

3
4
5 IZVEŠTAJ O OCENI ZAVRŠENE DOKTORSKE DISERTACIJE

6
7 I PODACI O KOMISIJI:

8
9 1. Datum i naziv organa koji je imenovao komisiju: 17.06.2020. godine, 206. sednica
10 Nastavno-naučnog veća Fakulteta veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu.

11
12 2. Sastav komisije sa naznakom imena i prezimena svakog člana, zvanja, naziva uže
13 naučne oblasti za koju je izabran u zvanje, godinom izbora u zvanje i naziv fakulteta,
14 ustanove u kojoj je član komisije zaposlen:

- 15 1. dr Radmila Marković, redovni profesor, Ishrana i botanika, 2019. godina, Fakultet
16 veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu
- 17 2. dr Dragan Šefer, redovni profesor, Ishrana i botanika, 2014. godina, Fakultet
18 veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu
- 19 3. dr Anita Radovanović, redovni profesor, Histologija i embriologija, 2018. godina,
20 Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu
- 21 4. dr Jelena Janjić, naučni saradnik, Higijena i tehnologija mesa, 2015. godina, Fakultet
22 veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu
- 23 5. dr Lidija Perić, redovni profesor, Stočarstvo, 2012. godina, Poljoprivredni fakultet
24 Univerziteta u Novom Sadu

25
26 II PODACI O KANDIDATU:

27
28 1. Ime, ime jednog roditelja, prezime: Milica, Andreja, Glišić

29
30 2. Datum rođenja, opština, Republika: 12.01.1988. god., Smederevska Palanka, Republika
31 Srbija

32
33 3. Datum odbrane, mesto i naziv magistarske teze*:

34
35 4. Naučna oblast iz koje je stečeno akademsko zvanje magistra nauka*:

36
37 III NASLOV DOKTORSKE DISERTACIJE: „Uticaj upotrebe izoflavona u ishrani na
38 proizvodne rezultate i biološke parametre brojlera”

39
40
41 IV PREGLED DOKTORSKE DISERTACIJE (navesti broja strana poglavlja, slika, šema,
42 grafikona i sl.):

43 Doktorska disertacija Milice Glišić napisana je na 213 strana teksta i sadrži sledeća poglavlja:
44 Uvod (dve strane), Pregled literature (37 strana), Cilj i zadaci ispitivanja (dve strane), Materijal
45 i metode (16 strana), Rezultati ispitivanja (29 strana), Diskusija (47 strana), Zaključci (dve
46 strane), Spisak literature (31 strana) i Prilozi (47 strana). Na početku disertacije prikazan je
47 kratak sadržaj na srpskom i engleskom jeziku. Disertacija je dokumentovana sa 180 tabela,
48 21 grafikonom, 34 slike i jednom šemom.

49
50 V VREDNOVANJE POJEDINIH DELOVA DOKTORSKE DISERTACIJE (dati kratak opis
51 svakog poglavlja disertacije: uvoda-do 250 reči, pregleda literature-do 500 reči, cilja i
52 zadataka istraživanja-nije ograničeno, materijal i metoda – nije ograničeno, rezultata –
53 nije ograničeno, diskusije-do 100 reči, spiska referenci-navesti broj referenci u
54 doktorskoj disertaciji):

55 U Uvodu kandidat ističe da u oblasti ishrane farmskih životinja, naročito živine, postoji stalna
56 potreba za pronalaženjem adekvatnih alternativa antibioticima, koji su kao stimulatori rasta
57 doveli do pojave problema rezidua antibiotika u hrani i razvoja antimikrobne rezistencije.
58 Fitobiotici (etarska ulja i fitogene komponente poput flavonoida) mogu se smatrati dobrom
59 opcijom, s obzirom da su prirodnog porekla, bezbedni (većina sertifikovana kao GRAS-
60 Generally Recognized As Safe) i dobro prihvaćeni od strane potrošača. U ovom poglavlju

1 kandidat navodi izoflavone kao fenolna jedinjenja koja spadaju u potklasu flavonoida, među
2 kojima su najznačajniji daidzein, genistein i glicitein. Glavni biološki efekti izoflavona, koji
3 podrazumevaju estrogenu, antioksidativnu i antiproliferativnu aktivnost, uključeni su u
4 povećanje otpornosti organizma prema različitim bolestima i stresogenim faktorima sredine,
5 pa se na taj način omogućava životinjama da ispolje svoj genetski potencijal i ostvare bolje
6 proizvodne rezultate. Pored efekta na različite biološke parametre, značajan aspekt primene
7 izoflavona u ishrani životinja je i dobijanje kvalitetnijih namirnica (bolji nutritivni sastav, duža
8 održivost, namirnice sa dodatkom vrednošću) kojima bi se zadovoljile potrebe potrošača i
9 industrije. Kako su izoflavoni relativno nova klasa aditiva u hrani za životinje, postoji potreba
10 za određivanjem efikasnosti (u zavisnosti od tipa, doze aktivne komponente i mogućih
11 interakcija sa drugim sastojcima hrane) i bezbednosti (apsorpcija, potencijalno akumuliranje u
12 jestivim tkivima) primarno ekstrahovanih, prečišćenih formi izoflavona, poput genisteina.
13

14 Na početku poglavlja **Pregled literature** opisano je trenutno stanje i pravci razvoja živinarske
15 proizvodnje, kao i proizvodnje živinskog mesa. Sledeći deo ovog poglavlja odnosi se na
16 aditive u hrani za životinje, sa posebnim osvrtom na stimulare rasta u koje spadaju i fitogeni
17 aditivi, odnosno fitobiotici, sa definisanjem mehanizama njihovog delovanja. Zatim sledi deo
18 koji se odnosi na fitoestrogene, polifenolna jedinjenja koja obuhvataju nekoliko grupa
19 nesteroidnih estrogena široko zastupljenih u različitim biljkama. U okviru fitoestrogena se
20 opisuju flavonoidi, njihova hemijska struktura, klasifikacija i izvori. Zatim se kandidat osvrće
21 na izoflavone koji su primarno prisutni u leguminozama (soji), njihovu strukturu i funkciju, kao i
22 uticaj različitih fizičkih i hemijskih procesa prerade na njihov sadržaj u proizvodima na bazi
23 soje. Jedan deo poglavlja opisuje uticaj različitih formi izoflavona (aglikoni i glikokonjugati) na
24 bioraspoloživost i aktivnost njihovih metabolita koja zavisi od mikrobijalne biotransformacije u
25 digestivnom traktu. Nakon toga se opisuje primena izoflavona u farmaceutskoj i kozmetičkoj
26 industriji, uzimajući u obzir njihovu ulogu u prevenciji i lečenju različitih poremećaja i bolesti
27 vezanih za proces starenja, mentalne funkcije, metabolizam, maligne transformacije,
28 kardiovaskularna oboljenja i reprodukciju. Zatim, akcenat se stavlja na potencijal izoflavona
29 kao aditiva u hrani za životinje i njihov uticaj na različite biološke funkcije (proizvodni rezultati,
30 neuroendokrini sistem, imunski sistem, reproduktivni sistem, razvoj mlečne žlezde i laktacija,
31 mikrobiota digestivnog trakta). U sledećem segmentu ovog poglavlja detaljno je opisan
32 genistein, hemijska struktura i karakteristike, zastupljenost u različitim biljkama iz familije
33 *Fabaceae* i sadržaj u proizvodima na bazi soje, kao i njegova bioraspoloživost, afinitet prema
34 estrogenim receptorima, mehanizmi kojima ostvaruje hipolipidemične, antiinflamatorne i
35 hemoprotektivne efekte. Naredna potpoglavlja opisuju antioksidativne efekte genisteina i
36 ulogu genisteina u stanjima lipidoze i osteoporoze, uticaj genisteina na imunski odgovor i
37 antibakterijski efekat genisteina. Sledeći deo se odnosi na mogućnost dobijanja mesa sa
38 dodatkom vrednošću modifikacijama u ishrani živine (funkcionalna hrana). Zatim se navode
39 podaci o količini izoflavona u hrani animalnog porekla (mleko, proizvodi od mleka, meso
40 proizvodi od mesa, jaja). Na kraju se opisuju literarni podaci vezani za uticaj dodavanja
41 izoflavona u hrani nosilja i brojlera na kvalitet i održivost jaja i mesa, kao i mogućnost
42 obogaćenja jaja i mesa različitih životinjskih vrsta u cilju dobijanja hrane animalnog porekla
43 koja se može smatrati relevantnim izvorom izoflavona (daidzeina, genisteina i ekvola) u
44 ishrani ljudi.
45

46 **Cilj istraživanja** u okviru ove doktorske disertacije bio je ispitivanje uticaja izoflavona
47 genisteina u ishrani brojlera na zdravstveni status, proizvodne rezultate, antioksidativni
48 kapacitet, histomorfološke parametre, mikrobiotu digestivnog trakta i kvalitet i prinos mesa
49 brojlera. Za ostvarenje ovog cilja tokom tova (konvencionalni tov do 42. dana i produženi tov
50 do 58. dana), definisani su sledeći zadaci:

- 51 - ispitivanje hemijskog sastava potpunih smeša za tov brojlera I (1-10 dana tova), II
52 (11.-20. dana tova) i III (21.-58. dana tova) i antioksidativnog kapaciteta potpune
53 smeše za tov brojlera III sa dodatkom različitih količina ekstrahovanog izoflavona
54 genisteina;
- 55 - ispitivanje uticaja različitih koncentracija ekstrahovanog izoflavona genisteina na
56 zdravstveno stanje brojlera (praćenje morbiditeta i mortaliteta);
- 57 - ispitivanje proizvodnih rezultata (telesna masa piladi, dnevni i ukupni prirast,
58 dnevna i ukupna konzumacija, konverzija);
- 59 - ispitivanje uticaja genisteina na histomorfološke karakteristike pojedinih
60 segmenata digestivnog trakta brojlera;

- 1 - ispitivanje uticaja različitih količina genisteina u hrani na broj bakterija mlečne
- 2 kiseline u cekumu brojlera;
- 3 - ispitivanje uticaja dodavanja genisteina u hrani za brojlere na sadržaj ukupnih
- 4 proteina jetre i aktivnost enzima antioksidativne zaštite superoksid dismutaze
- 5 (SOD), katalaze (CAT) i glutation peroksidaze (GSH-Px) u homogenatima jetre;
- 6 - ispitivanje koncentracije ukupnog holesterola i triglicerida u krvnom serumu
- 7 brojlera;
- 8 - ispitivanje sadržaja genisteina u mesu grudi brojlera;
- 9 - ispitivanje uticaja rastućih količina genisteina u hrani na apsolutnu i relativnu
- 10 masu tibije, sadržaj pepela, Ca i P;
- 11 - ispitivanje uticaja dodavanja različitih količina genisteina u hrani za brojlere na
- 12 parametre prinosa mesa (masa trupa, randman, masa delova trupa i njihovo
- 13 učešće u masi trupa, masa i učešće mesa, kostiju, kože grudi i bataka s
- 14 karabatakom), apsolutnu i relativnu masu slezine, jetre, srca i jajnika (udeo u
- 15 telesnoj masi), kvalitet i održivost mesa (hemijski sastav mesa, pH vrednost,
- 16 sposobnost vezivanja vode, sadržaj malondialdehida, senzorske karakteristike);
- 17 - ispitivanje ekonomske isplativosti korišćenja izoflavona genisteina u ishrani
- 18 brojlera.

19
20 U poglavlju **Materijal i metode istraživanja** dati su detalji eksperimentalnog rada.

21
22 Za ogled su korišćena jednodnevna pilad oba pola, provenijencije Cobb 500, prosečne

23 inicijalne mase $44,11 \pm 4,25$. Brojleri su do 21. dana bili hranjeni potpunim smešama za

24 ishranu piladi u početnoj fazi tova (od 1. do 10. dana potpuna smeša za tov piladi I; od 11. do

25 20. dana potpuna smeša za tov piladi II). Nakon druge faze tova ukupno 360 brojlera starosti

26 21. dan su izmereni i podeljeni u pet grupa (po 72 jedinke) sa po šest bokseva, tako da je po

27 12 brojlera bilo raspoređeno po odeljku (boksu). U završnoj fazi tova, od 21. do 42. i od 43. do

28 58. dana tova, brojleri su bili hranjeni potpunom smešom za tov piladi III. Hemijskom analizom

29 pokazano je da su smeše na bazi kukuruza i sojine sačme bile izbalansirane i u potpunosti su

30 zadovoljavale potrebe životinja u svim fazama tova (Cobb-Vantress, 2012). U hranu oglednih

31 grupa brojlera tokom završne faze tova dodata je različita količina preparata "High quality

32 Genistein 98% 446-72-0 HPLC" (Xi'AnHuilin Bio-Tech Co., Ltd., Xian, Shaanxi, P.R. China)

33 koji je 99,6% čisti ekstrakt genisteina dobijen iz korena biljaka *Sophora subprostrata* Chun et

34 T. Chen i *Genista tinctoria* L. Čistoća ekstrakta je potvrđena HPLC-DAD-ESI-MS/MS

35 tehnikom. Kontrolna grupa (K) nije dobijala preparat genisteina, ogledna grupa I (O-I) je

36 dobijala 200 mg/kg, ogledna grupa II (O-II) 400 mg/kg, ogledna grupa III (O-III) 600 mg/kg i

37 ogledna grupa IV (O-IV) 800 mg/kg hrane preparata genisteina. Eksperiment se sastojao iz

38 dva dela: prvi period koji je trajao 21 dan (od 21. do 42. dana tova) i drugi period produženog

39 tova koji je trajao 37 dana (od 21. do 58. dana tova).

40 Na početku svake faze tova uzimani su uzorci potpunih smeša za ishranu brojlera za

41 hemijsku analizu, dok je za potpunu smešu za ishranu brojlera III dodatno utvrđen i

42 antioksidativni kapacitet i sadržaj genisteina. Na kraju svake faze tova utvrđeni su parametri

43 za ispitivanje proizvodnih rezultata. Na klanici, nakon oba eksperimentalna perioda (42. i 58.

44 dan tova), uzimani su uzorci krvi, utvrđeni su parametri mesnatosti trupova i uzeti uzorci mesa

45 za ispitivanje fizičkih, hemijskih i senzorskih osobina mesa. Takođe, uzeti su uzorci za

46 histološka ispitivanja pojedinih segmenata creva, uzorci crevnog sadržaja za mikrobiološku

47 analizu, uzorci jetre za određivanje sadržaja ukupnih proteina i aktivnosti enzima

48 antioksidativne zaštite (SOD, CAT i GSH-Px), i uzorci kostiju za ispitivanje sadržaja Ca i P.

49 Uzorci su, u zavisnosti od vrste analize, bili zamrzavani na $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ ili fiksirani u

50 puferisanom 10% formalinu do momenta analize.

51 52 **A) Zdravstveno stanje**

53 Tokom čitavog ogleada zdravstveno stanje brojlera bilo je praćeno korišćenjem standardnih

54 procedura. Svakodnevna opservacija je vršena pojedinačnom i grupnom adspekcijom i sve

55 promene zdravstvenog stanja su praćene i zabeležene.

56 57 **B) Hemijske analize hrane**

58 Za hemijska ispitivanja hrane za ishranu brojlera tokom ogleada korišćeni su sledeći postupci:

- 59 - Određivanje sadržaja sirovih proteina (SRPS ISO 5983:2000);
- 60 - Određivanje sadržaja vlage i drugih isparljivih materija (SRPS ISO 6496:2001);

- 1 – Određivanje sadržaja masti (SRPS ISO 6492:2001);
- 2 – Određivanje sadržaja sirovog pepela (SRPS ISO 5984:2013);
- 3 – Određivanje sadržaja kalcijuma (volumetrijska metoda)(SRPS ISO 6490-1:2001);
- 4 – Određivanje sadržaja fosfora (spektrometrijska metoda) (SRPS ISO 6491:2002);
- 5 – Određivanje sadržaja sirove celuloze (metoda sa međufiltracijom) (SRPS ISO
- 6 6865:2004);
- 7 – Određivanje bezazotnih ekstraktivnih materija (BEM).

9 **C) Analiza genisteina u hrani**

10 Za određivanje genisteina u hrani korišćena je HPLC-DAD-ESI-MS/MS tehnika.

12 **D) Antioksidativni kapacitet hrane**

13 Za analizu antioksidativne aktivnosti hrane pripremljeni su metanolni ekstrakti hrane u

14 koncentraciji od 2 g hrane/1 ml, a zatim su korišćeni testovi:

- 15 – Sposobnost inhibicije lipidne peroksidacije (LP);
- 16 – FRAP (Feric ion Reducing Antioxidant Power) test.

18 **E) Proizvodni rezultati**

19 Kontrolna merenja oglednih jedinki izvršena su pri useljavanju jednodnevnih brojlera (1. dan),

20 a zatim i nakon svake faze tova (10., 21., 42. i 58. dan). Merenja su izvršena na elektronskoj

21 vagi sa tačnošću od 1 g. Iz razlika telesnih masa na početku i kraju svake faze tova, kao i na

22 osnovu trajanja svake faze tova, izračunat je ukupni i dnevni prirast za svaku fazu tova. Na

23 kraju svake faze tokom celog oglada izmerena je količina utrošene hrane i rastur hrane za

24 svaku grupu (ova merenja su vršena po boksevima, 6 po grupi). Iz dobijenih podataka o

25 utrošku i rasturu hrane izračunata je ukupna i dnevna konzumacija posebno za svaku fazu

26 tova. Na osnovu podataka o utrošku hrane (konzumaciji) i prirastu izračunata je konverzija

27 hrane za svaku fazu tova (pri ovom izračunavanju boks je bio eksperimentalna jedinica).

