



УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
АНИМАЛНА ПРОИЗВОДЊА

**ПРИРОДНА УГЉЕНОХИДРАТНА ФРАКЦИЈА
ИЗ ЋЕЛИЈСКОГ ЗИДА КВАСЦА
(*SACCHAROMYCES CEREVISIAE*) У ИСХРАНИ
ТОВНИХ ПИЛИЋА**

ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

Ментори:

проф. др Лидија Перић

проф. др Драган Гламочић

Кандидат:

MSc. Мирко Ивковић

Нови Сад, 2015. године

УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА

Редни број: РБР	
Идентификациони број: ИБР	
Тип документације: ТД	Монографска документација
Тип записа: ТЗ	Текстуални штампани материјал
Врста рада: ВР	Докторска дисертација
Име и презиме аутора: АУ	Мирко Ивковић
Ментор: МН	др Лидија Перић, редовни професор др Драган Гламочић, редовни професор
Наслов рада: НР	Природна угљенохидратна фракција из ћелијског зида квасца (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) у исхрани товних пилића
Језик публикације: ЈП	Српски
Језик извода: ЈИ	Српски / Енглески
Земља публикавања: ЗП	Република Србија
Уже географско подручје: УГП	Војводина
Година: ГО	2015
Издавач: ИЗ	Ауторски репринт
Место и адреса: МА	Пољопривредни факултет, Департман за сточарство, Трг Доситеја Обрадовића 8, 21000 Нови Сад
Физички опис рада: ФО	8 поглавља / 146 страница / 11 слика / 2 графикона / 48 табела / 175 референци
Научна област: НО	Биотехничке науке
Научна дисциплина: НД	Исхрана живине
Предметна одредница, кључне речи: ПО	Исхрана, бројлери, квасац, мананолигосахариди, пехарасте ћелије

УДК:	572.023:636.5:663.12(043.3)
Чува са: ЧУ	Библиотека Пољопривредног факултета, Нови Сад
Важна напомена: ВН	Нема
<p>Извод: ИЗ</p> <p>Препарати ћелијског зида квасца користе се у исхрани домаћих животиња са циљем побољшања њихових производних резултата и здравља. Ћелијски зид квасца садржи две врсте бета глукана и алфа манан чијим разлагањем настају мананолигосахариди. Овим једињењима се приписују бројна корисна дејства као што су везивање непожељних бактерија и микотоксина, имуномодулаторно дејство итд. Огледи обухваћени овом дисертацијом испитивали су утицај једног новог препарата ћелијског зида квасца на бројлерске пилиће. У првом огледу, два нивоа препарата су поређена са стандардном смешом и праћен је утицај на телесне масе пилића, конверзију хране, морталитет пилића, дужине и масе црева, масе различитих органа, бактеријске популације црева, морфометрију црева, пехарасте ћелије у епителу црева и стање простирке. У наредном огледу три концентрације препарата су поређене са контролном групом и праћени су исти параметри као у првом огледу, осим бактеријских популација, дужина и маса црева и стања простирке. У трећем и четвртном огледу, испитивања препарата су вршена на пилићима који су са 13 дана старости раздвојени у тежинске групе. Трећи оглед је, уз праћење производних параметара, обухватио испитивања цревних ресица и пехарастих ћелија епитела црева, док су се у четвртном огледу испитивали само производни резултати. Добијени резултати, тумачени у контексту бројних других истраживања на ову тему, указују да додаток препарата ћелијског зида квасца може довести до побољшања производних параметара бројлерских пилића. Просечно побољшање које се добија употребом новог препарата слично је или благо боље од просечних побољшања до којих доводе ранији слични препарати. Завршна телесна маса је просечно већа за око 40 g, утрошак хране по тони произведене живе масе смањен је за око 34 kg хране, а преживљавање пилића је веће за око 1,5%. Од испитиваних концентрација препарата, најефикаснијом се показала 0,04%, односно 400 g препарата по тони хране. Ова концентрација је неколико пута нижа од уобичајено коришћених концентрација претходних сличних препарата, што потврђује да је нови препарат концентрисанији од претходних. Утврђена је велика варијабилност дејства препарата ћелијског зида квасца која се кретала од потпуног изостанка утицаја до веома снажних ефеката. Део ове варијабилности се може објаснити различитим условима узгајања пилића. У четири огледа обухваћена дисертацијом потврђена је хипотеза да се дејство препарата јаче испољава када су пилићи у неповољнијој ситуацији. Најјаче дејство је забележено у огледу у коме су постигнути најслабији производни резултати, а најслабије у огледу са најбољим производним резултатима. Трећи и четврти оглед су показали да се пилићи чија телесна маса одступа од просека суочавају са различитим проблемима. Додатак препарата је делимично успео да ублажи уочене проблеме код пилића малих и великих телесних маса, не мењајући при томе битно резултате просечних пилића. Ово указује да препарат испољава своје дејство првенствено на пилићима угроженим одређеним проблемима, што је веома важно за његову практичну примену. Додатак препарата није изазвао</p>	

промене у броју укупних аеробних и анаеробних бактерија, лактобактерија, бифидобактерија, ентерокока и *E. coli* у садржају слепих црева бројлерских пилића. Утицаји додатка препарата на дужину танког црева и његових поједних делова, масе црева, масе органа, висину и ширину цревних ресица, дубину цревних крипти и остале везане параметре били су варијабилни. Није утврђено да постоји директна повезаност ових промена са производним резултатима, па се може претпоставити да се ради о ефектима који се јављају паралелно се побољшањем производних резултата, а не као узрок тог побољшања. Најјачи утицај препарата утврђен је на пехарасте ћелије црева бројлерских пилића.

Датум прихватања теме од стране
НН већа:
ДП

14.12.2012.

Датум одбране:
ДО

Чланови комисије:
КО

др Лидија Перић, редовни професор
УНО Сточарство
Пољопривредни факултет, Нови Сад
Ментор

др Драган Гламочић, редовни професор
УНО Исхрана животиња
Пољопривредни факултет, Нови Сад
Ментор

др Милош Беуковић, редовни професор
УНО Исхрана животиња
Пољопривредни факултет, Нови Сад
Члан

др Драган Жикић, ванредни професор
УНО Анатомија, хистологија и
физиологија животиња
Пољопривредни факултет, Нови Сад
Члан

др Живан Јокић, редовни професор
УНО Исхрана животиња
Пољопривредни факултет, Београд
Члан

**UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF AGRICULTURE**

KEY WORDS DOCUMENTATION

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documents
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD thesis
Author: AU	Mirko Ivković
Mentor: MN	Lidija Perić, PhD, full profesor Dragan Glamović, PhD, full profesor
Title: TI	Natural carbohydrate fraction from the cell wall of yeast (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) in broiler chicken nutrition
Language of text: LT	Serbian
Language of abstract: LA	Serbian / English
Country of publication: CP	Republic of Serbia
Locality of publication: LP	Vojvodina
Publication year: PY	2015
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	Faculty of Agriculture, Department of Animal Science, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Нови Сад
Physical description: PD	8 chapters / 146 pages / 11 images / 2 graphs / 48 tables / 175 references
Scientific field: SF	Biotechnical sciences
Scientific discipline: SD	Poultry nutrition
Subject, key words: SKW	Nutrition, broilers, yeast, mannan-oligosaccharides, goblet cells
UC:	572.023:636.5:663.12(043.3)

Holding data: HD	The Faculty Library of Faculty of Agriculture, Novi Sad
Note: N	None
<p data-bbox="236 347 359 414">Abstract: AB</p> <p data-bbox="236 459 1359 2027">Yeast cell wall products are used in animal nutrition to improve their performance and health. The yeast cell wall contains two beta glucans and alpha mannan that can be degraded into mannan-oligosaccharides. Numerous positive effects are attributed to these compounds, like binding unwanted bacteria and mycotoxins, modulating immune response etc. Trials within this PhD thesis focused on testing effect of a new yeast cell wall product on broiler chickens. In first trial, diets containing two levels of product were compared to a standard diet, and following parameters were recorder: body weight, feed conversion ratio, chicken mortality, lengths and weights of intestine, organ weights, bacterial populations of digesta, small intestine morphometrics, goblet cells of intestinal epithelium and litter quality. Next trial compared three concentrations of the product with a control group. Same parameters to that in first trial were recorded, except lengths and weights of intestine, bacterial populations of digesta and litter quality. In the third and the fourth trial, the yeast cell wall product's effect was tested on broiler chickens grouped according to their 13th day body weight. Performance, intestinal villi and goblet cells were monitored in the third trial, and only performance data in the fourth trial. Results, interpreted in the context of numerous other studies on this subject, indicate that feeding the yeast cell wall product can improve performance of broiler chickens. Average improvement observed using the new product is similar to, or slightly better than, average improvements observed using earlier similar products. Final body weight was increased by 40 g, feed consumption per tonne of live weight was reduced by 34 kg of feed, and survival rate of chicks was 1.5% higher. The most effective concentration was 0.04% (400 g/t). This concentration is several times lower than usual concentrations of previous similar products, confirming that the new product is more concentrated than the previous ones. Effects were very variable, ranging from the complete absence of influence to very strong effects. Part of this variability can be explained by the different conditions of broiler growing. In four experiments covered by the thesis, the hypothesis that the effects are stronger when chickens are facing certain challenges was confirmed. The strongest effect was observed in the experiment when the worst performance was achieved, and the weakest effect was observed in the trial with the best production results. The third and fourth trial showed that the broilers with low or high body weight face different problems. Feeding the yeast cell wall product partially alleviated problems identified in chickens with low and high body weight, without changing results of average chicks. These results suggest that this product exerts its effect mainly on chickens challenged with certain problems. This conclusion is very important for product's practical application. The yeast cell wall product did not cause changes in the number of total aerobic and anaerobic bacteria, lactobacteria, bifidobacteria, enterococci and E. coli in the digesta of broiler chickens. Effects on the length of the small intestine and certain parts of it, the weight of the intestine, organs weight, height and width of the intestinal villi, depth of intestinal crypts and other related parameters were variable. It seems that there is not a direct correlation of these parameters with the performance results. It can be assumed that these effects are not the cause of observed performance</p>	

improvements. The strongest effect of yeast cell wall product was observed on the goblet cells in the intestine of broiler chickens.	
Accepted by Scientific Board on: AS	14.12.2012.
Defended: DE	
Thesis Defend Board: DB	<p>Lidija Perić, PhD, full profesor Scientific field – Animal husbandry Faculty of Agriculture, Novi Sad Mentor</p> <p>Dragan Glamočić, PhD, full profesor Scientific field – Animal nutrition Faculty of Agriculture, Novi Sad Mentor</p> <p>Miloš Beuković, PhD, full profesor Scientific field – Animal nutrition Faculty of Agriculture, Novi Sad Member</p> <p>Dragan Žikić, PhD, associate profesor Scientific field – Anatomy, histology and physiology of animals Faculty of Agriculture, Novi Sad Member</p> <p>Živan Jokić, PhD, full profesor Scientific field – Animal nutrition Faculty of Agriculture, Beograd Member</p>

САДРЖАЈ

1. УВОД.....	1
Исхрана у живинарству.....	1
Адитиви у исхрани живине.....	3
Пивски квасац и производи добијени од њега.....	4
2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ.....	7
Хемијски састав и грађа зида квасца.....	7
Маноза, манани, мананолигосахариди и њихово дејство	12
Бета глукани и њихово дејство.....	17
Препарати на бази ћелијског зида квасца	20
Утицај препарата ћелијског зида квасца на производне параметре домаћих животиња.....	23
3. РАДНА ХИПОТЕЗА	26
4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА	28
Оглед 1.....	28
Производни оглед	28
Праћење производних параметара	32
Жртвовања пилића и мерења унутрашњих органа	32
Морфометријске анализе танких црева	33
Микробиолошке анализе цревног садржаја	36
Оцена квалитета простирке.....	37
Статистичка обрада добијених резултата	37
Оглед II.....	38
Производни оглед и праћење производних показатеља.....	38
Жртвовања пилића, мерења унутрашњих органа и морфометријске анализе	40
Статистичка обрада добијених резултата	41
Оглед III.....	41
Производни оглед и праћење производних показатеља.....	41
Жртвовања пилића, мерења унутрашњих органа и морфометријске анализе	44
Статистичка обрада добијених резултата	45
Оглед IV.....	45

Производни оглед и праћење производних показатеља.....	45
Статистичка обрада добијених резултата	47
Заштита добробити животиња.....	47
5. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА.....	48
Оглед 1.....	48
Оглед 2.....	58
Оглед 3.....	70
Оглед 4.....	84
6. ДИСКУСИЈА.....	93
Оглед 1.....	93
Оглед 2.....	94
Оглед 3.....	95
Оглед 4.....	97
Утицај додатка ПУФ-а на телесне масе и прирасте бројлерских пилића.....	98
Утицај додатка ПУФ-а на конверзију хране код бројлерских пилића	100
Утицај додатка ПУФ-а на морталитет бројлерских пилића	102
Утицај тежинских група на производне параметре бројлерских пилића	104
Интеракција утицаја тежинских група и додатка ПУФ-а на производне параметре бројлерских пилића.....	108
Утицај додатка ПУФ-а на бактеријске популације слепих црева код бројлерских пилића.....	109
Утицај додатка ПУФ-а, старости и тежинске групе на морфометријске параметре црева бројлерских пилића	112
Утицај додатка ПУФ-а на пехарасте ћелије танких црева бројлерских пилића	115
Утицај додатка ПУФ-а на унутрашње органе бројлерских пилића.....	118
Утицај додатка ПУФ-а на температуру, влажност и оцену простирке	120
7. ЗАКЉУЧАК.....	122
8. ЛИТЕРАТУРА.....	126

1. УВОД

Исхрана у живинарству

Исхрана је веома важна у савременој производњи живинског меса и јаја. Иако је, унапређењем конверзије, потрошња хране по јединици производа битно смањена, истовремено су смањени и остали трошкови производње, па исхрана није изгубила на значају. Ефикасном инкубаторском производњом смањена је цена пилета, механизацијом и аутоматизацијом смањени су трошкови радне снаге, убрзањем това смањени су трошкови смештаја и грејања, а добром хигијенском праксом и превентивом избегавају се трошкови лечења и угинућа, па исхрана у савременој живинарској производњи представља највећи појединачни трошак. Трошкови исхране обично чине 50 до 70% од укупних трошкова производње бројлерских пилића. Због тога, исхрани живине се мора посветити велика пажња. Економична живинарска производња није могућа без прецизно избалансиране исхране.

Gallus gallus domesticus, домаћа кокош, врста је која се све више шири и има изузетно важно место у савременој пољопривреди. Овоме су првенствено допринеле особине ове врсте које је чине погодном за брзо генетско унапређење - кратак међугенерациски интервал и велика плодност. По овим параметрима кокош далеко надмашује домаће сисаре. Не треба занемарити ни чињеницу да је мала величина велика предност ове домаће животиње. Мале димензије

условљавају мање потребе за простором и храном по једној јединки и доводе до тога да се уз иста средства може гајити много већи број јединки. Због тога, много је лакше и јефтиније чувати генетску разноликост, стварати нове расе и хибриде и вршити различита испитивања код живине, него код крупнијих домаћих животиња. Из претходно наведених разлога, кокош је домаћа животиња која је, методама селекције и хибридизације, највише унапређена у претходном веку. Симбол индустријализованог и модерног сточарства је управо бројлерско пиле.

Насупрот репродуктивним предностима и веома брзом генетском напретку, домаћа кокош се не одликује нарочито добром могућношћу варења. Ово је нарочито изражено код младих животиња, као што су бројлерски пилићи. Због тога се у њиховој исхрани користе лако сварљива хранива, као што су кукуруз и соја, па чак и хранива анималног порекла, као што је рибље брашно. Кукуруз обезбеђује пилићима енергију у форми лако доступног угљеног хидрата - скроба, а соја и њени производи, квалитетне протеине, потребне за изградњу телесних ткива, и масти, које су најбогатији извор енергије. Због веома брзог прираста, нивои протеина неопходни у исхрани бројлера су веома високи. Да би се постигло што успешније коришћење протеина, у оброке за бројлерске пилиће се по правилу додају и синтетске аминокиселине. Кукуруз се донекле може заменити другим житарицама, али је тада потребан додатак ензима који ће бројлерима помоћи у варењу нескробних полисахарида из ових житарица. Ради постизања уштеда и разноврсности исхране, у смеше за исхрану бројлера се у мањој мери укључују и хранива као што су пшенично сточно брашно и мекиње, сунцокретова и репичина сачма итд. Потребе у макроелементима се углавном задовољавају класичним минералним хранивима као што су сточна со, сточна креда, монокалцијум и дикалцијум фосфат, сода бикарбона итд., док се за снабдевање микроелементима уз класичне минералне изворе могу користити и органски везани минерали - хелати. Обавезно се користе и синтетички витамини. Поред наведених хранива, која треба животињама да обезбеде енергију, аминокиселине, минерале и витамине, у исхрани живине се користе и различити адитиви.

Адитиви у исхрани живине

Адитиви, односно додаци сточној храни, имају важно место у исхрани живине. Поред додатака који имају нутритивни карактер и ензима који омогућују живињама да успешније сваре и искористе храну, веома су заступљени и адитиви који помажу животињама да одрже добро здравље. Антибиотици су дуго времена били веома популарни и ефикасни адитиви у исхрани живине. Не само да су смањивали учесталост угинућа, већ су знатно побољшавали прираст пилића и конверзију хране. Никада нису дефинитивно објашњени механизми њиховог стимулативног деловања. Насупрот бројним предностима, показало се да употреба антибиотика у стимулативне сврхе има и озбиљних мана. Коришћење ниских доза антибиотика на великом броју јединки обезбеђује идеалне услове за развој сојева бактерија отпорних на антибиотике. Нарочиту опасност представља могућност преноса таквих сојева на људе. Првобитно решење овог проблема је било ограничавање употребе антибиотика на оне који се не апсорбују кроз зид црева и оне који се не користе у терапеутске сврхе, али се ни то више не сматра довољно безбедним. Употреба антибиотика у стимулативне сврхе најпре је забрањена у Европској унији, а затим и у Србији. Штета коју би људској популацији нанеле бактерије против којих се не бисмо могли борити антибиотцима је сувише велика да би се пристало на тај ризик.

Услед ограничавања употребе антибиотика као адитива сточној храни, развој природнијих и сигурнијих додатака је доживео експанзију. Као алтернативе забрањеним антибиотцима, нуде се пробиотици, пребиотици, мананолигосахариди, фитогени адитиви итд. Употребом пробиотика се обезбеђује унос корисних микроорганизама како би они потиснули штетне врсте у дигестивном тракту и тако обезбедили здравији дигестивни тракт, боље варење, бољу апсорпцију и мањи губитак хранљивих материја. Пребиотици треба да остваре исти циљ, али не додавањем културе корисних микроорганизама, већ уношењем супстрата који подстичу развој ових микроорганизама. При томе се полази од тога да у дигестивном тракту домаћих животиња постоје популације пожељних бактерија, а да им је само потребно обезбедити храну, тј. супстрате које омогућавају њихово брзо умножавање. Као пребиотици се често користе сложени угљени хидрати у чији састав улази

фруктоза - фруктоолигосахариди. За разлику од њих, олигомери манозе, мананолигосахариди, не служе као храна корисним бактеријама и не могу се сврстати у пребиотику, као што се то понекад погрешно чини. Сматра се да се позитивно дејство мананових једињења заснива на везивању штетних бактерија, као што је *Escherichia coli*, и њиховом избацивању из дигестивног тракта, а можда и другим механизмима као што је регулисање имуних функција организма. Мананолигосахариди се добијају из ћелијског зида пивског квасца. Фитогени адитиви су група препарата (претежно есенцијална уља) који се добијају из различитих ароматичних, лековитих и зачинских биљака као што су оригано, анис, мајчина душица, бели лук итд. Сматра се да ови адитиви имају антиоксидативно и антимикуробно дејство, што је дефинитивно доказано у *in vitro* условима, док се *in vivo* истраживања настављају. Важну групу адитива представљају и адсорбенти микотоксина, нарочито узимајући у обзир климатске прилике које погодују све већој активности плесни и последично већој продукцији њихових токсина. Две најчешће коришћене групе адсорбената микотоксина су: неорганске адсорбенти - различите алумосиликатне глине и органски адсорбенти - глукоманани добијени из ћелијског зида пивског квасца.

Пивски квасац и производи добијени од њега

Пивски или пекарски квасац (*Sacharomyces cerevisiae*) је микроорганизам који је дао значајан допринос кроз људску историју. Не може се тачно утврдити од када су људи помоћу квасца почели да производе алкохолна пића као што су вино и пиво, нити када су помоћу квасца почели да праве хлеб, али се може претпоставити да је пивски квасац први микроорганизам који су људи почели да „гаје“ и чијом су употребом овладали. У том погледу, квасцу могу да парирају само бактерије млечнокиселинског врења.

Осушени пивски квасац је храна и храниво високе вредности. Према подацима Француског националног института за истраживања у пољопривреди (INRA, 2002) квасац просечно садржи 46% сирових протеина, нешто више од стандардне сојине сачме на нашем тржишту. Аминокиселински састав ова два хранива је такође веома сличан у погледу најважнијих есенцијалних аминокиселина. Квасац има умерен садржај калцијума, а веома је богат лако

доступним нефитатним фосфором. Највећи нутритивни квалитет квасца је његов садржај витамина Б комплекса. У односу на житарице као што су кукуруз, пшеница и јечам, квасац има и по неколико десетина пута више појединих витамина из ове групе. При томе треба имати у виду да се житарице сматрају добрим извором витамина Б комплекса. Уз то, квасац садржи и кобаламин (витамин Б12), кога у житарицама и другим биљним производима нема. Наведени нутритивни квалитети су условили да се сушени пивски квасац користи као протеинско-витамински додатак у исхрани људи и животиња. У потпуне смеше за исхрану живине може се додати 2-5% пивског квасца. Ипак, ширењем употребе синтетичких витамина, значај осушеног пивског квасца као витаминског хранива у исхрани домаћих животиње је опао. Истовремено, откривају се нека нова позитивна својства квасца и квасац добија неке нове улоге.

Додатак културе живих ћелија квасца *Sacharomyces cerevisiae* у оброке преживара утиче на процес ферментације у бурагу и помаже преживарима да успешније подносе оброке са много концентрата и мало влакана. Веома мале дозе ових култура могу подићи *pH* вредност буражног садржаја, повисити конзумацију хране и њену сварљивост, и као резултат претходно наведеног, довести до већег приноса млека (Desnoyers и сар., 2009). Сматра се да квасци у бурагу обезбеђују продукте који стимулишу пораст целулолитичких бактерија које су угрожене у условима исхране са много концентрата (Callaway и Martin, 1997). Ради постизања високе производње и задовољавања великих нутритивних потреба до којих та производња доводи, у исхрани преживара се користе оброци са све више концентрованих хранива, па се употреба живих квасаца намеће као веома корисно решење. Квасци могу помоћи и у области исхране минералима (Перић и сар., 2009). Квасац узгајан на подлози богатој селеном усваја селен и везује га у органску хелатну форму – селенометионин. Овако везан селен је много лакше доступан домаћим животињама и људима него неорганска форма селена, па се на овај начин, помоћу квасца, олакшава снабдевање овим веома важним микроелементом. Из квасца се добијају и екстракти богати протеинима и нуклеотидима за које се сматра за позитивно утичу на развој дигестивног тракта код младих јединки (Уау и сар., 1990).

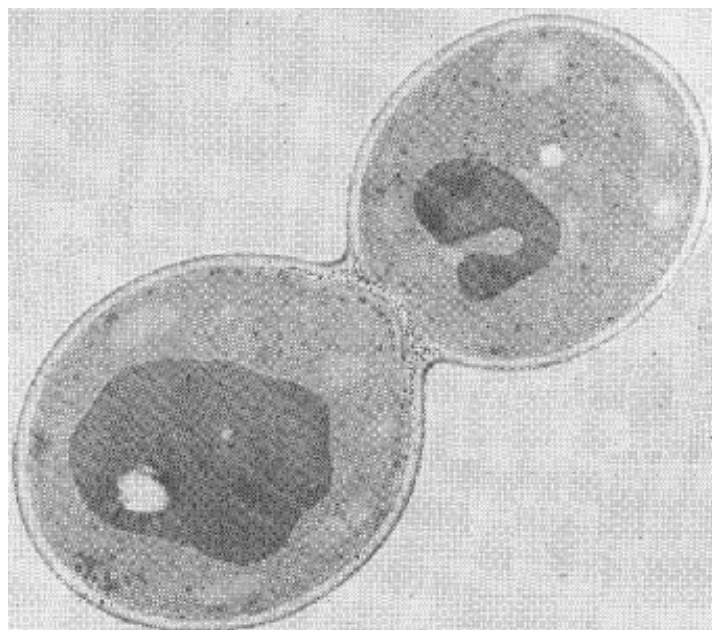
Ћелијски зид пивског квасца се састоји од бета глукана и манопротеина, а може садржати и мање количине хитина. У састав манопротеина улазе мананолигосахариди, чија је основна градивна јединица моносахарид маноза. И бета глуканима и мананолигосахаридима се приписују различита корисна дејства као што су везивање штетних бактерија и микотоксина, регулисање функције имуног система и антиоксидативно дејство. Ово је условило развој великог броја препарата на бази ћелијског зида квасца од стране више компанија које производе адитиве за сточну храну. Овакви препарати се користе већ двадесетак година са мањим или већим успехом. Иако су резултати њихове примене у *in vitro* условима јасни, не може се рећи да је њихово дејство *in vivo* потпуно успешно објашњено. Објављен је велики број радова на ову тему, али закључци ипак нису дефинитивни. Може се претпоставити да ће њихов пун потенцијал бити искоришћен тек у будућности, када механизми дејства једињења у њиховом саставу буду дефинитивно разјашњени.

2. ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

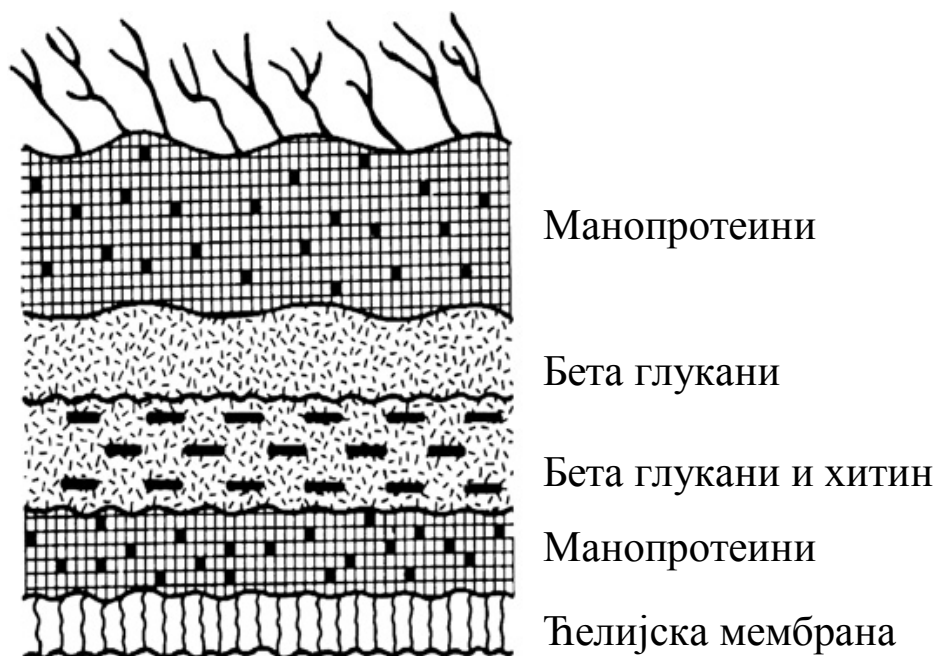
Ћелијски зид квасца и његове компоненте, а нарочито производи добијени од ћелијског зида квасца и њихова употреба у исхрани животиња, привлаче много пажње истраживача у области исхране животиња, произвођача сточне хране, као и самих сточара и живинара. Велики број истраживања на ову тему даје одговоре на једна и отвара друга питања.

Хемијски састав и грађа зида квасца

Још је давне 1936. утврђено да се у зиду квасца налази глукан (Zechmeister и Toth, 1936), а годину дана касније је из зида квасца изолован и манан (Haworth и сар., 1937, према Northcote и Horne, 1952). И каснија истраживања су потврдила да су основне компоненте зида квасца (слика 1) управо бета глукани и манопротеини, а може да садржи и мање количине хитина. Према Cabib-у и сар. (1991) ћелијски зид квасца садржи око 50% бета глукана и исто толико манопротеина. Од бета глукана, заступљенији је први тип, са β -1,3 основом и β -1,6 гранама. Овај глукан је носилац структуре зида. Други тип се састоји од линеарног β -1,6 ланца са понеком β -1,3 везом. У саставу манопротеина налази се око 90% угљених хидрата и 10% протеина (Cabib и сар., 1991). Структура ћелијског зида квасца према Kogan-у и Kocher-у (2007) приказана је на слици 2.



Слика 1. Пивски-пекарски квасац (Sabib и сар., 1991). Унутрашњи, прозирни део ћелијског зида чине бета глукани, а спољашњи, тамни део зида чине манопротеини.

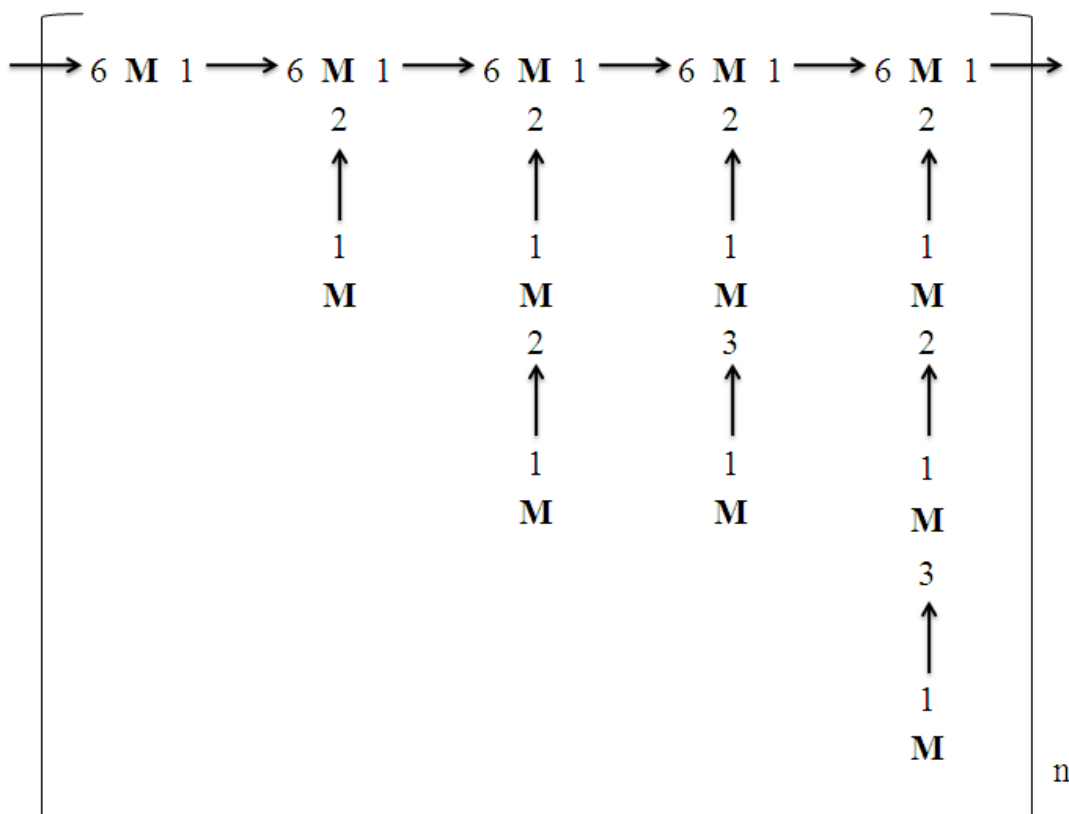


Слика 2. Шематски приказ пресека ћелијског зида и ћелијске мембране квасца (Kogan и Kocher, 2007)

Детаљнији и нешто другачији опис састава зида квасца дају Klis и сар. (2006). Они наводе да ћелијски зид чини 10-25% од укупне суве материје ћелије квасца, у зависности од услова гајења (Aguilar-Uscanga и Franscois, 2003, према Klis и сар., 2006) и да је његова функција да штити квасац од разлика у осмотском притиску, даје му облик и чврстину и спречава пролазак непожељних једињења до ћелијске мембране квасца. Према њима, зид квасца садржи 30-50% манопротеина, 35-55% бета глукана и 1,5 до 6% хитина. Умерено разгранати β -1,3 глукан, чији молекули имају облик опруге и међусобно се повезују градећи сложену мрежу, чини основу структуре ћелијског зида, дајући му чврстину и еластичност. На спољашњим странама ове мреже налази се веома разгранати и у води растворљиви β -1,6 глукан, који може бити значајан за везивање са манопротеинима, који облажу ову бета-глюканску структуру споља и изнутра. Претпоставља се, да су бар на појединим местима, манани и глукани чврсто повезани. Тако, и при веома интензивном пречишћавању глукана из зида квасца, добијени производ ипак садржи 15-45 молекула манозе по једном молекулу глукана састављеном од око 1500 јединица глукозе (Fleet и Manners, 1976, према Klis и сар., 2006). Заступљенији, β -1,3 глукан, чини 30-45% зида квасца, док на β -1,6 глукан отпада 5-10% зида квасца. Од удела зида квасца који чине манопротеини, свега 4-5% су протеини, док остатак чине угљенохидратни ланци. Као што се види, присутна је значајна варијабилност у саставу зида квасца. Klis и сар. (2006) напомињу да је зид квасца веома прилагодљива органела и да су његове промене важне за адаптацију квасца на услове спољне средине, прецизно контролисане и координисане са ћелијским циклусом квасца. Примера ради, у стресним условима се драстично повећава количина хитина, који је иначе мало заступљен у зиду квасца. Такође, у зависности од услова гајења, протеинска структура манопротеина може битно да варира.

Значајна варијабилност у саставу зида квасца присутна је и између појединих сојева. Jouany и сар. (2005) су анализирали састав ћелијског зида 4 соја квасца *Saccharomyces cerevisiae*: уобичајени, индустријски сој *sc1026*, дивљи сој *wt292* и два соја мутанта, *fks1* и *mnn9*. Садржај бета глукана у зиду квасца индустријског соја и мутанта *fks1* био је око 30%, код дивљег типа 45% и код мутанта *mnn9* чак 75%. Садржај хитина је код индустријског и дивљег соја

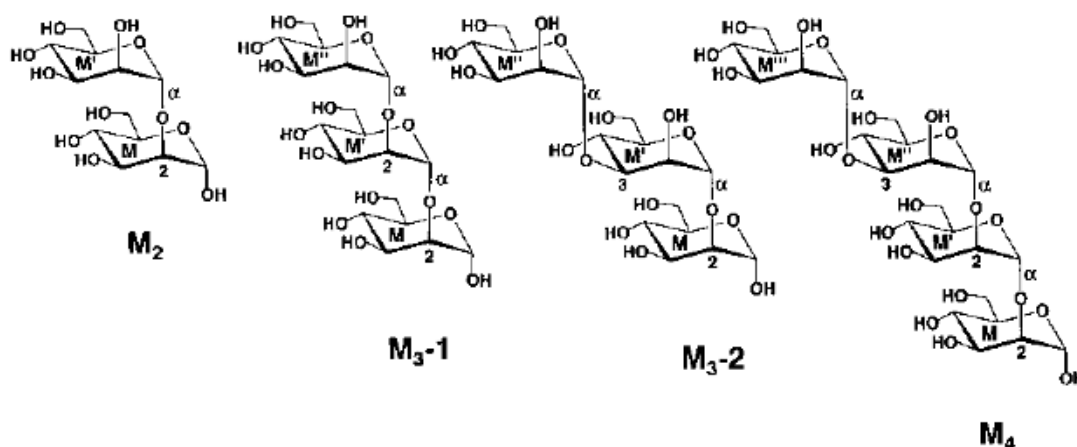
био око 2%, док је код мутаната био повишен и износио 6 до 10%. Количине манана нису експлицитно наведене у раду, али се могу израчунати на основу удела друге две компоненте зида. Битно је варирао и удео зида у сувој материји ћелије различитих сојева. Код индустријског соја је износио свега 13%, а код преостала три соја 21 до 25%.



Слика 3. Структура алфа манана из ћелијског зида квасца *Saccharomyces cerevisiae*, према Stewart и Ballau (1968), преузето од Tanimoto и сар. (2002). М означава молекуле манозе, а бројеви положаје веза.

Веома разгранати алфа манан полисахарид чини око 90% манопотеина квасца, а у њему су заступљене α -1,2, α -1,3 и α -1,6 везе. Stewart и Ballau (1968) су предложили модел структуре овог манана (према Tanimoto и сар., 2002). Овај модел је приказан на слици 3. Према њиховом моделу основни ланци овог полисахарида састављени су од молекула манозе повезаних α -1,6 везама, а

бочни ланци садрже α -1,2 и α -1,3 везе. Истраживања у наредним деценијама су потврдила ову претпоставку, па тако Vinogradov и сар. (1998) наводе да се манани већине квасаца, укључујући *Saccharomyces cerevisiae*, састоје од дугих ланаца манозе повезаних α -1,6 везама, на које су везани краћи ланци чија структура варира. Насупрот томе, манан *Candida-e utilis* (стари назив *Torula utilis*), још једног квасца који се често користи у исхрани домаћих животиња (па се стога назива и сточни квасац), садржи ланце повезане α -1,3 везама, док инфективна врста из истог рода, *Candida albicans*, има претходно описану структуру манана, са носећим α -1,6 ланцем и бочним α -1,2 гранама.



