11.1	0.211	0.944	0.085	8.8	12.98	0.808
	P	11.03	0.219	0.979	0.089	9.77	14.26	
Prsa	K	29.4	0.581	2.598	0.088	22.01	34.77	0.429
	P	28.76	0.541	2.421	0.084	22.6	33.77	
File	K	23.19	0.471	2.107	0.091	17.5	27.43	0.849
	P	23.06	0.498	2.227	0.097	18.53	28.78	
Leđa	K	18.41	0.423	1.892	0.103	13.89	22.67	0.736
	P	18.61	0.419	1.874	0.101	16.8	23.48	
Abd.mast	K	0.655	0.072	0.323	0.492	0.25	1.48	0.362
	P	0.773	0.105	0.469	0.607	0.05	1.67	
Želudac	K	1.472	0.055	0.247	0.168	1.13	2.1	0.912
	P	1.463	0.065	0.289	0.197	0.97	2.21	
Jetra	K	1.895	0.041	0.184	0.097	1.53	2.27	0.195
	P	1.985	0.054	0.241	0.122	1.53	2.53	

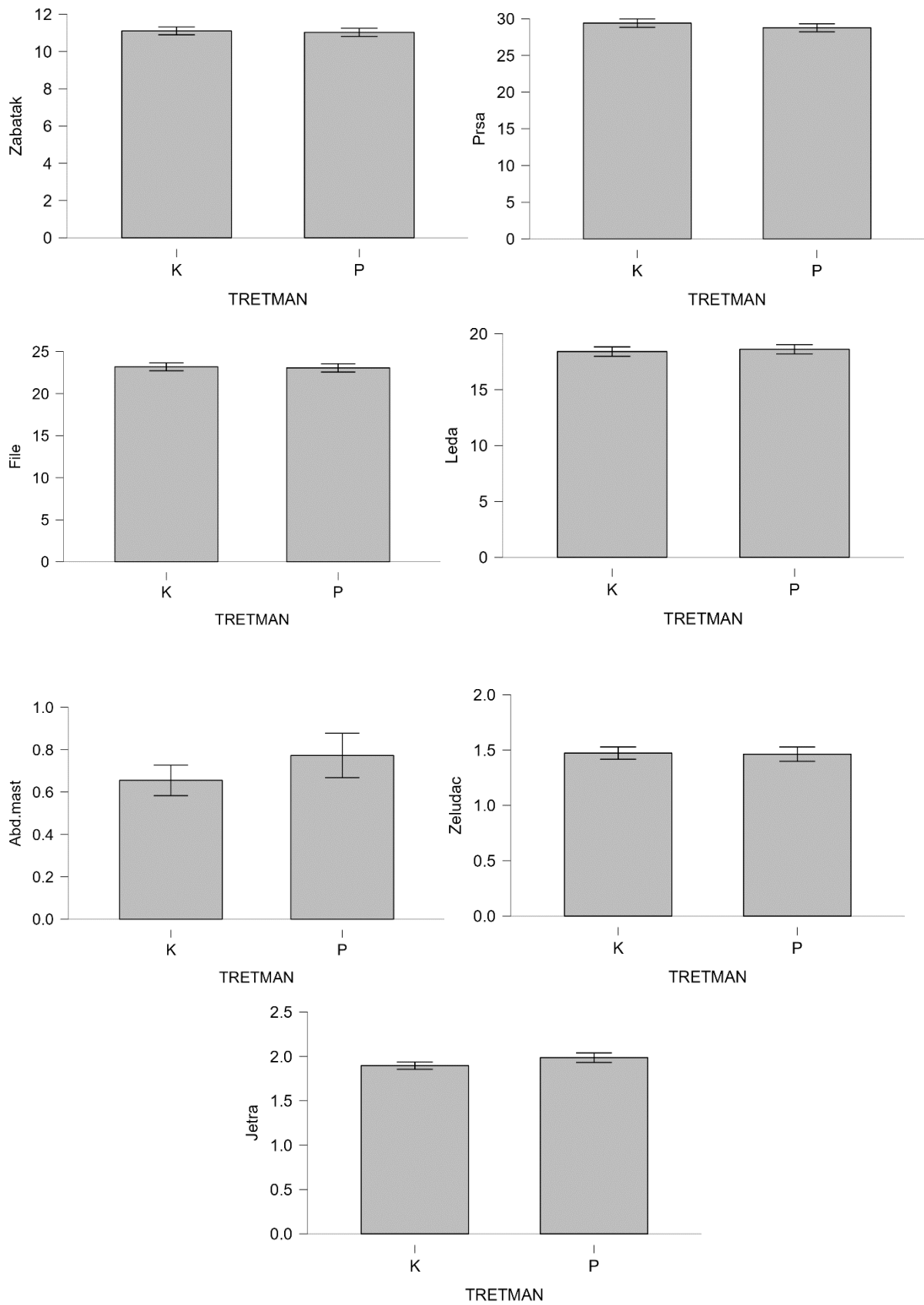
Prema Ferreira i Kusakawa (1999.), probiotici nemaju uvijek pozitivne rezultate u odnosu na težinu prirast i konverzija hrane peradi. Razlog tome je zdravlje peradi, trajanje peradarnika, vrijeme zastoja i razine zagađenja okoliša. Nadalje, postoji potreba za probioticima u odgovarajuće vrijeme koncentracije i dovoljne stabilnosti, kako tijekom skladištenja, tako prilikom davanja peradi. Dakle, učinkovitost proizvoda strogo ovisi o karakteristikama i količini sojeva mikroorganizama korištenih u probiotičkom pripravku

