

# Učinak standardiziranog ekstrakta đumbira (*Zingiber officinale* Roscoe) na mikrobiom, morfologiju crijeva, antioksidacijski status i proizvodne rezultate tovnih pilića

---

Đurić Jarić, Martina

Doctoral thesis / Disertacija

2023

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

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:178:224467>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-27**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -](#)  
[Repository of PHD, master's thesis](#)





Sveučilište u Zagrebu

VETERINARSKI FAKULTET

Martina Đurić Jarić, dr. vet. med.

**Učinak standardiziranog ekstrakta đumbira  
(*Zingiber officinale* Roscoe) na mikrobiom,  
morfologiju crijeva, antioksidacijski status  
i proizvodne rezultate tovnihi pilića**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2023.



University of Zagreb

FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

Martina Đurić Jarić, DVM

**Effects of standardized ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) extract on microbiome, gut morphology, antioxidative status and growth performance in broiler chickens**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2023.



Sveučilište u Zagrebu

VETERINARSKI FAKULTET

Martina Đurić Jarić, dr. vet. med.

**Učinak standardiziranog ekstrakta đumbira  
(*Zingiber officinale Roscoe*) na mikrobiom,  
morfologiju crijeva, antioksidacijski status  
i proizvodne rezultate tovnihi pilića**

DOKTORSKI RAD

Mentor: Izv. prof. dr. sc. Hrvoje Valpotić

Zagreb, 2023.



University of Zagreb

FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

Martina Đurić Jarić, DVM

**Effects of standardized ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) extract on microbiome, gut morphology, antioxidative status and growth performance in broiler chickens**

DOCTORAL THESIS

Supervisor: Assoc. Prof. Hrvoje Valpotić

Zagreb, 2023.



Sveučilište u Zagrebu

## VETERINARSKI FAKULTET

### IZJAVA

Ja, MARTINA ĐURIĆ JARIĆ, potvrđujem da je moj doktorski rad izvorni rezultat mog rada te da se u njegovoj izradi nisam koristila drugim izvorima od onih navedenih u radu.

---

(potpis studenta)

Zagreb, 2023.

Na početku se želim zahvaliti farmaceutskoj tvrtki Tilman iz Belgije koja nam je ustupila sirovinu standardiziranog đumbira i bez koje ovaj doktorski rad ne bi bilo moguće započeti.

Zahvaljujem svim kolegama Zavoda za prehranu i dijetetiku životinja, kao i kolegama sa Zavoda za bolesti peradi s klinikom koji su nesebično odvojili svoje vrijeme i ono što je najvažnije, svoje znanje tijekom pripreme i provedbe istraživanja na tovnim pilićima.

Veliko hvala mom mentoru izv. prof. dr. sc. Valpotiću bez čije stručne i znanstvene pomoći ne bi bilo moguće završiti ovu vrlo zahtjevnu disertaciju.

Posebna zahvala ide mojim roditeljima i bakama koji su od ranog djetinjstva prenijeli na mene ljubav prema životinjama i s kojima sam odrastala. Njihova nesebična pomoć bila je prisutna od početka pa sve do završetka moga školovanja.

Zahvaljujem se svom suprugu na čeličnim živicima protekle četiri godine, te svom sinu Vitu kojem nije bilo jasno zašto mama radi i uči.

Hvala Lolici koja je proteklih trinaest godina bila moj najvjerniji prijatelj i Rio koja je preuzela tu ulogu.

Sretna sam i zahvalna što sam dobila priliku biti jedan mali dio naše plemenite struke.

## SAŽETAK

### UČINAK STANDARDIZIRANOG EKSTRAKTA ĐUMBIRA (*ZINGIBER OFFICINALE ROSCOE*) NA MIKROBIOM, MORFOLOGIJU CRIJEVA, ANTIOKSIDACIJSKI STATUS I PROIZVODNE REZULTATE TOVNIH PILIĆA

Desetljeća korištenja antibiotičkih promotora rasta (APR) poljuljala su povjerenje javnosti u sigurnost proizvoda životinjskog podrijetla te pojačali zabrinutost zbog njihovog štetnog djelovanja na imunost i zdravlje ljudi. Učinak APR-a na mikrobiom crijeva pogoduje razvoju korisnih mikroorganizama koji pospješuju probavu i apsorpciju hrane, a posljedično djeluju i na opskrbu hranjivim tvarima potrebnim za proizvodnju. Međutim, dugoročno korištenje antibiotika u subterapijskim dozama dovelo je do pojave rezistentnih sojeva bakterija koje predstavljaju prijetnju zdravlju životinja i ljudi.

Intenzivan uzgoj peradi izlaže životinje različitim stresnim situacijama tijekom njihovog proizvodnog ciklusa. Perad je izložena stresu odmah nakon valjenja kada njen nepotpuno razvijeni probavni sustav prvi puta dolazi u dodir s mikroorganizmima hrane i okoliša. Pile je u tom razdoblju života vrlo podložno invaziji patogenih mikroorganizama, a velika je i mogućnost pojave neke od zaraznih bolesti koje se brzo šire jer su sve životinje u neposrednom kontaktu. Probavni sustav je vjerojatno najvažniji organ u životinji jer predstavlja direktno sučelje s okolinom. Održavanje zdravlja probavnog sustava izuzetno je važno i složeno. Ono se oslanja se na osjetljivu ravnotežu između prehrane, mikropopulacije i sluznice, uključujući probavni epitel i sloj sluzi koji se na njoj nalazi. Epitelne stanice crijeva također su posljednja linija obrane tijela od patogenih bakterija i toksina koji stižu hranom ili vodom. Sastojci hrane, kao i toksini i mikroorganizmi, često oštećuju strukturu gastrointestinalnog trakta. To dovodi do različitih problema s crijevnim bolestima koji se manifestiraju u obliku malapsorpcije hranjivih tvari, proljeva i povećanog rizika od infekcije.

Suvremeni trendovi u proizvodnji životinja nastoje minimizirati ili zabraniti uporabu antibiotika zbog njihovih štetnih nuspojava na životinjama i ljudima. Posljednjih godina sve su češće inicijative koje kao cilj imaju smanjenje korištenja antibiotika u terapijske svrhe kako bi se što duže sačuvali kao učinkovito sredstvo borbe protiv bakterijskih infekcija. Sukladno tome postoji sve veći interes za razvijanje dugoročno održivih pripravaka koji bi bili učinkoviti u održavanju visoke proizvodnosti i zaštiti zdravlja životinja te ne bi imali štetan učinak u vidu bakterijske rezistencije i utjecaja na okoliš.



Đumbir (*Zingiber officinale Roscoe*) je dobro poznata biljka koja se koristi kao dodatak prehrani za ublažavanje određenih bolesti u tradicionalnoj medicini. Dosadašnja istraživanja o učinkovitosti đumbira kao nutritivnog dodatka za perad variraju ali postoje indikacije da može potaknuti intenzivniji rast, poboljšati funkciju crijeva i oksidativni status peradi. Međutim, doziranje, način aplikacije te ekstrakcijske procese treba standardizirati kako bi mogli biti sigurni u njegovu učinkovitost. Trenutne spoznaje o učinkovitosti đumbira kao nutritivnog dodatka za perad su neujednačena zbog velike varijabilnosti među korištenim pripravcima. Velik broj i različite koncentracije aktivnih spojeva u đumbiru (gingeroli, shogaoli, gingerdioli i gingerdioni) otežavaju objektivnu usporedbu testiranih dodataka i njihovu djelotvornost. U našem istraživanju će se po prvi puta koristiti standardizirani oblik ekstrakta đumbira s kemijski definiranim sastavom koji će omogućiti objektivnije testiranje.

U okviru ovog istraživanja procijenjen je učinak tri doze ekstrakta đumbira (2.5, 5 i 10 g/kg hrane) na ukupno dvije stotine Ross 308 tovnih pilića u dobi od 1 do 42 dana starosti. Tijekom pokusa praćeni su proizvodni rezultati, biokemijski i hematološki parametri, antioksidacijski status te mikrobiom i morfometrija crijeva. Dodatak ekstrakta đumbira u najnižoj i najvišoj dozi djelovao je negativno na završne mase dok je u najvišoj dozi djelovao negativno i na intenzitet rasta pilića u tovu. Povećanje doze pripravka imalo je negativan učinak na konzumaciju hrane tovnih pilića, a skupina koja je dobivala najvišu dozu je ostvarila i najviši mortalitet. S druge strane, dodatak ekstrakta đumbira u dozi od 5g/kg hrane pozitivno je djelovao na iskorištavanje hrane. Testirani pripravak nije negativno utjecao na raznolikosti i bogatstvo bakterijskih rodova u ileumu brojlera. Sve pokusne skupine, a pogotovo u dozi od 5 g/kg hrane, značajno su doprinijele održavanju poželjne ravnoteže crijevnih bakterija na razini koljena i roda. Dodatak ekstrakta đumbira u dozi od 5 g/kg hrane pozitivno je utjecao na morfometrijske parametre segmenata tankog crijeva te nije detektiran negativan učinak na pojavnost patoloških promjena na tkivu jetre. Pripravak đumbira je većim dijelom poboljšao antioksidacijski status tovnih pilića u intenzivnom uzgoju. Uzevši u obzir sve promatrane parametre ovog istraživanja skloni smo zaključiti da je doza ekstrakta đumbira od 5 g/kg hrane ostvarila najbolje rezultate te bi stoga mogla biti od koristi peradarskoj industriji u poboljšanju učinkovitosti i održivosti proizvodnje pilećeg mesa.

Ključne riječi: ekstrakt đumbira, mikrobiom, morfologija crijeva, antioksidacijski status, proizvodnost, tovni pilić

## **EXTENDED SUMMARY**

### **EFFECTS OF STANDARDIZED GINGER (*ZINGIBER OFFICINALE ROSCOE*) EXTRACT ON MICROBIOME, GUT MORPHOLOGY, ANTIOXIDATIVE STATUS AND GROWTH PERFORMANCE IN BROILER CHICKENS**

**Objectives:** Decades of use of antibiotic growth promoters (AGP) have shaken public confidence in the safety of products of animal origin and heightened concerns about their harmful effects on immunity and human health. The effect of AGP on the microbiome of the intestine favors the development of beneficial microorganisms that promote digestion and absorption of feed, and consequently act on the supply of nutrients necessary for production. However, the long-term use of antibiotics in subtherapeutic doses has led to the emergence of resistant strains of bacteria that pose a threat to animal and human health. Intensive poultry production exposes animals to various stressful situations during their life cycle. Poultry is exposed to stress immediately after hatching when its immature digestive system first comes into contact with feed and microorganisms. Chickens are very susceptible to the infection from pathogenic microorganisms during this period of life so the possibility of rapidly spreading infectious diseases is high. The digestive system is probably the most important organ in an animal because it represents a direct interface with the environment. Maintaining the health of the digestive system is extremely important and complex. It depends on the delicate balance between diet, micropopulation and mucous membranes, including the digestive epithelium and the mucus layer contained on it. The epithelial cells of the intestine are also the body's last line of defense against pathogenic bacteria and toxins that arrive by feed or water. Feed ingredients, as well as toxins and microorganisms, often damage the structure of the gastrointestinal tract. This leads to various problems with intestinal diseases that manifest themselves in the form of malabsorption of nutrients, diarrhea, and an increased risk of infection. Modern trends in animal production seek to minimize or prohibit the use of antibiotics due to their harmful side effects on animals and humans. In recent years, initiatives aimed at reducing the use of antibiotics for therapeutic purposes have been increasing to preserve them as an effective means of combating bacterial infections for as long as possible. Accordingly, there is a growing interest in developing long-term sustainable preparations that would be effective in maintaining high productivity and protecting animal health without a detrimental effect in the form of bacterial resistance and environmental impact. Ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) is a well-known herb used as a dietary supplement to relieve certain diseases in traditional medicine. Previous

research on the effectiveness of ginger as a nutritional supplement for poultry is highly variable, but there are indications that it can promote growth, improve digestion and oxidative status of poultry. However, dosing, application mode and extraction processes need to be standardized to be certain of its effectiveness. Current knowledge about the efficacy of ginger as a nutritional supplement for poultry is uneven due to the high variability among the preparations used. The large number and different concentrations of active compounds in ginger (gingerols, shogaols, gingerdiols and gingerdions) make it difficult to objectively compare the tested supplements and their effectiveness. Our research will for the first time use a standardized form of ginger extract with a chemically defined composition that will allow more objective testing.

**Materials and Methods:** Two hundred one-day-old Ross 308 chickens (mixed sex) were acquired from a local hatchery. Chickens were randomly distributed into 20 pens (10 birds per pen) which were then randomly divided into 4 groups (treatments, 5 pens per treatment). One group was given only basic feed (control), and the others were fed with basic feed in which a standardized ginger extract was added at the level of 2.5, 5 and 10 g/kg feed. The experiment was set up as a complete randomized block design, and the pens were used as replication units. Broilers were fed starter feed from day 1 to 21 and grower feed from day 22 to 42. The birds were kept in a production system that resembles the modern intensive broiler production farm. The lights were turned on 24 hour per day and the birds were fed *ad libitum* and had free access to water throughout the experiment. During the experiment, production results, biochemical and hematological parameters, antioxidant status, microbiome and intestinal morphometry were assessed. Body weight and feed intake were measured weekly at pen level to determine average daily weight gain, average daily feed intake and feed conversion ratio. Mortality and health status were visually observed and recorded daily throughout the experimental period. On the morning of the 21st and 42nd day of the experiment, 40 birds (2 birds per pen and 10 per treatment) were randomly selected after 12 hours of fasting to collect peripheral blood needed to determine hematological and biochemical parameters. At day 42, two birds per cage (a total of 40 animals) were randomly selected for slaughter to collect liver tissue and segments of the small intestine for histological and morphometric examination. A 3 cm long segment of the ileum for determining the microbiome was taken in the middle between the Meckel diverticulum and the ileo-cecal junction. Those samples with content were stored in a cooled container with dry ice and transported to a laboratory where they are stored at a temperature of  $-80^{\circ}\text{C}$  until DNA extraction. For the extraction of DNA from small intestine content samples of fattening chickens, GenElute™ Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit (Sigma-Aldrich,

USA) was used in this study. Due to its complex composition, the contents of the small intestine are classified as mammalian tissue. Isolated DNA from a sample of the contents of the small intestine was sent for sequencing to the laboratory of Novogene Co (Novogene Co, Cambridge Science Park, UK). Histological preparations of the intestinal segments were examined with a light microscope Nikon-Microphot-FXA (Nikon, Tokyo, Japan), which is equipped with a digital microscope camera GXCAM-U3-18 (GT Vision, Wickhambrook, UK) with which representative fields were photographed. The GXCapture-T computer program (GT Vision, Wickhambrook, UK) was used for capturing images. Quantitative computational morphometric analysis was performed on the images of the prepared cross-sections. The images were analyzed using ImageJ software (Bethesda, MD, USA) to measure the height of the villi, the depth of the crypt and the width of the villi at the crypt/villi junction, as well as the tip. The measurement was based on the mean value of 15 villi per sample (x10). The level of metabolites, enzymes and electrolytes in the serum of fattening chickens were determined by using standard methods on the Abbott Architect C4000 (Abbott, USA) automatic biochemical analyzer. All parameters were determined using Abbott reagents (Abbott, USA) except globulin and GPx. Globulin content was determined by calculation as the difference between total protein and albumin, and GPx was determined by Randox reagents (Randox Laboratories, Crumlin, UK). Malonaldehyde content (MDA) was measured using the HPLC method. Aliquot of 20  $\mu$ L is injected into Shimadzu LC-2010HT with inert-Sustain C18 column (4.6 mm 150 mm, particle size 5  $\mu$ m; GL Sciences, Tokyo, Japan). The standard curve prepared with 1,1,3,3-tetraethoxypropane is used. Substances that react with thiobarbituric acid (TBARS) are expressed as nmol per gram of wet tissue.

**Results:** The addition of ginger extract in the lowest and highest dose had a negative effect on the final masses, while the highest dose had also a negative effect on the growth rate of fattening chickens. An increase in the dose of the preparation had a negative effect on feed consumption of fattening chickens, and the group that received the highest dose had the highest mortality. On the other hand, the addition of ginger extract at a dose of 5g/kg of food had a positive effect on feed efficiency. The tested preparation did not adversely affect the diversity and richness of bacterial genera in broiler ileum. All experimental groups showed an increase in the proportion of beneficial *Firmicutes*, which was proportional to the increase in the dose of the tested preparation, while at the same time there was a decrease in the proportion of *Proteobacteria* which are considered a marker of intestinal microbiota imbalance. An increase in the relative abundance of bacteria from the genus *Candidatus Arthromitus* and *Romboutsia* and a decrease

in the genus *Pseudomonas* and *Thermoanaerobacteria* were observed in the groups of chickens supplemented with ginger extract. The group supplemented with the highest dose of ginger extract recorded a significantly higher proportion of *Lactobacillus* bacteria compared to other groups. In the same group, a significantly higher proportion of *Enterococcus* bacteria belonging to probiotic species such as *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* and *Faecalibacterium* was recorded, which have a positive effect on the performance and health status of broilers. All the experimental groups, especially the one receiving 5 g/kg of feed, significantly contributed to maintaining the desirable balance of intestinal bacteria at the phylum and genus level. The addition of ginger extract at a dose of 5 g/kg of feed had a positive effect on the morphometric parameters of the small intestine segments and no negative effect was detected on the occurrence of pathological changes in liver tissue. A significant increase in GPx activity in serum of fattening chickens was observed on the 42<sup>nd</sup> day of the study while there were no differences on day 21. The increase was recorded in groups supplemented with 2.5 and 5 g/kg feed, while in 10 g/kg group there were no differences compared to the control group. Different trend was observed in MDA concentration, with the lower concentration recorded in groups supplemented with 2.5 and 5 g/kg feed on the 21<sup>st</sup> day of the experiment. At the end of the study there were no differences in MDA between the groups, but the level of MDA was significantly lower compared to the day 21. Overall, the ginger preparation has improved the antioxidative status of fattening chickens in intensive breeding.

**Conclusion:** The research demonstrates that the positive effects of ginger extract are clearly dose dependent but to pinpoint the optimal dosage and application method of this feed additive for broiler chickens further research is needed. Considering all the observed parameters of this study, we tend to conclude that a dose of ginger extract of 5 g/kg of feed achieved the best results and could therefore be useful to the poultry industry in improving the efficiency and sustainability of chicken meat production.

**Keywords:** ginger extract, microbiome, gut morphology, antioxidative status, performance, fattening chicken

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA</b> .....	4
2.1. Pregled peradarske proizvodnje.....	4
2.2. Hranidba tovnih pilića .....	8
2.2.1. Potrebe brojlera za hranjivim tvarima i energijom .....	10
2.2.2. Potrebe za vodom .....	14
2.2.3. Izazovi u proizvodnji tovnih pilića .....	16
2.3. Đumbir ( <i>Zingiber officinale Roscoe</i> ).....	18
2.3.1. Aktivne tvari.....	20
2.3.2. Đumbir kao nutritivni dodatak za toвне piliće .....	20
2.3.2.1. Utjecaj đumbira na proizvodne rezultate.....	22
2.3.2.2. Utjecaj đumbira na mikrobiom crijeva.....	25
2.3.2.3. Utjecaj đumbira na diferencijalnu krvnu sliku .....	27
2.3.2.4. Biokemijski pokazatelji u serumu .....	27
2.3.2.5. Antioksidacijski status.....	29
2.3.2.6. Morfometrija tankog crijeva.....	30
2.3.2.7. Histologija jetre .....	31
<b>3. OBRAZLOŽENJE TEME</b> .....	33
<b>4. MATERIJAL I METODE</b> .....	34
4.1. Materijal .....	34
4.1.1. Uvjeti držanja životinja na OPG-u .....	34
4.1.2. Pokusne životinje.....	35
4.1.3. Krmne smjese za tov pilića.....	35
4.1.4. Pokusni pripravak .....	37
4.1.5. Pokusne skupine i plan pokusa .....	37
4.2. Metode.....	38
4.2.1. Uzimanje uzoraka i mjerenja .....	38
4.2.1.1. Periferna krv .....	39
4.2.1.2. Tkivo duodenuma, jejunuma, ileuma i jetre .....	40
4.2.2. Praćenje proizvodnih pokazatelja .....	41
4.2.3. Praćenje zdravstvenih pokazatelja.....	42
4.2.3.1. Mortalitet .....	42
4.2.3.2. Određivanje hematoloških pokazatelja.....	42
4.2.3.3. Određivanje biokemijskih pokazatelja .....	42

4.2.3.4. Određivanje malondialdehida.....	43
4.2.3.5. Određivanje mikrobioma crijeva.....	43
4.2.4. Histološka i morfometrijska mjerenja .....	47
4.2.4.1. Morfometrija tankih crijeva.....	47
4.2.4.2. Histopatološka pretraga tkiva jetre.....	48
4.2.5. Statistička analiza .....	49
<b>5. REZULTATI .....</b>	<b>50</b>
5.1. Proizvodni pokazatelji i zdravstveni status .....	50
5.2. Mikrobiom crijeva.....	54
5.3. Hematološki pokazatelji.....	59
5.4. Biokemijski pokazatelji.....	60
5.5. Antioksidacijski enzim i proizvod lipidne peroksidacije .....	65
5.6. Morfometrijska mjerenja segmenata tankog crijeva .....	66
5.7. Histopatološki nalaz sluznice crijeva i tkiva jetre .....	69
<b>6. RASPRAVA .....</b>	<b>77</b>
<b>7. ZAKLJUČCI .....</b>	<b>90</b>
<b>8. POPIS LITERATURE.....</b>	<b>91</b>
<b>9. ŽIVOTOPIS AUTORA S POPISOM OBJAVLJENIH ZNANSTVENIH RADOVA.....</b>	<b>111</b>

## 1. UVOD

Izraziti rast svjetske populacije koji će uskoro doseći brojku od 8 milijardi stanovnika već sada, predstavlja ogroman izazov za proizvođače hrane koji trebaju pronaći načine da proizvedu dovoljne količine u nadasve ograničenom proizvodnom okruženju. Trenutno svjedočimo situaciji kako bilo kakav poremećaj proizvodnje i distribucijskih kanala poput pandemija COVID-19, elementarnih nepogoda te klimatskih promjena mogu ozbiljno narušiti opskrbu krajnjih korisnika osnovnim namirnicama i izazvati nestašice pojedinih prehrambenih proizvoda. Veliki porast cijena žitarica i uljarica trenutno stvara ogroman pritisak na proizvođače životinjskih proizvoda koji moraju poboljšati učinkovitost i povećati proizvodnju kako bi se nosili sa sve većim ulaznim troškovima u već izrazito nisko profitabilnoj grani. Proizvodnja životinjskih proizvoda postaje predmet brojnih etičkih i ekoloških pitanja te joj se ne predviđa blistava budućnost, a sve više se spominju učinkovitije alternative poput biljne prehrane (veganstvo ili vegetarijanstvo) ili sintetski uzgojenog mesa. Proizvodnja životinja za meso predstavlja kvalitetan izvor bjelančevina za prehranu ljudi ali s druge strane uzrokuje veliko opterećenje za okoliš te troši velike količine žitarica i uljarica kako bi se te životinje nahranile što u konačnici predstavlja manje učinkovit sustav iskorištavanja hranjivih tvari proizvedenih u ratarstvu. Ovakav pritisak na proizvodnju životinja tjera nas na evaluaciju postojećih proizvodnih tehnologija, njihovo usavršavanje i okretanje onim sustavima koji nude najviše uz najmanje negativnih posljedica. Takav pristup nas sve više usmjerava prema proizvodnji peradi kao visoko učinkovitog sustava pretvorbe biljnih krmiva u animalni protein koji će hraniti rastuću populaciju sljedećih nekoliko desetljeća. Proizvodnja peradi, u najvećoj mjeri tovnih pilića, ima određene prednosti pred drugim izvorima mesa poput svinjetine i govedine. Pileće meso se već sada najviše konzumira u svijetu a taj trend će samo rasti. Proizvodnja pilića troši relativno malu količinu krmiva po jedinici prirasta u odnosu na proizvodnju svinja i goveda a gubici u proizvodnji su značajno manji što povećava profitabilnost. Također, proizvodni ciklus kod tova brojlera je značajno kraći te se po jedinici smještajnog prostora kod peradi mogu proizvesti daleko veće količine životinja. Nadalje, meso peradi je odlično prihvaćeno kod svih dobnih i religijskih skupina, ima zdravstvene prednosti dok organoleptičkim svojstvima odgovara najvećem broju ljudi što ga predstavlja vrijednim izvorom važnih nutrijenata. Svi ti faktori čine peradarsku proizvodnju budućom perjanicom animalne proizvodnje koja će hraniti buduće generacije. Na nama je da unaprijedimo sustav hranidbe i držanja uz poštivanje načela dobrobiti te da konačni proizvod bude što kvalitetniji sa što manje negativnih učinaka na okoliš.



Komercijalna proizvodnja peradi drastično se promijenila od 50-ih godina prošlog stoljeća. Većina peradi sada se uzgaja u zatvorenom okolišu koji je djelomično ili u potpunosti kontroliran. Glavni pokretač promjena predstavlja intenzivna genetska selekcija hibrida s visokim kapacitetom za rast, a hranjenje smjesama koje su precizno formulirane prema nutritivnim potrebama u različitim fazama proizvodnog ciklusa te kontrolom dužine i intenziteta svjetlosti postižu se maksimalni proizvodni rezultati (Karcher i Mench, 2018.). Kao rezultat ovih čimbenika, kao i napretka u prevenciji i suzbijanju bolesti cjepivima i antibioticima, peradarska je industrija znatno porasla tijekom posljednjih nekoliko desetljeća. S druge strane, konzumaciju mesa peradi globalno raste te se predviđa da će se taj porast i nastaviti, osobito u zemljama u razvoju (NRC, 2015.).

Antibiotici su se dugo koristili za prevenciju infekcija i bolesti peradi te za poboljšanje proizvodnje mesa i jaja. Međutim, učestala uporaba antibiotika je s vremenom postala neodrživa zbog rezistencije na bakterije, reziduama u mesu i promjenama prirodne mikroflore crijeva. U posljednje vrijeme mnoge zemlje nastoje minimizirati ili zabraniti uporabu antibiotika zbog njihovih nuspojava kod ljudi i životinja. Zbog toga se sve više okrećemo upotrebi prirodnih promotora rasta i zdravlja kao što su prebiotici, probiotici, simbiotici, enzimi, veziva toksina, organske kiseline, oligosaharidi, fitobiotici i drugih dodataka hrani za životinje. Nutritivna rješenja postaju sve važnija za prevenciju proizvodnih i zdravstvenih problema, a to se može postići potpunim iskorištavanjem nutracina ili bioaktivnih komponenti u hrani za životinje (Adams, 2004.).

Oksidativni stres uzrokovan prekomjernim razinama reaktivnih kisikovih spojeva koje su inducirane u stresnim okolnostima, kao što su izlaganje toplinskom stresu i infekcijama, smatra se jednim od glavnih čimbenika koji negativno utječu na performanse u intenzivnoj proizvodnji i kao glavni čimbenik u patogenezi određenih bolesti. Stoga je dodavanje sintetskih antioksidanata (npr., alfa-tokoferil acetata ili butiliranog hidroksitoluena) za ublažavanje oksidativnog stresa postala uobičajena praksa u peradarskoj industriji. U novije vrijeme, zbog globalnog trenda ograničavanja upotrebe sintetičkih tvari sve više se nameće korištenje biljnih ekstrakata kao prirodnih antioksidanata. Biljni ekstrakti su bogati antioksidantima te imaju potencijalne koristi u liječenju kokcidnih infekcija.

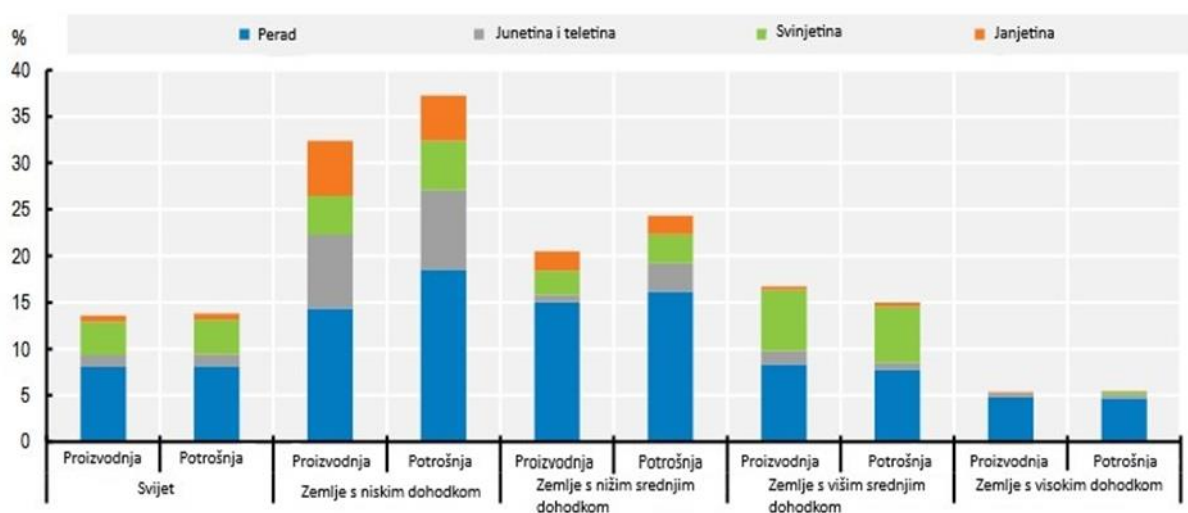
Biljka đumbir (*Zingiber officinale Roscoe*) se kroz povijest koristi kao začim i medicinski proizvod za određene bolesti u tradicionalnoj medicini. Korijen đumbira sadrži nekoliko spojeva koji imaju biološku aktivnost poput antioksidacijskog, antimikrobnog i farmakološkog učinka. Đumbir sadrži nekoliko aktivnih spojeva uključujući gingerole, shogaole, gingerdirole i

gingerdione. Dosadašnja istraživanja o učinkovitosti đumbira kao dodatka hrani za perad su dosta neujednačena no neki autori su objavili njegov pozitivan učinak na intenzitet rasta, probavu i apsorpciju hranjivih tvari i oksidativni status peradi. Međutim, još uvijek postoji dosta nedorečenosti oko načina primjene, doziranja i standardizacije samog proizvoda s aspekta koncentracije djelatnih tvari kako bi mogli bolje procijeniti mehanizme djelovanja i učinkovitost na modelu kokoši.

## 2. PREGLED DOSADAŠNJIH SPOZNAJA

### 2.1. Pregled peradarske proizvodnje

Epidemija afričke svinjske kuge i pandemija koronavirusa zasad štete proizvodnji mesa, ali neće zaustaviti širenje industrije tijekom sljedećeg desetljeća, uglavnom zahvaljujući kontinuiranoj potražnji za piletinom u svijetu. Globalna proizvodnja mesa porast će za 12% do 2029. godine, a proizvodnja mesa peradi potaknut će polovicu rasta. Proizvodnja će se postupno oporavljati do 2025. nakon što je ove godine postigla "najnižu točku" zbog afričke svinjske kuge i vjerojatnog utjecaja koronavirusa.



**Slika 1.** Rast proizvodnje i konzumacije mesa po vrsti i regiji. Izvor: OECD/FAO (2021), "OECD-FAO Agricultural Outlook", OECD Agriculture statistics (database).

Širenje proizvodnje mesa loša je vijest za okoliš. Emisije ugljika iz poljoprivredne industrije porasti će za 6% tijekom sljedećeg desetljeća, pri čemu stoka predstavlja najveći dio zagađenja u sektoru. Iako briga za okoliš i zdravlje tjera više potrošača u zemljama s visokim dohodkom da se prebace na biljnu prehranu, ljudi koji žive u manje razvijenim zemljama sve više konzumiraju meso i mliječne proizvode koji su im do sada bili nedostupni. Analize tržišta ukazuju da se zemlje s nižim i srednjim prihodima u sljedećem desetljeću neće u značajnijem postotku prebaciti na biljnu prehranu. Perad predstavlja najbolji izbor mesa u zemljama u razvoju zahvaljujući nižoj cijeni, no unatoč tome globalna potrošnja mesa će rasti ali značajno sporijim tempom nego što je to bilo u prošlosti.

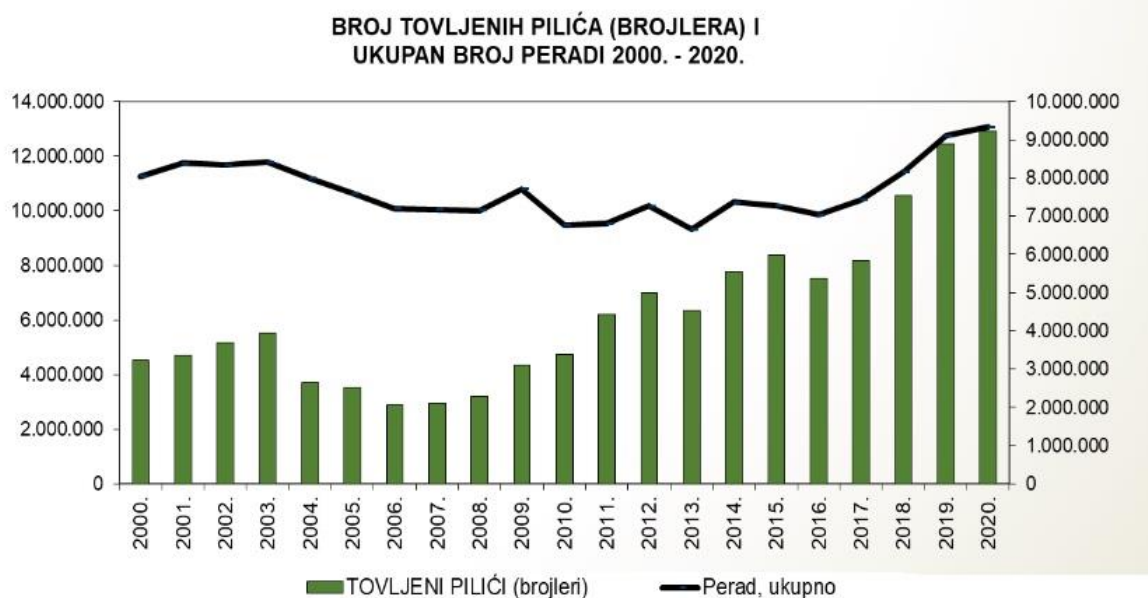
Meso peradi i dalje će biti primarni pokretač rasta proizvodnje mesa, premda sporije u odnosu na prošlo desetljeće, čineći polovicu sveg dodatnog mesa proizvedenog tijekom sljedećeg desetljeća. Kratki proizvodni ciklus omogućuje proizvođačima brzu reakciju na tržišne signale, a istovremeno omogućuje brza poboljšanja u genetici, zdravlju životinja i praksi hranjenja. Proizvodnja će se brzo širiti od kontinuiranog povećanja produktivnosti u Kini, Brazilu i Sjedinjenim Državama, kao i od ulaganja u Europsku uniju - posebno u Mađarsku, Poljsku i Rumunjsku koje će iskoristiti niže troškove proizvodnje.

Predviđa se da će se potrošnja mesa peradi globalno povećati na 145 milijuna tona tijekom razdoblja projekcije, a očekuje se da će perad činiti 50% povećanja u konzumaciji mesa. Na osnovi po glavi stanovnika, očekivane snažne stope rasta potrošnje peradi odražavaju značajnu ulogu koju ona igra u nacionalnoj prehrani nekoliko mnogoljudnih zemalja u razvoju, uključujući Kinu i Indiju. Ipak, značajan jaz, uglavnom povezan s razinom dohotka, ostat će u razvijenim zemljama, koje konzumiraju gotovo tri puta više peradi nego zemlje u razvoju. Ukupna potrošnja mesa kontinuirano se kreće prema gore, vođena rastom stanovništva i dohotka. Međutim, uzorak za pojedine vrste mesa nije homogen. Razlike u relativnim cijenama, u kombinaciji s rastućim zdravstvenim i ekološkim brigama, dovele su do toga da potrošači postupno smanjuju udio crvenog mesa u svojoj konzumaciji mesa, istovremeno povećavajući udio peradi. Postoje dokazi da stope rasta konzumacije mesa opadaju kao odgovor na usporavanje stopa rasta dohotka. Mnoge zemlje s visokim dohotkom dosežu razinu zasićenja u smislu potrošnje po stanovniku (Slika 1.). Promjena sklonosti potrošača - poput porasta vegetarijanskog ili veganskog stila života, društvene zabrinutosti poput negativnog utjecaja proizvodnje mesa na okoliš i drugih različitih socio-kulturnih aspekata poput onih koje diktiraju religija ili kulturne norme - također će imati učinka. (OECD/FAO, 2021.).

Hrvatsko peradarstvo ima dugu tradiciju i solidnu sadašnjost te dobru podlogu za razvitak, a obuhvaća gotovo sve vidove proizvodnje kao što su: uzgoj i držanje rasplodnih nesilica hibrida teških pasmina, valionice, tov pilića, purića, pačića i guščića, klaonice peradi, uzgoj i držanje rasplodnih nesilica hibrida lakih pasmina, uzgoj konzumnih nesilica i proizvodnju konzumnih jaja, sortirnice, te tvornice stočne hrane. Hrvatsko peradarstvo trenutno zadovoljava potrebe domaće potrošnje, a dio proizvodnje se i izvozi, te ima pozitivnu bilancu uvoza izvozom (Mužić i sur., 2008.).

