



## UTJECAJ PROPOLISA I PČELINJEG PELUDA NA ODABRANE POKAZATELJE U SA- DRŽAJU CRIJEVA TE FECESU TOVNIH PILIĆA

### EFFECT OF PROPOLIS AND BEE POLLEN ON SELECTED INDICATORS OF GUT CONTENT AND FECES OF BROILERS

**Ivana Klarić, M. Domaćinović, Mirela Pavić, Z. Steiner, Danijela Samac, Ljubica  
Pastuović**

Izvorni znanstveni članak - Original scientific paper  
Primljeno – Received 05. listopada – October 2014

#### SAŽETAK

Brojna istraživanja u svijetu ukazala su na moguću primjenu propolisa i pčelinjeg peluda, svakog dodatka zasebno ili u njihovoj kombinaciji kao aditiva u hranidbi tovnih pilića. Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj propolisa i pčelinjeg peluda kao aditiva u hranidbi na vrijednosti odabranih pokazatelja (sadržaja suhe tvari, dušika, pepela te pH – vrijednosti) u fecesu pilića i ukupnog broja bakterija, broja bakterija iz roda *Enterobacteriaceae* te broja bakterija iz roda *Lactobacillus* u sadržaju crijeva pilića. Istraživanje je provedeno na 200 pilića Ross 308 provenijencije ravnomjerno raspoređenih spolova, koji su bili podijeljeni u 5 skupina (kontrolna i četiri pokusne skupine pilića). Kontrolna skupina pilića tijekom cijelog istraživanja bila je hranjena krmnom smjesom, dok su u smjese kojima su bile hranjene pokusne skupine pilića bili umiješani dodatci – propolis i/ili pčelinji pelud, svaki dodatak zasebno ili u njihovoj kombinaciji u određenom omjeru. Dva puta tijekom istraživanja (21. i 42. dana) prikupljeni su skupni uzorci fecesa po skupinama pilića u kojima su utvrđene vrijednosti spomenutih pokazatelja u fecesu te je 42. dana nakon žrtvovanja odabranih pokusnih životinja izvršeno uzorkovanje sadržaja crijeva (ileuma) pilića u kojima su utvrđivane brojčane vrijednosti spomenutih mikrobioloških uzročnika. Istraživanje je pokazalo kako je postojala statistički značajna razlika u vrijednosti pH fecesa ( $p < 0,001$ ), vrijednosti suhe tvari u fecesu ( $p < 0,001$ ), vrijednosti pepela u fecesu ( $p < 0,001$ ) te vrijednosti dušika u fecesu ( $p = 0,003$ ) između analiziranih skupina pilića 21. dana tova. Nadalje je utvrđeno kako je postojala statistički značajna razlika u vrijednosti pH fecesa ( $p < 0,001$ ), vrijednosti pepela u fecesu ( $p < 0,001$ ) i vrijednosti dušika u fecesu ( $p = 0,001$ ) između analiziranih skupina pilića 42. dana tova. Istraživanje je pokazalo kako nije postojala statistički značajna razlika u ukupnom broju bakterija u sadržaju crijeva ( $p = 0,549$ ) te broju bakterija iz roda *Enterobacteriaceae* u sadržaju crijeva ( $p = 0,485$ ) te kako je postojala statistički značajna razlika u broju bakterija iz roda *Lactobacillus* u sadržaju crijeva ( $p = 0,023$ ) između analiziranih skupina pilića 42. dana tova. Zaključeno je kako dodatak propolisa i pčelinjeg peluda hrani tovnih pilića značajno modificira vrijednosti odabranih pokazatelja u fecesu pilića te ima značajan pozitivan utjecaj na veličinu i sastav mikrobiološke flore sadržaja crijeva pilića.

Ključne riječi: propolis, pčelinji pelud, tovni pilići, feces, mikrobiološka flora

Dr.sc. Ivana Klarić (iklaric@pfos.hr), Prof. dr. sc. Matija Domaćinović, Mirela Pavić znanstveni novak, izv. Prof. dr. sc. Zvonimir Steiner, Dr.sc. Danijela Samac, Ljubica Pastuović dipl.ing., Sveučilište u Osijeku, Poljoprivredni fakultet, Kralja Petra Svačića 1 D, 31000 Osijek, Republika Hrvatska