Слика 4. Најчешћи мананолигосахариди из алфа манана ћелијског зида квасца *Saccharomyces cerevisiae* према Tanimoto и сар. (2002). M₂ манобиоза, M₃-1 и M₃-2 две манотриозе, M₄ манотетроза.

Структура бочних ланаца молекула манана може се испитивати селективним разлагањем α -1,6 веза, при чему се основни ланац разложи, а добијају се бочни ланци везани на један молекул манозе носећег ланца (Vinogradov и сар., 1998). Разлагањем манана зида квасца *Saccharomyces cerevisiae* добијају се маноза, манобиоза, две манотриозе, манотетроза, манопентоза и манохексоза у односу 14: 44: 44: 38: 2: 1 (Tanimoto и сар., 2002). Као што се види најзаступљенији су манобиоза, манотриозе и манотетроза (слика 4). Овако добијена манобиоза из зида квасца садржи α -1,2 везу,

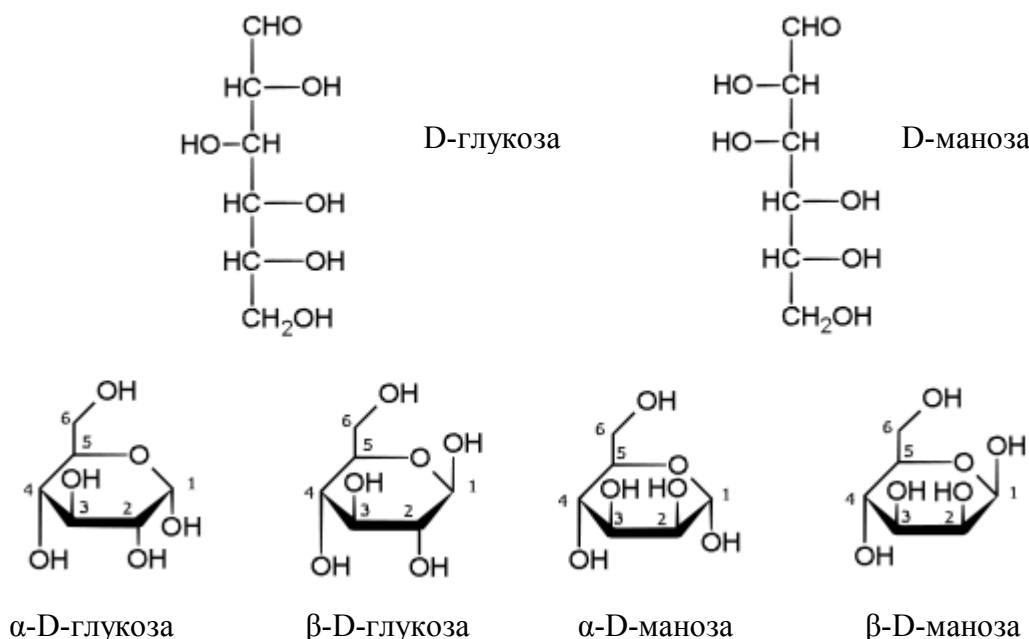
манотриоза садржи две α -1,2 везе или једну α -1,2 и једну α -1,3 везу, док манотетроза садржи две α -1,2 везе или једну α -1,3 везу. Манотриоза са две α -1,2 везе је готово четири пута заступљенија од друге манотриозе. Није јасно да ли приликом производње „мананолигосахарида”, тј. комерцијалних препарата под овим називом, долази до овакве разградње, и у којој мери се то догађа, па је исправније ове препарате називати фрагментима ћелијског зида квасца, као што то кажу Spring и сар. (2000). Ипак, уобичајено се користи назив мананолигосахарида. Део молекула манозе у саставу манана пекарског квасца је фосфорилисан (Tizard и сар., 1989).

Маноза, манани, мананолигосахарида и њихово дејство

Структурна, а вероватно и функционална јединица манана и мананолигосахарида је моносахарид маноза. Маноза је C-2 епимер глукозе, односно разликује се од глукозе само у положају ОН групе на другом угљениковом атому (слика 5). Назив је добила по *мани*, библијској храни дарованој од Бога. У природи се ретко налази у слободном стању, док је веома распрострањена као саставни део полисахарида, гликопротеина и гликолипида. Herold и Lewis (1977), као и Tizard и сар. (1989) дају преглед једињења у чијој грађи учествује маноза. Међу њима има правих манана (састављених само од манозе), глукоманана, галактоманана, галактоглукоманана, ксиломанана, арабиноманана итд. Неки од њих су структурна, а неки резервна једињења. Има их у алгама, голосеменицама, палмама, кафи, легуминозама, задебљалом корењу љиљана и орхидеја. Глукоманан гомоља биљке *Amorphophallus konjac* је популаран у Јапанској исхрани, а лишће биљке *Aloe vera* садржи велике количине ацетилисаних манана (Tizard и сар., 1989).

Поред биљног, једињења манозе су заступљена и у животињском свету. Гликопротеини богати манозом налазе се у мембрани еритроцита и одређују крвне групе (Schenkel-Brunner, 1995). Механизам деловања манозе и њених полимера у организму људи и животиња се често заснива на везивању за специфичне лектине. Лектини су протеини који се везују за тачно одређени шећер, и на тај начин служе за препознавање одређених једињења или ћелија. Њихов назив долази од латинске речи *legere* – бирати. Маноза, односно њени

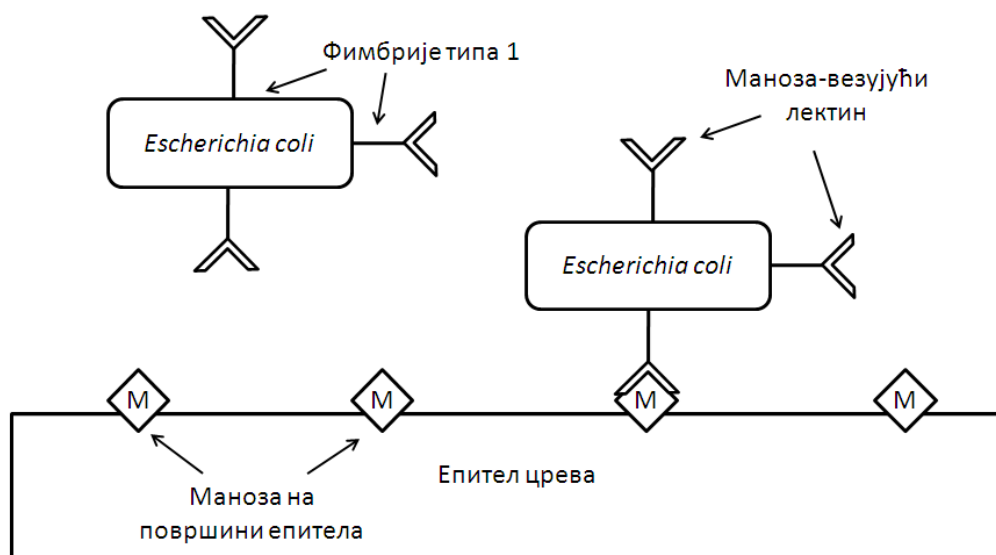
полимери, често се налазе као сигнални молекули за које се везују лектини. Тако се, на пример, у Голџијевом апарату маноза-6-фосфат везује за протеине који треба да се транспортују у лизозоме. Када не функционише ово „означавање”, и поред нормалне синтезе лизозомалних ензима, лектини транспортног система их не препознају и они не доспевају у лизозоме, већ се излучују из ћелије (Glickman и Kornfeld, 1993). Ово може бити последица урођеног поремећаја који се назива *I-cell* болест.



Слика 5. Глукоза, маноза и њихове алфа и бета конфигурације

На површини ћелија цревног епитела како код домаћих животиња, тако и код људи, налазе се гликопротеини у којима је заступљена маноза. Управо та маноза служи као место везивања неких од најважнијих непожељних бактерија (слика 6а). Наиме, фимбрије типа 1, најчешће и најбоље истражене фимбрије *Escherichia-e coli*, садрже искључиво лектин који се везује за манозу (Sharon, 1987). Око тог лектина се на фимбријама налази хидрофобна регија тако да се он много боље веже за манозу окружену неполарним молекулима. Фимбрије *Salmonellae* и неких других цревних патогена, такође имају маноза-везујући лектин, с тим да су њихове фимбрије мање, и не поседују хидрофобну регију.

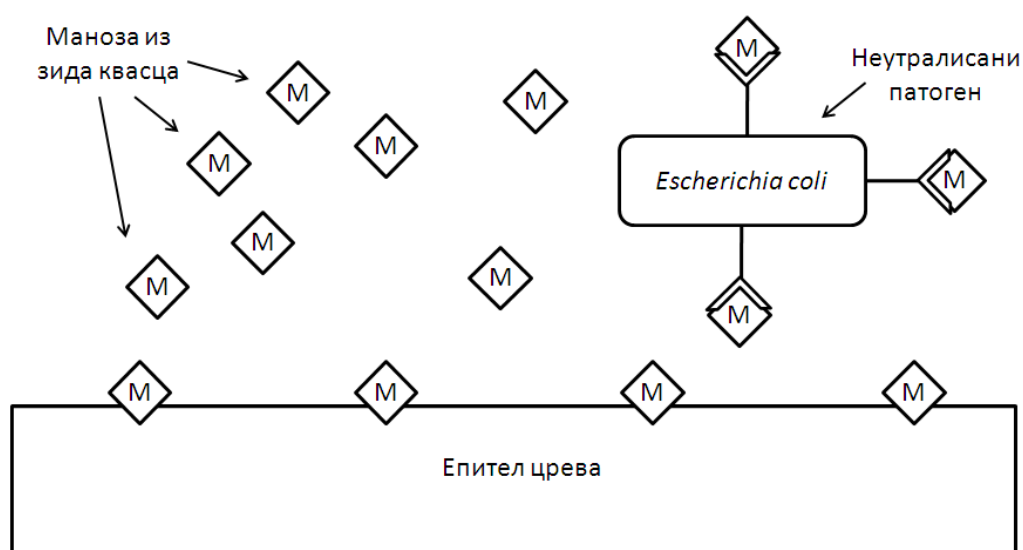
Вави и сар. (1986) су из људске пљувачке изоловали гликопротеин који садржи манозу и доказали да овај гликопротеин блокира фимбрије типа 1 *Escherichia coli*. Аутори износе претпоставку да је ово механизам за рано уклањање ове бактерије и спречавање њене колонизације у усној дупљи.



Слика ба. Шематски приказ везивања патогена за зид црева путем маноза-везујућег лектина који препознаје манозу у гликопротеинима на површини епитела

Сазнања да маноза може спречити везивање непожељних бактерија за епител дигестивног тракта су подстакла и истраживања у области исхране и здравствене заштите животиња. Оуоfo и сар. (1989) су додатком 2,5% манозе у воду за пиће битно смањили успешност колонизације *Salmoella-e typhimurium* код бројлерских пилића, а De Graft-Hanson и Heath (1990) су показали да маноза блокира фимбрије бактерија изолованих из трупова комерцијално узгајаних бројлерских пилића. Spring и сар. (2000) су испитали способност пекарског квасца, препарата ћелијског зида квасца (*Bio-Mos, Alltech, Inc*) и четири моносахарида да вежу сојеве непожељних цревних бактерија. И квасац и препарат су везали пет од седам испитаних сојева *E. coli* и 11 од 19 сојева и врста *Salmonellae*. Нису везали *Campylobacter* врсте. Везивање је доказано и за моносахариде манозу и фруктозу, уз напомену да је потребна концентрација

фруктозе за блокирање бактеријских лектина била 9 до 16 пута већа од потребне концентрације манозе. Према мишљењу аутора, бактерије са лектинима блокираним везивањем за манозу или ћелијски зид квасца, не могу да се причврсте за цревни епител и бивају избачене из дигестивног тракта, што доводи до смањења непожељне микрофлоре (слика 6б). Ово се сматра кључним механизмом деловања препарата ћелијског зида квасца - „мананолигосахарида“.



Слика 6б. Шематски приказ заштитног деловања манозе унете путем хране блокирањем маноза-везујућег лектина патогених бактерија

Једињењима манозе се приписује и способност везивања одређених токсина. Madrigal-Santillan и сар. (2009) су у огледу на мишевима утврдили да се оштећења на јетри изазвана афлатоксином В₁ смањују за 70% употребом алфа манана из квасца, а у *in vitro* условима су доказали везивање ова два једињења. Насупрот томе, истраживања различитих сојева квасца (Joуану и сар., 2005) показују да су бета глукани ти који су заслужни за везивање микотоксина за зид квасца. Препарати добијени од сојева чији је зид богатији бета глуканима, а сиромашнији мананима и хитином, боље су везивали зеараленон.

Постоје супротна мишљења о томе да ли алфа манан и мананолигосахариди као макроструктуре имају одређене специфичне ефекте, или се њихова активност своди на деловање манозе као њихове структурне јединице. Тако Spring и сар. (2000) наводе да се мананолигосахариди, тј. ћелијски зид квасца користе једноставно зато што је чиста маноза сувише скупа. Насупрот томе, Madrigal-Santillan и сар. (2009) сматрају да се између алфа манана и афлатоксина В₁ ствара надмолекулска структура, па би сама структура алфа манана могла бити од значаја. Такође, Firon и сар. (1983) (према Nollet и сар., 2007) наводе да је чиста маноза релативно неефикасна, док су манопротеини из зида квасца врло ефикасни у блокирању везивних места на бактеријским фимбријама типа 1. Не треба заборавити ни ресорптивност манозе, која смањује њено доспевање до дисталнијих делова дигестивног тракта, док су манан и олигосахариди добијени од њега слабо сварљиви, па пролазе кроз цео дигестивни тракт.

Маноза и лектини који је препознају учествују и у реакцијама имунитета. Хумани маноза-везујући лектин је протеин серума који се везује за велики број различитих патогена, све од вируса до паразита. По везивању активира комплемент на начин који се сматра еволутивно најстаријим, врши опсонизацију и доводи до упалне реакције (Casanova и Abel, 2004). Још један пример сигналне улоге манозе је уромодулин, гликопротеин изолован из урина трудница. Пептидни део молекула је потпуно исти као и ван бременитости, само се угљенохидратна компонента мења, тако да код уромодулина садржи велики удео манозе. Из тога је јасно да је угљенохидратна компонента активни, специфични део овог молекула и да је она одговорна за његово имуносупресивно дејство. Muchmore и сар. (1990) су, подстакнути овим сазнањем, испитивали дејство других полимера са високим уделом манозе на имуни систем. Користили су олигосахарид овоалбумина, аглутинин соје и манан квасца. Сва наведена једињења су блокирала пролиферацију Т лимфоцита *in vitro*, с тим да је манан квасца био најефикаснији у томе. Исти аутори наводе и имуностимулирајуће дејство угљених хидрата са високим уделом манозе. На крају закључују - олигосахариди манозе могу како стимулисати, тако и инхибирати имуни систем човека (Muchmore и сар., 1990). Из овога се може претпоставити да се у имуном систему као сигнални молекули

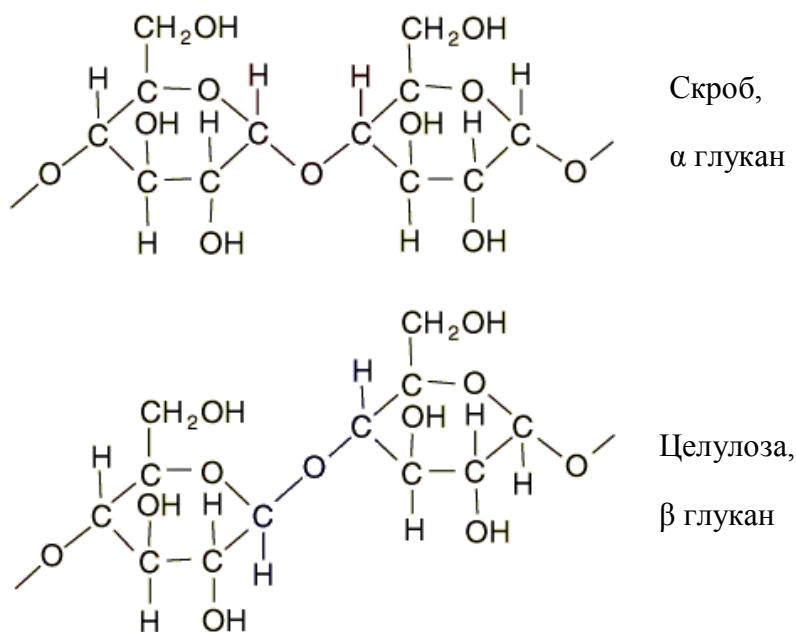
користе различити олигосахариди у којима је заступљена маноза. Вероватно су везани на протеински носач као раније поменути уромодулин. Sherbloom и сар. (1988) износе хипотезу да лектини (а самим тим и специфични угљени хидрати) можда имају кључну регулаторну улогу у имуном одговору организма.

Shashidhara и Devegowda (2003) износе хипотезу да ћелије у лимфном ткиву црева препознају микроорганизме преко манана и глукана који се налазе у њиховом саставу, што активира фагоцитозу, комплемент итд. Према овој теорији ћелијски зид квасца имитира непожељне микроорганизме и ствара лажну слику о њиховом појачаном присуству. Међутим, на основу раније изнетог, може се претпоставити да ћелије имуног система препознају олигосахариде манозе не нужно као делове микроорганизма, већ потенцијално као сигналне молекуле самог организма. Могуће је и да су оба механизма заступљена. Механизам препознавања манана као једињења карактеристичних за патогене од стране цревне мукозе наводе и Bostvironnois и Martinez (2013), сматрајући да су бета манани најзначајнији међу једињењима у храни која изазивају имуни одговор. У њиховом огледу, додаток бета-мананазе је значајно унапредио производне резултате бројлерских пилића, што су ови аутори приписали смањењу утрошка хранљивих материја на непотребни имуни одговор. Бета манани су присутни у једном од најзаступљенијих хранива у исхрани живине, сојиној сачми. Hsiao и сар. (2006) су утврдили да се количина бета манана у сачми од ољуштене соје креће у распону 1 до 1,5%, а у сачми од соје са љуском 1,3 до 2,1%. Према мишљењу ових аутора, ово треба имати у виду као потенцијални ризик и размотрити употребу ензима мананазе.

Бета глукани и њихово дејство

Бета глукани су полисахариди у којима су молекули глукозе повезани бета глукозидним везама (слика 7). Најзаступљенији органски полимер у живом свету је β -1,4 глукан дугих линеарних ланаца, целулоза. Поред целулозе, у природи су веома заступљени и многи други бета глукани, од којих се неким приписују имуностимулирајуће, антигенотоксично и антимулагено дејство (Kogan и сар., 2008). Ови бета глукани су често заступљени у јестивим и лековитим гљивама, а Lull и сар. (2005) наводе да екстракти лековитих гљива

ативирају лимфоците, макрофаге и ћелије убице, лучење интерлеукина, алфа фактора некрозе тумора и интерферона гама, што за последицу има антиканцерогено деловање, доказано у 23 научна рада која наводе. Тако су, на пример, Ohno и сар. (2000) из гљиве кокичарке (*Sparassis crispa*) изоловали разгранати β -1,3 глукан и доказали његово антитуморско дејство код мишева.



Слика 7. Поређење веза присутних у скробу (α -1,4 веза) и целулози (β -1,4 веза)

Бета глукани су паралелно значајни за исхрану људи и животиња, за медицину и ветерину. Vetvicka и Vetvickova (2010) наводе да су бета глукани најиспитиванији природни имуномодулатор, али и веома успешан комерцијални производ бројних произвођача и продаваца. У опширном истраживању ови аутори пореде 16 комерцијалних препарата бета глукана намењених људској конзумацији. Један од њих је изолован из јечма, три из гљива, а преосталих 12 из квасца. Уочена је значајна варијабилност у ефикасности појединих препарата, али она није била јасно повезана са извором бета глукана. Због имуностимулативног дејства, бета глукани се могу користити и као појачивачи дејства вакцина (адјуванти). Додатак β -1,3/ β -1,6 глукана из ћелијског зида квасца у вакцину дату млађи атлантског лососа (*Salmo salar*) довео је до

сигнификантно веће производње антитела против коришћеног антигена (Rorstad и сар., 1993). Доказано је да се бета глукани могу користити и као појачивачи дејства имунотерапије тумора моноклоналним антителима (Hong и сар., 2003). Њихово дејство се приписује активирању гранулоцита који уништавају ћелије рака.

Козарски и сар. (2009) су доказали да бета глукан из сунчане или бадем гљиве (*Agaricus subrufescens*, *Agaricus blazei*) у *in vitro* условима повећава синтезу интерферона гама. Поменути ауторе је такође занимало шта то овом бета глукану даје имуностимулативно дејство. Као и бета глукани зида квасца и овај бета глукан садржи молекуле глукозе повезане β -1,3 и β -1,6 везама, а цео молекул је облика троструког хеликса. Доказали су да и олигосахариди добијени разлагањем овог полимера имају исто дејство, тако да терцијарна, макро структура овог полисахарида није од значаја за његово имуномодулирајуће деловање. При ензимском разлагању β -1,6 веза производња интерферона се додатно повећала, из чега проистиче закључак да имуностимулативно дејство имају β -1,3 везе. Ове везе су веома заступљене и у бета глуканима зида квасца (Cabib и сар., 1991, Klis и сар., 2006).

Бета глукани су поред имуностимулативног дејства важни и као адсорбенти микотоксина. Јоуану и сар. (2005) су демонстрирали да су глукани, а не манани, компонента зида квасца одговорна за везивање зеараленона, а вероватно и афлатоксина, патулина и деоксиниваленола. Да би утврдили која структура у глукану је одговорна за ово везивање, поред глукана зида квасца, везивање микотоксина су тестирали и са другим глуканима који садрже β -1,3 и β -1,6 везе. Користили су: пахиман - β -1,3 глукан јестиве и лековите гљиве *Wolfporia extensa*; пестулин - β -1,6 глукан из лишаја *Lasallia pustulata*; курдлан - β -1,3 бактеријски глукан са малим уделом β -1,6 веза, који се користи у индустрији хране као адитив за желирање и ламинарин - неразгранати складишни глукан мрких алги који садржи β -1,3 и β -1,6 везе у односу 3:1. Утврдили су да су β -1,3 глукани првенствено заслужни за везивање микотоксина, а да је механизам везивања вероватно заснован на уласку молекула микотоксина у шупљину спирале коју граде β -1,3 глукани. Међутим, пошто су β -1,3 глукани осетљиви на екстремне услове као што је висока *pH* вредност, комбинација са β -1,6 глуканима је корисна ради њихове заштите.

Поред микотоксина, бета глукани могу да апсорбују и друге непожељне материје. Moon и Lee (2005) су успешно користили комбинацију раније помињаног курдлана и активног угља за уклањање тешких метала из воденог раствора. Растворљиви β -1,3/ β -1,6 глукан из овса снижава ниво непожељног холестерола код људи (Braaten и сар., 1994, Reyna-Villasmil и сар., 2007), а сматра се да то може бити последица везивања жучних киселина за бета глукане и њиховог појачаног излучивања (Lia и сар., 1995). Kogan и сар. (2008) износе сазнања да бета глукани зида квасца, поред већ доказаног имуностимулативног дејства и везивања микотоксина и других материја, блокирају липидну пероксидацију и оштећења ДНК, и да по овом дејству не заостају за познатим антиоксидантима.

Препарати на бази ћелијског зида квасца

Састав ћелијског зида квасца и дејство његових компоненти привукли су огромну пажњу произвођача адитива за сточну храну. О томе сведочи велики број комерцијалних препарата који се производе и употребљавају широм света, при чему је њихово дејство предмет изузетно бројних истраживања и заокупља велики део пажње научне и стручне јавности у области исхране животиња. У истраживањима у исхрани домаћих животиња, као извори манана и бета глукана, коришћени су: аутолизат ћелија пивског квасца (Yalcin и сар., 2013), нуспроизвод ферментације пива богат ћелијама квасца (Bovo и сар., 2015) или сушени пиварски (пекарски) квасац *Saccharomyces cerevisiae* (White и сар., 2002). Ипак, много чешће се у ту сврху користе комерцијални препарати, у којима је ћелијски зид одвојен од остатка ћелије квасца, и тако повећана концентрација активних материја које се налазе у зиду. Према Spring-у и сар. (2000), препарати ћелијског зида квасца се добијају тако што се култура пекарског квасца разлаже, центрифугирањем се издвоје фрагменти зида, исперу се и осуше. Ширењу употребе ових препарата, много је допринела забрана употребе антибиотика у стимулативне сврхе у Европској унији (Castanon, 2007).

У огледима на домаћим и гајеним животињама, испитивани су *Alphamune* и *Alphamune G*, које производи *Alpharma Animal Health* (Solis de los Santos и сар., 2007, Vancaeynest и сар., 2007, Marien и сар., 2007, Bolu и сар.,

2009а, Volu и сар., 2012), *SAF-Mannan* компаније *LeSaffre Feed Aditives* (Burkey и сар., 2004, McCann и сар., 2006, Middelbos и сар., 2007, Benites и сар., 2008, Abudabos и Yehia, 2013), *ActiveMOS* произвођача *Orffa Interantional* (Baurhoo и сар., 2009б, Dizaji и сар., 2012, Dizaji и сар., 2013), *Aqua-Mycos* који производи *Vitomix* (Genc и сар., 2007) итд. Највише испитиван препарат из ове групе је вероватно *Bio-Mos* који производи компанија *Alltech* (Spring и сар., 2000, Davis и сар., 2004, Перић и сар., 2005, Sun и сар., 2005, Nollet и сар., 2007, Токић и сар., 2007, Жикић и сар., 2011). О интензитету истраживања на ову тему најбоље говори следећи пример. Rosen (2006, 2007а, 2007б) је у три мета-анализе сумирао резултате 184 огледа са овим препаратом, изведена у преко 20 држава широм света. Огледи су извођени на различитим врстама и категоријама домаћих и гајених животиња, често на свињама и ћуркама, а најчешће на бројлерским пилићима.

Из ћелијског зида квасца се добија још једна група адитива који имају све већи значај, узимајући у обзир растуће ризике од појаве плесни и њихових токсичних продуката. Уз алуминосиликатне глине и зеолите, препарати ћелијског зида квасца су међу најчешће коришћеним адсорбентима микотоксина (Jacela и сар., 2010). Компанија *Alltech* пласира чак четири оваква комерцијална препарата: *Integral*, *MTB-100*, *Mycosorb* и *Mycosorb A⁺*, с тим да је могуће да су прва три препарата заправо само различити брендови за различита тржишта (Kissell и сар., 2013).

Уз претходне две групе препарата, срећу се и неки други производи за исхрану домаћих животиња добијени од ћелијског зида квасца. Тако компанија *Orffa Interantional*, осим препарата *ActiveMOS*, производи и високопречишћени β -1,3/1,6 глукан из ћелијског зида квасца, под комерцијалним називом *MacroGard* (Bagni и сар., 2005). Екстраховани глукан из зида квасца чини и препарате: *Auxoferm YGT*, произвођача *AB Vista*, испитиван на бројлерским пилићима (Cox и сар., 2010а, Cox и сар., 2010б); *Immustim* произвођача *Immudyne*, такође испитиван на пилићима (Huff и сар., 2007) и *Fibosel* компаније *Primalco Biotec* испитиван на морској риби оради (*Sparus aurata*) (Couso и сар., 2003). Пре неколико година се појавило још једно ново храниво, под комерцијалним називом *Actigen* (Brümmer и сар., 2010). Произвођач овог препарата је компанија *Alltech*. Ово храниво се састоји од растворљивог

угљенохидратног екстракта зида квасца, богатог мананима и назива се фракција богата мананима или природна угљенохидратна фракција (ПУФ) из ћелијског зида квасца.

Адитиви за сточну храну састављени од бета глукана и полимера манозе се добијају и из других извора осим зида квасца. Препарат *VitaStim*, компаније *Taito* добија се из гљиве дволиснице, *Schizophyllum commune*, његовом активном материјом се сматра бета глукан, а овај препарат даје сличне резултате у исхрани риба, као и препарати који садрже бета глукане из ћелијског зида квасца (Couso и сар., 2003). Препарат *Salmosan* произвођача *ITPSA*, садржи манан из семена рогача (*Ceratonia siliqua*) и користи се са циљем заштите пилића од салмонеле, слично као и препарати зида квасца (Brufau и сар., 2013). За разлику од ћелијског зида квасца који је изграђен од глукоманана, семе рогача и препарат који се добија од њега садрже галактоманан. Такође, покушава се и са неким другим квасцима, осим уобичајено коришћеног *Saccharomyces cerevisiae*. Тако су Ganner и сар. (2010) испитивали ефикасност ћелијског зида квасца *Trichosporon mycotoxinivorans* у везивању непожељних бактерија. Основне компоненте зида овог квасца су исте као и код *Saccharomyces cerevisiae*, али он садржи мање манана, а више глукана, у односу на зид пекарског квасца.

Састав препарата на бази зида квасца може да се разликује од претходно описаног састава зида квасца. Тако се у саставу ових препарата често налазе и значајне количине протеина и масти. Према произвођачкој спецификацији (преузето према Venites и сар., 2008) *SAF-Mannan* садржи 22-24% манана, 24-26% бета глукана, 20% масти и 15% протеина, *Alphamune* садржи 5-15% манана и минимално 24% бета глукана, док *Bio-Mos* садржи 4% масти и 29% протеина, а није наведено колико садржи активних материја. На основу сниженог садржаја масти и повишеног садржаја протеина, који чине комплекс са мананом, дало би се закључити да се ћелијски зид квасца при производњи *Bio-Mos*-а на неки начин пречишћава. Тако у произвођачкој спецификацији и стоји да је *Bio-Mos* спољни део ћелијског зида квасца, али се у опису процеса добијања (Spring и сар., 2000) не наводи никакав поступак пречишћавања. Са друге стране, присуство протеина може бити последица недовољно успешног одвајања зида од осталих компоненти квасца. Тако су Reisinger и сар. (2012)

применом поступка сличног оном који описују Spring и сар. (2000), али без испирања, добили препарат хелијског зида квасца који је садржао 17% манана, 25% глукана и чак 43% протеина.

Утицај препарата хелијског зида квасца на производне параметре домаћих животиња

Истаживања утицаја препатата зида пекарског квасца (ПЗК) често називаних „мананолигосахаридима“ на производне резултате домаћих животиња су више него бројна. Добијени резултати варирају па то константно намеће потребу за новим огледима. У оваквим условима, резултати појединог огледа губе на значају, а потребно је сагледати целину обављених, или бар објављених, истраживања. Као неопходну за савремену науку у којој број студија на поједине теме расте невероватним темпом, Glass (1976) уводи анализу анализа – мета-анализу. Мета-анализа представља математичко статистичку алтернативу наративним прегледима и дискусијама литературе. Нооге (2004) је применио овај приступ за сагледавање резултата примене ПЗК. Његова мета-анализа је обухватила резултате 29 огледа на бројлерским пилићима гајеним на новој или коришћеној простирци, у кавезима или на решеткистом поду. Истраживања обављена у комерцијалној производњи нису узета у обзир. Праћени су само огледи у којима је препарат *Bio-Mos* коришћен током целог трајања огледа и где је била присутна или негативна или позитивна контрола са бар два понављања. Коришћене концентрације препарата у храни су се кретале од 0,05% до 0,3%. Приближно у половини огледа је током целог тога коришћена иста концентрација препарата, док је у другим огледима највећа концентрација коришћена у првој фази, а затим је смањивана. Обухваћени су резултати објављени у периоду од 1993. до 2003. Коришћени статистички метод је био т-тест парова. У поређењу са негативном контролом додаток ПЗК је у просеку резултирао 36 грама бољим прирастом, 4 поена нижом конверзијом и 1% нижим морталитетом. Под поеном конверзије, овде се подразумева стоти део коефицијента конверзије. Изражена у односу на просечне вредности контролних група, ова унапређења износе 1,6% за телесну масу, 2% за конверзију и 21% за морталитет. Све наведене разлике су биле статистички

значајне. Као позитивне контроле су најчешће коришћени антибиотици *Avilamycin* и *Virginiamycin*, а ређе *Flavomycin*, *Bacitracin-MD*, *Zinc-bacitracin* или комбинација нека два претходно наведена антибиотика. У односу на позитивну контролу, телесна маса пилића који су конзумирали ПЗК је била 8 грама нижа, а конверзија 0,2 поена лошија. Ове разлике нису биле статистички значајне. Напротив, морталитет је био за 1% нижи код пилића који су конзумирали ПЗК у односу на позитивну контролу, а ова разлика је била статистички значајна. Иако сумирање резултата већег броја огледа много открива, примењени приступ истовремено скрива неке важне односе и не приказују пуну слику. Тако аутор рада у дискусији износи запажање које се из добијених просека не види, а то је да су позитивни ефекти били израженији у огледима у којима је било веће појаве болести или је била већа густина насељености. Напротив, у огледима где пилићи нису били изложени значајнијем стресу, негативна контрола, позитивна контрола и ПЗК су имали сличне резултате.

Након пет година у којима су истраживања на тему употребе ПЗК у исхрани бројлерских пилића настављена несмањеним темпом, Нооге (2009) је допунио претходно описану мета-анализу новодобијеним подацима. Анализа 20 огледа са негативним контролама објављених од 2001. до 2008, а који нису укључени у претходну мета-анализу дала је следеће резултате: телесна маса је била повећана за 50 грама, а конверзија смањена за 3 поена код пилића који су конзумирали ПЗК. Обе разлике биле су статистички значајне. Морталитет је повећан за 0,12%, али ова разлика није била статистички значајна. Спајање ове базе са претходном и анализа 62 огледа изведена у току 15 година, резултирала је следећим закључцима: пилићи храњени са додатком ПЗК имају просечно 44 грама већу завршну телесну масу и 3 поена нижу конверзију, док разлика у морталитету од 0,18% није статистички значајна.

Још опширнији приказ резултата употребе ПЗК, односно препарата *Bio-Mos* направио је Rosen (2006б, 2007а, 2007б). Он најпре у раду по позиву (Rosen, 2006а) објављеном у водећем светском часопису у области живинарства, *Poultry Science*, представља нови концепт – холо-анализу, као свеобухватнију, савршенију, прецизније дефинисану и боље разумљиву форму која треба да замени мета-анализу. Један од мотива за увођење новог приступа је недовољна дефинисаност и слаба разумљивост префикса „мета“, а други је недовољна

дефинисаност самог поступка мета-анализе, односно могућност да се под овај термин подведе чак и просто рачунање просека два огледа. Насупрот томе, термин „холо“ упућује на сагледавање целине, а аутор прецизно дефинише начин извођења анализе заснован на укључивању свих доступних објављених резултата и свих доступних варијабли у свеобухватну мултиплу регресију. Користећи овај приступ, аутор најпре сагледава ефекте ПЗК у исхрани свиња (Rosen, 2006б). Анализа је обухватила резултате 69 огледа са негативним контролама, обављених у 10 држава, са просечно 30 јединки по третману. Додатак ПЗК је повећао дневни прираст за 14,5 грама (3,6%), а смањио конверзију за 5 поена (3,1%). Наредна анализа, холо-анализа утицаја ПЗК на производне резултате бројлерских пилића (Rosen, 2007а) је обухватила резултате 82 огледа са негативним контролама, изведена у периоду од 1997. до 2003. у двадесет и једној држави са просечно 400 пилића по третману. Анализа је показала повећање прираста за 28 грама, смањење конверзије за 4 поена и повећање морталитета за 0,03%. Трећа холо-анализа обухватила је 33 огледа са ћуркама, изведена у САД, Француској и Пољској, са просечно 200 ћурића по третману. Установљене су следеће разлике у односу на негативну контролу: 57 грама бољи прираст, конверзија мања за 1,5 поен и морталитет повећан за 1,3%.

3. РАДНА ХИПОТЕЗА

У жељи за економичнијом и конкурентнијом производњом, из незнања или неодговорности, може доћи до посезања за ризичним решењима која уз тренутне и локалне користи носе ризике од дугорочне и глобалне штете. Једно од таквих решења била је употреба антибиотика у стимулативне сврхе у исхрани животиња. Поучена овим искуством, живинарска индустрија се окреће безбеднијим и природнијим алтернативама као што су пробиотици, пребиотици, фитогени адитиви, препарати ћелијског зида квасца итд. Ипак, ни један од ових адитива се још увек није показао као дефинитивно ефикасно решење. Резултати њихове употребе варирају. Због тога се појављују нови препарати, унапређују постојећи и интензивно трага за ефикасним али безбедним решењима за унапређење производних перформанси, здравља и добробити животиња.

Захваљујући мананима и глуканима који граде ћелијски зид квасца, препарати добијени од овог ћелијског зида имају карактеристике које их сврставају у групу производа који треба да замене забрањене антибиотике.

На основу састава природне угљенохидратне фракције добијене из ћелијског зида квасца, испитивања претходних сличних препарата и првих тестирања овог препарата, постављене су следеће хипотезе:

1. Очекује се позитиван ефекат природне угљенохидратне фракције из ћелијског зида квасца (ПУФ) на производне резултате бројлерских пилића: завршну телесну масу, коефицијенат конверзије хране и преживљавање пилића.
2. Узимајући у обзир већу концентрисаност препарата, претпоставка је да његов оптималан ниво у храни може бити значајно нижи него што је код претходних сличних препарата.
3. Ефекти ПУФ-а на производне параметре нису увек подједнако изражени. Очекује се већи учинак препарата код пилића изложенијих стресу и неповољним условима.
4. Пилићи чија телесна маса значајно одступа од просечне, било лакши или тежи, изложенији су стресу од просечних пилића и због тога се претпоставља да ће боље реаговати на додатак ПУФ-а него пилићи просечних телесних маса.
5. У претходним истраживањима на препаратима ћелијског зида квасца, установљено је да они утичу на микробиолошку популацију дигестивног тракта пилића, па се претпоставља да ће додатак ПУФ-а довести до промена у бројности појединих бактеријских популација.
6. Сматра се да ПУФ утиче на дигестивни тракт и имуни систем пилића и да ће се установити промене у развијености или функцији дигестивног тракта и органа имуног система.
7. Према резултатима претходних истраживања, очекује се да су при употреби ПУФ-а нарочито изражене промене муциногених ћелија дигестивног тракта.
8. Претпоставка је да употреба ПУФ-а не доводи до таквих промена хемијског и микробиолошког састава фецеса које би довеле до нарушавања квалитета простирке.

4. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

Испитивање дејства новог препарата добијеног из ћелијског зида квасца *Sacharomyces cerevisiae* обављено је кроз четири производна огледа изведена на бројлерским пилићима, од којих су неки пропраћени микробилошким, морфолошким и хистолошким анализама. У прва два огледа, уз испитивање механизма деловања препарата и сагледавање његовог утицаја на производне резултате, тражена је оптимална концентрација препарата, док је у наредна два огледа испитивано дејство препарата на поједине тежинске групе пилића. Детаљан опис материјала и метода рада дат је по појединим огледима.

Оглед 1

Производни оглед

Оглед је постављен на бројлерским пилићима у подном систему држања, на дубокој простирци. Дизајн производног огледа био је потпуно случајан распоред, са три третмана и осам понављања по третману. Једно понављање је представљао један подни бокс са 38 бројлерских пилића. Третмани су били

следећи: основне смеше без додатка ПУФ-а (контрола), основне смеше са додатком 0,02% ПУФ-а и основне смеше са додатком 0,04% ПУФ-а. *Actigen* (*Alltech Inc.*) је кориштен као извор ПУФ-а.

У огледу је коришћено 912 једнодневних пилића, хибрида *Ross 308*, мешаних по полу. Након допремања на огледно добро, групно су измерени и затим насумично распоређени у подне боксеве. Као простирка је коришћена неуситњена пшенична слама. Подни боксеви су у првих недељу дана били опремљени равним хранилицама (тацнама) и округлим ручним појилицама малог капацитета. Након прве недеље, тацне су замењене округлим viseћим ручним хранилицама, а ручне појилице округлим viseћим аутоматским појилицама. Храна и вода су непрестано били доступни пилићима. Храна је давана у млевеној форми (непелетирана), а коришћен је систем исхране у три фазе: стартер смеша је пилићима била на располагању од првог до 14. дана, гровер од 15. до 35. дана и финишер од 35. до 42. дана старости. Сировински састав смеша је приказан у табели 1, рачунски добијена енергетска вредност и садржај хранљивих материја у табели 2, а резултати стандардне хемијске анализе и анализа калцијума и фосфора у табелама 3, 4 и 5.

Табела 1. Сировински састав основних смеша коришћених у првом огледу (%)

	Стартер	Гровер	Финишер
Кукуруз	44,7	52,4	58,2
Пуномасни сојин гриз	20,0	17,0	14,0
Сојина сачма са 44% сирових протеина	26,4	22,0	19,0
Биљно уље	4,0	4,0	4,2
Монокалцијум фосфат	1,5	1,5	1,5
Сточна креда	1,8	1,5	1,5
Сточна со	0,3	0,3	0,3
<i>DL</i> -метионин	0,2	0,2	0,2
<i>L</i> -лизин	0,1	0,1	0,1
Витаминско-минерални премикс	1,0	1,0	1,0
<i>Actigen</i> *			

**Actigen* је додат у храну експерименталних група у количини од 0,02 и 0,04%

Табела 2. Обрачунати садржај хранљивих материја и енергетска вредност смеша у првом огледу

	Стартер	Гровер	Финишер
Привидна метаболичка енергија (<i>MJ/kg</i>)	13,0	13,2	13,4
Сирови протеини (%)	22,7	20,3	18,3
Лизин (%)	1,4	1,2	1,1
Метионин (%)	0,6	0,5	0,5
Калцијум (%)	1,1	0,9	0,9
Фосфор, укупни (%)	0,7	0,7	0,7
Натријум (%)	0,16	0,16	0,16
Хлор (%)	0,23	0,23	0,23

Табела 3. Резултати хемијских анализа стартер смеша у првом огледу, %

	Контрола	ПУФ* (0,02%)	ПУФ* (0,04%)
Влага	10,2	10,2	10,2
Сирови протеини	22,1	23,1	22,8
Сирова маст	7,5	7,4	7,9
Сирова целулоза	3,6	3,7	4,2
Пепео	5,5	5,9	5,9
Калцијум	1,03	1,07	1,06
Фосфор, укупни	0,63	0,67	0,70

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

Табела 4. Резултати хемијских анализа гровер смеша у првом огледу, %

	Контрола	ПУФ* (0,02%)	ПУФ* (0,04%)
Влага	10,5	10,3	10,6
Сирови протеини	20,3	20,4	20,3
Сирова маст	8,7	8,1	8,9
Сирова целулоза	3,1	3,1	3,3
Пепео	5,2	5,1	5,1
Калцијум	0,93	0,93	0,91
Фосфор, укупни	0,67	0,67	0,65

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

Табела 5. Резултати хемијских анализа финишер смеша у првом огледу, %

	Контрола	ПУФ* (0,02%)	ПУФ* (0,04%)
Влага	10,8	11,2	11,0
Сирови протеини	19,6	19,7	19,2
Сирова маст	8,4	8,6	8,4
Сирова целулоза	3,0	3,0	2,9
Пепео	5,3	5,0	4,8
Калцијум	0,85	0,88	0,88
Фосфор, укупни	0,68	0,61	0,65

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

Сваки бокс је био опремљен електричном лампом за загревање и осветљење. Додатно загревање је вршено калорифером са термостатом. Поред подешавања термостата калорифера, регулација температуре је вршена и подизањем и спуштањем електричних лампи. Температура ваздуха је редовно контролисана и одржавана у складу са препорукама произвођача наведеног хибрида (*Aviagen*, 2009). Циљне одржаване температуре су приказане у табели 6. При регулацији температуре, у обзир је узимано и понашање пилића. Форсирана вентилација стварањем подпритиска вршена је ручно контролисаним вентилаторима. Боксеви су били површине 2,5 m², а у сваки је уселиено по 38 пилића, што даје почетну густину насељености од 15 бројлера по m². Жртвовања пилића за хистолошке и микробиолошке анализе, као и угинућа, смањила су густину насељености на 13 до 14 пилића по m². Пилићи су 11. дана вакцинисани, а 17. дана ревакцинисани против атипичне куге живине (*NCD*, *Newcastle disease*), а против инфективног бурзитиса (*IBD*, *Gumboro*), 11. и 17. дана, према препорукама произвођача вакцине.

Табела 6. Одржаване минималне температуре ваздуха

Старост (дана)	Температура (°C)	Старост (дана)	Температура (°C)
1-2	32	15-17	25
3-5	30	18-20	24
6-8	28	21-23	23
9-11	27	24-26	22
12-14	26	преко 27	20

Праћење производних параметара

Телесна маса бројлера мерена је сваких седам дана, у првим недељама групно, а на последња два мерења индивидуално. За мерење су коришћене техничке ваге прецизности 10 g. Конзумација хране праћена је по фазама исхране (стартер, гровер, финишер) за сваки бокс, тј. понављање. Бележен је сваки унос хране у бокс, а на крају друге, пете и шесте недеље, хранилице су испражњене и измерен је остатак хране и одбијен од унете количине. На основу измерених прираста и конзумације, за сваки период тога је израчунат коефицијент конверзије хране. Свакодневно је вођена евиденција о угинућима пилића, а при недељним мерењима телесне масе вршено је шкартирање пилића са озбиљним деформитетима, повредама и екстремним заостајањем у порасту. Угинули и шкартирани пилићи су мерени и њихова телесна маса је укључена у прорачун коефицијента конверзије хране.

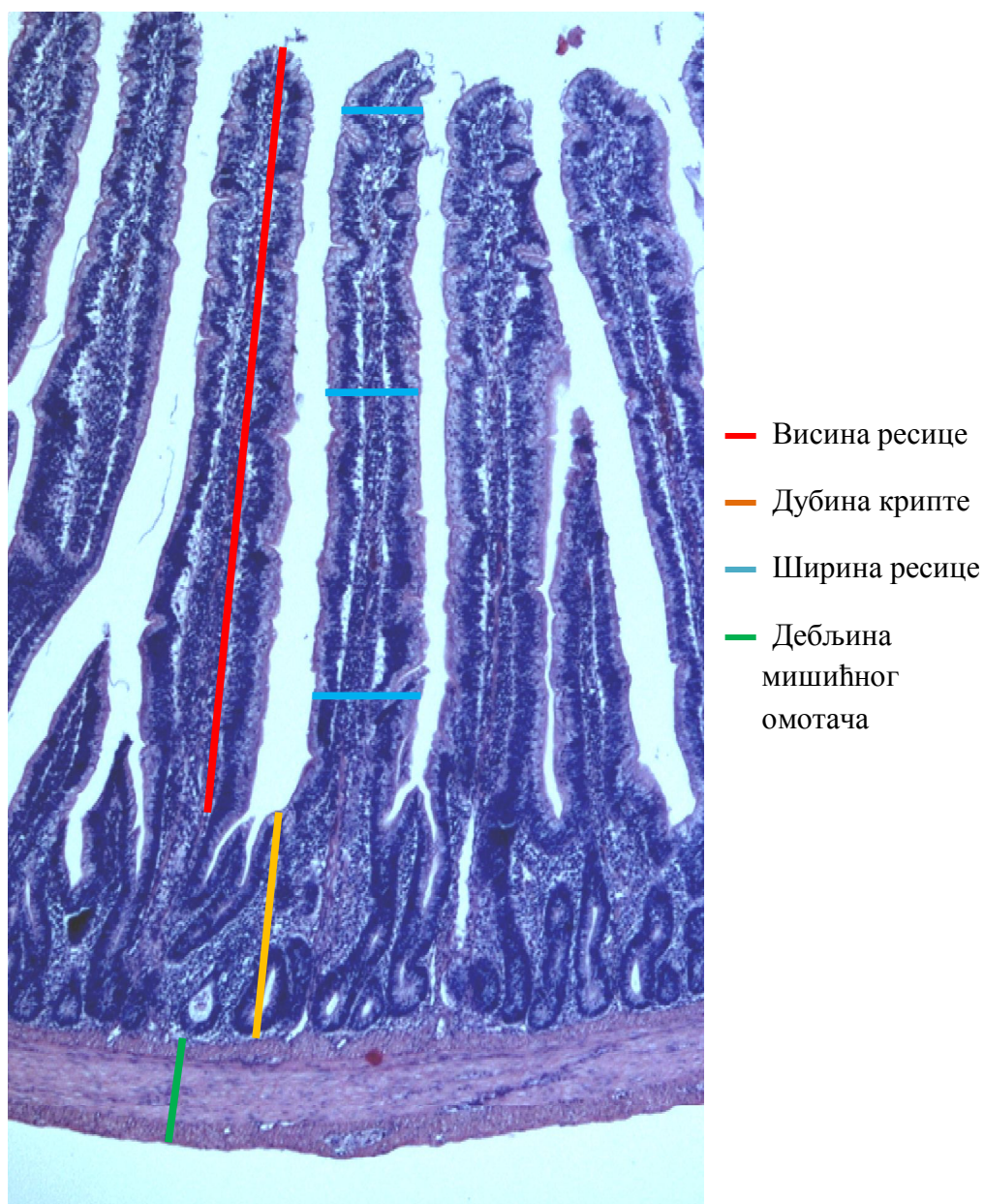
Жртвовања пилића и мерења унутрашњих органа

Седмог дана, након мерења и обрачуна средње вредности телесне масе пилића, за жртвовање су изабрани пилићи просечне телесне масе, тј. они чија маса није одступала за више од 10% од просека њиховог пола и третмана. Жртвовано је 10 пилића по третману, 5 мушких и 5 женских. Након искрварења, жртвованим пилићима су извађене и измерене јетре. За мерење је коришћена вага прецизности 0,01 g. Двадесет и осмог дана старости, поново је жртвовано по 10 бројлера по третману. За жртвовање су изабрани пилићи чија телесна маса није одступала за више од 5% од просека њиховог пола и третмана. Након

искрварења, отварања трбушне дупље и вађења црева, измерене су дужине дванаестопалачног, празног и витог црева, са прецизношћу 0,5 cm. Као границе дванаестопалачног црева су узети пилорус и крај дупликатуре танког црева око панкреаса, празно и вито црево су раздвојени код Мекеловог дивертикулума, а као крај витог црева узето је место припајања слепих црева. Масе танких црева, јетре, гуштераче, слезине и Фабрицијеве бурзе измерене су на ваги прецизности 0,01 g. Маса црева је мерена заједно са цревним садржајем. Наведене дужине делова танких црева и укупна дужина танких црева, изражене су у односу на телесну масу (cm/100 g), а тежина органа је изражена као проценат телесне масе. Израчунат је и однос тежине и дужине црева (g/cm).

Морфометријске анализе танких црева

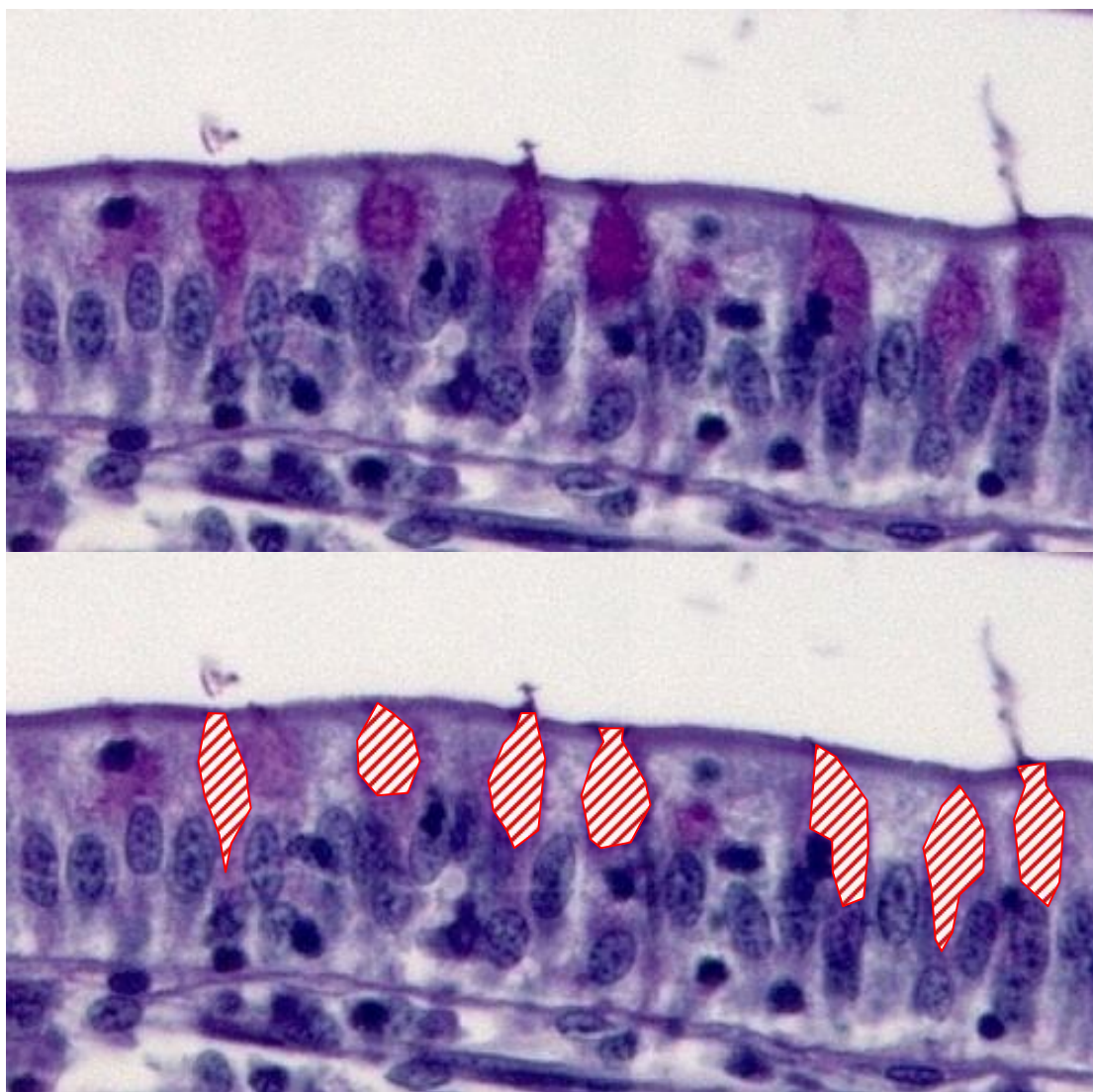
Узорци ткива празног црева за хистолошке анализе узети су од бројлера жртвованих 28. дана. Празно црево, одвојено на претходно описани начин, пресавијено је на пола, одсечен је централни део у дужини 2 cm, испран физиолошким раствором и стављен у десетопоцентни раствор формалдехида. Након хистолошке процедуре, препарати празног црева су обојени са два реагенса (*Alcian Blue* и *Periodic Acid-Schiff*). Хистолошки параметри празног црева одређени су помоћу светлосног микроскопа и софтвера за анализу слика (*IM1000 Image Manager, Leica*). Направљено је најмање 15 мерења по птици за висину и ширину ресица, дубину крипти и дебљину мишићног омотача црева. Ширина ресица је мерена на три места: на доњем делу ресице, на средини и при врху, а просек ова три мерења је коришћен за статистичке анализе. Начин мерења је приказан на слици 8. На основу наведених мерења, израчуната су још три параметра. Површина ресица је добијена као производ висине и просечне ширине ресице, а израчунати су и однос висине ресице према дубини крипте и однос висине ресице према ширини ресице.



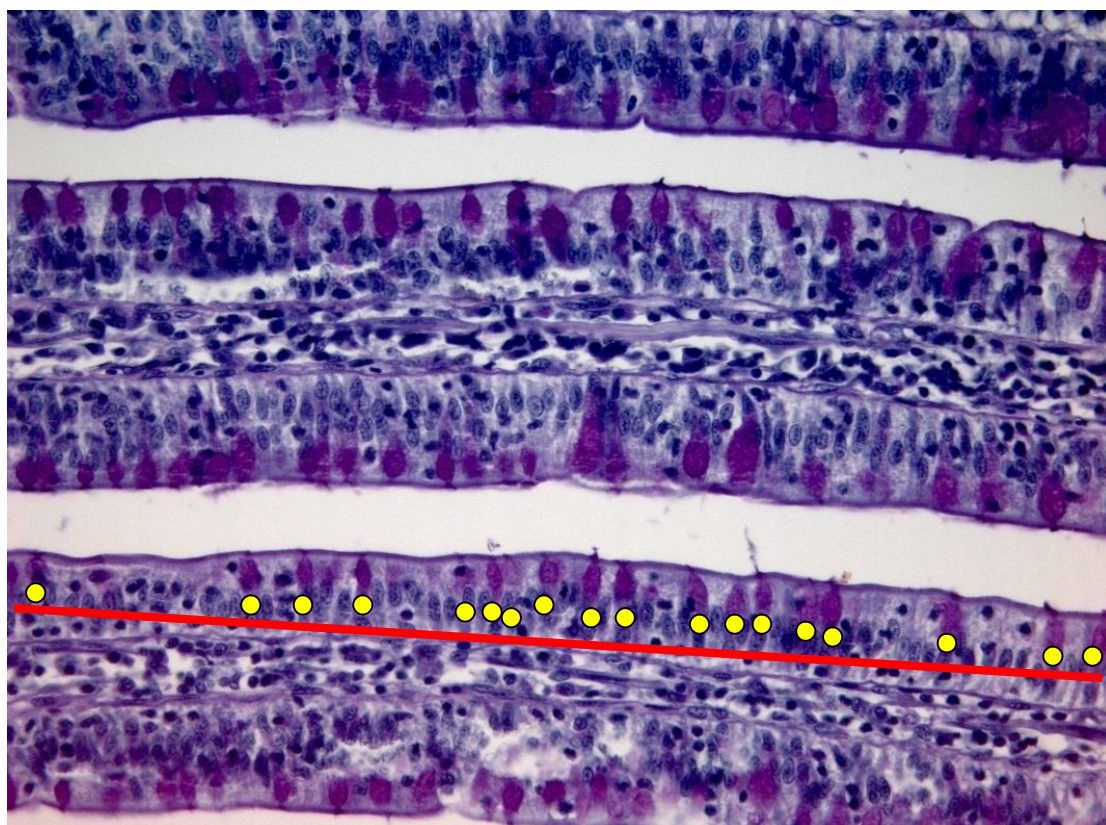
Слика 8. Мерења параметара на хистолошком препарату зида танког црева

Број пехарстих ћелија је мерен по јединици дужине епитела ресице. Прво је мерена дужина секције епитела ресице на којој су пресеци пехарстих ћелија јасно видљиви, а затим је избројано колико се пехарстих ћелија налази унутар те секције. Дељењем броја ћелија на датој секцији са дужином те секције, добијан је број ћелија по јединици дужине. Резултати су изражени као број ћелија на 100 μm дужине епитела. Бројане су само муциногене ћелије које

су додиривале ивицу ресице (површину епитела). Ћелије су бројане на 15 секција епитела, а просечна дужина секције износила је 310 μm . Површина пехарастих ћелија је мерена на најмање 90, а просечно на 125 појединих пехарастих ћелија. Само јасно видљиви пресеци муциногенних ћелија који су додиривали ивицу ресице су коришћени за ову анализу. Прикази бројања и мерења пехарастих ћелија дати су на сликама 9 и 10.



Слика 10. Мерење површине пехарастих ћелија



— Дужина секције на којој су пехарасте ћелије бројане

● Пехарасте ћелије које су бројане

Слика 9. Бројање пехарастих ћелија

Микробиолошке анализе цревног садржаја

Од бројлера жртвованих 28. дана су узети и узорци садржаја слепих црева. Сваки узорак је хомогенизован у пуферисаној пептонској води и припремљена су децимална разређења. За анализу су коришћене стандардне микробиолошке методе са селективним подлогама. За одређивање појединих бактеријских група су коришћене следеће подлоге: за укупне аеробне бактерије - хранљиви агар (*Merck*); за укупне анаеробне бактерије - *Wilkins-Chalgren* агар (*HiMedia*); за бактерије млечнокиселинског врења - *MRS* агар (*HiMedia*); за *Bifidobacterium* врсте - *Wilkins-Chalgren* агар са препорученим додацима (*HiMedia*); за *Escherichia coli* - *Chromocult Coliform* агар (*Merck*); а за

Enterococcus врсте *Chromocult Enterococci* агар (*Merck*). Анаеробни услови за узгој анаеробних и факултативно анаеробних бактерија стварани су у анаеробној посуди помоћу препарата *Anaerocult*[®] *A* (*Merck*). Анаеробност средине је проверавана помоћу *Anaerotest*[®]-а *A* (*Merck*). Резултати микробиолошких анализа су изражени као \log_{10} броја колонија (*colony forming units*) по граму цревног садржаја (\log_{10} *cfu/g*).

Оцена квалитета простирке

За оцену стања простирке праћена су три параметра: температура простирке, влажност простирке и органолептичка оцена простирке. Температура простирке је мерена 7, 14, 21, 28, 35. и 42. дана огледа. Мерена је са убудним термометром прецизности 0,1°C, на три различите тачке у сваком боксу. Узорци простирке за одређивање суве материје, а тиме и влаге, узети су 7. и 28. дана. Три подузорка су узета са три различита места у сваком боксу, а њиховом хомогенизацијом је добијен коначан узорак који је анализиран. Одређивање суве материје је вршено сушењем. Груба влага је одређена сушењем на 65°C, а затим је укупна влага одређена сушењем на 105°C. Оцена простирке поентирањем је такође извршена на крају прве и четврте недеље. Коришћена је скала оцена од 0 до 5, где оцена 5 представља потпуно суву и растреситу простирку, док оцена 0 представља потпуно влажну и улепљену простирку. Оцену су независно давала три испитивача, а за анализу је коришћен просек њихових оцена.

Статистичка обрада добијених резултата

Производни резултати, мерења органа и црева, хистолошка мерења празног црева, микробиолошке анализе садржаја слепих црева и параметри простирке, анализирани су једноструком анализом варијансе (АНОВА) и Данкановим тестом у програму *Statistica* (*StatSoft, Inc.*, верзија 8.0, 2008). Разлике су сматране значајним ако је Р вредност била мања од 0,05.

Оглед II

Производни оглед и праћење производних показатеља

Други производни оглед је био сличан претходно описаном првом огледу, али са одређеним разликама. Такође се радило о огледу това бројлерских пилића у подном систему на дубокој простирци са дизајном случајног распореда, али овај пут са четири третмана. Третмани су били следећи: основне смеше без додатка ПУФ-а (контрола), основне смеше са додатком 0,02% ПУФ-а, основне смеше са додатком 0,04% ПУФ-а и основне смеше са додатком 0,08% ПУФ-а. Број понављања по третману и број пилића по понављању остао је исти као у претходном огледу. Коришћен је исти извор ПУФ-а.

Табела 7. Сировински састав основних смеша коришћених у другом огледу (%)

	Стартер	Гровер	Финишер
Кукуруз	52,9	57,8	62,7
Пуномасни сојин гриз	15,6	20,7	19,1
Сојина сачма са 44% сирових протеина	26,2	16,8	13,9
Монокалцијум фосфат	1,6	1,5	1,4
Сточна креда	1,4	1,2	1,2
Натријум бикарбонат	0,25	0,25	0,10
Сточна со	0,25	0,25	0,30
<i>DL</i> -метионин	0,37	0,29	0,24
<i>L</i> -лизин	0,22	0,14	0,09
<i>L</i> -треонин	0,04	0,00	0,00
Витаминско-минерални премикс	1,0	1,0	1,0
<i>Actigen</i> *			

**Actigen* је додат у храну експерименталних група у количини од 0,02, 0,04 и 0,08%

У овај оглед је било укључено 1216 једнодневних пилића хибрида *Ross 308*. За разлику од првог огледа, пилићи су раздвојени по полу у инкубаторској станици и само су пилићи мушког пола коришћени за оглед. Начин распоређивања пилића у боксеве, густина насељености, начин напајања и храњења, фазе исхране, температурни режим, систем вентилације, врсте вакцина и термини вакцинације, били су исти као што је наведено у методологији првог огледа. У односу на први оглед, коришћене су смеше нешто другачијег сировинског састава (табела 7) и сличне нутритивне вредности (табела 8). Резултати хемијских анализа смеша су приказани у табелама 9, 10 и 11. Као простирка је коришћена сецкана пшенична слама.

Табела 8. Обрачунати садржај хранљивих материја и енергетска вредност смеша коришћених у другом огледу

	Стартер	Гровер	Финишер
Привидна метаболичка енергија (<i>MJ/kg</i>)	12,8	13,3	13,4
Сирови протеини (%)	23,2	21,0	19,3
Лизин (%)	1,4	1,2	1,1
Метионин и цистин (%)	1,1	1,0	0,9
Калцијум (%)	1,0	0,9	0,8
Доступни фосфор (%)	0,5	0,4	0,4
Натријум (%)	0,19	0,19	0,17
Хлор (%)	0,23	0,22	0,23

Табела 9. Резултати хемијских анализа стартер смеша у другом огледу, %

	Контрола	ПУФ* (0,02%)	ПУФ* (0,04%)	ПУФ* (0,08%)
Влага	10,2	10,0	10,0	10,1
Сирови протеини	23,4	23,3	23,6	24,0
Сирова маст	4,5	4,7	4,6	4,5
Сирова целулоза	4,1	4,3	4,5	4,9
Пепео	5,9	6,0	6,0	6,0
Калцијум	1,02	1,00	0,98	1,01
Фосфор, укупни	0,66	0,77	0,68	0,66

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

Табела 10. Резултати хемијских анализа гровер смеша у другом огледу, %

	Контрола	ПУФ* (0,02%)	ПУФ* (0,04%)	ПУФ* (0,08%)
Влага	11,0	11,2	11,2	11,1
Сирови протеини	20,5	20,4	19,8	19,5
Сирова маст	5,4	5,5	5,9	5,6
Сирова целулоза	3,9	4,2	4,1	3,8
Пепео	5,2	5,3	5,6	5,2
Калцијум	0,92	0,82	0,92	0,87
Фосфор, укупни	0,62	0,62	0,61	0,57

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

Табела 11. Резултати хемијских анализа финишер смеша у другом огледу, %

	Контрола	ПУФ* (0,02%)	ПУФ* (0,04%)	ПУФ* (0,08%)
Влага	10,6	10,8	10,3	10,7
Сирови протеини	18,6	19,0	18,2	18,0
Сирова маст	5,2	5,0	5,4	5,4
Сирова целулоза	3,7	4,1	3,7	3,4
Пепео	5,0	4,6	4,7	4,5
Калцијум	0,80	0,81	0,85	0,83
Фосфор, укупни	0,55	0,54	0,58	0,54

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

Мерења телесне масе, конзумације и конверзије хране, као и праћење броја уинулих и шкартираних пилића обављено је на начин описан у методологији првог огледа.

Жртвовања пилића, мерења унутрашњих органа и морфометријске анализе

Седмог и 28. дана старости, након мерења телесне масе пилића, израчунати су просеци за поједине третмане и за жртвовање изабрани пилићи чија је телесна маса била приближна просечној телесној маси њиховог третмана. Седмог дана старости маса изабраних пилића није одступала од просечне за

више од 3%, а 28. дана старости није одступала за више од 5%. Жртвовано је 10 пилића по третману. Жртвовање и мерење унутрашњих органа је обављено на исти начин као и у претходном огледу, с тим да су у овом огледу мерени следећи параметри: маса јетре, маса гуштераче, маса слезине и маса Фабрицијеве бурзе. Од истих пилића су, на претходно описан начин, узети и припремљени узорци танких црева за хистолошке анализе, с тим да је у овом огледу поред двоструког бојења (*Alcian Blue* и *Periodic Acid-Schiff*), коришћено и *Alcian Blue* бојење за одређивање киселих муцина, према *Smirnov*-у и сар. (2006). Пресеци обојени само *Alcian Blue* реагенсом су коришћени за одређивање пехарастих ћелија које производе киселе муцине, док су за остала мерења коришћени пресеци обојени двоструким бојењем. За сваку животињу је направљено, у просеку, 25 мерења (најмање 15) висине и ширине цревних ресица, дубине цревних крипти и дебљине *Tunica-e muscularis*. Пехарасте ћелије су бројане на 20 секција епитела, а површина пресека пехарастих ћелија је мерена на 50 индивидуалних ћелија, за оба бојења.

Статистичка обрада добијених резултата

Производни резултати су анализирани једноструком анализом варијансе и Такијевим *HSD* тестом. Цревни параметри су анализирани факторијалном анализом варијансе, са старошћу и храном као факторима, и Данкановим тестом. Резултати су сматрани значајним ако је $P < 0,05$. Анализе су обављене у програму *Statistica* (*StatSoft Inc.*, верзија 8.0, 2008).

Оглед III

Производни оглед и праћење производних показатеља

Трећи оглед је био сличан претходно описаним огледима у погледу услова смештаја и неге пилића, али се битно разликовао у погледу дизајна огледа. Овај оглед је имао факторијалну поставку са два фактора: почетном

масом пилића и присуством ПУФ-а у храни. У оквиру фактора почетне масе пилића постојала су три третмана (мали, средњи, велики), а у оквиру фактора присуства ПУФ-а два третмана (0 или 0,04% ПУФ-а у храни). Кориштен је исти извор ПУФ-а. За разлику од претходна два огледа који су обухватили период од првог до 42. дана старости пилића, трећи производни оглед је трајао од 14. до 35. дана старости пилића.

Укупан број пилића, од којих ће касније бити формиране тежинске групе и изабрани пилићи за оглед, био је 2600. Као и у ранијим огледима, коришћен је хибрид *Ross 308*. Пилићи су раздвојени по полу у инкубаторској станици, а за оглед су употребљени само мушки пилићи. До тринаестог дана сви пилићи су узгајани у истим условима, а затим су индивидуално измерени и разврстани у тежинске подгрупе у интервалима од по 20 g. Од пилића из најбројније подгрупе (400 g до 420 g) формирано је 10 понављања по 37 пилића који су означени као средња тежинска група. Две подгрупе најближе најбројнијој подгрупи (380 g до 400 g и 420 g до 440 g) нису коришћене за оглед, као ни део пилића из две наредне подгрупе (360 g до 380 g и 440 g до 460 g). За формирање сваког од 10 понављања пилића мале почетне телесне масе коришћено је по 4 пилета из подгрупе 300 g до 320 g, 6 пилића из подгрупе 320 g до 340 g, 10 пилића од 340 g до 360 g и 17 пилића од 360 g до 380 g. За формирање сваког од 10 понављања пилића велике почетне телесне масе коришћено је 2 пилета из подгрупе 440 g до 460 g, 20 пилића из подгрупе 460 g до 480 g, 10 пилића од 480 g до 500 g, четири пилета од 500 g до 520 g и по једно пиле масе од 520 g до 540 g. Овако формирана понављања тежинских група су насумично додељена хранидбеним третманима, тако да пет понављања сваке тежинске групе добија ПУФ у храни, а других пет не. Оглед је почео 14. дана.

Начин напајања и храњења, фазе исхране, температурни режим, систем вентилације, врсте вакцина и термини вакцинације, били су исти као што је наведено у методологији првог огледа. Сировински састав смеша је приказан у табели 12, а израчунати и анализирани хемијски састав у табелама 13 и 14. За разлику од прва два огледа, храна је давана у форми мрвљених пелета (стартер) и пелета (гровер). Као простирка је коришћена сецкана пшенична слама. Мерења телесне масе, конзумације и конверзије хране, као и пређење броја

угинулих и шкартираних пилића обављено је на начин описан у методологији првог огледа.

Табела 12. Сировински састав основних смеша коришћених у трећем огледу (%)

	Стартер	Гровер
Кукуруз	50,1	56,8
Пуномасни сојин гриз	18,9	18,8
Сојина сачма са 44% сирових протеина	25,9	20,4
Монокалцијум фосфат	1,3	1,0
Сточна креда	1,5	1,3
Натријум бикарбонат	0,25	0,06
Сточна со	0,29	0,31
<i>DL</i> -метионин	0,36	0,28
<i>L</i> -лизин	0,20	0,12
<i>L</i> -треонин	0,03	0,00
Витаминско-минерални премикс	1,0	1,0
<i>Actigen</i> *		

**Actigen* је додат у храну експерименталне групе у количини од 0,04%, у току гровер периода

Табела 13. Обрачунати садржај хранљивих материја и енергетска вредност основних смеша коришћених у трећем огледу

	Стартер	Гровер
Привидна метаболичка енергија (<i>MJ/kg</i>)	12,9	13,2
Сирови протеини (%)	23,0	21,0
Лизин (%)	1,43	1,24
Метионин и цистин (%)	1,07	0,95
Калцијум (%)	1,05	0,90
Доступни фосфор (%)	0,50	0,45
Натријум (%)	0,19	0,16
Хлор (%)	0,23	0,23

Табела 14. Резултати хемијских анализа гровер смеша у трећем огледу, %

	Контрола	ПУФ* (0,02%)
Влага	12,6	12,6
Сирови протеини	20,1	20,4
Сирова маст	5,5	5,7
Сирова целулоза	4,0	3,6
Пепео	4,8	4,7
Калцијум	0,86	0,82
Фосфор, укупни	0,60	0,58

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

Жртвовања пилића, мерења унутрашњих органа и морфометријске анализе

У трећем огледу је обављено само једно жртвовање пилића, 35. дана. Жртвовано је 2 пилета по понављању, односно 10 по свакој од 6 комбинација третмана. Телесна маса пилића одабраних за жртвовање није одступала од просечне масе њихове групе за више од 5%. Жртвовање и мерење унутрашњих органа је обављено на исти начин као и у првом огледу, с тим да су у овом огледу од унутрашњих органа мерени само слезина и Фабрицијева бурза. Од истих пилића су, на претходно описан начин, узети и припремљени узорци танких црева за хистолошке анализе, а као и у другом огледу, и у овом је поред двоструког бојења (*Alcian Blue* и *Periodic Acid-Schiff*), коришћено и *Alcian Blue* бојење по Smirnov-у и сар. (2006). Пресеци обојени само *Alcian Blue* реагенсом су коришћени за одређивање пехарастих ћелија које производе киселе муцине, док су за остала мерења коришћени пресеци обојени двоструким бојењем. За сваку животињу је направљено 25 мерења висине и ширине цревних ресица, дубине цревних крипти и дебљине *Tunica-e muscularis*. Пехарасте ћелије су бројане на најмање 9 секција епитела укупне дужине приближно 3000 μm , а површина пресека пехарастих ћелија је мерена на 90 индивидуалних ћелија.

Статистичка обрада добијених резултата

Производни резултати, масе органа и цревни параметри су анализирани факторијалном анализом варијансе, са тежинском групом и храном као факторима, и Данкановим тестом. Резултати су сматрани значајним ако је $P < 0,05$. Анализе су обављене у програму *Statistica* (*StatSoft Inc.*, верзија 8.0, 2008).