Nosioci peradarske proizvodnje u RH su velike proizvođačke i prerađivačke firme koje pod sobom nadziru cijeli proizvodni ciklus, od nastambi, farmi i konstrukcija za uzgoj, rast i

reprodukciju peradi, do postrojenja za klanje i obradu te prometa gotovih proizvoda do krajnjeg potrošača. Okosnicu peradarske proizvodnje u republici Hrvatskoj čine veliki proizvodni sustavi i kooperacija. Najveći proizvođač pilećeg mesa i perjanica hrvatske proizvodnje je firma Koka d. d. iz Varaždina koja već šest desetljeća uspješno primjenjuje suvremene standarde i uspješno se nosi s europskom i svjetskom konkurencijom a od većih proizvođača bi također trebalo spomenuti PIPO Čakovec d.o.o. i Valipile d.o.o. Položaj peradarstva unutar cjelokupnog stočarstva Hrvatske glede zadovoljavanja vlastitih potreba i pokriva uvoza izvozom je vodeća. Za razliku od drugih grana stočarske proizvodnje koji godinama tonu u peradarstvu vlada određena stabilnost s pozitivnim izgledima za budućnost sektora (Slika 2.).



**Slika 2.** Grafički prikaz proizvodnje brojlera i peradi u intervalu 2000-2020. godine. Izvor: Kojić Jurinić i Mišćević, 2021. (<http://www.tisup.mps.hr/>)

Pileće meso je ekonomski najbrži i najisplativiji izvor proteina u prehrani čovjeka. Obiluje mnogim nutritivnim svojstvima. Proizvodnja piletine je već početkom 2000-ih godina premašila vrijednost od 70 milijuna tona, a od tada raste konstantnom stopom od 5.3% godišnje. Piletina se pokazala kao jedan od ekonomski najisplativijih načina konverzije biljne prehrane u proteine životinjskog podrijetla. Piletina također uživa popularnost na razvojnim tržištima, dominantno zbog cijene i sigurnosti proizvodnje i zdravstvene ispravnosti koje ima nad drugim mesnim izvorima. Godišnja konzumacija mesa po stanovniku iznosi od 0.7 kg u Indiji, sve do

44 kg u Sjedinjenim Američkim Državama. Prosjek konzumacije po stanovniku je oko 19 kg godišnje u Hrvatskoj što je u suglasju s europskim prosjekom. Životinjski izvori proteina mogu biti izvor mikronutrijenata koje je teško prehranom unijeti biljnim putem. Piletina je izvor proteina, niskog sadržaja masti i ugljikohidrata te sadržava sve esencijalne aminokiseline (Guerrero-Legarreta i sur., 2010.).

## 2.2. Hranidba tovnih pilića

Intenzivan tov pilića obično traje 5-6 tjedana kada pilići postižu masu za klanje. Konzumacija hrane kod pilića ovisi o različitim faktorima koji uključuju genetiku, mikroklimu, gustoću naseljenosti, oblik i energetska vrijednost hrane. Kako bi se podmirile hranidbene potrebe tovnih pilića koriste se tri smjese koje se razlikuju s obzirom na koncentraciju hranjivih tvari.

Tijekom razdoblja inkubacije, pilić koristi jaje kao zalihu hranjivih tvari. Međutim, tijekom prvih nekoliko dana života nakon izlijeganja, pilići moraju proći fiziološki tranziciju kako bi dobili hranjive tvari iz smjese koja im je ponuđena. U ovom trenutku unos hrane je najniži, a potrebe za hranjivim tvarima najveće. Ne samo da smjesa mora osigurati odgovarajuću koncentraciju hranjivih tvari nego su nužni i odgovarajući mikroklimatski uvjeti kako bi se kod pilića razvio dobar apetit. Performanse za postizanje finalne tjelesne mase su u pozitivnoj korelaciji s ranom stopom rasta (npr. 7-dnevna tjelesna težina) te je važno osigurati da pilići imaju dobar početak tova. Starter smjesa mora biti visoke kvalitete te se obično daje tijekom prvih 10 dana, ali se može davati i do 14 dana ako se ne postignu ciljane težine. Pilići koji ne počnu dobro rasti podložniji su bolestima, slabom dnevnim prirastu, stresovima iz okoliša te imaju lošiju kvalitetu prsnih mišića. Hranjenje preporučenim razinama hranjivih tvari tijekom početnog razdoblja osigurat će dobar inicijalni rast i fiziološki razvoj, osigurati ciljane tjelesne mase, dobro zdravlje i dobrobit pilića. Potrošnja hrane tijekom prvih 10-14 dana života pilića predstavlja mali dio ukupne količine potrošene hrane i troškova prerade. Stoga se odluke o početnim formulacijama trebaju temeljiti prvenstveno na promicanju dobrih bioloških performansi i ukupne isplativosti tova, a ne samo na troškovima proizvedene hrane (Ross Broiler Management Handbook, 2018.).

Grower smjesa obično se daje 14-16 dana. Prijelaz s početne hrane na grower uključivat će promjenu oblika od drobljenih/mini-peleta do peleta i promjenu gustoće hranjivih tvari. Ovisno o veličini peleta, možda će biti potrebno osigurati prvo hranjenje Growera u obliku drobljenih peleta ili mini peleta kako bi se spriječilo bilo kakvo smanjenje unosa hrane zbog, na primjer, peleta koji su preveliki za piliće. Tijekom hranjenja Growerom, dnevni prirast brojlera nastavlja se brzo povećavati. Ova faza rasta mora biti podržana odgovarajućim unosom hranjivih tvari. Za postizanje optimalnih bioloških performansi, iznimno je važno osigurati pravilne omjere hranjivih tvari, a osobito energije i aminokiselina. Prijelaz sa startera

na grower mora se pravilno obaviti kako bi se spriječilo bilo kakvo smanjenje unosa hrane ili prirasta (Ross Broiler Management Handbook, 2018.).

Finisher smjesom obično se hrani nakon 25 dana starosti. Kako bi optimizirali profitabilnost, brojlerima koje tovimo iznad dobi od 42 dana morat ćemo osigurati dodatne smjese. Odluka o broju smjesa za završni tov brojlera ovisit će o željenoj dobi i težini te mogućnostima prerade i proizvodnje hrane za životinje. Finisher smjesa predstavlja većinu ukupnog unosa hrane i troškova hranjenja brojlera. Stoga Finisher hrana mora biti koncipirana tako da optimizira financijski povrat za vrstu proizvoda koji se traži (Ross Broiler Management Handbook, 2018.).

Rast brojlera rezultat je hranjive vrijednosti hrane i unosa hrane. Oblik hrane značajno utječe na unos hrane. Najbolji unos hrane postiže se kvalitetnim drobljenim peletima, mini peletima ili peletima. Hrana koja ima neujednačenu veličinu čestica može povećati rasap hrane jer manje čestice lako padaju iz kljunova ptica. Pilići će konzumacijom veće količine sitnih čestica hrane (čestice veličine ispod 1 mm) ili brašnaste hrane imati veći gubitak hrane. Rasap hrane predstavlja gubitak koji će značajno smanjiti iskoristivost hrane. Starter smjesa, a često i prva grower smjesa daje se u obliku drobljenih peleta ili mini peleta. Ostale smjese nakon toga dolaze u obliku peleta. Rast brojlera i iskoristivost hrane poboljšavaju se peletiranjem. Ova poboljšanja performansi se pripisuju:

- Smanjenjem rasapa hrane
- Smanjenjem prebiranja
- Smanjenjem separacije sastojaka.
- Manjem utrošku vremena i energije za hranjenje
- Uništavanju patogenih organizama
- Toplinskoj modifikaciji škroba i bjelančevina
- Poboľšanoj palatabilnosti

Sve vrste hranilica treba prilagoditi kako bi se osigurao minimalan rasap i optimalan pristup pticama. Baza hranilice treba biti u ravnini s vrhom prsa brojlera (Slika 3.).





**Slika 3.** Pravilno postavljena visina hranilice

Neispravna visina hranilice (previsoka/preniska) povećat će rasap hrane. Kada se to dogodi, osim ekonomskog gubitka i smanjenih performansi imat ćemo i netočne procjene konverzije hrane, a rasuta hrana, kada se pojede, imat će veći rizik od bakterijske kontaminacije. Hranu treba ravnomjerno i jednoliko rasporediti po cijelom sustavu za hranjenje kako bi se omogućile jednake mogućnosti da sve ptice jedu u isto vrijeme. Neravnomjerna raspodjela hrane može dovesti do smanjenja performansi, nastanka ozljeda povezanim s konkurencijom na hranilicama i povećan rasap hrane (Ross Broiler Management Handbook, 2018.).

#### 2.2.1. Potrebe brojlera za hranjivim tvarima i energijom

Potrebe brojlera za hranjivim tvarima sustavno se ažuriraju sukladno napretku genetike kako bi se maksimalno iskoristio potencijal životinje. Prema tome svaki hibrid brojlera ima vlastite preporuke za hranjenje, a u našem istraživanju radilo se o hibridu Ross 308 čije su potrebe za hranjivim tvarima prikazane u Tablici 1.

Brojleri zahtijevaju energiju za rast, održavanje i aktivnost tkiva. Glavni izvori energije u hrani tovnih pilića obično su žitarice (prvenstveno ugljikohidrati) i masti ili ulja. Razina energije u hrani se izražava u mega džulima (MJ)/kg, kilokalorijama (kcal)/kg energije koja se može metabolizirati (ME), jer to predstavlja dio energije koja je dostupna brojlerima.

Istraživanja su pokazala da je moderan brojler sposoban prilagoditi unos hrane prema različitim razinama metaboličke energije u hrani. Pokusi su pokazali da ptice mogu prilagoditi unos za čak 10% kako bi se prilagodile promjenama u energetske gustoći.

Ugljikohidrati predstavljaju najvažniji izvori energije za perad. Žitarice poput kukuruza, raži, pšenice, i ječma čine većinu ugljikohidratnih krmiva koja se koriste u hranidbi peradi. Većina ugljikohidrata iz žitarica dolazi u obliku škroba, koji perad lako probavlja (Moran, 1985.). Ostali ugljikohidrati u žitaricama i proteinskim krmivima pojavljuju se u različitim koncentracijama. Ti ugljikohidrati uključuju polisaharide, poput celuloze, hemiceluloze, pentozana, i oligosaharida (stahioze i rafinoze) koje perad slabo probavlja. Ove vrste ugljikohidrata malo doprinose podmirivanju energetske potreba peradi, a neki čak negativno utječu na probavu ako su prisutni u većim koncentracijama u hrani. Na primjer, pentozani iz raži te beta glukani iz ječma povećavaju viskoznosti digeste i time smanjuju probavljivost hranjivih tvari (Wagner i Thomas, 1978., Antoniou i sur., 1981., Classen i Bedford, 1992.). Dodatak enzimskih pripravaka hrani koja sadrži raž ili ječam poboljšava iskorištavanje hranjivih tvari i rast peradi (Edney i sur., 1989., Friesen i sur., 1992.).

Nutritivne potrebe za bjelančevinama zapravo predstavljaju potrebe za aminokiselinama koje izgrađuju te bjelančevine. Aminokiseline dobivene hranom perad koristi za izgradnju strukturnih i zaštitnih tkiva, kao što su koža, perje, koštani matriks i ligamenti, kao i meka tkiva, poput organa i mišića. Ako su proteini u prehrani (aminokiseline) nedovoljni, dolazi do smanjenja ili prestanka rasta ili produktivnost i povlačenje proteina iz manje vitalnih tjelesnih tkiva radi održavanja funkcija vitalnijih tkiva.

**Tablica 1.** Potrebe za hranjivim tvarima Ross 308 brojlera ciljane žive mase 2.5 – 3.0 kg (Ross Nutrition Specifications, 2022.)

		Starter	Grower	Finisher 1	Finisher 2
<b>Dani hranjenja</b>	dani	0-10	11-24	25 -39	40-
<b>Energija po kg</b>	kcal	2975	3050	3100	3125
	MJ	12.4	12.8	13.0	13.1
<b>PROBAVLJIVE AMINOKISELINE</b>					
<b>Lizin</b>	%	<b>1.32</b>	<b>1.18</b>	<b>1.08</b>	<b>1.02</b>
Metionin + Cistin	%	1.00	0.92	0.86	0.82
Metionin	%	0.55	0.51	0.48	0.45
Treonin	%	0.88	0.79	0.72	0.68
Valin	%	1.00	0.91	0.84	0.80
Izoleucin	%	0.88	0.80	0.75	0.70
Arginin	%	1.40	1.27	1.17	1.12
Triptofan	%	0.21	0.19	0.17	0.16
Leucin	%	1.45	1.30	1.19	1.12
<b>Sirova bjelančevina</b>	%	<b>23.0</b>	<b>21.5</b>	<b>19.5</b>	<b>18.0</b>
<b>MINERALI</b>					
Ukupni kalcij	%	0.95	0.75	0.65	0.60
Iskoristivi fosfor	%	0.50	0.42	0.36	0.34
Magnezij	%	0.05-0.30	0.05-0.30	0.05-0.30	0.05-0.30
Natrij	%	0.18-0.23	0.18-0.23	0.18-0.23	0.18-0.23
Klor	%	0.18-0.23	0.18-0.23	0.18-0.23	0.18-0.23
Kalij	%	0.60-0.90	0.60-0.90	0.60-0.90	0.60-0.90
<b>DODANI MIKROELEMENTI NA KG</b>					
Bakar	mg	16	16	16	16
Jod	mg	1.25	1.25	1.25	1.25
Željezo	mg	20	20	20	20
Mangan	mg	120	120	120	120
Selen	mg	0.30	0.30	0.30	0.30
Cink	mg	120	120	120	120
<b>DODANI VITAMINI NA KG</b>					
Vitamin A	IU	13000	11000	10000	10000
Vitamin D <sub>3</sub>	IU	5000	4500	4000	4000
Vitamin E	IU	80	65	55	55
Vitamin K (Menadion)	mg	4.0	3.6	3.2	3.2
Tiamin (B <sub>1</sub> )	mg	5	4	3	3
Riboflavin (B <sub>2</sub> )	mg	9	8	7	7
Niacin	mg	70	65	50	50
Pantotenska kiselina	mg	25	20	15	15
Piridoksin (B <sub>6</sub> )	mg	5	4	3	3
Biotin	mg	0.35	0.28	0.22	0.22
Folna kiselina	mg	2.5	2.0	1.8	1.8
Vitamin B <sub>12</sub>	mg	0.02	0.018	0.016	0.016
<b>MINIMALNA SPECIFIKACIJA</b>					
Kolin po kg	mg	1700	1600	1500	1450
Linolenska kiselina	%	1.25	1.20	1.00	1.00

Tjelesne bjelančevine sastavljene su od 22 aminokiseline, a sve su fiziološki esencijalne. Te aminokiseline mogu biti podijeljene u dvije kategorije: one koje perad uopće ne može sintetizirati ili nedovoljno brzo da zadovolje metaboličke potrebe (esencijalne) i one koje se mogu sintetizirati iz drugih aminokiselina (neesencijalne). Esencijalne aminokiseline moraju se unositi putem hrane. Ako se neesencijalne aminokiseline ne unose hranom, perad ih mora sintetizirati. Prisutnost odgovarajućih količina neesencijalnih aminokiselina u prehrani smanjuje potrebu za njihovom sintezom iz esencijalnih aminokiselina. Stoga je definiranje nutritivnih potreba za bjelančevinama i esencijalnim aminokiselinama prikladan način kako bi se osigurale sve fiziološki potrebne aminokiseline (NRC, 1994.).

Masti se obično dodaju u hranu peradi za to kako bi se povećala ukupna koncentracija energije i zauzvrat poboljšala produktivnost i iskoristivost hrane. Životinjske masti, osim masti peradi, sadrže više zasićenih masnih kiselina, koje su slabije probavljive, osobito u nezrelom probavnom sustavu mladih pilića. U starter i grower smjesi preporučljivo je koristiti masti koje sadrže veći postotak nezasićenih masti. U finisher smjesi postoji opasnost da visoke razine nezasićenih masti imaju štetan učinak na zamašćivanje trupa i trajnost pilećeg mesa. Razina vlage i nečistoća unutar masti trebala bi biti manja od 1%. Prisutnost značajne količine vode potiče hidrolitičku užeglost. Za hranidbu brojlera treba koristiti samo kvalitetne, stabilne masti jer nekvalitetne oksidirane masti mogu imati negativan učinak na kvalitetu mesa. (Ross Broiler Management Handbook, 2018.).

Minerali su potrebni za formiranje koštanog sustava, kao komponente opće metaboličke aktivnosti i za održavanje acido-bazne ravnoteže tijela. Kalcij i fosfor najzastupljeniji su mineralni elementi u tijelu i klasificiraju se kao makrominerali. Makrominerali predstavljaju elemente koji su u prehrani potrebni u koncentracijama većim od 100 mg/kg. U makromineralne još spadaju natrij, kalij, klor, sumpor i magnezij. Kalcij i fosfor su neophodni za stvaranje i održavanje strukture kostura i za dobru kvalitetu ljuske jajeta. Općenito, oko 60 do 80 posto ukupnog fosfora u hrani biljnog podrijetla nalazi se u obliku fitinski vezanog fosfora. U normalnim prehranbenim uvjetima, perad loše iskorištava fitatni fosfor zbog nedostatka endogene fitaze u probavnim enzimima. Općenito se pretpostavlja da je oko jedne trećina fosfora u biljnoj hrani nefitnog porijekla i time biološki iskoristiv za perad, tako da se potreba za fosforom izražava kao nefitinski fosfor, a ne ukupni fosfor. Kako bi apsorpcija ova dva minerala bila što učinkovitija potrebno je u hrani peradi postići omjer kalcija i nefitnog fosfora od 2:1.

Omjeri natrija (Na), kalija (K) i klora (Cl) u hrani uvelike određuju acido-baznu ravnotežu u tijelu peradi koja je važna za održavanje fiziološke pH vrijednosti. U slučaju da dođe do pomaka prema kiselim ili lužnatim uvjetima, metabolički procesi se mijenjaju kako bi se održao fiziološki pH, a vjerojatna posljedica je pad performansi. Ravnoteža elektrolita u hrani opisana je jednostavnom formulom ( $\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-$ ) i izražena kao mEq/kg hrane. Prevencija disbalansa elektrolita nužna je za održavanje produktivnosti jata osobito tijekom perioda toplinskog stresa. U većini slučajeva, ravnoteža od oko 250 mEq/kg hrane smatra se zadovoljavajućom za postizanje optimalnog rasta. Sveukupna ravnoteža između ova tri minerala važna je kao i njihove individualne koncentracije.

Elementi u tragovima, uključujući bakar, jod, željezo, mangan, selen, cink i kobalt, djeluju kao komponente većih molekula i kao kofaktori enzima u raznim metaboličkim reakcijama. Oni su u prehrani potrebni u vrlo malim količinama. U hranu za perad se u praktičnim uvjetima dodaju makro i mikro elementi, jer ih tipične smjese koje se temelje na žitaricama ne sadrže u potrebnim količinama. Trenutno su dostupni organski oblici nekih minerala u tragovima i općenito se smatra da imaju višu biološku vrijednost od anorganskih oblika.

Vitamini se klasificiraju kao topljivi u mastima (vitamini A, D, E i K) i topljivi u vodi (kompleks vitamina B i vitamin C). Svi vitamini, s iznimkom vitamina C, moraju biti osigurani putem hrane. Vitamin C nije općenito klasificiran kao esencijalni u prehrani jer se može sintetizirati u organizmu. Međutim, u nepovoljnim okolnostima kao što je temperaturni i metabolički stres dodatak vitamina C može biti koristan. Metaboličke uloge vitamina su generalno složenije od drugih nutrijenata. Vitamini nisu jednostavne jedinice za izgradnju tijela ili izvor energije, ali su posrednici ili sudionici u svim biokemijskim reakcijama u tijelu.

### 2.2.2. Potrebe za vodom

Ptice bi u svakom trenutku trebale imati neograničen pristup čistoj i svježoj vodi za piće. Nedovoljna opskrba vodom, u volumenu ili u broju pojilica, rezultirat će smanjenim intenzitetom rasta. Kako bi se osiguralo da jato prima dovoljno vode, potrebno je pratiti omjer vode i hrane koja se konzumira svaki dan. Promjene u unosu vode mogu biti rani pokazatelj zdravstvenih problema i performansi. Potrebe za vodom ovisit će o unosu hrane. Pri temperaturi

od 21 °C ptice će konzumirati dovoljno vode kada je volumen vode (l) i mase hrane (kg) u omjeru:

- 1.8: 1 za zvonaste pojilice
- 1.7: 1 za nipl pojilice s čašicama
- 1.6: 1 za nipl pojilice bez čašica

Potreba za vodom ovisit će i o temperaturi okoline. Ptice će piti više vode na višoj temperaturi okoliša. Potreba za vodom povećava se za približno 6,5% na 1 °C porasta iznad 21 °C. Optimalna temperatura vode kreće se u rasponu od 18 – 21 °C. Što je veće odstupanje od tog idealnog raspona to će biti slabiji unos vode koji će se reflektirati i na smanjen unos hrane. Pojilice treba isprati neposredno prije postavljanja i dva puta dnevno tijekom prvih 4 dana kako bi se osiguralo da pilići imaju pristup hladnoj i svježoj vodi. Visina pojilica trebala bi biti niska na početku tova i povećavati se kako ptice rastu (Slika 4.). Pojilice koje su previsoke mogu ograničiti unos vode, dok prenisko postavljene pojilice mogu uzrokovati pojačano vlaženje stelje.



**Slika 4.** Pravilno postavljena visina nipl pojilica za tovne piliće

### 2.2.3. Izazovi u proizvodnji tovnih pilića

Suvremena proizvodnja peradi suočava se s mnogim problemima i izazovima. S jedne strane uvjetuje proizvodnju velike količine visokokvalitetne hrane po niskim cijenama bez pretjeranog oslanjanja na antibiotike i liječenje te u isto vrijeme održava adekvatnu razinu zdravstvenog stanja i dobrobiti uz što manji utjecaj na okoliš (Adams, 2004.). Intenzivan uzgoj peradi izlaže životinje različitim stresnim situacijama tijekom njihovog proizvodnog ciklusa. Perad je izložena stresu odmah nakon valjenja kada njen nezreli probavni sustav prvi puta dolazi u dodir s mikroorganizmima hrane i okoliša. Pile je u tom razdoblju života vrlo podložno invaziji patogenih mikroorganizama, a velika je i mogućnost pojave neke od zaraznih bolesti koje se brzo šire jer su sve životinje u neposrednom kontaktu (Valpotić i sur. 2005.). Probavni sustav je vjerojatno najvažniji organ u životinji jer predstavlja direktno sučelje s okolinom. Održavanje zdravlja probavnog sustava izuzetno je važno i složeno. Ono se oslanja se na osjetljivu ravnotežu između prehrane, mikropopulacije i sluznice, uključujući endotel probavnog sustava i sloj sluzi koji se na njemu nalazi. Epitelne stanice crijeva također su posljednja linija obrane tijela od patogenih bakterija i toksina koji stižu hranom ili vodom. Sastojci hrane, kao i toksini i mikroorganizmi, često oštećuju strukturu gastrointestinalnog trakta. To dovodi do različitih problema s crijevnim bolestima koji se manifestiraju u obliku malapsorpcije hranjivih tvari, proljeva i povećanog rizika od infekcije (Adams, 2006.).

Bakterijska rezistencija na antibiotike je sveprisutna tema koja sve više predstavlja opasnost za javno zdravlje populacije (Mulder, 2011.). Desetljeća korištenja antibiotskih promotora rasta (APR) poljuljali su povjerenje javnosti u sigurnost proizvoda životinjskog podrijetla te pojačala zabrinutost zbog njihovog štetnog djelovanja na imunost i zdravstveno stanje ljudi. Učinak APR-a na mikropopulaciju crijeva pogoduje razvoju korisnih mikroorganizama koji pospješuju probavu i apsorpciju hrane, a posljedično djeluju i na opskrbu hranjivim tvarima potrebnim za proizvodnju. Međutim, dugoročno korištenje antibiotika u subterapijskim dozama dovelo je do pojave rezistentnih sojeva bakterija koje predstavljaju prijetnju zdravlju životinja i ljudi. Uzimajući to u obzir, antibiotici su u siječnju 2006. godine u EU zabranjeni kao promotori rasta kod farmskih životinja. Ta odluka je za proizvođače bila kratkoročno nepovoljna ali se industrija brzo prilagodila i našla alternative koje su adekvatno zamijenile antibiotike. U današnje vrijeme naglasak se sve više stavlja i na smanjenje korištenja antibiotika u terapijske svrhe kako bi se što duže sačuvali kao učinkovito sredstvo borbe protiv bakterijskih infekcija. Njihovu ulogu trebaju preuzeti proizvodi koji bi bili učinkoviti u

održavanju visoke proizvodnosti i zaštiti zdravlja životinja te ne bi imali štetan učinak u vidu bakterijske rezistencije i utjecaja na okoliš. Postoji cijeli niz dodataka prehrani (Tablica 2.) koji imaju mogućnost samostalno ili u kombinaciji s drugima osigurati zadovoljavajuće proizvodne rezultate te zdravstveno stanje i dobrobit farmских životinja.

**Tablica 2.** Tehnološki i zootehnički dodaci hrani koji se najviše koriste u peradarstvu

<b>Dodatak</b>	<b>Primjer</b>	<b>Mehanizam djelovanja</b>
Enzimi	Ksilanaze, $\beta$ -glukanaze, fitaze	Prevenција antinutritivnih učinaka arabinoksilana (u pšenici i tritikalu), $\beta$ -glukana (u ječmu) ili fitata (u svim biljnim krmivima); bolja probavljivost hranjivih tvari i hranjiva vrijednost.
Antioksidansi	Vitamin E, selen, flavonidi, pigmenteri	Prevenција oksidacije ulja i masti u hrani. Bolji antioksidativni status brzo rastućih životinja u intenzivnom uzgoju.
Probiotici	<i>Bifidobacterium</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Streptococcus</i>	Bolja probavljivost hranjivih tvari. Stimulacija imunosti i konkurencija patogenim sojevima.
Prebiotici	Fruktooligosaharidi (FOS), mananoligosaharidi (MOS) i ostala neprobavljiva vlakna	Bolja apsorpciju minerala. Vežanje na patogene bakterije i sluznicu. Stimulacija rasta probiotskih bakterija.
Organske kiseline	Mravlja, limunska, maslačna, sorbična, fumarna, itd.	Poboljšanje probave kroz smanjenje pH vrijednosti probavnog sustava. Inhibicija rasta patogenih bakterijskih sojeva.
Fitobiotici	Ljekovite biljke, začini, biljni ekstrakti, esencijalna ulja	Inhibicija rasta patogenih bakterijskih sojeva.
Antimikrobni proteini/peptidi	Lizozim, laktacin F, laktoferin, $\alpha$ -laktalbumin	Inhibicija rasta patogenih bakterijskih sojeva.

Prilagođeno iz Jha i sur. (2020.)



### 2.3. Đumbir (*Zingiber officinale Roscoe*)

Biljka *Zingiber officinale Roscoe*, poznatija kao đumbir, je cvjetnica s korijenom, široko korištena kao začin hrani ili u narodnoj medicini. *Zingiber officinale Roscoe* je višegodišnja, zeljasta biljka koja raste do visine od oko 1 m, a rizomi zrelog đumbira su vlaknasti i gotovo suhi. Biljka je autohtona u južnoj Kini odakle se proširila na Indiju, Afriku i druge tropske i suptropske dijelove svijeta. Indija i Kina glavni su proizvođači i izvoznici. Sok od korijena đumbira (Slika 5.) često se koristi kao začin u indijskim receptima i čest je sastojak kineske, korejske, japanske, vijetnamske i mnogih južno azijskih i afričkih kuhinja. Karakterističan miris i okus đumbira uzrokovan je mješavinom zingerona, shogaola i gingerola te hlapljivih ulja koja čine 1-3% težine svježeg đumbira (Mbaveng i Keute, 2017.).



**Slika 5.** Biljka *Zingiber officinale Roscoe* (Gospodarski list, 2020.)

*Zingiber officinale Roscoe* od davnina se koristi u indijskoj i tradicionalnoj kineskoj medicini za liječenje i ublažavanje posljedica širokog raspona bolesti, uključujući običnu prehladu, vrućicu, grlobolju, bol, reumatizam i bronhitis. Koristi se kao antipiretik, za probavne

probleme i stimulaciju apetita, gastrointestinalne poremećaje te mučninu i povraćanje povezane s morskou bolešću i trudnošću. Đumbir se koristi u svježem, fermentiranom ili sušenom obliku (Slika 6.) te kao ekstrakt. Globalna potražnja je sve veća, a Američka Agencija za hranu i lijekove (FDA) kategorizirala je đumbir kao dodatak prehrani (Chrubasik i sur., 2005., Ali i sur., 2008.).



**Slika 6.** Rizom đumbira i đumbir u prahu

### 2.3.1. Aktivne tvari

Sastojci đumbira su brojni i znatno variraju ovisno o porijeklu i obliku odnosno jesu li svježi ili suhi dok njegov miris ovisi uglavnom o koncentraciji hlapljivog ulju, čija razina može varirati od 1% do 3%. U analitičkom sastavu ulja opisano je više od 50 komponenti, a to su uglavnom monoterpenoidi i seskviterpenoidi (Langner i sur., 1998., Evans, 2002.). Jaka aroma svježeg đumbira prvenstveno je posljedica djelovanja različitih gingerola, koji predstavljaju homologni niz fenola. Najzastupljeniji među njima je [6]-gingerol, iako đumbir sadrži i manje količine drugih gingerola različitih duljina lanca. Oštar miris suhog đumbira uglavnom proizlazi iz shogaola koji predstavljaju dehidrirane oblike gingerola. Shogaoli se formiraju iz odgovarajućeg gingerola tijekom termičke obrade (Wohlmuth i sur., 2005.). Toplinsku razgradnju gingerola na gingerone, shogaole i srodne spojeve prikazali su Jolad i sur. (2004.). Oni su ispitivali kemijski sastav organski uzgojenog svježeg đumbira te su pri tome identificirali 63 spoja, od kojih je 31 prethodno poznat kao sastojak đumbira, a otkrili su i 20 dosad nepoznatih spojeva. U narednom istraživanju iz 2005. godine ispitivali komercijalno obrađen suhi đumbir koristeći iste tehnike koje su koristili u svojoj ranijoj studiji. Identificirali su ukupno 115 spojeva, od kojih je 88 bilo poznato. Od toga je 45 prethodno otkriveno u svježem đumbiru (Jolad i sur., 2004.), a 31 su bili novi spojevi dok su preostalih 12 spojeva prethodno nije bilo izolirano u svježem bijelom i žutom đumbiru. Koncentracije gingerola u suhom đumbiru blago su smanjene u usporedbi sa svježim đumbirom, dok su se koncentracije shogaola povećale (Ali i sur. 2008.).

### 2.3.2. Đumbir kao nutritivni dodatak za tovne piliće

Đumbir je već dugo interesantan kao nutritivni dodatak za perad a posebice u posljednje vrijeme zbog sve strože legislative i zabrane određenih promotora rasta i antimikrobnih pripravaka. U posljednja dva desetljeća proveden je zavidan broj istraživanja procjene učinkovitosti različitih oblika đumbira na perad u intenzivnom uzgoju te je samo djelomično potvrđena njegova djelotvornost. Pozitivni učinci različitih pripravaka na bazi đumbira kod peradi (Tablica 3.) prikazani su u preglednom istraživanju Pliego i sur. (2020.)

**Tablica 3.** Učinak dodatka đumbira u hranidbi peradi

<b>Oblik</b>	<b>Kategorija</b>	<b>Sažetak učinaka</b>	<b>Referenca</b>
Ekstrakt	Brojleri	Mješavina ekstrakata đumbira, komorača i anisa smanjila je sadržaj masti u mesu i povećala intenzitet boje.	El-Deek i sur. (2002)
Ekstrakt	Brojleri	Poboljšane fiziološke funkcije i lipidni profil.	Saeid i sur. (2010.)
Ekstrakt	Brojleri	Smanjen MDA i povećan GSH u prsnom i bedrenom mišiću. Povišena razina INF- $\gamma$ i IL-2 u serumu.	Zidan i sur. (2016.)
Ekstrakt	Brojleri	Poboljšan intenzitet rasta.	Ebrahimnezhad i sur. (2014.)
Prah	Brojleri	Poboljšane performanse, dijelovi trupa i hematološki parametri.	Barazesh i sur. (2013.)
Prah	Brojleri	Smanjena konverzija hrane.	George i sur. (2015.)
Ekstrakt	Brojleri	Smanjena mikrobna populacija u gastrointestinalnom traktu.	Ofongo-Abule i Ohimain (2015.)
Prah	Brojleri	Smanjena težina želuca i količina abdominalne masti, a povećan broj laktobacila.	Qorbanpour i sur. (2018.)
Ekstrakt	Nesilice	Povećana težina i kvaliteta jaja te antioksidativni status.	Wen i sur. (2019.)
Esencijalno ulje	Japanske prepelice	Povećana težina jaja i smanjena razina kolesterola u serumu.	Herve i sur. (2019.)
Prah	Brojleri	Smanjenje patogenih bakterija u crijevima brojlera.	Huthail Najib i sur. (2019.)
Prah	Brojleri	Povećana tjelesna masa, prirast, indeks performansi i karakteristike trupa.	Rio i sur. (2019.)
Ekstrakt	Nesilice	Poboljšanje aktivnosti SOD u plazmi i smanjena koncentracija MDA.	An i sur. (2019.)

Prilagođeno iz Pliego i sur. (2020.)

Većina istraživača pripisala je bolje performanse brojlera hranjenih đumbirom na poboljšanje palatabilnosti i brzog učinka na probavljivost hranjivih tvari kroz ubrzano pražnjenje probavnog sustava i povećanje unosa suhe tvari. Zhao i sur. (2011.) su izvijestili da đumbir poboljšava probavu i apsorpciju hranjivih tvari životinja zbog pozitivnog učinka na želučane sekrecije, enterokineziju i aktivnosti probavnih enzima. Devet spojeva koji se nalaze u đumbiru mogu se vezati za serotoninse receptore i tako djelovati na probavni sustav. Kod

davanja đumbira primijećeno je da povećanje lučenja probavnih enzima, poput lipaze, disaharidaze i maltaze (Zhang i sur., 2009.). Prema Herawatiju (2010.) poboljšane performanse mogu se pripisati aktivnosti dva probavna enzima (proteaze i lipaze) koji su prisutni kao dio obrambenog sustava biljke đumbira. Osim poboljšanja probave i proizvodnih rezultata neki autori su primijetili učinak đumbira na oksidativni status životinja i životinjskih proizvoda. Najviše se spominje njegov učinak na povećanje aktivnosti antioksidativnih enzima i smanjenje razine malondialdehida (MDA) u serumu i tkivima životinja koji mogu biti posljedica prisutnosti đumbira u hrani, no još nije poznat njegov mehanizam djelovanja. Literatura je pokazala da su polifenolni flavonoidi u biljkama neki od glavnih izvora antioksidativnih spojeva (Singh i sur., 2005.). Potencijalni aktivni sastojci u đumbiru koji posjeduju antioksidativna djelovanja su gingeroli, shogaoli, gingerdioli, gingerdioni i neki koji se odnose na fenolne ketonske derivate (Zhang i sur. 2009., Zhao i sur. 2011.). Također su zaključili da se poboljšani antioksidativni parametri mogu djelomično pripisati dodavanju đumbira u prahu u hranu te posljedično usporavanju procesa oksidacije hranjivih tvari. Osim navedenih primjera u literaturi se mogu pronaći i drugi pozitivni učinci pripravaka đumbira na perad poput djelovanja na neke biokemijske parametre kao i na sluznicu crijeva kroz povećanje resorptivne površine i aktivnosti crijevnih enzima.