## UVOD

Temeljni čimbenik intenzivne peradarske proizvodnje, nužan za stimuliranje rasta pilića u tovu, iskorištavanje hrane te poboljšanje kvalitete mesa kao krajnjeg proizvoda, jest kvalitetna, visokoprobavljiva i biološki vrijedna hrana (Kralik G. i sur., 2008.; Kralik G. i sur., 2011.). U intenzivnoj se peradarskoj proizvodnji, kako bi se stimulirao rast pilića u tovu, iskorištavanje hrane i poboljšala kvaliteta mesa kao krajnjeg proizvoda, gotovo redovito u smjese za perad dodaju i različiti aditivi. U tom smislu, kao učinkoviti promotori rasta dugi niz godina upotrebljavani su različiti antibiotici (Kralik G. i sur., 2008.). Budući da je stručna javnost bila zabrinuta zbog širenja i razvoja rezistentnih bakterija putem hranidbenoga lanca, Europska je unija 2006. godine zabranila uporabu antibiotika kao promotora rasta u hranidbi životinja (Adil i sur., 2011.). Antibiotici kao promotori rasta u hranidbi pilića već su gotovo jedno desetljeće zabranjeni u zemljama Europske unije i, prema tome, u zemljama koje piliće izvoze u zemlje Europske unije, dok je i većina proizvođača i kupaca u SAD-u u načelu za zabranu uporabe antibiotika u svrhu promotora rasta (Janječić, 2006.; Kleczek i sur., 2012.). Slijedom zabrane uporabe antibiotika kao promotora rasta u suvremenoj hranidbi tovnih pilića, pokrenuta su brojna istraživanja čiji je cilj bio pronaći alternativna rješenja u tom smislu, odnosno ispitati djelotvornost različitih prirodnih tvari koje bi, dodane u krmne smjese, imale pozitivan učinak na rast pilića te iskoristivost hrane. Kao dodatci hrani pilićima najviše su do sada istraživani probiotici, prebiotici, antioksidansi, zakiseljivači, enzimi, različiti biljni produkti te, u posljednje vrijeme, propolis i pčelinji pelud kao potencijalno novi dodatci (Açikgoz i sur., 2005.; Taheri i sur., 2005.; Scheuermann i sur., 2009.; Perić i sur., 2009.; Çetin i sur., 2010.; Toghyani i sur., 2010.; Haščik i sur., 2012.). Propolis i pčelinji pelud pripadaju skupini prirodnih tvari životinjskog i biljnog podrijetla s osobito izraženim antioksidativnim i antimikrobnim svojstvima (Talas i Gulhan, 2009.; Babinska i sur., 2012.; Eyng i sur., 2013.; Kačániová i sur., 2013.).

Cilj ovog istraživanja bio je utvrditi utjecaj propolisa i pčelinjeg peluda kao aditiva u hranidbi na vrijednosti odabranih pokazatelja (sadržaja suhe tvari, dušika, pepela te pH-vrijednosti) u fecesu pilića i ukupnog broja bakterija, broja bakterija iz roda *Enterobacteriaceae* te broja bakterija iz roda *Lactobacillus* u sadržaju crijeva pilića.

## MATERIJAL I METODE RADA

Za potrebe ovog istraživanja korišteno je ukupno 200 jednodnevnih pilića provenijencije Ross 308. Praktični dio istraživanja je proveden na obiteljskom gospodarstvu u Valpovačkoj Satnici. Ukupno 200 pilića provenijencije Ross 308 ravnomjerno raspoređenih spolova, početne tjelesne mase od 38 do 44 g bilo je podijeljeno u 5 skupina (40 pilića u svakoj skupini); jedna kontrolna skupina (K) i četiri pokusne skupine (P1, P2, P3, P4). Zbog učinkovitijeg praćenja svih promatranih pokazatelja svi su pilići 7. dana pokusa bili označeni (prstenovani). Tov pilića podnim načinom držanja na drvenoj strugotini trajao je 6 tjedana (42 dana). Pilići su od 1. do 21. dana istraživanja bili hranjeni krmnom smjesom starter (21,02% sirovih bjelančevina), a od 22. do 42. dana istraživanja krmnom smjesom finiše (19,15% sirovih bjelančevina) prema recepturi Tvornice za stočnu hranu Valpovka, Valpovo. Hranidba kao i napajanje pilića tijekom istraživanja bili su po volji. Kontrolna skupina (K) pilića tijekom cijelog istraživanja bila je hranjena krmnom smjesom dok su u smjese kojima su bile hranjene pokusne skupine pilića (P1, P2, P3, P4) bili umiješani dodatci – propolis i/ili pčelinji pelud, svaki dodatak zasebno ili u njihovoj kombinaciji u određenom omjeru. Propolis je primijenjen u usitnjenom (hladno mljevenom) obliku, a pčelinji pelud je također bio usitnjen prije umiješavanja u smjesu. Umiješavanje propolisa i pčelinjeg peluda obavljeno je u Tvornici za stočnu hranu Valpovka, Valpovo u vertikalnoj miješalici čime je osigurana dobra homogenizacija smjese (Tablica 1).

Svakoj skupini pilića predviđen je odjeljak veličine 3 m<sup>2</sup>, koji je bio podignut od betonskog poda 15 cm, te je imao drveni pod, vlastiti izvor svjetla, hranilicu i pojlilicu. Tijekom prvih 7 dana pilići su držani u manjim odjeljcima unutar izgrađenog odjeljka, a do završetka tova u spomenutim izgrađenim odvojenim odjeljcima unutar jednog objekta. Svi odjeljci su bili sagrađeni jedan do drugoga odvojeni žičano-drvenim pregradama te se na taj način ostvarila zajednička i jednaka mikroklima za sve pokusne životinje. Tijekom istraživanja posebna pažnja pridavana je primjeni preventivnih zoohigijenskih mjera, koje su podrazumijevale redovito održavanje čistoće u vanjskom okolišu objekta za tov, predprostoru odjeljaka unutar objekta za tov te u samim odjeljcima za tov.

