

# Sinbiotski učinak plemenite pečurke (*Agaricus Bisporus*) i njezinih bioaktivnih sastojaka kao dodatka hrani janjadi

---

Marić, Rina

Master's thesis / Diplomski rad

2024

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:486865>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-11**



Repository / Repozitorij:

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



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET

SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PRIJEDIPLOMSKI I DIPLOMSKI  
STUDIJ VETERINARSKA MEDICINA

RINA MARIĆ

**SINBIOTSKI UČINAK PLEMENITE PEČURKE (AGARICUS  
BISPORUS) I NJEZINIH BIOAKTIVNIH SASTOJAKA KAO  
DODATKA HRANI JANJADI**

Diplomski rad

Zagreb, 2024.

Ime i prezime studenta: Rina Marić

Naziv zavoda ili klinike: Zavod za veterinarsku biologiju

Predstojnik: prof. dr. sc. Maja Popović

Mentor: izv. prof. dr. sc. Daniel Špoljarić

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. prof. dr. sc. Maja Popović
2. prof. dr. sc. Tomislav Gomerčić
3. izv. prof. dr. sc. Daniel Špoljarić
4. doc. dr. sc. Kristina Starčević (zamjena)

Rad sadržava 44 stranica, 7 slika, 4 tablice, 89 literaturnih navoda.

## ZAHVALE

Zahvaljujem dragome Bogu na daru života.

Prvo se želim zahvaliti svome mentoru izv. prof. dr. sc. Danielu Špoljariću na iskazanom povjerenju, uloženom vremenu i trudu te maksimalnoj susretljivosti.

Zahvaljujem i prof. dr. sc. Maji Popović na suradnji i savjetima koji su pridonijeli u izradi ovoga rada.

Ovaj diplomski rad posvećujem svojim roditeljima i sestrama. Hvala vam na ljubavi, podršci, izuzetnom strpljenju i razumijevanju te na svemu ostalom što ste mi pružili tijekom cijeloga života.

Hvala mužu Petru koji je sve ovo vrijeme bio uz mene te svojom upornošću mi je bio potpora da ne odustajem. Hvala mu što je stavio mene i moje studiranje ispred svojih obaveza i slobodnog vremena da mi pomogne tijekom mog studiranja. On je zaslužan za završetak mog studiranja i na tome ti hvala.

Hvala mojoj djeci, Jakovu i Pauli, na razumijevanju da se moram posvetiti fakultetskim obvezama te zajedničkim odlascima na fakultet.

Hvala Višnji, Stjepanu i Mateju na svim molitvama, prikazanim misama i potpori.

Vaše su molitve uslišane!

Za kraj zahvala ide svim mojim prijateljima, kumovima i ostalim osobama koje su mi bile potpora.



## POPIS PRILOGA

**Slika 1.** Pokusne životinje (izvor slike: Daniel Špoljarić)

**Slika 2.** Plemenita pečurka GEA-COM (Budačka Rijeka, Hrvatska) komercijalnog gljivarnika (izvor slike: Daniel Špoljarić)

**Slika 3.** Uzimanju uzoraka periferne krvi životinjama u pokusu putem venepunkcije iz v. jugularis (izvor slike: Daniel Špoljarić)

**Slika 4.** Uzimanju obriska rektuma sluznice za bakteriološku analizu (izvor slike: Daniel Špoljarić)

**Slika 5.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti udjela T limfocita CD45+ (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini janjadi kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 6.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti udjela T limfocita CD3+ (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini janjadi kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Slika 7.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti udjela B limfocita CD45+ CD21+ (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini janjadi kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

**Tablica 1.** Nutritivni sastav 100 grama plemenite pečurke. Izvor: obrada prema US Department of Agriculture (2023). Mushrooms, white raw, dostupno na <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/169251/nutrients>.

**Tablica 2.** Prikaz monoklonskih protutijela za leukocitne antigene ovaca.

**Tablica 3.** Bakterijski izolati iz obrisaka sluznice rektuma (o.r kontrolne i pokusne skupine janjadi (janjad hranjenja uz dodatak plemenite pečurke) tijekom 42 dana trajanja pokusa, te broj bakterija (CFU/mL) 0. i 42. dana pokusa.

**Tablica 4.** Broj bakterija *Lactobacillus* spp. (CFU/mL) 0., 21. i 42. dana pokusa iz obrisaka sluznice rektuma kontrolne i pokusne skupine janjadi (janjad hranjenja uz dodatak plemenite pečurke) tijekom 42 dana trajanja pokusa.

## SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b>	<b>3</b>
<b>2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA</b>	<b>5</b>
2.1. Plemenita pečurka	5
2.1.1. Etimologija i anatomija	6
2.1.2. Uzgoj i upotreba	7
2.1.3. Nutritivni profil plemenite pečurke	8
2.2. Nutritivna modulacija	12
2.3. Fitobiotici	14
<b>3. MATERIJAL I METODE</b>	<b>17</b>
3.1. Materijal	17
3.1.1. Tehnologijski uvjeti na farmi	17
3.1.2. Životinje u pokusu	17
3.1.3. Pokusni pripravak	18
3.1.4. Plan pokusa	19
3.1.5. Uzorci	20
3.2. Metode	21
3.2.1. Protočna citometrija (metoda modificirana POPOVIĆ i VALPOTIĆ, 2004)	21
3.2.2. Bakteriološka pretraga	21
3.2.3. Statistička obrada	21
<b>4. REZULTATI</b>	<b>23</b>
4.1. Imunosni pokazatelji	23
4.2. Bakteriološki pokazatelji	25
<b>5. RASPRAVA</b>	<b>28</b>
<b>6. ZAKLJUČAK</b>	<b>33</b>
<b>7. LITERATURA</b>	<b>34</b>
<b>8. SAŽETAK</b>	<b>42</b>
<b>9. SUMMARY</b>	<b>43</b>



## 1. UVOD

Od davnina su gljive prepoznate kao važna komponenta prehrane zbog svoje nutritivne vrijednosti i terapijskih svojstava. Plemenita pečurka (*Agaricus bisporus*) se uzgaja još od vremena Luja XIV., s prvim znanstvenim opisom metoda uzgoja koji datira iz 1707. godine (SHEK-VUGROVEČKI i sur., 2018.). U današnje vrijeme, plemenita pečurka je među najčešće uzgajanim gljivama širom svijeta, a uzgoj se odvija u kontroliranim uvjetima. Razlozi velike popularnosti uzgoja plemenitih pečurki svakako uključuju njihovu aromu i okus, ali i potvrđena ljekovita i nutritivna svojstva (GOLAK-SIWULSKA i sur., 2018.). Nadalje, plemenita pečurka se ističe kao bogat izvor proteina, esencijalnih i poluesencijalnih aminokiselina, vlakana (hitina), te antioksidativnih tvari poput sterola, fenolnih i indolnih spojeva, ergotionina, selena i vitamina (FOULONGNE-ORIO i sur., 2013.). Osim toga, sadrži nisku razinu masti, pri čemu dominiraju mononezasićene i polinezasićene masne kiseline u usporedbi sa zasićenim masnim kiselinama (ÖZTÜRK i sur., 2011.). Ova kombinacija nutritivnih elemenata čini plemenitu pečurku vrlo prihvatljivom kao zdravu hranu. Stoga je iznimno zanimljiva za daljnja istraživanja kako bi se utvrdila njezina primjena kao funkcionalnog dodatka prehrani za ljude te domaće životinje koje su namijenjene ljudskoj prehrani.

Dodatno, plemenita pečurka (*Agaricus bisporus*) posjeduje niz bioaktivnih sastojaka, uključujući polisaharide, lipopolisaharide, esencijalne aminokiseline, peptide, glikoproteine, nukleozide, triterpenoide, lektine, masne kiseline i njihove derivate, zbog čega je prepoznata po svojim protugljivičnim, protuupalnim, protuvirusnim, protubakterijskim, hepatoprotektivnim, protudijabetičkim, hipolipemijskim, protutrombotičnim, hipotenzivnim i sinbiotskim učincima (ATILA i sur., 2017.; FERRÃO i sur., 2019.).

Istraživanja na monogastričnim životinjama, poput domaćih svinja i peradi, koja su hranjena s dodatkom plemenite pečurke, pokazuju poboljšanje različitih parametara, uključujući brži rast, nižu konverziju hrane, manje obolijevanje, bolje preživljavanje, smanjenje serumskih koncentracija kolesterola i glukoze, te pozitivne promjene u crijevnoj mikroflori (MRŠIĆ, 2011.; ŠPOLJARIĆ, 2013.; ŠPOLJARIĆ i sur., 2015.; KHAN i sur., 2019.). Dodatak plemenite pečurke također je povezan s povoljnim utjecajem na histomorfologiju crijeva i antioksidativni status mesa kod peradi (GIANNENAS i sur., 2010.).

Rezultati istraživanja ukazuju na nutritivne i imunostimulacijske učinke plemenite pečurke, pri čemu se primjećuje porast leukocita, smanjenje bakterija poput enterobakterija i

*Escherichia coli*, te povećanje broja *Lactobacillus* spp. u rektalnim obriscima. Osim toga, dodatak plemenite pečurke pokazuje imunostimulacijski učinak na piliće i prasad, s porastom udjela različitih tipova T-limfocita u perifernoj krvi (MRŠIĆ, 2011.; ŠPOLJARIĆ, 2013.; ŠPOLJARIĆ i sur., 2015.; KHAN i sur., 2019.).

U skladu s tim, novija literatura podržava korištenje pripravka plemenite pečurke kao prirodne zamjene antibioticima koji potiču rast, čime se otvaraju perspektive za njenu primjenu u prehrani, kako kod ljudi, tako i kod domaćih životinja (CVRTILA FLECK i sur., 2015.; ŠPOLJARIĆ i sur., 2015.; ŠPIRANEC i sur., 2016.). Rezultati istraživanja ŠPOLJARIĆ i sur. (2023.) potvrđuju pretpostavku o korisnosti prehrambenih bijelih šampinjona u poticanju optimalne aktivnosti memorijskih T limfocita DP CD4<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> kod janjadi, što rezultira zaštitom od proljeva na farmi i poticanjem bržeg rasta. Treba napomenuti da, iako imunomodulacija prirodnog dijela imunološkog sustava može imati negativan utjecaj na proizvodne parametre, strategije koje pridonose zdravlju stada životinja, uključujući ovce, bez korištenja antimikrobnih aditiva, zahtijevaju pažljivu evaluaciju kako bi se ograničio potencijalni utjecaj rezistencije na antimikrobne tvari.

Stoga je cilj istraživanja proučiti učinak i utjecaj plemenite pečurke u svakodnevnoj prehrani janjadi, kao funkcionalnog dodatka, s posebnim fokusom na sinbiotski učinak njezinih bioaktivnih sastojaka.

## 2. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

### 2.1. Plemenita pečurka

Plemenita pečurka, znanstveno poznata kao *Agaricus bisporus*, predstavlja jednu od najpoznatijih, najkonzumiranijih i najkomercijalnijih jestivih gljiva na svijetu. Ova gljiva ima široku primjenu u kulinarstvu i istraživanju zbog svog ukusnog okusa i teksture, ali također zbog bogatstva nutrijenata i bioaktivnih spojeva koji se kriju unutar njenih bijelih klobuka. Plemenita pečurka se često pojavljuje u dvije glavne varijante: bijela i smeđa. Ove dvije varijante razlikuju se po boji, pri čemu je bijela verzija češće viđena u trgovinama i restoranima. Međutim, obje varijante nude značajnu nutritivnu vrijednost i prednosti za zdravlje.

Bioaktivni sastojci plemenite pečurke povezani su s raznim *in vivo* aktivnostima koje su uglavnom dokumentirane u znanstvenoj literaturi kroz studije na modelu laboratorijskih životinja i ljudi. Istraživan je utjecaj bioaktivnih sastojaka na regulaciju imunološkog sustava, uključujući poticanje prirodnih ubojitih stanica (NK-stanica), zrelost i funkciju dendritičnih stanica, povećano oslobađanje citokina poput IFN- $\gamma$ , TNF $\alpha$  i IL-2, te proizvodnju imunoglobulina A (IgA). Spomenute radnje upućuju na imunološki preokret prema tipu imunosti koja je posredovana stanicama, poznata kao Th-1 imunski odgovor (ATILA i sur., 2017.; KHAN i sur., 2019.).

Biološki aktivni  $\beta$ -1,3-/1,6-glukan i proteoglikan u plemenitoj pečurki imaju imunostimulirajući učinak. Oni djeluju kao ligandi, vežući se za receptore poput CD11b/18 (komplementarni receptor 3, CR3), dektin-1 i receptor 2 sličan tollu (TLR2) na dendritičnim stanicama, granulocitima, monocitima i NK-stanicama urođenog imunskog sustava (HETLAND i sur., 2011.; AYEKA, 2018.). Također, prilikom vezanja za CR3, dektin-1 i TLR-2, aktiviraju se i prenose signale T-limfocitima, mitogenom aktiviranim protein-kinazama (MAP kinazama) i nuklearnim faktorom kappa-B (NF- $\kappa$ B), potiču stvaranje i aktivaciju kemokina, te stimulaciju limfocita, makrofaga i NK-stanica (AYEKA, 2018.). Istraživanja provedena od strane DITAMA i suradnika (2016.) na modelu štakora pokazuju da lektin izoliran iz plemenite pečurke ima imunosupresivni učinak. To ukazuje na mogućnost primjene izoliranog lektina u terapiji kod ljudi koji boluju od autoimunih bolesti. Uz to, spomenuti ABL-lektin pokazuje sposobnost povezivanja s određenim receptorima membrane mišjih T-limfocita u laboratorijskim uvjetima *in vitro*. Ovime se stimulira protein-tirozin-kinaza unutar stanice što

rezultira aktivacijom ranih aktivacijskih biljega CD25+ i CD69+ na T-limfocitima (HO i sur., 2004.).

Nadalje, istraživanja su pokazala da  $\beta$ -glukan iz plemenite pečurke ima pozitivan učinak na serum snižavanjem razine glukoze putem inhibicije probave i apsorpcije komponenata hrane poput škroba. Osim toga, lovastatin iz plemenite pečurke također pokazuje pozitivan učinak na serum snižavanjem razine kolesterola (KAŁA i sur., 2020.). Polisaharidi, posebno hitosan i hitin, prisutni u plemenitoj pečurki, povezuju se s protumikrobnim učincima, uključujući inhibiciju različitih bakterija i gljivica (ÖZTÜRK i sur., 2011.).