Оглед IV*Производни оглед и праћење производних показатеља*

Четврти оглед је имао исти факторијални дизајн као и трећи, са почетном масом пилића (мали, средњи, велики) и ПУФ-ом у храни (0 и 0,04%) као факторима. За разлику од трећег огледа трајао је до 42. дана. Набављено је 1200 мушких пилића хибрида *Ross 308* од локалног произвођача. До тринаестог дана сви пилићи су узгајани у истим условима, а затим су индивидуално измерени и разврстани у тежинске подгрупе у интервалима од по 20 грама. Од пилића из две најбројније подгрупе (460 g до 500 g) формирано је 10 понављања по 37 пилића који су означени као средња тежинска група. Пилићи из свих подгрупа лакших од ове две просечне су пропорционално распоређени у десет понављања пилића мале телесне масе, а пилићи свих подгрупа тежих од ове две у 10 понављања пилића велике телесне масе. За разлику од трећег огледа где је коришћено више него двоструко више пилића, у овом огледу није било могућности да се направи размак између појединих тежинских група, то јест да је поједине тежинске подгрупе изоставе из огледа. Формирана понављања тежинских група су насумично додељена хранидбеним третманима, тако да пет понављања сваке тежинске групе добија ПУФ у храни, а других пет не. Оглед је почео 14. дана.

Начин напајања и храњења, фазе исхране, температурни режим, систем вентилације, врсте вакцина и термини вакцинације, били су исти као што је наведено у методологији првог огледа. Сировински и нутритивни састави

коришћених смеше су приказани у табелама 15 и 16. Храна је давана у форми мрвљених пелета (стартер) и пелета (гровер и финишер). Као простирка је коришћена сецкана пшенична слама. Мерења телесне масе, конзумације и конверзије хране, као и пређење броја угинулих и шкартираних пилића обављено је на начин описан у методологији првог огледа.

Табела 15. Сировински састав основних смеша коришћених у четвртом огледу (%)

	Стартер	Гровер	Финишер
Кукуруз	51,1	57,1	62,8
Пуномасни сојин гриз	17,2	18,5	18,4
Сојина сачма са 44% сирових прот.	26,7	20,0	14,5
Монокалцијум фосфат	1,3	1,1	1,1
Сточна креда	1,5	1,2	1,2
Натријум бикарбонат	0,3	0,3	0,3
Сточна со	0,2	0,2	0,2
<i>DL</i> -метионин	0,4	0,3	0,3
<i>L</i> -лизин	0,2	0,2	0,2
<i>L</i> -треонин	0,1	0,1	0,0
Витаминско-минерални премикс	1,0	1,0	1,0
<i>Actigen</i> *			

**Actigen* је додат у храну експерименталне групе у количини од 0,04%, у току гровер и финишер периода

Табела 16. Обрачуанти садржај хранљивих материја и енергетска вредност основних смеша коришћених у четвртом огледу

	Стартер	Гровер	Финишер
Привидна метаболичка енергија (<i>MJ/kg</i>)	12,9	13,2	13,4
Сирови протеини (%)	23,0	21,0	19,0
Лизин (%)	1,4	1,2	1,1
Метионин и цистин (%)	1,1	1,0	0,9
Калцијум (%)	1,05	0,90	0,85
Доступни фосфор (%)	0,50	0,45	0,42
Натријум (%)	0,18	0,18	0,18
Хлор (%)	0,20	0,20	0,20

Статистичка обрада добијених резултата

Производни резултати су анализирани факторијалном анализом варијансе, са тежинском групом и храном као факторима, и Данкановим тестом. Резултати су сматрани значајним ако је $P < 0,05$. Анализе су обављене у програму *Statistica* (*StatSoft Inc.*, верзија 8.0, 2008).

Заштита добробити животиња

Све процедуре су изведене у складу са етичким нормама Европске конвенције за заштиту кичмењака коришћених за експерименте и друге научне сврхе, која је потврђена од стране Владе Републике Србије (Службени гласник РС – Међународни уговори, 2010).

5. РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

Резултати истраживања приказани су по појединим огледима због неопходности да се сагледа сваки оглед као целина. За сваки поједини оглед, најпре су приказани производни резултати, а затим резултати додатних анализа као што су анализе црева, простирке и микробиолошке анализе.

Оглед 1

У табели 17 су приказане телесне масе бројлерских пилића у првом огледу, по недељама. Као што се из табеле може видети, телесне масе пилића по групама биле су веома уједначене при усељењу. Након недељу дана, уочавају се одређене разлике у просечним телесним масама између група, али су оне статистички несигнификантне ($P = 0,169$). Са четрнаест дана старости разлике међу групама, у погледу телесне масе, постају статистички значајне ($P = 0,003$). Група која конзумира храну са 0,02% ПУФ-а има већу телесну масу од контролне групе, али и од групе која конзумира храну са 0,04% ПУФ-а. Ова разлика се наставља и у следећој недељи, али само у односу на контролну групу. Иако је апсолутна разлика између просечних маса ПУФ (0,02%) групе и

контролне групе од 14. до 21. дана порасла са 15 g на 20 g, релативно гледано, она се смањила са 4,1% на 2,7% од просечне телесне масе ове две групе при датој старости. Такође, Р-вредност је на крају треће недеље готово десетоструко већа ($P = 0,028$) него на крају друге недеље, што опет указује да се разлика која је достигла врхунац на крају друге недеље већ полако губи. Потврда овога стиже на крају четврте недеље када су телесне масе по групама готово идентичне, а Р-вредност изузетно висока. Слична ситуација се наставља и на наредна два мерења, тако да се завршне телесне масе минимално разликују (0,2 до 0,6%), а разлике међу њима су далеко од статистички значајних.

Табела 17. Утицај додатка ПУФ*-а на телесну масу пилића (g) у првом огледу

	Контрола	ПУФ (0,02%)	ПУФ (0,04%)	SEM**	Р-вредност
Дан 1	41,3	41,2	41,2	0,11	0,955
Дан 7	166	167	163	1,16	0,169
Дан 14	358 ^б	373 ^а	362 ^б	2,47	0,003
Дан 21	737 ^б	757 ^а	740 ^{а^б}	5,15	0,028
Дан 28	1272	1271	1276	8,27	0,927
Дан 35	1840	1847	1859	8,37	0,449
Дан 42	2397	2383	2392	11,6	0,800

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

**SEM – стандардна грешка аритметичке средине

^{а,б}Просеци група унутар реда обележених различитим словима се статистички значајно разликују ($P < 0.05$)

Конверзија хране у првом огледу, праћена је и приказана по периодима исхране (табела 18). У току периода исхране стартер смешом, може се видети обрнута пропорционалност конверзије и телесне масе. Група ПУФ (0,02%) која је имала највишу телесну масу, имала је и најнижу конверзију, док је код контролне групе било обрнуто. За разлику од телесне масе, ове разлике у

коэффицијентима конверзије нису биле статистички значајне ($P = 0,104$). Статистички значајне разлике у коэффицијентима конверзије, јављају се у наредном периоду. У току периода исхране гровер смешом, група која је конзумирала храну са 0,04% ПУФ-а постиже бољу конверзију од друге две групе за 3 поена. Иако ова разлика, нумерички гледано, није била велика, P -вредност је била веома ниска ($P = 0,006$). Током исхране финишер смешом, јавила се нумерички већа разлика, али је она због велике варијабилности, која се уочава из вредности стандардне грешке аритметичке средине, била далеко од статистичког значаја ($P = 0,715$). Ово је највероватније последица кратког трајања последњег периода исхране, свега недељу дана. У овако кратком периоду присуство разних извора случајне варијабилности је замаскирало стварне ефекте третмана на конверзију хране. Конверзија за читав период тога је била иста за контролну и ПУФ (0,02%) групу, док је код ПУФ (0,04%) групе била нижа за 4 поена. Анализа варијансе је дала P -вредност већу од 0,05, што значи да разлике међу групама нису статистички значајне. Напротив, према резултатима Данкановог теста, просек групе ПУФ (0,04%) статистички значајно различит од просека контролне и друге експерименталне групе.

Табела 18. Утицај додатка ПУФ*-а на коэффицијент конверзије хране бројлерских пилића у првом огледу

	Контрола	ПУФ (0,02%)	ПУФ (0,04%)	SEM^{**}	P -вредност
0-14. дана	1,59	1,53	1,55	0,011	0,104
15-35. дана	1,70 ^a	1,70 ^a	1,67 ^b	0,009	0,006
36-42. дана	2,37	2,44	2,38	0,043	0,715
Укупно	1,83 ^a	1,83 ^a	1,79 ^b	0,009	0,068

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

** SEM – стандардна грешка аритметичке средине

^{a,b}Просеци група унутар реда обележених различитим словима се статистички значајно разликују ($P < 0.05$)

У табели 19 је приказан морталитет пилића по периодима това и за цео оглед. Морталитет по периодима това није статистички анализиран, већ је само приказан да би се могло уочити у којој фази је долазило до угинућа. Иако правилност није потпуно јасна, највише пилића је угињавало током гровер фазе това, што је и логично ако се узме у обзир да је ова фаза најдужа. Статистички је обрађен морталитет за цео оглед. Иако постоје нумеричке разлике у корист експерименталних група, висока стандардна грешка аритметичке средине указује на тешко праћење овог параметра због велике варијабилности, а висока *p*-вредност указује да су ове разлике далеко од статистички значајних.

Табела 19. Утицај додатка ПУФ*-а на морталитет пилића у првом огледу, %

	Контрола	ПУФ (0,02%)	ПУФ (0,04%)	<i>SEM</i> **	<i>P</i> -вредност
1-14. дан	1,7	1,0	0,7		
15-35. дан	2,4	2,0	1,0		
36-42. дан	0,3	0,7	1,0		
Укупно	4,4	3,7	2,7	0,66	0,520

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине

Додатак ПУФ-а није довео до значајних промена у бактеријским популацијама садржаја слепих црева (табела 20). Број бифидобактерија и ентерокока био је већи, а број *E. coli* и укупних аероба мањи код група које су конзумирале ПУФ, али разлике нису биле статистички значајне. Код свих група видимо очекивану доминацију анаеробних у односу на аеробне бактерије, као и већу заступљеност лактобактерија у односу на бифидобактерије, ентерококе и *E. coli*. Може се приметити да је варијабилност унутар третмана била већа код мање заступљених бактеријских група, док је укупан број аероба, анаероба и лактобактерија мало варирао како између третмана, тако и унутар третмана.

Табела 20. Миркобиолошка популација садржаја слепих црева бројлерских пилића старих 28 дана, у зависности од додатка ПУФ*-а, изражена као *log cfu/g*, у првом огледу

	Контрола	ПУФ (0,02%)	ПУФ (0,04%)	<i>SEM</i> **	P- вредност
Укупни аероби	8,91	8,71	8,81	0,063	0,437
Укупни анаероби	9,68	9,68	9,74	0,049	0,855
Лактобактерије	8,48	8,41	8,62	0,055	0,284
Бифидобактерије	7,03	7,25	7,23	0,145	0,790
Ентерококе	7,53	7,74	7,96	0,116	0,316
<i>E. coli</i>	7,21	7,17	7,03	0,099	0,752

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине

Табела 21. Релативна дужина (cm на 100 g телесне масе) танких црева пилића старих 28 дана, у зависности од додатка ПУФ*-а, у првом огледу

	Контрола	ПУФ (0,02%)	ПУФ (0,04%)	<i>SEM</i> **	P-вредност
Дванаестопал.	2,49	2,43	2,49	0,044	0,769
Празно	5,88	6,06	6,04	0,151	0,738
Вито	5,97	6,04	5,90	0,159	0,868
Танка црева	14,34	14,53	14,42	0,325	0,937

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине

Дужина делова танких црева и укупна дужина танких црева били су веома слични код свих група (табела 21). Просечна дужина танких црева пилића износила је око 180 cm, односно око 14 cm на 100 g телесне масе.

Дванаестопалачно црево је чинило око 17% укупне дужине танких црева, док су празно и вито црево били приближно исте дужине.

Табела 22. Релативна маса танких црева пилића старих 28 дана, у зависности од додатка ПУФ*-а исказана у односу на телесну масу и на дужину црева, у првом огледу

	Контрола	ПУФ (0,02%)	ПУФ (0,04%)	<i>SEM</i> **	Р- вредност
Маса (% ТМ)	8,33	8,37	7,87	0,209	0,433
Маса (g/cm)	0,59	0,58	0,56	0,022	0,529

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине

Танка црева, заједно са садржајем, чинила су код свих група око 8% од телесне масе бројлерских пилића, док је просечна маса 1 центиметра црева била око 0,58 грама. Бројлери који су конзумирали вишу концентрацију ПУФ-а имали су нумерички лакша танка црева, али разлике нису биле статистички значајне (табела 22).

Табела 23. Релативна маса унутрашњих органа, у зависности од додатка ПУФ-а у првом огледу

	Контрола	ПУФ (0.02%)	ПУФ (0.04%)	<i>SEM</i> **	Р-вредност
Јетра, 7. дан	3,54	3,68	3,72	0,044	0,233
Јетра, 28.дан	2,61	2,56	2,51	0,063	0,733
Гуштерача	0,35	0,33	0,33	0,008	0,332
Слезина	0,12	0,14	0,15	0,008	0,306
Фаб. бурза	0,24	0,29	0,26	0,012	0,252

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине

Релативна маса јетре, гуштераче, слезине и Фабрицијеве бурзе, приказане су у табели 23. Иако се могу приметити одређене нумеричке разлике, статистичка анализа није показала значај ни једне од њих. Релативна маса јетре је 7. дана била нумерички већа код контролних група, а 28. дана је ситуација била обрнута.

Табела 24. Морфометријски параметри празног црева пилића старих 28 дана, у зависности од додатка ПУФ*-а у првом огледу

	Контрола	ПУФ (0,02%)	ПУФ (0,04%)	<i>SEM</i> **	P- вредност
Висина ресица (μm)	1129	990	1093	37,8	0,255
Дубина крипти (μm)	384	466	383	19,8	0,090
Ширина ресица (μm)	149	150	173	5,37	0,085
Дебљина <i>T. muscularis</i> (μm)	248	247	217	11,4	0,450
Површина ресице (mm^2)	0,17 ^{ab}	0,15 ^b	0,19 ^a	0,01	0,107
Однос ресица/крипта	3,2 ^a	2,3 ^b	3,0 ^a	0,16	0,026
Висина/ширина ресице	8,3	7,2	6,7	0,40	0,116

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине

^{a,b} Аритметичке средине унутар реда са различитим ознакама, значајно су различите ($P < 0,05$)

У табели 24 су приказани морфометријски параметри празног црева бројлерских пилића старих 28 дана, по третманима. Висина цревних ресица је била најмања код ПУФ (0,02%) групе, али ова разлика није била статистички значајна. Релативно близу статистичког значаја ($P = 0,09$) је била разлика између дубина крипти, где је ПУФ (0,02%) група имала најдубље крипте. Ове две незначајне разлике су заједнички дале статистички значајну разлику. Тако је однос између висине ресица и дубине крипти био под значајним утицајем третмана, иако сваки од ових параметара појединачно није. Ширина крипти је била највећа код ПУФ (0,04%) групе, а као и у случају дубине крипти, ова

разлика је била статистички несигнификантна, али и не веома далеко од прага значајности ($P = 0,085$). Издуженост ресица, рачуната као количник висине и ширине ресице није била под утицајем третмана, као ни дебљина *T. muscularis*. Површина пресека ресице, израчуната као производ висине и ширине ресице, била се сигнификантно већа код пилића храњених са 0,04% ПУФ-а, него код оних храњених са 0,02% ПУФ-а. Сигнификантана разлика између контролне и огледних група није уочена.

Табела 25. Број и величина пехарастих ћелија празног црева пилића старих 28 дана, у зависности од додатка ПУФ*-а у првом огледу

	Контрола	ПУФ (0,02%)	ПУФ (0,04%)	SEM**	P- вредност
Број пех. ћел. (1/100 μm)	7,9	9,1	8,6	0,24	0,143
Величина пех. ћел. (μm^2)	39 ^b	61 ^a	52 ^a	3,01	0,007

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

**SEM – стандардна грешка аритметичке средине

^{a,b} Аритметичке средине унутар реда са различитим ознакама, значајно су различите ($p < 0,05$)

Код пилића који су конзумирали храну са додатком ПУФ-а, величина пехарастих ћелија у епителу празног црева, мерена преко површине пресека ових ћелија, била је сигнификантно већа него код контролне групе (табела 25). Процентуално изражено, ово увећање је износило 33% код ПУФ (0,04%) групе и 56% код ПУФ (0,02%) групе. Ова разлика је вероватно још драстичнија у погледу запремине пехарастих ћелија, али је запремину није било могуће измерити због димензионалности мерења. Број пехарастих ћелија по јединици дужине пресека епитела празног црева пилића је такође био нумерички већи код група које су конзумирале храну са додатком ПУФ-а, али разлика није била статистички значајна.

Као што се из табеле 26. може видети, додаток ПУФ-а у храну није имао утицаја на температуру простирке. Иако је стандардна грешка аритметичке средине овог параметра у првим недељама имала ниже вредности, а касније више, што указује на повећање варијабилности, Р-вредности указују да је уочена варијабилност била унутар, а не између третмана. Такође се види да се температура простирке код свих група повећавала од почетка огледа ка крају, што је очекивана појава, узимајући у обзир све веће присуство влаге и екскрета, као и све већу микробиолошку активност у простирци.

Табела 26. Температуре простирке по третманима у првом огледу

	Контрола	ПУФ* (0,02%)	ПУФ* (0,04%)	SEM**	Р-вредност
Дан 7	25,7	25,8	25,8	0,10	0,965
Дан 14	30,3	30,1	29,9	0,27	0,859
Дан 21	29,3	29,7	29,2	0,66	0,946
Дан 28	29,1	28,0	29,9	0,47	0,252
Дан 35	32,8	33,4	33,5	0,49	0,807
Дан 42	32,4	32,5	32,3	0,41	0,969

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

**SEM – стандардна грешка аритметичке средине

Садржај грубе влаге у простирци, одређен сушењем на 65°C и садржај укупне влаге у простирци, одређен сушењем на 105°C, приказани су у табели 27. Утицај третмана на ниво влаге у простирци није уочен. Може се видети да се код свих третмана ниво влаге у простирци повећао између 7. и 28. дана, мада ово повећање није било драстично.

Табела 27. Садржај влаге у простирци по третманима у првом огледу

	Контрола	ПУФ* (0,02%)	ПУФ* (0,04%)	SEM**	Р- вредност
Груба влага, 7. дан	37,4	37,6	37,1	1,18	0,988
Укупна влага, 7. дан	41,0	42,8	40,4	0,98	0,637
Груба влага, 28. дан	40,1	41,5	39,9	1,30	0,235
Укупна влага, 28. дан	42,0	43,5	41,8	1,19	0,840

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

**SEM – стандардна грешка аритметичке средине

Табела 28. Оцена простирке поентирањем на основу визуелне процене, по третманима у првом огледу

	Контрола	ПУФ* (0,02%)	ПУФ* (0,04%)	SEM**	Р-вредност
7. дан	2,9	3,0	2,8	0,10	0,644
28. дан	2,4	2,4	2,2	0,25	0,912

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

**SEM – стандардна грешка аритметичке средине

Резултати оцене простирке поентирањем на скали од 0 до 5 на основу визуелне процене, приказани су у табели 28. Оцена 0 представља потпуно влажну и улепљену простирку, док оцена 5 представља потпуно суву и растреситу простирку. Из табеле се може видети да није било значајних разлика у квалитету простирке између третмана, као и да се квалитет простирке погоршао између седмог и 28. дана. Ово је у складу са повећањем температуре простирке и повећањем њене влажности у истом периоду. Као и у случају температуре, видљиво је велико повећање стандардне грешке аритметичке средине и за овај параметар. Ово указује на то да се варијабилност квалитета простирке унутар третмана повећала током огледа.

Оглед 2

Телесне масе бројлерских пилића у другом огледу, приказане су у табели 29, по недељама и третманима. Можемо видети да су на почетку огледа, као и на крају прве недеље, телесне масе биле уједначене између третмана, о чему сведоче и високе Р-вредности. Након тога почињу да се уочавају одређене разлике између група које су према крају огледа постајале све израженије.

Табела 29. Телесна маса бројлерских пилића у другом огледу, у зависности од нивоа ПУФ*-а у храни

	Контрола	ПУФ (0,02%)	ПУФ (0,04%)	ПУФ (0,08%)	SEM**	Р-вредност
Дан 1	39,9	40,0	39,5	39,8	0,11	0,406
Дан 7	157	154	157	157	1,33	0,764
Дан 14	412	403	423	423	2,98	0,058
Дан 21	792	791	804	825	5,73	0,110
Дан 28	1170 ^б	1180 ^{бв}	1236 ^{аб}	1242 ^а	11,1	0,029
Дан 35	1540 ^б	1564 ^{бв}	1667 ^а	1646 ^{аб}	15,22	0,002
Дан 42	2066 ^б	2065 ^б	2234 ^а	2151 ^{аб}	19,83	0,0004

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

**SEM – стандардна грешка аритметичке средине

^{а,б,в}Просеци група унутар реда обележених различитим словима се статистички значајно разликују ($P < 0.05$)

На крају друге недеље, нумерички гледано, предњаче две групе са вишим нивоима ПУФ-а, иза њих следи контролна група, а најлошија је група са 0,02% ПУФ-а. Резултати наредног мерења још увек не откривају статистички значајне

разлике, али је приметно да групе са вишим нивоима ПУФ-а имају већу телесну масу. Промене у односу на претходну недељу се огледају у томе да су се контролна и група са најнижом концентрацијом ПУФ-а, приближно изједначиле, а да група са 0,08% ПУФ-а сада има предност у односу на групу са 0,04% ПУФ-а, нумерички гледано. На крају четврте недеље, односи између телесних маса по групама остају слични, али сада разлике међу њима постају статистички значајне. Група која конзумира 0,08% ПУФ-а у храни има статистички значајно већу телесну масу од групе која конзумира 0,02% ПУФ-а у храни и контролне групе, док група која конзумира 0,04% ПУФ-а у храни има статистички значајно већу телесну масу од контролне групе. Разлике између телесних маса суседних група, тј. контролне и ПУФ (0,02%), ПУФ (0,02%) и ПУФ (0,04%), као и ПУФ (0,04%) и ПУФ (0,08%), нису биле статистички значајне. На наредном мерењу, 35. дана, разлике међу групама расту, о чему сведочи готово десетоструко смањење Р-вредности. На овом мерењу група која конзумира 0,04% ПУФ-а преузима примат од групе која конзумира 0,08% ПУФ-а, али разлика између ове две групе остаје статистички незначајна. Од значајних разлика, присутне су: разлика између ПУФ (0,08%) групе и контролне групе, разлика између ПУФ (0,04%) групе и контролне групе, као и разлика између ПУФ (0,04%) групе и ПУФ (0,02%) групе.

На последњем мерењу, 42. дана огледа, разлике међу групама достижу врхунац, гледано према Р-вредности. ПУФ (0,04%) група је остварила сигнификантно бољу завршну масу од контролне групе и ПУФ (0,02%) групе, које су готово изједначене. Истовремено, завршна телесна маса ПУФ (0,08%) групе, која је током последње недеље имала благи пад прираста, не разликује значајно ни од једне друге групе. Разлика између најбоље огледне групе и контролне групе на крају огледа износила је 168 g, или процентуално изражено 8%. Ова разлика је постепено изграђена током трајања огледа. На крају друге и треће недеље је износила свега десетак грама, на крају четврте недеље 66 g, на крају пете 127 g и коначно, на крају шесте, 168 g. Ако разлику изразимо процентуално, добићемо сличну правилност, са почетних 2-3%, расла је на 6%, а затим на 8%, уз разлику да се при процентуалном изражавању увиђа да је током задње недеље разлика стагнирала. Треба напоменути да са добијене

завршне масе, као и масе на свим мерењима током огледа, релативно ниске, чак и код најбоље групе, а нарочито код слабијих група.

Табела 30. Утицај додатка ПУФ*-а на коефицијент конверзије хране бројлерских пилића у другом огледу

	Контрола	ПУФ (0,02%)	ПУФ (0,04%)	ПУФ (0,08%)	<i>SEM</i> **	Р- вредност
0-14. дана	1,39	1,42	1,36	1,36	0,010	0,110
15-35. дана	2,20 ^а	2,13 ^{аб}	2,05 ^б	2,05 ^б	0,017	0,001
36-42. дана	2,18	2,30	2,23	2,33	0,043	0,624
Укупно	2,02 ^а	2,01 ^а	1,95 ^б	1,96 ^б	0,010	0,019

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине

^{а,б} Просеци група унутар реда обележених различитим словима се статистички значајно разликују ($P < 0.05$)

У табели 30 су приказани коефицијенти конверзије хране у другом производном огледу, по третманима и по периодима тога. Као што се код телесних маса може приметити да су у овом огледу генерално биле ниске, тако се и код коефицијената конверзије може приметити да су генерално били високи, нарочито у гровер периоду. Током периода исхране стартер смешом, сигнификантних разлика у конверзији хране није било, али је нумерички гледано конверзија била нижа код две групе које су конзумирале више концентрације ПУФ-а. Иста правилност се види и током гровер периода, уз то да су сада ове две групе сигнификантно боље од контролне групе. ПУФ (0,02%) се по овом параметру није разликовала ни од једне друге групе у огледу. У последњој недељи, током исхране финишер смешом, присутне су нумерички велике, али статистички незначајне разлике међу групама. Као и у претходном огледу, ово је вероватно последица кратког периода исхране финишер смешом. Нумерички гледано, боље конверзије су оствариле контролна и ПУФ (0,04%) група, док су две преостале експерименталне групе имале слабији резултат у

овом периоду. Као и у случају првог огледа, пресудан утицај на укупну конверзију хране имао је гровер период, што је и очекивано, узимајући у обзир да овај период најдуже траје. Укупна конверзија је била готово изједначена између контролне и групе са најнижом концентрацијом ПУФ-а у храни, а исто тако и између две групе са вишим нивоима ПУФ-а. Статистички значајна разлика је постојала између ПУФ (0,04%) и ПУФ (0,08%) група са једне стране и контролне и ПУФ (0,02%) групе са друге стране. Разлика је износила око 6 поена конверзије, односно око 60 g/kg телесне масе пилића.

Иако је морталитет бројлерских пилића тежак параметар за испитивање због велике варијабилности између понављања, осим ако број пилића по понављању није веома велики, ипак је у овом огледу утврђен статистички сигнификантан утицај третмана на морталитет (табела 31). Као и у случају телесне масе, група које је конзумирала 0,04% ПУФ-а у храни, била је најбоља. Број угинулих пилића је код ове групе био сигнификантно мањи него код свих осталих група. Посматрајући укупан број угинућа по периодима тога, видимо да је највише пилића угинуло током гровер периода. Ово је последица дужег трајања овог периода, а када се резултати преведу на недељни ниво, уочава се да је укупан морталитет током различитих периода био сличан.

Табела 31. Утицај додатка ПУФ*-а на морталитет бројлерских пилића, изражен као проценат од броја усељених пилића, у другом огледу

	Контрола	ПУФ (0,02%)	ПУФ (0,04%)	ПУФ (0,08%)	<i>SEM</i> **	Р-вредност
0-14. дана	2,0	2,3	0,3	1,3		
15-35. дана	2,0	3,3	1,7	2,3		
36-42. дана	2,3	0,7	0,3	1,3		
Укупно	6,3 ^а	6,3 ^а	2,3 ^б	4,9 ^а	0,588	0,010

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине

^{а,б}Просеци група унутар реда обележених различитим словима се статистички значајно разликују ($P < 0,05$)

У табели 32 су приказани директно мерени морфометријски параметри празног црева бројлерских пилића у другом огледу: висина и ширина цревних ресица, дубина цревних крипти и дебљина мишићног омотача (*Tunica muscularis*). Параметри су приказани у зависности од старости и третмана. Седмог дана старости, висина цревних ресица је износила око 500 μm , односно око пола милиметра, и била је највећа код контролне групе. Након три недеље, висина цревних ресица се више него удвостручила, и тада је била највећа код ПУФ (0,02%) групе. Утицај старости на висину цревних ресица био је статистички значајан са изузетно ниском Р-вредношћу, док утицај нивоа ПУФ-а није био статистички значајан. Такође, није било ни интеракције између ова два фактора.

Ширина ресица се, као и њихова висина, статистички значајно променила између седмог и 28. дана старости. За разлику од висине, која се удвостручила, ширина ресица се повећала за око 50%. Додатак ПУФ-а није значајно утицао на ширину цревних ресица, а није било ни статистички значајне интеракције између нивоа ПУФ-а и старости пилића. Нумерички гледано, шире ресице су имале контролна и ПУФ (0,04%) група, док су друге две групе имале уже ресице. Ова разлика је у великој мери последица разлике са 28. дана старости, док су са 7. дана старости мерења била релативно уједначена.

Дубина цревних крипти је у оба мерења била најмања код ПУФ (0,02%) групе, умерена код ПУФ (0,04%) групе, а већа код контролне групе. Код групе са највећом концентрацијом ПУФ-а, дубина крипти је на првом мерењу била највећа, а на другом мерењу приближна вредностима друге две ПУФ групе. Анализа варијансе није показала статистички значајан утицај нивоа ПУФ-а на овај параметар, али Данканов тест јесте. Према резултатима Данкановог теста, ПУФ (0,02%) група је имала плиће цревне крипте од контролне групе, а остале разлике нису биле сигнификантне. Утицај интеракције старости и нивоа ПУФ-а на дубину крипти није био сигнификантан. Као и у случају осталих параметара, старост је имала веома јак и сигнификантан утицај на дубину цревних крипти. Код пилића старих 28. дана дубина крипти је била приближно двоструко већа него код пилића старих 8 дана.

Табела 32. Утицај старости и додатка ПУФ-а* на морфометријске параметре празних црева бројлерских пилића у другом огледу

Ниво ПУФ-а	Старост	Висина ресица (μm)	Ширина ресица (μm)	Дубина крипти (μm)	Дебљина <i>T.</i> <i>muscularis</i> (μm)
0,00%	7 дана	569	98	141	92
0,02%	7 дана	539	95	127	87
0,04%	7 дана	480	96	134	90
0,08%	7 дана	492	98	148	90
0,00%	28 дана	1126	163	315	182
0,02%	28 дана	1219	139	253	165
0,04%	28 дана	1138	156	282	180
0,08%	28 дана	1082	139	267	187
Утицај нивоа ПУФ-а					
		862	132	232 ^a	140
		899	118	194 ^b	128
		792	128	206 ^{ab}	132
		787	119	208 ^{ab}	139
Утицај старости					
	7 дана	518 ^b	97 ^b	138 ^b	90 ^b
	28 дана	1139 ^a	149 ^a	280 ^a	179 ^a
<i>SEM</i> **		40,6	4,05	9,84	6,13
Р-вредности					
Старост		0,000	0,000	0,000	0,000
ПУФ		0,328	0,264	0,110	0,585
Старост × ПУФ		0,634	0,264	0,241	0,820

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине^{a,b} Просеци група унутар непрекинуте колоне обележени различитим словима се статистички значајно разликују ($P < 0,05$)

Дебљина мишићног омотача је била под снажним утицајем старости, док утицај додатка ПУФ-а и интеракције додатка ПУФ-а и старости пилића нису значајно утицали на овај параметар. Нумерички гледано, дебљи мишићни омотач су имале контролна и ПУФ (0,08%) група, док су тањи мишићни омотач имале две преостале групе. Као и висина ресица и дубина крипти, тако се и дебљина мишићног омотача удвостручила током 3 недеље између два жртвовања.

У табели 33 су приказани изведени морфометријски параметри танких црева бројлерских пилића: површина пресека цревних ресица (висина ресице \times ширина ресице), однос висине ресице и дубине крипти и издуженост ресица (висина ресице / ширина ресице). Параметри су приказани у зависности од старости пилића и нивоа ПУФ-а у храни. Пошто су се и висина и ширина ресица знатно повећали од 7. до 28. дана старости пилића, тако се и њихов производ, површина ресице, још више увећао. Посматрајући површину ресица у обе старости, можемо видети да је највећа код контролне групе и да се углавном смањује са повећањем нивоа ПУФ-а. Иста правилност се уочава и у укупним резултатима, а последица је мање висине ресица, код неких група, или мање ширине, код других. Према Данкановом тесту, разлика између контролне и ПУФ (0,08%) групе је сигнификантна, док остале нису.

Однос висине ресица и дубине крипти се нумерички повећао са старашћу пилића, али разлика није била статистички значајна. Ово је једини праћени морфометријски параметар празног црева бројлерских пилића који се није значајно променио са старашћу пилића. Ово је разумљиво, пошто су се и висина ресица и дубина крипти приближно удвостручили, тако да се њихов однос није значајно променио. За разлику од тога, постојала је статистички значајна разлика између третмана. Пилићи који су конзумирали храну са 0,02% ПУФ-а, имали су сигнификантно већи однос ресица / крипта него све остале групе. Ово је делимично последица веће висине ресица, а делимично мање дубине крипти. Разлика се назире већ са 7 дана старости, али 28. дана је неупоредиво израженија.

Табела 33. Утицај старости и додатка ПУФ-а* на изведене морфометријске параметре празних црева бројлерских пилића у другом огледу

Ниво ПУФ-а	Старост	Површина ресица (mm^2)	Висина	Висина
			ресица/дубина крипти	ресица/ширина ресица
0,00%	7 дана	0,056	4,08	5,96
0,02%	7 дана	0,052	4,25	5,73
0,04%	7 дана	0,045	3,57	5,22
0,08%	7 дана	0,048	3,47	5,21
0,00%	28 дана	0,184	3,74	7,14
0,02%	28 дана	0,170	5,08	9,10
0,04%	28 дана	0,177	4,30	7,37
0,08%	28 дана	0,148	4,23	8,08
Утицај нивоа ПУФ-а				
		0,123 ^a	3,90 ^b	6,58 ^{ab}
		0,114 ^{ab}	4,69 ^a	7,51 ^a
		0,110 ^{ab}	3,89 ^b	6,24 ^b
		0,098 ^b	3,85 ^b	6,64 ^{ab}
Утицај старости				
	7 дана	0,050 ^b	3,81	5,51 ^b
	28 дана	0,169 ^a	4,32	7,91 ^a
<i>SEM</i> **		0,008	0,137	0,247
Р-вредности				
Старост		0,000	0,065	0,000
ПУФ		0,210	0,122	0,271
Старост × ПУФ		0,392	0,342	0,262

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине^{a,b} Просеци група унутар непрекинуте колоне обележени различитим словима се статистички значајно разликују ($P < 0.05$)

У погледу издужености ресица уочене су разлике, како у зависности од старости, тако и у зависности од нивоа ПУФ-а у храни. Пошто се висина ресице са повећањем старости удвостручила, а ширина повећала само за 50%, очекивано је дошло до статистички значајне разлике у издужености ресица, тј. старији пилићи су имали издуженије ресице. Издуженије ресице је имала и ПУФ (0,02%) група у односу на ПУФ (0,04%) групу, док су контролна и ПУФ (0,08%) група имале вредности између ова два екстрема. Као и у случају односа висине ресица и дубине крипти, и ова разлика је првенствено дошла до изражаја 28. дана.

У табели 34 су приказани број и величина пехарастих ћелија у зависности од нивоа ПУФ-а у храни и старости пилића. За ову намену су коришћена два различита бојења хистолошких препарата празног црева. Двоструко бојење (*Alcian Blue* и *Periodic Acid-Schiff*) је коришћено да се идентификују све пехарасте ћелије, а алцијан плаво бојење (*Alcian Blue*) да је идентификују пехарасте ћелије које производе киселе муцине.

Седмог дана старости, укупан број пехарастих ћелија је износио око 8 ћелија на 100 микрометара дужине пресека епитела, док се 28. дана смањио на око 7. Разлика је била статистички значајна. Утицај интеракције између старости пилића и додатка ПУФ-а био је близу статистичког значаја за овај параметар ($P = 0,073$). Ово је последица тога што је смањење броја пехарастих ћелија са старашћу било заступљено код ПУФ група, док је код контролне групе овај параметар остао готово непромењен. Величина пехарастих ћелија није била под значајним утицајем ни једног од два испитивана фактора, као ни њихове интеракције. Нумерички гледано, са повећаном старашћу је дошло до повећања пехарастих ћелија, а највеће пехарасте ћелије је имала група са 0,02% ПУФ-а у храни.

Табела 34. Утицај старости и додатка ПУФ-а* на број и величину пехарастих ћелија празних црева бројлерских пилића при различитим бојењима, у другом огледу

Врста бојења		Двоструко бојење		Алцијан плаво	
Ниво ПУФ-а	Старост	Број ћелија (1/100 μ m)	Величина ћелија (μ m ²)	Број ћелија (1/100 μ m)	Величина ћелија (μ m ²)
0,00%	7 дана	7,7	60	7,3	60
0,02%	7 дана	8,2	68	7,4	86
0,04%	7 дана	9,0	55	7,4	63
0,08%	7 дана	8,2	54	7,3	59
0,00%	28 дана	7,6	56	6,5	65
0,02%	28 дана	7,5	67	6,5	82
0,04%	28 дана	7,1	64	6,7	89
0,08%	28 дана	6,7	63	6,4	79
Утицај нивоа ПУФ-а					
		7,6	58	6,9	63 ^б
		7,8	68	6,9	84 ^а
		8,0	60	7,1	76 ^{а^б}
		7,4	59	6,9	69 ^{а^б}
Утицај старости					
	7 дана	8,3 ^а	59	7,4 ^а	66 ^б
	28 дана	7,2 ^б	63	6,5 ^б	79 ^а
<i>SEM</i> **		0,15	1,9	0,15	2,8
Р-вредности					
Старост		0,000	0,270	0,007	0,031
ПУФ		0,376	0,371	0,968	0,026
Старост × ПУФ		0,073	0,584	0,994	0,158

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине

^{а,б} Просеци група унутар непрекинуте колоне обележени различитим словима се статистички значајно разликују (P < 0,05)

Број пехарастих ћелија које су садржале киселе муцине износио је 7. дана око 7,5 ћелија на 100 микрометара дужине пресека епитела. Као и укупан број пехарастих ћелија, и ова вредност је 28. дана била за око једну ћелију мања, а разлика је била статистички значајна. Ако се упореди број укупних пехарастих ћелија и број пехарастих ћелија које су садржавале киселе муцине, видимо да је у просеку 90% пехарастих ћелија имало ову врсту муцина. По појединим комбинацијама старости и додатка ПУФ-а, ова заступљеност се кретала од 82% до 96%. Као и код укупног броја пехарастих ћелија, ни код броја пехарастих ћелија са киселим муцинима утицај додатка ПУФ-а није био сигнификантан. За разлику од укупног броја пехарастих ћелија, код овог параметра није било никакве назнаке интеракције између старости и нивоа ПУФ-а у храни. Напротив, број пехарастих ћелија које садрже киселе муцине био је веома уједначен за различите групе, како седмог, тако и 28. дана. О томе сведочи и изузетно висока Р-вредност за утицај ПУФ-а и интеракцију ПУФ-а и старости.