**Tablica 1. Shema provedbe istraživanja**

**Table 1 The scheme of the research**

Skupine pilića – Group of chickens	Hranidba pilića – Chickens feeding
K	Krmna smjesa - Feed
P1	krmna smjesa + 0,25 g propolis/kg smjese + 20 g pčelinji pelud/kg smjese – feed + 0.25 g propolis/kg feed + 20 g bee pollen/kg feed
P2	krmna smjesa + 0,5 g propolis/kg smjese – feed + 0.5 g propolis/kg feed
P3	krmna smjesa + 1,0 g propolis/kg smjese – feed + 1.0 g propolis/kg feed
P4	krmna smjesa + 20 g pčelinji pelud/kg smjese – feed + 20 g bee pollen/kg feed

Dva puta tijekom istraživanja (21. i 42. dana) prikupljeni su skupni uzorci fecesa po skupinama pilića (pri čemu su iz svake pokusne skupine uzeta po dva skupna uzorka fecesa, vodeći računa o tome da uzorci fecesa nisu kontaminirani drvenom strugotinom) u kojima su utvrđene vrijednosti odabranih pokazatelja (sadržaja suhe tvari, dušika, pepela te pH-vrijednosti) u fecesu. Kemijske analize fecesa izvršene su u Laboratoriju za hranidbu i fiziologiju životinja Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku. Na kraju istraživanja, 42. dan, nakon žrtvovanja 10 pilića iz svake skupine uzorkovan je u sterilne bočice sadržaj crijeva (ileum) svakog žrtvovanog pileta, u kojem se u mikrobiološkom laboratoriju utvrđivao ukupni broj bakterija (HRN EN ISO 4833, 2008.), broj bakterija iz roda *Enterobacteriaceae* (HRN ISO 21528-2, 2008.) te broj bakterija iz roda *Lactobacillus* (HRN EN ISO 4833, 2008.). Uzorci u sterilnim bočicama bili su transportirani u prijenosnom hladnjaku te su istog dana dopremljeni u mikrobiološki laboratorij, gdje je započeta analiza u razdoblju unutar 1 sata od uzorkovanja kako bi se spriječio razvoj mikroorganizama u uzorcima. Za potrebe nasađivanja upotrijebljene su gotove podloge za ukupni broj bakterija (Standar metod agar), broj bakterija iz roda *Enterobacteriaceae* (VRBD agar) te broj bakterija iz roda *Lactobacillus* (MRS agar). Mikrobiološke pretrage svih prikupljenih uzoraka bile su izvršene u

Službi za mikrobiologiju Zavoda za javno zdravstvo Osječko-baranjske županije.

Sve varijable testirane su na normalnost distribucije Shapiro – Wilkinsonovim testom te su u ovisnosti o rezultatu testiranja za njihovu daljnu obradu primijenjene parametrijske ili neparametrijske metode. Numeričke varijable opisane su aritmetičkom sredinom ( $\bar{x}$ ) i standardnom devijacijom (s). Za usporedbu vrijednosti numeričkih varijabli više nezavisnih skupina korištena je ANOVA te Kruskal-Wallis test. Za normalno distribuirane varijable nakon testiranja pomoću ANOVA testa primijenjen je LSD *post hoc* test, dok je za utvrđivanje razlika između pojedinih skupina kod varijabli koje nisu bile normalno distribuirane nakon testiranja Kruskal-Wallis testom primijenjen Mann-Whitney U test (Petrie i Sabin, 2000). Značajnost razlika utvrđenih statističkim testiranjem iskazana je na razinama  $p < 0,05$ . U obradi podataka korišten je statistički paket Statistica for Windows 2010 (inačica 10.0, StatSoft Inc., Tulsa, OK). Različita mala slova na razini statističke značajnosti  $p < 0,05$  na pojedinim vrijednostima u tablicama označavaju postojanje statistički značajne razlike dok ista mala slova na pojedinim vrijednostima u tablicama označavaju nepostojanje statistički značajne razlike.

**Tablica 2. Vrijednosti istraživanih pokazatelja u skupnim uzorcima fecesa pilića 21. dana tova**

**Table 2 The values of investigated indicators in composite samples of feces of chickens on day 21 of fattening**

Pokazatelji - Parameters	Statistički pokazatelji Statistical parameters	N	Skupine pilića – Group of chickens					p –vrijednost p – value
			K	P1	P2	P3	P4	
pH	$\bar{x}$	10	5,49 <sup>a</sup>	5,78 <sup>b</sup>	5,87 <sup>c</sup>	5,83 <sup>d</sup>	5,91 <sup>e</sup>	<0,001*
	s		0,01	0,00	0,03	0,01	0,01	
Suha tvar – Dry matter	$\bar{x}$	10	18,90 <sup>a</sup>	17,41 <sup>b</sup>	22,17 <sup>c</sup>	25,60 <sup>de</sup>	24,38 <sup>e</sup>	<0,001*
	s		0,33	0,22	0,92	1,54	0,25	
Dušik – Nitrogen	$\bar{x}$	10	0,77 <sup>a</sup>	0,76 <sup>a</sup>	0,77 <sup>a</sup>	0,91 <sup>b</sup>	0,93 <sup>c</sup>	0,003**
	s		0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	
Pepeo – Ash	$\bar{x}$	10	16,20 <sup>a</sup>	15,32 <sup>b</sup>	17,05 <sup>c</sup>	17,88 <sup>d</sup>	16,68 <sup>e</sup>	<0,001*
	s		0,04	0,00	0,01	0,00	0,00	

\*ANOVA \*\*Kruskalz-Wallis test

## REZULTATI I RASPRAVA

U Tablici 2. prikazane su vrijednosti istraživanih pokazatelja u fecesu pilića 21. dana tova po skupinama pilića. Iz tablice je vidljivo kako je postojala statistički značajna razlika u vrijednosti pH fecesa ( $p < 0,001$ ); vrijednosti suhe tvari u fecesu ( $p < 0,001$ ); vrijednosti pepela u fecesu ( $p < 0,001$ ) te vrijednosti dušika u fecesu ( $p = 0,003$ ) između analiziranih skupina pilića 21. dana tova.