### 2.1.1. Etimologija i anatomija

Plemenita pečurka često se naziva kultiviranom gljivom (IMBACH, 1946.). Ova jestiva gljiva ima svoje porijeklo u travnjacima Europe, Azije i Sjeverne Amerike. U nezrelom stanju može imati dvije različite boje: bijelu (*Agaricus bisporus* var. *bisporus*) i smeđu (*Agaricus bisporus* var. *hortensis*), a postoje i dodatni nazivi za zrelo stanje kao što je portobello šampinjon (*Agaricus bisporus* var. *portobellus*). Plemenita pečurka se uzgaja u više od 70 zemalja (ARORA, 1986.) i svrstava se među najčešće i najkonzumiranije gljive u svijetu. Etimologija naziva plemenite pečurke pruža uvid u povijest i porijeklo ove iznimno popularne jestive gljive. Naziv *Agaricus bisporus* potječe iz latinskog jezika, sugerirajući da je riječ o znanstvenom nazivu koji se koristi za precizno identificiranje vrste gljive (ZEITLMAYR, 1976.). Riječ "*Agaricus*" dolazi iz grčkog jezika i odnosi se na skupinu gljiva, a navodno je dano prema nazivu mjesta gdje je raslo mnogo gljiva. „*Agricus*“ je opći termin koji obuhvaća mnoge različite vrste gljiva. "*Bisporus*" je latinski izraz koji se prevodi kao "dvije spore," a ovaj dio imena odnosi se na poseban način kojim plemenita pečurka razmnožava svoje spore.

Plemenita pečurka ima karakterističnu strukturu tijela koja se sastoji od tri glavna dijela): klobuka, drške i korijena (CALLAC i BILETTE, 1993.). Klobuk, koji je najprepoznatljiviji dio gljive, obično je zaobljen i može varirati u boji od bijele do smeđe. Klobuk štiti reproduktivne strukture gljive koje se nalaze ispod njega. Ispod klobuka plemenite pečurke nalaze se lamele ili listići. Lamelle su tanke, vertikalno postavljene strukture koje sadrže mnoge spore, reproduktivne stanice gljive. Boja lamela obično varira od svijetlo sive do tamno smeđe, ovisno o zrelosti gljive. Drška ili stabljika plemenite pečurke povezuje klobuk s korijenom i omogućava gljivi da raste iznad tla ili podloge na kojoj raste (CALLAC i BILETTE, 1993.). Drška je obično bijele boje i može biti tanka ili deblja, ovisno o dobi i vrsti plemenite pečurke. Korijen ili micelij je dio gljive koji se nalazi ispod površine tla ili podloge

na kojoj raste. Micelij je mreža tankih niti ili hifa koje apsorbiraju hranjive tvari iz okoline i omogućuju rast i razvoj gljive (CARLUCCIO, 2003.). Ovo je dio gljive koji obično nije vidljiv jer se nalazi ispod površine. Plemenita pečurka se reproducira putem spora koje se nalaze na lamelama ispod klobuka. Kada dođe vrijeme za reprodukciju, spore se oslobađaju i šire se u okolinu, gdje mogu klijeti i razvijati se u nove gljive. Osim toga, plemenita pečurka ima malu kapuljaču koja prekriva mlade gljive prije nego što se potpuno razviju. Ovaj pokrovčić štiti unutarnje strukture gljive tijekom njenog razvoja (ARORA, 1986.). Boja i tekstura plemenite pečurke mogu varirati ovisno o vrsti i dobi. Mlađe gljive obično imaju svjetliji klobuk i tamnije lamele, dok starije gljive mogu postati smeđe i razviti karakterističan izgled.

### 2.1.2. Uzgoj i upotreba

Uzgoj plemenite pečurke, predstavlja značajnu i profitabilnu granu poljoprivrede i agroindustrije širom svijeta. Njezin uzgoj je relativno jednostavan i može se provoditi u različitim uvjetima, što je čini popularnom i među početnicima u poljoprivredi. Prvi korak u uzgoju plemenite pečurke je odabir odgovarajuće sorte. Plemenita pečurka obično raste na supstratima koji se sastoje od komposta, piljevine i drugih materijala bogatih hranjivim tvarima. Supstrat se sterilizira kako bi se uklonili neželjeni mikroorganizmi (GENDERS, 1969.) koji bi mogli konkurirati gljivama za hranjive tvari. Uzgoj plemenitih pečurki zahtijeva posebne uvjete kako bi rezultirao kvalitetnim i jednoličnim gljivama u smislu veličine i oblika. Ove gljive su osjetljive na promjene okolišnih uvjeta, stoga je važno pridržavati se specifičnih procedura za uspješan uzgoj. Plemenite pečurke se obično sade u kompost, pri čemu se često koristi stajnjak s primjesama. Najbolji rezultati postižu se korištenjem komposta koji uključuje slamu i konjski stajnjak. U ovom procesu, kompost se obično priprema sterilizacijom, a zatim se preko njega stavlja tanki sloj pokrivne zemlje, obično debljine od 3 do 5 centimetara (<https://gospodarski.hr/promo/sampinjon-kako-uzgojiti-gljivu/>, Gospodarski list, 2023.). Nakon što su plemenite pečurke zasađene, slijedi trodnevno razdoblje zalijevanja i održavanja određene temperature, koja se kreće između 15 °C i 25 °C (<https://gospodarski.hr/promo/sampinjon-kako-uzgojiti-gljivu/>, Gospodarski list, 2023.). Ovo je ključna faza uzgoja i zahtijeva pažljivo praćenje temperature jer njezino povećanje iznad preporučenih vrijednosti može dovesti do propadanja komposta i smanjenja prinosa. U ovom koraku, važna je i kontrola vlažnosti zraka, smanjenje razine kisika te povećanje razine CO<sub>2</sub> (<https://gospodarski.hr/promo/sampinjon-kako-uzgojiti-gljivu/>, Gospodarski list, 2023.) s ciljem stvaranja optimalnih uvjeta za razvoj gljiva. Sljedeći korak je proces inokulacije koji se



sastoji od dodavanja micelija plemenite pečurke u supstrat (BENJAMIN, 1995.). Micelij je mreža tankih niti koji se razvija i formira gljive. Po završetku procesa inokulacije, supstrat se drži u uvjetima kontrolirane temperature i vlage kako bi se micelij mogao razviti. Ovaj proces naziva se inkubacijom (BENJAMIN, 1995.) i može trajati nekoliko tjedana. Nakon inkubacije, micelij se razvija i formira male izbojke poznate kao kvržice (eng. *pinhead*) (GENDERS, 1969.). Ovi izbojci će se razviti u zrele gljive. Kvržice se postupno razvijaju u zrele gljive. Tijekom ovog procesa, gljive rastu, klobuci se šire (GENDERS, 1969.), a lamelarne strukture ispod klobuka razvijaju spore. Gljive se beru kada dosegnu optimalnu veličinu i zrelost što se može procijeniti po veličini klobuka i dužini drške. Kada klobuk gljive dostigne željeni promjer, a drška postane mekša i tamnija, berba se obavlja ručno kako bi se izbjegle oštećene ili prezrele gljive (BENJAMIN, 1995.). Nakon berbe, isti supstrat može se koristiti za ponovni uzgoj, čime se povećava isplativost procesa. Ponovno inokuliranje i inkubacija omogućuju višekratno korištenje istog supstrata. Zrele gljive se pakiraju i distribuiraju na tržište te, ovisno o zahtjevima tržišta, mogu se prodavati svježe, suhe ili prerađene u različite proizvode. Tijekom cijelog procesa uzgoja, nužno je održavati visoke standarde higijene i kontrolirati kvalitetu proizvoda kako bi se osigurala sigurna i ukusna hrana za potrošače. Uzgoj plemenite pečurke može se provoditi u različitim uvjetima, uključujući komercijalne farme, kućne vrtove i vertikalne farme (BENJAMIN, 1995.). Razvoj tehnologija i tehnika uzgoja omogućava kontinuirani rast i pristup ovom popularnom i hranjivom prehrambenom izvoru tijekom cijele godine. Uz to, plemenita pečurka ima potencijal za ekonomski isplativ uzgoj, što privlači mnoge poljoprivrednike i investitore u ovo područje.

### 2.1.3. Nutritivni profil plemenite pečurke

Plemenita pečurka sadrži značajnu količinu proteina, što je rijedak nalaz među jestivim gljivama (CAPELLI, 1984.). Proteini su esencijalni za izgradnju i obnovu stanica te su važni za mišićni rast i održavanje. Nadalje, plemenita pečurka sadrži prehrambena vlakna koja su važna za probavno zdravlje, pomažući u regulaciji probave i održavanju zdrave crijevne flore. Plemenita pečurka je bogat izvor vitamina B skupine, vitamin B1 (tiamin), vitamin B2 (riboflavin), vitamin B3 (niacin) te vitamin B5 (pantotensku kiselinu) (CARLUCCIO, 2003.). Ovi vitamini igraju ključnu ulogu u metabolizmu i energetskej proizvodnji organizma. Gljive također sadrže minerale poput kalija, fosfora i selena. Kalij je važan za regulaciju krvnog tlaka, fosfor podržava zdravlje kostiju i zuba, dok selen djeluje kao antioksidans koji štiti stanice od oksidativnog stresa. Nutritivni sastav 100 grama plemenite pečurke nalazi se u Tablici 1.

**Tablica 1.** Nutritivni sastav 100 grama plemenite pečurke. Izvor: obrada prema US Department of Agriculture (2023). Mushrooms, white raw, dostupno na <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/169251/nutrients>.

Pokazatelj	Mjerna jedinica	Vrijednost	Pokazatelj	Mjerna jedinica	Vrijednost
Voda	<i>g</i>	92,4	Bakar, Cu	<i>mg</i>	0,318
Energija	<i>kJ</i>	93	Mangan, Mn	<i>mg</i>	0,047
Proteini	<i>g</i>	3,09	Selen, Se	$\mu$ <i>g</i>	9,3
Masti	<i>g</i>	0,34	Vitamin C	<i>mg</i>	2,1
Ugljikohidrati	<i>g</i>	3,26	Tiamin	<i>mg</i>	0,081
Vlakna	<i>g</i>	1	Riboflavin	<i>mg</i>	0,402
Šećer	<i>g</i>	1,98	Niacin	<i>mg</i>	3,61
Glukoza	<i>g</i>	1,48	Vitamin B-6	<i>mg</i>	0,104
Fruktoza	<i>g</i>	0,17	Vitamin B-12	$\mu$ <i>g</i>	0,04
Kalcij, Ca	<i>mg</i>	3	Vitamin B-12, dodani	$\mu$ <i>g</i>	0
Željezo, Fe	<i>mg</i>	0,5	Vitamin A	IU	0
Magnezij, Mg	<i>mg</i>	9	Vitamin E	<i>mg</i>	0,01
Fosfor, P	<i>mg</i>	86	Vitamin D (D2 + D3), International Units	IU	7
Kalij, K	<i>mg</i>	318	Vitamin D (D2 + D3)	$\mu$ <i>g</i>	0,2
Natrij, Na	<i>mg</i>	5	Vitamin D2 (Ergokalciferol)	$\mu$ <i>g</i>	0,2
Cink, Zn	<i>mg</i>	0,52	Vitamin K (Dihidrofilokinon)	$\mu$ <i>g</i>	1

Plemenita pečurka sadrži prirodne antioksidanse, kao što su glutation i ergotionein (GENDERS, 1969.), koji igraju ključnu ulogu u zaštiti stanica od oštećenja uzrokovanog slobodnim radikalima. Ovi antioksidansi imaju potencijalno pozitivan učinak na smanjenje rizika od bolesti. Beta-glukani, kao vrsta prehrambenih vlakana prisutna u plemenitoj pečurci, mogu pomoći u podršci imunološkog sustava i smanjenju upale u tijelu (CARLUCCIO, 2003.). Plemenita pečurka može sadržavati značajne količine vitamina D, osobito ako su izložene UV svjetlu tijekom uzgoja. Vitamin D igra ključnu ulogu u održavanju zdravih kostiju i imunološkog sustava.

Bioaktivni sastojci plemenite pečurke su prirodni spojevi koji mogu pružiti brojne zdravstvene i prehrambene koristi. Ova tema postaje sve popularnija u kontekstu poboljšanja prehrane domaćih životinja, posebno janjadi. Novija istraživanja prepoznaju ključnu ulogu nutricina u održavanju optimalnog zdravstvenog stanja kod ljudi i životinja, s raznim metaboličkim učincima. Nutricini su prirodni spojevi koji se nalaze u hrani i imaju pozitivan utjecaj na različite aspekte zdravlja (POPOVIĆ i sur., 2020.). Ključni pozitivni učinci na

zdravlje su povezani sa poboljšanim unosom hrane, sprječavanjem rasta i širenja mikroorganizama u hrani, redukcijom oksidacijskog stresa, regulacijom imunološkog sustava, poboljšanom apsorpcijom hranjivih tvari i lakoćom probave te promjenom mikrobiološke populacije u probavnom sustavu. U današnjem kontekstu, pripravci jestivih gljiva postaju sve važniji dio alternativnih strategija za nekliničku primjenu antibiotika, posebno u stočarstvu i proizvodnji životinjskih proizvoda namijenjenih ljudskoj prehrani. To je osobito istaknuto kao alternativna profilaksa ili terapija s obzirom na rastući broj mikroorganizama koji razvijaju otpornost na antibiotike (GALLOIS i sur., 2009.).

U nedavnoj znanstvenoj literaturi, na temelju istraživanja na modelu životinja, postoji preporuka da se pripravci plemenite pečurke uključe u prehranu s ciljem prirodne zamjene antibiotika koji potiču rast (ŠPOLJARIĆ i sur., 2011.). Ova spoznaja naglašava potencijalne prednosti korištenja gljiva u poboljšanju zdravlja i produktivnosti životinja, pridonoseći istovremeno smanjenju rizika od antibiotske rezistencije u stočarstvu i lancima proizvodnje hrane namijene ljudskoj konzumaciji. Jedan od najvažnijih bioaktivnih sastojaka plemenite pečurke su polisaharidi, posebno beta-glukani. Ovi polisaharidi imaju potencijalno imunomodulatorno djelovanje, što znači da mogu poboljšati imunološki odgovor janjadi (SHEN i sur., 2007.). To može rezultirati povećanom otpornošću na infekcije i bolesti. Plemenita pečurka sadrži antioksidanse poput vitamina C, vitamina E i selen (CARLUCCIO, 2003.). Antioksidansi pomažu neutralizirati slobodne radikale u organizmu janjadi, smanjujući oksidativni stres i potencijalno poboljšavajući opće zdravlje. Gljiva sadrži različite aminokiseline, uključujući esencijalne aminokiseline koje su bitne za rast i razvoj janjadi. Pravilan unos aminokiselina može pozitivno utjecati na tjelesni rast i mišićnu masu. Plemenita pečurka također pruža razne vitamine i minerale, uključujući vitamin D, čija je ključna uloga jačanje kostiju i apsorpcija kalcija. Ovi nutrijenti mogu doprinijeti cjelokupnom zdravlju i dobrobiti janjadi. Neke komponente plemenite pečurke djeluju kao prebiotici, potičući rast korisnih bakterija u probavnom sustavu janjadi. Ovo može poboljšati probavu i apsorpciju hranjivih tvari. Neki istraživači (GENDERS, 1969.; BENJAMIN, 1995.) sugeriraju da plemenita pečurka može imati antiparazitsko djelovanje kod janjadi, pomažući u kontroliranju unutarnjih parazita koji mogu utjecati na njihovo zdravlje i produktivnost. Analiza kemijske kompozicije plemenite pečurke otkriva da uključuje 5,52% suhe tvari, sa značajnim udjelom bjelančevina (59,44%), ugljikohidrata (31,51%) i pepela (6,32%) (POPOVIĆ i sur., 2020.). Stanice eukariotskih organizama, među kojima su gljive, obavijene su staničnom stijenkom, čija je ključna uloga očuvanje čvrstoća stanica. Stanične stijenke gljiva sastoje se od različitih