Величина пехарастих ћелија које су садржавале киселе муцине је код свих нивоа ПУФ-а и код обе старости била већа од просечне величине пехарастих ћелија. Осим тога, овај параметар је био под сигнификантним утицајем оба испитивана фактора, док утицај њихове интеракције није био сигнификантан. Пилићи стари 28. дана су у просеку имали доста веће пехарасте ћелије са киселим муцинима него пилићи стари 7. дана. Што се тиче нивоа ПУФ-а, највеће пехарасте ћелије са киселим муцинима је имала група са најнижим нивоом ПУФ-а, контролна група је имала сигнификантно мање ћелија, а две групе са вишим нивоима ПУФ-а су биле интермедијарне. Нумерички гледано, величина свих пехарастих ћелија и величина пехарастих ћелија које садрже киселе муцине следе исту правилност по старостима и нивоима ПУФ-а, али су ове разлике израженије код ћелија које садрже киселе муцине.

Табела 35. Утицај старости и додатка ПУФ-а* на релативну масу унутрашњих органа бројлерских пилића у другом огледу

Ниво ПУФ-а	Старост	Фабрицијева бурза (%ТМ)	Слезина (%ТМ)	Јетра (%ТМ)	Гуштерача (%ТМ)
0,00%	7 дана	0,20	0,06	4,0	0,60
0,02%	7 дана	0,19	0,07	4,1	0,57
0,04%	7 дана	0,20	0,07	4,3	0,57
0,08%	7 дана	0,20	0,08	4,0	0,60
0,00%	28 дана	0,18	0,15	2,9	0,36
0,02%	28 дана	0,20	0,13	2,8	0,37
0,04%	28 дана	0,18	0,14	2,8	0,39
0,08%	28 дана	0,23	0,15	2,9	0,35
Утицај нивоа ПУФ-а					
		0,19	0,11	3,5	0,48
		0,20	0,10	3,5	0,47
		0,19	0,11	3,5	0,48
		0,21	0,11	3,4	0,47
Утицај старости					
	7 дана	0,20	0,07 ^б	4,1 ^а	0,58 ^а
	28 дана	0,20	0,14 ^а	2,8 ^б	0,37 ^б
<i>SEM</i> **		0,007	0,005	0,08	0,014
Р-вредности					
Старост		0,960	0,000	0,000	0,000
ПУФ		0,380	0,600	0,844	0,920
Старост × ПУФ		0,283	0,317	0,118	0,305

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

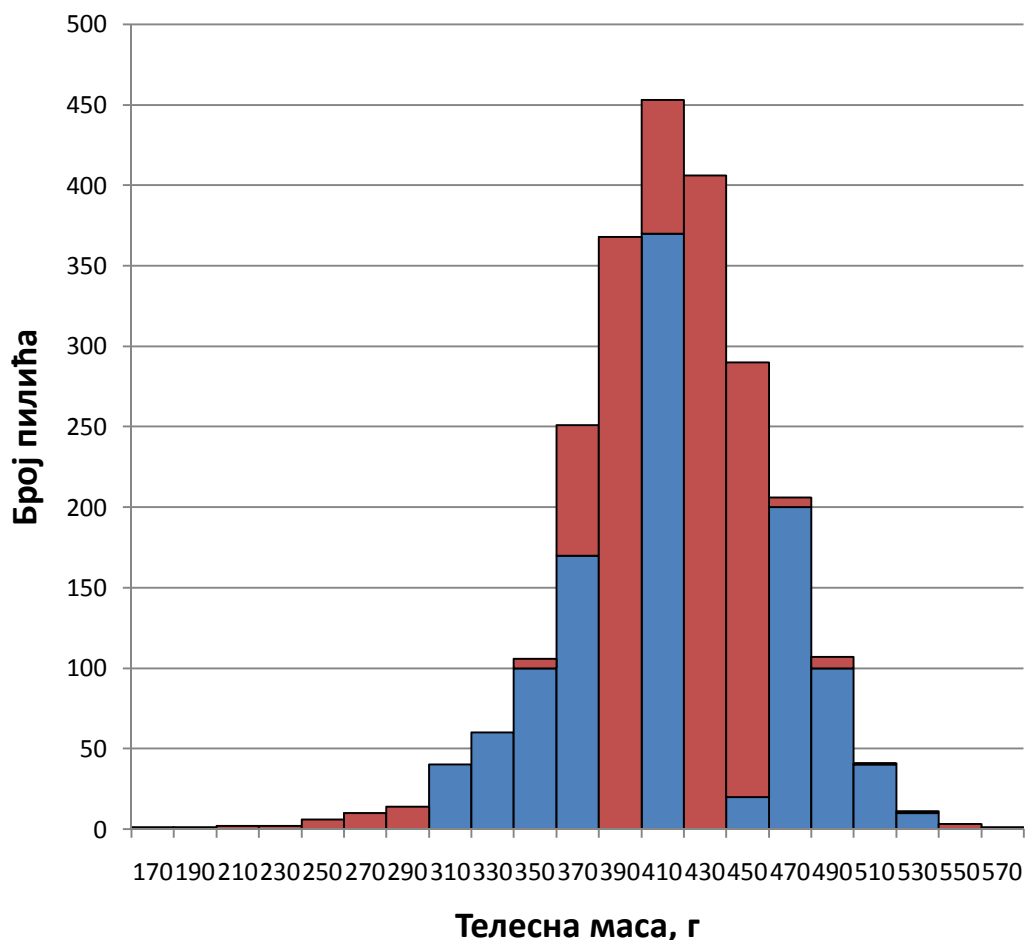
***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине^{а,б} Просеци група унутар непрекинуте колоне обележени различитим словима се статистички значајно разликују ($P < 0,05$)

У табели 35 су приказане релативне масе Фабрицијеве бурзе, слезине, јетре и гуштераче бројлерских пилића у другом огледу. Маса органа су изражене као проценат од телесне масе. Приказане су у зависности од старости пилића и нивоа ПУФ-а у храни. Релативна маса слезине се са повећањем старости удвостручила, док су се релативне масе јетре и гуштераче битно смањиле. Ове разлике су биле статистички значајне. За разлику од тога, релативна маса Фабрицијеве бурзе је остала непромењена. Утицај нивоа ПУФ-а на релативне масе наведених органа није био значајан. Чак се ни нумерички гледано не назире никакве правилности нити битније разлике. Ни интеракције између старости пилића и нивоа ПУФ-а у храни нису статистички значајно утицале на релативне масе унутрашњих органа. Овај утицај је био најближи статистичком значају у случају масе јетри, али и овде са релативно високом Р-вредношћу од 0,118.

Оглед 3

Трећи оглед је почео четрнаестог дана старости пилића. До четрнаестог дана, сви пилићи су конзумирали исту храну, без додатка ПУФ-а. Ради могућности поређења напредовања пилића са претходним огледима треба напоменути да је просечна маса пилића на усељењу износила 42,9 g, а да је просечна маса седмог дана старости износила чак 199,3 g. На графикону 1 су приказани резултати индивидуалног мерења 2379 пилића и њиховог разврставања у групе према тежини. Ово мерење и разврставање је обављено 13. дана старости пилића. Као што се на графикону види, дистрибуција телесних маса бројлерских пилића је била веома слична нормалној, Гаусовој дистрибуцији. Ипак, приметна је блага асиметричност, која је последица веће заступљености пилића са екстремно ниским телесним масама у односу на пилиће са екстремно високим телесним масама. Тако је најтеже пиле имало телесну масу од око 570 g, што је за 160 g боље од најзаступљеније групе, док је најлакше пиле имало масу од око 170 g, што је чак 240 g слабије од најзаступљеније групе.

Графикон 1. Дистрибуција телесних маса мушких бројлерских пилића старих 13. дана у трећем огледу



Плавом бојом су означени пилићи који су употребљени за формирање тежинских група, а црвеном бојом пилићи који нису узети у оглед.

У табели 36 су приказане телесне масе пилића у трећем огледу. Након разврставања, 13. дана, телесне масе унутар тежинских група су биле веома уједначене, док су разлике између тежинских група биле сигнификантне. Почетна разлика између „мале“ и „средње“ тежинске групе износила је 56 g, а између „средње“ и „велике“, 67 g. Просечна маса пилића у групи малих телесних маса била је 86% од просечне масе средње групе, а просечна маса пилића у групи великих телесних маса била је 116% од просечне масе средње групе.

Табела 36. Утицај тежинске групе и додатка ПУФ-а* на телесну масу пилића у трећем огледу

Ниво ПУФ-а	Тежинска група	13. дан	21. дан	28. дан	35. дан
0,00%	Мали	355	738	1293	1915
0,04%	Мали	355	745	1328	1941
0,00%	Средњи	410	861	1454	2099
0,04%	Средњи	411	847	1453	2098
0,00%	Велики	478	955	1547	2193
0,04%	Велики	476	959	1571	2215
Утицај нивоа ПУФ-а					
		414	851	1431	2069
		414	850	1451	2085
Утицај тежинске групе					
	Мали	355 ^B	741 ^B	1310 ^B	1928 ^B
	Средњи	411 ^б	854 ^б	1454 ^б	2098 ^б
	Велики	477 ^a	957 ^a	1559 ^a	2204 ^a
<i>SEM</i> **		9,3	17,1	21,4	24,9
P-вредности					
ПУФ		0,643	0,927	0,385	0,584
Тежинска група		0,000	0,000	0,000	0,000
ПУФ × Теж. г.		0,426	0,693	0,788	0,915

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине

^{a,б,в} Просеци група унутар непрекинуте колоне обележени различитим словима се статистички значајно разликују ($P < 0,05$)

Након недељу дана огледа, долази до одређених разлика између група која конзумирају ПУФ и оних које не конзумирају, али су ове разлике биле углавном мале и статистички несигнификантне. Пилићи малих и великих почетних маса су били нешто тежи при исхрани са додатком ПУФ-а него у контролној групи, док је код пилића просечне почетне телесне масе, ситуација била обрнута. Сличан тренд се наставио и на наредним мерењима, па је тако на крају огледа код „мале“ и „велике“ тежинске групе постојала блага разлика у корист пилића који конзумирају ПУФ, док су телесне масе код пилића „средње“ тежинске групе биле веома сличне без обзира на конзумацију ПУФ-а. Разлике између тежинских група су остале сигнификантне током целог огледа. Гледано у апсолутним вредностима, ове разлике су се повећале. Са почетних 56 g на крају друге недеље, разлика између пилића мале и средње почетне масе се повећала на 170 g 35. дана, а разлика између пилића средње и велике почетне масе се повећала са 67 g на 106 g. Дакле, повећање разлике је било много израженије између „мале“ и „средње“ групе. Ако ове разлике посматрамо релативно, у односу на телесну масу, видећемо да су се оне заправо смањиле. На почетку огледа, разлика између пилића мале и средње почетне масе је износила 14%, док је на крају огледа спала на 8%. Још више се смањила разлика између пилића средње и велике почетне масе, са почетних 16% на коначних 5%.

У табели 37 су приказани прирасти пилића у огледу 3 у зависности од тежинске групе и додатка ПУФ-а. Код свих група су прирасти били високи и повећавали се из недеље у недељу. Додатак ПУФ-а у храну није имао статистички значајног утицаја на прирасте пилића. У првој недељи огледа (3. недеља старости) утицај тежинске групе на прираст је био веома изражен, најкрупнији пилићи су највише прирастали, а најситнији најмање. Ова разлика се у наредне две недеље смањила и постала статистички несигнификантна. Нарочито је нестала разлика између пилића средње и велике почетне масе, чији су прирасти у четвртој и петој недељи и нумерички изједначени, мада је разлика у телесним масама сигнификантна до краја огледа (табела 35). Разлика између ове две групе и групе пилића мале почетне масе је била присутна и током 4. и 5. недеље старости пилића, али није била статистички сигнификантна. Ипак, укупан прираст пилића током 3 недеље огледа је био под статистички значајним

утицајем тежинске групе. Пилићи мале почетне телесне масе су значајно мањи прираст од пилића „средње“ и „велике“ групе.

Табела 37. Утицај тежинске групе и додатка ПУФ-а* на прирасте пилића у трећем огледу

Ниво ПУФ-а	Тежинска група	3. недеља	4. недеља	5. недеља	Укупно
0,00%	Мали	383	555	622	1560
0,04%	Мали	390	582	613	1586
0,00%	Средњи	451	593	645	1688
0,04%	Средњи	436	606	645	1687
0,00%	Велики	478	592	645	1715
0,04%	Велики	483	612	645	1739
Утицај нивоа ПУФ-а					
		437	580	637	1654
		436	600	634	1671
Утицај тежинске групе					
	Мали	387 ^b	569	617	1573 ^b
	Средњи	443 ^b	600	645	1688 ^a
	Велики	480 ^a	602	645	1727 ^a
<i>SEM</i> **		8,7	7,0	8,8	18,0
P-вредности					
ПУФ		0,946	0,149	0,868	0,578
Тежинска група		0,000	0,098	0,394	0,001
ПУФ × Теж. г.		0,671	0,911	0,979	0,910

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине

^{a,b} Просеци група унутар непрекинуте колоне обележени различитим словима се статистички значајно разликују ($P < 0,05$)

Табела 38. Утицај тежинске групе и додатка ПУФ-а* на релативне дневне прирасте пилића (%) у трећем огледу

Ниво ПУФ-а	Тежинска група	3. недеља	4. недеља	5. недеља	Укупно
0,00%	Мали	8,76	7,80	5,54	6,24
0,04%	Мали	8,85	8,03	5,36	6,28
0,00%	Средњи	8,86	7,32	5,19	6,12
0,04%	Средњи	8,66	7,53	5,18	6,11
0,00%	Велики	8,32	6,75	4,94	5,84
0,04%	Велики	8,41	6,91	4,86	5,87
Утицај нивоа ПУФ-а					
		8,65	7,29	5,22	6,07
		8,64	7,49	5,13	6,09
Утицај тежинске групе					
	Мали	8,81 ^а	7,91 ^а	5,45 ^а	6,26 ^а
	Средњи	8,76 ^а	7,43 ^б	5,18 ^{аб}	6,11 ^б
	Велики	8,36 ^б	6,83 ^б	4,90 ^б	5,85 ^б
<i>SEM</i> **		0,077	0,097	0,075	0,035
Р-вредности					
ПУФ		0,965	0,066	0,530	0,548
Тежинска група		0,039	0,000	0,010	0,000
ПУФ × Теж. г.		0,664	0,954	0,881	0,859

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине^{а,б,в} Просеци група унутар непрекинуте колоне обележени различитим словима се статистички значајно разликују ($P < 0.05$)

Релативни дневни прирасти пилића у трећем огледу, приказани су у табели 38. У све три недеље огледа, као и укупно посматрано, најбољи прираст у односу на своју телесну масу је остварила група пилића мале почетне телесне масе. Разлика између ове групе и групе пилића велике почетне телесне масе, била је сигнификантна у свим поређењима, док се „средња“ група у 3. недељи старости сигнификантно разликовала од „велике“ групе, у 4. недељи од обе преостале групе, а у 5. недељи ни од једне од преосталих група. Разлике у релативном прирасту за цео период су биле статистички значајне између свих група. Утицај ПУФ-а је био близу статистичког значаја у четвртој недељи старости пилића са разликом од 0,2% у корист групе која је конзумирала ПУФ и Р-вредношћу 0,066.

У табели 39 су дати конверзија хране и морталитет пилића за трећи оглед. Конверзија је, као и оглед, обухватила период исхране од 14. до 35. дана, и упоредива је са конверзијама за гровер период из претходних огледа. У све три тежинске групе коефицијент конверзије хране је нумерички био нижи код пилића који су конзумирали храну са додатком ПУФ-а, али разлика није била статистички значајна. Што се тиче разлика између тежинских група, група пилића великих почетних телесних маса је имала сигнификантно лошију конверзију од пилића преостале две групе. Разлика је износила чак 7, односно 8 поена конверзије. Разлика између пилића мале и средње почетне масе је била мала и статистички незначајна.

Морталитет бројлерских пилића у огледу 3 је био доста виши у односу на претходне огледе. Кретао се од нормалних 4% код пилића средње тежинске групе који су добијали ПУФ у храни, па до изузетно високих 16% код пилића великих почетних маса, како оних са ПУФ-ом у храни, тако и оних без додатка ПУФ-а. Просечно, за цео оглед, морталитет је износио око 10%. Сигнификантан утицај додатка ПУФ-а на морталитет није уочен. Као и у случају конверзије, група пилића великих почетних маса је имала значајно лошији резултат од друге две групе, и у погледу угинућа пилића. Морталитет у групи „великих“ пилића је био чак за 10% већи него код групе „средњих“ пилића, а за 7,5% већи него код групе „малих“ пилића.

Табела 39. Утицај тежинске групе и додатка ПУФ-а* на конверзију хране и морталитет бројлерских пилића у трећем огледу

Ниво ПУФ-а	Тежинска група	Конверзија хране	Морталитет
0,00%	Мали	1,88	7,6
0,04%	Мали	1,83	9,2
0,00%	Средњи	1,86	7,6
0,04%	Средњи	1,85	4,3
0,00%	Велики	1,94	15,7
0,04%	Велики	1,91	16,2
Утицај нивоа ПУФ-а			
0,00%		1,90	10,3
0,04%		1,86	9,9
Утицај тежинске групе			
	Мали	1,85 ^б	8,4 ^б
	Средњи	1,86 ^б	5,9 ^б
	Велики	1,93 ^а	15,9 ^а
<i>SEM</i> **		0,014	1,24
Р-вредности			
ПУФ		0,213	0,863
Тежинска група		0,044	0,002
ПУФ × Теж. г.		0,890	0,606

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине

^{а,б} Просеци група унутар непрекинуте колоне обележени различитим словима се статистички значајно разликују ($P < 0,05$)

Табела 40. Утицај тежинске групе и додатка ПУФ-а* на релативне масе Фабрицијеве бурзе и слезине бројлерских пилића старих 35 дана, у огледу 3

Ниво ПУФ-а	Тежинска група	Фабрицијева бурза	Слезина
0,00%	Мали	0,14	0,099
0,04%	Мали	0,16	0,108
0,00%	Средњи	0,18	0,099
0,04%	Средњи	0,15	0,088
0,00%	Велики	0,13	0,101
0,04%	Велики	0,15	0,112
Утицај нивоа ПУФ-а			
0,00%		0,15	0,099
0,04%		0,15	0,102
Утицај тежинске групе			
	Мали	0,15	0,103
	Средњи	0,16	0,093
	Велики	0,14	0,106
<i>SEM</i> **		0,006	0,003
Р-вредности			
ПУФ		0,431	0,206
Тежинска група		0,866	0,608
ПУФ × Теж. г.		0,101	0,276

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине

^{a,б}Просеци група унутар непрекинуте колоне обележени различитим словима се статистички значајно разликују ($P < 0,05$)

У табели 40 су приказане масе Фабрицијевих бурзи и слезина бројлерских пилића старих 35 дана, у трећем огледу, изражене као проценат од телесне масе. Није уочен сигнификантан утицај ни једног од испитиваних фактора на ове параметре. У групи пилића средњих почетних маса Фабрицијева бурза и слезина су биле нешто лакше код пилића који су конзумирали храну са додатком ПУФ-а, док су код „малих“ и „великих“ пилића, односи били обрнути. Ово не упућује на јасну законитост у наведеним односима и даје релативно ниске Р-вредности за утицај интеракције тежинске групе и додатка ПУФ-а на релативне масе ова два органа.

У табели 41 су приказани морфометријски параметри празних црева бројлерских пилића старих 35 дана у трећем огледу. Насупрот сигнификантним разликама у телесним масама, прирасту, конверзији и морталитету пилића у овом огледу, у погледу висине и ширине ресица, дубине крипти и дебљине мишићног омотача, није било много разлика, како између тежинских група, тако између пилића са и без додатка ПУФ-а. Висина и ширина ресица су били нешто већи код групе пилића великих почетних маса, а дубина крипти нешто већа код „мале“ групе, али су ове разлике биле далеко од статистички значајних. Статистички значајан утицај је имала интеракција између тежинске групе и додатка ПУФ-а, и то на дубину цревних крипти. Данканов тест је показао да је код пилића који нису добијали ПУФ постојала сигнификантна разлика између пилића малих почетних маса и друге две групе, тј. да су пилићи малих почетних маса имали сигнификантно дубље крипте. Ове разлике није било код група које су добијале ПУФ у храни. Њихови резултати се нису статистички значајно разликовали ни од једне друге групе.

У табели 42 су приказани изведени морфометријски параметри празног црева бројлерских пилића старих 35 дана. Као што се из табеле може видети, није било значајног утицаја тежинске групе, додатка ПУФ-а, нити њихове интеракције на наведене параметре.

Табела 41. Утицај тежинске групе и додатка ПУФ-а* на морфометријске параметре празног црева бројлерских пилића старих 35 дана, у трећем огледу

Ниво ПУФ-а	Тежинска група	Висина ресица (μm)	Ширина ресица (μm)	Дубина крипти (μm)	Дебљина Т. muscularis (μm)
0,00%	Мали	1176	168	305 ^a	213
0,04%	Мали	1188	153	265 ^{ab}	182
0,00%	Средњи	1157	164	257 ^b	180
0,04%	Средњи	1171	171	285 ^{ab}	185
0,00%	Велики	1225	174	262 ^b	199
0,04%	Велики	1186	173	288 ^{ab}	217
Утицај нивоа ПУФ-а					
		1186	169	275	197
		1181	166	280	194
Утицај тежинске групе					
	Мали	1182	161	286	197
	Средњи	1164	168	271	183
	Велики	1206	174	275	208
	<i>SEM</i> **	24,8	3,52	5,59	5,27
Р-вредности					
	ПУФ	0,930	0,686	0,690	0,780
	Тежинска група	0,804	0,339	0,539	0,147
	ПУФ \times Теж. г.	0,890	0,470	0,020	0,142

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине^{a,b} Просеци група унутар непрекинуте колоне обележени различитим словима се статистички значајно разликују ($P < 0,05$)

Табела 42. Утицај тежинске групе и додатка ПУФ-а* на изведене морфометријске параметре празног црева бројлерских пилића, у трећем огледу

Ниво ПУФ-а	Тежинска група	Површина ресица (mm^2)	Висина ресица/дубина крипти	Висина ресица/ширина ресица
0,00%	Мали	0,201	3,97	7,11
0,04%	Мали	0,180	4,54	7,98
0,00%	Средњи	0,189	4,59	7,18
0,04%	Средњи	0,200	4,16	6,97
0,00%	Велики	0,214	4,70	7,25
0,04%	Велики	0,204	4,27	7,10
Утицај нивоа ПУФ-а				
		0,201	4,42	275
		0,195	4,32	280
Утицај тежинске групе				
	Мали	0,191	4,25	7,55
	Средњи	0,194	4,38	7,08
	Велики	0,209	4,48	7,18
<i>SEM</i> **		0,006	0,13	0,224
Р-вредности				
ПУФ		0,441	0,761	0,706
Тежинска група		0,590	0,712	0,682
ПУФ × Теж. г.		0,563	0,181	0,559

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине

У табели 43 је приказан утицај додатка ПУФ-а и почетне телесне масе пилића на број и величину пехарастих ћелија које садрже киселе муцине. Факторијална анализа варијансе није утврдила значајан утицај наведених фактора нити њихове интеракције на број пехарастих ћелија, мада је утицај интеракције био релативно близу статистичког значаја ($P = 0,082$). Разлике међу појединим групама су утврђене Данкановим тестом. Група пилића малих почетних маса, која није конзумирала храну са додатком ПУФ-а, је имала сигнификантно мањи број пехарастих ћелија које садрже киселе муцине у односу на друге две контролне групе и средњу тежинску групу са додатком ПУФ-а. Резултати групе пилића мале почетне масе који су добијали ПУФ у храни се нису статистички значајно разликовали ни од једне друге групе, али су нумерички били ближи резултатима група пилића са већим почетним телесним масама, него контролној групи „малих“ пилића. Релативно слични односи су уочени и у случају површине пресека пехарастих ћелија које садрже киселе муцине, уз то да се код овог параметра резултат контролне групе „малих“ пилића статистички значајно разликовао од резултата свих других група. Разлика је била најмања између ове и друге групе пилића малих почетних маса, док је просечна величина пехарастих ћелија код група пилића средњих и великих почетних маса била виша и веома уједначена. Ово је резултирало статистички значајним утицајем тежинских група на овај параметар. Тако су пилићи мале почетне телесне масе имали статистички значајно мању површину пресека пехарастих ћелија које производе киселе муцине у односу на друге две тежинске групе.

Табела 43. Утицај тежинске групе и додатка ПУФ-а* на пехарасте ћелије са киселим муцинима празног црева бројлерских пилића, у трећем огледу

Ниво ПУФ-а	Тежинска група	Број пехарастих ћелија (1/100 μ m)	Величина пехарастих ћелија (μ m ²)
0,00%	Мали	6,00 ^a	43 ^a
0,04%	Мали	6,75 ^{ab}	51 ^b
0,00%	Средњи	7,01 ^b	55 ^b
0,04%	Средњи	6,91 ^b	56 ^b
0,00%	Велики	7,01 ^b	56 ^b
0,04%	Велики	6,51 ^{ab}	55 ^b
Утицај нивоа ПУФ-а			
		6,68	51
		6,72	54
Утицај тежинске групе			
	Мали	6,37 ^a	47 ^a
	Средњи	6,96 ^b	56 ^b
	Велики	6,76 ^{ab}	55 ^b
<i>SEM</i> **		0,12	1,32
Р-вредности			
ПУФ		0,838	0,265
Тежинска група		0,108	0,006
ПУФ × Теж. г.		0,082	0,227

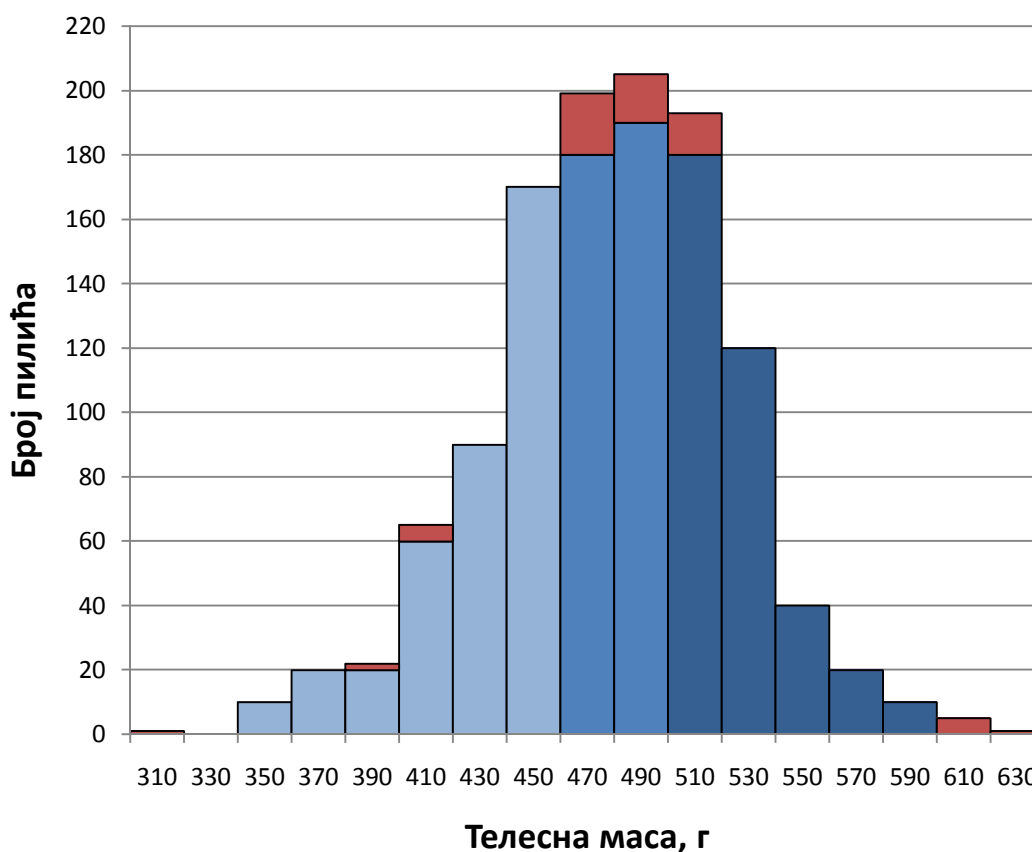
* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине^{a,b}Просеци група унутар непрекинуте колоне обележени различитим словима се статистички значајно разликују (P < 0,05)

Оглед 4

Пилићи који ће ући у четврти оглед, на крају прве недеље остварили су просечну телесну масу од 209 g. Као и трећи оглед, четврти оглед је почео 14. дана старости пилића, а пре тога је 13. дана извршено разврставање пилића у тежинске групе. Дистрибуција телесних маса пилића и раздвајање у тежинске групе, приказани су на графикону 2.

Графикон 2. Дистрибуција телесних маса бројлерских пилића старих 13 дана и њихова подела у тежинске групе у четвртом огледу



Плавом бојом су означени пилићи који су употребљени за формирање тежинских група, а црвеном бојом пилићи који нису узети у оглед. Различитим нијансама плаве означене су различите тежинске групе.

Као што се на графикону 2 може видети, у четвртом огледу је готово читава почетна популација пилића расподељена у групе и ушла у оглед, за разлику од трећег огледа где половина почетног броја пилића није била обухваћена огледом. Ово је умањило разлике међу групама, али је веродостојније представило читаву популацију пилића.

У табели 44 су приказане телесне масе пилића у четвртом огледу. Као што се из табеле може видети, почетне телесне масе су биле веома уједначене између третмана и веома високе у свим групама. Утицај додатка ПУФ-а на телесну масу 21. дана је био релативно близу статистичког значаја ($P = 0,09$), док је у осталим недељама био далеко од статистичког значаја. Посматрајући разлике унутар тежинских група, може се закључити да су „мали“ и „средњи“ пилићи који су конзумирали храну са додатком ПУФ-а углавном имали веће телесне масе у односу на контролне пилиће, док је код групе пилића великих почетних маса ситуација углавном била обрнута. Разлике међу групама су биле мање него у трећем огледу, али су се одржале до 35. дана. У последњој недељи се изгубила сигнификантна разлика између групе пилића просечних телесних маса и друге две групе. Почетна разлика између пилића „мале“ и „средње“ групе износила је 49 g или 10%, док је разлика између „велике“ и „средње“ групе износила 46 g или 9%. Гледано у апсолутним вредностима, ове разлике су се повећавале до 28. или 35. дана, а затим опадале, тако да су на крају огледа биле релативно сличне почетним вредностима. Напротив, ако разлике посматрамо у односу на телесну масу пилића, видимо да су се оне константно и релативно равномерно смањивале током трајања огледа, са почетних 9 до 10%, на завршних 2-3%.

Табела 44. Утицај тежинске групе и додатка ПУФ-а* на телесну масу пилића у четвртом огледу

Ниво ПУФ-а	Тежинска група	13. дан	21. дан	28. дан	35. дан	42. дан
0,00%	Мали	433	928	1526	2203	2770
0,04%	Мали	433	948	1516	2208	2796
0,00%	Средњи	482	1015	1598	2289	2813
0,04%	Средњи	482	1020	1615	2301	2860
0,00%	Велики	527	1097	1733	2406	2933
0,04%	Велики	528	1108	1722	2359	2883
Утицај нивоа ПУФ-а						
		481	1014	1619	2299	2839
		481	1025	1618	2289	2846
Утицај тежинске групе						
	Мали	433 ^b	938 ^b	1521 ^b	2205 ^b	2783 ^b
	Средњи	482 ^b	1017 ^b	1606 ^b	2295 ^b	2836 ^{ab}
	Велики	528 ^a	1102 ^a	1729 ^a	2385 ^a	2911 ^a
<i>SEM**</i>		7,2	12,9	17,6	16,6	21,6
P-вредности						
ПУФ		0,534	0,090	0,931	0,608	0,856
Тежинска група		0,000	0,000	0,000	0,000	0,073
ПУФ × Теж. г.		0,858	0,641	0,679	0,448	0,619

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине^{a,b} Просеци група унутар непрекинуте колоне обележени различитим словима се статистички значајно разликују ($P < 0,05$)

Табела 45. Утицај тежинске групе и додатка ПУФ-а* на прирасте пилића у четвртом огледу

Ниво ПУФ-а	Тежинска група	3. недеља	4. недеља	5. недеља	6. недеља	Укупно
0,00%	Мали	496	581	694	566	2337
0,04%	Мали	515	568	691	589	2363
0,00%	Средњи	533	582	691	524	2330
0,04%	Средњи	537	595	686	559	2377
0,00%	Велики	570	636	673	527	2406
0,04%	Велики	580	614	637	524	2355
Утицај нивоа ПУФ-а						
		533	600	686	539	2358
		544	592	671	557	2365
Утицај тежинске групе						
	Мали	505 ^b	574 ^b	693 ^a	578	2350
	Средњи	535 ^b	589 ^b	689 ^a	541	2354
	Велики	575 ^a	626 ^a	657 ^b	526	2383
<i>SEM**</i>		6,2	6,9	17,6	15,6	19,5
Р-вредности						
ПУФ		0,094	0,566	0,180	0,591	0,862
Тежинска група		0,000	0,010	0,017	0,433	0,818
ПУФ × Теж. г.		0,644	0,517	0,399	0,889	0,616

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине^{a,b} Просеци група унутар непрекинуте колоне обележени различитим словима се статистички значајно разликују ($P < 0,05$)

У табели 45 су приказани недељни прирасти и укупан прираст бројлерских пилића током четвртог огледа. Недељни прирасти су се повећавали до пете недеље, а затим су се у шестој недељи смањили. Као и у случају телесних маса, утицај додатка ПУФ-а је био релативно близу статистичког значаја у првој недељи огледа, а његов позитиван ефекат је током огледа најчешће био изражен код пилића мале и средње почетне телесне масе. Иако се укупан прираст није статистички значајно разликовао између тежинских група, а чак су и нумеричке вредности биле сличне, недељни прирасти су открили значајне разлике у темпу прирастања између тежинских група. У првој недељи огледа, група „великих“ пилића имала је највећи прираст, а група „малих“ пилића најмањи. У другој недељи, ситуација је слична, али се губи статистички значај разлике између група пилића малих и средњих почетних маса. Током треће недеље, односи су обрнути у односу на претходне две, и сада највећи прираст остварују групе пилића са малим и средњим почетним телесним масама, док група „великих“ пилића има слабије резултате. Исто се наставља и током последње недеље огледа, али сада без статистички значајних разлика.

У табели 46 су приказани релативни дневни прирасти телесне масе пилића у четвртом огледу. Током целог огледа, релативни прираст је константно опадао. Утицај ПУФ-а на релативни прираст је сличан као утицај на телесну масу и апсолутни прираст, док се утицај тежинских група на ове показатеље разликује. Највећи релативни прираст у свим недељама, као и за цео период огледа има група пилића мале почетне телесне масе. У прве две недеље огледа, разлике су биле сигнификантне између групе „малих“ и друге две групе. У четвртој недељи огледа, сигнификантна је само разлика између групе „малих“ и групе „великих“, док су у трећој недељи огледа и за цео период огледа сигнификантне све разлике између ове три групе.