#### 2.3.2.1. Utjecaj đumbira na proizvodne rezultate

Utjecaj različitih pripravaka na bazi đumbira na performanse peradi prikazan je u sljedećem odlomku. Tekeli i sur. (2011.) izvijestili su da je dodatak ekstrakta đumbira kod Ross 308 brojlera u dozi od 0.24 g/kg hrane postigao značajno ( $p < 0,05$ ) viši unos hrane i završne mase u odnosu na negativnu kontrolu. Zhang i sur. (2009.) nisu primijetili značajnu razliku u proizvodnim parametrima kod skupina brojlera koje su dobivale prah đumbira usitnjen na različite veličine čestica (300, 149, 74, 37 i 8,4  $\mu\text{m}$ ) u dozi od 5 g/kg hrane. Akbarian i sur. (2011.) otkrili su kod kokoši nesilica da dodatak praha korijena đumbira u različitim dozama (2.5 g/kg, 5 g/kg i 7.5 g/kg hrane) nije imao učinka na unos i konverziju hrane. U još jednom istraživanju na kokošima nesilicama koje su hranjene prahom đumbira (5, 10, 15 i 20 g/kg hrane) također nisu utvrđene razlike u unosu i konverziji hrane (Zhao i sur. 2011.). Incharoen i Yamauchi (2010.) hranili su tovne piliće od 7 do 49 dana starosti suhim fermentiranim prahom đumbira (5, 10 i 20 g/kg hrane) i utvrdili značajno ( $p < 0,05$ ) više završne mase i prirast mase u skupini koja je dobivala 10 g/kg dok je značajno ( $p < 0,05$ ) manji unos hrane zabilježen kod

skupine s 20 g/kg. Značajno ( $p < 0,05$ ) niže konverzije hrane ostvarene su u svim pokusnim skupinama u usporedbi s kontrolom. Onu (2010.) je izvijestila da je dodatak praha đumbira (2.5 g/kg hrane) u hranu 5 tjedana starih pilića rezultirao značajno ( $p < 0,05$ ) boljim završnim masama, prirastom tjelesne mase te konverzijom hrane dok kod unosa hrane nije zabilježena značajna razlika. Habibi i sur. (2014.) su hranili brojlere izložene toplinskom stresu osnovnim obrokom koji sadrži ili 7.5 ili 15 g/kg praha đumbira i 75 ili 150 mg/kg eteričnog ulja đumbira te nisu zabilježili razlike u proizvodnim parametrima. Farinu i sur. (2004.) su izvijestili da je dodatak đumbira u dozi od 5, 10 ili 15 g/kg tek neznatno poboljšao rast kod brojlera. Suprotno tome, Al-Homidan (2005.) je uočio smanjen intenzitet rasta u prva 4 tjedna kod brojlera koji su dobivali đumbir u dozi od 60 g/kg što može biti posljedica toksičnog učinka ovog spoja u ovako velikim dozama. Također, Shewita i sur. (2018.) su zabilježili značajno smanjenje konačne tjelesne mase u skupini brojlera koja je dobivala 6 g/kg đumbira u usporedbi s 2 i 4 g/kg. Isti autori primijetili su značajno nižu konverziju hrane u skupini koja je dobivala prah đumbira u dozi od 4 g/kg hrane u odnosu na kontrolu. Varijabilni rezultati mogu se pripisati različitim dozama koje su se koristile u istraživanjima. Studija iz 2002. godine istraživala je učinak suhog praha đumbira u koncentracijama od 0.5 g/kg i 1 g/kg hrane na performanse (tjelesna masa, prirast, ukupni unos hrane i konverzija), trup kao i neke unutarnje osobine organa i kvalitetu mesa brojlera (El-Deek i sur. 2002.). Prikazani podaci su pokazali izostanak učinka testiranog pripravka na proizvodne rezultate tovnih pilića u obje doze. U odnosu na naše istraživanje postoji razlika u dizajnu istraživanja jer su autori započeli suplementaciju i mjerenje petog i dvanaestog dana života pilića te su pokus završili 47. dana. U drugom slučaju istraživani su učinci ekstrakta đumbira (5, 10 i 15 g/kg hrane) kao dodatka hrani na proizvodne parametre, imunost i oksidativni status kod brojlera (Zidan i sur. 2016.). Primijećeno je značajno ( $p < 0,05$ ) povećanje prirasta i finalne tjelesne mase te unosa i konverzije hrane kod brojlera koji su u hrani dobivali ekstrakt đumbira. Najbolje performanse ostvarili su pilići iz skupine koja je dobivala najvišu koncentraciju pripravka u dozi od 15 g/kg hrane. Istraživači su proučavali učinak praha đumbira usitnjenog na različite veličine i u različitim dozama (5, 10, 15, 20 i 25 g/kg hrane) na performanse (povećanje tjelesne mase, unos i konverziju hrane) i biokemijske parametre seruma tovnih pilića (Ebrahimnezhad i sur. 2014.). Rezultati su pokazali da su proizvodni parametri značajno ( $p < 0,05$ ) poboljšani kod pilića kojima je dodan đumbir u odnosu na kontrolne piliće. U istraživanju Barazesh i sur. (2013.) proučavan je učinak đumbira u prahu (5 g/kg, 10 g/kg i 15 g/kg hrane) na performanse (unos hrane, prirast tjelesne mase i konverzije hrane) kod Ross 308 brojlera s 4 replikacije po tretmanu. Rezultati su pokazali da je povećanje razine đumbira u prahu uzrokovalo značajno ( $p < 0,05$ ) smanjenje unosa hrane samo u 2 tjednu

ispitivanja u skupini koja je dobivala 10 g/kg hrane i povećanje prirasta u 5 tjednu pokusa kod brojlera koji su dobivali 10 i 15 g/kg hrane. Nije bilo značajnih razlika u ukupnom unosu hrane, prirastu tjelesne mase i konverziji hrane u odnosu na kontrolnu skupinu. Procijenjen je učinak hranjenja dodatkom praha đumbira (2–6 g/kg hrane) na proizvodne rezultate brojlera tijekom 56 dana tova (George i sur. 2015.). Svi proizvodni parametri bili su značajno ( $p < 0,05$ ) bolji u tretiranim skupinama u odnosu na kontrolnu s time da je porast performansi bio u pozitivnoj korelaciji s dozom pripravka. Muški Ross 308 brojleri hranjeni su prahom đumbira u dozama od 1.5 g/kg, 2 g/kg i 2.5 g/kg hrane tijekom 42 dana tova (Qorbanpour i sur. 2018.). Osim značajnog ( $p < 0,05$ ) smanjenja unosa hrane u prva tri tjedna istraživanja skupine koja je dobivala 2.5 g/kg hrane eksperimentalna prehrana nije utjecala na unos hrane, tjelesnu masu i konverziju hrane tijekom cijelog istraživanja. Herve i sur. (2019.) su istraživali utjecaj eteričnog ulja đumbirovog rizoma (50, 100 i 150  $\mu\text{L/kg}$  tjelesne težine) na proizvodne performanse i razine serumskih metabolita japanskih prepelica. Rezultati su pokazali da đumbir nije imao značajan ( $p > 0,05$ ) utjecaj na proizvodne parametre. U drugom istraživanju na brojlerima, 10, 20 i 30 g/kg korijena đumbira u prahu značajno ( $p < 0,01$ ) je povećalo konverziju hrane samo u skupini hranjenoj najvišom dozom (Hutahail i sur. 2019.). Rio i sur. (2019.) istražili su učinak dodatka đumbira u prahu (2.5 g/kg, 5 g/kg i 7.5 g/kg hrane) na proizvodne rezultate Cobb 400 brojlera. Rezultati su pokazali da je dodatak đumbira u prahu imao značajan ( $p < 0,05$ ) učinak na finalne mase svih tretiranih skupina te je također značajno smanjio konverziju hrane skupine 5 g/kg i 7.5 g/kg dok je učinak na unos hrane izostao. An i sur. (2019.) istraživali su učinak ekstrakta đumbira (1 g/kg hrane) na proizvodne performanse kokoši nesilica. Ekstrakt đumbira značajno ( $p < 0,05$ ) je poboljšao sve proizvodne parametre kokoši nesilica. Herawati (2010.) je istraživao učinak različitih koncentracija (5 g/kg, 10 g/kg, 15 g/kg i 20 g/kg hrane) đumbirovog praha u hrani na performanse tovnih pilića. Njegovi rezultati pokazuju značajno ( $p < 0,05$ ) smanjenje unosa hrane u skupini koja je dobila najveću dozu pripravka. Također je zabilježio značajno ( $p < 0,05$ ) nižu konverziju kod svih tretiranih skupina dok je porast tjelesne mase bio značajno bolji samo u skupini koja je dobila 15 g/kg. Javid i sur. (2019.) testirali su dvije koncentracije (2.5 i 5 g/kg hrane) praha đumbira na tovnim pilićima kroz 42 dana. Primijetili su značajno ( $p < 0,05$ ) povećanje tjelesne mase kod obje doze đumbira i to na svim mjernim intervalima tijekom tova (14. Dan, 21. Dan i 42. Dan). S druge strane, Khonyoung i sur. (2012.) zabilježili su samo značajno ( $p < 0,05$ ) veći unos hrane kod brojlera koji su dobivali 2.5 g/kg fermentiranog praha đumbira i to u periodu od 7. do 21. dana tova dok kod ostalih parametara nije bilo značajnih razlika. Povećane tjelesne mase ( $p < 0,001$ ) svih tretiranih skupina Cobb 500 brojlera hranjenih različitim dozama (5, 10 i 15 g/kg) praha đumbira zabilježene su u istraživanju Al-

Khalaifah i sur. (2022.). Oni su također objavili da su sve skupine pilića koji su dobivale đumbir imale značajno ( $p < 0,031$ ) manji unos hrane u odnosu na kontrolne piliće tijekom 35 dana tova. Značajno više završne mase pilića kojima je dodan đumbir (3, 6 i 9 g/kg hrane) na 35. dan istraživanja prikazali su Asghar i sur. (2021.). Značajno višu finalnu masu u odnosu na pozitivnu (antibiotik) i negativnu kontrolu imale su skupina koje su dobivale 3 i 6 g/kg dok kod skupine s 9 g/kg nije bilo razlike. Značajno ( $p < 0,05$ ) viši unos hrane ostvaren je u skupini koja je dobivala 9 g/kg hrane te je ta skupina imala i značajno ( $p < 0,05$ ) višu konverziju zajedno s kontrolnim skupinama u odnosu na skupine koje su dobivale 3 i 6 g/kg.

#### 2.3.2.2. Utjecaj đumbira na mikrobiom crijeva

Probavni sustav tovnih pilića je najvažnije mjesto u kojem obitavaju mnogobrojne vrste mikroorganizama od kojih su najvažnije prikazane u Tablici 4. Slijedom toga pronađene su različite vrste interakcija između brojlera i njihove crijevne mikrobiote koje se prvenstveno odnose na: 1) razmjenu hranjivih tvari, 2) modulaciju imunološkog sustava, 3) fiziologiju probavnog sustava i 4) kontrolu patogenih bakterija (Clavijo i Vives Florez, 2018.). Učinkovitost fitobiotika u modulaciji mikrobioma brojlera varira, uglavnom zato što se njihove aktivne komponente mogu razlikovati ovisno o načinu ekstrakcije, zemljopisnom podrijetlu, biljnom genotipu i vremenu skladištenja. Eterična ulja su opsežno proučavana i korištena u avikulturi za poboljšanje sigurnosti hrane za životinje, ali potrebna su daljnja istraživanja kako bi se potvrdilo mogu li poboljšati proizvodne parametre i zdravlje životinja (Diaz-Sanchez i sur., 2015.). Utjecaj pripravka na bazi đumbira na cjelokupan mikrobiom crijeva brojlera prema nama dostupnoj literaturi do sada nije istražen ali postoje istraživanja koja prikazuju djelovanje đumbira na promjene pojedinih bakterijskih populacija. Tako na primjer Saleem i sur. (2020.) objavljuju da je kod brojlera koji su dobivali prah đumbira u koncentraciji od 0.25 i 0.5% hrane primijećen značajno veći broj kolonija laktobacila i kvasaca u svim segmentima tankoga crijeva u usporedbi s kontrolnom skupinom. To je u suglasju s drugim istraživačima koji su također utvrdili da dodatak đumbira potiče rast laktobacila, a smanjuje patogene bakterije kao što su mezofilni aerobi, koliformi uključujući *E. coli* i time poboljšava apsorpciju hranjivih tvari što dovodi do boljeg prirasta i konverzije hrane (Tekeli, 2007.). Tako na primjer Salmanzadeh (2015.) navodi da je dodatak praha đumbira japanskim prepelicama u dozi od 0.5 – 0.9 g/kg hrane značajno smanjio broj *E. coli* i *Salmonella* u ileumu dok je povisio broj laktobacila što je u konačnici pozitivno djelovalo na proizvodnost. U istraživanju na biserkama također je



primijećen porast laktobacila u ileumu kod skupine koja je dobivala srednju dozu praha đumbira (40 g/kg) dok kod ostalih skupina nije bilo značajnih promjena (Oso i sur., 2013.). Autor također navodi da je mehanizam djelovanja fitobiotika najvjerojatnije posljedica pojačane sekrecije sluzi koja smanjuje mogućnost vezanja patogenih bakterija za epitel crijeva (Jamroz i sur. 2006.). Antibakterijski učinak etanolnog ekstrakta đumbira dokazan je i *in vitro* (Ekwenye i Elegalam, 2005.) gdje je postigao značajnu inhibiciju patogenih bakterija *E. coli* i *S. typhi*. S druge strane, u ilealnom sadržaju brojlera hranjenih sa 0.15 do 0.25% praha đumbira primijećen je porast *E. coli* i ukupnih koliforma dok nije bilo značajnog utjecaja na laktobacile (Qorbanpour i sur., 2018). Slični rezultati su zabilježeni u istraživanju u kojem je tekući ekstrakt đumbira davan brojlerima tijekom sedam dana (Ofongo i Ohimain, 2015.) U pokusu je primijećen neselektivan učinak đumbira koji je smanjio razine patogenih i probiotskih vrsta bakterija u voljci, ileumu i cekumu što autori smatraju ozbiljnim nedostatkom.

**Tablica 4.** Važni rodovi bakterija izolirani iz probavnog sustava brojlera.

<b>Koljeno</b>	<b>Rod</b>	<b>Literatura</b>
Firmikuti	<i>Anaerostipes, Blautia, Butyrivibrio, Clostridium, Ethanoligenes, Eubacteria, Flavonifractor, Hespellia, Lachnospiraceae, Lactobacillus, Leuconostoc, Megamonas, Pseudoflavonifractor, Roseburia, Ruminococcus, Streptococcus, Veillonella</i>	(Borda-Molina i sur., 2018.; Broom i Kogut, 2018.; Clavijo i Vives Florez, 2018.)
Bakteroidete	<i>Bacteroides, Paraprevotella, Prevotella, Riemerella, Tannerella</i>	Clavijo i Vives Florez (2018.)
Proteobakterije	<i>Campylobacter, Desulfohalobium, Escherichia, Gallibacterium, Neisseria, Pseudomonas, Salmonella, Shigella, Vibrio, Yersinia</i>	(Ae Kim i sur., 2017.; Bailey i sur., 2018.; Clavijo i Vives Florez, 2018.)
Aktinobakterije	<i>Bifidobacterium, Corynebacterium, Streptomyces</i>	(Shang i sur., 2018.; Teng i Kim, 2018.)

Preuzeto iz Marmion i sur., (2021.)

### 2.3.2.3. Utjecaj đumbira na diferencijalnu krvnu sliku

U istraživanju hematoloških parametara Cobb 500 brojlera hranjenih različitim koncentracijama (5, 10 i 15 g/kg) đumbira u prahu 35. dana istraživanja primijećena je značajno ( $p < 0,001$ ) viša koncentracija leukocita u svim tretiranim skupinama u odnosu na kontrolu (Al-Khalafah i sur., 2022.). Osim toga, udio heterofila kod ptica iz skupina hranjenih đumbirovim prahom (10 i 15 g/kg hrane) bio je znatno ( $p < 0,001$ ) veći od postotaka kontrolne skupine, a pogotovo u skupini koja je dobivala najvišu dozu đumbirovog praha. Kod ostalih hematoloških parametara nije bilo značajnih razlika. Međutim, Onu (2010.) je izvijestila da dodatak praha đumbira (2.5 g/kg hrane) brojlerima od 5 tjedana starosti nije značajno utjecao na koncentracije eritrocita i leukocita. S druge strane, Syed i sur. (2018.) su objavili značajno ( $p < 0,05$ ) više razine leukocita na 21. i 42. dan istraživanja u skupini brojlera koja je dobivala mješavinu fitobiotika koja uključuje đumbir dok među podvrstama leukocita nije bilo značajnih razlika. U istraživanju Iyaode i sur. (2020.) testirane su dvije doze suhog praha đumbira na tovnim pilićima. Autori su objavili da je đumbir uzrokovao značajan ( $p < 0,05$ ) porast koncentracije eritrocita u skupini koja je dobivala 10 g/kg te leukocita u obje testirane skupine u odnosu na kontrolu. Također su objavili značajan ( $p < 0,05$ ) porast udjela neutrofila i limfocita kod brojlera hranjenih đumbirom u dozi od 10 g/kg. Međutim, Ademola i sur., (2009.) su primijetili određeni immunosupresivan učinak đumbira koji je u dozi od 10 g/kg koji je značajno ( $p < 0,05$ ) smanjio ukupan broj leukocita, dok kod razine eritrocita nije bilo značajnih razlika.

### 2.3.2.4. Biokemijski pokazatelji u serumu

Zhang i sur. (2009.) su u istraživanju dodatka đumbira (5 g/kg hrane) na tovnim pilićima zabilježili višu ( $p < 0,05$ ) koncentraciju albumina, globulina i ukupnih proteina te smanjenu ( $p < 0,01$ ) razinu kolesterola 21. i 42. dana. Onu (2010.) je izvijestila da dodatak praha đumbira (2.5 g/kg hrane) 5 tjedana starim brojlerima nije značajno utjecao na koncentracije ukupnih proteina, albumina, globulina, uree i kreatina. Al-Homidan (2005.) je primijetio smanjenje ukupnih proteina i globulina u plazmi pilića kod dodatka 60 g/kg što može biti posljedica toksičnog učinka đumbira. Habibi i sur., (2014.) su hranili brojlere izložene toplinskom stresu osnovnim obrokom koji sadrži ili 7.5 ili 15 g/kg praha đumbira i 75 ili 150 mg/kg eteričnog ulja đumbira te nisu zabilježili razlike u biokemijskim parametrima seruma 35. dana istraživanja. Farinu i sur. (2004.) su primijetili da dodatak đumbira od 5, 10 i 15 g/kg nije utjecao na ukupne

proteine i albumin u serumu brojlera. S druge strane, istraživanje Shewita i sur., (2018.) je zabilježilo značajno ( $p < 0,05$ ) povećanje ukupnih proteina te značajno smanjenje razine kolesterola i HDL-a kod doze đumbira od 6 g/kg. Osim toga, razine serumskog VLDL-a i triglicerida značajno su se smanjile u skupinama kojima je dodan đumbir u usporedbi s kontrolom. Autori su istraživali korištenje različitih razina (0.4% i 0.6%) ekstrakta đumbira apliciranog putem vode na parametre krvi i lipidne parametre brojlera (Saeid i sur. 2010.). Rezultat je pokazao značajno ( $p < 0,05$ ) nižu razinu glukoze i mokraćne kiseline u pokusnim skupinama. Sadržaj ukupnih proteina, albumina i globulina nije pokazao značajne razlike. Razina kolesterola i triglicerida u serumu brojlera bila je značajno ( $p < 0,05$ ) niža u pokusnoj skupini dok kod serumskog HDL, LDL i VLDL - kolesterola nije bilo značajnih ( $p > 0,05$ ) razlika između tretmana. Rezultati istraživanja pokazali su da je dodatak đumbira putem vode u obje doze smanjio razinu glukoze i kolesterola u krvi tovnih pilića. Zidan i sur. 2016. primijetili su da je dodatak ekstrakta đumbira značajno ( $p > 0,05$ ) smanjio razinu ukupnog kolesterola i triglicerida u serumu. Smanjenje ovih parametara je bilo u korelaciji s povećanjem doze testiranih pripravaka. Biokemijski parametri seruma brojlera hranjenih prahom đumbira u različitim dozama i veličinama čestica nisu pokazali značajne ( $p > 0,05$ ) promjene osim za vrijednosti LDL-a koje su bile smanjene (Ebrahimnezhad i sur. 2014.). Rezultati istraživanja grupe autora su pokazali da je povećanje razine đumbira u prahu u hrani Ross 308 brojlera uzrokovalo značajno ( $p > 0,05$ ) smanjenje razine glukoze u skupini koja je dobivala 15 g/kg hrane. Razine triglicerida, kolesterola i LDL-a nisu pokazale značajne razlike dok je razina HDL-a bila viša u skupini koja je dobivala 15 g/kg (Barazesh i sur. 2013.). U istraživanju Qorbanpoura i sur. (2018.) na muškim Ross 308 brojlerima nisu zabilježene statistički značajne razlike u parametrima serumske biokemije između promatranih skupina tijekom 42 dana tova. Razlike u ovim rezultatima vjerojatno su posljedica različitih doza i eksperimentalnih uvjeta. U drugoj studiji ekstrakt korijena đumbira u dozi od 0.1 g/kg hrane kokoši nesilica značajno je smanjio aktivnost ALT i AST u serumu (Wen i sur. 2019.). Herve i sur. (2019.) su istraživali utjecaj eteričnog ulja đumbirovog rizoma (50, 100 i 150  $\mu\text{L/kg}$  tjelesne težine) na razine serumskih metabolita japanskih prepelica. Rezultati su pokazali da je đumbir značajno smanjio razinu kreatinina, ukupnog kolesterola, triglicerida i LDL-a ( $p < 0,05$ ) dok je značajno povišio razinu HDL-a samo u skupini koja je dobila najvišu dozu. Također je značajno snizio razine ALT i AST u svim tretiranim skupinama u odnosu na kontrolu. U istraživanju Tekeli i sur. (2011.) na brojlerima u tovu primijećen je značajno ( $p < 0,05$ ) niža razina kolesterola kod pilića koji su dobivali 0.24 g/kg ekstrakta đumbira u odnosu na pozitivnu kontrolu dok kod triglicerida i glukoze nije bilo značajne razlike. Dodatak praha đumbira u dozi od 5 i 7.5 g/kg hrane

značajno ( $p < 0,05$ ) je smanjio koncentraciju kolesterola u serumu kokoši nesilica (Akbarian i sur., 2011.). Novije istraživanje Al-Khalaifah i sur. (2022.) još jednom je prikazalo učinak suplementacije đumbirovog praha (5, 10 i 15 g/kg) na razine kolesterola i triglicerida u serumu tovnih pilića. Ukupan kolesterol i trigliceridi bili su značajno ( $p < 0,001$ ) niži u svim tretiranim skupinama na 35. dan istraživanja. Razina HDL-a bila je značajno ( $p < 0,001$ ) viša dok je razina LDL-a bila značajno ( $p < 0,001$ ) niža kod svih pokusnih skupina u odnosu na kontrolu. Značajno ( $p < 0,05$ ) smanjenje kolesterola i triglicerida u krvi brojlera hranjenih sa 6 g/kg praha đumbira u usporedbi s pozitivnom i negativnom kontrolom primijećeno je u pokusu Asghara i sur. (2021.). Oni su također zabilježili značajno ( $p < 0,05$ ) višu razinu HDL-a u skupini koja je dobivala 3 g/kg dok je razina LDL-a bila značajno ( $p < 0,05$ ) niža u svim tretiranim skupinama.

#### 2.3.2.5. Antioksidacijski status

Zhang i sur. (2009.) su objavili da je dodatak đumbira u dozi od 5 g/kg značajno ( $p < 0,01$ ) povećao aktivnosti SOD i GPx i smanjio razinu MDA u serumu tovnih pilića u dobi od 21. i 42. dana. Prema njima učinak đumbira na aktivnost SOD linearno se povećavao ( $p < 0,001$ ) smanjivanjem veličine čestica đumbira od 300 do 37  $\mu\text{m}$  na 42. dan istraživanja. Zhao i sur. (2011.) su dokumentirali da je dodatak praha đumbira u kokoši nesilica poboljšao antioksidativnu aktivnost SOD i GPx seruma te smanjio razinu MDA na 35. i 70. dan istraživanja. Štoviše, dodatak đumbira u dozi od 5 i 7.5 g/kg hrane je značajno ( $p < 0,05$ ) povećao aktivnosti GPx i smanjio koncentraciju MDA u serumu kokoši nesilica (Akbarian i sur., 2011.). Prema istraživanju Habibija i sur., (2014.) na brojlerima pod toplinskim stresom skupina koja je primala 150 mg/kg eteričnog ulja đumbira imala je povećanu aktivnost ukupne superoksid dismutaze (TSOD) u jetri, a koncentracija MDA u jetri se značajno ( $p < 0,05$ ) smanjila u skupinama koje su dobile đumbir u prahu i eterično ulje. Nije bilo značajne razlike u vrijednosti GPx, TSOD i CAT u eritrocitima. Sve tretirane skupine povećale su ukupni antioksidacijski kapacitet (TAC) i smanjile koncentraciju MDA u serumu u usporedbi s kontrolnom skupinom. Dodatak ekstrakta đumbira značajno ( $p < 0,05$ ) je smanjio razinu MDA u tkivu prsnog i bedrenog mišića brojlera već u koncentraciji od 5 g/kg hrane (Zidan i sur. 2016.). U drugoj studiji ekstrakt korijena đumbira u dozi od 0.1 g/kg hrane kokoši nesilica povećao je aktivnost superoksid dismutaze i smanjio razinu MDA u serumu (Wen i sur. 2019.). U drugom istraživanju na brojlerima, 10, 20 i 30 g/kg korijena đumbira u prahu značajno ( $p < 0,05$ ) je smanjilo razinu MDA u serumu samo u skupini koja je dobivala 20 g/kg dok je u skupini od 10 g/kg MDA bio

značajno viši, a u skupini od 30 g/kg nije bilo značajne razlike u odnosu na kontrolu (Hutahail i sur. 2019.). U istraživanju An i sur. (2019.) promatran je učinak ekstrakta đumbira (1 g/kg hrane) na antioksidativni status kokoši nesilica. Ekstrakt đumbira nije utjecao na razinu glutation peroksidaze i ukupni antioksidativni kapacitet, ali je značajno ( $p < 0,05$ ) poboljšao aktivnost SOD i smanjio razinu MDA. Smanjena razina MDA u serumu i tkivu jetre tovnih pilića hranjenih prahom đumbira (5, 10 i 15 g/kg hrane) objavljena je u istraživanju Al-Khalafah i sur. (2022.). Oni su također primijetili značajno ( $p < 0,021$ ) viši antioksidativni kapacitet i razine TSOD i CAT u jetri kod svih skupina tretiranih brojlera, dok kod GPx nije bilo značajnih razlika.

#### 2.3.2.6. Morfometrija tankog crijeva

Incharoen i Yamauchi (2009.) su otkrili veće ali ne i statistički značajne vrijednosti visine i površine crijevnih resica, površine stanica i stanične mitoze u segmentima tankog crijeva kokoši nesilica hranjenih dodatkom fermentiranog praha đumbira u dozi od 10 i 50 g/kg hrane. Na tom tragu je i istraživanje Shewita i sur., (2018.) u kojem su sve skupine s dodatkom praha đumbira imale veće duljine crijevnih resica, a one koje su dobivale 2 odnosno 4 g/kg su imale veće dubine kripte od kontrolne skupine. U istraživanju istih autora (Incharoen i sur., 2010.) na brojlerima, ali s manjim dozama suhog fermentiranog đumbira (5, 10 i 20 g/kg hrane) nije primijećeno značajno povećanje visine i površine crijevnih resica, ali je zabilježeno povećanje površine stanica i mitoze kod svih skupina tretiranih prahom fermentiranog đumbira. Javid i sur. (2019.) testirali su učinak dvije doze (2.5 i 5 g/kg hrane) praha đumbira na morfometriju segmenata tankog crijeva tovnih pilića. Na 42. Dan istraživanja uzorkovali su 8 životinja po tretmanu te ustanovili da je dodatak đumbira značajno ( $p < 0,05$ ) povećao dužinu crijevnih resica u svim segmentima tankog crijeva, a porast je bio veći kod pilića koji su dobivali veću dozu đumbira. Širina crijevnih resica duodenuma bila je značajno ( $p < 0,05$ ) veća u tretiranim skupinama dok je u jejunumu i ileumu širina resica bila značajno ( $p < 0,05$ ) manja u odnosu na kontrolnu skupinu. Vrijednosti dubine kripte bile su značajno ( $p < 0,05$ ) veće kod tretiranih skupina u većini segmenata tankog crijeva s izuzetkom ileuma kod doze od 2.5 g/kg gdje nije bilo značajne razlike. Utjecaj dodavanja različitih doza (20, 40 i 60 g/kg) praha đumbira u hranu biserki značajno ( $p < 0,05$ ) je povećao dužinu resica u duodenumu i ileumu dok je u jejunumu učinak izostao. Također, dubina kripte je bila značajno ( $p < 0,05$ ) manja u svim skupinama u duodenumu i ileumu dok je u jejunumu nije bilo značajnih razlika (Oso i sur.,

2013.). U istraživanju Khonyoung i sur. (2012.) testirana je učinkovitost različitih doza (2.5, 5 i 10 g/kg hrane) fermentiranog praha đumbira na histologiju crijeva brojlera izloženih toplinskom stresu. Autori su objavili da nije bilo značajnih razlika u dužini i površini crijevnih resica segmenata tankog crijeva kod svih skupina pilića u istraživanju. Sličan rezultat je prikazan i kod drugog autora (Salmanzadeh, 2015.) koji je hranio japanske prepelice različitim dozama (0.5 do 0.9 g/kg hrane) suhog praha đumbira te ustanovio da nema značajnih razlika u dužini resica jejunuma tretiranih i kontrolnih ptica. Utjecaj različitih koncentracija (3, 6 i 9 g/kg hrane) đumbira na morfometriju duodenuma tovnih pilića na 35. dan istraživanja opisano je u istraživanju Asghara i sur. (2021.). Oni su zabilježili značajno ( $p < 0,05$ ) više crijevne resice kod svih tretiranih skupina u odnosu na pozitivnu (antibiotik) i negativnu kontrolu. Značajno ( $p < 0,05$ ) povećanje širine resica i dubine kripte primijećeno je kod skupina koje su dobivale 3 i 6 g/kg u odnosu na pozitivnu kontrolu.

#### 2.3.2.7. Histologija jetre

Jetra je izrazito važan organ koja obavlja mnoštvo metaboličkih funkcija važnih za detoksikaciju, promet hranjivih tvari i normalnu imunosnu funkciju (El-Mahalaway i sur., 2015.). Selekcijom hibrida unaprijedili smo proizvodne rezultate i učinkovitost proizvodnje ali smo izložili životinje višoj razini metaboličkog stresa povezanog s intenzivnim rastom i konzumacijom hrane koji u kombinaciji s vanjskim stresorima može značajno narušiti zdravstveno stanje tovnih pilića (Oke i sur., 2020.). Subkliničke infekcije veliki su problem u intenzivnom uzgoju brojlera te često rezultiraju patološkim promjenama tkiva jetre (Gesek i sur. 2014.). Nekoliko istraživanja pokazalo je da subkliničke infekcije s bakterijom *Clostridium perfringens* predstavljaju jedan od glavnih uzroka oštećenja jetre u tovnih pilića (Sasaki i sur., 2000., Sasaki i sur., 2003.). Histopatološkim nalazom utvrđena je masivna proliferacija žučnih kanalića, proliferacija vezivnog tkiva oko duktula, nekroza hepatocita i znatna infiltracija limfocita i heterofila u tkivu jetre kao rezultat njegovog oštećenja (Gesek i sur., 2014., Sasaki i sur., 2000.).

U nama dostupnoj literaturi nismo mogli pronaći radove koji opisuju utjecaj đumbira na patološke promjene pojedinih organa i tkiva tovnih pilića ali postoje navodi koji opisuju hepatoprotektivan učinak na modelu štakora. U istraživanju Hasan i sur. (2016.) promatran je učinak ekstrakta đumbira u dvije doze (300 i 600 mg/kg/dan) na regresiju fibroze jetre uzrokovane ugljik tetrakloridom ( $\text{CCl}_4$ ) i njegov mehanizam djelovanja. Otkrili su da ekstrakt

đumbira značajno sprječava oštećenje jetre jer su izmjerene niže koncentracije jetrenih enzima i razine proupalnih citokina. U još jednom istraživanju promatran je utjecaj eteričnog ulja đumbira u dozi od 200 mg/kg tjelesne mase štakora na akutnu toksičnost masne jetre uzrokovanu etanolom (Nwozo i sur. 2014.). Autori su opisali da je đumbir smanjio razine jetrenih enzima u serumu kao i razine jetrenog MDA, a povišio razine antioksidativnih enzima (GSH, GST i SOD). Sukladno tome smatramo da kod proizvoda dobivenih od biljke đumbira postoji potencijal koji bi poboljšao funkciju jetre ali je potrebno utvrditi optimalnu dozu i način primjene.

### 3. OBRAZLOŽENJE TEME

Suvremeni trendovi u proizvodnji životinja nastoje minimizirati ili zabraniti uporabu antibiotika zbog njihovih nuspojava na životinjama i ljudima pa je potrebno razvijati dugoročno održive promotore rasta i zdravlja. Đumbir (*Zingiber officinale Roscoe*) je dobro poznata biljka koja se koristi kao dodatak prehrani za ublažavanje određenih bolesti u tradicionalnoj medicini. Dosadašnja istraživanja o učinkovitosti đumbira kao nutritivnog dodatka za perad variraju ali postoje indikacije da može potaknuti intenzivniji rast, poboljšati funkciju crijeva i oksidativni status peradi. Međutim, doziranje, primjenu (putem hrane ili vode) te ekstrakcijske procese treba standardizirati kako bi mogli biti sigurni u njegovu učinkovitost. Trenutne spoznaje o učinkovitosti đumbira kao nutritivnog dodatka za perad su neujednačena zbog velike varijabilnosti među korištenim pripravcima. Velik broj i različite koncentracije aktivnih spojeva u đumbiru (gingeroli, shogaoli, gingerdioli i gingerdioni) otežavaju objektivnu usporedbu testiranih dodataka i njihovu djelotvornost. U našem istraživanju se po prvi puta primijenio standardizirani oblik ekstrakta đumbira s kemijski definiranim sastavom koji je omogućio objektivnije testiranje.

U ovom istraživanju koristio se standardizirani ekstrakt đumbira u tri različite doze, a pratio se njegov utjecaj na proizvodnost, morfologiju i mikropopulaciju crijeva te antioksidacijski status tovnih pilića. Prema našim saznanjima u ovom trenutku u svijetu ne postoji istraživanje koje je koristilo pripravak đumbira farmakološke kvalitete u hranidbi peradi pa su rezultati pokusa od iznimne važnosti na međunarodnoj znanstvenoj razini. Sukladno tome ciljevi disertacije su:

1. Odrediti najučinkovitiju dozu standardiziranog ekstrakta đumbira koja bi stimulirala intenzitet rasta te unos i konverziju hrane u intenzivnom tovu pilića.
2. Procijeniti utjecaj standardiziranog ekstrakta đumbira na bakterijske populacije tankoga crijeva.
3. Ustanoviti učinak đumbira na morfologiju crijeva te njen resorptivni kapacitet
4. Istražiti utjecaj đumbira na oksidativni stres te njegov negativan učinak na proizvodnost.
5. Potvrditi neškodljivost testiranog pripravka na zdravstveno stanje



## 4. MATERIJAL I METODE

### 4.1. Materijal

#### 4.1.1. Uvjeti držanja životinja na OPG-u

Istraživanje na tovnim pilićima provedeno je na OPG-Mihoković koje se nalazi u Novigradu Podravskom na sjeverozapadu Hrvatske. Ptice su bile smještene u prostoriji s kontroliranim mikroklimatskim uvjetima na dubokoj stelji od hoblovine jelovog drveta. Temperatura u pokusnom prostoru je održavana putem infracrvenih žarulja i plinskog topa s automatskim podešavanjem. Prostor je bio grijan na 32 ° C od 1. do 7. dana, te je zatim temperatura postepeno snižavana brzinom od 3 °C tjedno i održavana na sobnoj temperaturi do kraja istraživanja. Svjetlo je bilo upaljeno 0-24 tijekom cijelog razdoblja istraživanja. Ptice su bile hranjene *ad libitum* te su imale slobodan pristup vodi tijekom cijelog pokusa (Slika 7.). Ventilacija se sastojala od ventilatora koji usisava svjež zrak te nekoliko otvora na krovu prostorije kroz koje je izlazio zagrijani i onečišćeni zrak iz štale.



**Slika 7.** Hranjenje tovnih pilića u pokusnoj nastambi OPG-a Mihoković

#### 4.1.2. Pokusne životinje

U istraživanju se koristio teški hibrid pasmine Ross 308 (Aviagen, Inc.) koji zbog svoje superiorne genetike predstavlja najzastupljeniju tovnu liniju u svjetskim okvirima. Ross 308 je robustan, brzorastući brojler koji učinkovito iskorištava hranu i ima odličan prinos mesa. Dizajniran je da zadovolji zahtjeve kupaca koji zahtijevaju dosljednost performansi i svestranost kako bi zadovoljio široki raspon zahtjeva potrošača

#### 4.1.3. Krmne smjese za tov pilića

Hrana je formulirana da zadovolji potrebe za hranjivim tvarima tovnih pilića prema specifikaciji za hibrid Ross 308. Sve smjese su pripravljene u jednoj seriji. Standardizirani ekstrakt đumbira najprije se pomiješao s premiksom koji je zatim bio pomiješan s drugim sastojcima i pohranjen u pokrivene spremnike prije hranjenja. Krmne smjese su pripravljene pod nadzorom u mješaonici stočne hrane Kušić promet d.o.o. (Psarjevo donje 61, Sveti Ivan Zelina). Analitički i sirovinski sastav smjesa korištenih u istraživanju prikazan je u Tablici 5.

**Tablica 5.** Analitički i sirovinski sastav krmnih smjesa (izražen u suhoj tvari) za tovne piliće korištene u pokusu

<b>Stavka</b>	<b>Starter</b>	<b>Finisher</b>
Sastav %		
Kukuruz	49.3	51.8
Sojina sačma (46% SB)	31.0	21.2
Lucerna	3.0	4.0
Kukuruzni gluten	5.0	3.0
Stočni kvasac	2.0	4.0
Premiks*	5.0	5.0
Suncokretovo ulje	4.7	5.0
Soja tostirana	-	6.0
Ukupno	100	100
Izračun sastava		
SB (%)	22.03	20.07
Lizin (%)	1.25	1.04
ME (MJ/kg)	12.67	13.04
SM (%)	7.27	8.72
SV (%)	3.5	4.23
Pepeo (%)	6.68	6.33
Ca (%)	1.05	1.0
P iskoristivi (%)	0.40	0.38

\*Sastav vitaminsko-mineralnog dodatka (na kg smjese): vitamin A 2.600.000 IJ; vitamin D3 1.000.000 IJ; vitamin E (DL- $\alpha$  tokoferol acetat) 16.000 mg; vitamin K3 800 mg; vitamin B1 800 mg; vitamin B2 1.600 mg; vitamin B6 800 mg; vitamin B12 4.000 mcg; vitamin C 3.000 mg; Niacin 12.000 mg; Pantotenska kiselina 3.000 mg; Folna kiselina 400 mg; Biotin 30 mg; Kolin klorid 79.800 mg; Željezo ( $\text{FeSO}_4$ ) 7.800 mg; Jod (KJ) 210 mg; Bakar ( $\text{CuSO}_4$ ) 3.000 mg; Mangan ( $\text{MnO}$ ) 19.800 mg; Cink ( $\text{ZnO}$ ) 20.250 mg; Selen ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ) 60 mg.

#### 4.1.4. Pokusni pripravak

Antimetil® (Tilman S. A., Belgija) je standardizirani dodatak prehrani koji u svom sastavu ima 10.8 % fenolnih spojeva koji su biološki aktivni. Antimetil® sadrži 10 puta više koncentriranog ekstrakta đumbira od tradicionalnog đumbira u prahu. Njegova prirodna formula razvijena je kako bi pomogla u održavanju optimalne probavne ravnoteže kod ljudi.