(Tournut, 1998.). vrlo je teško povući paralelu između studija i usporediti rezultate. Takahashi i sur. (2005.) nisu pronašli nikakav učinak korištenja probiotika i prebiotici na konačnu težinu, prirast i hranu konverzija brojlera tijekom 1-35 dana starosti.

Nakon klanja pilića, hlađenja i obrade izvršeno je pojedinačno vaganje obrađenih trupova. Na taj način utvrđena je masa trupova sa jestivih iznutrica (jetra, želudac i abdominalna mast), a stavljanjem dobijenih vrijednosti u međudnos s tjelesnom masom pilića prije klanja izračunati su randmani mesa sa jestivih iznutrica (Tablica 5.).

Najveću prosječnu masu obrađenih trupova nakon klanja imale su jedinke pokusnih P skupina (1778 g). Jedinke kontrolne K skupine ostvarile su najmanju prosječnu masu obrađenih trupova 1752 g - uz najnižu standardnu devijaciju i koeficijent varijacije. Prosječna masa obrađenih trupova brojlera iz pokusnih skupina bila je veća za 1,48% u odnosu na kontrolnu skupinu pilića, ali bez statističke opravdanosti utvrđenih razlika (Grafikon 1.).





Grafikon 1. Klaonički pokazatelji pilića 35. dan hranjenih krmnim smjesama bez i s dodatkom probiotika

Utvrđene vrijednosti randmana mesa (Grafikon 1.) bile su za 0,7% veće kod kontrolne skupine u usporedbi sa pokusnom skupinom. Analizom najznačajniju razliku smo dobili kod abdominalne masti, gdje je pokusna skupina ostvarila 0,773 g više abdominalne masti u odnosu na kontrolnu skupinu što je u postotcima 18% više. (Grafikon 1.)

Kod ostalih pojedinih dijelova trupa i jestivih iznutrica nije bilo statistički značajnih razlika te su rezultati gotovo istovjetni.

6. ZAKLJUČAK

Na temelju dobivenih rezultata istraživanja može se zaključiti da:

- Korištenje probiotika na bazi *Bacillus subtilis* ne poboljšava proizvodne rezultate pilića u tovu, odnosno, smanjuje prosječne tjelesne mase i priraste.
- Dodavanje probiotika doprinosi povećanju konverzije hrane pilića u tovu i većem taloženju abdominalne masti u trupu.

Međutim, daljnja istraživanja dokazivanja učinka probiotika *Bacillus subtilis* i drugih sojeva mikroorganizama te bioaktivnih tvari iz biljnog materijala, kao alternative antibioticima i njihov utjecaj na zdravlje i proizvodnju, pilića u tovu, neosporno su potrebna.