U Tablici 3. prikazane su vrijednosti istraživanih pokazatelja u fecesu pilića 42. dana tova po skupinama pilića. Iz tablice je vidljivo kako je postojala statistički značajna razlika u vrijednosti pH fecesa ( $p < 0,001$ ); vrijednosti pepela u fecesu ( $p < 0,001$ ) i vrijednosti dušika u fecesu ( $p = 0,001$ ) te kako nije postojala statistički značajna razlika u vrijednosti suhe tvari u fecesu ( $p = 0,898$ ) između analiziranih skupina pilića 42. dana tova.

Analizirajući pH – vrijednosti skupnih uzoraka fecesa pilića 21. i 42. dana tova, utvrđeno je kako su postojale statistički značajne razlike ( $p < 0,001$ ) u

vrijednosti pH pilića K i pokusnih skupina, pri čemu su vrijednosti pH fecesa svih pokusnih skupina bile veće od pH fecesa K skupine pilića. Prosječne vrijednosti pH u skupnim uzorcima fecesa svih skupina pilića kretale su se u rasponu od 5,49 do 5,91 te su bile približno jednake ili niže od vrijednosti utvrđenih u nekim drugim istraživanjima (Laudadio i sur., 2012.; Asadu i Igboka, 2014.). Spomenute rezultate našeg istraživanja, moguće je protumačiti različitim prehrambenim tretmanima jer je poznato kako sastav hrane bitno utječe na pH-vrijednost pilećeg fecesa. U prilog tome govori činjenica da je u istraživanju Laudadio i sur. (2012.) u kojem su pilići hranjeni krmnom smjesom s 18,5% udjelom bjelančevina utvrđena vrijednost pH fecesa 42. dana tova iznosila 5,80, dok su se u našem istraživanju u kojem su pilići hranjeni smjesom s 19,15% udjelom bjelančevina vrijednosti pH fecesa 42. dana tova kretale u rasponu od 5,49 do 5,78. Ono što je još bitno istaknuti jest činjenica da niže vrijednosti pH fecesa (odnosno vrijednosti koje su u kiselom području) predstavljaju bolji medij za probavne aktiv-

**Tablica 3. Vrijednosti istraživanih pokazatelja u skupnim uzorcima fecesa pilića 42. dana tova**

**Table 3 The values of investigated indicators in composite samples of feces of chickens on day 42 of fattening**

Pokazatelji Parameters	Statistički pokazatelji Statistical parameters	N	Skupine pilića – Group of chickens					p – vrijednost p – value
			K	P1	P2	P3	P4	
pH	$\bar{x}$	10	5,49 <sup>a</sup>	5,58 <sup>bc</sup>	5,56 <sup>c</sup>	5,78 <sup>d</sup>	5,66 <sup>e</sup>	<0,001*
	s		0,00	0,02	0,01	0,02	0,02	
Suha tvar – Dry matter	$\bar{x}$	10	19,00	17,85	18,97	18,68	18,10	0,898*
	s		4,54	0,16	0,01	0,08	0,37	
Dušik – Nitrogen	$\bar{x}$	10	0,63 <sup>ae</sup>	1,19 <sup>b</sup>	0,71 <sup>c</sup>	0,75 <sup>d</sup>	0,63 <sup>e</sup>	0,001**
	s		0,00	0,01	0,00	0,01	0,01	
Pepeo – Ash	$\bar{x}$	10	16,94 <sup>a</sup>	17,38 <sup>b</sup>	17,26 <sup>b</sup>	17,35 <sup>b</sup>	17,91 <sup>c</sup>	<0,001*
	s		0,09	0,16	0,02	0,09	0,12	

\*ANOVA \*\*Kruskal-Wallis test z

nosti, omogućujući bolju probavljivost te apsorpciju nutrijenata, osobito u tankom crijevu (Laudadio i sur., 2012.).

Razmatrajući prosječne vrijednosti suhe tvari u fecesu 21. dana tova, utvrđeno je da su se kretale u rasponu od 17,41 do 25,60%, dok su se prosječne vrijednosti suhe tvari u fecesu 42. dana tova kretale u rasponu od 17,85 do 19,00%. Utvrđene razlike u vrijednostima suhe tvari u fecesu između pilića pokusnih i K skupine 21. dana tova bile su statistički značajne ( $p < 0,001$ ), dok 42. dana tova nije utvrđena statistički značajna razlika u vrijednosti ovoga parametra u fecesu između pilića pokusnih i K skupine. Prema tome naši su rezultati u jednom dijelu sukladni rezultatima istraživanja Açıkoğlu i sur. (2005.), koji su utvrdili kako dodatak propolisa hrani nije značajno utjecao na količinu suhe tvari u fecesu niti u prvom razdoblju tova (nakon 3 tjedna tova) niti u drugom razdoblju tova (nakon 6 tjedana tova). Nadalje, rezultati našega istraživanja su sukladni rezultatima istraživanja Seven i sur. (2011.) koji su utvrdili kako je u razdoblju od 51. do 57. dana tova

dodatak propolisa hrani smanjio količinu suhe tvari u fecesu pilića pokusne skupine u odnosu na piliće K skupine jer je u našem istraživanju utvrđeno kako su 42. dana tova vrijednosti suhe tvari u fecesu pilića svih pokusnih skupina bile niže u odnosu na vrijednost suhe tvari u fecesu pilića K skupine.