Табела 46. Утицај тежинске групе и додатка ПУФ-а* на релативне дневне прирасте (%) пилића у четвртом огледу

Ниво ПУФ-а	Тежинска група	3. недеља	4. недеља	5. недеља	6. недеља	Укупно
0,00%	Мали	9,10	6,80	5,34	3,25	5,03
0,04%	Мали	9,32	6,58	5,31	3,36	5,05
0,00%	Средњи	8,89	6,37	5,08	2,93	4,88
0,04%	Средњи	8,94	6,45	5,00	3,09	4,90
0,00%	Велики	8,77	6,42	4,64	2,81	4,79
0,04%	Велики	8,87	6,27	4,52	2,83	4,76
Утицај нивоа ПУФ-а						
	0,00%	8,92	6,53	5,02	2,99	4,90
	0,04%	9,04	6,43	4,94	3,10	4,90
Утицај тежинске групе						
	Мали	9,21 ^а	6,69 ^а	5,33 ^а	3,31 ^а	5,04 ^а
	Средњи	8,91 ^б	6,41 ^б	5,04 ^б	3,01 ^{аб}	4,89 ^б
	Велики	8,81 ^б	6,34 ^б	4,58 ^б	2,82 ^б	4,78 ^б
<i>SEM</i> **		0,047	0,056	0,066	15,6	19,5
Р-вредности						
ПУФ		0,102	0,342	0,281	0,528	0,863
Тежинска група		0,000	0,023	0,000	0,056	0,000
ПУФ × Теж. г.		0,592	0,440	0,881	0,940	0,636

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине^{а,б,в}Просеци група унутар непрекинуте колоне обележени различитим словима се статистички значајно разликују ($P < 0,05$)

Табела 47. Утицај тежинске групе и додатка ПУФ-а* на коефицијент конверзије хране код бројлерских пилића у четвртом огледу

Ниво ПУФ-а	Тежинска група	Гровер	Финишер	Укупно
0,00%	Мали	1,57	2,58	1,82
0,04%	Мали	1,56	2,48	1,78
0,00%	Средњи	1,59	2,52	1,82
0,04%	Средњи	1,62	2,35	1,81
0,00%	Велики	1,65	2,52	1,85
0,04%	Велики	1,66	2,41	1,84
Утицај нивоа ПУФ-а				
		1,60	2,54	1,83
		1,61	2,41	1,81
Утицај тежинске групе				
	Мали	1,57 ^а	2,52	1,80
	Средњи	1,61 ^б	2,43	1,81
	Велики	1,65 ^в	2,46	1,85
<i>SEM</i> **		0,010	0,043	0,011
Р-вредности				
ПУФ		0,530	0,233	0,460
Тежинска група		0,002	0,724	0,267
ПУФ × Теж. г.		0,582	0,941	0,845

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине^{а,б,в} Просеци група унутар непрекинуте колоне обележени различитим словима се статистички значајно разликују ($P < 0,05$)

Конверзија хране у четвртом огледу, приказана је у табели 47. У току гровер периода, конверзије је била релативно слична унутар тежинских група, независно од додатка ПУФ-а. Значајне разлике у конверзији у овом периоду, установљене су у зависности од почетне телесне масе. Пилићи малих почетних телесних маса имали су најбољу конверзију у овом периоду, а пилићи великих почетних маса најлошију. Током финишер периода, сигнификантна разлика између тежинских група је нестала. Уочава се да су у свакој тежинској групи пилићи који су конзумирали храну са додатком ПУФ-а имали нумерички бољу конверзију, разлике су чак доста велике, али не и статистички значајне. Укупна конверзија за цело трајање огледа није била под значајним утицајем ни једног од посматраних фактора. Нумерички гледано, била је нешто боља код огледних у односу на контролне групе и код „малих“ и „средњих“ пилића у односу на „велике“.

Морталитет пилића у четвртом огледу, приказан је у табели 48. Морталитет је приказан за гровер период, финишер период и укупно, али је статистичка анализа урађена само за укупан морталитет. Гледано за све групе, може се приметити да је морталитет био већи у гровер периоду, али ако се узме у обзир да је гровер период трајао три недеље, а финишер период недељу дана, долази се до закључка да су пилићи више угињавали у завршном периоду. Највећи морталитет је забележен код контролних пилића великих почетних маса, и био је више него двоструко виши него код већине других група. Статистички значајно се разликовао од морталитета свих група које су добијале ПУФ. Нешто повишен морталитет је имала и контролна група пилића малих почетних маса, али није било статистички значајне разлике. Факторијална анализа варијансе је утврдила статистички значајан утицај додатка ПУФ-а на морталитет пилића, док разлика између тежинских група није била сигнификантна. Иако ни утицај интеракције почетне масе и додатка ПУФ-а на морталитет није био сигнификантан, из добијених вредности се назире да се утицај испољио код група пилића малих и великих почетних маса, док је код просечних изостао.

Табела 48. Утицај тежинске групе и додатка ПУФ-а* на морталитет (%) бројлерских пилића у четвртом огледу

Ниво ПУФ-а	Тежинска група	Гровер период	Финишер период	Укупно
0,00%	Мали	4,9	1,1	5,9 ^{аb}
0,04%	Мали	1,1	2,7	3,8 ^а
0,00%	Средњи	2,2	2,2	4,3 ^а
0,04%	Средњи	3,8	0,5	4,3 ^а
0,00%	Велики	3,2	5,9	9,2 ^b
0,04%	Велики	2,7	1,1	3,8 ^а
Утицај нивоа ПУФ-а				
		3,4	3,1	6,5 ^b
		2,5	1,4	4,0 ^а
Утицај тежинске групе				
	Мали	3,0	1,9	4,9
	Средњи	3,0	1,4	4,3
	Велики	3,0	3,5	6,5
<i>SEM</i> **				0,62
Р-вредности				
ПУФ				0,033
Тежинска група				0,278
ПУФ × Теж. г.				0,161

* ПУФ – природна угљенохидратна фракција

***SEM* – стандардна грешка аритметичке средине^{а,б} Просеци група унутар непрекинуте колоне обележени различитим словима се статистички значајно разликују ($P < 0,05$)

6. ДИСКУСИЈА

Истраживања у оквиру ове докторске дисертације обухватила су четири огледа на бројлерским пилићима. У многим сегментима, ови огледи су се преклапали, а у многим другим разликовали. Тако на пример, у сва четири огледа је испитиван утицај додатка ПУФ-а на конверзију хране, али је утицај нивоа од 0,08% ПУФ-а на овај параметар испитиван само у другом огледу. Због потребе да се сагледа повезаност резултата унутар огледа (конверзија и прираст у првом огледу), као и повезаност резултата између огледа (конверзија у сва четири огледа) структура дискусије овог рада представља посебан изазов. Због тога ће најпре укратко бити дискутоване специфичности сваког од огледа, а затим ће поједини параметри бити дискутовани на основу резултата свих огледа.

Оглед 1

Први оглед обухваћен овом дисертацијом, надовезао се, на неки начин, на истраживања Brummer-а и сар. (2010). Они су коришћењем 0,01 и 0,02% ПУФ-а у храни бројлерских пилића утврдили утицај овог додатка на пехарасте

ћелије, али је сигнификантан утицај на производне резултате изостао. Како је овај оглед обухватио само стартер период исхране, а број пилића по третману је био релативно мали (35), ови резултати се морају узети са резервом. На основу резултата претходних сличних препарата добијених из ћелијског зида квасца (Rosen, 2007a), очекивано унапређење са новим препаратом се могло кретати око неколико десетина грама и неколико поена конверзије, а статистичка моћ наведеног огледа није била довољна да детектује ове, релативно мале, разлике.

Први оглед обухваћен овом дисертацијом постављен је тако да се помоћу много већег броја пилића (300 уместо 35) и дужег трајања това (42 уместо 15 дана) добије већа статистичка моћ. Испитиван је утицај једне концентрације која је кориштена у претходном огледу (0,02%) и двоструко више концентрације (0,04%). Резултати овог огледа су показали повећање телесне масе у почетном периоду, које се касније изгубило и унапређење конверзије као кључни ефекат додатка ПУФ-а. Концентрација која је довела до унапређења конверзије била је 0,04% и виша је од концентрација коришћених у огледу Brummer-а и сар. (2010), али нижа од уобичајено коришћених концентрација претходних сличних препарата (Hooge, 2004). За разлику од производних параметара, већ и нижа концентрација ПУФ-а је довела до увећања пехарастих ћелија у епителу празног црева, што је у сагласности са резултатима Brummer-а и сар. (2010).

Оглед 2

Након резултата који су указали да већа концентрација ПУФ-а даје бољи ефекат на производне параметре бројлерских пилића, у наредном огледу је поред две претходно коришћене концентрације тестирана и трећа, 0,08%. Овај производни оглед се одликовао слабијим производним резултатима пилића и изузетно снажним ефектом ПУФ-а. Додатак 0,02% ПУФ-а се поново показао недовољним да унапреди производне резултате пилића, али је додатак 0,04% ПУФ-а дао резултате који су међу најбољим забележеним за овај и сличне препарате (Hooge, 2004, Rosen, 2007a, Hooge и Connolly, 2011, Hooge и сар.,

2013). Завршна телесна маса је била повећана за 170 g у односу на контролу, утрошак хране по килограму прираста смањен за 70 g, а морталитет смањен са 6% на 2%. Овако снажан утицај додатка ПУФ-а у овом огледу се може повезати са slabим производним резултатима. Завршна маса контролне групе пилића је била тек нешто виша од 2 kg, при старости од 42 дана, а коефицијент конверзије хране за цео период тога је био преко 2. Појава да се ефекат адитива јаче испољава када су услови неповољни позната је у литератури и има своје логичко објашњење. Наиме, при оптималним или чак идеалним условима, пилићи контролне групе (без додатка адитива) напредују веома добро и немају никакав изазов који би евентуално тражио да животиње уложе додатни имунолошки или физиолошки напор како би одржале добро здравље и производњу, што је најчешће повезано са повећаним утрошком енергије и слабијим производним резултатима. Тада су пилићи који у храни добијају адитив у предности јер су боље „заштићени“ и по правилу се тада оставрује разлика у перформансама која оправдава коришћење адитива, па и препарата ћелијског зида. Слична повезаност лошијих производних резултата и јачег ефекта препарата ћелијског зида квасца уочава се и у бази резултата добијених коришћењем претходног сличног препарата (Hooge, 2004), али не и у новијој бази огледа у којима је коришћен ПУФ (Hooge и сар., 2013). Највиша концентрација ПУФ-а, 0,08%, није довела до бољих резултата у односу на концентрацију од 0,04%, чак је у погледу морталитета дала слабији резултат. Битно другачију слику је дао оглед Lea и сар. (2011) у коме су кориштене исте три концентрације ПУФ-а, али је најефикаснија била 0,02%. Занимљиво је да у другом огледу концентрације ПУФ-а које су довеле до унапређења производних параметара нису изазвале сигнификантне промене у морфологији цревних ресица и пехарастих ћелија, а концентрација од 0,02% јесте.

Оглед 3

Дизајн трећег огледа осмишљен је као иновативан начин тестирања препарата ћелијског зида квасца. Узимајући у обзир могућност да овакви

препарати испољавају своје пуно дејство у производним уловима који нису идеални у погледу смештаја, хигијене, исхране итд, често се при испитивању оваквих препарата користе одређени изазови за здравље и производњу животиња. Ови изазови су најчешће: заражавање патогеним бактеријама (*Escherichia coli*, Baurhoo, 2007б; *Salmonella* sp., Spring и сар., 2000; *Clostridium perfringens*, Yitbarek и сар., 2012), заражавање патогеним протозоама (*Eimeria* sp., Nollet и сар., 2007, Swick и сар., 2013), узгајање на коришћеној простирци, која потенцијално садржи различите патогене (Haese и сар., 2011, Mathis и сар., 2012) или додавање овакве простирке чистој простирци (Sims и сар., 2004), као и повећање густине насељености (Hooge и сар., 2003) или изложеност високим температурама (Sohail и сар., 2010, Sohail и сар., 2012).

Како би се избегла употреба оваквих изазова који представљају нарушавање добробити животиња и потенцијални ризик за здравље, осмишљен је метод раздвајања пилића у тежинске групе и тестирања препарата на њима. Овај метод је имао за циљ да елиминише потребу креирања стреса код животиња, замењујући је издвајањем делова популације који су иначе под појачаним стресом и фокусирањем истраживања на њих. Са тим циљем, формиране су: група пилића чије су телесне масе заостајале у односу на просек, група пилића просечних телесних маса и група пилића чија је телесна маса била значајно већа од просека. Претпоставка је била да је просечна група најбоље прилагођена и налази се под најмањим стресом. У прилог овоме говори и то што различите инфекције често доводе до мањег прираста и телесне масе (Yitbarek и сар., 2012, Swick и сар., 2013), док су са друге стране пилићи великих телесних маса склони локомоторним (Ђukić Stojčić и Bessei, 2009) и кардиоваскуларним (Julijan и сар., 1986, Aftab и Khan, 2005) проблемима.

Раздвајање је обављено 13. дана, а оглед је трајао до 35. дана. У овом огледу, ни код једне тежинске групе нису уочени позитивни ефекти додатка ПУФ-а на производне резултате. Ово може бити последица изостанка исхране ПУФ-ом у стартер периоду. Такође, у овом огледу сви пилићи су постигли одличне резултате у погледу телесних маса и конверзије хране, са изузетком морталитета који је био висок. Нарочито висок морталитет, статистички значајно већи него код друге две групе, имала је група пилића великих почетних маса. На крају, могуће је да се из неких других разлога ефекат препарата не

јавља увек. Ово је потврђено у бројним огледима (Brummer и сар., 2010, Perdomo, 2010, Munyaka и сар., 2012, Good, 2013, De Jesus и сар., 2014). Утицај препарата је забележен код цревних параметара. Пилићи малих тежинских маса који нису конзумирали ПУФ, имали су дубље цревне крипте, као и мањи број и величину пехарстих ћелија у односу на пилиће просечних и великих почетних маса. Додатак ПУФ-а је успео да приближи цревне параметре пилића малих почетних маса цревним параметрима осталих пилића.

Оглед 4

Четврти оглед се надовезао на трећи, следећи методологију раздвајања пилића у тежинске групе. У односу на претходни оглед, разлика је била у томе да су након раздвајања у групе, готово сви пилићи били обухваћени огледом и да је оглед трајао до 42. дана. Мана овог приступа је у мањим разликама између тежинских група, а предност у обухватању целе популације пилића. За разлику од претходног огледа, у овом је забележен статистички значајан утицај додатка ПУФ-а на морталитет пилића. Морталитет је просечно умањен са 6,5% на 4%. Нумерички велике разлике у морталитету су релативно често добијане применом овог препарата, али обично нису статистички значајне (Munyaka и сар., 2011, Gernat, 2011, Mathis и сар., 2012), мада је мета-анализом утврђен статистички значајан утицај додатка ПУФ-а на морталитет (Hooge и сар., 2013). Оно што је нарочито занимљиво је да се ситуација у поједним тежинским групама битно разликовала. Код пилића просечне почетне телесне масе није било разлике између оних који су конзумирали ПУФ и контролне групе. Код пилића малих почетних маса, нумеричка разлика је постојала, али није била статистички значајна, док је разлика била нејвећа и статистички значајна код пилића великих почетних маса. Као и у претходном огледу, контролни пилићи великих почетних маса имали су статистички значајно већи морталитет у односу на пилиће просечних почетних маса. Насупрот томе, код пилића који су конзумирали храну са додатком ПУФ-а, морталитет је у групи пилића великих почетних маса био на нивоу морталитета пилића просечних телесних маса.

Овакви подаци делимично потврђују полазне претпоставке да додаток ПУФ-а пре свега делује на пилиће који се суочавају са одређеним здравственим проблемима и да се тај ефекат може утврдити раздвајањем пилића у тежинске групе, а без примене изазова као што су заражавање пилића, употреба коришћене простирке и слично.

Утицај додатка ПУФ-а на телесне масе и прирасте бројлерских пилића

Утицај ПУФ-а на телесне масе бројлерских пилића праћен је у сва четири огледа обухваћена дисертацијом, на недељном нивоу. Највише је испитиван утицај концентрације ПУФ-а од 400 g/t, која је коришћена у сва четири огледа, док је двоструко мања концентрација коришћена у прва два огледа, а двоструко већа само у једном огледу, другом. У свим огледима је постојала негативна контрола. Добијени резултати су варијабилни. У првом огледу, телесна маса пилића била је под утицајем додатка ПУФ-а на крају друге и треће недеље старости, а касније се та разлика изгубила. У другом огледу, разлика која се назире 14. и 21. дана, постаје статистички значајна 28. дана и даље расте на наредна два мерења. У трећем и четвртом огледу, није било статистички значајног утицаја додатка ПУФ-а на телесну масу. Слична варијабилност се може видети и у другим истраживањима са овим препаратом. Brummer и сар. (2010), Perdomo (2010), Munyaka и сар. (2012) и De Jesus и сар. (2014) нису установили утицај додатка ПУФ-а на телесне масе пилића, док је у другим истраживањима добијен статистички значајан утицај ПУФ-а на телесну масу пилића (Mathis и Brennan, 2010, Mathis, 2011, Lea и сар., 2011, Haese и сар., 2011, Culver и сар., 2011, Olejniczak и Nollet, 2011, Mathis и сар., 2012). Разлика је понекад била близу прага статистичке значајности (Good, 2013), док је на основу неких истраживања тешко тврдити било шта, због недостатка статистичке обраде података (Laustsen и Nollet, 2011). И у оквиру истраживања где је добијен утицај ПУФ-а на телесну масу постоји значајна варијабилност. У неким истраживањима ПУФ је утицао на прирасте пилића у почетном периоду,

док касније није имао ефекта (Haese и сар., 2011), што је доста слично ситуацији из првог огледа обухваћеног дисертацијом. Насупрот томе, у другим истраживањима, на почетку нема утицаја, па утицај се јавља тек у каснијим периодима тога, као у огледу 2. Тако је утицај ПУФ-а утврђен тек на крају пете недеље (Mathis и Brennan, 2010, Mathis, 2011, Culver и сар., 2011), шесте недеље (Olejniczak и Nollet, 2011) или чак са 52 дана старости (Mathis и сар., 2012), док га на ранијим мерењима није било. Има и истраживања у којима се утицај јавља рано и континуирано испољава током целог огледа (Lea и сар., 2012). Иако се истраживања настављају, не треба очекивати долазак до дефинитивног одговора. Насупрот томе, добијени резултати потврђују запажање Вилијама Ослера у области хумане медицине: „Варијабилност је закон живог света“ (Osler, 1903). Његова дефиниција медицине: “Медицина је наука несигурности и уметност вероватноће“ (Stacy, 1965), потпуно је применљива и на пољопривреду.

Варијабилност утицаја ПУФ-а на прирасте и телесне масе није специфичност тога пилића. И у истраживањима на другим врстама, иако мање бројним него истраживања на пилићима, добијени су слични резултати. Тако су Edwards и сар. (2014) добили позитиван утицај ПУФ-а на прираст прасади у одгоју, Che и сар. (2011) нису утврдили статистички значајан утицај, док је у огледу Good (2013) чак добијен негативан утицај близу статистичког значаја. У огледу на телади добијен је позитиван утицај на прираст телесне масе (Heinrichs и сар., 2013), у огледу на сомовимана позитиван утицај на дужину млађи (Corneille, 2014), док у огледу на кунићима (Tazzoli и сар., 2012) ефекта није било. На основу претходно приказаних резултата добијених на бројлерским пилићима може се претпоставити да присуство ефекта варира унутар појединих врста, а не између врста. Због тога, не може се на основу малог броја огледа претпоставити да препарат делује код телади и риба, а не делује код кунића.

У првом огледу, ефекат ПУФ-а на телесну масу добијен је коришћењем ниже концентрације (200 g/t), док је са вишом концентрацијом (400 g/t) ефекат изостао. Напротив, у другом огледу, ефекат је био најизраженији са додатком 400 g ПУФ-а по тони хране, док је група која је добијала 200 g ПУФ-а по тони хране била на нивоу контролне групе. Група која је добијала 800 g ПУФ-а по тони хране имала је нумерички слабије резултате од најбоље групе, али се нису

статистички значајно разликовале. Lea и сар. (2011) су такође утврдили да 200 g/t може дати боље резултате него 400 g/t, као и у првом огледу. У њиховом огледу, група која је добијала 800 g/t имала је сличне резултате као група која је добијала 200 g/t. Haese и сар. (2011) нису утврдили статистички значајну разлику између група које су добијале 200 g/t или 400 g/t ПУФ-а, али је група која је добијала 400 g/t током првих 21 дан, а затим 200 g/t била боља од групе која је током целог огледа добијала 200 g/t. Perdomo (2010) је користио иста три програма додавања ПУФ-а као Haese и сар. (2011), али разлика није било.

Просечан ефекат додатка ПУФ-а на завршну телесну масу бројлерских пилића за сва четири огледа и све концентрације ПУФ-а је био 37 g. Ово је значајно ниже од 129 g добијених сумирањем 9 студија које су се бавиле испитивањем утицаја додатка ПУФ-а на производне резултате (Hooge и Connolly, 2011) или 80 g добијених сумирањем 18 студија (Hooge и сар., 2013). Добијена вредност је веома приближна резултатима који су добијени за старији препарат на бази хелијског зида квасца, који је испитан у још већем броју огледа, где се просечно повећања телесне масе у различитим мета-анализама и холо-анализама кретало од 28 g до 50 g (Hooge, 2004, Hooge, 2009, Rosen, 2007a).

Утицај додатка ПУФ-а на конверзију хране код бројлерских пилића

Конверзија хране је економски изузетно важна особина и обично је у снажној корелацији са прирастом (Skinner-Noble и Teeter, 2004), што значи да пилићи који боље расту обично и боље искориштавају храну. То се може видети и поређењем резултата четири огледа обухваћена дисертацијом. Резултати конверзије су углавном пратили резултате телесне масе. Најјачи ефекат за оба параметра је добијен у другом огледу, у првом огледу је утврђен слабији, али сигнификантан ефекат, док је у последња два огледа ефекат изостао. Слична варијабилност ефекта ПУФ-а на конверзију, али и повезаност са прирастом се

види и у радовима других аутора. Brummer и сар. (2010), Perdomo (2010), Munyaka и сар. (2012), Good (2013) и De Jesus и сар. (2014) нису установили утицај додатка ПУФ-а на коефицијент конверзије хране, као ни на прираст телесне масе, док су Mathis и Brennan (2010), Mathis, (2011), Culver и сар. (2011) и Mathis и сар. (2012) утврдили ефекат на оба параметра паралелно. Нешто сложеније резултате дала су истраживања која су вршили Lea и сар. (2011) и Haese и сар. (2011). Haese и сар. (2011) су утврдили сигнификантан утицај додатка ПУФ-а на прираст пилића у периоду до 21. дана старости, док утицај на конверзију у том периоду није био сигнификантан. У периоду од 22. до 42. дана старости пилића, ситуација је била обрнута, утицај ПУФ-а на прираст није био значајан, али утицај на конверзију јесте. У огледу који су извели Lea и сар. (2011), утицај на конверзију је постојао у почетном и средњем периоду тога, док је у задњем периоду изгубљен, за разлику од снажног утицаја на прираст.

У оба огледа где је добијен утицај ПУФ-а на конверзију хране, разлика је настала током гровер периода (15-35 дана). Веома сличну ситуацију утврдили су и Culver и сар. (2011), где је разлика у конверзији настала у периоду од 25 до 35. дана, а код Lea и сар. (2011) разлика постоји у периоду до 29. дана, али не и касније. Такође, у оба огледа где је добијен утицај ПУФ-а на конверзију хране, утицај је утврђен код групе која је добијала 400 g ПУФ-а по тони хране, док је изостао код групе која је добијала 200 g/t. Као и у случају телесних маса, резултати групе која је добијала 800 g ПУФ-а по тони хране били су нумерички слабији од групе која је добијала 400 g/t, али разлика није била статистички значајна. У ранијим истраживањима углавном није било статистички значајне разлике између група које су добијале ПУФ, без обзира на употребљену концентрацију. Тако су Lea и сар. (2011) добили исте резултате са 200, 400 и 800 g ПУФ-а по тони, а Perdomo (2010), Haese и сар. (2011) и De Jesus и сар. (2014) су добили исте резултате користећи 200 g/t и 400 g/t, као и програм исхране који подразумева 400 g/t у почетном периоду, а затим 200 g/t до краја тога.

Просечно побољшање конверзије за цео огледни период добијено у четири огледа обухваћена дисертацијом износило је 3,4 поена. Под поеном конверзије овде се подразумева стоти део вредности коефицијента конверзије. Добијено побољшање је нешто ниже од 4,6 поена добијених мета-анализом из 2011. године (Hooge и Connolly, 2011), али веома приближно вредности од 3,3

поена добијеној у новијој мета-анализи која је обухватила већи број истраживања (Hooge и сар., 2013). Ове вредности су веома сличне и вредностима добијеним мета-анализама и холо-анализама за старији сличан препарат хелијског зида квасца, који је испитан у великом броју студија. Hooge је најпре утврдио просечно побољшање конверзије од 3,5 поена (2004), затим 3,3 поена на новој бази (Hooge, 2009), а Rosen 3,9 поена (2007a). Овако добра усаглашеност обједињених резултата већег броја студија никако не значи ниску варијабилност ефекта ПУФ-а на овај параметар. Тако се у огледима обухваћеним дисертацијом утицај ПУФ-а на конверзију кретао од 0 до 7 поена конверзије. У истраживањима других аутора утицај ПУФ-а на конверзију се кретао од погоршања за 6 поена (Sasou и Corneille, 2011, према Hooge и сар., 2013) до побољшања за 9 поена (Mathis и Brennan, 2010).

Да би се утицај на конверзију могао упоредити са другим врстама где је ефикасност коришћења хране на другом нивоу, побољшање конверзије се може изразити процентуално у односу на контролну групу. Тако изражено, просечно побољшање конверзије за четири огледа износи 1,8%, и неупоредиво је ниже од побољшања добијеног у огледу на телади од чак 29%, а приближније вредностима добијеним на свињама од 0% (Good, 2013), 4% (Edwards и сар., 2014) и 8% (Che и сар., 2011). У огледу на кунџима није било ефекта ПУФ-а на конверзију хране (Tazzoli и сар., 2012).

Утицај додатка ПУФ-а на морталитет бројлерских пилића

Морталитет је, као и конверзија, економски изузетно важан производни параметар у тову пилића. Од четири производна огледа у којима је праћен морталитет, у два огледа је добијен статистички значајан утицај ПУФ-а на овај показатељ. У оба случаја ефекат је добијен коришћењем концентрације ПУФ-а од 400 грама по тони. У другом огледу је забележено највеће смањење морталитета уз додаток ПУФ-а, у четвртном огледу нешто мање, док у првом и трећем огледу статистички значајног утицаја ПУФ-а није било, иако је постојала одређена нумеричка разлика. Присуство релативно великих, али

несигнификантних разлика у морталитету је често. У огледу који су објавили Mathis и сар. (2012), морталитет је био за 1,5% мањи код групе која је добијала ПУФ, у огледу Munyaka и сар. (2011) за 1,7%, у огледу Gernat (2011) за 0,5 до 2,4%, зависно од нивоа ПУФ-а у храни. Ни у једном случају разлика није била сигнификантна. Међутим, има и случајева да је морталитет несигнификантно али нумерички изражено био виши код групе која је добијала ПУФ (Haese и сар., 2011). У овом огледу, морталитет је за 3,5% био виши код групе које је конзумирала ПУФ у односу на контролну групу. Ове високе, а несигнификантне разлике указују да је морталитет параметар који се у огледима са уобичајеним бројем животиња (неколико десетина по понављању) тешко прати.

Нешто јаснија слика о утицају ПУФ-а на морталитет се добија сумирањем резултата већег броја огледа, али ту проблем представља то што се у многим радовима не дају подаци о морталитету, па по правилу има мање података за овај параметар него за прираст и конверзију хране. У две мета-анализе које сумирају огледе у којима је коришћен ПУФ, утврђено је подједнако смањење морталитета, 0,8%. У првој мета-анализи (Hooge и Connolly, 2011), ова разлика није била сигнификантна уз P вредност од 0,15, док је у другој мета-анализи, која је обухватила двоструко више огледа, разлика била сигнификантна, уз P вредност од 0,03 (Hooge и сар., 2013). Просечно смањење морталитета уз додаток ПУФ-а у огледима обухваћеним дисертацијом било је готово двоструко више од просека добијеног мета-анализама и износило 1,5%, а ако се у обзир узму само пилићи који који су добијали 400 g ПУФ-а по тони хране, разлика се пење на 2,1%. Ове резултате треба узети уз јасну свест о израженој варијабилности. Чак се ни мета-анализе и холо-анализе које су се бавиле сличним старијим препаратом на бази ћелијског зида квасца, који је испитиван преко 15 година, широм света не слажу о утицају на морталитет. Hooge (2004) је утврдио сигнификантно смањење морталитета уз додаток овог препарата, док је у каснијим, већим базама, ефекат изостао (Rosen, 2007a, Hooge, 2009).

Утицај тежинских група на производне параметре бројлерских пилића

У трећем и четвртом огледу, пилићи су након заједничког периода стартер исхране, 13. дана подељени у тежинске групе и огледи су отпочели од 14. дана старости пилића. У оба огледа формиране су три тежинске групе пилића и у оба огледа су се производни резултати пилића различитих тежинских група битно разликовали у многим параметрима, што је и очекивано. Сигнификантна разлика у телесним масама између све три групе задржала се у оба огледа до краја пете недеље. У четвртом огледу, који је обухватио и шесту недељу, сигнификантна разлика се изгубила између група „малих“ и „средњих“ пилића, као и „средњих“ и „великих“ пилића, док је разлика између „малих“ и „великих“ остала сигнификантна. Ови резултати су слични резултатима које су добили Michalczuk и сар. (2011) на пилићима истог хибрида, Ross 308. Они су такође раздвајали пилиће у три тежинске групе, али већ првог дана. Све разлике између група биле су сигнификантне до четврте недеље, у петој недељи се губи сигнификантна разлика између суседних група („малих“ и „средњих“, „средњих“ и „великих“), а на крају огледа се губи статистички значај свих разлика. Нумерички гледано разлике између група у трећем и четвртом огледу, биле су много веће него код Michalczuk и сар. (2011), што је последица различитог узраста пилића при раздвајању. Сличан резултат у огледу који је подразумевао раздвајање пилића првог дана су добили и Stringhini и сар. (2003). У овом огледу, пилићи су раздвајани у две тежинске групе. Сигнификантна разлика у телесним масама је постојала до краја пете недеље, да би се у шестој изгубила. Напротив, у огледима Sklan и сар. (2003), Gomes и сар. (2008) и Mendes и сар. (2011) сигнификантне разлике су постојале до краја огледа, мада су се нумерички доста разликовале. Тако је у огледу Sklan и сар. (2003), финална разлика у масама износила око 10%, док је у огледу Gomes и сар. (2008) износила мање од 2%. Слична варијабилност се види и поређењем трећег и четвртог огледа, где је у трећем огледу финална разлика између група „малих“

и „великих“ пилића износила 14%, а у четвртом огледу 5%. Ово се може објаснити тиме што су у огледу Sklan и сар. (2003) и трећем огледу обухваћеном дисертацијом почетне разлике међу групама биле веће него у огледу Gomes и сар. (2008) и четвртом огледу обухваћеном дисертацијом.

Насупрот већем броју огледа у којима је тестиран утицај раздвајања пилића у тежинске групе првог дана, Abudabos (2012) је раздвајао старије пилиће према телесној маси. Нажалост, резултатима овог огледа су обухваћени само прирасти, а не и телесне масе. Раздвајање је обављено на крају треће недеље, а затим поново на крају шесте. У оба случаја формиране су две тежинске групе. На основу приказаних резултата прираста, може се рећи да се разлика телесних маса између група благо повећала од треће до шесте недеље и нешто више повећала у седмој недељи. Ни у једном случају разлике у прирасту нису биле статистички значајне, а о разликама у телесним масама се не може адекватно судити због недостатка статистичке обраде овог параметра.

Иако су огледи са раздвајањем пилића у тежинске групе ретки, слични закључци о утицају телесне масе у одређеној старости на телесне масе у каснијој старости, могу се видети и из огледа са индивидуално обележеним пилићима. Јћа и сар. (2013) су извели истраживање на пилићима раса бели корниш, црвени корниш и бели плимутрок, подељеним по половима. Телесна маса пилића првог дана је била у веома слабим (0,04 до 0,28) и несигнификантним или слабим до средње јаким (0,32 до 0,64) и сигнификантним корелацијама са телесним масама четврте, пете, шесте, седме и осме недеље код пилића различитих раса и полова, док су телесне масе четврте, пете, шесте, седме и осме недеље међусобно биле искључиво у сигнификантним корелацијама које су достигале веома високе вредности, и до 0,95. Телесне масе у другој и трећој недељи нису мерене у овом огледу. Сличне законитости су утврдили и Narinc и сар. (2010) на јапанским препелицама. Снага корелација је опадала са удаљеношћу два мерења, а корелација између суседних мерења јачала је са старошћу пилића.

Тежинске групе су сигнификантно утицале и на коефицијенат конверзије хране. У оба огледа која су обухватала тежинске групе, постојала је сигнификантна разлика током гровер периода исхране, док у четвртом огледу, у

завршном периоду, разлика није било. У трећем огледу групе пилића малих и средњих почетних маса имале су сигнификантно бољу конверзију од пилића великих почетних телесних маса. У четвртном огледу најбољу конверзију су имали пилићи малих почетних маса, затим пилићи средњих почетних маса, и најлошију су имали пилићи великих почетних маса. Све разлике су биле сигнификантне. Боља конверзија код мањих пилића логична је последица њихових мањих уздржних потреба. У прилог томе говоре резултати огледа у којима су пилићи рестриктивно храњени у почетном периоду, касније имали сигнификантно бољу конверзију (Santoso, 2002, Özkan и сар., 2006, Boostani и сар., 2010), мада разлике нису увек сигнификантне (Zulkifli и сар., 2000). Има чак и примера да су рестриктивно храњени пилићи касније имали слабију конверзију (Jalal и Zakaria, 2012).

Насупрот огледима обухваћеним дисертацијом, у већини огледа са тежинским групама није било сигнификантног утицаја тежинских група на коефицијент конверзије хране (Viera и Moran, 1998, Gomes и сар., 2008, Mendes и сар., 2011, Abudabos, 2012). Ово је вероватно последица раног раздвајања пилића код већине наведених аутора. Ипак, ни Abudabos (2012) који је раздвајао старије пилиће није установио сигнификантне разлике у погледу конверзије, мада су нумерички биле веома изражене и износиле у оба испитивана периода чак 11 поена конверзије. Изузетно занимљиве резултате добили су Stringhini и сар. (2003). Конверзија је током прве недеље била сигнификантно боља код групе „тешких“ пилића, током наредних недеља није било разлика, док је у последњој недељи конверзија била сигнификантно боља код групе „лакших“ пилића. Ово се може објаснити бољом виталношћу крупнијих пилића у првој недељи и већим уздржним потребама, услед веће масе, у последњој. Како огледи обухваћени дисертацијом нису испитивали утицај тежинских група у раном периоду, добијени су само негативни ефекти високих маса, али не и позитивни. Насупрот томе, у већини огледа где су пилићи били раздвајани већ од првог дана, позитивни и негативни утицаји тежинских група на конверзију су се међусобно поништили (Viera и Moran, 1998, Gomes и сар., 2008, Mendes и сар., 2011).

Као и у погледу конверзије, пилићи великих почетних маса су имали слабије резултате и у погледу морталитета. У трећем огледу, разлика је била

статистички сигнификантна и нумерички веома изражена, док је у четвртом огледу разлика донекле замаскирана ефектом додатка ПУФ-а. Ипак, ако се посматрају само контролни пилићи, разлика између пилића средњих почетних маса и пилића великих почетних маса износи око 5% и статистички је значајна. Разлика међу пилићима раздвојеним према телесним масама у ранијим истраживањима није била сигнификантна (Viera и сар., 1998, Stringhini и сар., 2003, Mendes и сар., 2011), мада је у неким огледима нумерички била изражена. Viera и сар. (1998) су забележили 5% угинућа код „већих“ пилића, а само 1,3% код „малих“. Насупрот томе, Mendes и сар. (2011) су имали веће угинуће код „малих“ него код „великих“ пилића, 5% у односу на 1,7%. Велику, и статистички значајну, разлику у морталитету утврдили су Özkan и сар. (2006) у огледу где су пилићи након треће недеље излагани ниским температурама (15°C) да би се изазвао синдром плућне хипертензије - асцитес. У тим условима, пилићи мањих маса су имали 18% угинућа, а пилићи већих маса чак 39%. Морталитет је био сконцентрисан у последње две недеље тога. Може се претпоставити да је повећано угинуће крупнијих пилића у односу на просечне било последица проблема кардиоваскуларног и респираторног система пилића да се изборе са брзим прирастима и великим телесним масама, као и у огледу Özkan и сар. (2006). Ипак, ова претпоставка се не може и доказати јер огледи обухваћени дисертацијом нису подразумевали обдукције пилића.

Повећани проблеми код групе „великих“ пилића у односу на групе „средњих“ и „малих“ могу се објаснити тиме да су у последња два огледа све групе пилића, укључујући и „мале“, постигле веома високе телесне масе. Тако је завршна телесна маса „малих“ пилића у четвртом огледу била 2783 грама, што је неупоредиво више од завршних телесних маса најбољих група у првом (2397) и другом огледу (2234). Због тога се може закључити да је раздвајање пилића у тежинске групе у овим огледима, много боље успело да истакне проблеме пилића великих телесних маса него проблеме пилића малих телесних маса.

Интеракција утицаја тежинских група и додатка ПУФ-а на производне параметре бројлерских пилића

Како је, у трећем и четвртом огледу, утицај додатка ПУФ-а на телесне масе и коефицијент конверзије хране изостао, тако је изостала и интеракција овог фактора са утицајем тежинских група. Ипак, интеракција се назире код морталитета у четвртом огледу. Пилићи малих, средњих и великих почетних маса, који нису конзумирали ПУФ су имали 6, 4 и 9% морталитета у гровер и финишер периоду. Разлика између „средњих“ и „великих“ је била статистички значајна. Насупрот томе, све групе које су добијале храну са додатком ПУФ-а су имале морталитет око 4%. Овај ефекат је сличан, али доста слабији од ефекта који су Swick и сар. (2013) добили на морталитет бројлерских пилића коришћењем истог препарата, али и озбиљног изазова за здравље животиња. Морталитет се код пилића заражених мешавином три врсте кокцидија битно разликовао са или без додатка ПУФ-а (48% без ПУФ-а, 18% са ПУФ-ом). Насупрот томе, код незаражених пилића, морталитет је био исти са или без ПУФ-а, и износио 8%. Ово је резултирало статистички високо сигнификантном интеракцијом додатка ПУФ-а и изазова за здравље животиња. Слична, и подједнако снажна интеракција добијена је у овом огледу и за телесну масу. Разлика у финалним масама заражених пилића са и без додатка ПУФ-а износила је преко 400 г. Иако се у поређењу са овим резултатима може учинити да раздвајање пилића у групе према телесним масама није адекватна замена за изазове попут заражавања патогенима, треба уочити да ни снажни изазови не доводе увек до појаве интеракције и израженог деловања препарата. Тако су Che и сар. (2012) заразили прасад вирусом репродуктивног и респираторног синдрома свиња (PPRSV) да би испитали дејство ПУФ-а у условима такве заразе. Заражавање је било успешно и вирус је довео до драстичног погоршања производних параметара, али је интеракција ПУФ-а са заражавањем добијена само на конверзију хране у периоду од 28. до 42. дана након заражавања.