#### 4.1.5. Pokusne skupine i plan pokusa

Dvije stotine jednodnevnih Ross 308 pilića (mješovita spola) nasumično je raspoređeno u 20 kaveza (10 ptica po kavezu) koji su zatim nasumce podijeljeni u 4 skupine (tretmani, 5 replikacija po tretmanu). Jedna skupina je dobivala samo osnovnu hranu (kontrolna), a druge su hranjene osnovnom hranom u koju je u različitim koncentracijama dodan standardizirani ekstrakt đumbira na razini 2.5, 5 i 10 g/kg. Eksperiment je postavljen kao potpuni nasumični blok dizajn, a kavezi su korišteni kao replikacijske jedinice. Brojleri su hranjeni starter smjesom od dana 1. do 21. i finisher smjesom od dana 22. do 42. Detaljni opis tretmana tovnih pilića ekstraktom đumbira u različitim koncentracijama prikazan je u Tablici 6.

**Tablica 6.** Detaljni opis tretmana tovnih pilića ekstraktom đumbira u različitim koncentracijama

Skupina	Kratica	Tretman	Koncentracija (%) VT	Dodatak g/kg hrane	Broj životinja	Broj replikacija
Kontrola	K	-	-	-	10	5
Pokus 1	P1	Ekstrakt đumbira	0.0025	2.5	10	5
Pokus 2	P2	Ekstrakt đumbira	0.005	5	10	5
Pokus 3	P3	Ekstrakt đumbira	0.01	10	10	5

## 4.2. Metode

### 4.2.1. Uzimanje uzoraka i mjerenja

Praćenje tjelesne mase i unosa hrane provedeno je na tjednoj bazi na razini kaveza s ciljem određivanja prosječnog dnevnog prirasta, prosječnog dnevnog unosa hrane i konverzije hrane (Slika 8.). Mortalitet i zdravstveno stanje bilježeno je svakodnevno tijekom cijelog eksperimentalnog razdoblja. Dana 21. i 42. istraživanja, 40 ptica (2 ptice po kavezu, odnosno 10 po tretmanu) nasumično je odabrano nakon 12 sati posta za prikupljanje periferne krvi potrebne za određivanje hematoloških i biokemijskih parametara. Na 42. dan istraživanja, dvije ptice po kavezu (ukupno 40 životinja) nasumce je odabrano za žrtvovanje kako bi prikupili uzorke tkiva jetre i tankog crijeva za histološku i morfometrijsku pretragu.

Dozvola za provođenje istraživanja odobrena je od strane Odbora za etiku Veterinarskog fakulteta u Zagrebu.



**Slika 8.** Vaganje životinja tijekom istraživanja

#### 4.2.1.1. Periferna krv

Uzorci periferne krvi prikupljeni su venepunkcijom (Slika 9.) iz desne jugularne vene (*v. jugularis dextra*) u staklene epruvete s podtlakom (Beckton Dickinson, Plymouth, UK). Za hematologiju je uzeto 2 mL krvi koja je pohranjena u epruvete s etilendiamintetraoctenom kiselinom (EDTA) kao antikoagulansom. Za biokemiju i analizu malondialdehida je uzeto 3 mL krvi u epruvete bez antikoagulansa za odvajanje seruma. Uzorci krvi su inkubirani na 37 °C kroz 2 sata, zatim centrifugirani na 1.500 g tijekom 10 minuta, a serum je pohranjen u Eppendorf epruvetama od 1.5 mL na -20 °C za daljnje ispitivanje.



**Slika 9.** Uzimanje uzoraka periferne krvi iz *vene jugularis*

#### 4.2.1.2. Tkivo duodenuma, jejunuma, ileuma i jetre

Uzorak crijeva (0.5 cm dužine) je uzet na srednjem dijelu svakog od crijevnih segmenata za histološka i morfometrijska mjerenja (Slika 10.). Crijevni segment od želuca do gušteračinih i žučnih kanala smatran je duodenumom, od kanala do Meckelovog divertikuluma jejunumom, a od divertikuluma do ileo-cekalnog spoja jejunumom (Incharoen i sur. 2010.). Segmenti tankog crijeva isprani su u fiziološkoj otopini i pohranjeni u 10% neutralnom formalinu. Uzorak jetre je uzet neposredno nakon usmrćivanja životinje te je pohranjen u 10% neutralnom formalinu.



**Slika 10.** Uzimanje uzoraka tkiva duodenuma, jejunuma, ileuma i jetre

Segment ileuma od 3 cm dužine za određivanje mikrobioma uzet je u sredini između Meckelovog divertikuluma i ileo-cekalnog spoja. Uzorci crijeva sa sadržajem pohranjeni su u hladnom spremniku sa suhim ledom te transportirani u laboratorij gdje su pohranjeni na temperaturi od  $-80^{\circ}\text{C}$  do ekstrakcije DNK.

#### 4.2.2. Praćenje proizvodnih pokazatelja

##### Tjelesna masa

Tjelesna masa svih životinja mjerena je 1., 21., i 42. dana pokusa na digitalnoj vagi za vaganje životinja (Soehnle professional 9202, Backnang, Germany). Prvog dana pokusa pilići su vagani i raspoređeni u skupine i replikacije sukladno izmjerenoj masi kako bi se smanjila varijabilnost.

##### Prirast tjelesne mase

Prirast tjelesne mase predstavlja razliku između inicijalne mase životinje i finalne mase u određenom vremenskom periodu. Tijekom istraživanja izračunali smo prirast tjelesne mase za period od 1. - 21. dana, 22. - 42. dana i 1. - 42. dana. Prirast tjelesne mase indikator je intenziteta rasta te je mjeran za svaku replikaciju unutar pojedinog tretmana.

##### Unos hrane

Unos hrane predstavlja količinu pojedene hrane u određenom vremenskom periodu te je često u pozitivnoj korelaciji s prirastom tjelesne mase. Tijekom istraživanja izračunali smo unos hrane po pojedinoj replikaciji za period od 1.-21. dana, 22.-42. dana i 1.-42. dana. Unos hrane je bio korigiran u slučajevima kada je došlo do uginuća ili izlučivanja pojedinih životinja.

##### Konverzija hrane

Konverzija hrane predstavlja količinu hrane (kg) koja je utrošena za jedinicu prirasta (kg) u određenom vremenskom periodu, a indikator je učinkovitosti proizvodnje. Izračunava se prema formuli:

$$KH = \text{utrošak hrane} / \text{prirast tjelesne mase}$$

Tijekom istraživanja izračunali smo konverziju hrane u periodu od 1. - 21. dana, 22. - 42. dana i 1. - 42. dana. Konverzija hrane mjerena je za svaku replikaciju unutar pojedinog tretmana te je po potrebi bila korigirana zbog pojave uginuća.



### 4.2.3. Praćenje zdravstvenih pokazatelja

#### 4.2.3.1. Mortalitet

Mortalitet predstavlja broj uginulih ili izlučenih životinja u određenom vremenskom periodu i indikator je zdravstvenog stanja u jatima. Tijekom istraživanja bilježena su sva uginuća te je po završetku izračunat kumulativni mortalitet po pojedinom tretmanu i izražen u obliku postotka.

#### 4.2.3.2. Određivanje hematoloških pokazatelja

Za provođenje hematološke analize uzoraka ptičje krvi, standardno automatizirano brojanje stanica je nepouzđano, jer krvne stanice ptica sadrže jezgru. Stoga se kvantitativno brojanje bijelih krvnih stanica kod ptica i dalje provodi ručno, pri čemu se Natt-Herrick metoda (Natt i Herrick, 1952.) najčešće koristi u veterinarskim laboratorijima. Ručno brojanje eritrocita i leukocita napravljeno je prema postupku opisanom od Campbell (1995.).

Diferencijalna slika bijelih krvnih stanica provedena je po sljedećem postupku. Iz svakog uzorka krvi pripremljena su i obojena dva krvna razmaza koristeći automatizirani uređaj za bojenje HEMA-TEK 2000 (Bayer HealthCare AG, Berlin, Njemačka), koristeći modificiranu otopinu Wright-Giemsa (Hematek® Stain Pak, Siemens Healthcare Inc., New York, SAD). Nakon pripreme pristupilo se brojanju i klasifikaciji stotinu bijelih krvnih stanica. Postupak je proveden dva puta te se od dva različita broja izračunala srednja vrijednost kako bi se dobio postotak za svaku vrstu leukocita (Carisch i sur., 2019.).

#### 4.2.3.3. Određivanje biokemijskih pokazatelja

Razine metabolita, enzima i elektrolita u serumu tovnih pilića odredili smo korištenjem standardnih metoda na automatskom biokemijskom analizatoru Abbott Architect C4000 (Abbott, SAD). Svi parametri su određeni korištenjem Abbott reagensa (Abbott, SAD) osim globulina i GPx. Sadržaj globulina je određen računski kao razlika ukupnih proteina i albumina, a GPx je određen Randox reagensima (Randox Laboratories, Crumlin, UK).

#### 4.2.3.4. Određivanje malondialdehida

Sadržaj malondialdehida (MDA) se mjerio pomoću HPLC metode opisane od strane Agarwalla i Chase (2002.). Alikvot od 20  $\mu\text{L}$  injektiran je na Shimadzu LC-2010HT s inert-Sustain C18 kolonom (4,6 mm 150 mm, veličina čestica 5  $\mu\text{m}$ ; GL Sciences, Tokio, Japan). Koristila se standardna krivulja pripremljena sa 1,1,3,3-tetraetoksipropanom. Tvari koje reagiraju s tiobarbiturnom kiselinom (TBARS) su izražene u  $\mu\text{mol}$  po mL seruma.

#### 4.2.3.5. Određivanje mikrobioma crijeva

Za ekstrakciju DNK iz uzoraka sadržaja tankog crijeva tovnih pilića, u ovom radu korišten je GenElute™ Mammalian Genomic DNA Miniprep Kit (Sigma-Aldrich, SAD). Sadržaj tankog crijeva se zbog svog kompleksnog sastava klasificira kao tkivo sisavaca. Postupak ekstrakcije je izveden na slijedeći način:

##### 1. Priprema tkiva

Komad svježeg ili smrznutog tkiva brzo je usitnjen i izvagan. Smrznuto tkivo ostavljeno je da se malo otopi prije rezanja, ali je držano na ledu kako bi ga zaštitili od propadanja. Rezanjem tkiva na male komadiće omogućili smo učinkovitiju lizu. Po pripremu smo koristili do 25 mg tkiva koje smo prebacili u epruvetu mikrocentrifuge od 1,5 mL.

##### 2. Probava tkiva

U tkivo smo dodali 180  $\mu\text{l}$  Lysis Solution T (B6678), a zatim 20  $\mu\text{L}$  otopine Proteinase K te miješali vorteksiranjem. Inkubirali smo uzorak na 55 °C dok se tkivo potpuno nije probavilo. Povremeno smo promiješali i upotrijebili tresuću vodenu kupelj. Probava je obično bila gotova za 4 sata. Nakon završetka probave, kratko smo promiješali.

##### 3. Liziranje stanica

Dodali smo 200  $\mu\text{L}$  otopine za Lizu C (B8803) u uzorak; te temeljito promiješali vorteksiranjem (15 sekundi). Za učinkovitu lizu bitna je homogena smjesa. Inkubirali smo na 70 °C 10 minuta.

#### 4. Priprema kolona

Dodali smo 500  $\mu\text{L}$  otopine za pripremu kolone u svaku prethodno sastavljenu GenElute™ Miniprep vezujuću kolonu (s crvenim o-prstenom) i centrifugirali na  $12\ 000 \times g$  1 minutu. Tekućinu koja prolazi smo odbacili. Otopina za pripremu kolone maksimalno povećava vezanje DNK na membranu što polučuje bolje rezultate.

#### 5. Priprema za povezivanje

Dodali smo 200  $\mu\text{L}$  etanola (95-100%) u lizat i temeljito promiješali vorteks miješalicom 5-10 sekundi. Važno je postići homogenu otopinu.

#### 6. Punjenje lizata

Prenijeli smo cijeli sadržaj epruvete u tretiranu veznu kolonu iz koraka 4. Upotrijebili smo vrh pipete sa širokim provrtom kako bi smanjili fragmentiranje DNK prilikom prijenosa sadržaja u kolonu za vezanje. Centrifugirali smo na  $\geq 6500 \times g$  1 minutu. Odbacili smo epruvetu za prikupljanje koja sadrži tekućinu i stavili kolonu za vezanje u novu epruvetu za prikupljanje od 2 mL.

#### 7. Prvo ispiranje

Razrijedili smo koncentrat otopine za ispiranje etanolom kako je opisano u uputama za pripremu. Dodali smo 500  $\mu\text{L}$  otopine za ispiranje u kolonu za vezanje i centrifugirali 1 minutu na  $\geq 6500 \times g$ . Odbacili smo epruvetu za prikupljanje koja sadrži tekućinu i stavili kolonu za vezanje u novu epruvetu za prikupljanje od 2 mL.

#### 8. Drugo ispiranje

Dodali smo još 500  $\mu\text{L}$  otopine za ispiranje u kolonu za vezanje i centrifugirali 3 minute pri najvećoj brzini ( $12\ 000 - 16\ 000 \times g$ ) kako bi osušili kolonu za vezanje. Kolona za vezanje mora biti bez etanola prije eluiranja DNK. Centrifugirali smo kolonu još jednu minutu pri najvećoj brzini ako smo primijetili zaostali etanol. Na kraju smo odbacili epruvetu za prikupljanje koja je sadržavala tekućinu i stavili smo kolonu za vezanje u novu epruvetu za prikupljanje od 2 mL.

#### 9. Eluiranje DNK

Otpipetirali smo 200  $\mu\text{L}$  otopine za eluiranje izravno u središte kolone za vezanje i centrifugirali 1 minutu na  $\geq 6500 \times g$  kako bi eluirali DNK. Da bi povećali učinkovitost

eluiranja, nakon dodavanja elucijske otopine, inkubirali smo 5 minuta na sobnoj temperaturi, a zatim centrifugirali.

Opcija: drugi eluat se mogao prikupiti ponavljanjem koraka 9 s dodatnih 200  $\mu$ L otopine za eluiranje i eluiranjem u novu epruvetu za sakupljanje od 2 mL ili u istu epruvetu za sakupljanje od 2 mL koja je korištena za prvi eluat.

Eluat sadrži čistu genomsku DNK. Za kratkotrajno skladištenje DNK preporučuje se 2 – 8 °C. Za dugotrajnu pohranu DNK preporučuje se -20 °C. Potrebno je izbjegavati zamrzavanje i odmrzavanje, što uzrokuje prekide u DNK lancu. Elution Solution pomaže u stabilizaciji DNK na ovim temperaturama.

Koncentracija i kvaliteta genomске DNK pripremljene GenElute™ kitom može se odrediti spektrofotometrijskom analizom (Slika 11.) i elektroforezom u agaroznom gelu.



**Slika 11.** Određivanje koncentracije bakterijske DNK na BioDrop mikrovolumnom spektrofotometru

Izolirana DNK iz uzorka sadržaja tankog crijeva poslana je na sekvencioniranje u laboratorij tvrtke Novogene (Novogene Co, Cambridge Science Park, UK). DNK ampliconi bili su pojačani početnicama za V4 domenu bakterijskog gena 16S rRNA lančanom reakcijom polimeraze. Pojačani proizvodi ekstrahirani su elektroforezom s 2% agaroznim gelom, a proizvodi za lančanu reakciju polimeraze jednako su bili pomiješani i pročišćeni s GeneJET gel ekstrakcijskim kompletom (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA). Knjižnica je izgrađena pomoću Ion Plus Fragment kompleta (Thermo Fisher Scientific). Nakon kvantifikacije Qubitom (Qubit 2.0 fluorometar, Life Technology, Carlsbad) i testiranja knjižnice, izgrađena knjižnica sekvencirana je pomoću platforme za sekvenciranje Illumina PE250 u Tvrtki Novogene Bioinformatics Technology Co., Ltd. (Peking, Kina).

Na temelju platforme za sekvenciranje Illumina PE250 izgrađena je mala knjižnica fragmenata metodom jednosmjernog sekvenciranja (Single-End). Čisti podaci dobiveni su rezanjem i filtriranjem očitavanja. Na temelju čistih podataka sekvence su bile grupirane u operativne taksonomske jedinice (OTU) s 97% identiteta, a zatim su OTU sekvence i baza podataka Silva132 korištene za analizu vrsta (Edgar, 2013). Raznolikost bakterijskih vrsta u različitim skupinama procijenjena je taksonomskom analizom OTU-a, štoviše, analiziran je sastav za razinu koljena i roda kako bi se objasnile razlike u strukturi među različitim skupinama. Za analizu raznolikosti u ovoj studiji korišteni su indeks bogatstva vrsta mikroorganizama  $\alpha$ -zajednice (Chao1) i indeks raznolikosti mikrobne zajednice (Shannon). Što je veći Chao1 indeks, to je veće bogatstvo vrsta u uzorku dok veći Shannon indeks ukazuje na veću raznolikost mikrobnih zajednica. Za komparaciju mikrobne zajednice, temeljenu na njezinom sastavu, između svih uzoraka, odnosno beta raznolikost, korištena je Principal Coordinates Analysis (PCoA).

## 4.2.4. Histološka i morfometrijska mjerenja

### 4.2.4.1. Morfometrija tankih crijeva

Neposredno nakon klanja tanko crijevo je odvojeno od mezenterija. Uzorak crijeva (0.5 cm dužine) je uzet na srednjem dijelu svakog od crijevnih segmenata (duodenum, jejunum, ileum). Uzorci su odmah bili fiksirani u neutralnom puferiranom formalinu (10%) tijekom 24 sata. Fiksirani uzorci obrađeni su standardnom tehnikom ugradnje parafina. Presjeci debljine 5  $\mu$ m su pripremljeni i obojeni hematoksilinom i eozinom (HE), prema Bancroft i sur. (1996.), za histopatološki pregled i morfometriju.

Histološki preparati segmenata crijeva su pregledani svjetlosnim mikroskopom Nikon-Microphot-FXA (Nikon, Tokyo, Japan), koji je opremljen digitalnom kamerom za mikroskop GXCAM-U3-18 (GT Vision, Wickhambrook, UK) s kojom su slikana reprezentativna polja. Za slikanje je korišten računalni program GXCapture-T (GT Vision, Wickhambrook, UK). Na slikama pripremljenih presjeka izvedena je kvantitativna računalna morfometrijska analiza. Slike su analizirane pomoću softvera ImageJ (Bethesda, MD, SAD) za mjerenje visine resica, dubine kripte i širine resica na spoju kripta/resica, kao i vrh. Mjerenje se temeljilo na srednjoj vrijednosti 15 resica po uzorku (x10).

Visina resica, širina baze i vrha resica, površina resica, širina epitela te dubina i širina kripte, izmjereni su pri povećanju objektiva od 10 puta. Visina resica mjerena je kao udaljenost od vrha resice do spoja resice i kripte. Širina vrha i baze resica mjerena je na gornjoj, odnosno donjoj trećini duljine resica (Incharoen i sur. 2010.). Površina resice izmjerena je označavanjem mjerne površine resice u računalnom programu. Širina epitela mjerena je na sredini pojedine resice. Dubina kripte mjerena je od baze resice do mukoze (Khonyoung i sur. 2012.). Sva mjerenja prikupljena su s 8 resica i kripte po jednom uzorku pojedinog segmenta crijeva za svaku pticu, a izražena su kao prosječna vrijednost za svaku pticu. Na koncu je 8 prosječnih visina crijevnih resica, kao i 8 prosječnih širina baze crijevnih resica od 10 ptica izraženo kao prosjek mjerenog parametra za skupinu. Omjer visine resica i dubine kripte izračunat je na kraju dijeljenjem visine resica s dubinom kripte.

#### 4.2.4.2. Histopatološka pretraga tkiva jetre

Uzorci tkiva jetre prikupljeni su neposredno nakon usmrćivanja životinje te su bili pohranjeni u 10% neutralnom formalinu. Uzorci su zatim prevezeni na Zavod za veterinarsku patologiju Veterinarskog fakulteta u Zagrebu, gdje su podvrgnuti daljnjoj obradi. Presjeci mikrotoma debljine 5 m obojeni su hematoksilinom i eozinom i procijenjeni pod svjetlosnim mikroskopom Nikon Microphot-FXA (Nikon, Tokyo, Japan). U svakom ispitivanom uzorku tkiva jetre uočeni su sljedeći patološki obrasci te je zabilježeno: postojanje nakupina limfocita među hepatocitima; postojanje različitih oblika regresivnih lezija hepatocita (poput degeneracije, vakuolarne degeneracije, steatoza i nekroza parenhima jetre) i njihov opseg; postojanje hiperplazije žučnog kanala; postojanje patoloških promjena u arterijama jetre (poput arterijske hiperplazije, fibromuskularna arterijska displazija i induracija arterijske stijenke) i njihov opseg; i postojanje patoloških promjena u venama jetre (poput zadebljanja stijenke vena i hiperplazija vlaknastog tkiva unutar stijenke vena) i njihov opseg. Opseg histopatoloških lezija u jetri pilića opisan je oznakama "ne postoji", „izrazito slabo izraženo“, „slabo izraženo“, „umjereno izraženo“, „snažno izraženo“, ili "izrazito snažno izraženo" (Klarić i sur., 2018.)

#### 4.2.5. Statistička analiza

Podaci su analizirani korištenjem programa Statistica 2010 (Statistica, Tulsa, OK, SAD). Svi rezultati su bili objedinjeni na nivou kaveza i prikazani su kao srednje vrijednosti i objedinjena standardna devijacija. Zavisne varijable Ispitane su ANOVA-om, a Tukey-ev test je primijenjen kako bi se odredile statističke razlike između skupina. Razlike su se smatrale značajnima kod  $p \leq 0,05$ .

Za statističku obradu histopatoloških nalaza na uzorcima tkiva jetre korištene su druge metode. Nakon potvrde normalnosti distribucije podataka pomoću Shapiro-Wilkinson testa, svi podaci su bili obrađeni metodama deskriptivne statistike. Opisane su kategorijalne varijable u apsolutnim i relativnim frekvencijama. Za usporedbu kategorijalnih varijabli među skupinama korišten je Fisherov test i Hi kvadrat test Monte carlo.



## 5. REZULTATI

### 5.1. Proizvodni pokazatelji i zdravstveni status

Utjecaj standardiziranog ekstrakta đumbira u dozama od 0 g/kg, 2.5 g/kg, 5 g/kg i 10 g/kg na tjelesnu masu i prirast tjelesne mase tovnih pilića prikazan je u Tablici 7. Statistički značajne razlike tjelesne mase između pojedinih tretmana zabilježene su 21. dan istraživanja. Skupina pilića P2 (5 g/kg) ostvarila je najvišu prosječnu tjelesnu masu u odnosu na ostale skupine. Statistički značajna razlika ( $p < 0,02$ ) u tjelesnoj masi zabilježena je između svih skupina u odnosu na skupinu P3 (10 g/kg) koja je ostvarila najnižu vrijednost u prva tri tjedna istraživanja. Na 42. dan istraživanja najvišu vrijednost tjelesne mase ( $p < 0,003$ ) ostvarile su skupine K (0 g/kg) i P2 (5 g/kg) u odnosu na skupine P1 (2.5 g/kg) i P3 (10 g/kg).

Najveći prirast tjelesne mase u periodu od 1. – 21. dana istraživanja ostvarila je skupina pilića P2 (5 g/kg). Statistički značajna razlika ( $p < 0,05$ ) u prirastu mase ostvarena je jedino između skupina P2 (5 g/kg) i P3 (10 g/kg). U periodu od 22. – 42. dana istraživanja najveći prirast tjelesne mase ostvarila je kontrolna skupina dok je statistički značajno ( $p < 0,04$ ) veći prirast zabilježen kod skupina K (0 g/kg) i P2 (5 g/kg) u odnosu na skupinu P3 (10 g/kg). Statistički značajno veću ( $p < 0,03$ ) vrijednost prirasta tjelesne mase u cijelom periodu istraživanja (dan 1. - 42.) ostvarile su skupine K (0 g/kg), P1 (2.5 g/kg) i P2 (5 g/kg) u odnosu na skupinu P3 (10 g/kg).

Utjecaj ekstrakta đumbira u dozama od 0 g/kg, 2.5 g/kg, 5 g/kg i 10 g/kg na unos hrane i konverziju hrane u jedinicu prirasta tovnih pilića prikazan je u Tablici 8. Najveći unos hrane u periodu od 1. – 21- dana istraživanja ostvarila je kontrolna skupina tovnih pilića (1423 g/pile). Statistički značajno veći ( $p < 0,02$ ) unos hrane u istom periodu ostvaren je u skupini K (0 g/kg) i P1 (2.5 g/kg) u odnosu na skupinu P3 (10 g/kg). U periodu istraživanja od 22. – 42. dana najveći unos hrane je ponovno ostvarila kontrolna skupina pilića (4471 g/pile). Statistički značajno veća ( $p < 0,001$ ) vrijednost unosa hrane zabilježena je kod skupine K (0 g/kg) i P1 (2.5 g/kg) u odnosu na skupine P2 (5 g/kg) i P3 (10 g/kg). Tijekom cijelog istraživanog perioda (dan 1. – 42.) najveći unos hrane je ostvaren u kontrolnoj skupini pilića (5912 g/pile), dok je statistički značajno veća ( $p < 0,001$ ) vrijednost unosa hrane zabilježena je kod skupine K (0 g/kg) i P1 (2.5 g/kg) u odnosu na skupine P2 (5 g/kg) i P3 (10 g/kg). Tijekom svih promatranih

razdoblja znakovit je gotovo linearan trend pada unosa hrane s povećanjem doze standardiziranog ekstrakta đumbira u hrani.

**Tablica 7.** Utjecaj eksperimentalne hrane na tjelesnu masu i prirast tjelesne mase tovnih pilića tijekom 42. dana istraživanja.

Proizvodni parametar	Nutritivni tretman				P - vrijednost
	Ekstrakt <i>Z. officinale Roscoe</i> (95% CI)				
	K	P1	P2	P3	
Tjelesna masa (g/pile)					
Dan 1	44.5	44.5	44.5	44.5	1.0
Dan 21.	813 <sup>a</sup>	792 <sup>a</sup>	824 <sup>a</sup>	685 <sup>b</sup>	0.02
Dan 42.	2826 <sup>a</sup>	2692 <sup>b</sup>	2829 <sup>a</sup>	2616 <sup>b</sup>	0.003
Prirast mase (g/pile)					
Dan 1 - 21	767	747	779 <sup>a</sup>	640 <sup>b</sup>	0.05
Dan 22 - 42	2013 <sup>a</sup>	1900	2005 <sup>a</sup>	1857 <sup>b</sup>	0.04
Dan 1 - 42	2781 <sup>a</sup>	2647 <sup>a</sup>	2784 <sup>a</sup>	2497 <sup>b</sup>	0.03

<sup>a, b, c</sup> Vrijednosti s različitim eksponentom značajno se razlikuju. Skupina se sastojala od 10 životinja s 5 replikacija po tretmanu.

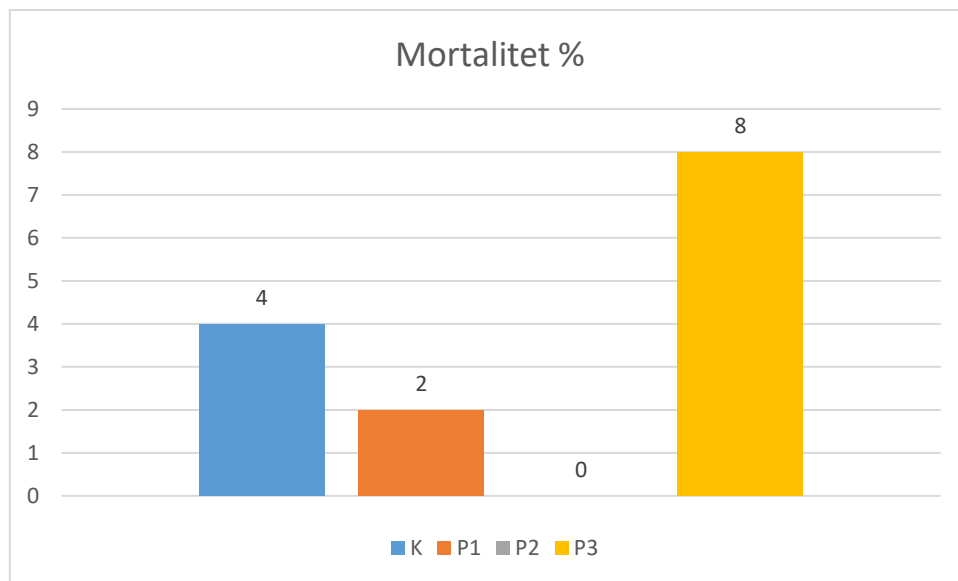
U periodu od 1. – 21. dana istraživanja najbolju konverziju hrane (1.44) ostvarila je skupina P2 (5 g/kg). Statistički značajno manja ( $p < 0,002$ ) konverzija hrane u ovom periodu ostvarena je u skupinama P2 (5 g/kg) i P3 (10 g/kg) u odnosu na skupine K (0 g/kg) i P1 (2.5 g/kg). U periodu od 22. – 42. dana istraživanja najbolju konverziju hrane (1.86) ostvarila je skupina P2 (5 g/kg) dok su ostale skupine imale konverziju višu od 2. U navedenom periodu statistički značajno manju ( $p < 0,03$ ) konverziju hrane ostvarila je skupina P2 u odnosu na sve ostale skupine tovnih pilića. Također, u istom periodu je skupina P3 (10 g/kg) ostvarila značajno manju ( $p < 0,05$ ) konverziju hrane u odnosu na skupinu P1 (2.5 g/kg). Tijekom cijelog perioda istraživanja (dan 1. – 42.) statistički značajno najnižu ( $p < 0,01$ ) vrijednost konverzije hrane ostvarili su pilići iz skupine P2 (5 g/kg) u odnosu na sve ostale skupine pilića.

**Tablica 8.** Utjecaj eksperimentalne hrane na unos i konverziju tovnih pilića tijekom 42. dana istraživanja.

Proizvodni parametar	Nutritivni tretman				P - vrijednost
	Ekstrakt <i>Z. officinale Roscoe</i> (95% CI)				
	K	P1	P2	P3	
Unos hrane (g/pile)					
Dan 1 - 21	1423 <sup>a</sup>	1314 <sup>a</sup>	1119	942 <sup>b</sup>	0.02
Dan 22 - 42	4471 <sup>a</sup>	4313 <sup>a</sup>	3735 <sup>b</sup>	3717 <sup>b</sup>	0.001
Dan 1 - 42	5912 <sup>a</sup>	5713 <sup>a</sup>	5135 <sup>b</sup>	4826 <sup>b</sup>	0.001
Konverzija hrane (g/g)					
Dan 1 - 21	1.86 <sup>a</sup>	1.76 <sup>a</sup>	1.44 <sup>b</sup>	1.48 <sup>b</sup>	0.002
Dan 22 - 42	2.22 <sup>a</sup>	2.28 <sup>ab</sup>	1.86 <sup>cd</sup>	2.06 <sup>ae</sup>	0.03
Dan 1 - 42	2.13 <sup>a</sup>	2.17 <sup>a</sup>	1.85 <sup>b</sup>	2.08 <sup>ac</sup>	0.01

<sup>a, b, c</sup> Vrijednosti s različitim eksponentom značajno se razlikuju. Skupina se sastojala od 10 životinja s 5 replikacija po tretmanu.

Postotak uginulih pilića ili pilića koji su izlučeni zbog kržljivosti tijekom 42. dana istraživanja prikazan je na Slici 12. Najveći broj uginulih/kržljivih pilića zabilježen je u skupini P3 koja je dobila najvišu dozu (10 g/kg) testiranog pripravka. Slijedi kontrolna skupina s 4% uginuća te skupina P1 s 2% uginuća. Jedino u skupini P2 nije bilo uginuća ili izlučivanja pilića tijekom trajanja pokusa.



**Slika 12.** Utjecaj eksperimentalne hrane na postotak uginulih/izlučenih tovnih pilića tijekom 42. dana istraživanja.

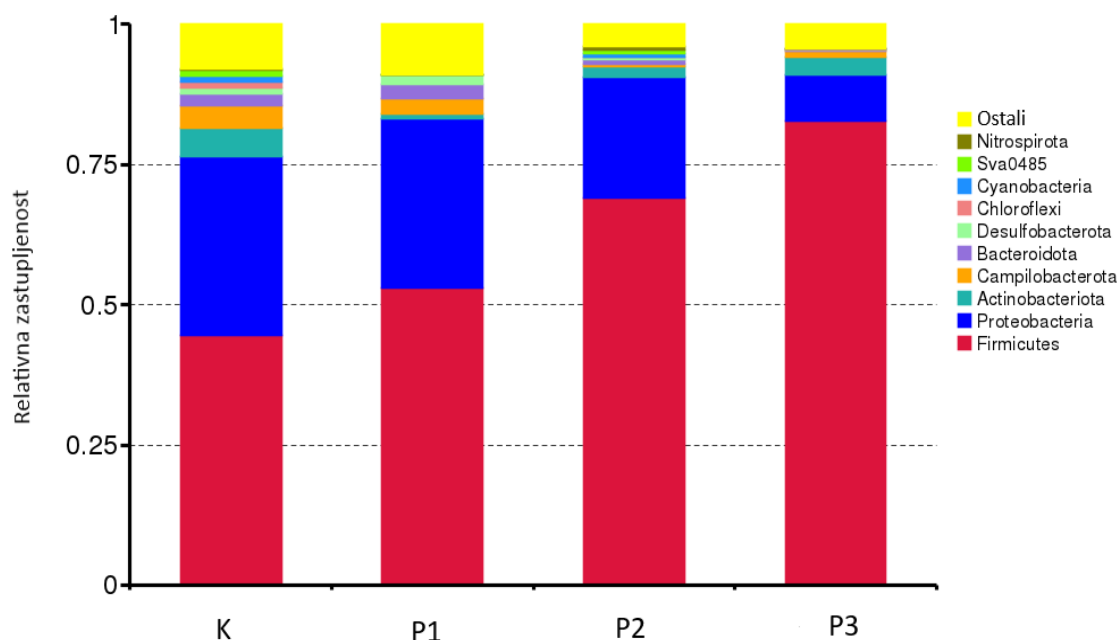
## 5.2. Mikrobiom crijeva

### OTU analiza i taksonomska podjela

Kako bi proučili sastav mikrobne zajednice u svakom uzorku, operativne taksonomske jedinice (OTU) dobivene su grupiranjem s 97% identiteta na učinkovitim oznakama svih uzoraka, a zatim identificirane.

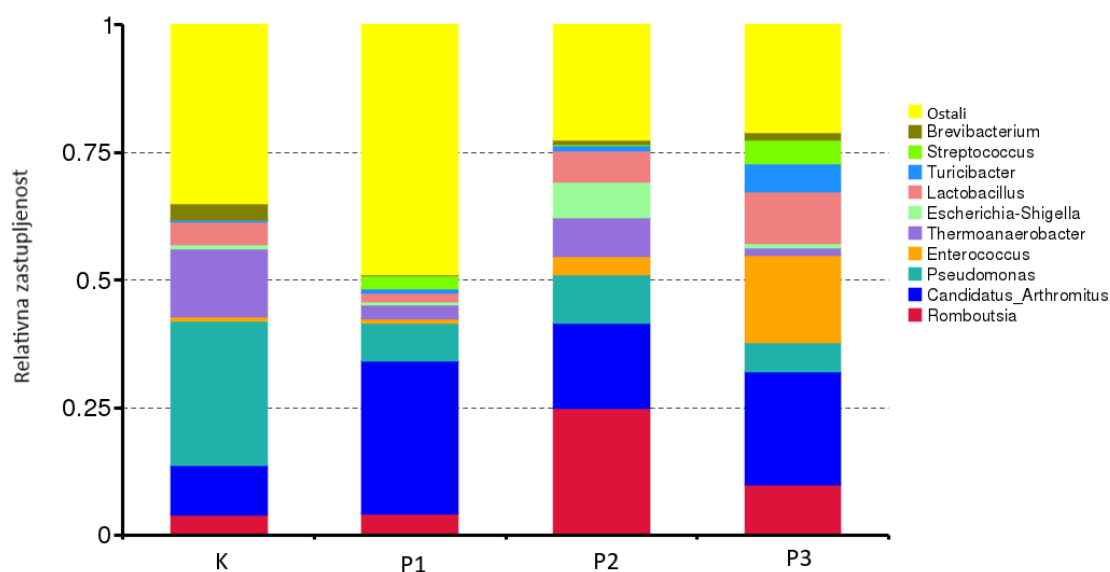
### Relativna zastupljenost

Prema rezultatima taksonomske podjele, odabrali smo 10 taksona svakog uzorka ili skupine u svakom taksonomskom rangu (Koljeno, Razred, Red, Porodica, Rod) kako bi formirali distribucijski histogram relativne zastupljenosti te kako bi vizualno prikazali taksone s većom relativnom zastupljenosti i njihovim udjelom u različitim razinama klasifikacije svakog uzorka. Relativna zastupljenost taksona u koljenu prikazana je u nastavku.



**Slika 13.** Analiza relativne zastupljenosti crijevnih mikroorganizma na razini koljena iz crijeva tovnih pilića hranjenih različitim koncentracijama ekstrakta đumbira.

Analiza diferencijacije strukture mikrobiote crijeva prikazana je na Slici 13. Struktura zajednice te crijevne mikrobiote zabilježena je pomoću histograma na razini koljena i roda. Dominantne skupine bakterija (više od 75%) na razini koljena u svim skupinama bile su *Firmikuti* i *Proteobakterije*. U skupinama P2 i P3 zabilježeno je značajno smanjenje ( $p < 0,05$ ) relativne zastupljenosti *Proteobakterija* te povećanje ( $p < 0,05$ ) udjela *Firmikuta* u odnosu na kontrolnu skupinu. U navedenim skupinama zabilježeno je i značajno smanjenje relativne zastupljenosti *Campilobacterota* i *Bacteroidota* ( $p < 0,05$ ).