komponenti, uključujući polisaharide, proteine, lipide, minerale i pigmente. Glavna komponenta stanične stijenke gljiva je hitin, dok se ostatak stanične stijenke sastoji od drugih polisaharida, uključujući manane,  $\alpha$ -(1+3)-glukane i  $\beta$ -(1+3)-glukane (ŠPOLJARIĆ i sur., 2011.). Plemenite pečurke također predstavljaju ekonomičan izvor antioksidansa u prehrani, zahvaljujući prisutnosti polifenolnih spojeva, askorbinske kiseline, ergotioneina,  $\alpha$ -tokoferola,  $\beta$ -tokoferola, karotenoida (BARROS i sur., 2008.). Osim toga, sadrži važne minerale poput selena (Se) i cinka (Zn), koji igraju ključnu ulogu u zaštiti od oksidativnog stresa. Ovi minerali su važni sastojci antioksidacijskih enzima u serumu, kao što su glutation-peroksidaza (GPX), superoksid-dismutaza (SOD) i pokazatelji peroksidacije lipida (MDA) (BARROS i sur., 2008.). Plemenita pečurka također pruža povoljne količine vitamina E i D2 (ergosterola, prekursor vitamina D) (BENJAMIN, 1995.), koji su topljivi u mastima i djeluju kao učinkoviti antioksidansi. Nadalje, aminokiseline prisutne u plemenitim pečurkama mogu djelovati sinergistički (POPOVIĆ i sur., 2020.) kao prirodni sastojci prehrambenih proizvoda, dodatno pridonoseći antioksidacijskom zaštitnom mehanizmu. Mehanizam pojačanja djelovanja primarnih antioksidansa od strane nutricina može se objasniti putem kelacije ili vezivanja metala i prooksidacijskih minerala u tragovima te obnavljanja primarnih oksidiranih antioksidansa. Sastav plemenitih pečurki sadrži aminokiseline poput alanina, asparaginske kiseline, glutaminske kiseline, arginina, leucina, lizina, fenilalanina, serina, prolina, tirozina i treonina (POPOVIĆ i sur., 2020.), koje također doprinose učinkovitom antioksidacijskom djelovanju. Elementna kemijska analiza provedena na plemenitoj pečurci pomoću elektronskog mikroskopa SEM Philips XL 30 s EDX detektorom (EDAX), površine od 10 mm<sup>2</sup>, nije utvrdila postojanje teških metala, a natrij, sumpor i kalcij prisutni su samo u tragovima (MRŠIĆ i sur., 2011.). Na modelu životinja, istraživanja su potvrdila imunomodulacijski učinak plemenite pečurke (JEONG i sur., 2010.; ATILA i sur., 2017.). Ovaj učinak uključuje stimulaciju NK stanica, aktivnost i sazrijevanje dendritičnih stanica, povećano izlučivanje citokina poput IFN- $\gamma$ , IL-2 i TNF $\alpha$  te povećano stvaranje IgA. Sve navedene promjene ukazuju na pomak u imunološkom odgovoru prema imunosti posredovanoj stanicama (Th-1 imunosti odgovor) (JEONG i sur., 2010.). Ovaj imunostimulacijski učinak može se pripisati biaktivnom  $\beta$ -1,3-/1,6-glukanu i proteoglikanu, koji djeluju kao ligandi za receptore poput dektin-1, receptor 2 sličan tolu (TLR2) na monocitima i CD11b/18 (CR3, komplementarni receptor 3), granulocitima, dendritičnim stanicama i NK stanicama koji potječu od urođenog imunostnog sustava (AYEKA, 2018.). Povezivanjem s ovim receptorima dolazi do transdukcije i aktivacije signala T-limfocita, nuklearnog faktora kappa-B-stanica (NF- $\kappa$ B) i protein-kinaza aktiviranih mitogenom (MAP kinaze), što rezultira stvaranjem i aktivacijom kemokina te stimulacijom

makrofaga, NK stanica i limfocita. Također, lektin, izoliran iz plemenite pečurke, je pokazao imunosupresijski učinak u in vivo istraživanjima na štakorima, što sugerira da se oboljelima od autoimunih bolesti može potencijalno primijeniti u terapiji (DITAMO i sur., 2016.). Važno je napomenuti da se kod miševa ABL-lektin veže za karakteristične receptore na membrani T-limfocita i stimulira aktivnost protein-tirozin-kinaze unutar stanice, što dalje aktivira rane aktivacijske markere T-limfocita CD25<sup>+</sup> i CD69<sup>+</sup> (POPOVIĆ i sur., 2020.). Nadalje, još jedna pozitivna stvar plemenite pečurke je β-glukan koji učinkovito snižava razinu glukoze u serumu (BROWN I GORDON, 2003.). Taj učinak ostvaruje se putem inhibicije probave i apsorpcije komponenata hrane, posebno škroba. Osim utjecaja na koncentraciju glukoze u serumu, plemenita pečurka također posjeduje lovastatin, koji je poznat po sposobnosti snižavanja koncentracije kolesterola u serumu (BROWN i GORDON, 2003.). Ovaj povoljan učinak na sniženje razine kolesterola povezan je s prisutnošću polisaharida u plemenitoj pečurci, uključujući hitosan i hitin, koji također doprinose njezinim protumikrobnim svojstvima.

## 2.2. Nutritivna modulacija

U modernom uzgoju životinja, od 1. siječnja 2006. godine, Europska unija je putem Uredbe br. 355/2003 donesene 20. veljače 2003. godine, zabranila upotrebu antibiotika kao dodataka hrani za životinje s ciljem poticanja rasta. Ova zabrana proizlazi iz prepoznate opasnosti od njihove uporabe i/ili zlouporabe, kako za zdravlje životinja, tako i za zdravlje ljudi. Slično tome, od 1. srpnja 2013. godine, Republika Hrvatska također je implementirala zabranu nekliničke primjene antibiotika u proizvodnji životinja namijenjenih ljudskoj prehrani. Važan korak u smjeru zaštite javnog zdravlja i sigurnosti hrane dogodio se 13. rujna 2018. godine, kada je Europski parlament usvojio rezoluciju o europskom akcijskom planu pod nazivom "Jedno zdravlje" (eng. *One Health*). Ovaj plan ima za cilj jačanje zdravstvenih sustava članica Europske unije, ali istovremeno teži smanjenju rizika od antimikrobnih rezistencija te upravljanju opasnostima po sigurnost hrane. Koncept "Jedno zdravlje" naglašava važnost multidisciplinarnog zajedničkog djelovanja na globalnoj, nacionalnoj i lokalnoj razini s ciljem postizanja optimalnih rezultata u očuvanju okoliša te zdravlja životinja i ljudi (VILIBIĆ-ČAVLEK i sur., 2022.). Prije donošenja gore spomenutih propisa i uredbi, izazovi u upravljanju zdravljem životinja u kontroliranim sustavima uzgoja za prehrambene potrebe ljudi često su se rješavali primjenom supertapeutske doze antibiotika kao dodatka hrani. Ova praksa imala je svrhu prevencije i kontrole bolesti te povećanja produktivnosti. Međutim, zabrana antibiotske primjene u hrani sa svrhom poticanja rasta životinja rezultirala

je smanjenom učinkovitošću hrane, opadanjem proizvodnje te povećanjem bolesti i smrtnosti među životinjama (VINCE i sur., 2022.). S obzirom na ove promjene, veterinarska medicina sada postavlja fokus na istraživanje znanstveno utemeljenih i inovativnih alternativnih strategija za kontrolu stresnih čimbenika koji utječu na zdravlje životinja u sustavima hranidbe. Ključno je razviti recepture dnevnih obroka koje će osigurati zaštitu zdravlja životinja, poboljšati njihovu produktivnost i unaprijediti kvalitetu mesa, uz istodobno održavanje ekonomske isplativosti. Današnja istraživanja sve više prepoznaju važnost nutritivne modulacije za zdravlje i produktivnost životinja, uključujući poboljšan unos hrane, bolju probavljivost i apsorpciju hranjivih tvari, smanjenje oksidacijskog stresa, modulaciju imunskog sustava te oblikovanje sastava crijevne mikrobiote. U tom kontekstu, dodavanje probiotika, prebiotika i sinbiotika u krmne smjese sve više se prepoznaje kao korisna alternativa antibiotskim poticateljima rasta. Ovakav pristup rezultira poboljšanom produktivnošću životinja, smanjenjem troškova hrane, povećanom hranjivom vrijednošću i higijenskom sigurnošću proizvedene hrane, sve s ciljem sveobuhvatne zaštite okoliša (LOW i sur., 2021.).

Probiotici predstavljaju pojedinačne ili skupine mikroorganizama koji povoljno djeluju na crijevni mikrobiom domaćina. Ovi mikroorganizmi uključuju određene vrste plijesni, bakterija i gljivica, koje se mogu podijeliti na slobodne, nekolonizirajuće vrste poput *Saccharomyces cerevisiae* i *Bacillus* sp., te na kolonizirajuće vrste kao što su *Streptococcus* sp., *Enterococcus* sp. i *Lactobacillus* sp. Glavna uloga probiotika je sprječavanje naseljavanja patogenih mikroorganizama u probavnom sustavu. Kroz kompeticiju za hranjive tvari, stvaraju se uvjeti koji inhibiraju razvoj patogenih mikroorganizama, istovremeno potičući rast korisnih bakterija. Osim toga, probiotici smanjuju rizik od bolesti i potiču imunski sustav, što rezultira poboljšanim parametrima proizvodnosti. Njihov značajan utjecaj očituje se i na morfofunkcionalna svojstva probavnih organa, što doprinosi boljem rastu i razvoju životinja (BALENOVIĆ i sur., 2018.).

Za razliku od probiotika, prebiotici su sastojci hrane koji nisu probavljivi, ali imaju pozitivan utjecaj na domaćina. Ovi sastojci potiču rast korisnih bakterija koje već postoje u probavnom traktu domaćina, a prilagođene su uvjetima okoline. Najpoznatiji prebiotici su oligosaharidi poput manan-oligosaharida (MOS), gluko-oligosaharida i frukto-oligosaharida (FOS). Njihovi pozitivni učinci uključuju smanjenje fenolnih i amonijevih produkata, poticanje enzimskih reakcija te uspostavljanje kompetitivnih odnosa s patogenim mikroorganizmima, čime se sprječava njihova kolonizacija u probavnom sustavu (BALENOVIĆ i sur., 2018.).

Koncept sinbiotika odnosi se na dodatke prehrani koji spajaju probiotike i prebiotike s ciljem postizanja sinergističkog učinka. Glavni razlog za primjenu sinbiotika leži u činjenici da probiotik, bez svojeg odgovarajućeg prebiotika, ne može uspješno funkcionirati u probavnom sustavu. Probiotik, u situacijama nedostatka pravilne hrane, je podložniji djelovanju kisika, niskoj pH vrijednosti i nižim temperaturama. Budući da prebiotici stvaraju optimalne uvjete rasta i razvoja probiotika, postaju ključni za njihov opstanak u probavnom sustavu. U dosadašnjim istraživanjima je vidljivo da kombinacija probiotika i prebiotika znatno povećava udio korisnih bakterija u probavnom sustavu, što rezultira poboljšanjem zdravlja. Sinbiotici često posjeduju između jedne i deset milijardi aktivnih stanica, a ostvaruju dvostruki učinak: pružaju zdravstvene koristi domaćinu i pospješuju održivost probiotika. Prebiotici stvaraju uvjete za rast i razvoj probiotika u probavnom sustavu, čime se osigurava povećanje broja korisnih bakterija u cilju unapređenja zdravlja. Različiti mehanizmi djelovanja sinbiotika uključuju borbu s patogenim bakterijama, inhibiciju adherencije i translokacije, protuupalna svojstva, proizvodnju antibakterijskih tvari, regulaciju produkcije citokina, modulaciju crijevne barijere te unaprijeđenje propusnosti crijeva. Nedavno se pojavljuju i fitobiotici, bioaktivni sastojci izolirani iz biljaka, kao novi dodatak hrani koji također doprinosi poboljšanju proizvodnosti životinja, kvalitete njihovih proizvoda te pruža zaštitu za njihovo zdravlje. Ovi fitobiotici postaju značajni u kontekstu proizvodnje hrane za životinje.

### 2.3. Fitobiotici

Fitobiotici su prirodni dodaci hrani za životinje koji, osim što unaprjeđuju njihovo zdravlje, proizvodnost i karakteristike proizvoda, predstavljaju potencijalnu alternativu antibiotskim poticateljima rasta. Ključna prednost fitobiotika leži u tome što, za razliku od antibiotika, ne ostavljaju rezidue u proizvodima (mesu) te ne izazivaju rezistenciju mikroorganizama (SENČIĆ i sur., 2022.). Osim toga, fitobiotici se mogu kontinuirano davati životinjama, što predstavlja dodatnu prednost. Regulativa Europske unije br. 1831/2003 koja o dodacima životinjske hrane od 22. rujna 2003. godine, svrstava fitobiotike kao senzitivne dodatke druge kategorije. Senzitivni dodaci opisuju pripravke koji, nakon dodavanja u hranu, unaprjeđuju senzorička i organoleptička svojstva proizvoda koji potječu od hranjenih životinja. Svi fitobiotici, s ostalim dodacima biljnog porijekla u životinjskoj hrani, u skladu s regulativom Europske agencije za sigurnost hrane (EFSA, 2009.), podvrgavaju se regulativi o senzornim aditivima, odnosno aromama. Prema HENGL i sur. (2011.), fitobiotici su od posebnog interesa u veterinarskoj medicini zbog svojih biostimulirajućih učinaka, uključujući

poboljšanje okusa hrane, antioksidacijsko djelovanje, antimikrobno djelovanje te poticanje funkcije imunološkog i probavnog sustava.

Fitogeni se mogu klasificirati u četiri podgrupe prema načinu njihova dobivanja i porijeklu (WINDISCH i sur., 2008.):

1. Biljke: Ova podgrupa obuhvaća različite vrste biljaka, uključujući one nalik travi, cvjetajuće biljke te jednogodišnje biljke.
2. Začini-botanici: Uključuje dijelove biljaka ili cijele biljke, poput sjemena, lišća, korijena ili kore s intenzivnim okusom ili mirisom.
3. Eterična ulja: Ovi fitogeni obuhvaćaju hlapive lipofilne komponente dobivene hladnom ekstrakcijom, ekstrakcijom vodene pare ili destilacijom alkohola.
4. Uljne komponente: Ova podgrupa obuhvaća ekstrakte dobivene nevodnim otapalima.

Najčešće dodavane fitogene tvari u hranu za životinje su eterična ulja, koja su koncentrirane, mirisne tekućine s kompleksnim kemijskim sastavom, u kojem su dominantni fenilpropeni i terpeni. Kemijski sastav ovih ulja varira ovisno o dijelu biljke iz kojeg se dobivaju, fazi vegetacije, godišnjem dobu i načinu uzgoja. Prema dostupnoj literaturi, cjelovita eterična ulja ili njihove komponente poput cinamaldehida, karvakrola, karvana, citrala, eugenola, limonena, p-cimena, mentola i timola opisuju se kao prirodni poticatelji rasta u hrani za životinje. Njihov dodatak u hranu poboljšava okus i unos hrane, potiče izlučivanje probavnih enzima, potiče motilitet želuca i crijeva, jača imunost i endokrini sustav, te pokazuje antioksidativna, protuupalna, kokcidiostatska, antiviralna i antimikrobna svojstva (SENČIĆ i sur., 2022.).