Naše je istraživanje pokazalo kako su postojale statistički značajne razlike u vrijednostima dušika u fecesu 21. ( $p = 0,003$ ) i 42. ( $p = 0,001$ ) dana tova između analiziranih skupina pilića. Analizirajući detaljnije vrijednosti dušika u fecesu 21. dana tova, utvrđeno je kako su se one kretale u rasponu od 0,76 do 0,93%, dok su se vrijednosti ovoga parametra 42. dana tova, kretale u rasponu od 0,63 do 1,19%. Naši rezultati u suprotnosti su s rezultatima istraživanja Açıkoğlu i sur. (2005.) koji su utvrdili kako dodatak propolisa hrani nije značajno utjecao na količinu sirovih bjelančevina (odnosno izlučenog dušika) u fecesu niti u prvom razdoblju tova (nakon 3 tjedna tova), niti u drugom razdoblju tova (nakon 6 tjedana tova). Nadalje, rezultati našega istraživanja u suprotnosti su s rezultatima istraživanja Sevena i

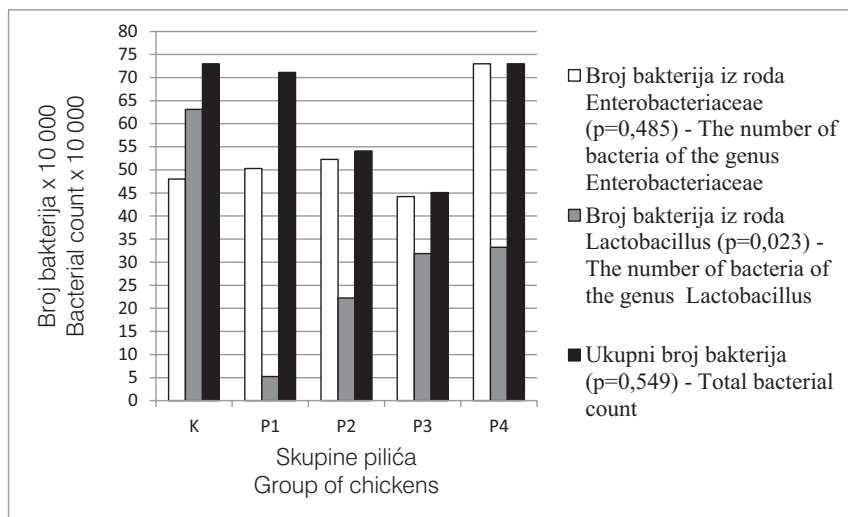
sur. (2011.) koji su utvrdili kako je u razdoblju od 51. do 57. dana tova dodatak propolisa hrani smanjio količinu sirovih bjelančevina (odnosno izlučenog dušika) u fecesu pokusne skupine u odnosu na K skupinu. Naime, u našem je istraživanju utvrđeno kako su 42. dana tova vrijednosti dušika u fecesu pilića svih pokusnih skupina koje su konzumirale hranu s dodatkom propolisa bile više u odnosu na vrijednost dušika u fecesu pilića K skupine, dok su 21. dana tova vrijednosti spomenute varijable bile identične ili više u uzorcima fecesa svih pokusnih u odnosu na K skupinu pilića. Naposljetku, rezultati našeg istraživanja su sukladni rezultatima Daneshmanda i sur. (2012.) koji su utvrdili kako je 33. dana tova u fecesu pokusnih pilića bila veća količina sirovih bjelančevina u odnosu na količinu tog pokazatelja u fecesu pilića K skupine. Razlike u vrijednostima dušika u fecesu između pilića pokusnih i K skupine utvrđenih u našem istraživanju nije moguće jednoznačno objasniti, no ono što je sigurno da je u slučaju pčelinjeg peluda objašnjenje vezano uz njegov kemijski sastav budući da se u literaturi navodi kako je pčelinji pelud bogat izvor bjelančevina kojih sadrži oko 25% (Babinska i sur., 2012.; Haščik i sur., 2012.). Spomenuta količina bjelančevina je vjerojatno bila dovoljna da poveća izlučivanje dušika fecesom zbog čega je i naše istraživanje potvrdilo dobro poznatu činjenicu prema kojoj postoji korelacija između količine konzumiranih bjelančevina u smjesama te izlučivanja dušika fecesom (Tolimir i sur., 2012.).