29 **F) Analiza krvnog seruma (holesterol i trigliceridi)**

30 Za određivanje koncentracije triglicerida i holesterola korišćen je enzimski, kolorimetrijski

31 GPO/PAP i CHOD-PAP test.

33 **G) Masa organa**

34 Nakon evisceracije trupova 42. i 58. dana eksperimenta sa jetre, slezine, srca i jajnika je

35 uklonjeno adherirajuće tkivo i izmerena je masa ovih organa na vagi sa preciznošću od 1 g.

36 Nakon određene apsolutne mase organa izračunata je i relativna masa organa u odnosu na

37 živu masu brojlera za svaki period.

39 **H) Histološka ispitivanja**

40 Za oba eksperimentalna perioda (42. dan i 58. dan), odmah nakon klanja izvađen je

41 gastrointestinalni trakt i segmenti dugi približno 1 cm uzeti iz srednjeg dela duodenuma,

42 jejunuma i ileuma, isprani su fiziološkim rastvorom i fiksirani u puferisanom 10% rastvoru

43 formalina. Nakon fiksacije i oblikovanja uzorci creva su dehidrirani kroz seriju etil alkohola

44 rastućih koncentracija, prosvetljeni u ksilolu, infiltrirani parafinom i uklapani u parafinske

45 blokove. Preseci debljine od 5-8 μ m postavljeni su na staklene pločice i bojeni Majerovim

46 hematoksilinom i eozinom. Histomorfometrijske analize su izvršene korišćenjem svetlosnog

47 mikroskopa Olympus BX53, sa kamerom UC50 i softvera SensEntry 1.13. Određivana je

48 visina resica, širina resica i dubina kriпти. Na osnovu ovih merenja izračunat je odnos Visina

49 resice/Dubina kriпти za svaki segment creva (duodenum, jejunum i ileum).

50 **I) Mikrobiološka ispitivanja**

51 Na kraju konvencionalnog (42 dana) i produženog (58 dana) tova neposredno nakon klanja i

52 evisceracije brojlera uzet je sadržaj cekuma. Uzorci za bakteriološka ispitivanja uzeti su

53 direktno iz creva sterilnim špricom i transportovani u hladnim uslovima do laboratorije. Oko 1

54 g crevnog sadržaja dodat je u 9 ml fiziološkog rastvora (0,9% NaCl) i homogenizovan tokom 3

55 minuta na vortex mikseru. Od ovih homogenata su pravljena decimalna razblaženja od 10^{-2}

56 do 10^{-9} . Kako bi se odredio broj *Lactobacillus* spp., 0,1 ml odgovarajućeg razblaženja

57 zasejavano je direktno na selektivnu podlogu MRS agara (MRS, Hi Media, India). Petri ploče

58 su inkubirane pri temperaturi 30 °C tokom 72 h, a mikroaerofilni uslovi su bili obezbeđeni

1 primenom Anaerocult A GasPak CO₂ sistema (Merck, Darmstadt, Germany). Rezultati su
2 izražavani kao log CFU po gramu intestinalnog sadržaja.

3 4 **J) Određivanje ukupnih proteina i aktivnosti antioksidativnih enzima u homogenatima** 5 **jetre**

6 Na kraju konvencionalnog (42. dan) i produženog (58. dan) tova neposredno nakon klanja i
7 evisceracije brojlera uzeti su uzorci jetre i zamrznuti u tečnom azotu (-196 °C). U
8 homogenatima jetre pilića izvršene su sledeće analize:

- 9 – Određivanje ukupnih proteina jetre;
- 10 – Aktivnost superoksid-dismutaze (SOD);
- 11 – Aktivnost katalaze (CAT);
- 12 – Aktivnost glutation-peroksidaze (GSH-Px).

13 14 **K) Analize kostiju**

15 Nakon rasecanja trupova i izdvajanja bataka sa karabatakom, sve meko tkivo i hrskavica su
16 uklonjeni sa leve tibije i izmerena je masa kostiju, zatim je izračunata relativna masa tabije u
17 odnosu na živu masu brojlera. Za određivanje mineralnog sastava kostiju korišćene su
18 sledeće metode:

- 19 – Određivanje sadržaja sirovog pepela (SRPS ISO 5984:2013);
- 20 – Određivanje sadržaja fosfora (spektrometrijska metoda) (SRPS ISO 6491:2002);
- 21 – Određivanje sadržaja kalcijuma (metoda atomske apsorpcione spektrometrije)
22 (modifikovana SRPS ISO 6869:2008).

23 24 **L) Određivanje prinosa mesa**

25 Na kraju oba eksperimentalna perioda, brojlerima je uskraćena hrana 12 h pre klanja i
26 izmerena je masa pre klanja. Nakon omamljivanja električnom strujom zaklani su
27 presecanjem jugularne vene i izmerena je masa trupova obrađenih na način «spremno za
28 roštilj». Na osnovu dobijenih podataka izračunat je randman klanja. Nakon hlađenja i merenja
29 mase, trupovi su rasecani na način propisan Pravilnikom o kvalitetu mesa pernate živine (Sl.
30 List SFRJ 1/81 i 51/88) na osnovne delove (batak sa karabatakom, grudi, krila, vrat, leđa sa
31 karlicom) čija masa je takođe određena na vagi sa tačnošću od ±1 g. Na osnovu mase trupa i
32 mase osnovnih delova izračunat je udeo svakog dela trupa u ohlađenom trupu brojlera. Grudi
33 i batak sa karabatakom su iskošćeni kako bi se utvrdile mase i odnosi tkiva (mišićno tkivo,
34 koža, kosti).

35 36 **M) Određivanje hemijskog sastava mesa brojlera**

37 Za hemijsku analizu uzimani su uzorci mišićnog tkiva grudi i bataka sa karabatakom, a
38 korišćene su sledeće metode:

- 39 – Određivanje sadržaja proteina prema standardu SRPS ISO 937:1992;
- 40 – Određivanje sadržaja vode prema standardu SRPS ISO 1442:1998;
- 41 – Određivanje sadržaja ukupne masti prema standardu SRPS ISO 1443:1992;
- 42 – Određivanje sadržaja ukupnog pepela prema standardu SRPS ISO 936:1999.

43 44 **N) Merenje pH vrednosti i temperature mesa**

45 Merenje pH vrednosti izvršeno je 15-30 minuta, 24 sata i 48 sati nakon klanja, na kraju
46 konvencionalnog i produženog tova, pH-metrom «Testo 205» (Nemačka) koji meri pH i
47 temperaturu mesa direktnim ubadanjem sonde pH-metra u muskulaturu grudi (*m. pectoralis*).
48 Merenja temperature izvršena su 15-30 minuta nakon klanja za oba eksperimentalna perioda.

49 50 **O) Analiza genisteina u mesu grudi**

51 Nakon ekstrakcije iz uzoraka mesa, sadržaj genisteina u mesu grudi brojlera određen je
52 HPLC-DAD-ESI-MS/MS tehnikom.

53 54 **P) Određivanje sposobnosti vezivanja vode**

55 Sposobnost vezivanja vode (SVV) određena je preko gubitka tečnosti bez primene spoljašnje
56 sile (pritiska), tzv. „bag“ metodom. Uzorci su mereni na vagi sa tačnošću ±0,01 g. Gubitak
57 tečnosti je prikazan kao procenat gubitka mase nakon 24, odnosno 48 sati čuvanja na +4 °C.

1 **Q) Metode određivanja TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances)**

2 U uzorcima mesa karabataka skladištenih pri temperaturi -20 °C tokom 1, 3, 6, 9 i 12 meseci,
3 za oba eksperimentalna perioda, utvrđen je sadržaj malondialdehida (MDA) korišćenjem TBK
4 testa.

5 6 **R) Senzorska analiza**

7 U kvantitativnoj deskriptivnoj analizi učestvovalo je deset obučanih ocenjivača odabranih
8 prema standardima (SRPS EN ISO 8586-2:2012; SRPS EN ISO 8586:2015). Termički
9 obrađeni uzorci mesa grudi, odnosno bataka sa karabatakom su isečeni i posluženi
10 panelistima koji su ocenjivali boju, miris, ukus, mekoću, sočnost i ukupnu prihvatljivost na
11 skali u opsegu od 1 do 7. Prihvatljivim su se smatrali svi parametri koji su dobili ocenu višu od
12 3,5 (SRPS ISO 6564:2001).

13 14 **S) Izračunavanje ekonomičnosti proizvodnje**

15 Na osnovu strukture obroka i cene pojedinih sirovina izračunata je cena koštanja jednog
16 kilograma hrane za svaku eksperimentalnu grupu. Ekonomski pokazatelji (ekonomičnost,
17 cena koštanja i finansijski rezultat) izračunati su na kraju ogleada, i za konvencionalnu dužinu
18 tova (42 dana), i za produženi tov (58 dana) preko ostvarene vrednosti i troškova proizvodnje.
19 Konstrukcija kalkulacije proizvodnje mesa brojlera izvršena je na osnovu strukture cene
20 koštanja, tako što su učešće troškova amortizacije, lični dohodak, indirektni troškovi, troškovi
21 početne supstance i ostalih materijalnih troškova fiksni za sve grupe piladi, a samo troškovi
22 hrane imaju varijabilan karakter.