RADULOVIĆ i sur. (2015.) su istraživanjem na prasadima koja su bila hranjena fitobiotičkim pripravkom Enviva EO 101 (Danisco Animal Nutrition, SAD) primijetili povećanje tjelesne mase, poboljšan dnevni prirast i bolju iskoristivost hrane nakon 40 dana hranjenja s ovim pripravkom (u dozi od 0,1 kg/t hrane), koji sadrži aktivne tvari cinamaldehyd i timol, u usporedbi s kontrolnom skupinom prasadi. U drugom istraživanju, DELIĆ i sur. (2018.) su utvrdili antimikrobni učinak fitobiotičkog pripravka Patente Herba® (Plus Patent Co. d.o.o, Srbija) (u dozi od 2 kg/t hrane) u izmetu prasadi koja su bila hranjena ovim pripravkom tijekom 28 dana. Patente Herba® je bioaktivna smjesa sastavljena od timola, karvakrola, eukaliptola, p-cimena, mentola i eugenola, dobivenih iz biljaka origana (*Origanum vulgare*), timijana (*Thymus vulgaris*) i ružmarina (*Rosmarinus officinalis*). DRAŠKOVIĆ i sur. (2018.) su također zabilježili antidiaroični učinak pripravka Patente Herba® (Plus Patent Co. d.o.o., Srbija) kod prasadi. PAPATSIROS i sur. (2009.) prikazali su slične rezultate



proučavajući biljni pripravak na bazi origana (*Origanum vulgare*) i bijelog luka (*Allium sativum*) u hrani odbijenika. Ova istraživanja zajedno sugeriraju pozitivan utjecaj fitobiotika, poput Enviva EO 101 i Patente Herba®, na tjelesnu masu, prirast, iskoristivost hrane te antimikrobna i protudijareična svojstva prasadi, pružajući perspektivu za njihovu primjenu u stočarskoj proizvodnji. Monoterpeni, prisutni u eteričnim uljima biljaka iz porodice usnače (*Labiatae*), kao što su  $\alpha$ -pinena,  $\beta$ -pinena, timol, karvakrol,  $\alpha$ -terpinen, mentol, mircena, p-cimen, limonen i kamfor, prepoznati su kao mogući imunomodulatori u poligastričnih i monogastričnih životinja (BALENOVIĆ i sur., 2018.; RIBEIRO i sur., 2019.; VALDIVIESO-UGARTE i sur., 2019.). Na primjer, ZENG i sur. (2015.) su primijetili povećane udjele CD4<sup>+</sup> i CD8<sup>+</sup> limfocita u perifernoj krvi prasadi koja su bila hranjena 28 dana s dodatkom karvakrola (60 g/kg) i timola (55 g/kg) izoliranih iz origana. Rezultati PETERFALVI i sur. (2019.) podržavaju ove nalaze, pokazujući da dodatak eteričnih ulja u hranu prasadima poboljšava imunostatus, što se očituje povećanom proliferacijom limfocita, fagocitozom te povećanjem razina IgG, IgA i IgM u serumu. Dalje istraživanje od strane SU i sur. (2018.) pokazuje da dodatak 4.5% cinamaldehida, koji potječe iz cimeta, u hrani za prasad tijekom 14 dana poboljšava njihov antioksidativni status. Ipak, DURMIC i BLACHE (2012.) upozoravaju da prekomjerne količine fitobiotika, odnosno eteričnih ulja ili njihovih aktivnih tvari u hrani, mogu imati negativan utjecaj na probavni sustav životinja. To uključuje smanjenje enzimatskih aktivnosti i promjene u anatomiji i fiziologiji, što može rezultirati probavnim poremećajima. Ovi nalazi naglašavaju važnost pažljivog doziranja fitobiotika kako bi se postigla željena imunomodulacijska i antioksidativna djelovanja, izbjegavajući potencijalne negativne učinke na probavni sustav životinja.

### 3. MATERIJAL I METODE

#### 3.1. Materijal

##### 3.1.1. Tehnologijski uvjeti na farmi

Istraživanje je provedeno na GEA-COM d.o.o. farmi ovaca u Velikoj Crkvini, Općina Krnjak, Karlovačka županija, Republika Hrvatska. Pokus je izveden u posebnom prostoru unutar natkrivenog stajskog kompleksa, pridržavajući se tehničkih i tehnoloških uvjeta kako bi se osigurao pravilan smještaj janjadi, pravilna hranidba i neometan rad uzgajivača i istraživača. Dimenzije prostora zadovoljavale su određene standarde, uključujući korisnu površinu od 0,15m<sup>2</sup> po janjetu, površinu jasala od 0,15m<sup>2</sup> po grlu, dužinu jasala od 30 cm po grlu, 20 cm dužine hranidbenog mjesta po životinji za koncentrirani dio obroka (valov), zapreminu po grlu od 7,5m<sup>2</sup>, površinu otvora po grlu od 0,10m<sup>2</sup> te površinu ispusta po grlu od 1,5m<sup>2</sup>. Mikroklimatski uvjeti, uključujući temperaturu, vlažnost zraka, koncentraciju plinova i kvalitetu zraka, također su bili u skladu s preporukama. Prije smještaja pokusnih životinja, prostor je očišćen i dezinficiran, a podna površina prekrivena steljom, čime su osigurani higijenski uvjeti za provedbu eksperimenta.

##### 3.1.2. Životinje u pokusu

Na GEA-COM d.o.o. farmi ovaca u Velikoj Crkvini, Hrvatska, provedeno je istraživanje na 80 komercijalnih grla janjadi pasmine lička pramenka s ciljem proučavanja sinbiotskog učinka suhog pripravka plemenite pečurke (*Agaricus bisporus*) u janjadi (Slika 1.). Janjad je bila starosti tri mjeseca, oba spola, s prosječnom tjelesnom masom od 17 kg. Životinje su nasumično podijeljene u dvije skupine od po 40 jedinki (20 ženskih i 20 muških) te označene ušnim markicama. Prije uključivanja u pokus, procijenjen je zdravstveni status janjadi. Janjad je smještena u pokusne prostore 48 sati prije početka pokusa. Obje skupine janjadi držane su odvojeno, ali u istom objektu, te su različito hranjene tijekom 6 tjedana pokusa. Sastav dnevnog obroka je bio kombinacija voluminoznog dijela, kojeg je janjad konzumirala *ad libitum*, te koncentrata. Voluminozni dio činila je svježe košena zelena masa s pašnjaka u području Velike Crkvine. Koncentrat je sadržavao 16% sirovih proteina (SP) iz komercijalne krmne smjese tvrtke KUŠIĆ PROMET d.o.o. iz Svetog Ivana Zeline, Hrvatska. Postojale su dvije skupine janjadi:

1. Skupina koja je dobivala samo *ad libitum* voluminozni dio (kontrolna skupina 1).

2. Skupina koja je dobivala *ad libitum* voluminozni dio i 500 g koncentrata, s dodatkom od 1,5% suhog pripravka plemenite pečurke (SPPP) (pokusna skupina).

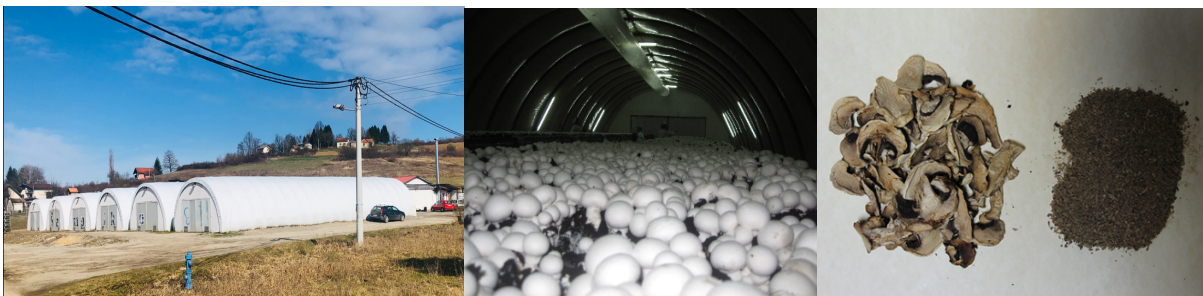
Pristup vodi za piće bio je neograničen.



**Slika 1.** Pokusne životinje (izvor slike: Daniel Špoljarić)

### 3.1.3. Pokusni pripravak

U eksperimentu je korišten biološki pripravak u obliku suhe biomase plemenite pečurke (SPPP) dobivene iz GEA-COM (Budačka Rijeka, Hrvatska) komercijalnog gljivarnika (Slika 2.). Ova biomasa je dostavljena u tvornicu stočne hrane (KUŠIĆ PROMET d.o.o. Sveti Ivan Zelina, Hrvatska), gdje je bila integrirana u hranu komercijalnog uzgoja za janjad u koncentraciji od 1,5%.



**Slika 2.** Plemenita pečurka GEA-COM (Budačka Rijeka, Hrvatska) komercijalnog gljivarnika (izvor slike: Daniel Špoljarić)

Za analizu fenotipa T i B limfocita primijenjena je višebojna protočna citometrija, koristeći komercijalna monoklonska protutijela za leukocitne antigene ovaca. Detaljan popis korištenih protutijela može se pronaći u Tablici 2.

**Tablica 2.** Prikaz monoklonskih protutijela za leukocitne antigene ovaca.

<b>Monoklonsko protutijelo</b>	<b>Klon</b>	<b>Izotip</b>	<b>Fluorokrom</b>	<b>Izvor</b>
<b>Miš protu ovca</b>				
<b>CD45</b>	1.11.32	IgG1	fluorescein isothiocyanate	Bio-Rad Laboratories, SAD
<b>CD3ε</b>	17A2	IgG2b	Spectral Red™ (R-fikoeritrin/cijanin 5)	BioLegend San Diego
<b>CD21</b>	CC21	IgG1	Alexa Fluor® 647	Bio-Rad Laboratories, SAD

#### 3.1.4. Plan pokusa

U fazi *in vivo* istraživanja pokusne životinje su podvrgnute istraživanju. Sedam dana prije početka pokusa formirana je skupina te je započela prilagodba janjadi na nove uvjete. Cjelokupno istraživanje provedeno je u skladu s Zakonom o dobrobiti životinja (NN 135/06, NN 37/13), usklađeno s europskim propisima, te Pravilnikom o zaštiti životinja koje se koriste u znanstvene svrhe (NN 55/13). Odluka Etičkog povjerenstva u veterinarstvu (klasa 640-01/16-17/54; ur. broj 25161-01/139-16-2) Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, kao i Rješenje Ministarstva poljoprivrede Republike Hrvatske, Uprave za veterinarstvo i sigurnost hrane Hrvatske (klasa: UP/I-322-01/17-01/31; Ur. br.: 525-10/052917-2) bili su nužni za provedbu ovog istraživanja. Tijekom šest tjedana trajanja pokusa, pratili smo imunosne pokazatelje iz pune venske krvi te mikrobiološke pokazatelje obriska sluznice rektuma. Ovo istraživanje dio je HRZZ projekta “Inovativni funkcionalni proizvodi od janječeg mesa“ (IP-2016-06-3685) za koje je dobivena Odluka Etičkog povjerenstva u veterinarstvu (klasa 640-01/16-17/54; ur. broj 25161-01/139-16-2) od strane Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i Rješenje od Ministarstva poljoprivrede Republike Hrvatske, Uprave za veterinarstvo i sigurnost hrane Hrvatske (klasa: UP/I-322-01/17-01/31; Ur. br.: 525-10/052917-2). Predmetno istraživanje unutar HRZZ projekta dobilo je i Odluku Etičkog povjerenstva u veterinarstvu (Klasa: 640-01/19-17/84; Ur. broj: 251-61-44-19-02) od strane Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.



### 3.1.5. Uzorci

Svaka životinja u istraživanju podvrgnuta je uzimanju uzoraka periferne krvi putem venepunkcije iz *v. jugularis*. Uzorci su prikupljeni u sterilnim epruvetama s antikoagulansom (dinatrijeva sol etilendiamintetraoctene kiseline, EDTA, Sigma) 0., 21. i 42. dan trajanja pokusa (Slika 3.). Za bakteriološku analizu obriske rektuma sluznice prikupljali smo sterilnim štapićem 0., 21. i 42. dana pokusa (Slika 4). Iz svake istraživačke skupine, uzeti su uzorci od po sedam životinja (Odluka Etičkog povjerenstva u veterinarstvu - Klasa: 640-01/19-17/84; Ur. broj: 251-61-44-19-02).



**Slika 3.** Uzimanju uzoraka periferne krvi životinjama u pokusu putem venepunkcije iz *v. jugularis* (izvor slike: Daniel Špoljarić)



**Slika 4.** Uzimanju obriska rektuma sluznice za bakteriološku analizu (izvor slike: Daniel Špoljarić)

## 3.2. Metode

### 3.2.1. Protočna citometrija (metoda modificirana POPOVIĆ i VALPOTIĆ, 2004)

U razmacima od tri tjedna (0., 21. i 42. dan pokusa), analizirali smo udjele T limfocita ( $CD45^+CD3\epsilon^+CD21^-$ ) i B limfocita ( $CD45^+CD3\epsilon^-CD21^-$ ) u uzorcima periferne krvi janjadi. Uzorci su prikupljeni venepunkcijom iz v. jugularis i smješteni u sterilne epruvete s EDTA. Analiza je provedena unutar 24 sata od uzimanja uzoraka koristeći protočni citometar Beckman Coulter Navious (Beckman Coulter Biomedical Ltd., Irska).

### 3.2.2. Bakteriološka pretraga

Uzorke rektalne sluznice za bakteriološku analizu prikupili smo sterilnim štapićem 0., 21. i 42. dana trajanja pokusa, pri čemu smo od svake skupine uzeli uzorke od sedam životinja. Za svaki uzorak, korišten je standardni postupak dvostrukog serijskog razrjeđenja od  $10^1$  do  $10^{10}$  u fiziološkoj otopini, određen je ukupan broj bakterija (CFU, colony forming units), s posebnim fokusom na bakterije iz roda *Salmonella* spp., roda *Campylobacter* spp., roda *E. coli* spp., te roda *Enterococcus* spp. Ovaj postupak obuhvatio je naciepljivanje na selektivne i neselektivne hranjive podloge, primjenom metode dvostrukih serijskih razrjeđenja u skladu s opisanim protokolom HABRUN (2014.). Za identifikaciju i određivanje ukupnog broja bakterija iz roda *Lactobacillus* spp. u uzorcima rektalne sluznice koristili smo metodu na MRS agaru (Fluka 80961) u mikroaerofilnim uvjetima.