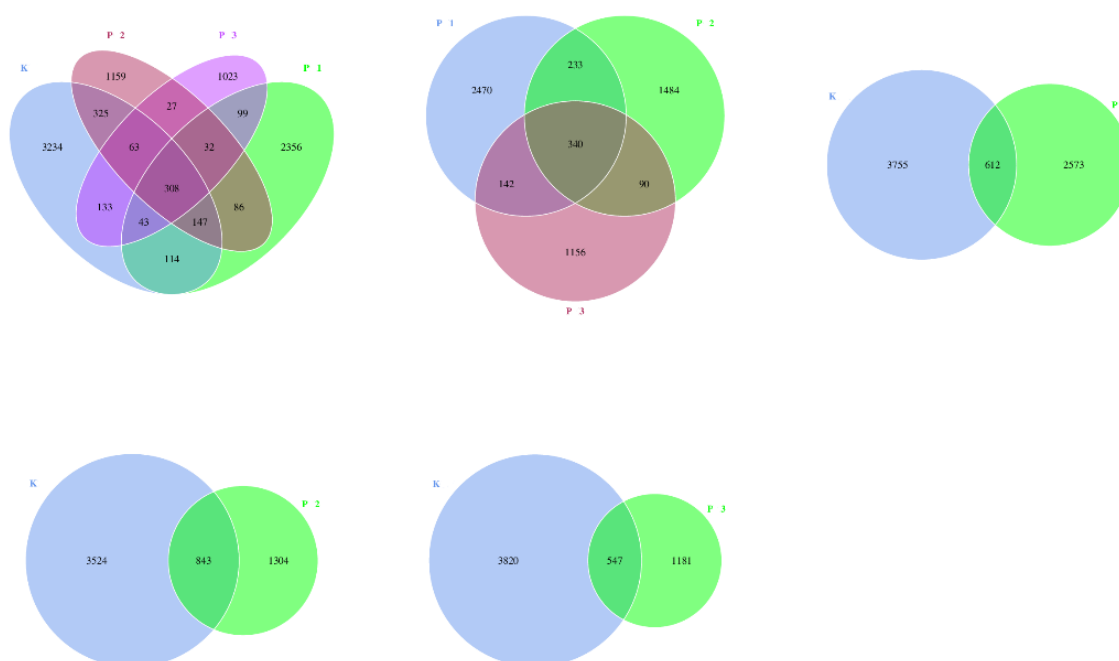
**Slika 14.** Analiza relativne zastupljenosti crijevnih mikroorganizama na razini roda iz crijeva tovnih pilića hranjenih različitim koncentracijama ekstrakta đumbira. Različite boje predstavljaju pojedine rodove bakterija.

U svim uzorcima identificirano je više od 30 rodova no samo 10 najzastupljenijih prikazano je na histogramu na Slici 14. Dominantne zajednice u kontrolnoj skupini bile su bakterije iz roda *Pseudomonas*, *Thermoanaerobakteria*, *Candidatus Arthromitus* i *Lactobacillus*. U skupinama pilića koji su dobivali ekstrakt đumbira primijećen je značajan porast ( $p < 0,05$ ) relativne zastupljenosti bakterija iz roda *Candidatus Arthromitus* i *Romboutsia* te značajno smanjenje ( $p < 0,05$ ) roda *Pseudomonas* i *Thermoanaerobakteria*. U skupini P2 zabilježen je značajno veća ( $p < 0,05$ ) zastupljenost bakterija iz roda *Escherichia – Shigella* u odnosu na ostale

skupine. U skupini P3 primijećena je veća ( $p < 0,05$ ) zastupljenost bakterija iz roda *Enterococcus* i *Lactobacillus* u odnosu na sve ostale skupine u istraživanju.

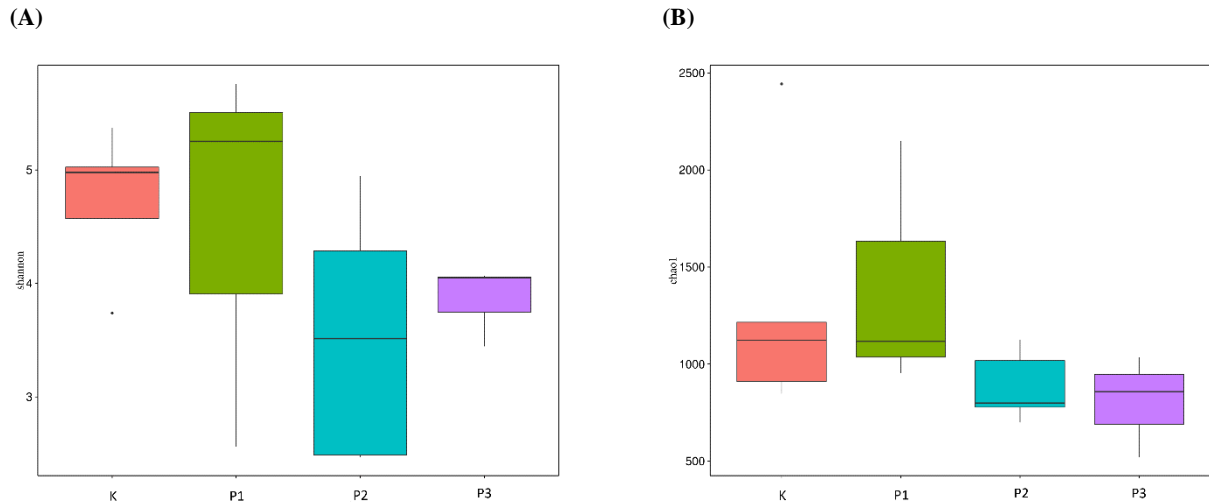
### Analiza alfa raznolikosti

Alfa raznolikost primjenjuje se na analizu raznolikosti mikrobnih zajednica unutar uzorka (Li i sur. 2013.). Analiza raznolikost jedinstvenog uzorka (Alfa raznolikost) može odražavati raznolikost i bogatstvo mikrobnih zajednica u svakom uzorku, uključujući boxplot akumulacije vrsta, krivulje biološke raznolikosti i niz statističkih analiza.



**Slika 15.** Vennovi dijagrami koji prikazuju specifične i zajedničke rodove bakterija iz ileuma brojlera hranjenih s različitim koncentracijama ekstrakta đumbira. Svaki krug predstavlja jednu skupinu. Vrijednosti u preklapajućim dijelovima predstavljaju zajedničke OTU-ove. Ostali dijelovi su specifični OTU-ovi u svakom uzorku.

Na Vennovom dijagramu je vidljivo da je 308 bakterijskih rodova bili zajedničko kod svih skupina u istraživanju (Slika 15.). Kontrolna skupina je imala najviše jedinstvenih rodova, s ukupno 3234, a prate ju P1 sa 2356, zatim P2 sa 1159 i naposljetku P3 sa 1023. Najveći broj (325) zajedničkih OTU-a je bio između kontrolne i P2 skupine. Dobiveni rezultati jasno ukazuju na trend smanjenja specifičnih rodova bakterija s povećanjem doze testiranog pripravka.



**Slika 16.** Procjena alfa raznolikosti kroz (A) Shannon indeks i (B) Chao 1 indeks mikrobne zajednice iz crijeva brojlera hranjenih različitim dozama ekstrakta đumbira.

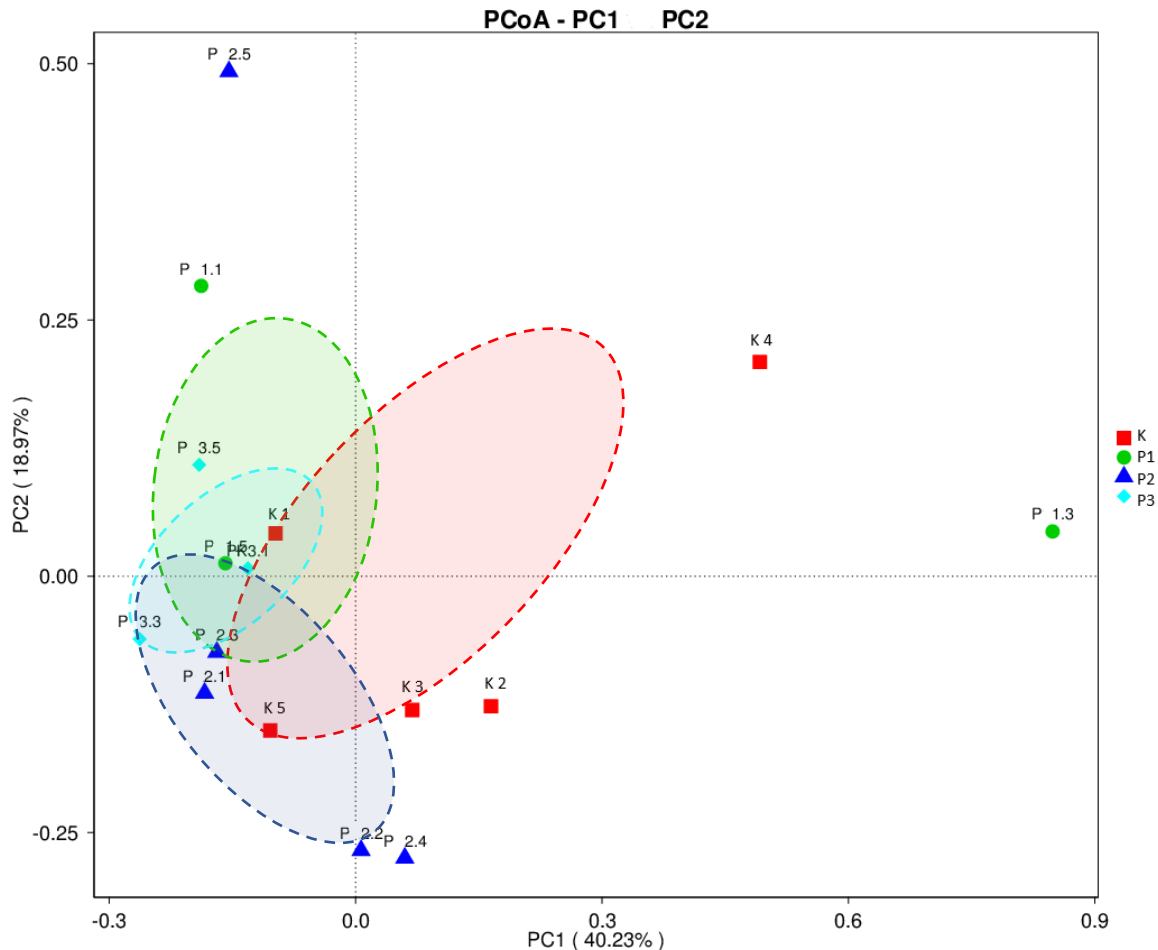
Strukturalna modulacija mikrobiote tankoga crijeva predstavljena je kroz alfa raznolikost (Slika 16.). Shannon indeks je indikator raznolikosti bakterijskih populacija dok je Chao 1 indeks prikazuje bogatstvo. Skupina PK1 ostvarila je najvišu vrijednost Shannon indeksa (Slika 16A) i najveće bogatstvo bakterijskih OTU-a prema Chao1 indeksu (Slika 16B) dok je PK2 skupina ostvarila najnižu raznolikost. Međutim, razlike alfa raznolikosti mikrobioma u ileumu tovnih pilića hranjenih ekstraktom đumbira prikazuju da nije bilo statistički značajnih ( $p \geq 0,05$ ) promjena Shannon indeksa i Chao1 indeksa u usporedbi s kontrolnom skupinom.

#### Analiza beta raznolikosti

Uz alfa raznolikost i beta raznolikost se često koristi za opisivanje mikrobioma crijeva. Ona predstavlja usporedbu mikrobne zajednice, koja se bazira na njezinom sastavu, između svih uzoraka u analizi. Temeljni rezultat određivanja beta raznolikosti je kvadratni, šuplji matriks u kojem je izračunata „udaljenost“ ili različitost između svakog uzorka. Dobiveni podaci se mogu vizualizirati s Principal Coordinates Analysis (PCoA) analizom (Lozupone i



sur. 2007.). Principal Coordinates Analysis (PCoA) je metoda korištena za istraživanje i sličnosti i različitosti podataka beta raznolikosti. Bazira se na matrici sličnosti, odnosno udaljenosti i za svaku vrijednost dodjeljuje lokaciju u trodimenzionalnom prostoru. Na Slici . je prikazana Weighted UniFrac metrika koja kod izračunavanja udaljenosti između uzoraka uzima u obzir prisutnost i zastupljenost pojedinih taksonomskih jedinica.



**Slika 17.** Analiza beta raznolikosti PCoA dijagramom populacija crijevnih mikroorganizama tovnih pilića hranjenih ekstraktom đumbira. PCoA na temelju ponderirane udaljenosti Unifrac. Svaka točka predstavlja uzorak, iscrtan glavnom komponentom na osi X i drugom glavnom komponentom na osi Y, koji je obojen po skupini. Postotak na svakoj osi označava vrijednost doprinosa nepodudarnosti među uzorcima.

Analiza beta raznolikosti pokazala je male promjene u bogatstvu promatranih bakterijskih populacija. Većina uzoraka imala je slične populacije neovisno o tretmanu, što je vidljivo po udaljenosti na dijagramu (Slika 17.).

### 5.3. Hematološki pokazatelji

Utjecaj ekstrakta đumbira u različitim koncentracijama na odabrane hematološke parametre tovnih pilića na kraju istraživanja prikazan je u Tablici 9. Iz priloženog je vidljivo da je ekstrakt đumbira umješan u hranu značajno povisio udio heterofila u skupini P3 u odnosu na sve ostale skupine te smanjio udio limfocita također u skupini P3 u odnosu na kontrolnu skupinu i skupinu P1. Za ostale promatrane parametre nije bilo statistički značajnog utjecaja na fiziološke vrijednosti hemograma tovnih pilića na 42. dan istraživanja. Najveći broj eritrocita zabilježen je u kontrolnoj skupini pilića na 42. dan istraživanja. Najveći broj leukocita, te postotak neutrofila i heterofila ostvarili su pilići u skupini P2 (5 g/kg) u odnosu na ostale skupine, dok je skupina P3 imala najveći postotak eozinofila.

**Tablica 9.** Utjecaj eksperimentalne hrane na razine odabranih hematoloških parametara tovnih pilića 42. dana pokusa.

Parametar	Nutritivni tretman				P - vrijednost
	Ekstrakt <i>Z. officinale Roscoe</i> (95% CI)				
	K	P1	P2	P3	
Eritrociti ( $10^{12}/L$ )	2.68	2.35	2.48	2.39	0.99
Leukociti ( $10^9/L$ )	25.71	26.73	28.43	26.99	0.98
Neutrofilii (%)	5.14	5.35	5.69	5.40	0.98
Heterofili (%)	64.71 <sup>a</sup>	64.14 <sup>a</sup>	65.57 <sup>a</sup>	73.14 <sup>b</sup>	0.02
Bazofili (%)	0	0.14	0	0	0.99
Eozinofili (%)	1.86	2.86	2.14	3.00	0.95
Limfociti (%)	31.29 <sup>a</sup>	30.71 <sup>a</sup>	30.14	22.71 <sup>b</sup>	0.03
Monociti (%)	2.14	2.14	2.14	1.14	0.99

<sup>a, b</sup> Vrijednosti s različitim eksponentom značajno se razlikuju

#### 5.4. Biokemijski pokazatelji

Odabrani biokemijski parametri iz krvi tovnihi pilića hranjenih različitim koncentracijama ekstrakta đumbira mjereni su na sredini (dan 21.) i na kraju (dan 42.) istraživanja, a izmjerene vrijednosti prikazane su u Tablici 10. Statistički značajno ( $p < 0,01$ ) viša koncentracija glukoze zabilježena je kod skupine P3 u odnosu na kontrolnu skupinu pilića na 21. dan istraživanja. Ista opažanja primijećena su i na kraju istraživanja no to povećanje nije bilo toliko izraženo. Također, na 42. dan pokusa primijećena je i značajno manja ( $p < 0,05$ ) razina glukoze kod pilića iz skupine P1 u odnosu na kontrolnu skupinu i skupinu P3. Značajno manja ( $p < 0,05$ ) razina albumina zabilježena je 21. dana u skupinama P2 i P3 u odnosu na kontrolnu i P1 skupinu. Na 42. dan pokusa zabilježena je značajno veća ( $p < 0,01$ ) razina albumina kod pilića iz skupine P1 u odnosu na kontrolnu skupinu. Kod globulina primijećena je značajno ( $p < 0,05$ ) viša razina samo 42. dana i to u skupinama P1 i P2 u odnosu na kontrolnu skupinu. Ukupni proteini bili su značajno ( $p < 0,05$ ) viši u kontrolnoj i P1 u odnosu na skupinu P3 na 21. dan istraživanja dok je na 42. dan viša razina primijećena u skupini P1 u odnosu na kontrolnu skupinu. Koncentracija uree je na 21. dan pokusa bila značajno ( $p < 0,05$ ) viša u svim pokusnim skupinama u odnosu na kontrolnu skupinu dok je 42. dana primijećen obrnuti trend gdje je kontrolna skupina pilića imala najvišu razinu uree u usporedbi s pokusnim skupinama. Razina kreatinina u serumu pilića 21. dana istraživanja bila je statistički značajno ( $p < 0,01$ ) viša u skupini P2 u odnosu na kontrolnu skupinu dok je 42. dana značajna ( $p < 0,05$ ) razlika primijećena između skupina P2 i P3. U svim skupinama pilića nismo primijetili značajne razlike u razini bilirubina osim normalnog dobno ovisnog porasta između 21. i 42. dana pokusa. Koncentracija triglicerida u serumu pilića na 21. dan istraživanja bila je statistički najviša ( $p < 0,05$ ) u skupinama P2 i P3 u odnosu na kontrolnu i P1 skupinu dok je 42. dana zabilježen obrnuti trend s najvišom koncentracijom u kontrolnoj skupini u odnosu na skupinu P1 i P2. Razina kolesterola na 21. dan nije pokazala značajna odstupanja između skupina dok je 42. dana primijećena značajno ( $p < 0,05$ ) viša razina u skupini P1 u odnosu na P3.

**Tablica 10.** Utjecaj eksperimentalne hrane na razine odabranih biokemijskih parametara u serumu tovnih pilića 21. i 42. dana pokusa.

Parametar	Nutritivni tretman				P - vrijednost
	Ekstrakt <i>Z. officinale Roscoe</i>				
	(95% CI)				
	K	P1	P2	P3	
Glukoza (mmol/L)					
Dan 21.	9.8 <sup>a</sup>	11.0	11.4	12.2 <sup>b</sup>	0.01
Dan 42.	6.9 <sup>a</sup>	4.6 <sup>b</sup>	5.5	7.7 <sup>a</sup>	0.05
Albumini (g/L)					
Dan 21.	11.8 <sup>a</sup>	11.8 <sup>a</sup>	10.1 <sup>b</sup>	10.4 <sup>b</sup>	0.05
Dan 42.	13.9 <sup>a</sup>	15.8 <sup>b</sup>	14.7	14.2	0.01
Globulini (g/L)					
Dan 21.	13.6	13.6	12.9	11.4	0.07
Dan 42.	18.1 <sup>a</sup>	21.1 <sup>b</sup>	20.7 <sup>b</sup>	19.6	0.05
Ukupni proteini (g/L)					
Dan 21.	25.4 <sup>a</sup>	25.4 <sup>a</sup>	23.0	21.8 <sup>b</sup>	0.05
Dan 42.	32.0 <sup>a</sup>	37.9 <sup>b</sup>	35.4	33.8	0.01
Urea (mmol/L)					
Dan 21.	0.30 <sup>a</sup>	0.43 <sup>b</sup>	0.50 <sup>b</sup>	0.45 <sup>b</sup>	0.05
Dan 42.	0.68 <sup>a</sup>	0.54 <sup>bc</sup>	0.54 <sup>bc</sup>	0.39 <sup>b</sup>	0.05
Kreatinin (μmol/L)					
Dan 21.	16.97 <sup>a</sup>	17.78	19.82 <sup>b</sup>	18.40	0.01
Dan 42.	17.12	17.76	15.89 <sup>a</sup>	18.90 <sup>b</sup>	0.05
Bilirubin (μmol/L)					
Dan 21.	0.92	0.91	0.91	0.91	0.88
Dan 42.	1.14	1.11	1.15	1.00	0.13
Trigliceridi (mmol/L)					
Dan 21.	0.33 <sup>a</sup>	0.51 <sup>c</sup>	0.79 <sup>b</sup>	0.79 <sup>b</sup>	0.05
Dan 42.	0.74 <sup>a</sup>	0.56 <sup>b</sup>	0.59 <sup>b</sup>	0.61	0.05
Kolesterol (mmol/L)					
Dan 21.	3.13	2.96	3.07	2.96	0.45
Dan 42.	2.99	3.23 <sup>a</sup>	2.92	2.66 <sup>b</sup>	0.05

<sup>a, b</sup> Vrijednosti s različitim eksponentom značajno se razlikuju. Podaci prikazuju srednju vrijednost dobivenu od 10 uzoraka po tretmanu.

Utjecaj standardiziranog ekstrakta đumbira umiješanog u hranu tovnihi pilića na razine jetrenih enzima i enzima gušterače u serumu tovnihi pilića prikazan je u Tablici 11. Najviša razina alkalne fosfataze 21. dan pokusa zabilježena je u skupinama P2 i P3 u usporedbi s kontrolnom i P1 skupinom dok 42. dana nije bilo značajnih odstupanja među promatranim skupinama. U svim skupinama pilića nismo primijetili značajne razlike u koncentraciji enzima aspartat-aminotransferaze osim normalnog dobno ovisnog porasta između 21. i 42. dana pokusa. Na 21. dan pokusa nije bila primijećena značajna ( $p \geq 0,34$ ) razlika u razini kreatin kinaze dok je 42. dana najviša razina zabilježena u skupini P3 u odnosu na ostale skupine tovnihi pilića. Koncentracija gama-glutamilttransferaze nije se značajnije mijenjala na 21. dan pokusa dok je 42. dana zabilježena značajno ( $p < 0,05$ ) viša razina tog enzima u skupini P2 u odnosu na skupinu P3. Koncentracija enzima laktat-dehidrogenaze nije pokazala značajna odstupanja između promatranihi skupina osim normalnog dobno ovisnog porasta između 21. i 42. dana istraživanja. Razina amilaze na 21. dan pokusa bila je statistički značajno ( $p < 0,05$ ) viša u skupini P3 u usporedbi s kontrolnom skupinom dok 42. dana nije bilo značajnih razlika. Koncentracija lipaze na 21. dan istraživanja pokazala je linearno povećanje u korelaciji s povećanjem doze testiranog pripravka te je bila je značajno ( $p < 0,01$ ) manja u kontrolnoj i P1 skupini u odnosu na skupine P2 i P3. Na 42. dan pokusa nije primijećen isti trend porasta razine lipaze niti su zabilježena značajnija odstupanja između promatranihi skupina.

**Tablica 11.** Utjecaj eksperimentalne hrane na razine jetrenih enzima i enzima gušterače u serumu tovnih pilića 21. i 42. dana pokusa.

Parametar	Nutritivni tretman				P - vrijednost
	Ekstrakt <i>Z. officinalis</i> Roscoe (95% CI)				
	K	P1	P2	P3	
AlkP (U/L)					
Dan 21.	5130 <sup>a</sup>	3858 <sup>a</sup>	7662 <sup>ab</sup>	8874 <sup>b</sup>	0.01
Dan 42.	2222	3341	4585	3551	0.15
AST (U/L)					
Dan 21.	346	200	236	200	0.13
Dan 42.	473	469	513	655	0.06
CK (U/L)					
Dan 21.	19995	6017	12229	6453	0.34
Dan 42.	35759 <sup>a</sup>	31127 <sup>a</sup>	41514 <sup>a</sup>	67642 <sup>b</sup>	0.05
GGT (U/L)					
Dan 21.	17.3	21.2	18.1	18.9	0.09
Dan 42.	26.4	26.7	30.4 <sup>a</sup>	24.3 <sup>b</sup>	0.05
LDH (U/L)					
Dan 21.	2343	1739	1520	2719	0.21
Dan 42.	4508	5254	4953	2917	0.06
Amilaza (U/L)					
Dan 21.	601 <sup>a</sup>	679	655	1138 <sup>b</sup>	0.05
Dan 42.	720	596	600	670	0.58
Lipaza (U/L)					
Dan 21.	17.4 <sup>a</sup>	21.3 <sup>ab</sup>	26.6 <sup>b</sup>	31.7 <sup>b</sup>	0.01
Dan 42.	22.8	20.3	21.3	27.6	0.08

<sup>a, b</sup> Vrijednosti s različitim eksponentom značajno se razlikuju. Podaci prikazuju srednju vrijednost dobivenu od 10 uzoraka po tretmanu.

Utjecaj standardiziranog ekstrakta đumbira umiješanog u hranu tovnih pilića na koncentraciju elektrolita u serumu tovnih pilića prikazan je u Tablici 12. Statistički značajno ( $p < 0,01$ ) viša razina kalcija bila je zabilježena na 21. dan istraživanja u skupini P1 u odnosu na ostale skupine pilića a na 42. dan nije bilo značajnih razlika. S druge strane, razina fosfora je na 21. dan bila značajno ( $p < 0,05$ ) niža u skupini P1 u odnosu na sve ostale promatrane skupine dok na 42. dan ponovo nije bilo značajnih razlika. Koncentracija natrija i kalija tijekom svih mjerenja nije značajno odstupala među promatranim skupinama pilića. Razina klora u serumu pilića bila je značajno ( $p < 0,05$ ) viša na 21. dan istraživanja u kontrolnoj skupini u odnosu na

skupinu P1. Na 21. dan pokusa bila je primijećena značajno ( $p < 0,05$ ) niža razina željeza u kontrolnoj skupini u odnosu na sve ostale skupine dok je 42. dana najviša ( $p < 0,05$ ) vrijednost zabilježena u skupini P1 u odnosu na sve ostale skupine pilića. Najviša koncentracija ( $p < 0,05$ ) magnezija u serumu zabilježena je 21. dana pokusa u skupini P1 u usporedbi s kontrolnom i P3 skupinom, a posljednjeg dana nije bilo značajnih razlika.

**Tablica 12.** Utjecaj eksperimentalne hrane na razine elektrolita u serumu tovnih pilića 21. i 42. dana pokusa.

Parametar	Nutritivni tretman				P - vrijednost
	Ekstrakt <i>Z. officinale Roscoe</i>				
	(95% CI)				
	K	P1	P2	P3	
Kalcij (mmol/L)					
Dan 21.	2.12 <sup>a</sup>	2.61 <sup>b</sup>	2.24 <sup>a</sup>	2.22 <sup>a</sup>	0.01
Dan 42.	2.36	2.16	2.23	2.17	0.21
Fosfor (mmol/L)					
Dan 21.	1.53 <sup>a</sup>	1.12 <sup>b</sup>	1.44 <sup>a</sup>	1.43 <sup>a</sup>	0.05
Dan 42.	2.95	2.88	2.85	2.76	0.29
Natrij (mmol/L)					
Dan 21.	151	153	151	153	0.32
Dan 42.	155	155	157	154	0.09
Klor (mmol/L)					
Dan 21.	105 <sup>a</sup>	103	97 <sup>b</sup>	103	0.05
Dan 42.	113	110	111	111	0.60
Kalij (mmol/L)					
Dan 21.	3.7	3.6	3.3	3.2	0.26
Dan 42.	7.4	7.8	7.0	7.1	0.25
Željezo ( $\mu\text{mol/L}$ )					
Dan 21.	9.1 <sup>a</sup>	11.9 <sup>b</sup>	11.8 <sup>b</sup>	13.0 <sup>b</sup>	0.05
Dan 42.	16.1 <sup>a</sup>	19.8 <sup>b</sup>	16.4 <sup>a</sup>	15.9 <sup>a</sup>	0.05
Magnezij (mmol/L)					
Dan 21.	0.90 <sup>a</sup>	1.02 <sup>b</sup>	0.95	0.92 <sup>a</sup>	0.05
Dan 42.	0.94	0.97	0.98	0.96	0.49

<sup>a, b</sup> Vrijednosti s različitim eksponentom značajno se razlikuju. Podaci prikazuju srednju vrijednost dobivenu od 10 uzoraka po tretmanu.

## 5.5. Antioksidacijski enzim i proizvod lipidne peroksidacije

Istraživani standardizirani ekstrakta đumbira u različitim dozama značajno je utjecao na aktivnost antioksidativnog enzima i markera za razinu oksidativnog stresa u tovnih pilića što je prikazano u Tablici 13. Razina enzima glutation peroksidaze nije pokazala značajna odstupanja između promatranih skupina na 21. dan istraživanja, međutim 42. dana primijećena je značajno ( $p < 0,01$ ) niža koncentracija kod kontrolne skupine u odnosu na skupine P1 i P2 koje su imale značajno veću razinu. S druge strane, koncentracija malondialdehida je bila značajno ( $p < 0,01$ ) niža u P1 i P2 skupini u usporedbi s kontrolnom skupinom i skupinom P3 na 21. dan pokusa. Na 42. dan istraživanja nije bilo statistički značajnih razlika između skupina pilića iako su izmjerene razine malondialdehida bile osjetno niže u svim skupinama u odnosu na vrijednosti izmjerene na 21. dan pokusa.

**Tablica 13.** Utjecaj eksperimentalne hrane na razine odabranih antioksidacijskih parametara tovnih pilića na 21. i 42. dana pokusa.

Parametar	Nutritivni tretman				P - vrijednost
	Ekstrakt <i>Z. officinale Roscoe</i> (95% CI)				
	K	P1	P2	P3	
GPx (U/L)					
Dan 21.	8218	8482	8279	7562	0.32
Dan 42.	9508 <sup>a</sup>	12445 <sup>b</sup>	11846 <sup>b</sup>	10441	0.01
MDA (μmol/mL)					
Dan 21.	3.27 <sup>a</sup>	2.64 <sup>b</sup>	2.11 <sup>b</sup>	2.98 <sup>a</sup>	0.01
Dan 42.	2.03	1.92	1.96	1.89	0.44

<sup>a, b</sup> Vrijednosti s različitim eksponentom značajno se razlikuju. Podaci prikazuju srednju vrijednost dobivenu od 10 uzoraka po tretmanu.



## 5.6. Morfometrijska mjerenja segmenata tankog crijeva

Nutritivni tretman tovnih pilića standardiziranim ekstraktom đumbira u različitim koncentracijama utjecao je na morfometrijske parametre duodenalnih resica koji su prikazani u Tablici 14. Na 42. dan istraživanja značajno ( $p < 0,01$ ) manju dužinu duodenalnih resica imala je skupina P1 u usporedbi sa svim ostalim skupinama pilića. Značajno veću ( $p < 0,01$ ) širinu baze duodenalnih resica i širinu vrha resica ostvarila je kontrolna skupina pilića u odnosu na sve ostale skupine odnosno na skupinu P1 i P3. Širina epitela duodenalnih crijevnih resica bila je značajno ( $p < 0,01$ ) veća u kontrolnoj skupini u odnosu na sve ostale skupine dok je skupina P1 imala značajno tanji epitel i od skupina P2 i P3. Dubina kripte u duodenumu bila je najveća ( $p < 0,05$ ) u kontrolnoj skupini u usporedbi sa skupinom P1 i P3 a najveću širinu kripte imala je skupina P3 u odnosu na sve ostale skupine pilića. Značajno veću ( $p < 0,05$ ) površinu duodenalnih resica imala je kontrolna skupina pilića u odnosu na skupine P1 i P3, a skupina P1 je imala značajno ( $p < 0,05$ ) manju površinu i od skupine P2. Skupine P2 i P3 ostvarile su značajno ( $p < 0,03$ ) viši omjer visine resica/dubine kripte u odnosu na kontrolnu i P1 skupinu pilića.

**Tablica 14.** Vrijednosti mjerenih parametara duodenalnih resica tovnih pilića 42. dana istraživanja

Parametar	Nutritivni tretman				P - vrijednost
	Ekstrakt <i>Z. officinale Roscoe</i>				
	(95% CI)				
	K	P1	P2	P3	
Visina resica ( $\mu\text{m}$ )	1134 <sup>a</sup>	1029 <sup>b</sup>	1187 <sup>a</sup>	1197 <sup>a</sup>	0.01
Širina baze ( $\mu\text{m}$ )	172 <sup>a</sup>	147 <sup>b</sup>	152 <sup>b</sup>	151 <sup>b</sup>	0.01
Širina vrha ( $\mu\text{m}$ )	162 <sup>a</sup>	140 <sup>b</sup>	147	139 <sup>b</sup>	0.01
Širina epitela ( $\mu\text{m}$ )	57 <sup>a</sup>	44 <sup>c</sup>	52 <sup>b</sup>	50 <sup>b</sup>	0.01
Dubina kripte ( $\mu\text{m}$ )	205 <sup>a</sup>	192 <sup>b</sup>	193	189 <sup>b</sup>	0.05
Širina kripte ( $\mu\text{m}$ )	55 <sup>a</sup>	50 <sup>bc</sup>	53 <sup>a</sup>	60 <sup>b</sup>	0.05
Površina resice ( $\mu\text{m}^2$ )	184 <sup>a</sup>	145 <sup>b</sup>	171 <sup>abc</sup>	163 <sup>b</sup>	0.05
VR : DK	5.53 <sup>a</sup>	5.36 <sup>a</sup>	6.15 <sup>b</sup>	6.33 <sup>b</sup>	0.03

<sup>a, b</sup> Vrijednosti s različitim eksponentom značajno se razlikuju. Podaci prikazuju srednju vrijednost dobivenu od 10 uzoraka po tretmanu.

Učinak različitih koncentracija ekstrakta đumbira na vrijednosti morfometrijskih parametara jejunalnih resica prikazan je u Tablici 15. Posljednjeg dana istraživanja značajno ( $p < 0,05$ ) veću dužinu jejunalnih resica imala je skupina P2 u usporedbi sa svim ostalim skupinama pilića. Kod mjerenja širine baze jejunalnih resica nije bilo statistički značajnih razlika za razliku od širine vrha resica gdje je skupina P1 ostvarila značajno ( $p < 0,05$ ) manje vrijednosti u odnosu na kontrolnu i P3 skupinu tovnih pilića. Značajno veću ( $p < 0,01$ ) širinu epitela jejunalnih resica imala je kontrolna skupina u odnosu na skupine P1 i P2. Vrijednosti dubine i širine kripte te površine jejunalnih resica nisu pokazale statistički značajne razlike između promatranih skupina. Skupina pilića P2 ostvarila je značajno ( $p < 0,05$ ) viši omjer visine resica/dubine kripte u odnosu na sve ostale promatrane skupine.

**Tablica 15.** Vrijednosti mjerenih parametara jejunalnih resica tovnih pilića 42. dana istraživanja

Parametar	Nutritivni tretman				P - vrijednost
	Ekstrakt <i>Z. officinale Roscoe</i>				
	(95% CI)				
	K	P1	P2	P3	
Visina resica ( $\mu\text{m}$ )	1009 <sup>a</sup>	971 <sup>a</sup>	1116 <sup>b</sup>	925 <sup>a</sup>	0.05
Širina baze ( $\mu\text{m}$ )	136	134	128	140	0.06
Širina vrha ( $\mu\text{m}$ )	135 <sup>a</sup>	119 <sup>b</sup>	123	135 <sup>a</sup>	0.05
Širina epitela ( $\mu\text{m}$ )	47 <sup>a</sup>	43 <sup>b</sup>	43 <sup>b</sup>	45	0.01
Dubina kripte ( $\mu\text{m}$ )	176	182	178	175	0.20
Širina kripte ( $\mu\text{m}$ )	54	51	53	53	0.06
Površina resica ( $\mu\text{m}^2$ )	132	119	130	123	0.14
VR : DK	5.73 <sup>a</sup>	5.34 <sup>a</sup>	6.27 <sup>b</sup>	5.29 <sup>a</sup>	0.05

<sup>a, b</sup> Vrijednosti s različitim eksponentom značajno se razlikuju. Podaci prikazuju srednju vrijednost dobivenu od 10 uzoraka po tretmanu.

Morfometrijski parametri ileuma tovnih pilića hranjenih različitim dozama ekstrakta đumbira prikazani su u Tablici 16. Evidentno je da je izostao učinak testiranog pripravka na dužinu ilealnih resica dok je kod ostalih parametara bilo značajnih razlika između skupina. Značajno veću ( $p < 0,01$ ) širinu baze i vrha jejunalnih resica ostvarila je kontrolna skupina pilića u usporedbi s P1 skupinom. Kontrolna skupina je imala i veću ( $p < 0,05$ ) širinu epitela u odnosu na vrijednosti zabilježene u skupinama P1 i P2 dok je s druge strane skupina P3 imala veću širinu epitela jejunalnih resica od skupine P1. Značajno veće ( $p < 0,05$ ) dubine kripte u jejunumu zabilježene su kod skupine P1 i P3 u usporedbi sa skupinom P2 dok su najveću širinu kripte ostvarile kontrolna i P3 skupina u odnosu na skupinu P1 i P2. Kontrolna skupina pilića imala je i značajno ( $p < 0,05$ ) veću površinu jejunalnih resica u odnosu na površinu izmjerenu u skupini P1 i P2. U ovom segmentu tankog crijeva nije primijećena značajna razlika u omjeru visine resica i dubine kripte.