23 24 **T) Statistička obrada podataka**

25 U statističkoj analizi dobijenih rezultata korišćene su kao osnovne statističke metode
26 deskriptivni statistički parametri (aritmetička sredina, standardna devijacija, standardna
27 greška, minimalna, maksimalna vrednost i koeficijent varijacije). Značajnost razlika između
28 srednjih vrednosti ispitivanih grupa brojlera utvrđena je univarijantnom analizom varijance
29 (ANOVA) uz Tukey *post-hoc* test. Za proizvodne rezultate boks se smatrao
30 eksperimentalnom jedinicom, dok su svi ostali parametri analizirani na pojedinačnim
31 životinjama. Statistička značajnost je određena na nivou $P < 0,05$. Svi dobijeni rezultati
32 prikazani su tabelarno i grafički. Statistička analiza dobijenih rezultata urađena je u
33 statističkom paketu PrismaPad 6.00 za Windows (GraphPad Software, San Diego, CA, USA,
34 www.graphpad.com).

35
36 Poglavlje **Rezultati ispitivanja**, shodno postavljenim zadacima, podeljeno je u devetnaest
37 potpoglavlja.

38 **Prvo potpoglavlje** se odnosi na hemijski sastav potpunih smeša za ishranu brojlera za sve tri
39 faze tova, kao i za produženi tov (do 58. dana). Sve eksperimentalne grupe su dobijale hranu
40 istog hemijskog sastava. Potpune smeše za ishranu piladi III (finišer) u svim ispitivanim
41 grupama su bile izoenergetske i izoproteinske i razlikovale su se samo u količini dodatog
42 čistog ekstrakta genisteina (0 mg/kg, 200 mg/kg, 400 mg/kg, 600 mg/kg i 800 mg/kg). Sadržaj
43 proteina je opadao od prve do treće faze tova, tako da je najviši bio u potpunoj smeši za
44 ishranu piladi I (22,4%), a najniži u potpunoj smeši za ishranu piladi III (18,19%). U istom
45 opadajućem nizu (starter>grover>finišer) bio je i sadržaj pepela, kalcijuma i fosfora. U
46 potpunoj smeši za ishranu piladi II sadržaj vlage, masti i sirove celuloze je bio najviši, dok je
47 sadržaj BEM-a bio najniži. Sadržaj vlage, masti i sirove celuloze je bio viši u potpunoj smeši
48 za ishranu piladi I (12,61%, 6,89%; 2,74%, pojedinačno), u odnosu na potpunu smešu za
49 ishranu piladi III (10,54%; 6,48%; 2,59%, pojedinačno), dok je sadržaj BEM-a bio niži u
50 potpunoj smeši za ishranu piladi I (50,04%) nego u potpunoj smeši za ishranu piladi III
51 (57,09%).

52 U **drugom potpoglavlju** su prikazani rezultati analitičkog sadržaja genisteina u potpunim
53 smešama za ishranu piladi III. U hrani koju je dobijala kontrolna grupa brojlera utvrđeno je da
54 je sadržaj genisteina bio niži od 20 mg/kg. U hrani oglednih grupa brojlera, nakon mešanja i
55 peletiranja, sadržaj genisteina bio je 97 (O-I), 213 (O-II), 432 (O-III) i 651 mg/kg (O-IV).

56 Rezultati antioksidativne aktivnosti metanolnog ekstrakta hrane koju su dobijali brojleri
57 kontrolne i oglednih grupa tokom završne i produžene faze tove (od 21. do 58. dana tova)
58 dobijeni inhibicijom lipidne peroksidacije (LP) i FRAP testom predstavljeni su u **trećem**
59 **potpoglavlju**. Vrednosti LP testa su bile značajno više za hranu u kojoj je dodato 200 mg/kg
60 genisteina (11,6 mg/ml) u poređenju sa svim ostalim uzorcima hrane. Ekstrakti kontrolnih

1 uzoraka i hrane sa dodatim 400, 600 i 800 mg/kg genisteina se nisu razlikovali u sposobnosti
2 da inhibiraju lipidnu peroksidaciju i date vrednosti bile su u opsegu od 6,3 do 8,8 mg/ml.
3 Vrednosti FRAP testa ispitivanih ekstrakta hrane bile su u opsegu od 14,7 do 16,9 $\mu\text{g eq}$
4 askorbinske kiseline/g hrane, pri čemu se antioksidativni kapacitet svih uzoraka nije značajno
5 razlikovao.

6 Zdravstveno stanje brojlera tokom eksperimenta opisano je u **četvrtom potpoglavlju**. Tokom
7 svih faza konvencionalnog tova, kao i tokom produženog tova, brojleri kontrolne i oglednih
8 grupa bili su normalne telesne građe, pravilno razvijenog koštano-mišićnog sistema, živahnog
9 temperamenta, dobre kondicije i aktivni sa dobrom koordinacijom pokreta. Koža i vidljive
10 sluznice bile su uobičajnog izgleda. Apetit je bio dobar kod svih eksperimentalnih grupa, a
11 feces uobičajno formiran za datu provenijenciju. Tokom celog eksperimenta nije došlo do
12 poremećaja zdravstvenog stanja i/ili ispoljavanja kliničkih simptoma bolesti i nije utvrđeno
13 uginjavanje brojlera.

14 U **petom potpoglavlju** Rezultata ispitivanja prikazani su proizvodni rezultati brojlera u tovu.
15 Prosečna masa piladi na početku ogleada bila je $44,11 \pm 4,25$ g, dok je 10. dana tova prosečna
16 masa svih brojlera bila $343,10 \pm 32,14$ g. Dvadeset i prvog dana eksperimenta prosečna masa
17 piladi je bila ujednačena po grupama u opsegu od 966,90 g (K grupa) do 993,30 g (O-II
18 grupa). Nakon konvencionalnog tova (42. dan) prosečna masa brojlera koji su u hrani dobijali
19 400 i 600 mg/kg genisteina (2847 i 2781 g, pojedinačno) bila je značajno veća od mase
20 kontrolne grupe brojlera (2623 g). Nakon produžene faze tova telesna masa brojlera bila je u
21 opsegu od 3835 g (O-III) do 4122 g (O-II) bez uočene značajne razlike među ispitivanim
22 grupama brojlera.

23 Ukupni, odnosno dnevni prirast brojlera tokom prve i druge faze tova iznosio je 299 g i 635,3
24 g, odnosno 29,9 g i 63,53 g, pojedinačno. Od 21. do 42. dana tova uočen je značajan
25 pozitivni efekat dodavanja 400, 600 i 800 mg/kg genisteina u hrani na ukupni (1854, 1809 i
26 1793 g, pojedinačno) i dnevni prirast (92,68, 90,45 i 89,63 g, pojedinačno) brojlera u
27 poređenju sa kontrolnom grupom (1656 g i 82,81 g, pojedinačno). Na kraju produženog tova
28 u O-III grupi brojlera zabeležen je značajno niži ukupni (1139 g) i dnevni prirast (75,92 g) u
29 poređenju sa i ostalim grupama brojlera (ukupni prirast: 1293 g (K), 1298 g (O-I), 1323 g (O-
30 II) i 1407 g (O-IV); dnevni prirast: 86,19 g (K), 86,51 g (O-I), 88,21 g (O-II) i 93,78 g (O-IV)).

31 Od prvog do desetog dana tova ukupan, odnosno dnevni unos hrane, iznosio je 341,4 g i
32 34,14 g, dok od jedanaestog do dvadesetog dana ogleada je iznosio 847,3 g i 84,73 g,
33 pojedinačno. Na kraju konvencionalnog tova, kao i nakon produženog tova, najveću ukupnu
34 konzumaciju imala je O-II grupa brojlera (3293 g i 3484 g, pojedinačno), dok na kraju
35 konvencionalnog tova O-III (2964 g) i O-IV (2959 g) grupe brojlera su imale najmanji unos
36 hrane. Za oba perioda nije uočena značajna razlika u količini unete hrane između kontrolne i
37 oglednih grupa brojlera.

38 Za period od 21. do 42. dana tova značajno bolju konverziju hrane su imali brojleri O-III i O-IV
39 grupe (1,64 i 1,65, pojedinačno), u poređenju sa kontrolnom grupom (1,96). Za vreme
40 produženog tova najbolju konverziju imala je grupa brojlera koja je u hrani dobijala 800 mg/kg
41 genisteina (2,37) i značajno se razlikovala od O-III grupe koja je hrani dobijala 600 mg/kg
42 genisteina (2,88).

43 U **potpoglavlju šest**, iz rezultata biohemijskih analiza krvi može se uočiti da je nakon
44 konvencionalnog i produženog tova najviša koncentracija holesterola bila je u kontrolnoj grupi
45 (3,42 i 3,36 mmol/l), dok je najniža zabeležena u O-II grupi brojlera (2,81 i 2,77 mmol/l),
46 međutim bez utvrđene značajne razlike za oba eksperimentalna perioda. Suplementacijom od
47 200 do 800 mg/kg genisteina značajno je snižena koncentracija triglicerida u serumu (0,35,
48 0,34, 0,30, 0,31 mmol/l, za O-I, O-II, O-III i O-IV grupu, pojedinačno) tokom konvencionalnog
49 tova u poređenju sa kontrolnom grupom brojlera (0,50 mmol/l), dok nakon produžene faze
50 tova značajan negativni efekat na ovaj parametar je uočen suplementacijom 600 i 800 mg/kg
51 genisteina (0,42 i 0,43 mmol/l, pojedinačno) u odnosu na kontrolnu grupu brojlera (0,31
52 mmol/l).