### 3.2.3. Statistička obrada

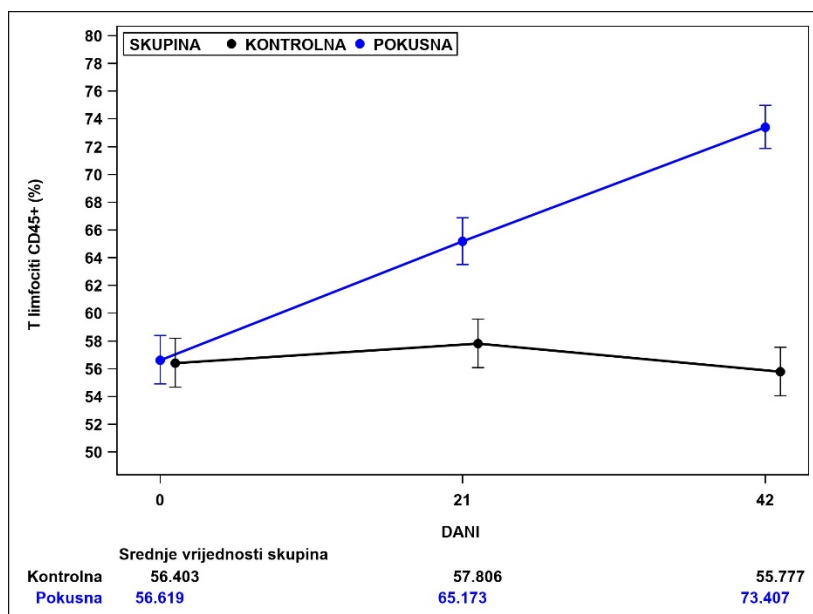
Za određivanje odgovarajućeg broja životinja u istraživanju koristili smo program G-power test 3.1.9.4. Kako bismo evaluirali utjecaj, primijenili smo F-test s analizom varijance, uključujući ponavljajuća mjerenja u četiri različita razdoblja te interakcije unutar i između skupina i perioda. Veličinu efekta ( $f$ ) odredili smo pomoću parcijalne eta2 ( $\eta^2$ ), alternativne mjere povezanosti koja opisuje udio ukupne varijacije objašnjene prediktorskom varijablom. Za postavljanje  $\alpha$  vrijednosti od 0,05 i snage testa od 90% ( $P=0,90$ ), uz veličinu efekta  $\eta^2$  od 0,40, izračunali smo da minimalni broj životinja u uzorku mora iznositi 14, odnosno 7 po skupini u svakom promatranom periodu. Statističku analizu podataka proveli smo korištenjem programskog paketa SAS 9.4. (2002-2012 SAS Institute Inc., Cary, NC, SAD), dok smo deskriptivnu statistiku izračunali pomoću SAS modula PROC MEANS i PROC FREQ.

Proveli smo test normalne distribucije podataka pomoću TRANSREG procedure. Ako su pretpostavke o normalnoj distribuciji zavisnih varijabli bile narušene ili se pojavila heterogenost varijanci, izvršili smo transformaciju varijabli koristeći BOX-COX transformaciju. Za provjeru prisutnosti ekstremnih vrijednosti primijenili smo robusnu metodu (PROC ROBUSTREG) s HUBER-ovom opcijom procjene (*M estimation*). Za analizu pokazatelja između skupina i perioda koristili smo generalni linearni mješoviti model (PROC GLIMMIX), uključujući slučajni efekt životinje na ponavljajuća mjerenja tijekom vremena. Grafove smo generirali korištenjem SGPLOT procedure u rezoluciji od 500 točaka po inču.

## 4. REZULTATI

### 4.1. Imunosni pokazatelji

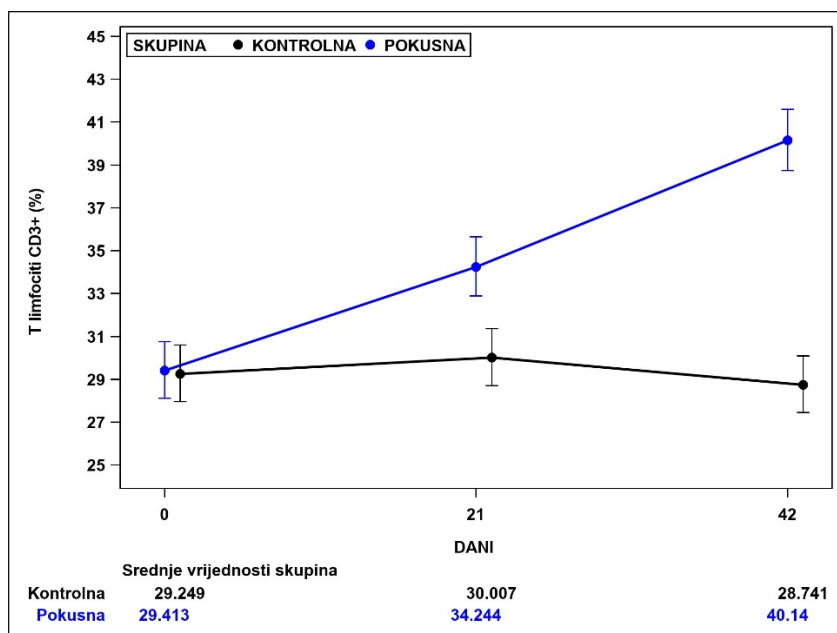
Imunomodulacijski učinak pripravka *Agaricus bisporus* u pokusne janjadi utvrđen je procjenom udjela T i B limfocita u perifernoj krvi.



**Slika 5.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti udjela T limfocita CD45+ (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini janjadi kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

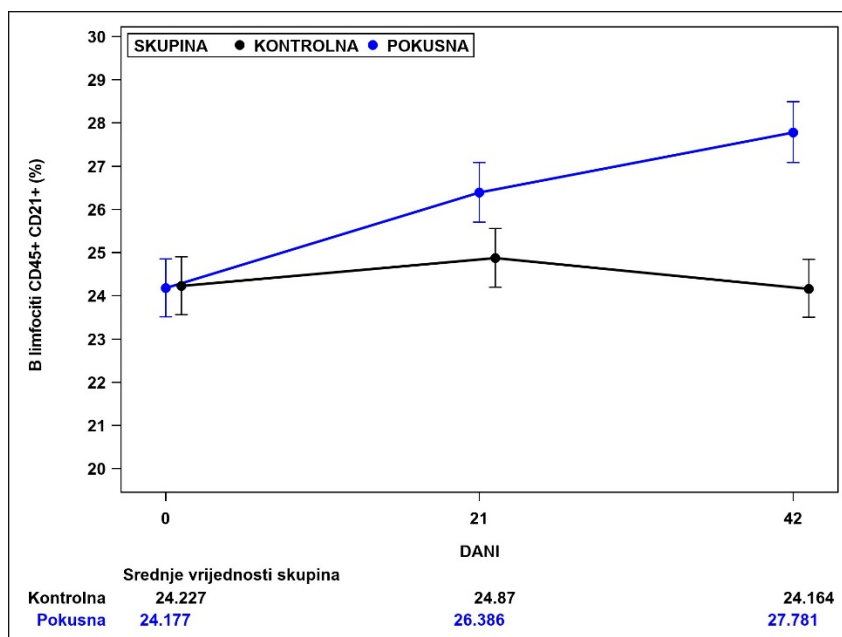
Pokusna skupina janjadi statistički je imala znatno veći ( $p < 0,0001$ ) udio T limfocita CD45+ (%) u odnosu na kontrolnu skupinu 21. dana (65,2%; 95% IP 63,5-66,9 vs 57,8%; 95% IP 56,0-59,6) i 42. dana pokusa (73,4%; 95% IP 71,8-75,0 vs 55,8%; 95% IP 54,0-57,6) (Slika 5).





**Slika 6.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti udjela T limfocita CD3+ (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini janjadi kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; \*\*\*\* $p < 0,0001$ .

Pokusna skupina janjadi statistički je imala znatno veći udio T limfocita CD3+ (%) u usporedbi s kontrolnom skupinom 21. dana ( $p < 0,001$ ) (34,2%; 95% IP 32,9-35,7 vs 30,0%; 95% IP 28,7-31,4) i 42. dana pokusa ( $p < 0,0001$ ) (40,1%; 95% IP 38,7-41,6 vs 28,7%; 95% IP 27,4-30,1) (Slika 6).



**Slika 7.** Grafikon srednjih vrijednosti i 95% intervala pouzdanosti udjela B limfocita CD45<sup>+</sup> CD21<sup>+</sup> (%) u kontrolnoj i pokusnoj skupini janjadi kroz period od 6 tjedana (dan 0 – početak pokusa). Oznake za statistički značajne razlike između skupina po pojedinom vremenskom intervalu \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001; \*\*\*\*p<0,0001.

Pokusna skupina janjadi statistički je imala znatno veći udio B limfocita CD45<sup>+</sup> CD21<sup>+</sup> (%) u usporedbi s kontrolnom skupinom 21. dana (p<0,01) (26,4%; 95% IP 25,7-27,1 vs 24,9%; 95% IP 24,1-25,6) i 42. dana pokusa (p<0,0001) (27,8%; 95% IP 27,0-28,5 vs 24,2%; 95% IP 23,5-24,9) (Slika 7).

#### 4.2. Bakteriološki pokazatelji

Tijekom 6 tjedana trajanja pokusa rezultate bakterioloških analiza rektalnih obrisaka za obje skupine janjadi, na razini grupnog uzorka od 7 janjadi po skupini, obradili smo i prikazali za 0., 21. i 42. dan pokusa (Tablica 3). Nadalje, Tablice 3 pokazuje da iz rektalnih obrisaka janjadi, iz obje skupine, nisu izdvojeni i dokazani patogeni izolati bakterija roda *Salmonella* spp. i *Campylobacter* spp., odnosno da su izdvojeni i dokazani nepatogeni izolati bakterija roda *E. Coli* spp. i *Enterococcus* spp. Iz Tablice 3 također je vidljivo da u rektalnom obrisku janjadi iz kontrolne skupine nije smanjen prosječni broj CFU/mL 42. dana pokusa u usporedbi s 0. danom pokusa (10<sup>-5</sup> CFU/mL). Međutim, 42. dana pokusa broj bakterija je bitno manji iz uzoraka obrisaka janjadi pokusne skupine (10<sup>-3</sup> CFU/mL) u usporedbi s brojem bakterija janjadi iz kontrolne skupine na kraju pokusa (10<sup>-5</sup> CFU/mL). Nadalje, iz Tablice 4 vidljiv je bitno veći

broj bakterije *Lactobacillus* spp. iz uzoraka obrisaka janjadi pokusne skupine u usporedbi s brojem bakterija janjadi iz kontrolne skupine 21. ( $4.1 \times 10^7 / 3.7 \times 10^7$ ) i 42. dana pokusa ( $4.9 \times 10^7 / 3.9 \times 10^7$ ).

**Tablica 3.** Bakterijski izolati iz obrisaka sluznice rektuma (o.r kontrolne i pokusne skupine janjadi (janjad hranjenja uz dodatak plemenite pečurke) tijekom 42 dana trajanja pokusa, te broj bakterija (CFU/mL) 0. i 42. dana pokusa.

Dani pokusa	Izolat (o.r.)*	Skupina K	Skupina P
0.	<i>bakterija roda Salmonella</i> spp.	-	-
	<i>bakterija roda Campylobacter</i> spp.	-	-
	<i>bakterije E. coli.</i> spp.	izolirani samo nepatogeni sojevi / +	izolirani samo nepatogeni sojevi / +
	<i>bakterija roda Enterococcus</i> spp.	izolirani samo nepatogeni sojevi / +++	izolirani samo nepatogeni sojevi / +++
	CFU/mL	* $10^{-5}$	* $10^{-5}$
14.	<i>bakterija roda Salmonella</i> spp.	-	-
	<i>bakterija roda Campylobacter</i> spp.	-	-
	<i>bakterije E. coli.</i> spp.	izolirani samo nepatogeni sojevi / +	izolirani samo nepatogeni sojevi / +
	<i>bakterija roda Enterococcus</i> spp.	izolirani samo nepatogeni sojevi / ++++	izolirani samo nepatogeni sojevi / ++
42.	<i>bakterija roda Salmonella</i> spp.	-	-
	<i>bakterija roda Campylobacter</i> spp.	-	-
	<i>bakterije E. coli.</i> spp.	izolirani samo nepatogeni sojevi / +	izolirani samo nepatogeni sojevi / +
	<i>bakterija roda Enterococcus</i> spp.	izolirani samo nepatogeni sojevi / ++++	izolirani samo nepatogeni sojevi / +
	CFU/mL	* $10^{-5}$	* $10^{-3}$

- kontrolna skupina prasadi (skupina K); pokusna skupina prasadi (skupina P - prasad hranjenja uz dodatak rogača);

\* porast kolonija do razrjeđenja (CFU/ml): CFU manji od 170 –; CFU 170-200 +; CFU 200-230 ++; CFU 230-260 +++; CFU 260-290 ++++.

**Tablica 4.** Broj bakterija *Lactobacillus* spp. (CFU/mL) 0., 21. i 42. dana pokusa iz obrisaka sluznice rektuma kontrolne i pokusne skupine janjadi (janjad hranjenja uz dodatak plemenite pećurke) tijekom 42 dana trajanja pokusa.