7. POPIS LITERATURE

1. Abdulla N. R., A. Mohd Zamri A. N., Sabow A. B., Kareem K.Y., Nurhazirah S., Ling F. H., Sazili A. Q. and Loh T. C. (2017.) Physico-chemical properties of breast muscle in broiler chickens fed probiotics, antibiotics or antibiotic–probiotic mix, *Journal of Applied Animal Research*, vol. 45, 64-70
2. Afshar Mazandaran N., Rajab A. (2001.) *Probiotics and their use in animal and poultry diets*. Tehran: Noorbakhsh
3. Aftahi, A., T. Munim, M. A. Hoque, M. A. Ashraf (2006.) Effect of Yoghurt and Protexin Boost on Broiler Performance. *International Journal of Poultry Science* 5 (7): 651-655
4. Alkhalf A., Alhaj M. and Al-Homidan I. (2010.) Influence of probiotic supplementation on blood parameters and growth performance in broiler chickens, *Saudi Journal of Biological Sciences*, vol. 17, 219-225
5. Apata D. (2008.) Growth performance, nutrient digestibility and immune response of broiler chicks fed diets supplemented with a culture of *Lactobacillus bulgaricus*. *J Sci Food Agric*;88(7):1253-1258
6. Awad W. A., Bohm J., Razzazi-Fazeli E., Ghareeb K., Zentek J. (2006.) Effect of addition of a probiotic microorganism to broiler diets contaminated with deoxynivalenol on performance and histological alterations of intestinal villi of broiler chickens. *Poult Sci.*;85(6):974-979
7. Brzoska, F., Grzybowski R., Stecka K., Pieszeka M. (1999.) Effect of probiotic microorganisms vs. antibiotics on chicken broiler body weight, carcass yield and carcass quality. *Ann. Anim. Sci. – Rocz. Nauk. Zoot.*, Vol 26, No.4 , 303-315
8. Chiang S. H., Hsieh W. M. (1995.) Effect of direct-fed microorganisms on broiler growth performance and litter ammonia level. *Asian-Australas J Anim Sci.*;8(2):159-162
9. Corrêa, G.S.S., Gomes, A.V.C., Corrêa, A.B. et al. (2003.) Efeito de antibiótico e probiótico sobre o desempenho e rendimento de carcaça de frangos de corte. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.55, n.4, 467-473
10. Dierick N. A. (1989.) Biotechnology aids to improve feed and feed digestion: enzymes and fermentation. *Arch Anim Nutr.*;39(3):241-261

11. Djouvinov, D., Stefanov M., Boicheva S., Vlaikova T. (2005.) Effect of diet formulation on basis of digestible amino acids and supplementation of probiotic on performance of broiler chicks. *Trakia Journal of Science*, Vol. 3, No. 1, pp 61-69
12. Duke G. (1977.) Avian digestion. *Physiology of Domestic Animals*;9:313-320
13. Ferreira, F.A.B.; Kusakawa, K.C.K. (1999.) Probióticos. *Biotecnologia, Ciência & Desenvolvimento*, n.8, p.40-43
14. Fischer E., Sauer U. (2005.) Large-scale in vivo flux analysis shows rigidity and suboptimal performance of *Bacillus subtilis* metabolism. *Nat Genet*, 37:636-640
15. Fong F. L. Y., Shah N. P., Kirjavainen P. and El-Nezami H. (2016.) Mechanism of action of probiotic bacteria on intestinal and systemic immunities and antigen-presenting cells, *International Reviews of Immunology*, vol. 35, 179-188
16. Fritts C. A., Kersey J. H., Motl M. A. et al. (2000.) *Bacillus subtilis* C-3102 (Calsporin) improves live performance and microbiological status of broiler chickens. *J Appl Poult Res*;9(2):149-155
17. Fuller R. (1992.) History and development of probiotics. In: Fuller R, ed. *Probiotics: The scientific basis*. Dordrecht: Springer Netherlands; 1-8.
18. Fuller, R. (1989.) Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, v.66, 365-378
19. Ghadban, G.S. (2002.) Probiotics in broiler production-A review, *Arch. For Poultry Science*, vol. 66, 49-58
20. Gill H. S. (2003.) Probiotics to enhance anti-infective defences in the gastrointestinal tract, *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, vol. 17, 755-773
21. Haščík P., Trembecká L., Bobko M., Čuboň J., Bučko O. and Tkáčová J. (2015.) Evaluation of meat quality after application of different feed additives in diet of broiler chickens, *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 9, 174-182
22. Haščík P., Trembecká L., Bobko M., Kačániová M., Bučko O., Tkáčová J. and Kunová J. (2015.) Effect of different feed supplements on selected quality indicators of chicken meat, *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences*, vol. 9, 427-434
23. Himanen J.P., Taira S., Sarvas M., Saris P., Runeberg-Nyman K. (1990.) Expression of pertussis toxin subunit S4 as an intracytoplasmic protein in *Bacillus subtilis*. *Vaccine*, 8:600-604