53 U **potpoglavlju sedam** prikazana je apsolutna i relativna masa organa. Nakon prvog
54 eksperimentalnog perioda (42. dan) značajno veća masa slezine i srca utvrđena kod grupe
55 brojlera koja je u hrani dobijala 800 mg/kg genisteina (3,87 g i 17,33 g, pojedinačno), masa
56 jetre se nije razlikovala između svih ispitivanih grupa, dok masa jajnika je bila manja od 1 g za
57 sve grupe brojlera. Produženi tov nije doveo do razlike u masi jetre, slezine i srca, masa
58 jajnika kontrolne grupe je i dalje bila < 1 g, dok je masa jajnika O-IV grupe brojlera (1,17 g) bila
59 značajno niža u odnosu na O-I i O-III grupu brojlera (2,17 g i 1,83 g, pojedinačno). Relativna
60 masa slezine O-IV grupe (0,137%) 42. dana tova bila je značajno viša u odnosu na sve ostale

1 grupe brojlera, dok se relativna masa srca ove grupe razlikovala samo u odnosu na grupu
2 koja dobijala 200 mg/kg genisteina u hrani. Nakon drugog eksperimentalnog perioda utvrđena
3 je značajno niža relativna masa jajnika O-IV grupe u poređenju sa O-I i O-III grupom brojlera.
4 **Potpoglavlje osam** Rezultata ispitivanja odnosi se na sadržaj ukupnih proteina i aktivnost
5 enzima antioksidativne zaštite u jetri brojlera. Nakon prvog eksperimentalnog perioda
6 aktivnost enzima SOD bila je značajno niža u grupi koja je u hrani dobijala 400 mg/kg
7 genisteina u poređenju sa grupom suplementiranom sa 200 mg/kg genisteina, dok dodavanje
8 600 mg/kg genisteina značajno je smanjilo aktivnost enzima GSH-Px u jetri brojlera O-III
9 grupe u poređenju sa kontrolnom i ostalim oglednim grupama. Nakon drugog
10 eksperimentalnog perioda uočen je značajno niži sadržaj proteina jetre (3,25 mg proteina/ml),
11 i viša aktivnost enzima SOD i CAT (1,23 mU/mg proteina i 1,75 mU/mg proteina,
12 pojedinačno) u grupi brojlera koja je dobijala 200 mg/kg genisteina u hrani u odnosu na ostale
13 ispitivane grupe brojlera, dok je aktivnost GSH-Px ove grupe (229,9 mU/mg proteina) bila
14 značajno viša u odnosu na K, O-III i O-IV grupu brojlera. Kod O-III grupe brojlera utvrđena je
15 značajno niža aktivnost enzima SOD (0,91 mU/mg proteina) u poređenju sa O-IV grupom i
16 enzima CAT (0,83 mU/mg proteina) u poređenju sa kontrolnom i O-IV grupom brojlera.
17 Aktivnost enzima GSH-Px u jetri brojlera hranjenih sa 400 mg/kg genisteina (208,0 mU/mg
18 proteina) bila je značajno viša od kontrolne i grupe brojlera koji su u hrani dobijali 600 mg/kg
19 genisteina.

20 Rezultati histomorfometrijskih ispitivanja prikazanih u **potpoglavlju devet** pokazuju da nakon
21 42. dana eksperimenta u duodenumu brojlera iz grupa koje su u hrani dobijale genistein
22 visina resica je bila viša, međutim od kontrolne grupe (1197 μm) značajno se razlikovala
23 samo O-II grupa brojlera (1284 μm). Dodavanje 400, 600 i 800 mg/kg genisteina značajno je
24 smanjilo širinu resica u duodenumu. Pored toga, u svim oglednim grupama brojlera koje su
25 hranjene hranom sa dodatim genisteinom dubina kripti je bila značajno niža (133,6, 131,3,
26 131,4, i 125,9 μm , za O-I, O-II, O-III i O-IV grupu, pojedinačno), a odnos visina resice/dubina
27 kripti značajno viši (9,10, 9,86, 9,38 i 10,10, za O-I, O-II, O-III i O-IV grupu, pojedinačno) u
28 poređenju sa kontrolnom grupom (162,9 μm i 7,48, pojedinačno). Nakon drugog
29 eksperimentalnog perioda (58. dan) genistein nije imao efekat na visinu resica, širina resica je
30 bila značajno smanjena u grupi koja je u hrani dobijala 800 mg/kg genisteina, dok je dubina
31 kripti značajno manja bila u O-II, O-III i O-IV grupama brojlera. Suplementacija od 800 mg/kg
32 značajno je poboljšala odnos visina resica/dubina kripti (8,02) u duodenumu u poređenju sa
33 svim ostalim ispitivanim grupama brojlera.

34 Nakon prvog eksperimentalnog perioda na parametar visine resica najbolji efekat je postignut
35 sa 400 mg/kg genisteina (1132 μm), dok je 800 mg/kg genisteina značajno smanjio i visinu
36 (880,1 μm) i širinu crevnih resica (62,5 μm) u jejunumu. Značajno dublje kripe i značajno niži
37 odnos visina resice/dubina kripti u odnosu na kontrolnu grupu zabeleženi su u O-III i O-IV
38 grupama brojlera. Nakon produženog tova visina resica i odnos visina resica/dubina kripti bili
39 su značajno viši u svim oglednim grupama suplementiranim genisteinom, dok širina resica
40 značajno veća je bila u O-II, O-III i O-IV grupama brojlera u poređenju sa kontrolnom grupom.
41 Dodavanje 200 i 800 mg/kg genisteina značajno je smanjilo dubinu kripti u mukozni jejunuma
42 ovih grupa brojlera.

43 Porast količine genisteina u hrani uticao je na smanjenje visine resica u ileumu brojlera, gde
44 su se nakon 42. dana tova značajno razlikovale grupe sa 600 i 800 mg/kg genisteina u hrani,
45 dok nakon 58. dana sve grupe koje su dobijale genistein u hrani su imale značajno nižu visinu
46 resica u odnosu na kontrolnu grupu brojlera. U svim oglednim grupama dodavanje genisteina
47 je negativno uticalo na odnos visina resice/dubina kripti, sa najnižim odnosom u O-III grupi
48 (3,63) za oba eksperimentalna perioda.

49 U **potpoglavlju deset** pokazano je da se broj bakterija mlečne kiseline (BMK) u cekumu nije
50 značajno razlikovao između oglednih grupa nakon 42. dana tova, dok sa dodavanjem 200
51 mg/kg genisteina u hrani njihov broj se značajno smanjio (5,80 log CFU/g) u poređenju sa
52 kontrolnom grupom (6,40 log CFU/g). Međutim, nakon produženog tova (58. dan), broj BMK u
53 cekumu brojlera je bio značajno viši u grupama koje su u hrani dobijale genistein u količinama
54 od 400, 600 i 800 mg/kg (6,24, 6,42, 6,38 log CFU/g, pojedinačno).

55 **Potpoglavlje jedanaest** Rezultata ispitivanja odnosi se na masu i hemijski sastav tibije
56 brojlera. Utvrđeno je da su grupe koje su u hrani dobijale genistein u količini od 200, 400 i 600
57 mg/kg imale značajno veću apsolutnu masu tibije u odnosu na kontrolnu grupu, dok sa
58 produženim tovom nije uočen efekat dodavanja genisteina u hrani na apsolutnu masu tibije.
59 Sadržaj pepela tibije grupa brojlera suplementiranih sa 200, 400 i 600 mg/kg genisteina bio je
60 značajno viši u odnosu na kontrolnu grupu brojlera nakon 42. dana tova, dok je nakon

1 produženog tova uočen značajno niži sadržaj pepela tibije u O-I i O-II grupi brojlera (36,77% i
2 39,05%, pojedinačno) u poređenju sa kontrolnom grupom (42,96%). Nakon prvog
3 eksperimentalnog perioda u grupama koje su u hrani dobijale 200 i 400 mg/kg genisteina
4 utvrđen je značajno viši sadržaj kalcijuma tibije (17,33% i 16,75%, pojedinačno) u poređenju
5 sa kontrolnom grupom (15,32%), dok je sa produženom suplementacijom ovih količina
6 genisteina uočen negativni efekat na posmatrani parametar (12,95% i 13,66%, pojedinačno).
7 Najniži sadržaj kalcijuma nakon 42. dana tova uočen je u O-IV grupi brojlera (14,24%),
8 međutim nakon produženog tova sadržaj kalcijuma tibije ove grupe (14,74%) nije se značajno
9 razlikovao od kontrolne grupe (14,91%). Grupe koje su u hrani dobijale 200 i 400 mg/kg
10 genisteina nakon 42. dana tova imale su značajno viši sadržaj fosfora u uzrocima tibije u
11 poređenju sa grupama koje su bile suplementirane sa 600 i 800 mg/kg genisteina. Nakon 58.
12 dana tova grupa koja je dobijala 400 mg/kg genisteina je imala najviši (8,13%), a grupa sa
13 200 mg/kg genisteina u hrani najniži (6,68%) sadržaj fosfora i po ovom parametru se nisu
14 značajno razlikovale od kontrolne grupe brojlera (7,35%).