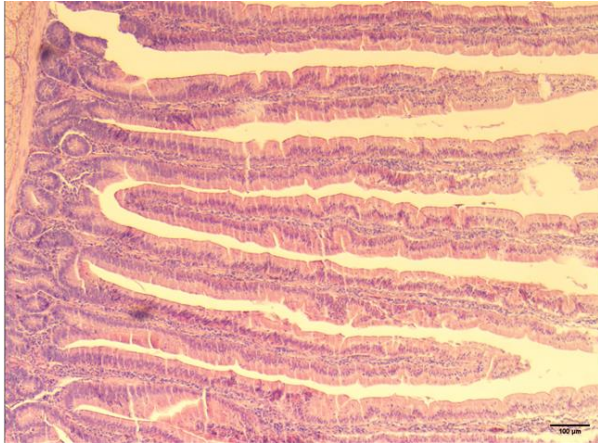
**Tablica 16.** Vrijednosti mjerenih parametara ilealnih resica tovnih pilića 42. dana istraživanja

Parametar	Nutritivni tretman				P - vrijednost
	Ekstrakt <i>Z. officinale Roscoe</i>				
	(95% CI)				
	K	P1	P2	P3	
Visina resica ( $\mu\text{m}$ )	705	669	632	700	0.09
Širina baze ( $\mu\text{m}$ )	144 <sup>a</sup>	128 <sup>b</sup>	132	138	0.01
Širina vrha ( $\mu\text{m}$ )	145 <sup>a</sup>	129 <sup>b</sup>	132	138	0.01
Širina epitela ( $\mu\text{m}$ )	46 <sup>a</sup>	41 <sup>c</sup>	42 <sup>b</sup>	44 <sup>ab</sup>	0.05
Dubina kripte ( $\mu\text{m}$ )	155	163 <sup>a</sup>	152 <sup>b</sup>	165 <sup>a</sup>	0.05
Širina kripte ( $\mu\text{m}$ )	50 <sup>b</sup>	47 <sup>a</sup>	47 <sup>a</sup>	50 <sup>b</sup>	0.05
Površina resica ( $\mu\text{m}^2$ )	98 <sup>a</sup>	80 <sup>b</sup>	79 <sup>b</sup>	95	0.05
VR : DK	4.55	4.10	4.16	4.24	0.36

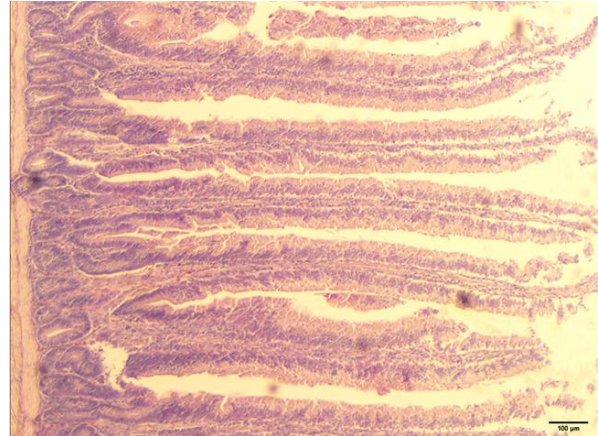
<sup>a, b</sup> Vrijednosti s različitim eksponentom značajno se razlikuju. Podaci prikazuju srednju vrijednost dobivenu od 10 uzoraka po tretmanu.

## 5.7. Histopatološki nalaz sluznice crijeva i tkiva jetre

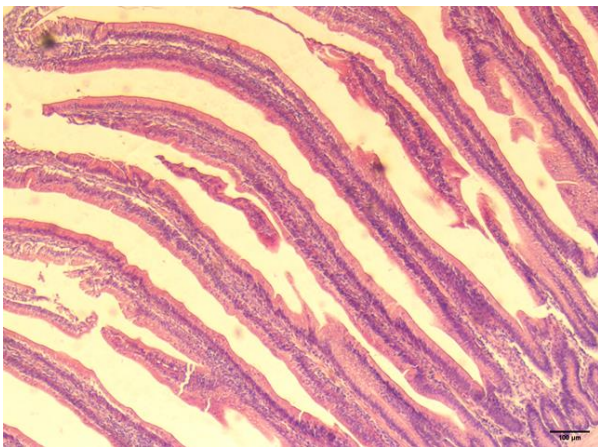
Histopatološke promjene u sluznici duodenuma, jejunuma i ileuma tovnih pilića hranjenih različitim koncentracijama ekstrakta đumbira na 42. dan istraživanja prikazane su na Slikama 18 - 20.



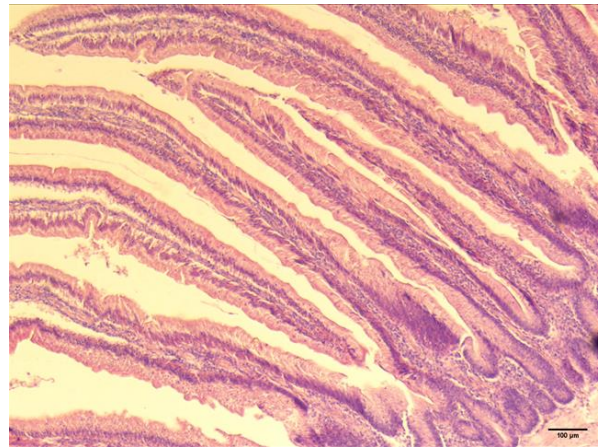
**Slika 18a**



**Slika 18c**

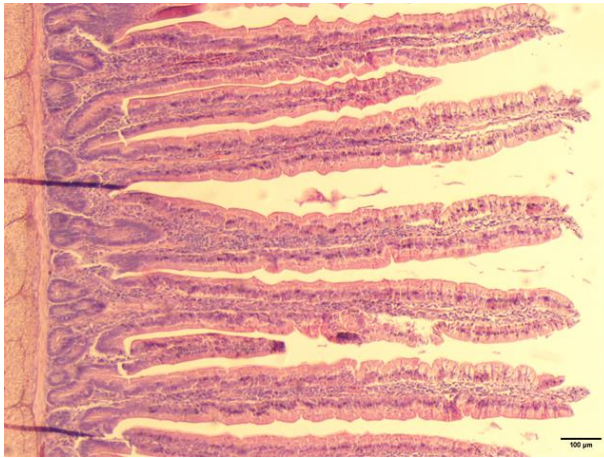


**Slika 18b**

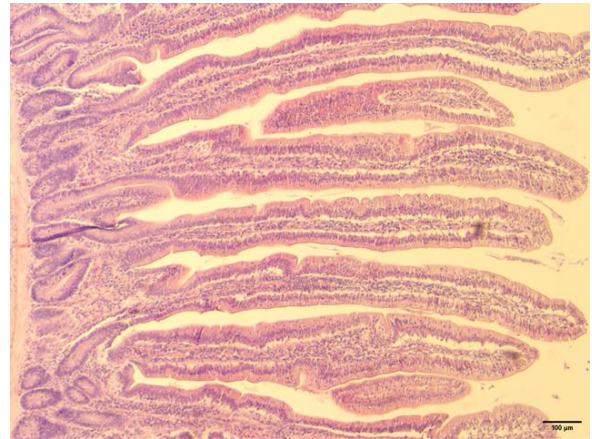


**Slika 18d**

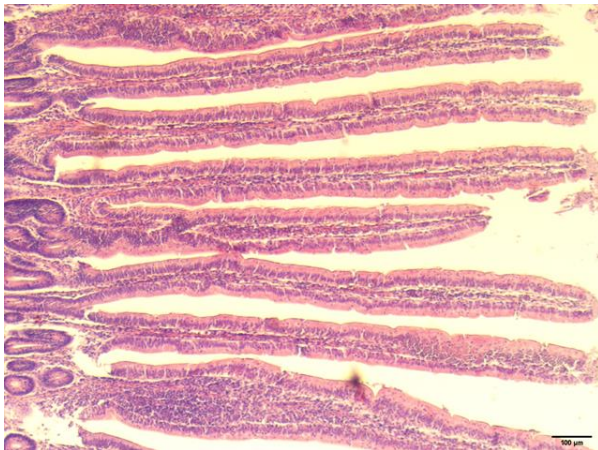
**Slika 18.** Mukoza i submukoza duodenuma tovnih pilića hranjenih: a) bez dodatka ekstrakta đumbira; b) sa 2.5 g/kg đumbira; c) sa 5 g/kg đumbira; d) sa 10 g/kg đumbira na 42. dan istraživanja



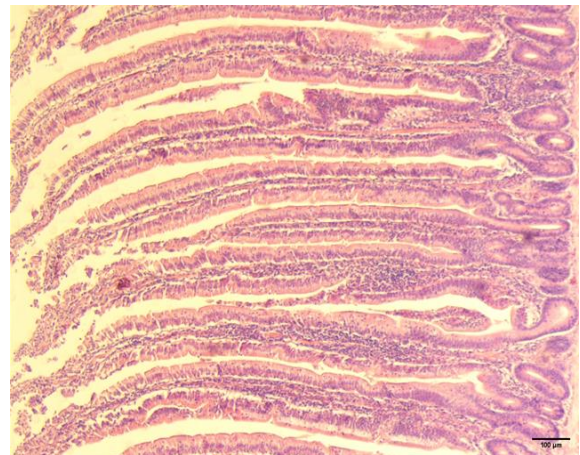
**Slika 19a**



**Slika 19c**

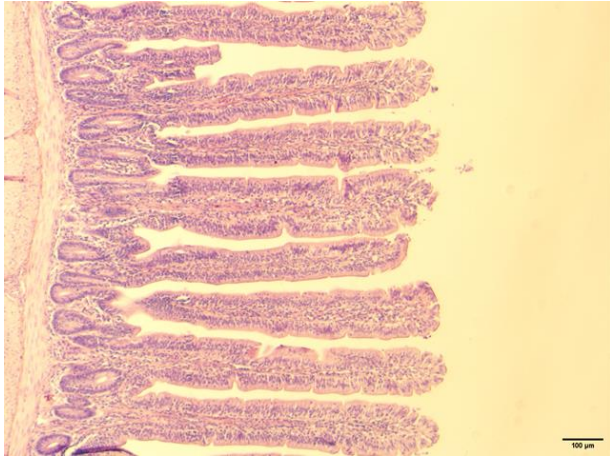


**Slika 19b**

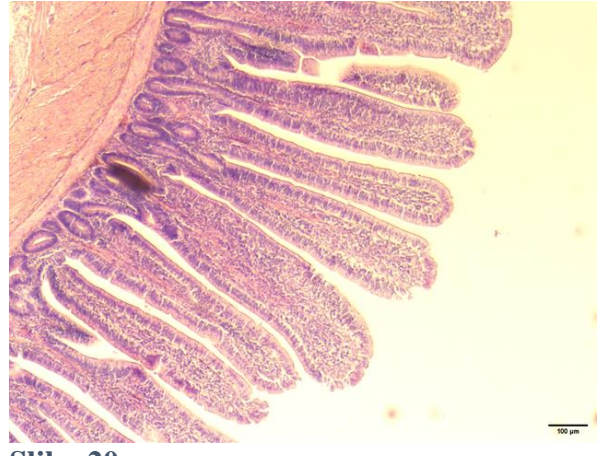


**Slika 19d**

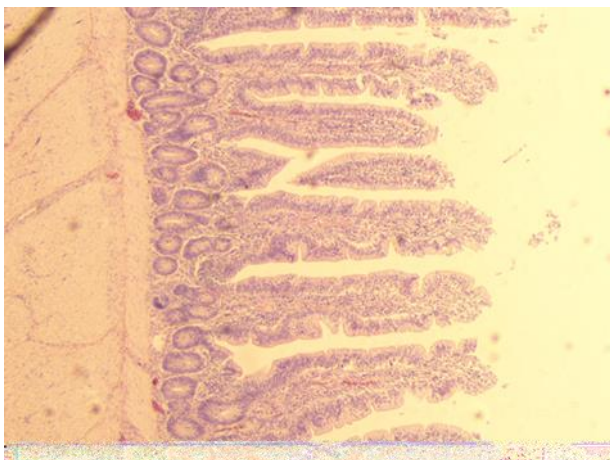
**Slika 19.** Mukoza i submukoza jejunuma tovnih pilića hranjenih: a) bez dodatka ekstrakta đumbira; b) sa 2.5 g/kg đumbira; c) sa 5 g/kg đumbira; d) sa 10 g/kg đumbira na 42. dan istraživanja



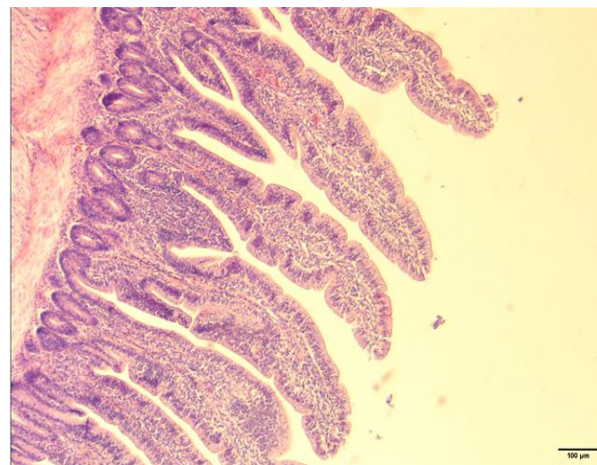
**Slika 20a**



**Slika 20c**



**Slika 20b**



**Slika 20d**

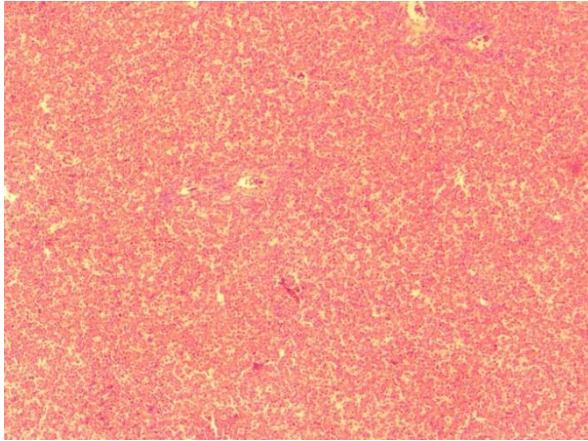
**Slika 20.** Mukoza i submukoza ileuma tovnih pilića hranjenih: a) bez dodatka ekstrakta đumbira; b) sa 2.5 g/kg đumbira; c) sa 5 g/kg đumbira; d) sa 10 g/kg đumbira na 42. dan istraživanja

Dodatak različitih koncentracija ekstrakta đumbira u hranu tovnih pilića imao je učinak na pojavnost patoloških promjena na tkivu jetre na 42. dan istraživanja koje su prikazane na Tablici 16. Degeneracija parenhima jetre bila je prisutna ( $p < 0,04$ ) kod svih promatranih skupina ali je kod kontrolne skupine stupanj degeneracije bio nešto veći (Slika 21.). Prisutnost vakuolne degeneracije tkiva jetre je zabilježena kod svih promatranih skupina dok je značajno ( $p < 0,0001$ ) veći stupanj primijećen kod skupine P1, a najmanji u skupini P3. Steatoza i nekroza parenhima jetre je zabilježena samo u dva uzorka tkiva u pokusnim skupinama pilića ali bez statističke značajnosti.

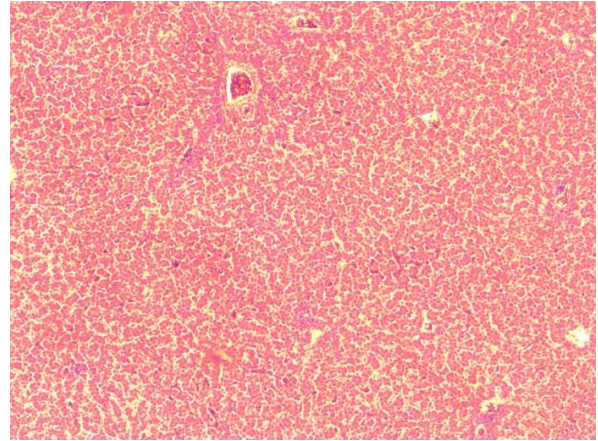
**Tablica 16.** Prisutnost različitih oblika regresivnih lezija hepatocita tovnih pilića na 42. dan istraživanja

Parametar		Nutritivni tretman				*P - vrijednost
		Ekstrakt <i>Z. officinale Roscoe</i>				
		(95% CI)				
	K	P1	P2	P3		
Degeneracija parenhima jetre	Da %	100	100	100	100	0.0394
	Ne %	0	0	0	0	
Vakuolna degeneracija parenhima jetre	Da %	70	100	60	50	<.0001
	Ne %	30	0	40	50	
Steatoza parenhima jetre	Da %	0	0	0	10	0.2564
	Ne %	100	100	100	90	
Nekroza parenhima jetre	Da %	0	0	10	0	0.2564
	Ne %	100	100	90	100	

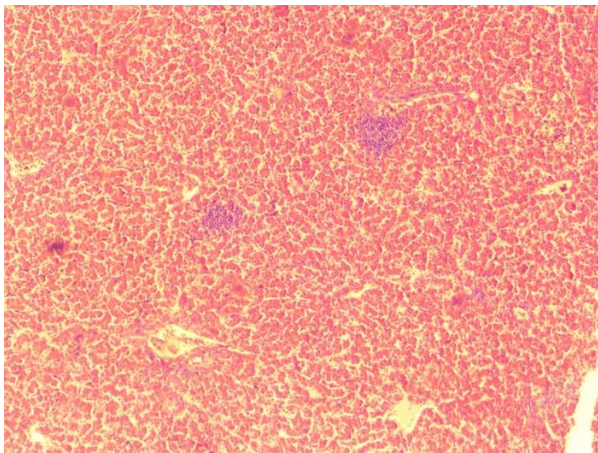
\* Fisherov egzaktni test.



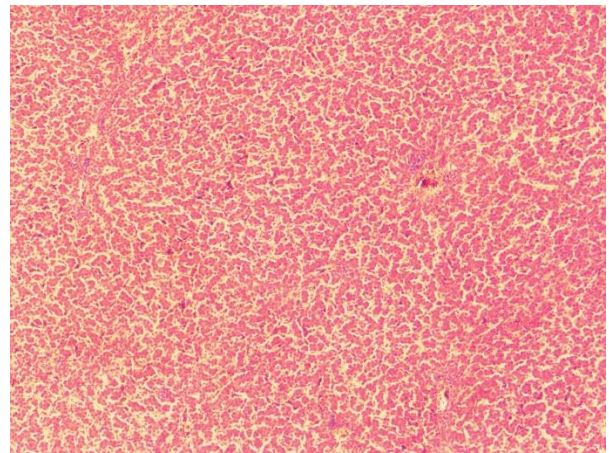
**Slika 21a**



**Slika 21c**



**Slika 21b**



**Slika 21d**

**Slika 21.** Tkivo jetre tovni $\acute{c}$ ih pili $\acute{c}$ a hranjenih: a) bez dodatka ekstrakta  $\acute{d}$ umbira; b) s 2.5 g/kg  $\acute{d}$ umbira; c) s 5 g/kg  $\acute{d}$ umbira; d) s 10 g/kg  $\acute{d}$ umbira na 42. dan istra $\acute{z}$ ivanja.



Učinak ekstrakta đumbira u različitim koncentracijama u hrani za tovne piliće tijekom 42. dana istraživanja na pojavnost različitih patoloških promjena na arterijama jetre prikazan je u Tablici 17. Pojavnost arterijske hiperplazije i fibromuskularne arterijske displazije nije bila statistički značajno različita između promatranih skupina tovnih pilića. Induracija stijenke arterija bila je statistički značajno ( $p < 0,0001$ ) viša u skupini P2 u odnosu na ostale skupine pilića.

**Tablica 17.** Prisutnost različitih oblika patoloških promjena u arterijama jetre tovnih pilića na 42. dan istraživanja

Parametar		Nutritivni tretman				*P - vrijednost
		Ekstrakt <i>Z. officinale Roscoe</i> (95% CI)				
		K	P1	P2	P3	
Arterijska hiperplazija	Da %	0	0	0	0	-
	Ne %	100	100	100	100	
Fibromuskularna arterijska displazija	Da %	0	0	20	0	0.0607
	Ne %	100	100	80	100	
Induracija arterijske stijenke	Da %	60	40	90	60	<.0001
	Ne %	40	60	10	40	

\* Fisherov egzaktni test.

Utjecaj hranjenja đumbirom na patološke promjene na venama jetre tovnih pilića prikazana je u Tablici 18. Najmanja ( $p < 0,0001$ ) pojavnost zadebljanja stijenki vena zabilježena je u skupini P1 dok je najmanje ( $p < 0,0001$ ) slučajeva hiperplazije fibroznog tkiva unutar zidova vena jetre primijećeno kod iste skupine pilića u usporedbi s ostalim skupinama u pokusu.

**Tablica 18.** Prisutnost različitih oblika patoloških promjena u venama jetre tovnih pilića na 42. dan istraživanja

Parametar		Nutritivni tretman				*P - vrijednost
		Ekstrakt <i>Z. officinale Roscoe</i>				
		(95% CI)				
		K	P1	P2	P3	
Zadebljanje stijenki vena	Da %	90	30	100	100	<.0001
	Ne %	10	70	0	0	
Hiperplazija fibroznog tkiva unutar zidova vena	Da %	90	30	80	100	<.0001
	Ne %	10	70	20	0	

\* Fisherov egzaktni test

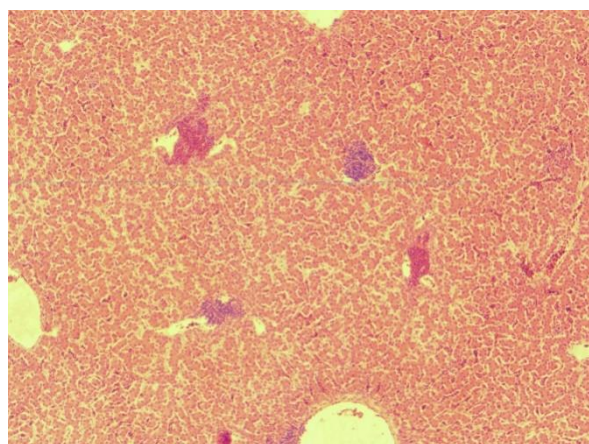
Nutritivni dodatak standardiziranog ekstrakta đumbira u hrani za tovne piliće utjecao je na prisutnost klastera limfocita između hepatocita u tkivu jetre na 42. dan istraživanja te je prikazan u Tablici 19. Klasteri limfocita među hepatocitima su primijećeni kod svih promatranih skupina ali je u skupini P1 broj klastera bio značajno ( $p < 0,0001$ ) veći nego u ostalim skupinama (Slika 22.). S druge strane, prisustvo heterofilnih granulocita bilo je najizraženije kod kontrolne skupine u odnosu na ostale skupine u pokusu.

**Tablica 19.** Prisutnost klastera limfocita između hepatocita u tkivu jetre tovnih pilića na 42. dan istraživanja.

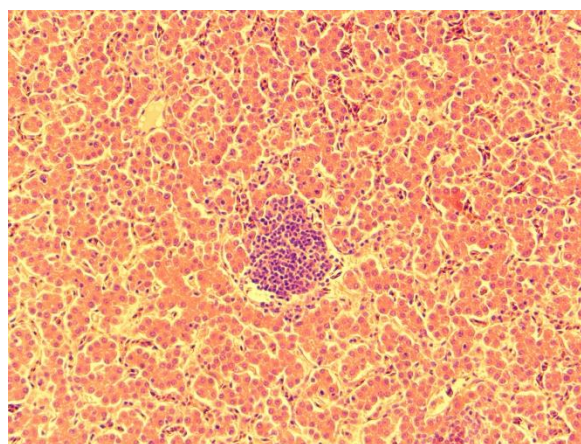
Parametar	Nutritivni tretman					*P - vrijednost
	Ekstrakt <i>Z. officinale Roscoe</i>					
		(95% CI)				
		K	P1	P2	P3	
Klasteri limfocita među hepatocitima	Da %	100	100	100	100	<.0001
	Ne %	0	0	0	0	
Heterofilni granulociti	Da %	30	0	10	20	0.0113
	Ne %	70	100	90	80	

\* Fisherov egzakti test

**Slika 22.** Klasteri limfocita između hepatocita bili su najzastupljeniji u skupini P1 koja je dobivala standardizirani ekstrakt đumbira u dozi od 2.5 g/kg hrane. Slika a) povećanje x4; slika b) povećanje x10.



Slika 22a



Slika 22b

## 6. RASPRAVA

### *Proizvodni parametri*

Proizvodni rezultati u tovu pilića predstavljaju jedan od najvažnijih parametara za proizvođače pilećeg mesa jer definiraju učinkovitost i ekonomsku isplativost proizvodnje a sami su kumulativni učinak mnogobrojnih vanjskih i unutrašnjih faktora poput genetike, načina uzgoja, hranidbe, mikroklima, zdravstvene zaštite i profilakse te dobrog upravljanja farmom.

U našem istraživanju pokušali smo preciznije definirati učinke ekstrakta đumbira davanog u različitim koncentracijama na mjerene proizvodne parametre te tako razjasniti na što točno pripravak djeluje i u kojoj mjeri. U pokusu na tovnim pilićima zabilježili smo zanimljive rezultate dinamike promjene tjelesne mase koja je mjerena 1., 21. i 42. dana istraživanja. Iako su pilići 1. dana pokusa bili ujednačeni po tjelesnoj masi i spolu već 21. dana primjetili smo statistički značajno manju masu u skupinama koje su u hrani dobivale najvišu dozu testiranog pripravka dok kod ostalih skupina nije bilo razlika. Takav trend se nastavio i u iduća tri tjedna istraživanja te je ta skupina ostvarila najniže završne mase od svih testnih skupina. Ti rezultati su u suglasju s manjim brojem autora koji su također primijetili negativan učinak đumbira na prirast i tjelesnu masu s iznimno velikim rasponom testiranih doza od 6 g/kg hrane (Shewita i sur., 2018.), 20 g/kg (Ademola i sur., 2009.) do 60 g/kg hrane (Al - Homidan, 2005.). Kada pogledamo završne mase u kombinaciji s unosom hrane vidimo da je ta skupina već na prvom mjernom intervalu imala značajno manji unos hrane u odnosu na ostale skupine a taj trend se nastavio i u drugoj fazi pokusa te se stoga slabiji prirasti mogao objasniti negativnim utjecajem pripravka na konzumaciju hrane. Ono što nismo očekivali je da je značajno manju završnu masu pilića ostvarila i skupina P1 koja je dobivala najnižu dozu testiranog pripravka. Kod te skupine na prvom mjernom intervalu 21. dan nije bilo značajne razlike u masi ali u drugoj fazi tova je izostao očekivani prirast te je završila s rezultatom slabijim od kontrolne skupine. Interesantno je da se kod te skupine niži intenzitet rasta ne može objasniti smanjenim unosom hrane jer je jedino ta skupina od svih pokusnih imala unos hrane na razini kontrolne skupine. Također je zanimljiva opservacija u skupini P2 koja je unatoč značajno manjoj konzumaciji hrane u prvoj i u drugoj fazi tova ostvarila završnu tjelesnu masu na razini kontrolne skupine. Takav rezultat je u suglasju s rezultatima većine autora u literaturi koji nisu zabilježili poveznicu između dodatka đumbira u sličnim dozama i promjene tjelesne mase brojlera (Barazesh i sur., 2013., Qormabpour i sur., 2018., Herawati i sur. 2010., Khonyoung i sur., 2012., Zhang i sur., 2009.) no ne smijemo izostaviti i istraživanja gdje je dodatak đumbira pozitivno utjecao na tjelesnu

masu brojlera (Zidan i sur., 2016., Rio i sur., 2019., Javid i sur., 2019., Al-Khalaifah i sur., 2022., Incharoen i sur., 2010.). Prema nekim autorima aktivni spoj gingerol stimulira lučenje probavnih enzima, što pomaže u probavnom procesu i pospješuje iskorištavanje unesenih hranjivih tvari. Ti spojevi stimuliraju gušteraču da proizvodi veće količine probavnih enzima, što dovodi do povećane probavljivosti hranjivih tvari i apsorpcije kako bi se podržao intenzitet rasta (Risdiyanto i sur., 2019.).

Kada gledamo samo na unos hrane tijekom istraživanja odmah primjećujemo da je testirani pripravak imao značajan negativan učinak na konzumaciju u negativnoj korelaciji s doziranjem pripravka. Pokusne skupine ostvarile su manje vrijednosti unosa hrane od kontrolne iako u skupini P1 nije bilo statističke značajnosti. Takvi rezultati su u skladu s istraživanjima Incharoen i sur. (2010.) koji su isti obrazac primijetili u svom istraživanju sa suhim fermentiranim đumbirom koji je s povećanjem doze negativno utjecao na konzumaciju hrane ali kod njih nije bilo pada završnih masa kao u našem istraživanju. Negativan utjecaj visokih doza đumbira na unos hrane zabilježen je i kod Herawati i sur. (2010.) koji su također objavili da je doza đumbira od 20 g/kg hrane značajno smanjila unos hrane iako i kod njih nije bilo negativnog utjecaja na završnu masu brojlera. Sličan trend primijećen je u novijem istraživanju Al-Khalaifah i sur. (2022.) koji su objavili da je s povećanjem doze đumbira (5, 10 i 15 g/kg) bilo negativnih učinaka na unos hrane tovnih pilića iako na kraju pokusa nije bilo statistički značajnih razlika u ukupnom unosu. Također je izostao i negativan učinak smanjenog unosa hrane na prirast tjelesne mase. Suprotno navodima ovih autora objavili su Zomrawi i sur. (2012.) koji su zabilježili značajno manji unos hrane i završne mase u skupini brojlera koja je dobivala najmanju dozu đumbira (5 g/kg) dok kod viših doza (10 i 15 g/kg) nije bilo značajnih razlika u odnosu na kontrolu. Generalno, većina istraživanja dodatka đumbira kod tovnih pilića je zaključila da pripravak nema značajan utjecaj na konzumaciju hrane (Zhang i sur., 2009., Incharoen i sur., 2010., Onu i sur., 2010., Habibi i sur., 2014., Barazesh i sur., 2013., Qorbanpour i sur., 2018.) dok je manji broj autora objavio pozitivan efekt na konzumaciju hrane (Zidan i sur., 2016., George i sur., 2015., Asghar i sur., 2021., Tekeli i sur., 2011.).

Pretvorba unesene hrane u jedinicu prirasta tjelesne mase, poznata kao konverzija hrane, jedan je od parametara koji najbolje opisuje učinkovitost proizvodnje životinjskih proizvoda. Poboljšanje iskoristivosti hrane uvelike smanjuje troškove proizvodnje, a hrana predstavlja najveći pojedinačni trošak za proizvođače posebice u kriznim godinama kada su fluktuacije u cijenama sirovina znatne. U našem istraživanju primijetili smo značajno bolje iskorištavanje hrane od strane brojlera iz skupine P2 u odnosu na sve ostale promatrane skupine. Ostale

pokusne skupine nisu ostvarile značajno drugačije vrijednosti u odnosu na kontrolne piliće. Naši rezultati su u suglasju s rezultatima pojedinih autora (Incharoen i sur., 2010., Ebrahimnezhad i sur., 2014., George i sur., 2015., Rio i sur., 2019., Ashgar i sur., 2021.) koji su također primijetili niže konverzije brojlera prilikom davanja sličnih doza (5 g/kg) pripravka đumbira. Poboljšanje iskoristivosti hrane moglo bi biti posljedica stimulacije želučanih sekrecija i aktivnosti žlijezda slinovnica, što je za posljedicu smanjilo broj patogenih mikroorganizama te općenito smanjilo mikrobnu fermentaciju u crijevu poboljšavajući probavni i resorptivni kapacitet crijeva ptica (Greathead, 2003., Incharoen i Yamauchi, 2009., Onu i sur., 2010.). S druge strane, negativan učinak na konverziju primijećen je samo u istraživanju Huthail i sur., (2019.) i to u najvišoj dozi od 30 g/kg hrane dok kod ostalih autora uglavnom izostaje značajan učinak đumbira na konverziju hrane (Barazesh i sur., 2013., Qorbanpour i sur., 2018., Zhang i sur., 2009., Zhao i sur., 2011., Habibi i sur., 2011., Akbarian i sur., 2011.).

### *Mikrobiom*

Mikrobiom crijeva, sastavljen od milijardi bakterijskih, virusnih i gljivičnih mikroorganizama, predstavlja složen ekosustav koji može posredovati u interakciji domaćina i njihovog okoliša (Blum, 2017.). Mikrobiom crijeva ima važnu ulogu u održavanju zdravstvenog statusa životinja (Datta i sur. 2003., Grond i sur., 2018.). Usko je povezan s probavom, apsorpcijom i metabolizmom te imunitetom i osjetljivošću na bolesti (Cox i sur., 2018.). Također, mikrobiom utječe na fermentaciju ugljikohidrata, a posebno polisaharida, te tako pospješuje apsorpciju hranjivih tvari i opskrbu energijom u životinjskom organizmu (Junpertz i sur., 2011.).

Kolibaciloza peradi smatra se jednom od ključnih bakterijskih bolesti peradi a odnosi se na bilo koju lokaliziranu ili sistemsku infekciju uzrokovanu specifičnim serotipovima APEC ili oportunistički patogenom *E. coli* (La Ragione i sur., 2002.). Općenito, APEC kolonizira i napada epitelne stanice, uglavnom su povezane s ekstraintestinalnom bolešću, uglavnom respiratornim ili sistemskim infekcijama i sepsom. Infekcija *E. coli* kod pilića može uzrokovati teški proljev, smanjen unos hrane i smanjen intenzitet rasta (Mellata, 2013.). Terapijska primjena antibiotika je još uvijek učinkovita u suzbijanju bakterijskih infekcija, ali dovodi i do disbalansa crijevnog mikrobioma. To rezultira uništenjem velikog broja bakterija u crijevima i pokreće upalni odgovor, što također objašnjava povećanu razinu protuupalnih citokina

(Temmerman i sur., 2021.). Fitobiotici u pravilu ne stvaraju bakterijsku rezistenciju i ne aktiviraju upalni odgovor pa je njihova primjena od velike značajnosti za održavanje strukturne stabilnosti i raznolikosti mikropopulacije crijeva.

Iz istraživanja drugih autora možemo zaključiti da se visoka raznolikost bakterijskih populacija smatra korisnom za zdravstveno stanje crijeva jer će se bogate zajednice vjerojatno natjecati s patogenim bakterijama za resurse i kolonizaciju, sprječavajući invaziju patogena i potencijalnu infekciju (Huyben i sur., 2019.). U našem istraživanju nije zabilježena statistički značajna razlika u raznolikosti i bogatstvu bakterijskih rodova ileuma pilića hranjenih dodatkom đumbira što smatramo pozitivnim rezultatom. Neki autori smatraju da se dinamika raznolikosti crijevne mikrobiote, koja predstavlja vrlo složen ekosustav, mijenja s promjenom prehrane i dobi (Isaacson i Kim, 2012.) dok drugi poput Balloua i sur. (2016.) tvrde da je mikrobiom više pod utjecajem dobi nego nutritivnog tretmana.

Analiza strukture crijevne mikropopulacije tovnih pilića na razini koljena pokazala je gotovo linearne promjene kod svih tretmana. Naime, zabilježen je porast udjela *Firmikuta* koji je bio proporcionalan povećanju doze testiranog pripravka, dok u isto vrijeme dolazi do smanjenja udjela *Proteobakterija*. Analizom prethodnih istraživanja došli smo do spoznaje da firmikuti u crijevu mogu metabolizirati i proizvesti maslačnu kiselinu, što osigurava energiju za rast i razvoj crijevnih stanica (Peng i sur., 2021.). Udjeli *Firmicuta* i *Bacteroidota* imaju važnu ulogu u apsorpciji hranjivih tvari i homeostazi crijeva kod pilića (Oh i sur., 2017.). Veći udio *Firmikuta* mogao bi suprimirati razvoj patogenih sojeva, obnoviti homeostazu i povećati apsorpciju hranjivih tvari, dok bi povećanje koljena *Bacteroidota* moglo dovesti do slabije apsorpcije hranjivih tvari i disbioze (Adalsteinsdottir i sur., 2018.). Iz literature vidimo da se udio *Proteobakterija* smatra markerom neravnoteže crijevne mikrobiote, a veliki broj proteobakterija u crijevima reflektira usporen rast ili nestabilnu strukturu crijevne mikrobiote (Pedroso i sur., 2005.). Također je važno napomenuti da *Proteobakterije* uključuju neke zoonotske patogene, kao što su *Escherichia*, *Salmonella*, *Campylobacter* i drugi značajni patogeni rodovi (Salaheen i sur., 2017., Clavijo i Florez, 2018.). Dodatak ekstrakta đumbira značajno je smanjio relativan udio štetnih *Proteobakterija* u skupinama P2 i P3 te tako doprinijelo održavanju poželjne ravnoteže crijevnih bakterija na razini koljena.