Ни у огледима који пореде дејство ранијих сличних препарата у условима са и без здравственог изазова, нема дефинитивног одговора да ли овакви препарати испољавају своје пуно дејство у условима угроженог здравља или не. Huff и сар. (2007) су утврдили да бета глукани из ћелијског зида квасца у условима заражавања бактеријом *Escherichia coli* унапређују производне резултате бројлерских пилића, али да, када нема здравственог изазова, доводе до њиховог погоршања. У огледу Yang и сар. (2007), препарат ћелијског зида квасца и антибиотик су испољили јаче дејство на производне параметре код пилића заражених бактеријом *Escherichia coli*, у односу на незаражене. Напротив, у истом огледу, други адитив, препарат на бази фруктоолигосахарида, испољио је јаче дејство код незаражених пилића у односу на заражене. У истраживању које су спровели Fairchild и сар. (2001), група ћурића која је добијала комбинацију препарата ћелијског зида квасца и антибиотика имала је драстично већи морталитет од контролне групе при заражавању бактеријом *Escherichia coli*, док код незаражених група разлика није било. У истом огледу пилићи који су добијали препарат ћелијског зида квасца имали су бољи прираст од контролних без заражавања, док је у условима здравственог изазова прираст био подједнак. Резултати добијени за морталитет у четвртом огледу говоре у прилог теорије коју износи Hooge (2004) да се дејство препарата ћелијског зида квасца испољава првенствено у условима стреса, мада шири преглед литературе не даје јасну слику о томе. Ипак оваква претпоставка има чврсто логичко утемељење и заслужује даља истраживања.

Утицај додатка ПУФ-а на бактеријске популације слепих црева код бројлерских пилића

Везивање непожељних бактерија и њихово уклањање из дигестивног тракта обично се наводе као основни механизам деловања препарата на бази ћелијског зида квасца, како ПУФ-а (Brummer-а и сар., 2010, Hooge и Connolly, 2011, Hooge и сар., 2013, Lea и сар., 2013), тако и претходних сличних препарата (Spring и сар., 2000, Davis и сар., 2004, Токић и сар., 2007). Ипак, дејство новог

препарата ћелијског зида квасца, ПУФ-а, на бактеријске популације дигестивног тракта није много испитивано. У првом огледу обухваћеном дисертацијом испитиван је утицај додатка ПУФ-а на популације укупних аероба, укупних анаероба, лактобактерија, бифидобактерија, ентерокока и *E. coli* у слепим цревима пилића жртвованих 28-ог дана старости. Сигнификантне разлике нису утврђене. Потпуно другачији приступ користили су Агијо и сар. (2012). Они су анализирали присуство *E. coli* и *Salmonella sp.* у свеже избаченом екскрету бројлерских пилића старих 42 дана. На овај начин, утврдили су сигнификантно већу популацију *E. coli* у екскрету пилића који су конзумирали храну са додатком ПУФ-а у односу на контролне пилиће. Ово може бити знак веће популације *E. coli* код пилића храњених са додатком ПУФ-а, или већег избацивања ове бактерије, што би био жељени ефекат.

Много више истраживања на тему утицаја препарата ћелијског зида квасца урађено је са старијим препаратима, али су резултати варијабилни. Сигнификантан утицај је, у одређеним истраживањима, изостајао на укупан број анаеробних бактерија (Spring и сар., 2000, и Yang и сар., 2007), лактобактерија (Spring и сар., 2000, Sims и сар., 2004, Biggs и сар. 2007а, Yang и сар., 2007), бифидобактерија (Biggs и сар. 2007а), ентерокока (Spring и сар., 2000, Sims и сар., 2004, Yang и сар., 2007) и *E. coli* (White и сар., 2002, Sims и сар., 2004, Biggs и сар. 2007а), као и у огледу 1. Насупрот томе, у другим истраживањима, добијано је да додаток препарата ћелијског зида квасца повећава укупан број анаеробних бактерија (Sims и сар., 2004), лактобактерија (Smirnov и сар., 2005, Vaurhoo и сар., 2007а, Vaurhoo и сар., 2007б, Кос и сар, 2010) и бифидобактерија (Sims и сар., 2004, Smirnov и сар., 2005, Vaurhoo и сар., 2007а, Vaurhoo и сар., 2007б), док смањује број ентерокока (Maugao и сар., 2006) и *E. coli* (Vaurhoo и сар., 2007а, Vaurhoo и сар., 2007б, Кос и сар, 2010). Подједнака варијабилност је добијана и за бактеријске популације чија испитивања нису обухваћена огледом 1. Тако је додаток препарата ћелијског зида квасца утицао на бројност клостридија у огледима Sims и сар. (2004) и Biggs и сар. (2007а), али не и Yang и сар. (2007). Број колиформних бактерија није био под утицајем препарата у два огледа (Spring и сар., 2000, Sims и сар., 2004), док су у друга два огледа добијени међусобно супротни резултати. Додатак препарата ћелијског зида квасца довео је код кунића старих 46 дана до смањеног броја колиформа у слепом цреву

(Mouga и сар., 2006), док је код бројлерских пилића старих 14 дана довео до повећаног броја колиформа у дванаестопалачном и празном цреву (Yang и сар., 2007).

О тешкоћама праћења утицаја додатка препарата ћелијског зида квасца на бактеријске популације дигестивног тракта одлично сведочи следећи пример. Chee (2012) у докторској дисертацији наводи два испитивања утицаја препарата ћелијског зида квасца на бактеријске популације дигестивног тракта бројлерских пилића. У првом огледу додаток препарата, има бројне ефекте на микробиологију црева. Број анаероба и лактобацила је сигнификантно повећан, а број колиформа и клостридија сигнификантно смањен, како у садржају витог црева, тако и у садржају слепих црева, а делимично и у мукози витог црева. Насупрот томе, у другом огледу, иста концентрација истог препарата, при истој старости пилића не доводи ни до каквих промена бактеријске популације дигестивног тракта.

Изостанак ефекта ПУФ-а на бактеријску популацију слепих црева бројлерских пилића уз истовремено побољшање производних резултата може указивати на неки други механизам деловања препарата на бази ћелијског зида квасца или на већу несигурност мерења бактеријских популација у односу на производне параметре. Сасвим је сигурно да релативно мала разлика у производним параметрима, каква је забележена у првом огледу обухваћеном дисертацијом, не би била успешно детектована да је уместо 300 пилића по третману, колико је кориштено у производном огледу, употребљено 10 пилића по третману, као за микробиолошке анализе. Осим тога, промене бактерија дигестивног тракта могу бити много суптилније од промене бројности одређених бактеријских група. Тако додаток ПУФ-а може довести до драстичног смањења броја сојева патогених бактерија и њихове повећане осетљивости на антибиотике (Corção и сар, 2011а, Corção и сар, 2011б), што су изузетно значајне промене, а истовремено невидљиве ако се прати само бројност популација бактеријских група. Осим тога, Zhu и Joerger (2003) наводе да чак 40 до 90% бактерија које насељавају слепа црева не могу бити узгајене на хранљивим подлогама и детектоване класичним микробиолошким методама.

Утицај додатка ПУФ-а, старости и тежинске групе на морфометријске параметре црева бројлерских пилића

Морфометријски параметри празног црева бројлерских пилића праћени су у три огледа. У првом огледу, праћен је утицај додатка две концентрације ПУФ-а на ове параметре при старости пилића од 28. дана, у другом је праћен утицај две различите старости (7 и 28 дана) и три нивоа ПУФ-а, а у трећем три тежинске групе и једног нивоа ПУФ-а у односу на негативну контролу. Добијени резултати су варијабилни, а неки чак и контрадикторни.

У првом огледу, није забележена разлика међу групама у директно мереним параметрима, као што су висина ресица и дубина крипти, али су добијене разлике у изведеним параметрима, површини ресице и односу ресица/крипта. Група која је добијала нижу концентрацију ПУФ-а у храни имала је мању површину ресице од групе која је добијала вишу концентрацију ПУФ-а и неповољнији однос ресица/крипта од обе друге групе. Овакав налаз је релативно неуобичајен. У већини истраживања додаток препарата ћелијског зида квасца или није довео до промена морфометријских параметара црева (Brummer-а и сар., 2010, Munyaka и сар., 2012, Lea и сар., 2013), или је довео до дужих ресица и повољнијег односа висине ресице и дубине крипти (Љи и сар., 2001, Mourao и сар., 2006, Morales-López и сар., 2009, Жикић и сар., 2011, Chee, 2012). Ипак, резултати из огледа 1 нису потпуно без преседана. Good (2013) је установила да додаток ПУФ-а у празном цреву пилића старих 21 дан доводи до појаве ужих ресица, док у преосталим деловима танких црева, при старости од 7 дана, као и у истраживању на свињама, није било промена. Такође, El Khalek и сар. (2011) су у истраживању на голубовима установили драстично смањење висине ресица у дванаестопалачном цреву. Донекле сличну ситуацију, као у огледу 1, добили су El Abed и сар. (2013) у истраживању на кунџима. Група која је добијала нижу концентрацију ПУФ-а имала је дубље крипте и неповољнији однос ресица/крипта од групе која је добијала вишу концентрацију

ПУФ-а. Разлика обе експерименталне групе са контролном није била сигнификантна.

Насупрот првом огледу, у коме је група која је добијала 0,02% ПУФ-а у храни имала неповољније цревне параметре од осталих група, у другом огледу се иста група истакла по побољшању ових параметара. Несигнификантно повећање висине ресица код ове групе уз сигнификантно смањење дубине крипти у односу на контролну групу резултирали су повољнијим односом ресица/крипта. Ова разлика је била приметна и са 7 дана старости, али је постала значајно израженија са 28 дана старости. Истог побољшања није било код група које су добијале више нивое ПУФ-а. Чак напротив, група која је добијала 0,08% ПУФ-а у храни, имала је сигнификантно мању површину ресица у односу на контролну групу. Врло је занимљиво да се унапређење морфометријских параметара црева јавило код групе код које су производни параметри били на нивоу контролне групе, док је изостало код група које су имале значајно боље производне резултате од контролне групе. Ово може говорити о томе да издужење ресица и скраћење крипти нису механизми преко којих је ПУФ утицао на производне резултате. До сличног закључка може довести и оглед Lea и сар. (2013) где је добијен снажан ефекат додатка ПУФ-а на производне резултате, док утицаја на морфометрију црева није било, и огледи Vaurhoо и сар. (2009) и Morales-López и сар. (2009), где насупрот није било ефекта на производне резултате, а постојао је значајан утицај препарата на дужину ресица.

У трећем огледу су пилићи са и без додатка ПУФ-а, као и пилићи из различитих тежинских група имали исту дужину и ширину ресица, дебљину мишићног омотача, површину ресица, однос ресица/крипта и однос висина/ширина ресице. Међутим, код дубине крипти, добијена је веома занимљива интеракција тежинских група и додатка ПУФ-а. Код контролних пилића, тежинска група је битно утицала на дубину крипти. „Мали“ пилићи су имали сигнификантно дубље крипте од „средњих“ и „великих“. Напротив, уз додаток ПУФ-а, ова разлика је нестала, па су све три тежинске групе имале сличну дубину крипти. Ови резултати потврђују хипотезу да се дејство препарата ћелијског зида квасца не испољава подједнако у свим условима и да је јаче у условима стреса (Hooge, 2004). Ипак, треба узети у обзир да

производни резултати из трећег огледа упућују на то да је под појачаним стресом била група пилића великих почетних маса, а не група пилића малих почетних маса. И ови подаци говоре о неусаглашености морфометрије црева и производних резултата.

Вредности морфометријских параметара су се кретале у нормалним опсезима за дату врсту, старост и део дигестивног тракта. Висина ресица са 7 дана старости је била око 500 микрометара, са 28 дана око 1100 μm , а са 35 дана старости око 1200 μm . У ранијим истраживањима, просечна висина ресица у празном цреву бројлерских пилића била је око 400 μm са 7 дана, 900 μm са 28 дана и 1200 μm са 35 дана (Жикић и сар., 2011), 900 μm са 14 дана, 1400 μm са 21 дан, 1200 μm са 28 дана (Chee, 2012), 1200 μm са 7 дана, 2000 μm са 21 дан (Good, 2013), 1300 μm са 21 дан (Iji и сар., 2001), 1100 μm са 21 дан (Morales-López и сар., 2009), 1300 μm са 42 дана (Lea и сар., 2013). Просечна ширина ресица се у огледима обухваћеним дисертацијом кретала од 100 до 170 μm , а просечна дубина крипти од 140 до 400 μm . У претходним истраживањима, просечна дубина крипти се кретала око 130 μm са 7 дана, 250 μm са 28 дана и 320 μm са 35 дана (Жикић и сар., 2011), 220 μm са 14 дана, 260 μm са 21 дан, 200 μm са 28 дана (Chee, 2012), 370 μm са 7 дана, 340 μm са 21 дан (Good, 2013), 150 μm са 42 дана (Lea и сар., 2013). Просечна ширина ресица је износила око 290 μm са 7 дана, 380 μm са 21 дан (Good, 2013) и 200 μm са 42 дана (Lea и сар., 2013). Резултати добијени у огледима обухваћеним овом дисертацијом не истичу се ни као повољнији ни као неповољнији у односу на остала истраживања што сведочи о томе да је здравље дигестивног тракта код пилића у огледима било уобичајено и да нису били ни претерано заштићени од уобичајено присутних бактерија, али ни претерано изложени негативном дејству патогена.

Утицај додатка ПУФ-а на пехарасте ћелије танких црева бројлерских пилића

Утицај додатка ПУФ-а на муциногене пехарасте ћелије танких црева праћен је у прва три огледа. У првом огледу мерен је број и величина укупних пехарастих ћелија, у другом огледу су мерене укупне пехарасте ћелије и пехарасте ћелије које садрже киселе муцине, а у трећем огледу само пехарасте ћелије које садрже киселе муцине. Поред утицаја ПУФ, у другом огледу је испраћен и утицај старости на пехарасте ћелије, а у трећем утицај тежинских група. Сви наведени фактори су утицали на пехарасте ћелије. Поређење резултата мерења пехарастих ћелија између различитих студија отежава непостојање стандардне методологије за мерење и изражавање ових података. Тако се број пехарастих ћелија изражава по јединици површине пресека епитела (Forder и сар., 2007, Brummer и сар., 2010, Munyaka и сар., 2012), по јединици дужине пресека епитела (Ferket и сар., 2002, Lea и сар., 2013), по пресеку једне цревне ресице (Vaughn и сар., 2007а, El Abed и сар., 2013, Good, 2013) или у односу на број ентероцита (Bergstorm и сар., 2007). Површина пехарастих ћелија се изражава по појединачној ћелији (Brummer и сар., 2010), по јединици дужине пресека епитела (Lea и сар., 2013) и по пресеку цревне ресице (Good, 2013).

Са повећањем старости, између седмог и 28. дана, дошло је до смањења броја пехарастих ћелија, како укупних, тако и оних које садрже киселе муцине. У оба случаја, смањење је приближно износило 1 ћелију на 100 μm епитела, са 8,3 на 7,2 за укупан број пехарастих ћелија и са 7,4 на 6,5 за пехарасте ћелије које садрже киселе муцине. Истовремено са смањењем броја пехарастих ћелија, дошло је до повећања њихове величине. Ово смањење је било јаче изражено код ћелија које су садржавале киселе муцине, а несигнификантно за укупан број пехарастих ћелија. За разлику од ових резултата, Wang и сар. (2009) су забележили константно повећање удела пехарастих ћелија у свим деловима танких црева бројлерских пилића од 7. до 49. дана старости. Пилићи малих почетних маса имали су сигнификантно мањи број и мању величину пехарастих

ћелија са киселим муцинима у односу на пилиће просечних почетних маса. Пилићи великих почетних маса су у погледу броја пехарастих ћелија били између „мале“ и „средње“ групе, а у погледу величине ћелија, на нивоу пилића просечних почетних маса и сигнификантно различити од пилића малих почетних маса.

Утицај додатка ПУФ-а на пехарасте ћелије јавио се у сва три огледа, али на различите начине. У првом огледу, обе групе које су добијале ПУФ у храни, имале су нумерички изражено и статистички сигнификантно увећање пехарастих ћелија у односу на контролну групу. Број пехарастих ћелија је такође био већи код експерименталних група, али разлика није била сигнификантна. Повећање броја или величине пехарастих ћелија, чест су налаз и у ранијим истраживањима на животињама храњеним са додатком ПУФ-а. Brummer и сар. (2010) су забележили повећање и броја и величине пехарастих ћелија у витом цреву бројлерских пилића, а Lea и сар. (2013) повећање величине пехарастих ћелија у празном цреву бројлерских пилића. Muryaka и сар. (2012) су утврдили већи број пехарастих ћелија код пилића који су добијали ПУФ у односу на пилиће храњене са додатком антибиотика, а El Abed и сар. (2013) више пехарастих ћелија код кунића храњених са додатком ПУФ-а у односу на оне коју су добијали додаток бета глукана у храни. Good (2013) је уочила промене пехарастих ћелија код свиња храњених ПУФ-ом, али не и код бројлерских пилића. Утицај на пехарасте ћелије уочен је и код ранијих сличних препарата (Ferket и сар., 2002, Vaurhoo и сар., 2007а, Vaurhoo и сар., 2009, Torrecillas и сар., 2011).

У другом огледу, додаток ПУФ-а није имао сигнификантног ефекта на број и величину укупних пехарастих ћелија, мада се назире одређена интеракција додатка ПУФ-а и старости. Ова интеракција је релативно близу статистичког значаја за број пехарастих ћелија ($P = 0,07$) и то тако што су на првом мерењу, 7. дана, групе које су добијале ПУФ имале већи број пехарастих ћелија у односу на контролну групу, а на другом мерењу, 28. дана, мањи. Динамичке реакције пехарастих ћелија могу се видети и из огледа где су коке носиле излагане топлотном стресу (Deng и сар., 2012). Шест дана након почетка излагања високим температурама, број пехарастих ћелија се повећао, а затим, током наредних шест дана, смањио. Deng и сар. (2012) објашњавају ову појаву

појачаним лучењем муцина при акутној реакцији на стрес, а затим долази до исцрпљивања пехарастих ћелија и немогућности да се одржи ниво продукције муцина. За разлику од укупног броја пехарастих ћелија, број пехарастих ћелија које су садржале киселе муцине био је веома уједначен међу третманима на оба мерења, а величина ових ћелија је била под сигнификантним утицајем додатка ПУФ-а. Највеће пехарасте ћелије са киселим муцинима имала је група која је добијала 0,02% ПУФ-а у храни, најситније контролна група, а преостале две групе се нису статистички сигнификантно разликовале ни од контролне ни од групе са 0,02% ПУФ-а. Поред количине муцина, њихов састав је веома важан за заштиту цревног епитела (Deplancke и Gaskins, 2001), а управо су кисели муцини заслужни за спречавање бактеријске транслокације (Robertson и Wright, 1997, Fontaine и сар., 1998). Ово су потврдили Torrecillas и сар. (2011), доказавши да коришћење препарата ћелијског зида квасца доводи до већег броја пехарастих ћелија са киселим муцинима и смањене бактеријске транслокације код риба. У прилог овоме говори и то што се у деловима дигестивног тракта густо насељеним микроорганизмима налазе првенствено пехарасте ћелије са киселим муцинима (Deplancke и Gaskins, 2001). Ипак, снажан ефекат на пехарасте ћелије је забележен код групе која није имала унапређене производне перформансе (200 g/t), а снажни производни ефекти су забележени код група које нису имале сигнификантне промене пехарастих ћелија (400 g/t и 800 g/t).

У трећем огледу, група малих пилића који нису добијали ПУФ, имала је смањен број и величину пехарастих ћелија са киселим муцинима у односу на групе пилића просечних почетних маса. Додатак ПУФ-а успео је да ублажи ову разлику и учини је статистички несигнификантном за број пехарастих ћелија. Што се тиче величине ћелија, додатак ПУФ-а је успео да уклони разлику између група „малих“ и „средњих“ пилића, али и да доведе до статистички значајне разлике између група пилића малих почетних маса са и без додатка ПУФ-а. Оваква интеракција потврђује теорију коју износи Нооге (2004) да се дејство препарата ћелијског зида квасца не испољава увек подједнако, већ се испољава првенствено у условима стреса. Ипак, ни овде не постоји поклапање са производним резултатима.

Утицај додатка ПУФ-а на унутрашње органе бројлерских пилића

У првом огледу мерен је утицај додатка ПУФ-а на дужину дванаестопалачног, празног и витог црева, као и масе танких црева, јетре, гуштераче, слезине и Фабрицијеве бурзе. У другом огледу мерен је утицај старости и додатка ПУФ-а на масе јетре, гуштераче, слезине и Фабрицијеве бурзе, а у трећем утицај тежинске групе и додатка ПУФ-а на масе слезине и Фабрицијеве бурзе. Релативне масе органа, осим Фабрицијеве бурзе, промениле су се од седмог до 28. дана, а тежинска група није утицала на релативну масу органа. Ни у једном од огледа није утврђен сигнификантан ефекат додатка ПУФ-а на наведене параметре. Ефекат додатка препарата ћелијског зида квасца на дужину и тежину црева бројлерских пилића, по деловима и укупно, нису добили ни Iji и сар. (2001), Ferket и сар. (2002) и Bozkurt и сар. (2009). Насупрот томе, у другим истраживањима, додаток ових препарата је доводио до појаве краћих и лакших црева. Zdunczyk и сар. (2005) наводе сигнификантно лакша дебела црева код пилића који су конзумирали препарат ћелијског зида квасца и разлику блиску сигнификантној ($P = 0,08$) за масу слепих црева, док је маса танких црева била непромењена. Chee (2008) је пратио ове параметре у три истраживања. У првом је додаток препарата довео до скраћења дванаестопалачног црева, лакше слузокоже витог црева и лакшег мишићног слоја дванаестопалачног и витог црева, у другом је забележено скраћење празног црева и укупних танких црева, а у трећем није било ефекта. Скраћење дванаестопалачног црева добили су и Lea и сар. (2011).

Ефекти додатка ПУФ-а на дужину и тежину црева могли би бити објашњени бољом функцијом корисних бактерија код животиња које конзумирају препарате ћелијског зида квасца. Наиме, Deplancke и Gaskins (2001) наводе да код животиња са стерилним дигестивним трактом долази до увећања слепих црева услед накупљања муцина и да ово увећање нестаје након колонизације дигестивног тракта од стране корисних бактерија. Против ове

теорије говори налаз да су животиње које су добијале препарат ћелијског зида квасца имале дебљи слој муцина у цревима, а лакша и краћа црева (Chee, 2008). Друга могућност је да краћа и лакша црева указују на боље варење. Vogin и сар. (2006) су показали да при исхрани кокоши и патака слабо сварљивим оброцима долази до веома израженог повећања дужине и тежине танких и слепих црева, што се може тумачити као адаптација на дату исхрану и покушај организма да је што боље искористи. Поред смањења црева, чест је и налаз лакше јетре код пилића који су добијали препарате зида квасца (Morales-López и сар., 2009, Volu и сар., 2009б, Vonos и сар., 2010), док га у истраживању које су извели Bozkurt и сар. (2009) није било, као ни у огледима обухваћеним овом дисертацијом. Увећање јетре може бити последица запаљенске реакције, када долази до синтезе протеина акутне фазе у јетри, па мања јетра може значити изостанак запаљенске реакције (Morales-López и сар., 2009).

Утицај додатка ПУФ-а на масе лимфоидних органа, слезине и Фабрицијеве бурзе, праћен је у прва три огледа. Поред утицаја ПУФ-а, у другом огледу је праћен и утицај старости, а у трећем утицај тежинских група. Препарат ћелијског зида квасца и тежинска група нису имали утицаја на масе наведених органа, а маса слезине се битно променила са старошћу пилића. Маса слезине је код седмодневних пилића просечно чинила око 0,07% од телесне масе, да би 28. дана достигла 0,14%. У трећем огледу, са 35. дана старости овај удео је износио 0,1%. Ове вредности се добро уклапају са претходним литературним подацима, где се удео слезине у телесној маси бројлера истих и сличних старости кретао између 0,06% (Zou и сар., 2006) и 0,15% (Zhang и сар., 2008). Исто важи и за просечне масе бурзи, које су се у огледима обухваћеним овом дисертацијом кретале између 0,13% и 0,29%, док су се у радовима других аутора кретале између 0,13% (Good, 2013) и 0,28% (Zou и сар., 2006). Ови резултати указују на нормалну развијеност и функцију лимфоидних органа. Ово, као и резултати морфометријских анализа, сведочи о томе да су се пилићи у огледима обухваћеним дисертацијом налазили у релативно нормалним условима, где присуство изазова за њихово здравље није било ни неувобичајено ниско ни претерано високо.

Насупрот изостанку утицаја ПУФ-а на масе слезине и бурзе у наведена три огледа, у многим истраживањима су добијени сигнификантни утицаји

препарата ћелијског зида квасца на масе лимфоидних органа. Good (2013) је уочио увећање слезине, Morales-Lopez и сар. (2009) увећање тимуса, а Guo и сар. (2003) и Zhang и сар. (2008) увећање слезине, бурзе и тимуса. Овакви ефекти се могу тумачити као последица имуномодулаторног ефекта препарата ћелијског зида квасца (Good, 2013). Иако се овај ефекат најчешће приписује бета глуканима (Vetvicka и Vetvickova, 2010), Zou и сар. (2006) су уочили увећање слезине, бурзе и тимуса бројлерских пилића храњених смешама које су садржале ензим бета-мананазу и приписали овај ефекат ослобађању мананолигосахарида из бета-манана који се налази у сојиној сачми. Awaad и сар. (2011) су показали да охратоксин код бројлерских пилића има имуносупресивно дејство које се, између осталог, огледа у смањењу масе Фабрицијеве бурзе и да додаток препарата ћелијског зида квасца може значајно да ублажи ову последицу охратоксина. Код пилића који нису добијали охратоксин, препарат ћелијског зида квасца није утицао на масу бурзи. Ово оставља дилему да ли се ради о имуностимулаторном дејству или о апсорпцији микотоксина, као у огледу који су извели Jouany и сар. (2005). Ако се ради о везивању микотоксина, изостанак ефекта ПУФ-а на масе слезине и бурзе може бити последица употребе неконтаминиране хране у огледима обухваћеним дисертацијом. Изостанак ових ефеката забележен је и у другим истраживањима (Ferket и сар., 2002, Ao и сар., 2004, према Morales-Lopez и сар., 2009, Volu и сар., 2009б, Bozkurt и сар., 2009).

Утицај додатка ПУФ-а на температуру, влажност и оцену простирке

Утицај додатка ПУФ-а у храну бројлерских пилића на простирку праћен је у првом огледу. Температура је мерена на сваких 7 дана, а два пута током огледа је мерена влажност простирке и простирка је визуелно оцењивана од стране три оцењивача. Разлика није било. Ови резултати су у сагласности са резултатима које су добили Culver и сар. (2011), где додаток ПУФ-а није утицао на влажност и оцену простирке, као ни на оцену стања ногу пилића. Напротив,

Mathis (2011) је добио нумерички изражено и статистички сигнификантно побољшање оцене простирке уз додатак ПУФ-а или антибиотика у односу на контролну групу. Такође, Laustsen и Nollet (2011) су утврдили побољшање здравља ногу бројлера израженог кроз *Burning pad index* за 30%, које су приписали бољем стању простирке при додавању ПУФ-а у храну. Статистичка обрада података није наведена. Youssef и сар. (2012) су изнели хипотезу да би додатак препарата ћелијског зида квасца могао да побољша здравље коже ногу бројлерских пилића преко утицаја на рН вредност фецеса, ниво амонијака у њему, стимулације имуног система и измене микробиолошке популације садржаја дигестивног тракта. Ипак, у испитивању на ћуркама, ова хипотеза није потврђена, а исто потврђују и подаци из првог огледа обухваћеног овом дисертацијом.

7. ЗАКЉУЧАК

Четири огледа обухваћена овом дисертацијом имала су за циљ да дају допринос целини истраживања на тему употребе препарата ћелијског зида квасца у исхрани животиња. Како је ово изузетно актуелна тема, тешко је направити велики пробој у мору испитивања која бројни тимови истраживача спроводе широм света користећи многе различите препарате ћелијског зида квасца на различитим врстама животиња. Ипак, сваки корак напред значајан је допринос расветљавању теме која заокупља толико пажње научника који се баве исхраном животиња. Резултати добијени производним, морфометријском, микробиолошким и осталим истраживањима на бројлерским пилићима храњеним смешама са додатком једног новог препарата ћелијског зида квасца (ПУФ), тумачени у контексту бројних других истраживања на ову тему, доводе до следећих закључака:

1. Додатак новог препарата ћелијског зида квасца (ПУФ) може довести до побољшања производних параметара бројлерских пилића. Ова побољшања су варијабилна, како у погледу побољшаног параметра (телесна маса, конверзија хране, преживљавање), тако и у погледу интензитета побољшања, а понекад и изостану. Просечно побољшање које се добија употребом новог препарата слично је или благо боље

од просечних побољшања до којих доводе ранији слични препарати. Просечно побољшање завршне телесне масе износи око 40 грама, а максимално 170 грама. Просечно побољшање конверзије хране износи око 3,4 поена, односно 34 килограма хране по тони живе масе. Максимално побољшање конверзије достиже 7 поена. Просечно побољшање преживљавања пилића уз коришћење новог препарата износи 1,5%, а максимално достиже 4%.

2. Од испитиваних концентрација препарата, најефикаснијом се показала 0,04%, односно 400 грама препарата по тони хране. Иако је ова концентрација неколико пута нижа од уобичајено коришћених концентрација претходних сличних препарата, нови препарат је у овој концентрацији дао резултате подједнаке резултатима оптималних количина претходних препарата. Даље повећање дозе препарата није имало ефекта. Добијени резултати потврђују да је нови препарат концентрисанији од претходних.
3. Утврђена је велика варијабилност дејства препарата ћелијског зида квасца која се кретала од потпуног изостанка утицаја до веома снажних ефеката. Оваква варијабилност је више општа законитост него специфичност оваквих препарата, а велики број истраживања спровођених у разним условима са овим препаратима омогућује да ова варијабилност буде веома видљива на датом примеру. Иако шири преглед литературе не даје нарочито јасну слику о повезаности неповољних услова и здравствених изазова са испољавањем дејства препарата, у четири огледа обухваћена дисертацијом потврђена је хипотеза да се дејство јаче испољава када су пилићи у неповољнијој ситуацији. Најјаче дејство је забележено у огледу у коме су постигнути најслабији производни резултати, а најслабије у огледу са најбољим производним резултатима.
4. Пилићи чија телесна маса одступа од просека суочавају се са различитим проблемима. Код пилића нижих телесних маса јавља се већа дубина цревних крипти и мањи број и величина муциногених,

пехарастих ћелија, што може указивати на неповољније услове у цревима, али су ипак конверзија хране и преживљавање код ове групе пилића били на нивоу пилића просечних маса. Насупрот томе, пилићи великих телесних маса имали су изражене проблеме у производним резултатима: лошију конверзију хране и повећано угињавање. Додатак ПУФ-а је делимично успео да ублажи уочене проблеме код пилића малих и великих телесних маса, не мењајући при томе битно резултат просечних пилића. Ови резултати наводе на закључак да препарат испољава своје дејство првенствено на пилићима угроженим одређеним проблемима, што је веома важно за његову практичну примену.

5. Нови препарат ћелијског зида квасца (ПУФ) не изазива увек промене у бактеријским популацијама црева довољно изражене да се могу детектовати конвенционалним микробиолошким методама са селективним подлогама. У огледу обухваћеном овом дисертацијом, додатак препарата није изазвао промене у броју укупних аеробних и анаеробних бактерија, лактобактерија, бифидобактерија, ентерокока и *E. coli* у садржају слепих црева бројлерских пилића. Ово не значи да препарат не остварује своје деловање путем утицаја на бактерије дигестивног тракта, већ наговештава да се може радити и о одређеном суптилнијем утицају који није лако доказати.
6. Утицаји додатка препарата на дужину танког црева и његових поједних делова, масу црева, масу органа, висину и ширину цревних ресице, дубину цревних крипти и остале везане параметре нису конзистентни. Чини се да не постоји директна повезаност ових промена са производним резултатима, па се као закључак може претпоставити да се ради о ефектима који се јављају паралелно са побољшањем производних резултата, а не као узрок тог побољшања.

7. Препарат ћелијског зида квасца утиче на пехарасте ћелије црева бројлерских пилића. У огледима обухваћеним дисертацијом, утицај је пре свега био изражен на површину пресека пехарастих ћелија, која указује на количину ускладиштених муцина у ћелијама, а често се среће и утицај на број пехарастих ћелија. Ово може бити последица директног деловања препарата или индиректног деловања преко утицаја на бактерије у цревима.
8. Додатак препарата ћелијског зида квасца није утицао на стање простирке на којој су гајени пилићи. Влажност, температура и оцена стања простирке нису били под утицајем додатка овог препарата.

8. ЛИТЕРАТУРА

- Abudabos, A. M. (2012). Optimal dietary phosphorus for broiler performance based on body weight group. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 7, 20-29.
- Abudabos, A., Yehia, H. (2013). Effect of dietary mannan oligosaccharide from *Saccharomyces cerevisiae* on live performance of broilers under *Clostridium perfringens* challenge. *Italian Journal of Animal Science*, 12(2), 231-235.
- Aftab, U., Khan, A. A. (2005). Strategies to alleviate the incidence of ascites in broilers: a review. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 7(4), 199-204.
- Aguilar-Uscanga, B., Francois, J. M. (2003). A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. *Letters in Applied Microbiology*, 37(3), 268-274.
- Araújo, J. C., Lima, K. R. D. S., Manno, M. C., Bezerra, A. S., De Mendonça, R. D. C. A. (2012). Fracao ativa da parede celular de levadura (*Saccharomyces Cerevisae*) na alimentacao de frangos de corte. *Anais do 10º Seminário Anual de Iniciação Científica da UFRA*, 26-29.12, Belem, Brazil.
- Aviagen (2009). Ross 308 broiler: Ross broiler management manual. <http://en.aviagen.com/ross-308/>

- Awaad, M. H. H., Atta, A. M., El-Ghany, W. A. A., Elmenawey, M., Ahmed, K., Hassan, A. A., Nada, A. A., Abdelaleem, G. A. (2011). Effect of a specific combination of mannan-oligosaccharides and β -glucans extracted from yeast cell wall on the health status and growth performance of ochratoxicated broiler chickens. *Journal of American Science*, 7(3), 82-96.
- Babu, J. P., Abraham, S. N., Dabbous, M. K., Beachey, E. H. (1986). Interaction of a 60-kilodalton D-mannose-containing salivary glycoprotein with type 1 fimbriae of *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, 54(1), 104-108.
- Bagni, M., Romano, N., Finioia, M. G., Abelli, L., Scapigliati, G., Tiscar, P. G., Sarti, M., Marino, G. (2005). Short-and long-term effects of a dietary yeast β -glucan (Macrogard) and alginic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Fish & Shellfish Immunology*, 18(4), 311-325.
- Baurhoo, B., Phillip, L. Ruiz-Feria, C. A. (2007a). Effects of purified lignin and mannan oligosaccharides on intestinal integrity and microbial population in ceca and litter of broiler chickens. *Poultry Science*, 86, 1070-1078.
- Baurhoo, B., Letellier, A., Zhao, X., Ruiz-Feria, C. A. (2007b). Cecal populations of lactobacilli and bifidobacteria and *Escherichia coli* populations after in vivo *Escherichia coli* challenge in birds fed diets with purified lignin or mannanoligosaccharides. *Poultry Science*, 86, 2509–2516.
- Baurhoo, B., Ferket, P. R., Zhao, X. (2009a). Effects of diets containing different concentrations of mannanoligosaccharide or antibiotics on growth performance, intestinal development, cecal and litter microbial population and carcass parameters of broilers. *Poultry Science*, 88, 2262-2272.
- Baurhoo, B., Goldflus, F., Zhao, X. (2009b). Purified cell wall of *Saccharomyces cerevisiae* increases protection against intestinal pathogens in broiler chickens. *International Journal of Poultry Science*, 8(2), 133-137.
- Benites, V., Gilharry, R., Gernat, A. G., Murillo, J. G. (2008). Effect of dietary mannan oligosaccharide from Bio-Mos or SAF-Mannan on live performance of broiler chickens. *Journal of Applied Poultry Research*, 17, 471–475.