15 Parametri prinosa mesa brojlera prikazani su u **potpoglavlju dvanaest**. Utvrđeno je da je
16 dodavanje genisteina u hrani povećalo prosečnu masu trupa i randman u oglednim grupama
17 brojlera nakon 42. i 58. dana tova. Nakon prvog eksperimentalnog perioda masa grudi, krila i
18 leđa bila je značajno veća u grupama suplementiranim genisteinom, dok nisu uočene razlike
19 u masi bataka sa karabatakom i masi vrata. Nakon drugog eksperimentalnog perioda (58.
20 dan) masa svih posmatranih delova ohlađenog trupa nije se značajno razlikovala između
21 kontrolne i oglednih grupa brojlera. Nakon prvog eksperimentalnog perioda udeo mase grudi
22 u masi trupa bio je značajno veći, a mase vrata značajno manji u grupama koje su u hrani
23 dobijale genistein u odnosu na kontrolnu grupu, dok procentualna zastupljenost mase ostalih
24 delova trupa se nije razlikovala između eksperimentalnih grupa. Nakon produženog tova udeo
25 mase grudi i bataka sa karabatakom u masi ohlađenog trupa bio je viši u grupama
26 suplementiranim rastućim količinama genisteina, ali bez uočene značajne razlike između
27 ispitivanih grupa. Dodavanje različitih količina genisteina u hrani za brojlere tokom prvog
28 eksperimentalnog perioda imalo je pozitivni uticaj na masu mesa i kosti grudi i bataka sa
29 karabatakom, dok efekat na masu kože nije uočen. Sa produženom suplementacijom
30 genisteina efekat na ove parametre nije uočen za grudi, međutim masa femura i tibije (85,8 g)
31 je bila značajno viša, a kože (48 g) bataka sa karabatakom značajno niža u grupi koja je
32 dobijala 800 mg/kg genisteina u odnosu na kontrolnu grupu brojlera (71,8 g i 62,7 g,
33 pojedinačno). Nakon prvog eksperimentalnog perioda udeo mase grudne kosti bio je viši kod
34 svih oglednih grupa, dok samo O-IV grupa brojlera je imala značajno manji udeo kože
35 (7,01%) u odnosu na kontrolnu grupu (9,30%). Slično, udeo mase kostiju bataka sa
36 karabatakom (19,91%) je bio značajno viši, a udeo kože (11,30%) značajno niži nakon
37 drugog eksperimentalnog perioda kod grupe koja je dobijala 800 mg/kg genisteina u hrani.

38 U **potpoglavlju trinaest** prikazana je pH vrednost i temperatura mesa grudi brojlera nakon
39 klanja. Nakon prvog eksperimentalnog perioda značajno viša pH vrednost mesa 45 min.
40 nakon klanja utvrđena je kod O-II, O-III i O-IV grupe brojlera (6,27, 6,30 i 6,29, pojedinačno) u
41 odnosu na kontrolnu grupu (6,08), dok nakon drugog eksperimentalnog perioda nisu uočene
42 razlike u pH vrednosti mesa grudi 45 min, 24 h i 48 h nakon klanja između svih ispitivanih
43 grupa brojlera. Značajno viša temperatura mesa grudi (39,03 °C) utvrđena je kod O-IV grupe
44 brojlera 15-20 minuta nakon klanja u odnosu na kontrolnu grupu (35,38 °C).

45 U **potpoglavlju četrnaest** može se videti da su sve grupe brojlera koje su u hrani dobijale
46 genistein tokom prvog eksperimentalnog perioda imale značajno bolju sposobnost vezivanja
47 vode, sa najboljim efektom postignutim u količini od 800 mg/kg (0,55%). Nakon produženog
48 tova značajno bolju SVV vrednost imale su grupe suplementirane sa 200, 400 i 600 mg/kg
49 genisteina u hrani (0,658%, 0,749% i 0,936%, pojedinačno) u odnosu na kontrolnu grupu
50 (1,582%).

51 Hemijski sastav mesa grudi i karabataka prikazan je u **potpoglavlju petnaest**. Genistein u
52 hrani ostvario je sličan efekat na hemijski sastav mesa grudi i karabataka brojlera oglednih
53 grupa nakon prvog eksperimentalnog perioda, gde se može uočiti značajno viši sadržaj vode i
54 niži sadržaj pepela, bez razlika u sadržaju proteina. Međutim, nakon drugog
55 eksperimentalnog perioda razlike u hemijskom sastavu su bile izraženije, naročito u pogledu
56 značajno višeg sadržaja proteina, i značajno nižeg sadržaja vode i masti u mesu grudi i
57 karabataka oglednih grupa u odnosu na kontrolnu grupu brojlera.

58 U **šesnaestom potpoglavlju** Rezultata ispitivanja prikazano je da je sadržaj genisteina u
59 mesu grudi brojlera kontrolne i oglednih grupa za oba eksperimentalna perioda bio ispod
60 granice kvantifikacije (<5,6 nmol/kg mesa).

1 Održivost mesa tokom skladištenja izražena kao TBARS vrednost (mg MDA/kg) prikazana je
2 u **potpoglavlju sedamnaest** Rezultata ispitivanja. U uzorcima karabataka uzetih posle klanja
3 42. dana, nakon tri i devet meseci skladištenja kontrolna grupa je imala značajno viši sadržaj
4 MDA u odnosu na grupe koje su u hrani dobijale 200, 400 i 800 mg/kg genisteina. Nakon šest
5 meseci skladištenja grupa koja je dobijala 800 mg/kg genisteina imala je najniže TBARS
6 vrednosti u uzorcima karabataka (0,27) koje su se značajno razlikovale od kontrolne grupe
7 (0,42). Na početku (0. dan) i na kraju skladištenja (12. mesec) nisu uočene razlike u TBARS
8 vrednosti mesa karabataka ispitivanih grupa. Posle drugog eksperimentalnog perioda u
9 uzorcima karabataka kontrolne grupe TBARS vrednost nakon tri, šest i devet meseci
10 skladištenja bila je značajno viša u odnosu na sve ogleadne grupe. Dodatno, grupa koja je u
11 hrani dobijala 800 mg/kg genisteina imala je najnižu TBARS vrednost 0. dana (0,14) i tokom
12 celog perioda skladištenja (0,21, 0,55, 0,61, 0,98 mg MDA/kg, za 3., 6., 9., i 12. mesec
13 skladištenja, pojedinačno).

14 **Potpoglavlje osamnaest** odnosi se na senzorska ispitivanja mesa grudi i bataka sa
15 karabatakom. Nakon prvog eksperimentalnog perioda meso grudi grupe suplementirane sa
16 200 mg/kg genisteina u hrani dobila je najniže ocene za ukus (5,56) i ukupnu prihvatljivost
17 (5,56), i značajno se razlikovala od O-III grupe koja je bila najbolje ocenjena za ova dva
18 parametra (6,75 i 6,81, pojedinačno). Razlike u ocenama boje, mirisa, mekoće i sočnosti nisu
19 uočene između svih ispitivanih grupa. Slično uzorcima mesa grudi, i uzorci bataka sa
20 karabatakom se nisu razlikovali u oceni boje i mirisa između ispitivanih grupa. Uzorci bataka
21 sa karabatakom grupa suplementiranih sa 600 i 800 mg/kg genisteina su dobile najviše ocene
22 za ukus i mekoću, a grupa koja je u hrani dobijala 800 mg/kg genisteina je bila najbolje
23 ocenjena za sočnost (6,87) i ukupnu prihvatljivost (7,00).

24 Nakon produženog tova (58. dan) senzorskom analizom uzoraka mesa grudi nije utvrđena
25 razlika u boji, O-II grupa je bila najbolje ocenjena za ukus, mekoću i sočnost i po ovim
26 parametrima značajno se razlikovala od kontrolne grupe. Meso grudi grupa suplementiranih
27 sa 400 i 800 mg/kg genisteina bilo je najprihvatljivije (7,00 i 6,86) i značajno se razlikovalo od
28 ostalih grupa brojlera. Uzorci bataka sa karabatakom nakon produženog tova nisu se
29 razlikovali u pogledu boje i mirisa. Značajno niže ocene za ukus dobila je grupa brojlera sa
30 600 mg/kg genisteina u hrani (6,00) u odnosu na kontrolnu grupu (6,57), dok kontrolna i grupa
31 suplementirana sa 600 mg/kg genisteina su dobile najniže ocene za mekoću, sočnost i
32 ukupnu prihvatljivost.