24. Hooper L.V., Midtvedt T. and Gordon J. I. (2002.) How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine, *Annual Review of Nutrition*, vol. 22, 283-307
25. Iannitti T. and Palmieri B. (2010.) Therapeutical use of probiotic formulations in clinical practice, *Clinical Nutrition*, vol. 29, 701-725
26. Imani Fooladi A. A., Mahmoodzadeh Hosseini H., Nourani M. R., Khani S., Alavian S. M. (2013.) Probiotic as a novel treatment strategy against liver disease. *Hepat Mon*;13(2):7521
27. Ivanković S., Kralik G., Milanković Z., Bogut I. (1999.) Effect of probiotic Vebac on the growth of broilers. *Acta Agraria Kaposvariensis*, Vol.3 No 2, 353-360
28. Jenkins D. J. A., Kendall C. W. C. and Vuksan V. (1999.) Inulin oligofructose and intestinal function, *The Journal of Nutrition*, vol. 129, 1431–1433
29. Jiang S., Jiang Z, Zhou G., Lin Y. and Zheng C. (2014.) Effects of dietary isoflavone supplementation on meat quality and oxidative stability during storage in lingnan yellow broilers, *Journal of Integrative Agriculture*, vol. 13, 387-393
30. Jones M. L., Tomaro-Duchesneau C., Martoni C. J. and Prakash S. (2013.) Cholesterol lowering with bile salt hydrolase-active probiotic bacteria, mechanism of action, clinical evidence, and future direction for heart health applications, *Expert Opinion on Biological Therapy*, vol. 13, 631-642
31. Kabir S., Rahman M. M., Rahman M., Rahman M. and Ahmed S. (2004.) The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers, *International Journal of Poultry Science*, vol. 3, 361-364
32. Kabir S., Rahman M. and Rahman M. (2005.) Potentiation of probiotics in promoting microbiological meat quality of broilers, *Bangladesh Journal of Agricultural Research*, vol. 2, 93-96
33. Karimi-Kivi R., Dadashbeiki M., Seidavi A. (2015.) Growth, body characteristics and blood parameters of ostrich chickens receiving commercial probiotics. *Span J Agric Res*.;13(1):1-11
34. Katoch S., Kaistha M., Sharma K. S., Kumari M., Sharma C. R. and Katoch B. S. (1996). Effect of dietary supplementation of microbes isolated from faecal material of leopard (panther leo) on the performance of chicks of different strains. *Indian Journal of Poultry Science*, 35(1): 57-61.