Skupina životinja	CFU/mL bakterije roda <i>Lactobacillus</i> spp. po danu pokusa		
	0.	21.	42.
Skupina K	$3.5 \times 10^7$	$3.7 \times 10^7$	$3.9 \times 10^7$
Skupina P	$3.6 \times 10^7$	$4.1 \times 10^7$	$4.9 \times 10^7$

## 5. RASPRAVA

Brojni istraživači i eksperti iz područja ovčarstva navode da ovčarstvo igra jednu od ključnih uloga u ekonomijama mnogih zemalja, posebno u područjima s posebnim geografskim, pedološkim i klimatskim karakteristikama koje ograničavaju mogućnosti uzgoja drugih vrsta domaćih životinja. Ono što čini ovce posebno vrijednima je njihova sposobnost da konzumiraju razne vrste voluminozne krme različitog oblika i podrijetla, pretvarajući je u poželjne proizvode kao što su koža, krzno, vuna, mlijeko, meso i drugi proizvodi. Ovce su prilagodljive životinje s minimalnim zahtjevima, ali su istovremeno poznate po svojoj pomalo buntovnoj, neposlušnoj i svojevoljnoj naravi. Unatoč tome, one su izuzetno zahvalne i korisne te se uzgajaju diljem svijeta. U cijelom svijetu, uzgajaju se uglavnom zbog mesa, posebno janjetine, što ih čini vrlo važnim dijelom globalne proizvodnje hrane (MIOČ i sur., 2007.). Prehrana janjadi, kao i ostalih domaćih životinja, igra ključnu ulogu u njihovom zdravom rastu, razvoju, produktivnosti i općoj dobrobiti. Pravilna prehrana janjadi osigurava im adekvatnu opskrbu hranjivim tvarima nužnima za rast i razvoj. To je posebno važno u prvim mjesecima njihovog života, kada je stopa rasta najviša. Hrana bogata proteinima, vitaminima i mineralima potiče razvoj mišića, kostiju i organa (AIDA i sur., 2009.). Janjad koja se pravilno hrani ima veće izgledne za postizanje optimalnih produktivnih rezultata kasnije u svom životu, a to uključuje brže dostizanje težine za klanje ili poboljšanu reproduktivnu sposobnost kod uzgoja stoke (ATILA i sur., 2017.). Prehrana također igra ključnu ulogu u jačanju imunološkog sustava janjadi. Dobar unos hranjivih tvari potiče stvaranje antitijela i drugih obrambenih mehanizama koji pomažu u borbi protiv bolesti i infekcija što je u skladu s rezultatima ovog rada. Naime, rezultati predmetnih istraživanja ukazuju da je janjad kojoj je u dnevni obrok bila umješana suha biomasa plemenite pečurke dobrog zdravlja na što ukazuje s jedne strane povećani udjeli T-limfocita (za 28,5%) i B-limfocita (13%), a s druge strane povoljniji sastav mikrobioma u odnosu na kontrolne životinje. Prethodno zabilježeno upućuje na indikativni sinbiotski učinak pripravaka plemenitih pečurki, u obliku neizravnog probiotika ili izravnog prebiotika, u tretiranih životinja. Slične rezultata, ali na drugim životinjskim modelima opisali su brojni autori ističući pri tome da je dodatak plemenite pečurke u dnevni obrok jednakodjelotvoran u nutritivnoj i imunosnoj modulaciji zdravlja, otpornosti i proizvodnosti životinja (ŠPOLJARIĆ i sur., 2023.). U kontekstu uzgoja stoke za proizvodnju mesa ili mliječnih proizvoda, prehrana janjadi može značajno utjecati na kvalitetu konačnih proizvoda. Pravilna prehrana pridonosi boljem okusu, teksturi i nutritivnoj vrijednosti mesa i mlijeka (AIDA i sur., 2009.). Za

poljoprivrednike, pravilna prehrana janjadi ima izravan utjecaj na ekonomsku održivost poslovanja. Brz rast i dobro zdravlje janjadi smanjuju troškove uzgoja i povećavaju profitabilnost. Dnevni obrok janjadi tijekom laktacije igra ključnu ulogu u njihovom rastu i razvoju, ali i u proizvodnji kvalitetnog mlijeka kod ovaca dojilja. Laktacija je kritično razdoblje za ovce i njihovo potomstvo, stoga je važno osigurati uravnoteženu i nutritivno bogatu prehranu tijekom ovog vremena. Tijekom laktacije, janjad ovisi o majčinom mlijeku kao glavnom izvoru prehrane, stoga je ključno osigurati da majka ima dovoljno hranjivih tvari kako bi proizvodila kvalitetno mlijeko. U prehrani janjadi tijekom laktacije često se koriste krupniji zrnici, poput kukuruza u zrnju i ječma, kako bi se osiguralo dovoljno energije za rastući organizam i proizvodnju mlijeka. Također se koriste koncentrirana krmiva poput sojine sačme i ostalih izvora bogatih proteinima. Dodaci minerala i vitamina često se uključuju kako bi se osigurala optimalna ravnoteža hranjivih tvari i prevencija mogućih deficita. Tijekom laktacije važno je pratiti tjelesno stanje janjadi kako bi se osiguralo da dobivaju dovoljno hranjivih tvari. Redovito vaganje i promatranje zdravlja ključni su za identifikaciju potencijalnih problema. Promjene u prehrani janjadi tijekom laktacije trebaju se uvoditi postupno kako bi se izbjegli probavni problemi i stres za organizam. Dnevni obrok janjadi tijekom razdoblja prihrane i tova ključan je za postizanje optimalnog rasta i razvoja ovih mladih ovaca. Pravilno hranjena i održavana janjad značajno je manje podložna raznim bolestima i zdravstvenim problemima, a samim time se smanjuje potreba za upotrebom antibiotika i drugih medicinskih tretmana, što je važno za smanjenje rizika od rezistencije na lijekove i poboljšanje općeg zdravlja stoke (AIDA i sur., 2009.). Razvoj buraga predstavlja najkritičniji fiziološki period mladih preživača pa tako i janjadi (LIU i sur., 2022.). Preživači imaju predželuce koji imaju jedinstvenu morfološku strukturu, probavu i metabolizam (RAMKRISHNA i TIWARI, 1979.). Nakon janjenja burag janjadi nalikuje onome u monogastričnih životinja s obzirom na to što je fizički i metabolički nedovoljno razvijen. U njemu mlijeko kroz sulcus reticulari prvo dolazi u sirište te započinje probava, zatim slijedi apsorpcije u tankom crijevu te se time zadovolje sve potrebe za hranjivim tvarima koje su nužne za rast (BHATT i sur. 2009.; SCHARRER i sur. 1983.). Kada janjad prelazi s mlijeka na krutu hranu, događaju se brojne promjene u njihovom probavnom sustavu. Ovaj proces uključuje kolonizaciju buraga mikroorganizmima, pokretanje procesa fermentacije, promjene u transportu i apsorpciji hranjivih tvari, povećanje volumena buraga i rasta njegovih papila. Sve ove promjene omogućuju janjadi da se postupno prilagode prehrani koja se sastoji od čvrste hrane umjesto mlijeka (LANE i sur., 2000.; MORGAVI i sur., 2015.). Istraživanja su pokazala da čak i manje promjene u načinu hranjenja i sastavu hrane mogu imati značajan utjecaj na razvoj buraga (NOROUZIAN i VALIZADEH, 2014.; WANG i sur., 2016.;

DIAO i sur., 2019.). Vrijeme odbića janjadi, odnosno trenutak kada se odvajaju od majke, određuje se prema komercijalnim ciljevima u industriji uzgoja ovaca (LIU i sur., 2022.). Rano odbiće može imati za posljedicu skraćivanje ciklusa razmnožavanja ovaca, pojavu stresa kod janjad zbog odvajanja od majke te povećanje morbiditeta i mortaliteta janjadi (WANG i sur., 2019.). Uspjeh ranog odbića ovisi o faktorima poput volumena buraga, brzine njegovog funkcionalnog razvoja (CAMPBELL i sur., 2017.; MYERS i sur., 1999.) te uspostavljanja funkcionalnog mikrobioma buraga (YIN i sur., 2021.; MAO i sur., 2021.). S ciljem smanjenja negativnog utjecaja ranog odbića janjadi, istraživači su istraživali različite strategije hranjenja. Primjena startera u prehrani janjadi u ranim fazama hranjenja pokazala se korisnom, poboljšavajući razvoj i funkciju buraga tijekom prijelaza s mlijeka na krutu hranu (YANG i sur., 2018.; YANG i sur., 2015.). Osim toga, dodaci hrani i fermentabilnost igraju ključnu ulogu u ovom procesu (SOLTANI i sur., 2016.; SAEEDI i sur., 2017.). Važno je napomenuti da raznolikost mikroorganizama u buragu i proces fermentacije ovise o karakteristikama dostupnog supstrata (SUN i sur., 2021.; LIU i sur., 2016.). Na primjer, hranjenje janjadi s hranom bogatom lako fermentirajućim ugljikohidratima, kao što su škrob i šećeri, može povećati prisutnost hlapljivih masnih kiselina, posebno butirata, koji pozitivno utječu na razvoj papila i epitela rumena (LIU i sur., 2022.). Nadalje, janjad hranjena starter krmnom smjesom započinju razvoj mišićne mase i ruminaciju buraga povećavajući volumen i pokretljivost buraga te pospješuju integritet stijenke i zdravlje buraga (MONTORO i sur., 2013.). U zaključku, desetljeća istraživanja usmjerena su na različite strategije hranjenja kako bi se olakšao prijelaz janjadi s tekuće na čvrstu hranu, s ciljem očuvanja njihovog zdravlja i dobrobiti (BALDWIN i sur., 2004.; DIAO i sur., 2017.; LIU i sur., 2017.; ZHANG i sur., 2021.). Parametri imunološkog sustava uključuju razinu protutijela, broj imunoloških stanica, njihovu funkcionalnost te odgovor na različite imunološke izazove (DEVYATKIN i sur., 2021.). Visoke razine protutijela i aktivan imunološki odgovor upućuju na snažan imunitet janjadi i njihovu sposobnost da se odupru infekcijama. S druge strane, proizvodni pokazatelji janjadi odnose se na aspekte njihovog rasta, dobitka na težini i prirasta. Ključni proizvodni pokazatelji uključuju stopu dobitka na težini, konverziju hrane, razvoj mišićne mase i opće zdravstveno stanje janjadi (DEVYATKIN i sur., 2021.). Brz prirast tjelesne težine i visoka učinkovitost u iskorištavanju hranjivih tvari iz hrane ključni su faktori za postizanje visokih proizvodnih rezultata u stočarskoj proizvodnji. U svjetlu ovih parametara, stočari mogu sustavno nadgledati imunološki status janjadi i učinkovitost njihove proizvodnje. To uključuje redovito praćenje razine protutijela, imunoloških parametara i performansi rasta, kako je navedeno u istraživanju provoditelja DEVYATKIN i sur. (2021.). Također je ključno pratiti opće zdravstveno stanje

janjadi i primjenjivati preventivne mjere s ciljem smanjenja rizika od bolesti te poboljšanja njihove imunološke otpornosti. Efikasno upravljanje prehranom, pravilno cijepljenje, higijena staja i brza reakcija na potencijalne zdravstvene probleme igraju ključnu ulogu u postizanju optimalnih rezultata u pogledu imunološkog statusa i proizvodnje kod uzgoja janjadi. U kontekstu istraživanja sinbiotskog učinka plemenite pečurke na prehranu janjadi, istraživanje "Inovativni funkcionalni proizvodi od janječeg mesa" u razdoblju od 1. ožujka 2018. do 28. veljače 2023. godine financira Hrvatska zaklada za znanost. Osnovni cilj ovog istraživačkog projekta je razvoj tehnoloških rješenja koja će omogućiti proizvodnju janjetine s manjom količinom masti i kolesterola te kreiranje funkcionalnih prehrambenih proizvoda na temelju tog mesa (POPOVIĆ, 2018.). Projekt također ima znanstveni cilj, a to je potvrda znanstvenih preporuka za kvalitetno i sigurno dodavanje pripravka plemenite pečurke u hranu monogastričnih životinja, koji će se primijeniti kod poligastričnih životinja, konkretno na janjcima pasmine lička pramenka. Ovo je važno jer dosad nije bilo poznato kako će ovaj pripravak utjecati na poligastrične životinje. Osim toga, ovim istraživanjem stvara se temelj za novi proizvod na tržištu, a to je janjetina s manjom količinom masti i kolesterola, što predstavlja inovaciju. U prethodne dvije godine istraživanja, već su postignuti značajni rezultati. Utvrđeno je da dodavanje pripravka plemenite pečurke u hranu za janjad pasmine lička pramenka poboljšava njihovo zdravstveno stanje, što se očituje u smanjenju koncentracija glukoze i kolesterola u njihovom serumu, kao i povećanju udjela T-limfocita i B-limfocita u organizmu (POPOVIĆ, 2018.). Također, primjetno je smanjenje udjela masti i kolesterola u janječem mesu, što ukazuje na potencijalno korisne učinke ovog pripravka na zdravlje ljudi koji konzumiraju takvo meso. U mesu janjadi koja je konzumirala hranu obogaćenu plemenitom pečurkom primijećeno je prisustvo više važnih nutrijenata, uključujući valerinsku kiselinu, omega-7 masne kiseline i prekursore konjugirane linolne kiseline (POPOVIĆ i sur., 2020.). Ovi spojevi imaju brojne pozitivne učinke na zdravlje osoba koje konzumiraju ove proizvode životinjskog podrijetla. Osim toga, istraživanje je također identificiralo utjecaj geografskog podrijetla na aromatski sastav janjetine. Analizom aroma sastava u mesu su identificirani spojevi koji potječu iz različitih pašnjaka i pripravaka plemenite pečurke, što ukazuje na raznolikost okusa i mirisa u proizvodima. Također je primijećen sinbiotski učinak pripravka plemenite pečurke koji se dodaje u dnevni obrok janjadi (POPOVIĆ i sur., 2020.). CVRČIĆ i sur. (2023.) su proveli istraživanje u kojoj se koristila neusmjerena metoda kako bi se identificirali hlapljivi spojevi i metaboliti u sirovoj janjetini koja je bila hranjena s 1,5% suhog i svježeg dodatka *Agaricus bisporus*, te uspoređivala s hlapljivim spojevima iz osnovne prehrane. U svim klasama sirove janjeće svinjetine identificirano je otprilike pedeset hlapljivih



spojeva, a zatim su klasificirani prema njihovoj kemijskoj prirodi. Primijetili su veći broj različitih spojeva u janjećem mesu koje su janjad hranjena dodatkom *Agaricus bisporus* u usporedbi s onima hranjenima osnovnom prehranom. Skupina životinja hranjena s 1,5% suhog dodatka *Agaricus bisporus* pokazala je bolju i raznolikiju kemijsku strukturu spojeva u usporedbi s onom hranjenom osnovnom prehranom. Ti rezultati čine dobru osnovu za pretpostavku da će se razviti više kvalitetnih prekursora arome koji će pridonijeti konačnoj aromi janjećeg mesa. Ovaj sinbiotski učinak sugerira da pripravak plemenite pečurke može djelovati kao podrška zdravoj ravnoteži mikroorganizama u probavnom sustavu, što može doprinijeti boljoj probavi i apsorpciji hranjivih tvari u organizmu životinja. Unatoč svim potencijalnim koristima, važno je napomenuti da istraživanja o primjeni bioaktivnih sastojaka plemenite pečurke u prehrani janjadi još uvijek traju. Neki stočari već uključuju plemenitu pečurku kao dodatak prehrani janjadi kako bi istražili njezin utjecaj na njihovu produktivnost i zdravlje. Međutim, prije nego što postane standardna komponenta prehrane, nužno je provesti nova istraživanja u svrhu potvrde povoljnih učinaka i optimalne doze. Bioaktivni sastojci plemenite pečurke predstavljaju obećavajuću opciju za unapređenje prehrane janjadi i potencijalno poboljšanje njihovog imunološkog sustava, zdravlja i produktivnosti. No, važno je pratiti napredak istraživanja kako bismo bolje razumjeli specifične učinke i optimalne načine primjene ovih bioaktivnih spojeva u praksi uzgoja janjadi.