Naše je istraživanje naposljetku pokazalo kako su postojale statistički značajne razlike ( $p < 0,001$ ) u vrijednostima pepela u fecesu 21. i 42. dana tova između analiziranih skupina pilića. Razmatrajući detaljnije prosječne vrijednosti pepela u fecesu pilića 21. dana tova, vidljivo je kako su se one kretale u rasponu od 15,32 do 17,88%, dok su se prosječne vrijednosti ovoga parametra 42. dana tova kretale u rasponu od 16,94 do 17,91%. Iz opisanih rezultata jasno je kako je dodatak propolisa i/ili pčelinjeg peluda krmnoj smjesi za tov pilića utjecao na vrijednosti pepela u fecesu, što je u suprotnosti s rezultatima istraživanja Açıkoza i sur. (2005.) koji su utvrdili kako dodatak propolisa hrani nije značajno utjecao na količinu organske tvari u fecesu kako u prvom, tako niti u drugom razdoblju tova, zbog čega nije utjecao niti na količinu pepela u fecesu. Nadalje, rezultati našega istraživanja sukladni su s rezultatima istraživanja Sevena i sur. (2011.) koji su

utvrdili kako je u razdoblju od 51. do 57. dana tova dodatak propolisa hrani smanjio količinu pepela u fecesu pokusne skupine u odnosu na K skupinu, što je jasno pokazano i u našem istraživanju 42. dana tova. Naposljetku, rezultati našeg istraživanja su u suprotnosti s rezultatima Daneshmanda i sur. (2012.) koji su utvrdili kako je 33. dana tova u fecesu pokusnih pilića bila veća količina organske tvari te zbog toga manja količina pepela u odnosu na količinu tih pokazatelja u fecesu pilića K skupine, dok je u našem istraživanju 42. dana tova pokazano kako su sve pokusne skupine pilića imale više vrijednosti pepela u fecesu u odnosu na K skupinu pilića.

U Grafikonu 1. prikazane su srednje vrijednosti broja bakterija iz roda *Enterobacteriaceae*, broj bakterija iz roda *Lactobacillus* te ukupni broj bakterija u sadržaju crijeva (ileum) pilića svih skupina 42. dana tova. Iz grafikona je vidljivo kako je postojala statistički značajna razlika u broju bakterija iz roda *Lactobacillus* u sadržaju crijeva ( $p=0,023$ ), pri čemu je postojala statistički značajna razlika u broju bakterija iz roda *Lactobacillus* u sadržaju crijeva između K i P1 skupine ( $p=0,004$ ); K i P2 skupine ( $p=0,018$ ) te P1 i P3 skupine ( $p=0,035$ ) pilića 42. dana tova (Mann-Whitney U test). Nadalje, nije postojala statistički značajna razlika u ukupnom broju bakterija u sadržaju crijeva ( $p=0,549$ ) te broju bakterija iz roda *Enterobacteriaceae* u sadržaju crijeva ( $p=0,485$ ) između analiziranih skupina pilića 42. dana tova.

Analizirajući rezultate mikrobioloških analiza sadržaja crijeva (ileuma) pilića 42. dana tova, vidljivo je kako nisu postojale statistički značajne razlike u ukupnom broju bakterija i broju bakterija iz roda *Enterobacteriaceae*, dok su postojale statistički značajne razlike u broju bakterija iz roda *Lactobacillus* u sadržaju crijeva (ileuma) kontrolne i pokusnih skupina pilića. Slijedom potonjeg, u K skupini pilića utvrđen je najveći broj bakterija iz roda *Lactobacillus* u sadržaju crijeva (ileuma), dok su pokusne skupine imale statistički značajno manji broj ovih bakterija. Rezultati su nadalje pokazali kako je s povećanjem količine dodanog propolisa krmnoj smjesi za tov pilića opadao broj bakterija iz roda *Enterobacteriaceae* te je najmanji broj ovih bakterija utvrđen u P3 skupini pilića koji su konzumirali smjesu s najviše dodanog propolisa. Isto tako, s povećanjem količine dodanog propolisa krmnoj smjesi za tov pilića opadao je i ukupni broj bakterija u sadržaju crijeva (ileuma) pilića te je u P3 skupini pilića utvrđen



Grafikon 1. Srednje vrijednosti broja bakterija iz roda *Enterobacteriaceae* i *Lactobacillus* te ukupnog broja bakterija u sadržaju crijeva (ileuma) pilića 42. dana tova

Graph 1 Mean values of the number of bacteria of the genus *Lactobacillus* and *Enterobacteriaceae* and total bacterial count in the intestine (ileum) of chickens on day 42 of fattening

i najmanji ukupni broj bakterija. Rezultati našega istraživanja sukladni su rezultatima istraživanja Rahmani i sur. (2005.), koji su pokazali kako je s povećanjem količine dodanog propolisa krmnoj smjesi za tov pilića opadao broj *E. coli* (kao predstavnika roda *Enterobacteriaceae*), ali i broj bakterija iz roda *Lactobacillus*, dok je ukupni broj bakterija također bio manji u pokusnim skupinama pilića u odnosu na kontrolnu, s tim da smanjivanje ukupnog broja bakterija u sadržaju ileuma pokusnih skupina pilića nije slijedilo povećanje količine dodanog propolisa. Rezultati našega istraživanja također su u nekim dijelovima sukladni rezultatima istraživanja Kačániová i sur. (2012.) koji su pokazali kako je s porastom količine dodanog propolisa krmnoj smjesi opadao broj bakterija iz roda *Enterobacteriaceae* (što je dokazano i u našem istraživanju) te je rastao broj bakterija iz roda *Lactobacillus* (dok je u našem istraživanju pokazano kako su pokusne skupine imale manji broj ovih bakterija u odnosu na kontrolnu skupinu koja ih je imala najviše). Naše je istraživanje nadalje pokazalo kako je P4 skupina pilića koja je konzumirala smjesu s dodatkom 20 g/kg pčelinje peludi imala najveći broj bakterija iz roda *Enterobacteriaceae*, što su u svom istraživanju pokazali i Kročko i sur. (2012.). Ovi su autori utvrdili kako su pilići koji