35. Kavazović, A., Sivo Š., Rešidbegović E., Alibegović-Zečić F., Gagić A. (2004.) Utjecaj probiotika na proizvodne rezultate tovnih pilića provenijencije Cobb. *Krmiva* 46, 3; 135-139
36. Khani S., Mahmoodzadeh Hosseini H., Taheri M., Nourani M. R., Imani Fooladi A. A. (2012.) Probiotics as an alternative strategy for prevention and treatment of human diseases: a review. *Inflamm Allergy Drug Targets*;11(2):79-89
37. Khani S., Motamedifar M., Golmoghaddam H., Mahmoodzadeh Hosseini H., Hashemizadeh Z. (2012.) In vitro study of the effect of a probiotic bacterium *Lactobacillus rhamnosus* against herpes simplex virus type 1. *Braz J Infect Dis*;16(2):129-135
38. Kizerwetter-Swida M., Binek M. (2009.) Protective effect of potentially probiotic *Lactobacillus* strain on infection with pathogenic bacteria in chickens. *Pol J Vet Sci.*; 12(1):15-20
39. Kunst F., Ogasawara N., Moszer I., Albertini A.M., Alloni G., Azevedo V., Bertero M.G. (1997.) The complete genome sequence of the grampositive bacterium *Bacillus subtilis*. *Nature*, 390:249-256
40. Lee S. H., Lillehoj H. S., Dalloul R. A., Park D. W., Hong Y. H. and Lin J. J. (2007.) Effects of *Pediococcus*-based probiotic on coccidiosis in broiler chickens, *Poultry Science*, vol. 86, 63-66
41. Line J. E., Bailey J. S., Cox N. A., Stern N. J., Tompkins T. (1998.) Effect of yeast-supplemented feed on *Salmonella* and *Campylobacter* populations in broilers. *Poult Sci.*;77(3):405-410
42. Lorençon, L., Nunes, R.V., Pozza, P.C. et al. (2007.) Utilização de promotores de crescimento para frangos de corte em rações fareladas e peletizadas. *Acta Scientiarum Animal Science*, v.29, n.2, 151-158
43. Mahajan P., Sahoo J. and Panda P. (2000.) Effect of probiotic (Lacto-Sacc) feeding, packaging methods and seasons on the microbial and organoleptic qualities of chicken meat balls during refrigerated storage, *Journal of Food Science and Technology (Mysore)*, vol. 37, 67-71
44. Mojtaba Z., Nahid Z., Mohammad R. and Sudabeh P. (2015.) Effect of *Bacillus Subtilis* spore (GalliPro[®]) nutrients equivalency value on broiler chicken performance, *Italian Journal of Animal Science*, vol. 14, 94-98

45. Markowiak P., Śliżewska K. (2017.) Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*; 9(9):1021
46. Marteau P., Rambaud J. C. (1993.) Potential of using lactic acid bacteria for therapy and immunomodulation in man. *FEMS Microbiol Rev.*;12(1-3):207-220
47. Mazmanian S. K., Round J. L. and Kasper D. L. (2008.) A microbial symbiosis factor prevents intestinal inflammatory disease, *Nature*, vol. 453, 620-625
48. Mulder, R.W.A.W. (1991.) Probiotics as a tool against Salmonella contamination. *World's Poultry Science Journal*, v.7, n.3, 36-37
49. Nayeypor M., Farhomand P., Hashemi A. (2007.) Effects of different levels of direct fed microbial (Primalac) on growth performance and humoral immune response in broiler chickens. *J Anim Vet Adv.*;6(11):1308-1313
50. Nepomuceno, E. S.; Andreatti, R. L. F. (2000.) Probióticos e prebióticos na avicultura. In: SIMPÓSIO DE SANIDADE AVÍCOLA, 2., Santa Maria. Anais... Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, v.1, 45-55
51. Nisbet D. J., Tellez G. I., Lowry V. K., et al. (1998.) Effect of a commercial competitive exclusion culture (Preempt) on mortality and horizontal transmission of Salmonella gallinarum in broiler chickens. *Avian Dis.*; 42(4):651-656
52. Oelschlaeger T. A. (2010.) Mechanisms of probiotic actions—a review, *International Journal of Medical Microbiology*, vol. 300, 57-62
53. Ogbe A. O., Atwod S. E., Abdu P. A., Sannusi A. and Itodo A. E. (2009.) Changes in weight gain, faecal oocyst count and packed cell volume of Eimereria tenella infected broiler treated with a wild mushroom (Gahoderma lucidum) aqueous extract, *Journal of The South African Veterinary Association*, vol. 80, 97-102
54. Onifade, A. A., Odunsi A. A., Babatunde G. M., Olrede B. R., Muma E. (1999.) Comparison of the supplemental effects of Saccharomyces cerevisiae and antibiotics in low protein and high fibre diets fed to broiler chickens. *Arch Tierernahr.* 52(1): 29-39.
55. Parker R. B. (1974). Probiotics, the other half of the antibiotic story. *Animal Nutrition and Health*, 29: 4-8
56. Piva A. (1998.) Non-conventional feed additives, *Journal of Animal and Feed Sciences*, vol. 7, 143–154