## 6. ZAKLJUČAK

Temeljem dobivenih rezultata možemo zaključiti da je pripravak u obliku suhe biomase plemenite pečurke (*Agaricus bisporus*), dodan u koncentraciji od 1,5 % u dnevni obrok tijekom 6 tjedana, djelotvoran sinbiotik za janjad odnosno da je:

- potaknuo porast udjele T i B limfocita u perifernoj krvi tretirane janjadi;
- pozitivno djelovao na održavanje dobre ravnoteže crijevnih bakterija u hranjene janjadi, odnosno djelovao: na smanjenje ukupnog broja bakterija u probavnom traktu hranjene janjadi, na odsutnost patogenih sojeva bakterije *E. coli* i bakterije *Salmonella sp.*, te na povećanje broja bakterije *Lactobacillus spp.*

## 7. LITERATURA

1. AIDA, F.M.N.A., M. SHUHAIMI, M. YAZID, A.G. MAARUF (2009): Mushroom as a potential source of prebiotics: a review. *Trends Food Sci. Tech.* 20, 567-575.
2. ARORA, D. (1986). *Mushrooms demystified: a comprehensive guide to the fleshy fungi* (Second ed.). Berkeley: Ten Speed Press.
3. ATILA, F., M. N. OWAID and M. A. SHARIATI (2017): The nutritional and medical benefits of *Agaricus bisporus*: A review. *J. Microbiol. Biotech. Food Sci.* 7, 281-286
4. AYEKA, P. A. (2018.): Potential of Mushroom Compounds as Immunomodulators in Cancer Immunotherapy: A Review. *Evid Based Complement Alternat Med.* doi: 10.1155/2018/7271509
5. BALDWIN, R., K. R. MCLEOD, J. L. KLOTZ, R. N. HEITMANN (2004): Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre-and postweaning ruminant. *J Dairy Sci.* 87, E55–E65. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(04)70061-2
6. BALENOVIĆ, M., V. SAVIĆ, Z. JANJEČIĆ, M. POPOVIĆ, B. ŠIMPRAGA, K. CAROVIĆ- STANKO, KLAUDIJA, D. BEDEKOVIĆ, T. AMŠEL ZELENKA (2018): Immunomodulatory and antimicrobial effects of selected herbs on laying hens. *Vet. arhiv* 5; 673-686.
7. BARROS, L., T. CRUZ, P. BAPTISTA, L.M. ESTEVINHO, I.C. FERREIRA (2008): Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food Chem. Toxicol.* 46, 2742-2747.
8. BENJAMIN, D. (1995). *Mushrooms: poisons and panaceas—a handbook for naturalists, mycologists and physicians.* New York: WH Freeman and Company. ISBN 0-7167-2600-9.
9. BHATT, R. S., M. K. TRIPATHI, D. L. VERMA, S. A. KARIM (2009): Effect of different feeding regimes on pre-weaning growth rumen fermentation and its influence on postweaning performance of lambs. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 93, 568-576. DOI: 10.1111/j.1439-0396.2008.00845.x
10. BROWN, G.D., S. GORDON (2003): Fungal  $\beta$ -glucans and mammalian immunity. *Immunity* 19, 311- 315.
11. CALLAC, P., BILETTE, C. (1993). "Morphological, genetic, and interfertility analyses reveal a novel, tetrasporic variety of *Agaricus bisporus* from the Sonoran Desert of California". *Mycologia.* 85 (5): 835–851.

12. CAMPBELL, B. J., A. N. PULLIN, M. D. PAIRIS-GARCIA, J. S. MCCUTCHEON, G. D. LOWE, M. R. CAMPLE, F. L. FLUHARTY (2017): The effects of alternative weaning strategies on lamb health and performance. *Small Ruminant Res.* 156, 57–65. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2017.09.006
13. CAPELLI, A. (1984). *Fungi Europaei: Agaricus* (in Italian). Saronno, Italy: Giovanna Biella. pp. 123–25.
14. CARLUCCIO, A. (2003). *The Complete Mushroom Book*. Quadrille.
15. CVRTELA FLECK, Ž., L. KOZAČINSKI, B. NJARI, D. MARENČIĆ, G. MRŠIĆ, K. ŠPIRANEC, D. ŠPOLJARIĆ, M. J. ČOP, M. ŽIVKOVIĆ and M. POPOVIĆ (2015): Technological properties and chemical composition of the meat of sheep fed with *Agaricus bisporus* supplement. *Vet. arhiv* 85, 591-600.
16. CVRTELA, Ž., A. ŠPOREC, L. KOZAČINSKI, T. MIKUŠ, B. NJARI, M. BRATULIĆ, D. ŠPOLJARIĆ, M. POPOVIĆ (2023): The influence of the addition of *Agaricus bisporus* to the diet on the volatile profile of lamb meat. *Vet. Arhiv* 93, 71-84 2023.
17. DELIĆ N., V. DRAŠKOVIĆ, J. STEVANOVIĆ, B. SAVIĆ, N. LAKIĆ, J. BOŠNJAK-NEUMÜLLER, Z. STANIMIROVIĆ (2018): The efficacy of two phytogenic feed additives in the control of swine dysentery. *Ac. Vet. Bg.* 68, 178-189. DOI: 10.2478/acve-2018-0016.
18. DEVYATKIN, V., MISHUROV, A., KOLODINA, E. (2021): Probiotic effect of *Bacillus subtilis* B-2998D, B-3057D, and *Bacillus licheniformis* B-2999D complex on sheep and lambs. *J Adv Vet Anim Res.*, Mar; 8(1): 146–157.
19. DIAO, Q., R. ZHANG, T. FU (2019): Review of strategies to promote rumen development in calves. *Anim (Basel).* 9, 490. DOI: 10.3390/ani9080490
20. DIAO, Q., R. ZHANG, T. YAN (2017): Current research progresses on calf rearing and nutrition in China. *J Integrat Agric.* 16, 2805-2814. DOI: 10.1016/S2095-3119(17)61767-2
21. DITAMO, Y., L. L. RUPIL, V. G. SENDRA, G. A. NORES, G. A. ROTH, F. J. IRAZOQUI (2016): In vivo immunomodulatory effect of the lectin from edible mushroom *Agaricus bisporus*. *Food Funct.* 7, 262–269. DOI: 10.1039/c5fo00360a
22. DRAŠKOVIĆ, V., J. BOŠNJAK-NEUMULLER, M. VASILJEVIĆ, B. PETRUJKIĆ, N. ALEKSIĆ, V. KUKOLJ, Z. STANIMIROVIĆ (2018): Influence of phytogenic feed additive on *Lawsonia intracellularis* infection in pigs. *Prev. Vet. Med.* 151, 46-51.
23. DURMIC, Z., D. BLACHE (2012): Bioactive plants and plant products: effects on animal function, health and welfare. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 176, 150 – 162.

24. FERRÃO, J., V. BELL, E. CHAQUISSE, C. GARRINE, T. FERNANDES (2019): The Synbiotic Role of Mushrooms: is Germanium a Bioactive Prebiotic Player? A Review Article. *Am. J. Food Nutr.* 7, 26-35. DOI:10.12691/AJFN-7-1-5
25. FOULONGNE-ORIO M., C. MURAT, R. CASTANERA, L. RAMÍREZ and A. D. W. SONNENBERG (2013): Genome-wide survey of repetitive DNA elements in the button mushroom *Agaricus bisporus*. *Fungal Genet. Biol.* 55, 6-21.
26. GALLOIS, M., H. J. ROTHKÖTTER, M. BAILEY, C. R. STOKES, I. P. OSWALD (2009): Natural alternatives to in-feed antibiotics in pig production: can immunomodulators play a role?. *Animal* 3, 1644-1661.
27. GENDERS, R. (1969). *Mushroom Growing for Everyone*. London: Faber.
28. GIANNENAS, I., I. S. PAPPAS, S. MAVRIDIS, G. KONTOPIDIS, J. SKOUFOS and I. KYRIAZAKIS (2010): Performance and antioxidant status of broiler chickens supplemented with dried mushroom (*Agaricus bisporus*) in their diet. *Poult. Sci.* 89, 303-311.
29. GOLAK-SIWULSKA, I., A. KAŁUŻEWICZ, S. WADOWIENKO, L. DAWIDOWICZ, K. SOBIERALSKI (2018): Nutritional value and health-promoting properties of *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach. *Herba Pol* 64, 71-81. DOI: 10.2478/hepo-2018-0027
30. *Gospodarski list* (2023). ŠAMPINJON – KAKO UZGOJITI GLJIVU?, dostupno na <https://gospodarski.hr/promo/sampinjon-kako-uzgojiti-gljivu/>, pristupljeno 09.10.2023.
31. HABRUN, B. (2014): Klinička veterinarska bakteriologija. ur. Željko Cvetnić, prvo izdanje. Medicinska naklada, Hrvatski veterinarski institut. Zagreb
32. HENGL, B., M. ŠPERANDA, G. KRALIK (2011): Podizanje proizvodnih osobina i kvalitete mesa brojlera korištenjem eteričnih ulja. *Meso* 5, 328-336.
33. HETLAND, G., E. JOHNSON, T. LYBERG, G. KVALHEIM (2011): The Mushroom *Agaricus blazei* and *Murill* Elicits Medicinal Effects on Tumor, Infection, Allergy, and Inflammation through Its Modulation of Innate Immunity and Amelioration of Th1/Th2 Imbalance and Inflammation. *Adv Pharmacol. Sci.* DOI:10.1155/2011/157015
34. HO, J. C. K., S. C. W. SZE, W. Z. SHEN and W. K. LIU (2004): Mitogenic activity of edible mushroom lectins. *Biochim. Biophys. Acta* 1671, 9-17.
35. Hrvatski zavod za poljoprivrednu savjetodavnu službu (2004). Hranidba ovaca, dostupno na [https://www.savjetodavna.hr/wp-content/uploads/publikacije/o\\_hranidba.pdf](https://www.savjetodavna.hr/wp-content/uploads/publikacije/o_hranidba.pdf), pristupljeno 09.10.2023.
36. IMBACH, E. (1946). Pilzflora des Kantons Luzern und der angrenzen Innerschweiz. *Mitteilungen der naturforschenden Gesellschaft Luzern (in German)*. 15: 5–85.

37. JEONG, S.C. Y.T. JEONG, B.K. YANG, R. ISLAM, S.R. KOYYALAMUDI, G. PANG, K.Y. CHO, C.H. SONG (2010): White button (*Agaricus bisporus*) lowers blood glucose and cholesterol levels in diabetic and hypercholesterimic rats. *Nutr. Res.* 30, 49-56.
38. KAŁA, K., A. KRYCZYKPOPRAWA, A. RZEWIŃSKA and B. MUSZYŃSKA (2020): Fruiting bodies of selected edible mushrooms as a potential source of lovastatin. *Eur. Food Res. Technol.*, 246, 713-722
39. KHAN, S. H., N. MUKHTAR and J. IQBAL (2019): Role of Mushroom as Dietary Supplement on Performance of Poultry. *J. Diet. Suppl.* 16, 611-624.
40. KRAMER, J. W. (2000.) Normal hematology of cattle, sheep and goats. In: Feldman, B. F., Zinkl, J.G., Jain, N.C eds. *Schalm's veterinary hematology*. 5Th ed. Baltimore. Lippincot Williams & Wilkinsm str. 1057-1084.
41. LANE, M. A., R. L. BALDWIN, B. W. JESSE (2000): Sheep rumen metabolic development in response to age and dietary treatments. *J. Anim. Sci.* 78, 1990–1996. DOI: 10.2527/2000.7871990x
42. LIU, T., F. LI, W. WANG, X. YUE, F. LI, C. LI, X. PAN, F. MO, F. WANG, Y. LA, B. LI (2016): Effects of lamb early starter feeding on the expression of genes involved in volatile fatty acid transport and pH regulation in rumen tissue. *Anim. Feed Sci. Technol.* 217, 27-35. DOI: 10.1016/j.anifeedsci.2016.04.006
43. LIU, J., G. BIAN, D. SUN, W. ZHU, S. MAO (2017): Starter feeding supplementation alters colonic mucosal bacterial communities and modulates mucosal immune homeostasis in newborn lambs. *Front Microbiol.* 8, 429. DOI: 10.3389/fmicb.2017.00429
44. LIU, L., D. SUN, S. MAO, W. ZHU, J. LIU (2022): Infusion of sodium butyrate promotes rumen papillae growth and enhances expression of genes related to rumen epithelial VFA uptake and metabolism in neonatal twin lambs. *J. Anim. Sci.* 97, 909-921. DOI: 10.1093/jas/sky459.
45. LOW, C. X., L. TENG-HERN, A. B. M. NURUL-SYAKIMA, P. PUSPARAJAH, B. H. GOH, C. KOK-GAN, V. LETCHUMANAN, L. LEARN-HAN (2021): Unveiling the Impact of Antibiotics and Alternative Methods for Animal Husbandry: A Review. *Antibiot.* 10, 578. DOI:10.3390/antibiotics1005057.
46. MAO, H., Y. ZHANG, Y. YUN, W. JI, Z. JIN, C. WANG, Z. YU (2021): Weaning age affects the development of the ruminal bacterial and archaeal community in Hu lambs during early life. *Front Microbiol.* 12, 636865. DOI: 10.3389/fmicb.2021.636865
47. MIOČ, B., V. PAVIĆ, V. SUŠIĆ (2007): Uvod. U: *Ovčarstvo*. (Volarić, V., Z. Bašić, ur.) Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb, 15-17.

48. MONTORO, C., E. K. MILLER-CUSHON, T. J. DEVRIES, A. BACH (2013): Effect of physical form of forage on performance, feeding behavior, and digestibility of Holstein calves. *J Dairy Sci.* 96, 1117-1124. DOI: 10.3168/jds.2012-5731
49. MORGAVI, D. P., E. RATHAHAO-PARIS, M. POPOVA, J. BOCCARD, K. F. NIELSEN, H. BOUDRA (2015): Rumen microbial communities influence metabolic phenotypes in lambs. *Front Microbiol.* 6, 1060. DOI: 10.3389/fmicb.2015.01060
50. MRŠIĆ, G., D. ŠPOLJARIĆ, H. VALPOTIĆ, M. BALENOVIĆ, L. KOZAČINSKI, I. ŠPOLJARIĆ, I. VALPOTIĆ, V. SAVIĆ, S. SREČEC, M. POPOVIĆ (2011): Imunomodulacijski učinak plemenite pečurke *Agaricus bisporus* u tovnih pilića. *Veterinarska stanica : znanstveno-stručni veterinarski časopis.* 42, 431-439.
51. MYERS, S. E., D. B. FAULKNER, F. A. IRELAND, L. L. BERGER, D. F. PARRETT (1999): Production systems comparing early weaning to normal weaning with or without creep feeding for beef steers. *J Anim Sci.* 77, 300-310. DOI: 10.2527/1999.772300x
52. NOROUZIAN, M. A., R. VALIZADEH (2014): Effect of forage inclusion and particle size in diets of neonatal lambs on performance and rumen development. *J Anim Physiol Anim Nutr.* 98, 1095-1101. DOI: 10.1111/jpn.12183
53. ÖZTÜRK, M., M. E. DURU, S. KIVRAK, N. M. DOGAN, A. TURKOGLU and M. A. OZLER (2011): In vitro antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial activity studies on three *Agaricus species* with fatty acid compositions and iron contents: A comparative study on the three most edible mushrooms. *Food Chem. Toxicol.* 49, 1353-1360.
54. PAPATSIROS, V. G., E.D. TZIKA, D. S. PAPAIOANNOU, S. C. KYRIAKIS, P.D. TASSIS, C. S. KYRIAKIS, C. S. (2009): Effect of *Origanum vulgare* and *Allium sativum* extracts for the control of proliferative enteropathy in weaning pigs. *Pol. J. Vet. Sci.* 12, 407-414.
55. PETERFALVI, A., E. MIKO, T. NAGY, B. REGER, D. SIMON, A. MISETA, B. CZÉH L. SZEREDAY (2019): Much more than a pleasant scent: a review on essential oils supporting the immune system. *Mol.* 24, 4530. DOI:10.3390/molecules24244530.
56. POPOVIĆ, M. (2018). Inovativni funkcionalni proizvodi od janječeg mesa, dostupno na <https://hrzz.hr/inovativni-funkcionalni-proizvodi-od-janjeceg-mesa/>, pristupljeno 09.10.2023.
57. POPOVIĆ, M., CVRČIĆ, Ž., KRUM, M., KIŠ, G. KOZAČINSKI, L. (2020). Plemenita pečurka *Agarius bisporus* kao funkcionalni dodatak u dnevni obrok životinja, 10. međunarodni kongres Veterinarska znanost i struka, dostupno na <https://veterina.com.hr/?p=83369>, pristupljeno 09.10.2023.