33 U **potpoglavlju devetnaest** su prikazani različiti pokazatelji ekonomičnosti proizvodnje tokom
34 konvencionalne i produžene završne faze tova. Za periode od 21.-42. i od 43.-58. dana tova
35 ukupna potrošnja hrane bila je oko 224,4 kg i 121,02 kg za sve grupe, pojedinačno. S
36 povećanjem količine genisteina za 200 mg rasla je cena hrane za 9,17 dinara, tako da je kod
37 kontrolne grupe iznosila 40,20 din, a kod O-IV grupe 76,88 din. Ukupni prirast je bio niži u
38 kontrolnoj grupi (119,23 kg) u odnosu na sve ogleadne u kojima je ukupni prirast bio u opsegu
39 od 125,78 kg (O-I grupa) do 133,49 kg (O-III grupa) nakon 42. dana tova, dok nakon 58. dana
40 najniži prirast je zabeležen u O-III grupi (41,00 kg), a najviši u O-IV grupi brojlera (50,65 kg).
41 Ukupni troškovi za prvi eksperimentalni period su najniži bili u kontrolnoj grupi, dok u
42 ogleadnim grupama su bili viši za 13,76%, 35,08%, 39,51% i 54,51%. Za drugi eksperimentalni
43 period rast ukupnih troškova u O-I i O-II ogleadnoj grupi bio je manji upoređujući sa
44 konvencionalnim tovom (11,41% i 34,55%), a veći u O-III i O-IV grupi brojlera (44,29% i
45 62,37%). Vrednost proizvodnje nakon 42. dana tova bila je za ogleadne grupe viša u proseku
46 7% u odnosu na kontrolnu grupu. Nakon 58. dana tova porast vrednosti proizvodnje uočena
47 je u O-I (0,39%), O-II (2,32%) i O-IV (8,81%) grupi u odnosu na kontrolnu grupu, dok je u O-III
48 grupi vrednost proizvodnje bila niža za 11,92%. Finansijski rezultat za prvi eksperimentalni
49 period bio je u opsegu od 776,7 din (O-IV grupa) do 6210,6 din (K grupa), dok nakon
50 produženog tova je bio negativan u svim ogleadnim grupama i to u opsegu od -3190 din (O-III
51 grupa) do -51 din (O-I grupa). Cena koštanja po kilogramu je nakon konvencionalnog tova
52 rasla sa porastom količine genisteina u hrani, pa je najviša bila u grupi sa 800 mg/kg
53 genisteina 153,98 din, dok je u kontrolnoj grupi iznosila 107,91 din. Za razliku od prvog
54 eksperimentalnog perioda, nakon 58. dana tova najviša cena koštanja je uočena u grupi koja
55 je dobijala 600 mg/kg genisteina u hrani (237,8 din) koja je bila 63,82% viša u odnosu na
56 cenu koštanja kontrolne grupe (145,16 din). Koeficijent ekonomičnosti bio je najbolji u
57 kontrolnoj grupi za prvi eksperimentalni period (1,48), a u ogleadnim grupama se smanjivao za
58 0,11, 0,25, 0,32 i 0,44 u O-I, O-II, O-III i O-IV grupama, pojedinačno. Produženi tov je takođe
59 doveo do nižih vrednosti koeficijenta ekonomičnosti u ogleadnim grupama u odnosu na

1 kontrolnu grupu, pri čemu je najlošiju isplativost poslovanja ostvarila grupa suplementirana sa
2 600 mg/kg genisteina (0,67).

3
4 U poglavlju **Diskusija** kandidat kritički razmatra, objašnjava procese i dobijene rezultate
5 poredi sa rezultatima drugih autora. **Diskusija** prema predstavljenim rezultatima ispitivanja
6 podeljena je na osamnaest potpoglavlja koja se odnose na hemijski sastav i antioksidativni
7 kapacitet hrane, proizvodne rezultate, biohemijske analize krvi, mase organa i aktivnost
8 enzima antioksidativne zaštite jetre, histomorfometrijske analize i broj BMK cekuma, hemijski
9 sastav tibije, klanične parametre, fizičko-hemijske i hemijske parametre mesa, senzorska
10 ispitivanja i ekonomičnost proizvodnje.

11
12 U poglavlju **Spisak literature** navedeno je 378 referenci.

13 14 15 VI ZAKLJUČCI ISTRAŽIVANJA (navesti zaključke koji su prikazani u doktorskoj 16 disertaciji):

17 Na osnovu dobijenih rezultata izvedeni su sledeći **Zaključci**:

- 18 1. Hemijski sastav potpunih smeša za ishranu brojlera kontrolne i oglednih grupa (grupa
19 sa dodatim genisteinom) u svim fazama konvencionalnog tova (do 42. dana-prvi
20 period), kao i za produženi tov (do 58. dana-drugi period) nije se razlikovao, odnosno
21 bio je izoproteinski i izoenergetski izbalansiran. Sadržaj genisteina u potpunim
22 smešama za ishranu brojlera povećao se srazmerno povećanju dodate količine
23 genisteina. Korišćenim testovima nije utvrđeno da dodavanje genisteina povećava
24 antioksidativnu aktivnost hrane za brojlere.
- 25 2. Dodavanje preparata genisteina u količini od 400 i 600 mg/kg hrane rezultiralo je
26 većom ($P < 0,05$) telesnom masom u odnosu na kontrolnu grupu brojlera tokom prvog
27 perioda, s tim da navedeni trend nije uočen nakon produženog tova. Tokom prvog
28 perioda uočen je veći ($P < 0,05$) ukupni i dnevni prirast kod grupa brojlera koje su
29 putem hrane dobijale veće količine preparata genisteina (400, 600 i 800 mg/kg).
- 30 3. Grupe brojlera koje su u hrani dobijale veće količine genisteina (600 i 800 mg/kg)
31 ostvarile su i bolju ($P < 0,05$) konverziju tokom prvog perioda tova u odnosu na brojlere
32 kontrolne grupe, dok je nakon produženog tova najbolju konverziju ostvarila grupa
33 brojlera koja je suplementirana najvećom količinom genisteina (800 mg/kg).
34 Dodavanje preparata genisteina u hrani za brojlere nije uticalo na konzumaciju hrane.
- 35 4. Na kraju prvog perioda, kao i produženog tova, nisu utvrđene razlike u koncentraciji
36 ukupnog serumskog holesterola oglednih i kontrolne grupe brojlera. Posle prvog
37 perioda tova koncentracija triglicerida u krvi oglednih grupa brojlera bila je niža
38 ($P < 0,05$) od koncentracije triglicerida u kontrolnoj grupi brojlera, a posle produženog
39 tova bila je viša ($P < 0,05$) kod oglednih grupa koje su u hrani dobijale najveće količine
40 (600 mg/kg, odnosno 800 mg/kg) genisteina.
- 41 5. Na kraju prvog perioda, kao i posle produženog tova, nije utvrđena razlika između
42 prosečnih masa jetre oglednih i kontrolne grupe brojlera. Samo posle prvog perioda
43 tova prosečna masa srca, odnosno slezine, bila je veća ($P < 0,05$) kod oglednih grupa
44 brojlera. Utvrđeno je da je masa jajnika posle produženog tova bila veća ($P < 0,05$) kod
45 oglednih grupa u odnosu na kontrolnu grupu brojlera.
- 46 6. Posle prvog perioda tova nije uočena razlika u sadržaju ukupnih proteina i aktivnosti
47 enzima antioksidativne zaštite jetre, sa izuzetkom enzima GSH-Px čija aktivnost je
48 bila manja ($P < 0,05$) u grupi brojlera koja je u hrani dobijala 600 mg/kg genisteina.
49 Nakon produženog tova sadržaj ukupnih proteina bio je manji ($P < 0,05$), a aktivnost
50 enzima SOD, CAT i GSH-Px veća kod ogledne grupe brojlera koja je u hrani dobijala
51 200 mg/kg genisteina u odnosu na kontrolnu i ostale ogledne grupe brojlera.
- 52 7. U duodenumu nakon prvog perioda uočen je pozitivan efekat suplementacije
53 genisteina u hrani oglednih grupa brojlera na visinu resice, dubinu kripti i odnos visina
54 resice/dubina kripti ($P < 0,05$), a nakon produženog tova ovaj efekat je uočen na
55 dubinu kripti i odnos visina resice/dubina kripti ($P < 0,05$). Više i šire recice, pliče kripti
56 i povoljniji odnos visina resice/dubina kripti ($P < 0,05$) u jejunumu utvrđen je kod
57 brojlera koji su dobijali genistein u hrani tokom produžene faze tova. U ileumu,
58 suplementacija genisteinom nakon oba perioda, smanjila je visinu resica i odnos
59 visina resice/dubina kripti ($P < 0,05$), a najniže vrednosti ($P < 0,05$) ovih parametra
60 uočene su u grupi brojlera koja je dobijala 600 mg/kg genisteina.