Struktura mikrofore na razini roda također je promijenjena dodatkom ekstrakta đumbira. U skupinama pilića koji su dobivali ekstrakt đumbira primijećen je porast relativne zastupljenosti bakterija iz roda *Candidatus Arthromitus* i *Romboutsia* te smanjenje roda *Pseudomonas* i *Thermoanaerobakteria*. U skupini P3 koja je dobivala najveću dozu pripravka

đumbira primijećena je veća zastupljenost bakterija iz roda *Enterococcus* i *Lactobacillus* u odnosu na sve ostale skupine u istraživanju. Porast zastupljenosti bakterija iz roda *Candidatus Arthromitus* je zabilježen u svim pokusnim skupinama, a pogotovo je bio izražen u skupini P1. *Candidatus Arthromitus* pripada skupini segmentiranih filamentoznih bakterija koje su jedinstvena skupina komenzalnih bakterija unutar obitelji *Lachnospiraceae* (Thompson i sur., 2012.). Ove bakterije karakterizira svojstvo da prijanjaju za crijevni epitel ileuma i moduliraju imunološki sustav domaćina (Thompson i sur., 2013.). Smanjenje bakterija iz ovog roda primijećeno je kod različitih patoloških stanja brojlara poput nekrotičnog enteritisa uzrokovanog *E. maxima* i *C. perfringens* (Kim i sur., 2015.) ili kontaminacije hrane mikotoksinima (Antonissen i sur., 2015a.). U skupinama P2 i P3 također je zabilježen značajan porast bakterija iz roda *Romboutsia*. Rod *Romboutsia* je skupina komenzalnih bakterija (Magruder i sur., 2020.), koje funkcioniraju u metaboličkim reakcijama domaćina u smislu iskorištavanja ugljikohidrata, fermentacije pojedinačnih aminokiselina, anaerobne respiracije i krajnjih produkata metaboličkog procesa (Gerritsen i sur., 2019.). Te bakterije predstavljaju vrijedan crijevni biomarker jer igraju ključnu ulogu u održavanju zdravstvenog stanja domaćina (Mangifesta i sur., 2018.). Dobiveni rezultati su u suglasnosti s rezultatima Zhang i sur. (2021.) koji su također dobili porast ovog roda bakterija kod brojlara hranjenih s dodatkom probiotika *Bacillus Subtilis*. U svim skupinama brojlara koji su dobivali testirani pripravak primijećeno je značajno smanjenje bakterija iz roda *Pseudomonas* u odnosu na kontrolnu skupinu. U prethodnim istraživanjima, povećani udio bakterija iz roda *Pseudomonas* u crijevnoj mikrobioti imunokompromitiranih životinja bilo je povezano s bakterijskom infekcijom (Oh i sur., 2017.). Povećan udio bakterija iz roda *Escherichia – Shigella* zabilježen je u skupini P2 koja je dobivala umjerenu razinu testiranog pripravka. To je iznenađujući rezultat s obzirom na to da je ta skupina ostvarila najbolje proizvodne rezultate i nije imala mortaliteta. Povećan udio bakterija iz tog roda može dovesti do kolibaciloze peradi te je primijećen u mikrobiomu brojlara na kojima je izazvana *E. Coli* infekcija (Wang i sur., 2022.). Slične rezultate u ilealnom sadržaju brojlara je dobio i Qorbanpour i sur., (2018.). U skupini P3 zabilježen je značajno veći udio bakterija roda *Lactobacillus* u odnosu na ostale skupine. To je u suglasju s pojedinim autorima koji su testirali pripravke đumbira na brojlerima (Saleem i sur., 2020.; Tekeli i sur., 2007.). Porast udjela bakterija iz roda *Lactobacillus* smatra se pozitivnim zbog njihovog pozitivnog djelovanja na imunski sustav crijeva (Sengupta i sur., 2013.) te stimulaciju bakterija koje koriste laktat i proizvode butirat (De Maesschalck i sur., 2015.). U istoj skupini zabilježen je i značajno veći udio bakterija iz roda *Enterococcus* koje pripadaju probiotskim vrstama poput



*Lactobacillus*, *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* i *Faecalibacterium*, a koje imaju pozitivan učinak na performanse i zdravstveno stanje brojlera (Kabir, 2009.).

### *Antioksidacijski status*

Moderni hibridi brojlera imaju veliki kapacitet za konzumaciju hrane i intenzivan rast tjelesne mase što za posljedicu ima i veće opterećenje slobodnim radikalima i oksidativnim stresom. Slobodni radikali nastaju tijekom normalnog metabolizma, ali zauzvrat mogu izazvati oštećenje tijela ako su prisutni u prekomjernoj razini. Tovni pilići zbog toga postaju osjetljiviji na poremećaje poput ascitesa i sindroma iznenadne smrti (Roberts i Sindhu, 2009.). Antioksidacijska obrana uključuje prirodne i sintetičke antioksidanse i antioksidativne enzime prisutne u biološkom sustavu (Sies, 1991). Općenito je prepoznato da su SOD, GPx i katalaza glavni antioksidativni enzimi u eliminaciji slobodnih radikala (McCord, 1979.) dok je malondialdehid jedan od glavnih aldehida koji su krajnji produkt lipidne peroksidacije, stoga se razina lipidne peroksidacije slobodnim radikalima u serumu ili tkivu može pratiti kroz koncentraciju MDA (Valko i sur., 2004.). Sukladno tome bi viša aktivnost antioksidacijskih enzima te niža razina MDA povećale antioksidacijski kapacitet i općenito otpornost brojlera na oksidativni stres. Višestruki navodi iz literature su opisali biljne polifenolne flavonoide kao jednu od glavnih skupina spojeva koji djeluju kao primarni antioksidacijski terminatori slobodnih radikala (Huang i Frankel, 1997.). Đumbirov prah sadrži mnoge spojeve koji imaju biološku aktivnost, uključujući antioksidacijske (Nakatani, 2000.) i razne farmakološke učinke (Ali i sur. 2008.). Aktivne tvari u đumbiru s potencijalnim antioksidacijskim učinkom su gingeroli, šogaoli, gingerdioli, gingerdioni i neki srodni derivati fenolnog ketona (Kikuzaki i Nakatani, 1996., Fuhrman i sur., 2000.). Prethodna istraživanja pokazala su da prah rizoma đumbira (Kuo i sur., 1999.) i pojedinačni sastojci kao što su [6]-gingerol (Ippoushi i sur., 2003.), kurkumin (Surh i sur., 1999.) i zingeron (Aeschbach i sur., 1994.) imaju sposobnost zaštite od peroksidacije lipida u različitim modelima. Obogaćivanje hrane dodacima poput đumbira, koji su bogati antioksidansima, mogla bi povećati fiziološku antioksidacijsku obranu, što rezultira smanjenjem oksidativnog stresa i boljeg zdravstvenog statusa jata. U našem istraživanju primijećen je značajan porast aktivnosti glutation peroksidaze u serumu tovnih pilića na 42. dan istraživanja dok 21. dana nije bilo značajnih razlika. Porast je ostvaren u skupinama P1 i P2 dok kod P3 nije bilo razlika u odnosu na kontrolnu skupinu. Kod MDA je primijećen drugačiji trend pa je tako niža razina izmjerena 21. dana pokusa u skupinama P1 i P2 dok na kraju istraživanja nije bilo razlika između skupina ali je razina MDA bila značajno manja nego 21.

dana. Niža razina MDA 42. dana istraživanja mogla bi biti posljedica pojačane aktivnosti GPx koja je svojim antioksidacijskim djelovanjem utjecala na razinu MDA u serumu tovnih pilića. Naši rezultati se slažu s većinom autora koji su istraživali antioksidacijski kapacitet pripravaka đumbira na peradi (Zhang i sur. 2009., An i sur. 2019., Al-Khalaifah i sur. 2022.). Zhang i sur. (2009.) tvrde da je đumbirov prah u koncentraciji od 5 g/kg značajno stimulirao aktivnost antioksidacijskih enzima koji su značajno smanjili razinu MDA u serumu tovnih pilića. Drugi autori su objavili da prah đumbira u dozi od 5, 10 i 15 g/kg stimulira aktivnost katalaze, ali ne i GPx, te značajno smanjuje koncentraciju MDA u serumu tovnih pilića (Al-Khalaifah i sur., 2022.). S druge strane, iako manje, bilo je i istraživanja gdje nije primijećen utjecaj đumbira na antioksidacijski status pilića. Tako Habibi i sur. (2014.) tvrde da nije bilo učinka đumbirovog praha i esencijalnog ulja na aktivnost GPx u serumu ali je primijećena značajno niža razina MDA. Razlike među tim studijama vjerojatno su posljedica varijabilnosti u genetici, kemijskom sastavu hrane te količini aktivnih tvari u testiranim pripravcima. Naši rezultati iznova potvrđuju tvrdnje drugih autora koji smatraju da pozitivni učinci podrazumijevaju da fenolni spojevi koji se koriste u malim dozama mogu djelovati kao promotori zdravstvenog stanja (Starčević i sur., 2015.).

### *Hematološki parametri*

Promatran je i utjecaj različitih doza ekstrakta đumbira na odabrane hematološke parametre tovnih pilića 42. dana pokusa. U našem istraživanju nije primijećen utjecaj pripravka na broj eritrocita i leukocita ali su zapažene razlike u udjelima heterofila i limfocita. Naime, u skupini P3 koja je dobivala najveću dozu pripravka zabilježen je značajno viši udio heterofila u odnosu na sve ostale skupine. Osim toga, u istoj skupini zapažen je i značajno manji udio limfocita u odnosu na kontrolnu skupinu i skupinu P1. Dobiveni rezultati su u djelomično u suglasju s rezultatima Al-Khalaifah i sur. (2022.) koji također nisu zapazili značajne razlike u koncentraciji eritrocita ali su dobili više vrijednosti ukupnih leukocita, te udjela heterofila u svim skupinama koje su dobivale đumbir u dozi od 5, 10 i 15 g/kg u odnosu na kontrolu. Slijedom toga zaključuju da dodatak đumbira kod brojlera stimulira urođenu i stečenu staničnu imunost. To potvrđuju i rezultati Iyaode i sur. (2020.) koji bilježe porast eritrocita (10 g/kg) i leukocita (5 i 10 g/kg) te udjela neutrofila i limfocita kod brojlera hranjenih đumbirom. S druge strane, neki autori su primijetili i imunosupresivan učinak đumbira u dozi od 10 g/kg koji je značajno smanjio ukupan broj leukocita, ali nije utjecao na razinu eritrocita (Ademola i sur.,

2009.) dok Onu i sur. (2010.) nisu primijetili značajna odstupanja hematoloških parametara od referentnih vrijednosti te su zaključili da pripravak nije negativno utjecao na životinje.

### *Biokemijski parametri*

Odabrani biokemijski parametri u serumu tovnih pilića hranjenih različitim koncentracijama ekstrakta đumbira mjereni su u sredini (21. dan) i na kraju (42. dan) istraživanja. Radi lakše interpretacije rezultate smo podijelili u tri skupine (metaboliti, enzimi i elektroliti). U našem istraživanju primijetili smo značajne razlike serumskih metabolita ovisno o vremenu uzorkovanja te o dozi testiranog pripravka. Pilići koji su dobivali najvišu dozu (10 g/kg hrane) imali su značajno višu razinu glukoze u serumu 21. dana istraživanja u odnosu na kontrolnu skupinu. To je u suglasju s rezultatima Tekeli i sur. (2006.) koji su također dobili višu razinu glukoze dodavanjem eteričnog ulja đumbira u dozi od 120 mg/kg u hranu brojlera. Taj trend se nije nastavio na sljedećem mjerenju na kojem je zabilježena značajno manja razina glukoze u skupini P1 koja je dobivala najmanju koncentraciju pripravka. Slične rezultate su dobili Barazesh i sur. (2013.) dok većina autora nije primijetila utjecaj đumbira na razinu glukoze u serumu brojlera (Habibi i sur., 2014., Qorbanpour i sur., 2018., Tekeli i sur., 2011.). Značajne razlike zabilježene su i u koncentracijama albumina, globulina i ukupnih proteina pa su tako skupine P2 i P3 imale nižu razinu albumina na 21. dan pokusa dok je na 42. dan skupina P1 imala višu razinu albumina od kontrole. Kod globulina su primijećene više koncentracije na kraju istraživanja u skupinama P1 i P2 dok je kod ukupnih proteina viša razina zabilježena u svim skupinama ali je statistički značajno viša bila samo u skupini P1 u odnosu na kontrolu. Povišenu razinu ukupnih proteina kod biserki hranjenih prahom đumbira objavili su Oso i sur. (2013.) koji tvrde da je to rezultat boljeg iskorištavanja bjelančevina hrane jer su ukupni proteini u serumu indikator nutritivnog statusa, hidratacije i zdravstvenog statusa životinje (Schalm i sur. 1975.). Naši rezultati su također u suglasju s rezultatima Zhang i sur. (2009.) koji tvrde da bi to moglo biti posljedica visoke koncentracije biljnih proteolitičkih enzima u prahu đumbira (Thompson i sur. 1973., Naveena i sur., 2004.) koji bi mogli pomoći pticama da učinkovitije probave proteine hrane. Međutim, većina autora nije primijetila značajna odstupanja serumskih proteina kod pilića i prepelica hranjenih dodatkom đumbira (Farinu i sur., 2004., Onu, 2010., Salmanzadeh, 2015.). Razlike u dobivenim rezultatima vjerojatno su posljedica varijabilnosti u samom pripravku i doziranju, kao i u različitim eksperimentalnim uvjetima. Razina uree u našem istraživanju je bila značajno viša kod svih skupina 21. dana pokusa da bi se 42. dana taj

trend preokrenuo te su sve pokusne skupine imale značajno nižu razinu uree u odnosu na kontrolne piliće. U dostupnoj literaturi nismo mogli pronaći sličan rezultat jer većina autora nije određivala ovaj biokemijski parametar osim Onu (2010.) kod koje nije bilo značajnih razlika između skupina. Ono što možemo zaključiti je da kod brojlera postoji povezanost između razine uree u serumu i stupnja iskoristivosti aminokiselina unesenih hranom (Donsborough i sur. 2010.). O utjecaju đumbira na razine triglicerida i kolesterola se značajno više pisalo pa tako u našem istraživanju je opažena viša razina triglicerida u svim pokusnim skupinama 21. dan pokusa dok je na kraju zabilježena niža razina u većini pokusnih skupina (P1 i P2). Viša razina triglicerida je u suglasju s rezultatima Tekeli i sur. (2006.) dok je niža razina zabilježena 42. dana u suglasju s istraživanjem Salmanzadeh i sur. (2015.) koji su testirali đumbir na japanskim prepelicama i drugim autorima koji su hranili brojlere (Mohamed i sur., 2012., Torki i sur. 2014., Al-Khalaifah i sur. 2022.). Važno je napomenuti da neki autori nisu primijetili utjecaj đumbira na serumske trigliceride (Barazesh i sur. 2013., Habibi i sur., 2014., Qourbanpour i sur., 2018.). Što se tiče ukupnog kolesterola 42. dana istraživanja zabilježena je viša razina u skupini P1, niža razina u skupini P3 dok kod skupine P2 nije bilo razlika. Naši rezultati su djelomično u suglasju s rezultatima većine autora koji tvrde da đumbir posjeduje sposobnost smanjenja kolesterola što je u skladu s uočenim učinkom đumbira na snižavanje razine kolesterola u krvi (Zhang i sur., 2009., Saeid i sur., 2010., Habibi i sur., 2014., Salmanzadeh i sur., 2015.). Smatra se da sastojci đumbira inhibiraju biosintezu kolesterola što je dokazano na modelu štakora (Tanabe i sur., 1993.) dok Srinivasan i Sambaiah (1991.) objašnjavaju da je hranjenje štakora đumbirom značajno podiglo aktivnost jetrene kolesterol 7-alfa-hidroksilaze koja ograničava brzinu biosinteze žučnih kiselina i potiče pretvaranje kolesterola u žučne kiseline što dovodi do izlučivanja kolesterola iz tijela.

Promatrajući utjecaj eksperimentalnih pripravaka na razine serumskih elektrolita u serumu tovnih pilića 21. i 42. dana istraživanja primijetili smo značajne razlike kalcija, fosfora, željeza i magnezija. Najizrazitiji trend bio je prisutan kod željeza gdje je 21. dana pokusa u svim pokusnim skupinama izmjerena značajno viša razina željeza u odnosu na kontrolnu skupinu dok je 42. dana viša razina bila izmjerena samo u skupini P1. U nama dostupnoj literaturi nije bilo moguće pronaći istraživanja koja su mjerila razinu željeza u serumu kako bi usporedili rezultate kod tovnih pilića hranjenih đumbirom. Od ostalih elektrolita izmjerene su značajne razlike razine kalcija, fosfora i magnezija u skupini P1. Naime, u toj skupini izmjerena je viša razina kalcija, niža razina fosfora i viša razina magnezija 21. dana istraživanja u odnosu na kontrolnu skupinu. Kako većina autora koji su istraživali utjecaj đumbira kod tovnih pilića

nisu objavili ove biokemijske parametre nije bilo moguće značajnije raspravljati o ovim podacima. Jedino se u istraživanju Malekizadeh i sur. (2012.), koji su testirali dvije doze praha đumbira (10 i 30 g/kg) kod kokoši nesilica, navode razine kalcija i fosfora u serumu ali bez značajnih razlika između testiranih skupina.

Utjecaj različitih doza ekstrakta đumbira na koncentracije jetrenih enzima tovnih pilića jasno pokazuje povišene razine alkalne fosfataze, kreatin kinaze, amilaze i lipaze u skupini P3 koja je dobivala najvišu dozu pripravka dok kod ostalih enzima nije bilo značajnih razlika. Pojedini autori primijetili su smanjenje koncentracije AST kod brojlera hranjenih prahom đumbira te zaključili da posjeduje hepatoprotektivan učinak (Malekizadeh i sur., 2012., Herve i sur. 2019.). U našem istraživanju nismo primijetili taj učinak iako su neki drugi enzimi bili povišeni. Povišena razina alkalne fosfataze zabilježena 21. dana istraživanja mogla bi biti posljedica oštećenja jetre ili ubrzanog rasta kostiju. Mišljenja smo da je uzrok porasta intenzivan rast brojlera jer su na slijedećem mjerenju 42. dana razine ovog enzima bile unutar referentnih vrijednosti za brojlere. Povišena razina kreatin kinaze indikator je oštećenja mišića te može biti uzrokovana različitim vanjskim faktorima poput toplinskog stresa, uznemiravanja životinja i sl. (Kong i sur., 2021.). Pankreasni enzimi poput amilaze i lipaze bili su značajno povišeni 21. dana istraživanja u skupini koja je dobivala najvišu dozu testiranog pripravka. Povišene vrijednosti navedenih enzima mogu ukazivati na oštećenje tkiva gušterače toksinima (Balachandran i Ramarkrishnan, 1988.) iako na drugom mjerenju (42. dan) nije bilo značajnih razlika u odnosu na kontrolne piliće pa je takav zaključak doveden u pitanje.

### *Morfometrijski parametri*

S ciljem da objasnimo utjecaj pripravka đumbira na histološke parametre segmenata crijeva tovnih pilića, važno je napomenuti da je kemijski sastav hrane zapravo glavni čimbenik koji može modificirati histološki izgled ili morfologiju crijeva te, posljedično, njegov apsorpcijski kapacitet, koji u konačnici definira intenzitet rasta tovnih pilića (Hamedi i sur., 2011.). Poznato je da se crijevne resice brzo i kontinuirano prilagođavaju kao odgovor na uvjete u lumenu crijeva (na koje snažno utječe sastav hrane) odražavajući dinamičko okruženje u lumenu crijeva životinja. Sukladno tome, dulje crijevne resice povezane su s povećanjem apsorpcijske površine crijeva, također i s povećanjem apsorpcijskog kapaciteta crijeva (Izadi i sur., 2013.). Područje kripte proizvodi enterocite koji migriraju iz baze resice na vrh kako bi zamijenili starije stanice, a starije stanice se ljušte u crijevni lumen (Uni i sur. 2001.). Crijevne

epitelne stanice stalno se i brzo zamjenjuju novim stanicama, koje su ključne za održavanje normalne crijevne funkcije (Thomson i sur. 2001.). Visina resica (VR) i omjer visine resica : dubine kripte (VR : DK) koriste se kao pozitivni pokazatelji za procjenu integriteta strukture crijevne sluznice, dok se dubina kripte (DK) smatra negativnim pokazateljem (Heak i sur., 2017., Montagne i sur., 2013.). Dulja visina resica povećava aktivnost probavnih enzima sluznice (Murugesan i sur., 2015.) a veći omjer VR : DK često je u korelaciji s boljom apsorpcijom hranjivih tvari. Suprotno tome, veća dubina kripte je povezana sa slabijom apsorpcijom budući da su crijevne kripte izvor epitelnih stanica za resice, a dubina kripte je u izravnoj korelaciji s obnovom epitelnih stanica. Osim toga, dublja kripta ukazuje na brži proces regeneracije crijevne sluznice ako postoji potreba (Murugesan i sur. 2015., Santin i sur. 2001.). Dokazano je da su kraće crijevne resice u odnosu na dubinu kripte povezane s manjim brojem apsorpcijskih i većim brojem sekretornih stanica. Sekretorne stanice odgovorne su za lučenje mucina koji tvore mucinoznu ovojnici crijevnog epitela, čime se povećava broj sekretornih stanica i dovodi do povećanog lučenja mucina. Promjene u količini ili sastavu mucina na površini sluznice crijeva mogu smanjiti apsorpciju hranjivih tvari i/ili povećati količinu energije potrebne za održavanje funkcije crijeva (Hamedi i sur., 2011., Langhout i sur. 1999.) .

U našem istraživanju primijećen je učinak dodatka đumbira na pojedine histološke parametre u različitim dijelovima tankoga crijeva. U duodenumu je opaženo značajno smanjenje visine resica u skupini P1 u odnosu na kontrolu koje je bilo popraćeno i sa smanjenjem dubine kripte. Također je primijećeno značajno smanjenje širine resica te površine resica u tretiranim skupinama u odnosu na kontrolu. Međutim, u skupinama P2 i P3 evidentirana je značajno veći omjer VR : DK u odnosu na kontrolnu skupinu. U jejunumu imamo nešto drugačiju situaciju jer smo zabilježili veću dužinu resica u skupini P2 bez značajnih promjena u dubini kripte u odnosu na kontrolne piliće. Također vidimo nešto tanje resice u skupini P1 s tanjim epitelom resice u skupinama P1 i P2. S druge strane opet smo dobili značajno veći omjer VR : DK u skupini P2 u odnosu na kontrolu. U ileumu nisu primijećene razlike u dužini resica ali je primijećeno smanjenje debljine resica u skupini P1 u odnosu na kontrolu. Nadalje, opažamo manju širinu epitela resice i površine resice u skupinama P1 i P2 u usporedbi s kontrolom dok u omjeru VR : DK nije bilo značajnih razlika.

Naši rezultati su djelomično u suglasju s podacima Karangiya i sur. (2016.) koji su izvijestili o poboljšanju razlike u visini resica i dubini kripte u odnosu na kontrolnu skupinu. Shewita i Taha (2018.) također objavili veću duljinu resica kod svih skupina brojlera hranjenih đumbirom u dozi od 2 do 6 g/kg hrane dok im je omjer VR : DK bio značajno veći kod tretiranih

skupina što je u suprotnosti s našim podacima. Izrazito pozitivne rezultate ostvarili smo u duodenumu i jejunumu kod skupine P2 koja je u duodenumu imala jednako duge resice ali značajno manje kripte dok je u jejunumu imala duže resice i bolji omjer VR : DK što se reflektiralo i na proizvodne rezultate jer je ta skupina ostvarila istu završnu masu ali je utrošila manju količinu hrane što možemo objasniti boljom funkcijom tankog crijeva. Međutim, neki autori su dobili značajno bolje proizvodne rezultate iako nije bilo značajnih povećanja vrijednosti visine i površine resica, ali su primijetili da je đumbir povećao površinu epitelnih stanica duodenuma te mitozu stanica u kriptama (Incharoen i sur. 2010.). Također, u istraživanju Khonyoung i sur. (2012.) nije primijećen pozitivan efekt fermentiranog đumbira na morfometriju crijeva osim što je ublažio učinak toplinskog stresa na ljuštenje epitelnih stanica.

Iako postoji konsenzus oko činjenice da duže crijevne resice povećavaju apsorpcijski potencijal crijeva oko dubine kripti mišljenja su podijeljena. Neki autori smatraju da su dublje kripte bolje za funkciju crijeva dok drugi imaju suprotno mišljenje. Mi smo skloniji vjerovati da kombinacija viših resica i plićih kripti je bolji indikator funkcionalnosti crijeva jer svako pretjerano trošenje nutrijenata, pa čak i od sluznice crijeva, negativno se odražava na proizvodne rezultate. Činjenica je da proces regeneracije epitelnih stanica zahtijeva ogromnu količinu energije i osjetljiv je na stres, koji izaziva nekrozu stanica i ljuštenje, osobito na vrhu crijevne resice (Lambert i sur. 2002.). Sukladno tome podupiremo tezu da pripravci koji potiču hipertrofiju crijevnih resica i umanjuju učinak stresa bez kontinuirane pojačane mitoze epitelnih stanica predstavljaju najučinkovitiji model funkcije tankog crijeva.

### *Histologija jetre*

Genetske predispozicije brzo rastućih hibrida brojlera omogućuju učinkovit i efikasan rast ali ne bez negativnih posljedica na zdravlje i dobrobit. Intenzivan metabolizam hranjivih tvari stavlja velik pritisak na jetru te može rezultirati patološkim promjenama i smanjenjem funkcije. Jedan od uzroka degenerativnih i regresivnih promjena tkiva jetre kod tovnih pilića je prolongirano stanje hipoksemije koje neminovno dovodi do hipoksije (Gesek i sur., 2013., Olkowski i sur., 2005.). Sukladno tome imamo situaciju gdje je prisutna jaka i kontinuirana potražnja za kisikom i hranjivim tvarima na što tkivo jetre može odgovoriti stvaranjem regresivnih lezija poput parenhimatozne, vakuolne i masne degeneracije, steatoze i nekroze hepatocita (Gesek i sur., 2013.). U našem istraživanju su primijećene blage degenerativne

promjene na parenhimu jetre kod svih promatranih skupina ali je kod kontrolne skupine stupanj degeneracije bio nešto veći. Prisutnost vakuolne degeneracije tkiva jetre je zabilježena kod svih promatranih skupina dok je značajno veći stupanj primijećen kod skupine P1, a najmanji u skupini P3. Steatoza i nekroza parenhima jetre je zabilježena samo u dva uzorka tkiva u pokusnim skupinama pilića ali bez statističke značajnosti. Klasteri limfocita među hepatocitima su primijećeni kod svih promatranih skupina ali je u skupini P1 broj klastera bio veći nego u ostalim skupinama. S druge strane, prisustvo heterofilnih granulocita bilo je najizraženije kod kontrolne skupine u odnosu na ostale skupine u pokusu. Iz dobivenih rezultata vidljiv je blagi hepatoprotektivan učinak ekstrakta đumbira kod tovnih pilića. Ti rezultati su djelomično u suglasju sa Herawati (2010.) koji je testirao prah đumbira u dozama od 5, 10, 15 i 20 g/kg hrane. On je primijetio porast degenerativnih i upalnih promjena na tkivu i krvnim žilama jetre s porastom doze testiranog pripravka. Međutim, te promjene nisu utjecale na proizvodnost brojlera koji su ostvarili više završne mase i bolju iskoristivost pojedene hrane.



## 7. ZAKLJUČCI

Sukladno prikazanim rezultatima dodavanja različitih doza standardiziranog ekstrakta đumbira kao fitobiotika u hranu za intenzivan tov pilića možemo zaključiti sljedeće:

1. Dodatak ekstrakta đumbira u najnižoj i najvišoj dozi je djelovao negativno na završne mase dok je u najvišoj dozi djelovao negativno i na intenzitet rasta pilića u tovu.
2. Dodatak ekstrakta đumbira je s povećanjem doze negativno djelovao na unos hrane tovnih pilića.
3. Dodatak ekstrakta đumbira je u dozi od 5 g/kg hrane pozitivno djelovao na konverziju, odnosno na pretvorbu hrane u jedinicu prirasta.
4. Tovni pilići koji su dobivali najvišu dozu ekstrakta đumbira imali su najviši mortalitet od svih promatranih skupina.
5. Testirani pripravak nije negativno utjecao na raznolikosti i bogatstvo bakterijskih rodova u ileumu brojlera.
6. Sve pokusne skupine, a pogotovo doza od 5 g/kg hrane, značajno su doprinijele održavanju poželjne ravnoteže crijevnih bakterija na razini koljena i roda.
7. Dodatak ekstrakta đumbira u dozi od 5 g/kg hrane pozitivno je utjecao na morfometrijske parametre segmenata tankog crijeva.
8. Dodatak različitih koncentracija ekstrakta đumbira u hranu tovnih pilića nije imalo učinak na pojavnost patoloških promjena na tkivu jetre.
9. Dodatak ekstrakta đumbira je značajno poboljšao oksidativni status tovnih pilića.
10. Uzevši u obzir sve promatrane parametre ovog istraživanja skloni smo zaključiti da je doza ekstrakta đumbira od 5 g/kg hrane ostvarila najbolje rezultate te bi stoga mogla biti od koristi peradarskoj industriji u poboljšanju učinkovitosti i održivosti proizvodnje pilećeg mesa.

## 8. POPIS LITERATURE

ADALSTEINSDOTTIR, S. A., O. K. MAGNUSDOTTIR, T. I. HALLDORSSON, B. E. BIRGISDOTTIR (2018): Towards an individualized nutrition treatment: Role of the gastrointestinal microbiome in the interplay between diet and obesity. *Curr. Obes. Rep.* 7, 289–293.

ADAMS, C. A. (2004): Nutricines in poultry production: focus on bioactive feed ingredients. *Nutrition Abstracts and Reviews Series B, Livestock Feeds and Feeding* 74(6): 1-12.

ADAMS, C. A. (2006): Nutrition-based health in animal production. *Nutrition Research Reviews.* 19 (1):79-89.

ADEMOLA, S., G. FARINU, G. BABATUNDE (2009): Serum lipid, growth and haematological parameters of broilers fed garlic, ginger and their mixtures. *World J. Agric. Sci.* 5, 99–104.

AESCHBACH, R., J. LOLIGER, B. C. SCOTT, A. MURCIA, J. BUTLER, B. HALLIWELL, O. I. ARUOMA (1994): Antioxidant actions of thymol, carvacrol, 6-gingerol, zingerone and hydroxytyrosol. *Food Chem. Toxicol.* 32: 31–36.

AGARWAL R., S. D. CHASE (2002): Rapid, fluorimetric-liquid chromatographic determination of malondialdehyde in biological samples. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 25; 775(1): 121-6.

AKBARIAN, A., G. ABOLGHASEM, S. AHMADI, M. HOSSEIN (2011): Effects of ginger root (*Zingiber officinale*) on egg yolk cholesterol, antioxidant status and performance of laying hens. *Journal of Applied Animal Science* 39: 19-21.

AL-HOMIDAN, A. A. (2005): Efficacy of using different sources and levels of *Allium sativum* and *Zingiber officinale* on broiler chicks performance. *Saudi Journal of Biological Sciences* 12: 96–102.

AL-KHALAIFAH H., A. AL-NASSER, T. AL-SURRAYAI, H. SULTAN, D. AL-ATTAL, R. AL-KANDARI, H. AL-SALEEM, A. AL-HOLI, F. DASHTI (2022): Effect of Ginger Powder on Production Performance, Antioxidant Status, Hematological Parameters, Digestibility, and Plasma Cholesterol Content in Broiler Chickens. *Animals*. 12 (7): 901.

ALI B. H., G. BLUNDEN, M. O. TANIRA, A. NEMMAR (2008): Some phytochemical, pharmacological and toxicological properties of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*): A review of recent research. *Food Chem. Toxicol.* 46 (2): 409-420.

ALI, M., N. CHAND, R. U. KHAN, S. NAZ, S. GUL (2019): Anticoccidial effect of garlic (*Allium sativum*) and ginger (*Zingiber officinale*) against experimentally induced coccidiosis in broiler chickens. *J. Appl. Anim. Res.* 47 (1): 79-84.

ANTONIOU T., R. R. MARQUARDT, P. E. CANSFIELD (1981): Isolation, partial characterization, and antinutritional activity of a factor (pentosans) in rye grain. *J Agric Food Chem.* 29(6): 1240-7.

ANTONISSEN, G., S. CROUBELS, F. PASMANS, R. DUCATELLE, V. EECKHAUT, M. DEVREESE, M. VERLINDEN, F. HAESEBROUCK, M. EECKHOUT, S. DE SAEGER, B. ANTLINGER, B. NOVAK, A. MARTEL, F. VAN IMMERSSEEL (2015a): Fumonisin affect the intestinal microbial homeostasis in broiler chickens, predisposing to necrotic enteritis. *Veterinary Research*, 46, 98.

ARSHAD, M., A. H. KAKAR, F. R. DURANI, A. AKHTAR, SHAKIRULLAH, SANAULLAH, M. NIAMATULLAH (2012): Economical and immunological impact of ginger (*Z. officinale*) extract on broiler chicks. *Pak. J. Sci.* 64 (1): 46-48.

ASGHAR M. U., A. RAHMAN, Z. HAYAT, M. K. RAFIQUE, I. H. BADAR, M. K. YAR, M. IJAZ (2021): Exploration of *Zingiber officinale* effects on growth performance, immunity and gut morphology in broilers. *Braz J Biol.* 83: 1-12.

BALACHANDRAN C., R. RAMARKRISHNAN (1988): Influence of dietary aflatoxin on certain serum enzyme levels in broiler chickens. *Mycopathologia.* 101(2): 65-7.

BALLOU A. L., R. A. ALI, M. A. MENDOZA, J. C. ELLIS, H. M. HASSAN, W. J. CROOM, M. D. KOCI (2016): Development of the Chick Microbiome: How Early Exposure Influences Future Microbial Diversity. *Frontiers in Veterinary Science*. 3:2.

BANCROFT, J., A. STEVEN, D. R. TURNER (1996): *Theory and practice of histological techniques*. 4th edition. Churchill Livingstone, Edinburgh.

BARAZESH H., M. BOUJAR POUR, S. SALARI, T. MOHAMMAD ABADI (2013): The effect of ginger powder on performance, carcass characteristics and blood parameters of broilers. *Int J Adv Biol Biomed Res*.1: 1645–1651.

BEDFORD, M. i H. CLASSEN (1992): Reduction of intestinal viscosity through manipulation of dietary rye and pentosanase concentration is effected through changes in the carbohydrate composition of the intestinal aqueous phase and results in improved growth rate and food conversion efficiency. *The Journal of nutrition*. 122. 560-9.

BLUM, H. E. (2017): The human microbiome. *Adv. Med. Sci*. 62, 414–420.

CAMPBELL, T. W. (1995): *Avian Hematology and Cytology*, Second Edition. Iowa State University Press. 7-11.

CARISCH L., M. STIRN, J. M. HATT, K. FEDERER, R. HOFMANN-LEHMANN, B. RIOND (2019): White blood cell count in birds: evaluation of a commercially available method. *BMC Vet Res*. 15(1): 93.

CHRUBASIK, S., M. H. PITTLER, B. D. ROUFOGALIS (2005): *Zingiberis rhizoma*: a comprehensive review on the ginger effect and efficacy profiles. *Phytomedicine* 12 (9): 684–701.

CLAVIJO, V., M. FLOREZ (2018): The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: a review. *Poult. Sci*. 97:1006–1021.

COX, L. M., S. YAMANISHI, J. SOHN, A. V. ALEKSEYENKO, J. M. LEUNG, I. CHO, S. G. KIM, H. LI, Z. GAO, D. MAHANA, J. G. ZÁRATE RODRIGUEZ, A. B. ROGERS, N. ROBINE, P. LOKE, M. J. BLASER (2014): Altering the Intestinal Microbiota during a Critical Developmental Window Has Lasting Metabolic Consequences. *Cell*. 158 (4), 705-721,

DATTA, S. K., V. REDECKE, K. R. PRILLIMAN, K. TAKABAYASHI, M. CORR, T. TALLANT, J. DIDONATO, R. DZIARSKI, S. AKIRA, S. P. SCHOENBERGER, E. RAZ (2003): Subset of Toll-Like Receptor Ligands Induces Cross-presentation by Bone Marrow-Derived Dendritic Cells<sup>1</sup>. *J Immunol*. 170 (8): 4102–4110.

DE MAESSCHALCK, C., V. EECKHAUT, L. MAERTENS, L. DE LANGE, L. MARCHAL, C. NEZER, S. DE BAERE, S. CROUBELS, G. DAUBE, J. DEWULF, F. HAESEBROUCK, R. DUCATELLE, B. TAMINAU, F. VAN IMMERSEEL (2015): Effects of xylo-oligosaccharides on broiler chicken performance and microbiota. *Applied and Environmental Microbiology*, 81, 5880–5888.

DIAZ-SANCHEZ, S., D. D'SOUZA, D. BISWAS, I. HANNING (2015): Botanical alternatives to antibiotics for use in organic poultry production. *Poult. Sci.* 94:1419–1430.

DONSBOUGH, A. L., S. POWELL, A. WAGUESPACK, T. D. BIDNER, L. L. SOUTHERN (2010): Uric acid, urea, and ammonia concentrations in serum and uric acid concentration in excreta as indicators of amino acid utilization in diets for broilers. *Poultry Science*, 89 (2): 287-294.

EBRAHIMNEZHAD Y., V. AZARAKHSH, M. SALMANZADEH (2014): The effects of ginger root (*Zingiber officiale*) processed to different levels on growth performance, carcass characteristics and blood biochemistry parameters in broiler chickens. *Bull Env Pharm Life Sci*. 3: 203–208.

EDNEY M. J., G. L. CAMPBELL, H. L. CLASSEN (1989): The effect of  $\beta$ -glucanase supplementation on nutrient digestibility and growth in broilers given diets containing barley, oat groats or wheat. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 25, 193.

EL-DEEK, A. A., Y. A. ATTIA, M. M. HANNFY (2002): Effect of anise (*Pimpinella anisum*), ginger (*Zingiber officinale roscoe*) and fennel (*Foeniculum vulgare*) and their mixture on performance of broilers. Arch. Geflugelkd. 67 (2): 92-96.

EL-MAHALAWAY, A. M., A. A. SELIM, F. A. R. MAHBOUB (2015): The potential protective effect of propolis on experimentally induced hepatitis in adult male albino rats. Histological and immunohistochemical study. J. Histol. Histopathol. 2, 14.

ELTAZI, M. A. (2014): Response of Broiler Chicks to Diets Containing Different Mixture Levels of Garlic and Ginger Powder as Natural Feed Additives. International J. Pharm. Res. Allied Sci. 3 (4): 27-35.

EVANS, W. C. (2002): Ginger. Trease and Evans Pharmacognosy, 15th ed. WB Saunders, Edinburgh, 277–280.

FARINU, G. O., S. G. ADEMOLA, A. O. AJAYI, G. M. BABATUNDE (2004): Growth, haematological and biochemical studies on garlic and ginger-fed broiler chickens. Moor Journal of Agriculture Research 5: 122–128.