57. Pournazari M., AA-Qotbi A., Seidavi A., Corazzin M. (2017.) Prebiotics, probiotics and thyme (*Thymus vulgaris*) for broilers: performance, carcass traits and blood. *Rev Colomb Cienc Pecua*; 30(1):3-10
58. Raghuwanshi S., Misra S. and Bisen P. S. (2015.) Indian perspective for probiotics: A review, *Indian Journal of Dairy Science*, vol. 68, 195-205
59. Rajput I., Li L., Xin X., Wu B., Juan Z., Cui Z., Yu D. and Li W. (2013.) Effect of *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus subtilis* B10 on intestinal ultrastructure modulation and mucosal immunity development mechanism in broiler chickens, *Poultry Science*, vol. 92, 956-965
60. Rather, I. A, Choi K. H., Bajpai V. K., and Park Y. H. (2015.) Antiviral mode of action of *Lactobacillus plantarum* YML009 on Influenza virus H1N1, *Bangladesh Journal of Pharmacology*, vol. 10, pp. 475–482
61. Rincon R. H. S., Perez M. C., Perez M. L., Brinez W. J., Arzalluz A. M. and Urdaneta S. E. (2000). Effect of lactic acid bacteria as probiotic. *Revista Científica Facultad de Ciencias Veterinarias Universidad del Zulia.*, 10(4): 310-314
62. Roselli M., Finamore A., Britti M. S., Bosi P., Oswald I. and Mengheri E. (2005.) "Alternatives to in-feed antibiotics in pigs: Evaluation of probiotics, zinc or organic acids as protective agents for the intestinal mucosa. A comparison of in vitro and in vivo results," *Animal Research*, vol. 54, 203-218
63. Salminen S., Isolauri E. and Salminen E. (1996.) Clinical uses of probiotics for stabilizing the gut mucosal barrier: successful strains and future challenges, *Antonie Van Leeuwenhoek*, vol. 70, 347-358
64. Salzman N. H., Ghosh D., Huttner K. M., Paterson Y. and Bevins C. L. (2003.) "Protection against enteric salmonellosis in transgenic mice expressing a human intestinal defensin," *Nature*, vol. 422, 522-526
65. Samantha M. and Biswas P. (1997). Effect of feeding *Streptococcus* culture on the performance of broilers, *Journal of Interacademia*, 1(2): 118-120
66. Schallmeyer M., Singh A., Ward OP. (2004.) Developments in the use of *Bacillus* species for industrial production. *Can J Microbiol*, 50:1-17
67. Sissons J. W. (1989.) Potential of probiotic organisms to prevent diarrhoea and promote digestion in farm animals-a review. *J Sci Food Agric.*;49(1):1-13