- 1 8. Dodavanje preparata genisteina u hrani za brojere nije uticalo na ukupan broj BMK u
2 cekumu nakon prvog perioda, s tim da je najmanji broj bakterija utvrđen u grupi
3 brojlera koja je putem hrane dobijala 200 mg/kg genisteina. Nakon produženog tova,
4 dodavanje većih količina genisteina (400, 600 i 800 mg/kg hrane) rezultiralo je većim
5 ($P<0,05$) brojem BMK u odnosu na brojere kontrolne grupe.
- 6 9. Posle prvog perioda tova kod oglednih grupa brojlera utvrđena je veća ($P<0,05$) masa
7 tibije i veći ($P<0,05$) sadržaj pepela i kalcijuma u kostima. Kod oglednih grupa
8 brojlera, posle produženog tova, sadržaj pepela i kalcijuma u kostima bio je manji
9 ($P<0,05$) u odnosu na kontrolnu grupu brojlera.
- 10 10. Utvrđeno je da su ogledne grupe brojlera posle prvog perioda, kao i posle
11 produženog tova, imale bolje ($P<0,05$) parametre prinosa mesa (masa trupa, masa
12 grudi, masa bataka sa karabatakom i njihova zastupljenost u masi trupa).
- 13 11. Posle prvog perioda tova pH vrednost mesa grudi brojlera oglednih grupa merena 45
14 minuta nakon klanja bila je viša ($P<0,05$) od pH vrednosti mesa grudi brojlera
15 kontrolne grupe. Razlike nisu utvrđene 24 i 48 sati posle klanja ($P>0,05$). Nisu
16 utvrđene razlike između pH vrednosti (merene 45 minuta, 24 i 48 sati posle klanja)
17 mesa grudi oglednih i kontrolne grupe brojlera posle produženog tova. Posle
18 prvog perioda, kao i posle produženog tova, utvrđena je veća ($P<0,05$) sposobnost
19 vezivanja vode mesa grudi oglednih grupa brojlera.
- 20 12. Posle prvog perioda nisu uočene razlike u hemijskom sastavu mesa grudi i
21 karabataka između kontrolne i oglednih grupa brojlera, izuzev manjeg ($P<0,05$)
22 sadržaja proteina i većeg ($P<0,05$) sadržaja vode u mesu grudi brojlera
23 suplementiranih sa 600 mg/kg genisteina. Nakon produženog tova utvrđeno je da je
24 sadržaj proteina u mesu grudi brojlera oglednih grupa bio veći, a sadržaj vode i masti
25 manji ($P<0,05$) u odnosu na meso grudi kontrolne grupe brojlera, dok je za isti period
26 u mesu karabataka uočen niži ($P<0,05$) sadržaj masti u oglednim u odnosu na
27 kontrolnu grupu brojlera.
- 28 13. Sadržaj metabolita genisteina u mesu grudi oglednih i kontrolne grupe brojlera bio je
29 posle prvog perioda tova, kao i posle produženog tova, ispod granice kvantifikacije
30 (5,6 nmol/kg mesa).
- 31 14. Nakon prvog perioda utvrđeno je da je sadržaj malondialdehida u mesu karabataka
32 grupa suplementiranih sa 400 i 800 mg/kg genisteina bio manji ($P<0,05$) posle tri,
33 šest, odnosno devet meseci skladištenja zamrzavanjem nego u mesu karabataka
34 kontrolne grupe brojlera, dok nakon produženog tova za iste intervale skladištenja
35 sadržaj malondialdehida bio je niži ($P<0,05$) u mesu karabataka svih oglednih grupa u
36 odnosu na kontrolnu grupu brojlera.
- 37 15. Senzorskom analizom je utvrđeno da je meso grudi i bataka sa karabatakom grupa
38 brojlera koje su u hrani dobijale genistein bilo bolje ocenjeno ($P<0,05$) za mekoću i
39 sočnost. Najviše ocene ($P<0,05$) za prihvatljivost dobile su grupe suplementirane sa
40 600 i 800 mg/kg genisteina nakon prvog perioda tova, i grupe suplementirane sa 400
41 i 800 mg/kg genisteina nakon produženog tova.
- 42 16. Dodavanje genisteina u hrani brojlera povećalo je troškove hrane, ukupne troškove i
43 vrednost proizvodnje. Finansijski rezultat je bio pozitivan za prvi period, a negativan
44 za produženi tov brojlera svih oglednih grupa. Posle prvog perioda najmanji
45 koeficijent ekonomičnosti utvrđen je kod grupe brojlera koja je u hrani dobijala 800
46 mg/kg genisteina, a nakon produženog tova kod grupe brojlera koja je dobijala 600
47 mg/kg genisteina u hrani.

50 **VII OCENA NAČINA PRIKAZA I TUMAČENJA REZULTATA ISTRAŽIVANJA (navesti da li**
51 **su dobijeni rezultati u skladu sa postavnjenim ciljem i zadacima istraživanja, kao i da li**
52 **zaključci proizilaze iz dobijenih rezultata):**

53 Prikazani rezultati su u skladu sa postavljenim ciljevima i zadacima istraživanja i iz njih jasno
54 proističu izneti zaključci.

VIII KONAČNA OCENA DOKTORSKE DISERTACIJE:

1. Da li je disertacija napisana u skladu sa obrazloženjem navedenim u prijavi teme?

Doktorska disertacija je napisana u skladu sa obrazloženjem navedenim u prijavi teme.

2. Da li disertacija sadrži sve elemente propisane za završenu doktorsku disertaciju?

Doktorska disertacija Milice Glišić, Dr. vet. med., sadrži sve elemente propisane za završenu doktorsku disertaciju.

3. Po čemu je disertacija originalan doprinos nauci?

Doktorska disertacija Milice Glišić, originalan je doprinos nauci, budući da na jedan sveobuhvatan način govori o uticaju izoflavona genisteina u ishrani brojlera starijih od tri nedelje na proizvodne rezultate i niz bioloških parametara vezanih za lipidni i oksidativni status, histomorfometriju segmenata tankog creva, broj *Lactobacillus* spp. u cekumu i hemijski sastav kostiju. Takođe, pruža detaljan uvid u prinos, kvalitet i održivost mesa, kao i mogućnost akumuliranja genisteina u mesu brojlera i objašnjava, uzimajući u obzir ove faktore, da suplementacija genisteinom u dozama višim od 400 mg/kg nije opravdana. Dodatno, ukazuje da korišćenje visokih doza čistog ekstrakta genisteina tokom konvencionalne (u trajanju od 21 dana) i produžene završne faze tova brojlera (u trajanju od 37 dana) nema ekonomsku isplativost, što predstavlja informaciju od značaja u savremenom uzgoju živine u kojem se teži upotrebi alternativnih stimulatora rasta.

4. Da li je mentor tokom provere originalnosti disertacije utvrdio neopravdano preklapanje teksta sa drugim publikacijama (odgovoriti sa da ili ne):

Ne

IX SPISAK NAUČNIH RADOVA SADRŽINSKI POVEZANIH SA DOKTORSKOM DISERTACIJOM U KOJIMA JE DOKTORAND PRVI AUTOR ODNOSNO AUTOR SA NAJVEĆIM DOPRINOSOM (napisati imena svih autora, godinu objavljivanja, naslov rada, naziv časopisa, impakt faktor i klasifikaciju prema Pravilniku o postupku, načinu vrednovanja, i kvantitativnom iskazivanju naučnoistraživačkih rezultata istraživača):

Rad u međunarodnom časopisu (M23) IF (2019) 0,847

Glisic Milica, Boskovic Marija, Baltic Z. Milan, Šefer Dragan, Radovanovic Anita, Djordjevic Vesna, Raseta Mladen, & Markovic Radmila. (2020). Performance, intestinal histomorphology and bone composition of broiler chickens fed diets supplemented with genistein. *South African Journal of Animal Science*, 50, 2, 241-252. <http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v50i2.7>
ISSN 0375-1589

Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u izvodu (M34)

Glišić Milica, Baltić Milan, Janjić Jelena, Glišić Marija, Ivanović Jelena, Vukmirović Đuro, & Marković Radmila. (2016). Effect of dietary isoflavone supplementation on growth performance in broilers. XVII International Symposium "Feed Technology" Novi Sad, October, 25-27., p 281.

Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u celini (M33)

Marković Radmila, Baltić Ž. Milan, Pavlović Marija, **Glišić Milica**, Radulović Stamen, Đorđević Vesna, & Šefer Dragan. (2015). Isoflavones - from biotechnology to functional foods. *Procedia Food Science*, 5, 176-179.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33

X PREDLOG:

Na osnovu ukupne ocene disertacije, komisija predlaže (odabrati jednu od tri ponuđenih mogućnosti):

- da se doktorska disertacija prihvati, a kandidatu odobri odbrana

DATUM

POTPISI ČLANOVA KOMISIJE

10.08.2020. god.

dr Radmila Marković, redovni profesor,
Fakultet veterinarske medicine,
Univerzitet u Beogradu

dr Dragan Šefer, redovni profesor,
Fakultet veterinarske medicine,
Univerzitet u Beogradu

dr Anita Radovanović, redovni profesor,
Fakultet veterinarske medicine,
Univerzitet u Beogradu

dr Jelena Janjić, naučni saradnik,
Fakultet veterinarske medicine,
Univerzitet u Beogradu

dr Lidija Perić, redovni profesor,
Poljoprivredni fakultet,
Univerzitet u Novom Sadu