FRIESEN O. D., W. GUENTER, R. R. MARQUARDT, B. A. ROTTER (1992): The Effect of Enzyme Supplementation on the Apparent Metabolizable Energy and Nutrient Digestibilities of Wheat, Barley, Oats, and Rye for the Young Broiler Chick, Poultry Science, 71 (10): 1710-1721.

FUHRMAN, B., M. ROSENBLAT, T. HAYEK, R. COLEMAN, M. AVIRAM (2000): Ginger extract consumption reduces plasma cholesterol, inhibits LDL oxidation and attenuates development of atherosclerosis in atherosclerotic, apolipoprotein E-deficient mice. J. Nutr. 130: 1124–1131.

GEORGE O. S., S. G. KAEGON, A. A. IGBOKWE (2015): Effects of graded levels of ginger (*Zingiber officinale*) meal as feed additive on growth performance characteristics of broiler chicks. Int J Sci Res. 4: 805–808.

GERRITSEN, J., B. HORNUNG, J. RITARI, L. PAULIN, G. T. RIJKERS, P. J. SCHAAP, W. M. DE VOS, H. SMIDT (2019): A comparative and functional genomics analysis of the genus *Romboutsia* provides insight into adaptation to an intestinal lifestyle. bioRxiv. 845511.

GESEK, M., J. SZAREK, I. OTROCKA-DOMAGALA, I. BABINSKA, K. PAZDZIOR, M. SZWEDA, A. ANDRZEJEWSKA, B. SZYNAKA (2013): Morphological pattern of the livers of different lines of broiler chickens during rearing. Vet. Med. 58: 16–24.

GREATHEAD H. (2003): Plants and plant extracts for improving animal productivity. Proc Nutr Soc. 62 (2): 279-290.

GROND, K., B. SANDERCOCK, A. JUMPPONEN, L. H. ZEGLIN (2018): The avian gut microbiota: Community, physiology and function in wild birds. J. Avian Biol. 49, e1788.

GUERRERO-LEGARRETA, I., Y. H. HUI, A. D. ALARCÓN-ROJO (2010): Handbook of poultry science and technology. John Wiley & Sons. Hoboken, New Jersey, SAD.

HABIBI, R., G. H. SADEGHI, A. KARIMI (2014): Effect of different concentrations of ginger root powder and its essential oil on growth performance, serum metabolites and antioxidant status in broiler chicks under heat stress. Bri. Poult. Sci. 55(2): 228-237.

HAMEDI, S., M. REZAIAN, T. SHOMALI (2011): Histological changes of small intestinal mucosa of cocks due to sunflower meal single feeding. Am. J. Anim. Vet. Sci., 6, 171–175.

HASAN I.H., M. A. EL-DESOUKY, W.G. HOZAYEN, G. M. ABD EL AZIZ (2016): Protective Effect of *Zingiber Officinale* against CCl4-Induced Liver Fibrosis Is Mediated through Downregulating the TGF- $\beta$ 1/Smad3 and NF- $\kappa$ B/I $\kappa$ B Pathways. Pharmacology. 97 (1-2): 1-9.

HASHEIMI S. R., I. ZULKIFLI, M. N. SOMCHIT, Z. ZUNITA, T. C. LOH, A. F. SOLEIMANI, S. C. TANG (2013): Dietary supplementation of *Zingiber officinale* and *Zingiber zerumbet* to heat-stressed broiler chickens and its effect on heat shock protein 70 expression, blood parameters and body temperature. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 97(4): 632-638.

HEAK, C., P. SUKON, S. KONGPECHR, B. TENGJAROENKUL, K. CHUACHAN (2017): Effect of Direct-fed Microbials on Intestinal Villus Height in Broiler Chickens: A Systematic Review and Meta-Analysis of Controlled Trials. *Int. J. Poult. Sci.*, 16: 403-414.

HERAWATI O. (2010): The effect of red ginger as phytobiotic on body weight gain, feed conversion and internal organs condition of broiler. *Int J Poult Sci.* 9(10): 963–967.

HERVE T., K. J. RAPHAËL, N. FERDINAND, N. VICTOR HERMAN, N. M. WILLY MARVEL, T. CYRIL D'ALEX, F. T. LAURINE VITRICE (2019): Effects of Ginger (*Zingiber officinale*, *Roscoe*) Essential Oil on Growth and Laying Performances, Serum Metabolites, and Egg Yolk Antioxidant and Cholesterol Status in Laying Japanese Quail. *J Vet Med.* 1-8.

HUANG, S. W. i E. N. FRANKEL (1997): Antioxidant activity of tea catechins in different lipid systems. *J. Agric. Food Chem.* 45: 3033–3038.

HUYBEN, D., A. VIDAKOVIC, S. W. HALLGREN, M. LANGELAND (2019): High-throughput sequencing of gut microbiota in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed larval and pre-pupae stages of black soldier fly (*Hermetia illucens*). *Aquaculture* 2019, 500, 485–491.

HUTHAIL NAJIB H., I. AL-HOMIDAN, M. M. FATHI, A. A. AL-SUHIM (2019): Black seeds (*Nigella sativa*) and ginger powder (*Zingiber officinale*) effect on growth performance and immune response of broiler chickens. *Asian J Anim Sci.* 14(1): 1–8.

INCHAROEN, T. i K. YAMAUCHI (2009): Production performance, egg quality and intestinal histology in laying hens fed dietary dried fermented ginger. *International Journal of Poultry Science* 8: 1078-1085.

INCHAROEN, T., K. YAMAUCHI, N. THONGWITTAYA (2010): Intestinal villus histological alterations in broilers fed dietary dried fermented ginger. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 94 (5): 130-137.

IPPOUSHI, K., K. AZUMA, H. ITO, H. HORIE, H. HIGASHIO (2003): 6-Gingerol inhibits nitric oxide synthesis in activated J774.1 mouse macrophages and prevents peroxynitrite induced oxidation and nitration reactions. *Life Sci.* 73: 3427–3437.



ISAACSON R., H. B. KIM (2012): The intestinal microbiome of the pig. *Anim. Health Res. Review.* 13 (1), 100 – 109.

IYAODE I. I., B. O. OYEWOLE, M. A. ADESOLA, G. O. ANJORIN (2020): Performance and haematology of broiler strains (cobbs and arbor-acre) fed ginger (*Zingiber officinale*) based diet at the early phase. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 11 (01), 197–206.

IZADI, H., J. ARSHAMI, A. GOLIAN, M. REZA RAJI (2013): Effects of chicory root powder on growth performance and histomorphometry of jejunum in broiler chicks. *Vet. Res. Forum* 4, 169–174.

JAVID, M. A., Y. WAQAS, M. S. AKHTAR (2019): Evaluation of the Comparative Effect of Feed Additive of *Allium Sativum* and *Zingiber officinale* on Bird Growth and Histomorphometric Characteristics of Small Intestine in Broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science.* 21 (2): 1-6.

JAMROZ, D., T. WERTELECKI, M. HOUSZKA, C. KAMEL (2006): Influence of diet type on the inclusion of plant origin active substances on morphological and histochemical characteristics of the stomach and jejunum walls in chicken. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 90, 2555–2568.

JHA, R., R. DAS, S OAK, P. MISHRA (2020): Probiotics (Direct-Fed Microbials) in Poultry Nutrition and Their Effects on Nutrient Utilization, Growth and Laying Performance, and Gut Health: A Systematic Review. *Animals.* 10 (10):1863.

JOLAD, S. D., R. C. LANTZ, A. M. SOLYON, G. J. CHEN, R. B. BATES, B. N. TIMMERMANN (2004): Fresh organically grown ginger (*Zingiber officinale*): composition and effects on LPS-induced PGE<sub>2</sub> production. *Phytochemistry* 65, 1937–1954.

JOLAD, S. D., R. C. LANTZ, G. J. CHEN, R. B. BATES, B. N. TIMMERMANN (2005): Commercially processed dry ginger (*Zingiber officinale*): composition and effects on LPS-stimulated PGE<sub>2</sub> production. *Phytochemistry* 66, 1614–1635.

JUMPERTZ, R., D. S. LE, P. J. TURNBAUGH, C. TRINIDAD, C. BOGARDUS, J. I. GORDON, J. KRAKOFF (2011): Energy-balance studies reveal associations between gut microbes, caloric load, and nutrient absorption in humans, *The American Journal of Clinical Nutrition*. 94 (1). 58–65.

KABIR, S. M. L. (2009): The role of probiotics in the poultry industry. *Int. J. Mol. Sci.* 10, 3531.

KARANGIYA, V. K., H. H. SAVSANI, S. S. PATIL, D. D. GARG, K. S. MURTHY, N. K. RIBADIYA, S. J. VEKARIYA (2016): Effect of dietary supplementation of garlic, ginger and their combination on feed intake, growth performance and economics in commercial broilers. *Vet. World*. 9 (3): 245-250.

KHAN, R. U., S. NAZ, Z. NIKOUSEFAT, V. TUFARELLI, M. JAVDANI, M. S. QURESHI, V. LAUDADIO (2012): Potential applications of ginger (*Zingiber officinale*) in poultry diets. *World Poultry Sci. J.* 68 (2): 245-252.

KHONYOUNG, D., K. YAMAUCHI, T. BUWJOOM, B. MANEEWAN, N. THONGWITTAYA (2012): Effects of dietary dried fermented ginger on growth performance, carcass quality, and intestinal histology of heat-stressed broilers. *Can. J. Anim. Sci.* 92 (3): 307-317.

KIKUZAKI, H. i N. NAKATANI (1996): Cyclic diarylheptanoids from rhizomes of *Zingiber officinale*. *Phytochemistry* 43: 273–277.

KIM, J. E., H. S. LILLEHOJ, Y. H. HONG, G. B., KIM, S. H. LEE, E. P. LILLEHOJ, D. M. BRAVO (2015): Dietary *Capsicum* and *Curcuma longa* oleoresins increase intestinal microbiome and necrotic enteritis in three commercial broiler breeds. *Research in Veterinary Science*, 102, 150–158.

KLARIĆ, I., M. PAVIĆ, I. MIŠKULIN, V. BLAŽIČEVIĆ, A. DUMIĆ, M. MIŠKULIN (2018): Influence of dietary supplementation of propolis and bee pollen on liver pathology in broiler chickens. *Animals*, 8, 4; 54: 1-10.

KONG F., G. ZHAO, Z. HE, J. SUN, X. WANG, D. LIU, D. ZHU, R. LIU, J. WEN (2021): Serum Creatine Kinase as a Biomarker to Predict Wooden Breast in vivo for Chicken Breeding. *Front Physiol.* 12: 1-9.

KUO, J. M., D. B. YEH, B. S. PAN (1999): Rapid photometric assay evaluating antioxidative activity in edible plant material. *J. Agric. Food Chem.* 47: 3206–3209.

LA RAGIONE, R. M., M. J. WOODWARD (2002): Virulence factors of *Escherichia coli* serotypes associated with avian colisepticaemia, *Research in Veterinary Science.* 73 (1), 27-35.

LAMBERT, G. P., C. V. GISOLFI, D. J. BERG, P. L. MOSELEY, L. W. OBERLEY, K. C. KREGEL (2002): Molecular biology of thermoregulation selected contribution: Hyperthermia-induced intestinal permeability and the role of oxidative and nitrosative stress. *J. Appl. Physiol.* 92: 1750-1761.

LANGHOUT, D. J., J. B. SCHUTTE, P. VANLEEuwEN, J. WIEBENGAAND, S. TAMMINGA (1999): Effect of dietary high-and low-methylated citrus pectin on the activity of the ileal microflora and morphology of the small intestinal wall of broiler chicks. *Br. Poult. Sci.*, 40: 340–347.

LANGNER, E., S. GREIFENBERG, J. GRUENWALD (1998): Ginger: history and use. *Adv. Ther.* 15, 25–44.

LI B., X. ZHANG, F. GUO, W. WU, T. ZHANG (2013): Characterization of tetracycline resistant bacterial community in saline activated sludge using batch stress incubation with high-throughput sequencing analysis. *Water Res.* 47(13): 4207-16.

LOZUPONE C. A., M. HAMADY, S. T. KELLEY, R. KNIGHT (2007): Quantitative and qualitative beta diversity measures lead to different insights into factors that structure microbial communities. *Appl Environ Microbiol.* 73(5):1576-85.

MAGRUDER, M., E. EDUSEI, L. ZHANG, S. ALBAKRY, M. J. SATLIN, L. F. WESTBLADE, L. MALHA, C. SZE, M. LUBETZKY, D. M. DADHANIA (2020): Gut commensal microbiota and decreased risk for *Enterobacteriaceae* bacteriuria and urinary tract infection. *Gut Microbes*. 12, 1805281.

MANGIFESTA, M., L. MANCABELLI, C. MILANI, F. GAIANI, N. DE'ANGELIS, G. DE'ANGELIS, D. VAN SINDEREN, M. VENTURA, F. TURRONI (2018): Mucosal microbiota of intestinal polyps reveals putative biomarkers of colorectal cancer. *Scientific reports* 8 (1) 1-9.

MARMION, M., M. T. FERONE, P. WHYTE, A. G. M. SCANNELL (2021): The changing microbiome of poultry meat; from farm to fridge. *Food Microbiology*. 99. 103823.

McCORD, J. M. (1979): Superoxide, superoxide dismutase and oxygen toxicity. *Rev. Biochem. Toxicol.* 1: 109–124.

MELLATA, M. (2013): Human and Avian Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*: Infections, Zoonotic Risks, and Antibiotic Resistance Trends. *Foodborne Pathogens and Disease*. 10:11, 916-932.

MOHAMED, A. B., M. A. M. AL-RUBAEE, A. Q. JALIL (2012): Effect of Ginger (*Zingiber officinale*) on Performance and Blood Serum Parameters of Broiler. *Int. J. Poult. Sci.* 11: 143-146.

MONTAGNE, L., J. R. PLUSKE, D. J. HAMPSON (2013): A review of interactions between dietary fibre and the intestinal mucosa, and their consequences on digestive health in young non-ruminant animals. *Animal Feed Science and Technology*, 108(1–4): 95–117.

MORAN, E. T., JR. (1985): Digestion and Absorption of Carbohydrates in Fowl and Events through Perinatal Development, *The Journal of Nutrition*, Volume 115, Issue 5, 665–674.

MULDER, R. (2011): Current EU Regulations for the Production and Processing of (Safe) Poultry Meat. <https://en.engormix.com/poultry-industry/articles/current-regulations-production-processing-t34906.htm>

MURUGESAN, G. R., B. SYED, S. HALDAR, C. PENDER (2015): Phytogetic feed additives as an alternative to antibiotic growth promoters in broiler chickens. *Front. Vet. Sci.* 2: 21.

MUŽIC, S., G. KRALIK., R. RAGUŽ-ĐURIĆ, Z. JANJEČIĆ, B. BOBETIĆ (2008): Peradarska proizvodnja u Republici Hrvatskoj. *Krmiva: Časopis o hranidbi životinja, proizvodnji i tehnologiji krme*, 50: 6, 353-358.

NAKATANI, N. (2000): Phenolic antioxidants from herbs and spices. *Biofactors* 13: 141–146.

NATT M. P., C. A. HERRICK (1952): A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chicken. *Poult Sci.* 31(4): 735–8.

NAVEENA, B. M., S. K. MENDIRATTA, A. S. R. ANJANEYULU (2004): Tenderization of buffalo meat using plant proteases from *Cucumistrigonus Roxb* (Kachri) and *Zingiber officinale Roscoe* (Ginger rhizome). *Meat Sci.* 68: 363–369.

NRC (1994): *Nutrient Requirements of Poultry: Ninth Revised Edition*. Washington, DC: The National Academies Press. 9-11.

NWOZO, S. O., D. A. OSUNMADEWA, B. E. OYINLOYE (2014): Anti-fatty liver effects of oils from *Zingiber officinale* and *Curcuma longa* on ethanol-induced fatty liver in rats. *J. Integr. Med.* 12 (1): 59–65.

OECD/FAO (2021): "Meat", in *OECD-FAO Agricultural Outlook 2021-2030*, OECD Publishing, Paris.

OFONGO, R. i E. OHIMAIN (2015): Antimicrobial Effect Induced by Fresh Ginger Root Extracts in Broilers. *British Biotechnology Journal.* 9. 1-6.

OH, J. K., E. A. B. PAJARILLO, J. P. CHAE, I. H. KIM, D. S. YANG, D. -K. KANG (2017): Effects of *Bacillus subtilis* CSL2 on the composition and functional diversity of the faecal microbiota of broiler chickens challenged with *Salmonella Gallinarum*. *J. Anim. Sci. Biotech.* (8) 1.

OKE O. E., E. T., F. O. ALO OKE, Y. A. OYEBAMIJI, M. A. IJAIYA, M. A. ODEFEMI, R. Y. KAZEEM, A. A. SOYODE, O. M. ARUWAJOYE, R. T. OJO, S. M. ADEOSUN, O. M. ONAGBESAN (2020): Early age thermal manipulation on the performance and physiological response of broiler chickens under hot humid tropical climate. *J. Therm. Biol.* 88.

OLKOWSKI, A. A., T. DUKE, C. WOJNAROWICZ (2005): The aetiology of hypoxaemia in chickens selected for rapid growth. *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 141, 122–131.

ONU, P. N. (2010): Evaluation of two herbal spices as feed additives for finisher broilers. *Biotechnology in Animal Husbandry.* 26. 383-392.

OH J. K., E. A. B. PAJARILLO, J. P. CHAE, I. H. KIM, D. K. KANG (2017): Protective effects of *Bacillus subtilis* against *Salmonella* infection in the microbiome of Hy-Line Brown layers. *Asian-Australas J Anim Sci.* 30 (9):1332-1339.

OSO A. O., A. W. AWE, F. G. AWOSOGA, F.A. BELLO, T.A. AKINFENWA, E. B. OGUNREMI (2013): Effect of ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) on growth performance, nutrient digestibility, serum metabolites, gut morphology, and microflora of growing guinea fowl. *Trop Anim Health Prod.* 45 (8): 1763-9.

QORBANPOUR, M., T. FAHIM, F. JAVANDEL, M. NOSRATI, E. PAZ, A. SEIDAVI, M. RAGNI, V. LAUDADIO, V. TUFARELLI (2018): Effect of Dietary Ginger (*Zingiber officinale Roscoe*) and Multi-Strain Probiotic on Growth and Carcass Traits, Blood Biochemistry, Immune Responses and Intestinal Microflora in Broiler Chickens. *Animals.* 8(7): 117.

PLIEGO A. B., M. TAVAKOLI, A. KHUSRO, A. SEIDAVI, M. ELGHANDOUR, A. SALEM, O. MÁRQUEZ-MOLINA, R. R. RIVAS-CACERES (2020): Beneficial and adverse effects of medicinal plants as feed supplements in poultry nutrition: a review. *Anim Biotechnol.* 33: 369-391.

PEDROSO, A. A., J. F. M. MENTEN, M. R. LAMBAIS (2005): The Structure of Bacterial Community in the Intestines of Newly Hatched Chicks<sup>1</sup>, Journal of Applied Poultry Research. 14 (2) 232-237.

PENG, L., H. SHI, Z. GONG, P. YI, B. TANG, H. SHEN, B. FU (2021): Protective effects of gut microbiota and gut microbiota-derived acetate on chicken colibacillosis induced by avian pathogenic *Escherichia coli*. Veterinary Microbiology. 261. 109187.

RAFIEE, A., Y. RAHIMIAN, F. ZAMANI, F. ASGARIAN (2013): Effect of use ginger (*Zingiber officinale*) and thymus (*Thymus vulgaris*) extract on performance and some hematological parameters on broiler chicks. Sci. Agri. 4 (1): 20-25.

REHMAN, Z. U., N. CHAND, K. R. ULLAH (2018): The effect of vitamin E, L-carnitine, and ginger on production traits, immune response, and antioxidant status in two broiler strains exposed to chronic heat stress. Environ. Sci. Pollut. R. 24 (34): 26851-26857.

RIO T., V. K. VIDYARTHI, R. ZUYIE (2019): Effect of dietary supplementation of ginger powder (*Zingiber officinale*) on performance of broiler chicken. Livest Res Int.7: 125–131.

RISDIANTO, D., N. SUTHAMA, E. SUPRIJATNA, S. SUNARSO (2019): Inclusion effect of ginger and turmeric mixture combined with *Lactobacillus spp.* isolated from rumen fluid of cattle on health status and growth of broiler. Journal of the Indonesian Tropical Animal Agriculture. 44. 423.

ROBERTS C. K. i K. K. SINDHU (2009): Oxidative stress and metabolic syndrome. Life. Sci. 84, 705-712.

ROSS 308 PERFORMANCE OBJECTIVES [Internet]. NSW, Australia: Aviagen; c2019. Available from: [http://en.aviagen.com/assets/Tech\\_Center/Ross\\_Broiler/Ross308-308FF\\_BroilerPO2019EN.pdf](http://en.aviagen.com/assets/Tech_Center/Ross_Broiler/Ross308-308FF_BroilerPO2019EN.pdf)

SA'ACI, Z. A., O. J. ALABI, D. BROWN, J. W. NG'AMBI (2018): Effect of Aqueous Ginger (*Zingiber officinale*) Extract on Growth Performance, Nutrient Digestibility and Economy of Feed Conversion of Broiler Chickens. *Anim. Nutr. Feed Tech.* 18 (2): 225-231.

SADEGHI, A. A., W. IZADI, P. SHAWRANG, M. CHAMANI, M. AMINAFSHAR (2013): Total Antioxidant Capacity and Malondialdehyde Level in Plasma of Broiler Chicks Fed Diet Containing Different Levels of Ginger (*Zingiber officinale*). *Iran. J. Appl. Anim. Sci.* 3 (2): 283-287.

SADEGHI, A. A., M. MOGHADDAM (2018): The Effects of Turmeric, Cinnamon, Ginger and Garlic Powder Nutrition on Antioxidant Enzymes' Status and Hormones Involved in Energy Metabolism of Broilers during Heat Stress. *Iran. J. Appl. Anim. Sci.* 8 (1): 125-130.

SAEID J. M., A. B. MOHAMED, M. A. AL-BADDY (2010): Effect of aqueous extract of ginger (*Zingiber officinale*) on blood biochemistry parameters of broilers. *Int J Poult Sci.* 9(10): 944-947.

SAHOO, N., S. K. MISHRA, R. K. SWAIN, N. C. BEHURA, K. SETHY, P. K. PATI, L. SAHOO, G. SAMANTALAND, N. R. DEBATA (2018): Comparative and Combined Effect of Turmeric and Ginger Supplementation on Growth, Carcass Characteristics, Blood Parameters and Economics of Productions in Broiler Birds. *Anim. Nutr. Feed Tech.* 18 (2): 243-256.

SALAHEEN S., S.-W KIM., B. J. HALEY, J. A. S. VAN KESSEL, D. BISWAS (2017): Alternative growth promoters Modulate broiler gut microbiome and enhance body weight gain. *Frontiers in Microbiology*, 8. 2088.

SALEEM, M. U., M. A. JAVID, S. AKTHAR, F. A. KIANI, FAISAL, O. NASEER, Y. WAQAS (2020): Comparative effects of different concentrations of garlic (*Allium sativum*) and ginger (*Zingiber Officinale*) on growth performance, goblet cell histochemistry and gut microbiota of broilers. *Indian J. Anim. Res.* 54: 874-878.



SALMANZADEH, M. (2015): Does dietary ginger rhizome (*Zingiber officinale*) supplementation improve the performance, intestinal morphology and microflora population, carcass traits and serum metabolites in Japanese quail? *Archiv fur Geflugelkunde*. 79. 1-10.

SANTIN, E., A. MAIORKA, M. MACARI, M. GRECCO, J. C. SANCHEZ, T. M. OKADA, A. M. MYASAKA (2001): Performance and intestinal mucosa development of broiler chickens fed diets containing *Saccharomyces cerevisiae* cell wall. *Journal of Applied Poultry Research* 10, 236–244.

SASAKI, J., M. GORYO, N. OKOSHI, H. FURUKAWA, J. HONDA, K. OKADA (2000): Cholangiohepatitis in broiler chickens in Japan: Histopathological, immunohistochemical and microbiological studies of spontaneous disease. *Acta Vet. Hung.* 48, 59–67.

SASAKI, J., M. GORYO, M. MAKARA, K. NAKAMURA, K. OKADA (2003): Necrotic hepatitis due to *Clostridium perfringens* infection in newly hatched broiler chicks. *J. Vet. Med. Sci.*, 65, 1249–1251.

SCHALM O. W., N. C. JAIN E., J. CAROLL (1975): *Veterinary Haematology*. 3rd edition. Lea and Febiger, Philadelphia, U.S.A. str. 807.

SENGUPTA, R., E. ALTERMANN, R. C. ANDERSON, W. C. MCNABB, P. J. MOUGHAN, N. C. ROY (2013): The role of cell surface architecture of *Lactobacilli* in host-microbe interactions in the gastrointestinal tract. *Mediators of Inflammation*, 23, 237921.

SERHAT A., M. DENLI (2016): Application of plant extracts as feed additives in poultry nutrition. *Scientific Papers. Series D. Anim. Sci.* 59, 71-74.

SHEWITA, R. S., A. E. TAHA (2018): Influence of dietary supplementation of ginger powder at different levels on growth performance, haematological profiles, slaughter traits and gut morphometry of broiler chickens. *S. Afr. J. Anim. Sci.* 48 (6): 997-1008.

SIES, H. (1991): Oxidative stress: From basic research to clinical application. *Am. J. Med.* 91: 31–3.

SINGH, G., P. MARIMUTHU, C. S. DE-HELUANI, C. CATALAN (2005): Antimicrobial and antioxidant potentials of essential oil and acetone extract of *Myristica fragrans* Houtt. (aril part). *Journal of Food Science* 70: 141-148.

SRINIVASAN, K. i K. SAMBAIAH (1991): The effect of spices on cholesterol 7-alpha hydroxylase activity and on serum and hepatic cholesterol levels in the rat. *International Journal of Vitamins and Nutrition Research* 61: 364-369.

STARČEVIĆ K., L. KRSTULOVIĆ, D. BROZIĆ, M. MAURIĆ, Z. STOJEVIĆ, Ž. MIKULEC, M. BAJIĆ, T. MAŠEK (2015): Production performance, meat composition and oxidative susceptibility in broiler chicken fed with different phenolic compounds. *J Sci Food Agric.* 95(6): 1172-8.

SYED G., Z. SITWAT, H. FAIZ-UL, G. SADDIA, A. ASMA (2018): Effect of natural growth promoters on immunity, and biochemical and haematological parameters of broiler chickens. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research.* 17. 627.

SURH, Y. J., K. K. PARK, K. S. CHUN, L. J. LEE, E. LEE, S. S. LEE (1999): Anti-tumor promoting activities of selected pungent substances present in ginger. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 18:131–139.

SWAIN, P., L. M. MOHAPATRA, K. SETHY, P. R. SAHOO, S. M. NAYAK, P. PATRO, K. BEHERA, C. R. PRADHAN (2017): Effect of ginger and garlic supplement on growth and haemato-biochemical profile of japanese quail (*Coturnix Coturnix Japonica*). *Expl. Anim. Med. Res.* 7 (1); 77-83.

TANABE, M., Y. D. CHEN, K. SAITO, Y. KANO (1993): Cholesterol biosynthesis inhibitory component from *Zingiber officinale* Roscoe. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, (Tokyo) 41: 710-713.

TEKELI, A., L. ÇELIK, H. R. KUTLU, M. GÖRGÜLÜ (2006): Effect of dietary supplemental plant extracts on performance, carcass characteristics, digestive system development, intestinal microflora and some blood parameters of broiler chicks. *Abstract Book of 12th European Poultry Conference*, 10–14.

TEKELI, A. (2007): Potential use of plant extracts and propolis to be natural growth promoter in broiler chicks diets. Disertacija. Çukurova University, Graduate School of Natural and Applied Sciences. 1-164.

TEKELI, A., H. R. KUTLU, L. CELIK (2011): Effect of *Z. officinale* and propolis extracts on the performance, carcass and some blood parameters of broiler chicks. Current Research in Poultry Science 1:12-23.

TEMMERMAN, R., L. PELLIGAND, W. SCHELSTRAETE, G. ANTONISSEN, A. GARMYN, M. DEVREESE (2021): Enrofloxacin Dose Optimization for the Treatment of Colibacillosis in Broiler Chickens Using a Drinking Behaviour Pharmacokinetic Model. Antibiotics 10 (5). 604.

THOMPSON, E. H., I. D. WOLF, C. E. ALLEN (1973): Ginger rhizome: A new source of proteolytic enzyme. J. Food Sci. 38: 652–655.

THOMPSON, C. L., R. VIER, A. MIKAELIAN, T. WIENEMANN, A. BRUNE (2012): *Candidatus Arthromitus* revised: segmented filamentous bacteria in arthropod guts are members of *Lachnospiraceae*. Environmental Microbiology, 14. 1454–1465.

THOMPSON, C. L., A. MIKAELIAN, A. BRUNE (2013): Immune-modulating gut symbionts are not “*Candidatus Arthromitus*”. Mucosal Immunology, 6. 200–201.

THOMSON, A. B. R., M. KEELAN, A. THIESEN, M. T. CLANDININ, M. ROPELESKI, G. E. WILD (2001): Small bowel review diseases of the small intestine. Dig. Dis. Sci. 46: 2555-2566.

TORKI, M., K. KAVIANI, H. A. GHASEMI (2014): Effects of diet supplementation by copper sulphate and ginger essential oil on growth performance and plasma biochemical parameters of broiler chickens under high environmental temperature conditions. Europ. Poult. Sci. 78.

UNI, Z., O. GAL-GARBER, A. GEYRA, D. SKLAN, S. YAHAV (2001): Changes in growth and function of chick small intestine epithelium due to early thermal conditioning. Poult. Sci. 80: 438-445.

VALKO, M., M. IZAKOVIC, M. MAZUR, C. J. RHODES, J. TELSNER, (2004): Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 266: 37–56.

VALPOTIĆ, H., V. ŠERMAN, N. MAS, Ž. MIKULEC, T. MAŠEK (2005): Međudjelovanje nutricina i stresa na zdravlje i proizvodnost peradi. *Krmiva*, 47 (3), 137-148.

WAGNER, D. D., O. P. THOMAS (1978): Influence of Diets Containing Rye or Pectin on the Intestinal Flora of Chicks, *Poultry Science*, Volume 57, Issue 4, 971-975.

WANG J., R. LI, M. ZHANG, C. GU, H. WANG, J. FENG, L. BAO, Y. WU, S. CHEN, X. ZHANG (2022): Influence of Huangqin Decoction on the immune function and fecal microbiome of chicks after experimental infection with *Escherichia coli* O78. *Sci Rep.* 5;12 (1) 16632.

WEN C., Y. GU, Z. TAO, Z. CHENG, T. WANG, Y. ZHOU (2019): Effects of ginger extract on laying performance, egg quality, and antioxidant status of laying hens. *Animals.* 9:857.

WOHLMUTH, H., D. N. LEACH, M. K. SMITH, S. P. MYERS (2005): Gingerol content of diploid and tetraploid clones of ginger (*Zingiber officinal Roscoe*). *J. Agric. Food Chem.* 53, 5772–5778.

ZHANG, S., G. ZHONG, D. SHAO, Q. WANG, Y. HU, T. WU, C. JI, S. SHI (2021): Dietary supplementation with *Bacillus subtilis* promotes growth performance of broilers by altering the dominant microbial community. *Poultry Science.* 100 (3) 100935.

ZHANG, G. F., Z. B. YANG, Y. WANG, W. R. YANG, S. Z. JIANG (2010): Effect of ginger root and ginger oil on antioxidant status and meat quality of broilers. *J. Dairy Sci.* 93 (1); 98-98.

ZHANG, G. F., Z. B. YANG, Y. WANG, W. R. YANG, S. Z. JIANG, G. S. GAI (2009): Effects of ginger root (*Zingiber officinale*) processed to different particle sizes on growth performance, antioxidant status, and serum metabolites of broiler chickens. *Poult. Sci.* 88 (10); 2159-2166.

ZIDAN D. E., K. A. KAHILO, A. H. EL-FAR, K. M. SADEK (2016): Ginger (*Zingiber officinale*) and thymol dietary supplementation improve the growth performance, immunity and antioxidant status in broilers. *Global Vet.* 16: 530–538.

ZOMRAWI, W. B., K. H. A. ABDEL ATTI, B. M. DOUSA, A. G. MAHALA (2012): The effect of ginger root powder (*Zingiber officinale*) supplementation on broiler chick performance, blood and serum constituents. *Online J. Anim. Feed Res.* 1 (6); 457-460.

## 9. ŽIVOTOPIS AUTORA S POPISOM OBJAVLJENIH ZNANSTVENIH RADOVA

Martina Đurić Jarić, DVM, rođena je 02. 11. 1981., u Osijeku, Republika Hrvatska. Poljoprivrednu i veterinarsku školu u Osijeku upisuje 1996., a završava 2000. godine kada i upisuje Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Veterinarski fakultet uspješno završava 2008. godine obranivši Diplomski rad pod nazivom „Koprološki nadzor velikog američkog metilja (*Fascioides magna*) u jelena običnog na području lovišta Podunavlje-Podravlje (Baranja)“. Iste godine zapošljava se kao medicinski predstavnik u Servier Pharma d.o.o. Zagreb u kojoj radi do 2014. godine kada prelazi na mjesto generalnog direktora tvrtke Alpen Pharma d.o.o. Zagreb. Na tom mjestu ostaje sve do 2018. godine kada prelazi u Ewopharma d.o.o. Zagreb na radno mjesto Business Unit Managera. Godine 2021. prelazi u KRKA – FARMA d.o.o. na radno mjesto Voditeljice Marketinga veterine na kojem radi sve do danas.

### Popis objavljenih radova

CVETNIĆ, L. B. HABRUN, V. JAKI TKALEC, S. DUVNJAK, G. KOMPES, **M. ĐURIĆ JARIĆ**, M. CVETNIĆ, M. SAMARDŽIJA, Ž. CVETNIĆ, M. BENIĆ (2022): Nalaz gena spa, mecA, mecC i pvl u bakterije

*S. aureus* izdvojene iz mlijeka krava višestrukom lančanom reakcijom polimeraze (Multiplex PCR). Zbornik sažetaka 44. međunarodnog simpozija mljekarskih stručnjaka (ur. Volarić, Vera). Zagreb: Hrvatska mljekarska udruga, str. 62-62.

BENIĆ, M. B. HABRUN, S. DUVNJAK, G. KOMPES, S. ŠPIČIĆ, V. JAKI TKALEC, **M. ĐURIĆ JARIĆ**, M. CVETNIĆ, M. SAMARDŽIJA, Ž. CVETNIĆ, L. CVETNIĆ (2022): Tipiziranje bakterije *S. aureus* otporne na meticilin (MRSA) izdvojene iz mlijeka krava pomoću Multi Locus Sequence Typing – MLST. Zbornik sažetaka 44. međunarodnog simpozija mljekarskih stručnjaka (ur. Volarić, Vera). Zagreb: Hrvatska mljekarska udruga, 2022. str. 55-55.

**ĐURIĆ JARIĆ, M.**, D. BROZIĆ, Ž. GOTTSTEIN, S. VINCE, M. HOHŠTETER, H. VALPOTIĆ (2022): Standardizirani ekstrakt đumbira (*Zingiber officinale*) kao dodatak hrani za tovne piliće. Zbornik sažetaka XXVII Međunarodnog savjetovanja Krmiva 2022. (ur. Antunović, Zvonko; Janječić, Zlatko) Zagreb: Krmiva d.o.o., str. 116-117.

VALPOTIĆ, H., D. SVOBODA, D. ŠPOLJARIĆ, D. LEINER, B. ŠPOLJARIĆ, N. VIJTIUK, B. HABRUN, H. CAPAK, Ž. VIDAS, S. VINCE, N. MAČEŠIĆ, M. SAMARDŽIJA, M. POPOVIĆ, A. KOVŠCA JANJATOVIĆ, G. LACKOVIĆ, I. VALPOTIĆ, **M. ĐURIĆ JARIĆ**, F. MARKOVIĆ (2022): Evaluation of the prophylactic potential of non-enterotoxigenic *Escherichia coli* (non-ETEC) vaccine immunization and dietary mannan oligosaccharide competitive exclusion benefits against ETEC infections in weaned pigs. Vet. arhiv, 92, 1; 53-72.

VALPOTIĆ, H., D. BROZIĆ, D. HORVATEK, Ž. GOTTSTEIN, L. LOZICA, S. VINCE, D. ĐURIČIĆ, I. ŽURA ŽAJA, **M. ĐURIĆ JARIĆ**, M. SAMARDŽIJA, Ž. MIKULEC (2019): Utjecaj nanočestica klinoptilolita na proizvodnost i oksidativni status tovnih pilića. Zbornik sažetaka XXVI Međunarodnog savjetovanja Krmiva 2019. (ur. Modrić, Mario; Matin, Ana) Zagreb: Krmiva d.o.o., str. 39-39.

VALPOTIĆ, H. Ž. MIKULEC, S. VINCE, D. BROZIĆ, **M. ĐURIĆ JARIĆ**, M. SAMARDŽIJA (2018): Subakutna acidoza buraga mliječnih krava: uzroci, posljedice i kontrola. 29. savjetovanje veterinara Srbije, Zbornik radova i kratkih sadržaja. Mirilović, Milorad (ur.). Beograd: Naučna KMD, str. 143-150.

VALPOTIĆ, H. N. MAS, Ž. MIKULEC, **M. ĐURIĆ JARIĆ**, D. BROZIĆ, Ž. GOTTSTEIN (2018): Effect of microencapsulated dry chestnut wood extract and salts of butyric acid on production parameters of broiler chickens and laying hens. 15th European Poultry Conference Proceedings. Prukner-Radovčić, Estella; Medić, Helga (ur.). Dubrovnik: WPSA, 2018. str. 46-46.