su dobivali 15 g/kg pčelinjeg peluda u smjesi imali veći broj ovih bakterija u odnosu na K skupinu, dok su brojleri pokusnih skupina koje su dobivale visoke doze pčelinjeg peluda u smjesama (45 g/kg) imali statistički značajno najniži broj izolata bakterija iz roda *Enterobacteriaceae*. Slijedom ovoga može se zaključiti kako količina pčelinjeg peluda primijenjena u našem istraživanju nije mogla postići pozitivni učinak na bakterije iz roda *Enterobacteriaceae* te kako se isti može očekivati tek kod visokih doza pčelinjeg peluda (45 g/kg) smjese i/ili većim. Mikroflora crijeva ima značajan učinak na hranidbu pilića, njegovo zdravlje te osobine rasta. Ona ulazi u interakciju s iskorištenjem hrane te razvojem crijeva kod pilića (Falaki i sur., 2011.; Adil i Magray, 2012.; Kročko i sur., 2012.). Ova interakcija je vrlo složena te ovisno o sastavu crijevne mikroflora može imati ili pozitivan ili negativan učinak na zdravlje i rast pilića. Kada se patogeni nasele u mukozi crijeva, integritet i funkcija crijeva ozbiljno su narušeni, a ujedno je narušena i imunološka obrana domaćina (Neish, 2002.; Falaki i sur., 2011.; Adil i Magray, 2012.; Kročko i sur., 2012.). Crijevna mikroflora je tzv. hranidbeni „teret“ u brzorastućih tovnih pilića. Aktivne komponente crijevne mikroflora, zbog svoga opstanka u crijevu, imaju povećane potrebe za ener-

gijom, čime se ujedno smanjuje učinkovitost iskorištenja hrane (Lan i sur., 2005.; Kročko i sur., 2012.). Istraživanja su pokazala kako se kolonizacijski obrazac gastrointestinalnog sustava pilića različitim mikroorganizmima može mijenjati putem različitih hranidbenih tretmana (Adil i Magray, 2012.; Kročko i sur., 2012.), što je pokazano i u ovom istraživanju. S tim u vezi, naglasak je na sprječavanju proliferacije patogenih bakterija u crijevu pilića uz modifikaciju učinka pojedinih korisnih bakterija (laktobacili), čime bi se unaprijedilo zdravlje i osobine rasta te ojačao imunostni sustav pilića (Adil i sur. 2011.; Kročko i sur., 2012.). Iz rezultata našega istraživanja može se zaključiti kako je dodatak propolisa i pčelinje peludi krmnoj smjesi utjecao na pojavu, kako korisnih, tako i patogenih mikroorganizama u probavnom sustavu brojlera, što su u svom istraživanju pokazali i Kročko i sur. (2012.). U smislu antimikrobnog djelovanja ovih spojeva, ponovo se ističe uloga različitih flavonoida, fenolne kiseline i njezinih derivata kao biološki aktivnih komponenti ovih pčelinjih proizvoda (Erkmen i Özcan, 2008.; Kročko i sur., 2012.).

#### ZAKLJUČAK

Analizom rezultata provedenog istraživanja učinaka propolisa i pčelinjeg peluda kao dodataka hrani tovnih pilića, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

1. Propolis i pčelinji pelud (zasebno ili u kombinaciji) značajno utječu na vrijednosti odabranih pokazatelja u fecesu pilića. Dodatak propolisa i/ili pčelinjeg peluda krmnoj smjesi za tov pilića zbog svog su kemijskog sastava te svojih antimikrobnih i antioksidativnih svojstava modificirali sastav fecesa pilića pokusnih skupina. Feces pilića pokusnih skupina imao je statistički značajno više vrijednosti pH i pepela ( $p < 0,001$ ) kao i višu vrijednost dušika ( $p = 0,003$ ) u odnosu na feces pilića kontrolne skupine 21. dana tova. Spomenuti utjecaj propolisa i/ili pčelinjeg peluda na sastav fecesa potvrđen je i 42. dana te je feces pilića pokusnih skupina ponovno imao statistički značajno više vrijednosti pH i pepela ( $p < 0,001$ ) kao i višu vrijednost dušika ( $p = 0,001$ ) u odnosu na feces pilića kontrolne skupine.

2. Propolis i pčelinji pelud (zasebno ili u kombinaciji) imaju značajan utjecaj na veličinu i sastav mikrobiološke flore sadržaja crijeva pilića. Dodatak propolisa i/ili pčelinjeg peluda krmnoj smjesi za tov pilića značajno pozitivno utječe na pojavu korisnih i

patogenih mikroorganizama u sadržaju crijeva brojlera. S povećanjem količine dodanog propolisa krmnoj smjesi za tov pilića opadao je broj bakterija iz roda *Enterobacteriaceae*, ali i ukupni broj bakterija u sadržaju crijeva (ileuma) pilića, te je najmanji broj bakterija iz roda *Enterobacteriaceae* kao i najmanji ukupni broj bakterija utvrđen u P3 skupini pilića.