- Bergstrom, K. S., Guttman, J. A., Rumi, M., Ma, C., Bouzari, S., Khan, M. A., Gibson, D. L., Vogl, A.W., Vallance, B. A. (2007). Modulation of intestinal goblet cell function during infection by an attaching and effacing bacterial pathogen. *Infection and Immunity*, 76(2), 796-811.
- Biggs, P., Parsons, C. M., Fahey, G. C. (2007). The effects of several oligosaccharides on growth performance, nutrient digestibilities, and cecal microbial populations in young chicks. *Poultry Science*, 86, 2327–2336.
- Bolu, S. A., Adeyemi, K. D., Sola-Ojo, F. E., Fabiyi, A. A., Adedeji, A. T., Oluyemi, O., Babalola, A. B. (2012). Lower dietary inclusion of Alphamune G may improve performance, hematology, serum biochemistry and histology of broiler chicken. *Sustainable Agriculture Research*, 1(2), 15.
- Bolu, S. A., Ojo, V., Oyeleke, B. A., Ajiboye, A. O., Baa Sambo, A., Oluyemi, O. (2009a). Response of broiler chicks to graded levels of Alphamune G supplementation. *International Journal of Poultry Science*, 8(1), 32-34.
- Bolu, S. A., Ojo, V., Oluyemi, O., Babawale, O.I., Awodele, O. A. (2009b). Effect of graded level of Alphamune G on performance, blood chemistry and histology of cockerel chicks. *International Journal of Poultry Science*, 8(4), 397-400.
- Bonos, E. M., Christaki, E. V., Paneri, P. C. (2010). Performance and carcass characteristics of Japanese quail as affected by sex or mannan oligosaccharides and calcium propionate. *South African Journal of Animal Science*, 40(3), 173-184.
- Boostani, A., Ashayerizadeh, A., Mahmoodian, F. H., Kamalzadeh, A. (2010). Comparison of the effects of several feed restriction periods to control ascites on performance, carcass characteristics and hematological indices of broiler chickens. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 12(3), 170-177.
- Borin, K., Lindberg, J. E., Ogle, R. B. (2006). Digestibility and digestive organ development in indigenous and improved chickens and ducks fed diets with increasing inclusion levels of cassava leaf meal. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 90(5-6), 230-237.

- Bovo, F., Franco, L. T., Kobashigawa, E., Rottinghaus, G. E., Ledoux, D. R., de Oliveira, C. A. F. (2015). Efficacy of beer fermentation residue containing *Sacharomyces cerevisiae* cells for ameliorating aflatoxicosis in broilers. *Poultry Science*, 94(5), 934-942.
- Bozkurt, M., Küçükylmaz, K., Çatlı, A. U., Çınar, M. (2009). The effect of single or combined dietary supplementation of prebiotics, organic acid and probiotics on performance and slaughter characteristics of broilers. *South African Journal of Animal Science*, 39(3), 197-205.
- Braaten, J. T., Wood, P. J., Scott, F. W., Wolynetz, M. S., Lowe, M. K., Bradley-White, P., Collins, M. W. (1994). Oat beta-glucan reduces blood cholesterol concentration in hypercholesterolemic subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, 48(7), 465-474.
- Brufau, M. T., Ferrer, R., Martín-Venegas, R. (2013). Morfologia de l'intestí de pollastres inoculats amb *Salmonella enteritidis* i alimentats amb una dieta suplementada amb un producte ric en β -galactomannans. *Quaderns Agraris*, 36, 7-22.
- Brümmer, M., Jansen van Rensburg, C., Moran, C.A. (2010). *Sacharomyces cerevisiae* cell wall products: The effect on gut morphology and performance of broiler chickens. *South African Journal of Animal Science* 40(1), 14-21.
- Burkey, T. E., Dritz, S. S., Nietfeld, J. C., Johnson, B. J., Minton, J. E. (2004). Effect of dietary mannanoligosaccharide and sodium chlorate on the growth performance, acute-phase response, and bacterial shedding of weaned pigs challenged with serotype *Typhimurium*. *Journal of Animal Science*, 82(2), 397-404.
- Cabib, E., Silverman, S. J., Shaw, J. A., Das Gupta, S., Park, H. M., Mullins, J. T., Mol, P. C., Bowers, B. (1991). Carbohydrates as structural constituents of yeast cell wall and septum. *Pure and Applied Chemistry*, 63(4), 483-489.
- Callaway, E. S., Martin, S. A. (1997). Effects of a *Saccharomyces cerevisiae* culture on ruminal bacteria that utilize lactate and digest cellulose. *Journal of Dairy Science*, 80(9), 2035-2044.

- Casanova, J. L., Abel, L. (2004). Human mannose-binding lectin in immunity: friend, foe, or both?. *The Journal of Experimental Medicine*, 199(10), 1295-1299.
- Castanon, J. I. R. (2007). History of use of antibiotics as growth promoters in European poultry feeds. *Poultry Science*, 86, 2466-2471.
- Che, T. M., Johnson, R. W., Kelley, K. W., Dawson, K. A., Moran, C. A., Pettigrew, J. E. (2012). Effects of mannan oligosaccharide on cytokine secretions by porcine alveolar macrophages and serum cytokine concentrations in nursery pigs. *Journal of Animal Science*, 90(2), 657-668.
- Che, T. M., Johnson, R. W., Kelley, K. W., Van Alstine, W. G., Dawson, K. A., Moran, C. A., Pettigrew, J. E. (2011). Mannan oligosaccharide modulates gene expression profile in pigs experimentally infected with porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Journal of Animal Science*, 89(10), 3016-3029.
- Chee, S. H. (2008). Functional interactions of mannanoligosaccharides with dietary threonine on chicken gastrointestinal tract. PhD thesis. University of New England, Australia.
- Corcao, D. G., De Paulo, A. A., Hannas, M. I. (2011a). Use of Actigen – performance, *E. coli* control and antimicrobial revitalization. 27th International Symposium Science and Technology in Feed Industry, 22-25.05, Lexington, USA.
- Corcao, D. G., De Paulo, A. A., Hannas, M. I., De Veiga, A. (2011b). Use of Actigen – performance, *Salmonella* control and antimicrobial revitalization. 27th International Symposium Science and Technology in Feed Industry, 22-25.05, Lexington, USA.
- Corneillie, S. (2014). The role of prebiotics in pangasius production. *International Aqua Feed*. 17(2), 10-13.
- Couso, N., Castro, R., Magariños, B., Obach, A., Lamas, J. (2003). Effect of oral administration of glucans on the resistance of gilthead seabream to pasteurellosis. *Aquaculture*, 219(1), 99-109.
- Cox, C. M., Stuard, L. H., Kim, S., McElroy, A. P., Bedford, M. R., Dalloul, R. A. (2010a). Performance and immune responses to dietary β -glucan in broiler chicks. *Poultry Science*, 89(9), 1924-1933.

- Cox, C. M., Summers, L. H., Kim, S., McElroy, A. P., Bedford, M. R., Dalloul, R. A. (2010b). Immune responses to dietary β -glucan in broiler chicks during an *Eimeria* challenge. *Poultry science*, 89(12), 2597-2607.
- Culver, J., Key, Z., Nollet, L. (2011). Actigen impact on broiler growth and production economics. 27th International Symposium Science and Technology in Feed Industry, 22-25.05, Lexington, USA.
- Davis, M. E., Maxwell, C. V., Erf, G. F., Brown, D. C., Wistuba, T. J. (2004). Dietary supplementation with phosphorylated mannans improves growth response and modulates immune function of weanling pigs. *Journal of Animal Science*, 82, 1882-1891.
- De Jesus, N. A., Fernandes, J., dos Santos, A. L., Abreu, R. D., do Nascimento, J. P., Martins, G. C. F., Nunes, J. O., Sales, R. A. C. (2014). Influência de diferentes doses de mananoligossacarídeo sobre o desempenho de frangos de corte de 22 a 38 dias de idade. XXIV Congresso Brasileiro de Zootecnia, 12-14.05, Vitoria, Brazil.
- DeGraft-Hanson, J. A., Heath, J. L. (1990). Effect of d-mannose on motility, presence of flagella, and attachment of *Pseudomonas aeruginosa* to chicken skin cells. *Poultry Science*, 69(8), 1404-1409.
- Deng, W., Dong, X. F., Tong, J. M., Zhang, Q. (2012). The probiotic *Bacillus licheniformis* ameliorates heat stress-induced impairment of egg production, gut morphology, and intestinal mucosal immunity in laying hens. *Poultry Science*, 91(3), 575-582.
- Deplancke, B., Gaskins, H. R. (2001). Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73, 1131-1141.
- Desnoyers, M., Giger-Reverdin, S., Bertin, G., Duvaux-Ponter, C., Sauvant, D. (2009). Meta-analysis of the influence of *Saccharomyces cerevisiae* supplementation on ruminal parameters and milk production of ruminants. *Journal of Dairy Science*, 92(4), 1620-1632.

- Dizaji, B. R., Hejazi, S., Zakeri, A. (2012). Effects of dietary supplementations of prebiotics, probiotics, synbiotics and acidifiers on growth performance and organs weights of broiler chicken. *European Journal of Experimental Biology*, 2(6), 2125-2129.
- Dizaji, B. R., Zakeri, A., Golbazfarsad, A., Faramarzy, S., Ranjbari, O. (2013). Influences of different growth promoters on intestinal morphology of broiler chickens. *European Journal of Experimental Biology*, 3(2), 32-37.
- Đukić Stojčić, M., Bessei, W. (2009). The effect of locomotor activity and weight load on bone problems in fast and slow growing chickens. *Archiv für Geflügelkunde*, 73(4), 242-249.
- Edwards, M. V., Edwards, A. C., Millard, P., Kocher, A. (2014). Mannose rich fraction of *Saccharomyces cerevisiae* promotes growth and enhances carcass yield in commercially housed grower–finisher pigs. *Animal Feed Science and Technology*, 197, 227-232.
- El-Abed, N., Badiola, I., Trocino, A., Tazzoli, M., Majolini, D., Pérez de Rozas, A., Combes, S., Cauquil, L., Acosta, N., Heras, A., Menoyo, D., Garcia, J., Xiccata, G., Carabaño, R. (2013). Effect of dietary supplementation with mannanoligosaccharides and β -glucans on intestinal microbiota in rabbits after weaning. XV Jornadas sobre Producción Animal, 14-15.05, Zaragoza, Spain. 882-884.
- El-Khalek, E., Kalmar, I. D., De Vroey, M., Ducatelle, R., Pasmans, F., Werquin, G., Janssens, G. P. J. (2011). Indirect evidence for microbiota reduction through dietary mannanoligosaccharides in the pigeon, an avian species without functional caeca. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 96(6), 1084-1090.
- Fairchild, A. S., Grimes, J. L., Jones, F. T., Wineland, M. J., Edens, F. W., Sefton, A. E. (2001). Effects of hen age, Bio-Mos and Flavomycin on poult susceptibility to oral *Escherichia coli* challenge. *Poultry Science*, 80, 562-571.

- Ferket, P. R., Parks, C. W., Grimes, J. L. (2002). Benefits of dietary antibiotic and mannanoligosaccharide supplementation for poultry. Multi-State Poultry Meeting, 14-16.05, Indianapolis, USA.
- Firon, N., Ofek, I., Sharon, N. (1983). Carbohydrate specificity of the surface lectins of *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Salmonella typhimurium*. Carbohydrate Research, 120, 235-249.
- Fleet, G. H., Manners, D. J. (1976). Isolation and composition of an alkali-soluble glucan from the cell walls of *Saccharomyces cerevisiae*. Journal of General Microbiology, 94(1), 180-192.
- Fontaine, N., Meslin, J. C., Doré, J., (1998). Selective *in vitro* degradation of the sialylated fraction of germ-free rat mucins by the caecal flora of the rat. Reproduction Nutrition Development, 38, 289-296.
- Forder, R. E. A., Howarth, G. S., Tivey, D. R., Hughes, R. J. (2007). Bacterial modulation of small intestinal goblet cells and mucin composition during early posthatch development of poultry. Poultry Science, 86, 2396-2403.
- Ganner, A., Stoiber, C., Wieder, D., Schatzmayr, G. (2010). Quantitative *in vitro* assay to evaluate the capability of yeast cell wall fractions from *Trichosporon mycotoxinivorans* to selectively bind gram negative pathogens. Journal of Microbiological Methods, 83(2), 168-174.
- Genc, M. A., Aktas, M., Genc, E., Yilmaz, E. (2007). Effects of dietary mannan oligosaccharide on growth, body composition and hepatopancreas histology of *Penaeus semisulcatus* (de Haan 1844). Aquaculture Nutrition, 13(2), 156-161.
- Gernat, A. (2011). Actigen and Zn bacitracin: Comparative effects on performance, intestinal integrity and immunity of broilers. 27th International Symposium Science and Technology in Feed Industry, 22-25.05, Lexington, USA.
- Glass, G. V. (1976). Primary, secondary, and meta-analysis of research. Educational Researcher, 5(10), 3-8.

- Glickman, J. N., Kornfeld, S. (1993). Mannose 6-phosphate-independent targeting of lysosomal enzymes in I-cell disease B lymphoblasts. *The Journal of Cell Biology*, 123(1), 99-108.
- Gomes, G. A., Araújo, L. F., Prezzi, J. A., Savietto, D., Júnior, J. R. S., Valério, J. (2008). Tempo de fornecimento da dieta pré-inicial para frangos de corte com diferentes pesos ao alojamento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 37(10), 1802-1807.
- Good, L. (2013). The effects of Actigen and threonine supplementation on growth parameters, immune function, and intestinal health in monogastrics. University of Kentucky, Theses and Dissertations – Animal and Food Sciences. Paper 24.
- Guo, Y., Ali, R. A., Qureshi, M. A. (2003). The Influence of β -Glucan on Immune Responses in Broiler Chicks. *Immunopharmacology and immunotoxicology*, 25(3), 461-472.
- Haese, D., Kill, J. L., Del Puppo, D., Lacerda, E. D. G., Vasconcellos, R. S., Lenz, D., De Suenza, E. O. (2011). Effects of Actigen and an AGP program on broiler performance under heat stress and health stress conditions. 27th International Symposium Science and Technology in Feed Industry, 22-25.05, Lexington, USA.
- Haworth, W. N., Hirst, E. L., Isherwood, F. A. (1937). Polysaccharides. Yeast mannan. *Journal of the Chemical Society*, 784-791.
- Heinrichs, A. J., Heinrichs, B. S., Jones, C. M. (2013). Fecal and saliva IgA secretion when feeding a concentrated mannan oligosaccharide to neonatal dairy calves. *The Professional Animal Scientist*, 29(5), 457-462.
- Herold, A., Lewis, D. H. (1977). Mannose and green plants: occurrence, physiology and metabolism, and use as a tool to study the role of orthophosphate. *New Phytologist*, 79(1), 1-40.
- Hong, F., Hansen, R. D., Yan, J., Allendorf, D. J., Baran, J. T., Ostroff, G. R., Ross, G. D. (2003). β -Glucan functions as an adjuvant for monoclonal antibody immunotherapy by recruiting tumoricidal granulocytes as killer cells. *Cancer Research*, 63(24), 9023-9031.

- Hooge, D. M., Sims, M. D., Sefton, A. E., Connolly, A., Spring, P. (2003). Effect of dietary mannan oligosaccharide, with or without bacitracin or virginiamycin, on live performance of broiler chickens at relatively high stocking density on new litter. *Journal of Applied Poultry Research*, 12, 461–467.
- Hooge, D. M. (2004). Meta-analysis of broiler chicken pen trials evaluating dietary mannan oligosaccharide, 1993-2003. *International Journal of Poultry Science*, 3(3), 163-174.
- Hooge, D. M. (2009). Dietary MOS analyses. *Feedstuffs*, 18.05.2009, p16.
- Hooge, D. M., Connolly, A. (2011). Meta-analysis summary of broiler chicken trials with dietary Actigen® (2009-2011). *International Journal of Poultry Science*, 10(10), 819-824.
- Hooge, D. M., Kiers, A., Connolly, A. (2013). Trials with dietary Actigen (2009-2012). *International Journal of Poultry Science*, 12(1), 01-08.
- Hsiao, H. Y., Anderson, D. M., Dale, N. M. (2006). Levels of β -mannan in soybean meal. *Poultry Science*, 85(8), 1430-1432.
- Huff, G. R., Huff, W. E., Rath, N. C., Solis de los Santos, F., Farnell, M. B., Donoghue, A. M. (2007). Influence of hen age on the response of turkey poults to cold stress, *Escherichia coli* challenge, and treatment with a yeast extract antibiotic alternative. *Poultry Science*, 86, 636-642.
- Iji, P. A., Saki, A. A., Tivey, D. R. (2001). Intestinal structure and function of broiler chickens on diets supplemented with a mannan oligosaccharide. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 1186-1192.
- Jacela, J. Y., DeRouche, J. M., Tokach, M. D., Goodband, R. D., Nelssen, J. L., Renter, D. G., Dritz, S. S. (2010). Feed additives for swine: fact sheets—flavors and mold inhibitors, mycotoxin binders, and antioxidants. *Journal of Swine Health and Production*, 18(1), 27-32.
- Jalal, M. A., Zakaria, H. A. (2012). The effect of quantitative feed restriction during the starter period on compensatory growth and carcass characteristics of broiler chickens. *Pakistan Journal of Nutrition*, 11(9), 719-724.

- Jha, M. V., Vishnu, P. G., Ranjan, S., Kumar, V., Reddy, C. N. (2013). Phenotypic correlations among body weights at various ages in White Cornish, Red Cornish and White Plymouth Rock pure breeds. *International Journal of Livestock Research*, 3(1), 136-140.
- Jouany, J. P., Yiannikouris, A., Bertin, G. (2005). The chemical bonds between mycotoxins and cell wall components of *Saccharomyces cerevisiae* have been identified. *Archiva Zootechnica*, 8, 26-50.
- Julian, R. J., Summers, J., Wilson, J. B. (1986). Right ventricular failure and ascites in broiler chickens caused by phosphorus-deficient diets. *Avian Diseases*, 30(3), 453-459.
- Kissell, L., Davidson, S., Hopkins, B. A., Smith, G. W., Whitlow, L. W. (2013). Effect of experimental feed additives on aflatoxin in milk of dairy cows fed aflatoxin-contaminated diets. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 97(4), 694-700.
- Klis, F. M., Boorsma, A., De Groot, P. W. (2006). Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 23(3), 185-202.
- Кос, F., Samli, H., Okur, A., Ozduven, M., Akyurek, H., Senkoylu, N. (2010). Effects of *Saccharomyces cerevisiae* and/or mannanoligosaccharide on performance, blood parameters and intestinal microbiota of broiler chicks. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 16, 643-650.
- Kogan, G., Kocher, A. (2007). Role of yeast cell wall polysaccharides in pig nutrition and health protection. *Livestock Science*, 109(1), 161-165.
- Kogan, G., Pajtinka M., Babincova M., Miadokova E., Rauko P., Slamena D., Korolenko T.A. (2008). Yeast cell wall polysaccharides as antioxidants and antimutagens: can they fight cancer? *Neoplasma*, 55(5), 387-393.
- Kozarski, M.S., Klaus, A.S., Nikšić, M.P. (2009). Influence of structural features on immuno-stimulating activity of glucans extracted from *Agaricus Blazei* mushroom. *Zbornik Matice Srpske za Prirodne Nauke*, 116, 225-233.

- Laustsen, P., Nollet, L. (2011). Performance responses of broilers to Actigen, a probiotic, or butanoic acid. 27th International Symposium Science and Technology in Feed Industry, 22-25.05, Lexington, USA.
- Lea, H. K., Key, Z., Burton, E. J. (2011). Performance and gut health of poultry in the post-antibiotic era when feeding a novel yeast cell wall component. 27th International Symposium Science and Technology in Feed Industry, 22-25.05, Lexington, USA.
- Lea, H., Spring, P., Taylor-Pickard, J., Burton, E. (2013). A natural carbohydrate fraction ActigenTM from *Saccharomyces cerevisiae* cell wall: effects on goblet cells, gut morphology and performance of broiler chickens. *Journal of Applied Animal Nutrition*, 1(e9), 1-7.
- Lia, A., Hallmans, G., Sandberg, A. S., Sundberg, B., Aman, P., Andersson, H. (1995). Oat beta-glucan increases bile acid excretion and a fiber-rich barley fraction increases cholesterol excretion in ileostomy subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 62(6), 1245-1251.
- Lull, C., Wichers, H. J., Savelkoul, H. F. (2005). Antiinflammatory and immunomodulating properties of fungal metabolites. *Mediators of Inflammation*, 2005(2), 63-80.
- Madrigal-Santillán, E., Morales-González, J. A., Sánchez-Gutiérrez, M., Reyes-Arellano, A., Madrigal-Bujaidar, E. (2009). Investigation on the protective effect of α -mannan against the DNA damage induced by aflatoxin B1 in mouse hepatocytes. *International Journal of Molecular Science*, 10, 395-406.
- Marien, M., De Gussem, M., Vancraeynest, D. (2007). Evaluation of a yeast extract product, containing a guaranteed range of β -glucans, in free range laying hens. 16th European Symposium on Poultry Nutrition, 26-30.08, Strasbourg, France. 351-354.
- Mathis, G. F. (2011). Comparative effects on broiler performance and litter quality: Actigen and BMD. 27th International Symposium Science and Technology in Feed Industry, 22-25.05, Lexington, USA.

- Mathis, G. F., Brennan, K. M. (2010). Comparison of performance of commercial broilers fed Actigen versus BMD. 26th International Symposium Science and Technology in Feed Industry, 16-19.05, Lexington, USA.
- Mathis, G. F., Lumpkins, B., Pierce, J. L., Hooge, D. M. (2012). Effects of dietary antibiotics, Actigen® yeast cell wall derivative, or both on broiler chicken live performance in a fifty-two day pen trial on built-up litter. *The Journal of Poultry Science*, 49(4), 313-318.
- McCann, M. E. E., Newell, E., Preston, C., Forbes, K. (2006). The use of mannan-oligosaccharides and/or tannin in broiler diets. *International Journal of Poultry Science*, 5(9), 873-879.
- Mendes, A. S., Paixao, S. J., Restelatto, R., Reffatti, R., Possenti, J. C., de Moura, D. J., Morello, G. M. Z., de Carvalho, T. M. R. (2011). Effects of initial body weight and litter material on broiler production. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, 13(3), 165-170.
- Michalczuk, M., Stępińska, M., Łukasiewicz, M. (2011). Effect of the initial body weight of Ross 308 chicken broilers on the rate of growth. *Annals of Warsaw University of Life Sciences-SGGW, Animal Science*, 49, 121-125.
- Middelbos, I. S., Godoy, M. R., Fastinger, N. D., Fahey, G. C. (2007). A dose-response evaluation of spray-dried yeast cell wall supplementation of diets fed to adult dogs: Effects on nutrient digestibility, immune indices, and fecal microbial populations. *Journal of Animal Science*, 85(11), 3022-3032.
- Moon, C. J., Lee, J. H. (2005). Use of curdlan and activated carbon composed adsorbents for heavy metal removal. *Process biochemistry*, 40(3), 1279-1283.
- Morales-López, R., Auclair, E., Garcia, F., Esteve-Garcia, E. Brufau, J., (2009). Use of yeast cell walls: β -1,3/1,6-glucans; and mannoproteins in broiler chicken diets. *Poultry Science*, 88, 601-607.
- Mourão, J. L., Pinheiro, V., Alves, A., Guedes, C. M., Pinto, L., Saavedra, M. J., Spring, P., Kocher, A. (2006). Effect of mannan oligosaccharides on the performance, intestinal morphology and cecal fermentation of fattening rabbits. *Animal Feed Science and Technology*, 126(1), 107-120.

- Muchmore, A. V., Sathyamoorthy, N., Decker, J., Sherblom, A. P. (1900). Evidence that specific high-mannose oligosaccharides can directly inhibit antigen-driven T-cell responses. *Journal of Leukocyte Biology*, 48, 457-464.
- Munyaka, P., Echeverry, H. M., Yitbarek, A., Einarson, M., Sharif, S., Guenter, W., House, J. D., Rodriguez-Lecompte, J. C. (2011). Toll-like receptor and cytokine profile of chickens supplemented with Actigen. 27th International Symposium Science and Technology in Feed Industry, 22-25.05, Lexington, USA.
- Munyaka, P. M., Echeverry, H., Yitbarek, A., Camelo-Jaimes, G., Sharif, S., Guenter, W., House, J. D., Rodriguez-Lecompte, J. C. (2012). Local and systemic innate immunity in broiler chickens supplemented with yeast-derived carbohydrates. *Poultry Science*, 91(9), 2164-2172.
- Narinc, D., Aksoy, T., Karaman, E. (2010). Genetic parameters of growth curve parameters and weekly body weights in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*). *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 9(3), 501-507.
- Nollet, L., Huyghebaert, G., Spring, P. (2007). Effect of Dietary Mannan Oligosaccharide (Bio-Mos) on Live Performance of Broiler Chickens Given an Anticoccidial Vaccine (Paracox) Followed by a Mild Coccidial Challenge. *Journal of Applied Poultry Research*, 16, 397-403.
- Northcote, D. H., Horne, R. W. (1952). The chemical composition and structure of the yeast cell wall. *Biochemical Journal*, 51(2), 232-236.
- Ohno, N., Miura, N. N., Nakajima, M., Yadomae, T. (2000). Antitumor 1, 3-beta-glucan from cultured fruit body of *Sparassis crispa*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 23(7), 866-872.
- Olejniczak, R., Nollet, L. (2011). Evaluation of the effectiveness of Actigen as a growth promoter in broilers. 27th International Symposium Science and Technology in Feed Industry, 22-25.05, Lexington, USA.
- Osler, W. (1903). On the master-word in medicine. *British Medical Journal*, 2(2236), 1196.

- Oyofa, B. A., DeLoach, J. R., Corrier, D. E., Norman, J. O., Ziprin, R. L. Mollenhauer, H. H. (1989). Prevention of *Salmonella typhimurium* colonization of broilers with D-mannose. *Poultry Science*, 68(10), 1357-1360.
- Özkan, S., Plavnik, I., Yahav, S. (2006). Effects of early feed restriction on performance and ascites development in broiler chickens subsequently raised at low ambient temperature. *The Journal of Applied Poultry Research*, 15(1), 9-19.
- Perdomo, A. N. V. M. O. A. F. (2010). Efecto de Actigen en las dietas de pollos de engorde sobre el rendimiento, inmunidad e integridad intestinal. *Diplomski rad*. Zamorano University, Honduras.
- Perić, L., Milošević, N., Žikić, D., Kanački, Z., Džinić, N., Nollet, L., Spring, P. (2009). Effect of selenium sources on performance and meat characteristics of broiler chickens. *The Journal of Applied Poultry Research*, 18(3), 403-409.
- Perić, L., Ušćebrka, G., Žikić, D., Vranješ, M., Nollet, L. (2005). Effects of Bio-Mos supplementation on the performance of broiler chicks: a Serbian study. 15th European Symposium on Poultry Nutrition, 25-29.09, Balatonfüred, Hungary. 304-306.
- Reisinger, N., Ganner, A., Masching, S., Schatzmayr, G., Applegate, T. J. (2012). Efficacy of a yeast derivative on broiler performance, intestinal morphology and blood profile. *Livestock Science*, 143(2), 195-200.
- Reyna-Villasmil, N., Bermúdez-Pirela, V., Mengual-Moreno, E., Arias, N., Cano-Ponce, C., Leal-Gonzalez, E., Souki, A., Inglett, G. E., Israili, Z. H., Hernandez-Hernandez, R., Valasco, M., Arraiz, N. (2007). Oat-derived β -glucan significantly improves HDLC and diminishes LDLC and non-HDL cholesterol in overweight individuals with mild hypercholesterolemia. *American Journal of Therapeutics*, 14(2), 203-212.
- Robertson, A. M., Wright, D. P. (1997). Bacterial glycosulphatases and sulphomucin degradation. *Canadian Journal of Gastroenterology*, 11, 361-366.
- Rørstad, G., Aasjord, P. M., Robertsen, B. (1993). Adjuvant effect of a yeast glucan in vaccines against furunculosis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish & Shellfish Immunology*, 3(3), 179-190.

- Rosen, G. D. (2006a). Holo-analysis. *Poultry science*, 85(6), 957-959.
- Rosen, G.D. (2006b). Holo-analysis of the efficacy of Bio-Mos in pig nutrition. *Animal Science*, 82, 683-689.
- Rosen, G.D. (2007a). Holo-analysis of the efficacy of Bio-Mos in broiler nutrition. *British Poultry Science*, 48(1), 21-26.
- Rosen, G.D. (2007b). Holo-analysis of the efficacy of Bio-Mos in turkey nutrition. *Br. Poultry Science*, 48(1), 27-32.
- Santoso, U. (2002). Effects of early feed restriction on the occurrence of compensatory growth, feed conversion efficiency, leg abnormality and mortality in unsexed broiler chickens reared in cages. *Asian-Australasian Journal Of Animal Sciences*, 15(9), 1319-1325.
- Sasou, E., Corneille, S. (2011). Effect of feeding Actigen on growth performance and mortality. *Japan. Alltech Summary Report*, Pages: 6.
- Sharon, N. (1987). Bacterial lectins, cell-cell recognition and infectious disease. *FEBS Letters*, 217(2), 145-157.
- Shashidhara, R. G., Devegowda, G. (2003). Effect of dietary mannan oligosaccharide on broiler breeder production traits and immunity. *Poultry Science*, 82, 1319–1325.
- Sherblom, A. P., Decker, J. M., Muchmore, A. V. (1988). The lectin-like interaction between recombinant tumor necrosis factor and uromodulin. *Journal of Biological Chemistry*, 263(11), 5418-5424.
- Sims, M. D., Dawson, K. A., Newman, K. E., Spring, P., Hooge, D. M. (2004). Effects of dietary mannan oligosaccharide, bacitracin methylene disalicylate, or both on the live performance and intestinal microbiology of turkeys. *Poultry Science*, 83, 1148–1154.
- Skinner-Noble, D. O., Teeter, R. G. (2004). Components of feed efficiency in broiler breeding stock: The use of fasted body temperature as an indicator trait for feed conversion in broiler chickens. *Poultry Science*, 83(4), 515-520.

- Sklan, D., Heifetz, S., Halevy, O. (2003). Heavier chicks at hatch improves marketing body weight by enhancing skeletal muscle growth. *Poultry Science*, 82(11), 1778-1786.
- Službeni glasnik RS-Međunarodni ugovori (2010). Zakon o potvrđivanju evropske konvencije o zaštiti kičmenjaka namenjenih za ogledne i druge naučne svrhe. 1/2010.
- Smirnov, A., Perez, R., Amit-Romach, E., Sklan, D. Uni, Z. (2005). Mucin dynamics and microbial populations in the chicken small intestine are changed by dietary probiotic and antibiotic growth promoter supplements. *Journal of Nutrition*, 135, 187-192.
- Smirnov, A., Tako, E., Ferket, P. R., Uni, Z. (2006). Mucin gene expression and mucin content in the chicken intestinal goblet cells are affected by in ovo feeding of carbohydrates. *Poultry Science*, 85(4), 669-673.
- Sohail, M. U., Ijaz, A., Yousaf, M. S., Ashraf, K., Zaneb, H., Aleem, M., Rehman, H. (2010). Alleviation of cyclic heat stress in broilers by dietary supplementation of mannan-oligosaccharide and *Lactobacillus*-based probiotic: Dynamics of cortisol, thyroid hormones, cholesterol, C-reactive protein, and humoral immunity. *Poultry Science*, 89(9), 1934-1938.
- Sohail, M. U., Hume, M. E., Byrd, J. A., Nisbet, D. J., Ijaz, A., Sohail, A., Shabbir, M. Z., Rehman, H. (2012). Effect of supplementation of prebiotic mannan-oligosaccharides and probiotic mixture on growth performance of broilers subjected to chronic heat stress. *Poultry Science*, 91(9), 2235-2240.
- Solis de los Santos, F., Donoghue, A. M., Farnell, M. B., Huff, G. R., Huff, W. E., Donoghue, D. J. (2007). Gastrointestinal maturation is accelerated in turkey poultlets supplemented with a mannan-oligosaccharide yeast extract (Alphamune). *Poultry Science*, 86, 921-930.
- Spring, P., Wenk, C., Dawson, K. A., Newman, K. E. (2000). The effects of dietary mannanoligosaccharides on cecal parameters and the concentrations of enteric bacteria in the ceca of salmonella-challenged broiler chicks. *Poultry Science*, 79, 205-211.

- Stacy, R. W., Waxman, B. (1965). Computers in biomedical research. Academic Press. New York/London, p 320.
- Stewart, T. S., Ballou, C. E. (1968). A comparison of yeast mannans and phosphomannans by acetolysis. *Biochemistry*, 7(5), 1855-1863.
- Stringhini, J. H., Resende, A., Café, M. B., Leandro, N. S. M., Andrade, M. A. (2003). Efeito do peso inicial dos pintos e do período da dieta pré-inicial sobre o desempenho de frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 32(2), 353-360.
- Sun X., McElroy, A., Webb, K. E. Jr., Sefton, A. E., Novak, C. (2005). Broiler performance and intestinal alterations when fed drug-free diets. *Poultry Science*, 84, 1294–1302.
- Swick, R. A., Sadeq, S., Kocher, A. (2013). Use of Actigen as a tool to reduce the impact of necrotic enteritis in broilers. *International Poultry Scientific Forum*, 28-29.01, Atlanta, USA. 218.
- Tanimoto, T., Ikuta, A., Sugyjama, M., Koizumi, K. (2002). HPLC Analysis of manno-oligosaccharides derived from *Saccharomyces cerevisiae* mannan using an amino column or a graphitized carbon column. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 50(2), 280—283.
- Tazzoli, M., Xiccato, G., Trocino, A., Majolini, D., El Abed, N., García, J., Eras, M. A., Carabaño, R. (2012). Dietary supplementation with mannanoligosaccharides and β -glucans in growing rabbits. 1. growth performance, health status and carcass traits. 10th World Rabbit Congress, 03-06.09, Sharm El-Sheikh, Egypt. 547-551.
- Tizard, I. R., Carpenter, R. H., McAnalley, B. H., Kemp, M. C. (1989). The biological activities of mannans and related complex carbohydrates. *Molecular Biotherapy*, 16, 290-296.
- Tokić, V., Lazarević, M., Sinovec, Z., Tokić, A. (2007). The influence of different feed additives to performances and immune response in broiler chicken. *Acta veterinaria*, 57(2-3), 217-229.

- Torrecillas, S., Makol, A., Benites-Santana, T., Caballero, M. J., Montero, D., Sweetman, J., Izquierdo, M. (2011). Reduced gut bacterial translocation in European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) fed mannan oligosaccharides (MOS). *Fish and Shellfish Immunology*, 30, 674-681.
- Uauy, R., Stringel, G., Thomas, R., Quan, R. (1990). Effect of dietary nucleosides on growth and maturation of the developing gut in the rat. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 10(4), 497-503.
- Vancraeynest, D., Necmettin, C., Marien, M., De Gussem, M. (2007). Evaluation of a yeast extract product, containing a guaranteed range of β -glucans, on performance in broilers. 16th European Symposium on Poultry Nutrition, 26-30.08, Strasbourg, France. 411-413.
- Vetvicka, V., Vetvickova, J. (2010). 1, 3-Glucan: Silver Bullet or Hot Air? *Open Glycoscience*, 3, 1-6.
- Vieira, S. L., Moran, E. T. (1998). Eggs and chicks from broiler breeders of extremely different age. *The Journal of Applied Poultry Research*, 7(4), 372-376.
- Vinogradov, E., Petersen, B., Bock, K. (1998). Structural analysis of the intact polysaccharide mannan from *Saccharomyces cerevisiae* yeast using ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy at 750 MHz. *Carbohydrate Research*, 307(1), 177-184.
- White, L. A., Newman, M. C., Cromwell, G. L., Lindemann, M. D. (2002). Brewers dried yeast as a source of mannan oligosaccharides for weanling pigs. *Journal of Animal Science*, 80, 2619-2628.
- Yalçın, S., Eser, H., Cengiz, S., Eltan, Ö. (2013). Effects of dietary yeast autolysate (*Saccharomyces cerevisiae*) on performance, carcass and gut characteristics, blood profile, and antibody production to sheep red blood cells in broilers. *The Journal of Applied Poultry Research*, 22(1), 55-61.
- Yang, Y., Iji, P. A., Kocher, A., Mikkelsen, L. L., Choct, M. (2007). Effects of mannanoligosaccharides on growth performance, the development of gut microflora, and gut function of broiler chicks raised on new litter. *Journal of Applied Poultry Research*, 16, 280-288.

- Yitbarek, A., Echeverry, H., Brady, J., Hernandez-Doria, J., Camelo-Jaimes, G., Sharif, S., Guenter, W., House, J. D., Rodriguez-Lecompte, J. C. (2012). Innate immune response to yeast-derived carbohydrates in broiler chickens fed organic diets and challenged with *Clostridium perfringens*. *Poultry Science*, 91(5), 1105-1112.
- Youssef, I. M. I., Beineke, A., Rohn, K., Kamphues, J. (2012). Influences of increased levels of biotin, zinc or mannan-oligosaccharides in the diet on foot pad dermatitis in growing turkeys housed on dry and wet litter. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 96(5), 747-761.
- Zdunczyk, Z., Juskiewicz, J., Jankowski, J., Biedrzycka, E., Koncicki, A. (2005). Metabolic response of the gastrointestinal tract of turkeys to diets with different levels of mannan-oligosaccharide. *Poultry Science*, 84, 903–909.
- Zhang, B., Guo, Y., Wang, Z. (2008). The modulating effect of beta-1, 3/1, 6-glucan supplementation in the diet on performance and immunological responses of broiler chickens. *Asian-Australasian Journal Of Animal Sciences*, 21(2), 237-244.
- Zhu, X. Y., Joerger, R. D. (2003). Composition of microbiota in content and mucus from caecae of broiler chickens as measured by fluorescent in situ hybridization with group-specific, 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes. *Poultry Science*, 82(8), 1242-1249.
- Zou, X. T., Qiao, X. J., Xu, Z. R. (2006). Effect of β -mannanase (Hemicell) on growth performance and immunity of broilers. *Poultry Science*, 85(12), 2176-2179.
- Zulkifli, I., Abdullah, N., Azrin, N. M., Ho, Y. W. (2000). Growth performance and immune response of two commercial broiler strains fed diets containing *Lactobacillus* cultures and oxytetracycline under heat stress conditions. *British Poultry Science*, 41(5), 593-597.

- Žikić, D., Perić, L., Ušćebrka, G., Stojanović, S., Milić, D., Nollet, L. (2011). Influence of dietary mannanoligosaccharides on histological parameters of the jejunal mucosa and growth performance of broiler chickens. *African Journal of Biotechnology*, 10(32), 6172-6176.