58. POPOVIĆ, M., I. VALPOTIĆ (2004): Primjena protočne citometrije u veterinarskoj medicini. H. vet. vjes. 12, 3-4.
59. RIBEIRO, A. D. B., M. V. C. FERRAZ JUNIOR, D. M. POLIZEL, A. A. MISZURA, L. G. M. GOBATO, J. P. R. BARROSO, I. SUSIN A. V. PIRES (2019): Thyme essential oil for sheep: effect on rumen fermentation, nutrient digestibility, nitrogen metabolism, and growth. Arq. Bras. Med. Vet. Zootech. 71, 2065-2074.
60. RADULOVIĆ S., R. MARKOVIĆ, D. JAKIĆ DIMIĆ, D. ŠEFER (2015): Upotreba fitobiotika u stimulaciji rasta odbijene prasadi. Vet. glasnik 69, 63 – 74.
61. RAMKRISHNA, V., G. P. TIWARI (1979): Histological and histochemical observations on the forestomach of goat during pre-natal life. Acta Anat (Basel). 103, 292–300. DOI: 10.1159/000145026
62. SAEEDI, S., O. DAYANI, R. TAHMASBI, A. KHEZRI (2017): Effect of supplementation of calf starter with fennel powder on performance, weaning age and fermentation characteristics in Holstein dairy calves. J Anim Physiol Anim Nutr (Berl). 101, 81-87. DOI: 10.1111/jpn.12511
63. SCHARRER, E., M. MEDL, H. G. LIEBICH (1983): Changes in the structure and function of the rumen epithelium during development. 3 effect of liquid versus solid diet on Na and Cl transport across lamb rumen epithelium. Zentralbl Veterinarmed A. 30, 767-774.
64. SENČIĆ, Đ., Z. ANTUNOVIĆ, D. SAMAC (2021): Biopoticajni učinak fitobiotika u proizvodnji pilećeg mesa. Meso 1, 67-73.
65. SHEK-VUGROVEČKI, A. S., M. POPOVIĆ, M. BELIĆ, M. ŽIVKOVIĆ, D. ŠPOLJARIĆ, B. ŠPOLJARIĆ, H. BRZICA, G. MRŠIĆ, Z. FLEGARMEŠTRIĆ, Ž. MIKULEC and M. ŠIMPRAGA (2018): Effect of dietary supplementation with dry and raw white button mushroom (*Agaricus bisporus*) on biochemical blood parameters of Lika pramenka lambs. Magy. Allatorvosok Lapja 140, 303-312.
66. SHEN, J., H. REN, C. TOMIYAMA-MIYAJI, Y. SUGA, T. SUGA, Y. KUWANO, T. IIAI, K. HATAKEYAMA, T. ABO (2007): Potentiation of intestinal immunity by micellary mushroom extracts. Biomed. Res. 28, 71-77.
67. SOLTANI NEZHAD, B., O. DAYANI, A. KHEZRI, R. TAHMASBI (2016): Performance and carcass characteristics in fattening lambs feed diets with different levels of pistachio by-products silage with wasted date. Small Ruminant Res. 137, 177-182. DOI: 10.1016/j.smallrumres.2016.03.015
68. SU, G., X. ZHOU, Y. WANG, D. CHEN, G. CHEN, Y. LI, J. HE (2018): Effects of plant essential oil supplementation on growth performance, immune function and antioxidant activities in weaned pigs. Lip. Heal. Dis. 17, 139. DOI:10.1186/s12944-018-0788-3.



69. SUN, D., S. MAO, W. ZHU, J. LIU (2021): Proteomic identification of ruminal epithelial protein expression profiles in response to starter feed supplementation in pre-weaned lambs. *Anim Nutr.* 7, 1271-1282. DOI: 10.1016/j.aninu.2021.06.014
70. ŠPIRANEC, K., M. POPOVIĆ, M. ŽIVKOVIĆ, D. ŠPOLJARIĆ, K. VLAHOVIĆ, H. BRZICA, G. MRŠIĆ, D. MIHELIĆ (2016): The metabolic properties of quadriceps femoris muscles of Lika pramenka sheep breed, fed with a supplement from button mushrooms (*Agaricus bisporus*). *Vet. Arhiv* 86, 541-551.
71. ŠPOLJARIĆ, D., T. FUMIĆ, D. KEZIĆ, H. VALPOTIĆ, V. FABIJANIĆ, M. POPOVIĆ, S. SLADOLJEV, G. MRŠIĆ, I. VALPOTIĆ (2011):  $\beta$ -glukani: prirodni modifikatori imunskog odgovora nedovoljno poznati u veterini. *Vet. stanica* 42, 361-376.
72. ŠPOLJARIĆ, D. (2013): Modulacijski učinci nativnog propolisa, pripravka plemenite pečurke i  $\beta$ -glukana na imunsko te proizvodne pokazatelje odbijene prasadi. Doktorska disertacija, Veterinarski fakultet, Zagreb.
73. ŠPOLJARIĆ, D., S. SREČEC, M. M. KARDUM PARO, M. J. ČOP, G. MRŠIĆ, B. ŠIMPRAGA, M. SOKOLOVIĆ, J. CRNJAC, K. ŠPIRANEC and M. POPOVIĆ (2015): The effects of feed supplemented with *Agaricus bisporus* on health and performance of fattening broilers. *Vet. arhiv* 85, 309-322
74. ŠPOLJARIĆ, B., A. SHEK-VUGROVEČKI, D. MIHELIĆ, I. ŽURA ŽAJA, S. VINCE, D. ŠPOLJARIĆ, M. ŽIVKOVIĆ, M. M. KARDUM PARO, K. VLAHOVIĆ, M. SAMARDŽIJA, N. VIJTIUK, M. POPOVIĆ (2023): The influence of dietary white button mushrooms (*Agaricus bisporus*) on the kinetics of changes in the proportion of peripheral blood CD4<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup> T lymphocytes in lambs. *Vet. arhiv* 93, 435-446 2023.
75. VILIBIĆ-ČAVLEK, T., T. FERENC, V. STEVANOVIĆ, M. VUJICA, M. BOGDANIĆ, S. ALI, T. SAFDAR; I. TABAIN, LJ. BARBIĆ (2022): Human coronaviruses in the 'One Health' context. *Infektol. Gla.* 42, 9-15.
76. VINCE, S., A. M. VEČKOVEC, H. VALPOTIĆ, D. ŠPOLJARIĆ, I. ŽURA ŽAJA, D. ĐURIČIĆ, D. LEINER, J. ŠAVORIĆ, I. BUTKOVIĆ, B. HABRUN, B. NJARI, A. KOVŠCA JANJATOVIĆ, M. EFENDIĆ, M. SAMARDŽIJA, M. POPOVIĆ, I. VALPOTIĆ, B. ŠPOLJARIĆ (2022): Immunogenicity of a live bivalent non enterotoxigenic *Escherichia coli* (non-ETEC) vaccine and dietary clinoptilolite efficacy against postweaning diarrheal disease of pigs due to F4<sup>+</sup> and F18<sup>+</sup> ETEC strain. *Vet. Arh.* 92, 259-276.
77. US Department of Agriculture (2023). Mushrooms, white raw, dostupno na <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/169251/nutrients>, pristupljeno 09.10.2023.

78. YANG, B., B. HE, S. S. WANG, J. X. LIU, J. K. WANG (2015): Early supplementation of starter pellets with alfalfa improves the performance of pre- and postweaning Hu lambs. *J Anim Sci.* 93, 4984-4994. DOI: 10.2527/jas.2015-9266
79. YANG, B., J. LE, P. WU, J. LIU, L. L. GUAN, J. WANG (2018): Alfalfa intervention alters rumen microbial community development in hu lambs during early life. *Front Microbiol.* 9, 574. DOI: 10.3389/fmicb.2018.00574
80. YIN, X., S. JI, C. DUAN, P. TIAN, S. JU, H. YAN, Y. ZHANG, Y. LIU (2021): Age-related changes in the ruminal microbiota and their relationship with rumen fermentation in lambs. *Front Microbiol.* 12, 679135. DOI: 10.3389/fmicb.2021.679135
81. ZEITLMAYR, L. (1976). *Wild Mushrooms: An Illustrated Handbook*. Garden City Press, Hertfordshire. pp. 82–83. ISBN 0-584-10324-7.
82. ZHANG, Y., S. H. CHOI, K. M. NOGOY, S. LIANG (2021): Review: The development of the gastrointestinal tract microbiota and intervention in neonatal ruminants. *Animal.* 15,100316. DOI: 10.1016/j.animal.2021.100316.
83. ZENG, Z., X. XU, Q. ZHANG, P. LI, P. ZHAO, Q. LI, J. LIU, X. PIAO (2015): Effects of essential oil supplementation of a low-energy diet on performance, intestinal morphology and microflora, immune properties and antioxidant activities in weaned pigs. *Anim. Sci. J.* 86, 279-85. DOI: 10.1111/asj.12277.
84. VALDIVIESO-UGARTE, M., GOMEZ-LLORENTE, C., PLAZA-DÍAZ, J., GIL, Á. (2019): Antimicrobial, Antioxidant, and Immunomodulatory Properties of Essential Oils: A Systematic Review. *Nutrient*, 11, 2786. DOI: 10.3390/nu11112786.
85. WANG, S., T. MA, G. ZHAO, N. ZHANG, Y. TU, F. LI, K. CUI, Y. BI, H. DING, Q. DIAO (2019): Effect of Age and Weaning on Growth Performance, Rumen Fermentation, and Serum Parameters in Lambs Fed Starter with Limited Ewe-Lamb Interaction. *Animals* 9, 825. DOI: 10.3390/ani9100825
86. WANG, W., C. LI, F. LI, X. WANG, X. ZHANG, T. LIU, F. NIAN, X. YUE, F. LI, X. PAN, Y. LA, F. MO, F. WANG, B. LI (2016): Effects of early feeding on the host rumen transcriptome and bacterial diversity in lambs. *Sci Rep.* 6,32479. DOI: 10.1038/srep32479
87. WINDISCH, W., K. SCHEDLE, C. PLITZNER, A. KROISMAYR (2008): Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry, *Journal of Animal Science*, Volume 86, Issue suppl\_14, Pages E140–E148, DOI: 10.2527/jas.2007-0459.

## 8. SAŽETAK

Rina Marić

### SINBIOTSKI UČINAK PLEMENITE PEČURKE (*AGARICUS BISPORUS*) I NJEZINIH BIOAKTIVNIH SASTOJAKA KAO DODATKA HRANI JANJADI

Plemenita pečurka, poznata i kao *Agaricus bisporus*, je vrsta gljive koja se smatra zdravom i korisnom hranom zbog svojih svojstava. S obzirom na raznolike bioaktivne sastojke koje sadrži, ova gljiva posjeduje antibakterijske, antivirusne, protuupalne, hepatoprotektivne, hipotenzivne, hipolipemijske i antitrombotske karakteristike. Također, ima pozitivan utjecaj na organizam putem probiotičkih, prebiotičkih i imunomodulatorskih svojstava. Dosadašnja istraživanja provedena na ostalim domaćim životinjama, svinjei perad, dovela su do uvođenja pripravaka plemenite pečurke u prehranu janjadi. Bioaktivni sastojci plemenite pečurke predstavljaju obećavajuću opciju za unapređenje prehrane janjadi i potencijalno poboljšanje njihovog imunološkog sustava, zdravlja i produktivnosti. Ovaj sinbiotski efekt ukazuje na to da dodatak pripravka plemenite pečurke može poslužiti kao podrška održavanju zdrave ravnoteže mikroorganizama u probavnom sustavu. To može rezultirati poboljšanom probavom i apsorpcijom hranjivih tvari u organizmu životinja. Istraživanje koje je opisano u ovom radu pokazalo je da dodatak pripravka plemenite pečurke u svakodnevnu ishranu jagnjadi rezultira povećanjem udjela T i B limfocita u perifernoj krvi tretirane jagnjadi. Također, pozitivno utječe na održavanje optimalne ravnoteže bakterija u crijevima jagnjadi koje su hranjene tim dodatkom.

**Ključne riječi:** *Agaricus bisporus*, sinbiotski učinak, bioaktivni sastojci, proizvodni pokazatelji

## 9. SUMMARY

Rina Marić

### SYMBIOTIC EFFECT OF WHITE BUTTON MUSHROOM (*AGARICUS BISPORUS*) AND ITS BIOACTIVE COMPONENTS AS A FOOD ADDITIVE FOR LAMBS

White button mushroom, also known as *Agaricus bisporus*, is a type of fungus considered as a healthy and functional food due to its beneficial properties. With its diverse bioactive components, this mushroom possesses antibacterial, antiviral, anti-inflammatory, hepatoprotective, hypotensive, hypolipidemic, and antithrombotic characteristics. Additionally, it has a positive impact on the body through its probiotic, prebiotic, and immunomodulatory properties. Previous research conducted on other domestic animals (pigs, poultry) has led to the introduction of white button mushroom preparations in the diet of lambs. The bioactive components of white button mushrooms represent a promising option for improving lamb nutrition and potentially enhancing their immune system, health, and productivity. This symbiotic effect suggests that adding white button mushroom preparations can support the maintenance of a healthy balance of microorganisms in the digestive system, resulting in improved digestion and absorption of nutrients in animal organisms. The study described in this paper has shown that adding white button mushroom preparations to the daily diet of lambs leads to an increase in the proportion of T and B lymphocytes in the peripheral blood of treated lambs. Additionally, it positively influences the maintenance of an optimal balance of bacteria in the intestines of lambs that are fed with this supplement.

**Key words:** *Agaricus bisporus*, symbiotic effect, bioactive components, production indicators

## 10. ŽIVOTOPIS

Dolazim iz Zagreba i rođena sam 11. studenoga 1995. godine. Moje obrazovanje je započelo u osnovnoj školi "Gračani" u Zagrebu, a nakon završetka osnovne škole nastavila sam svoje školovanje u XVIII. jezičnoj gimnaziji također u Zagrebu. Godine 2014. počinjem studirati veterinarsku medicinu na Veterinarskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, upisujući integrirani preddiplomski i diplomski sveučilišni studij. Tijekom 2019. godine, u Zagrebu sam sudjelovala na 8. međunarodnom kongresu "Veterinarska znanost i struka" te prisustvovala raznim događanjima na fakultetu tijekom godina. Prilikom upisa pete godine studija, odabrala sam specijalizaciju u području Veterinarskog javnog zdravstva. Tijekom stručne prakse, stekla sam iskustvo radeći u Veterinarskoj ambulanti Nera.