68. Softić, A., Gagić A., Kustura A., Goletić T., Alibegović-Zečić F., Kavazović Aida, Rešidbegović E. (2003.) Probiotiski učinak na rast pojedinih dijelova tijela tovnih pilića. *Veterinaria* 52, 1-4, 21-26
69. Stavric S., Kornegay E. T. (2008.) Microbial probiotics for pigs and poultry. In: Wallace RJ, Chesson A, eds. *Biotechnology in Animal Feeds and Animal Feeding*. Wiley; 205
70. Stern N. J., Cox N. A., Bailey J. S., Berrang M. E., Musgrove M. T. (2001.) Comparison of mucosal competitive exclusion and competitive exclusion treatment to reduce *Salmonella* and *Campylobacter* spp. colonization in broiler chickens. *Poult Sci.*;80(2):156-160
71. Sultan, A. Durrani F. R., Suhail S. M., Ismail M., Durrani Z., Naila Chand (2006.) Comparative Effect of Yogurt as Probiotic on the Performance of Broiler Chicks. *Pak. J. Biol. Sci.*, 9 (1), 88-92
72. Takahashi, S.E.; Mendes, A.A.; Saldanha, E.S.P.B. et al. (2005.) Efficiency of prebiotics and probiotics on the performance, yield, meat quality and presence of *Salmonella* spp in carcasses of free-range broiler chickens. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, v.7, n.3, p.151-157
73. Timmerman H., Mulder L., Everts H., Van Espen D., Van Der Wal E., Klaassen G., Rouwers S., Hartemink R., Rombouts F. and Beynen A. (2005.) Health and growth of veal calves fed milk replacers with or without probiotics, *Journal of Dairy Science*, vol. 88, 2154-2165
74. Tiwari G., Tiwari R., Pandey S. and Pandey P. (2012.) Promising future of probiotics for human health: Current scenario, *Chronicles of Young Scientists*, vol. 3, pp. 17-28
75. Tournut, J.R. (1998.) Probiotics. In: *Reuniao da sociedade brasileira de Zootecnia 35.*, 1998, Botucatu. *Anais. Botucatu: SBZ*, p.179-99
76. Traldi, A. B.; Oliveira, M. C.; Duarte, K. F. et al. (2007.) Avaliação de probióticos na dieta de frangos de corte criados em cama nova ou reutilizada. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v.36, n.3, 660-665
77. Vahabi-Asil O., Bouyeh M., Qotbi A. et al. (2017.) Effects of a prebiotic on growth performance, blood parameters and immunity response of turkeys fed low protein diets. *Eur Poult Sci.*, 81
78. Węglarz A. (2010.) Meat quality defined based on pH and colour depending on cattle category and slaughter season, *Czech Journal of Animal Science*, vol. 55, 548-556

79. Woo K. C., Jung B. Y., Lee M. K. and Paik I. K. (2006.) Effects of supplementary Safmannan (beta glucan and MOS) and World-Las (multiple probiotics) on the performance, nutrient availability, small intestinal microflora and immune response in broiler chicks, Korean Journal of Poultry Science, vol. 33, 151-158
80. Yang Y., Iji P. and Choct M. (2009.) Dietary modulation of gut microflora in broiler chickens: A review of the role of six kinds of alternatives to in-feed antibiotics, World's Poultry Science Journal, vol. 65, 97-114
81. Yoon C., Na C. S., Park J. H., Han S. K., Nam Y. M., Kwon J. T. (2004.) Effect of feeding multiple probiotics on performance and fecal noxious gas emission in broiler chicks. Korean J Poult Sci.;31(4):229-235
82. Zhang A., Lee B., Lee S., Lee K., An G., Song K. and Lee C. (2005.) "Effects of yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) cell components on growth performance, meat quality, and ileal mucosa development of broiler chicks," Poultry Science, vol. 84, 1015-1021

8. ŽIVOTOPIS

Alojzije Živković rođen je 12. siječnja 1999. godine u Slavonskom Brodu. Odrastao je i živi u Štitaru gdje je završio Osnovnu školu Ivana Gorana Kovačića. S navršenih 8 godina započinje svirati klavir te 2013. godine, uz Osnovnu školu, završava i Osnovnu glazbenu školu Srećko Albini u Županji. Iste godine upisuje Gimnaziju u Županji, smjer opće gimnazije. Nakon završenog srednjoškolskog obrazovanja i položene državne mature, 2017. godine upisuje Agronomski fakultet u Zagrebu, preddiplomski studij Animalne znanosti završava 2020. godine sa završnim radom na temu: Reprodukcijske i proizvodne odlike Merinolandšafa u Hrvatskoj. Nakon stjecanja titule Sveučilišni prvostupnik inženjer animalnih znanosti, svoje školovanje nastavlja, na diplomskom studiju, smjer Hranidba životinja i hrana. Tijekom trajanja diplomskog studija, 2021. godine odlazi u Prag na razmjenu studenata, programa Erasmus u trajanju od 6. mjeseci, na dodatno usavršavanje i stjecanje novog znanja i iskustva.

Aktivni je govornik engleskog i njemačkog jezika te se njime služi svakodnevno, također aktivno koristi računalni operativni sustav Microsoft Windows, programskim paketom Microsoft Office i Internetom. Položio je lovački ispit. Posjeduje vozačku dozvolu B kategorije.