#### LITERATURA

1. Açikgöz, Z., Yücel, B., Altan, Ö. (2005.): The effects of propolis supplementation on broiler performance and feed digestibility. Archiv für Geflügelkunde 69: 117 – 122.
2. Adil, S., Banday, M. T., Bhat, G., A., Mir, M., S. (2011.): Alternative strategies to antibiotic growth promoters – a review. Online Veterinary Journal – VetScan, 6: 76.
3. Adil, S., Magray, S.N. (2012.): Impact and manipulation of gut microflora in poultry: a review. Journal of Animal and Veterinary Advances, 11: 873 – 877.12.
4. Asadu, C.L.A., Igboka, C.R. (2014.): Effects of animal faeces and their extracts on maize yield in an ultisol of eastern Nigeria. Journal of Agriculture and Sustainability, 5: 1–13.
5. Babinska, I., Kleczek, K., Szarek, J., Makowski, W. (2012.): Modulating effect of propolis and bee pollen on chicken breeding parameters and pathomorphology of liver and kidneys in the course of natural infection with *Salmonella enteritidis*. The Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy, 56: 3 – 8.
6. Çetin, E., Silici, S., Çetin, N., Güçlü, B. K. (2010.): Effects of diets containing different concentrations of propolis on hematological and immunological variables in laying hens. Poultry Science 89: 1703–1708.
7. Daneshmand, A., Sadeghi, G.H., Karimi, A. (2012.): The effects of a combination of garlic, oyster mushroom and propolis extract in comparison to antibiotic on growth performance, some blood parameters and nutrients digestibility of male broilers. Revista Brasileira de Ciência Avícola, 14: 141 –147.
8. Erkmen, O, Özcan, M.M. (2008.): Antimicrobial effects of Turkish propolis, pollen and laurel on spoilage and pathogenic food related microorganisms. Journal of Medicinal Food, 11: 587–592.
9. Eyng, C., Murakami, A.E., Pedroso, R.B., Silveira, T.G.V., Lourenço, D.A.L., Garcia, A.F.Q.M. (2013.): Crude propolis as an immunostimulating agent in broiler feed during the starter phase. Semina: Ciências Agrárias, Londrina, 34: 2511–2522.



10. Falaki, M., Shams Shargh, M., Dastar, B., Zerehdaran, S., Khomairi, M. (2011.): The investigation of intestinal microflora and growth response of young broilers given feed supplemented with different levels of probiotic and prebiotic. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10: 385–390.
11. Haščik, P., Elimam, I., Garlík, J., Kačaniová, M., Čuboň, J., Bobko, M., Abdulla, H. (2012.): Impact of bee pollen as feed supplements on the body weight of broiler Ross 308. *African Journal of Biotechnology*, 11: 15596–15599.
12. HRN EN ISO 4833 (2008.): Horizontalna metoda brojenja mikroorganizama –tehnika brojenja kolonija na 30 °C.
13. HRN ISO 21528-2 (2008.): Horizontalna metoda za dokazivanje prisutnosti i brojenje Enterobacteriaceae – Metoda određivanja broja kolonija.
14. Janječić, Z. (2006.): Izazovi u hranidbi brojlera u 21. stoljeću. *Meso*, 8: 10 – 11.
15. Kačaniová, M., Rovna, K., Arpášova, H., Čuboň, J., Hleba, L., Pochop, J., Kunová, S., Hašèik, P. (2012.): In vitro and in vivo antimicrobial activity of propolis on the microbiota from gastrointestinal tract of chickens. *Journal of Environmental Science and Health, Part A: Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 47: 1665–1671.
16. Kačaniová, M., Haščik, P., Arpášová, H., Pavelková, A., Petrová, J., Hleba, L., Pochop, J., Rovná, K. (2013.): Enterococcus genus identification isolated from gastrointestinal tract of chickens after bees products application using MALDI TOF MS biotyper. *Animal Science and Biotechnologies*, 46: 114– 118.
17. Kleczek, K., Majewska, K., Makowski, W., Michalik, D. (2012.): The effect of diet supplementation with propolis and bee pollen on the physicochemical properties and strength of tibial bones in broiler chickens. *Archiv für Tierzucht*, 55: 97–103.
18. Kralik, G., Has-Schön, E., Kralik, D., Šperanda, M. (2008.): Peradarstvo. Biološki i zootehnički principi. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek.
19. Kralik, G., Škrtić, Z., Kralik, Z., Đurkin, I., Grčević, M. (2011.): Kvaliteta trupova i mesa Cobb 500 i Hubbard classic brojlerskih piliča. *Krmiva*, 53: 179–186.
20. Kročko, M., Čanigová, M., Bezeková, J., Lavová, M., Hašèik, P., Ducková, V. (2012.): Effect of nutrition with propolis and bee pollen supplements on bacteria colonization pattern in gastrointestinal tract of broiler chickens. *Animal Science and Biotechnologies*, 45: 63–67.
21. Kročko, M., Lavová, M., Bezeková, J., Čanigová, M., Gábor, M., Ducková, V., Trakovická, A. (2012.): Antibiotic resistance of Enterococcus faecalis isolated from gastrointestinal tract of broiler chickens after propolis and bee pollen addition. *Animal Science and Biotechnologies*, 45: 58–62.
22. Lan, Y., Verstegen, M. W. A., Tamminga, S., Williams, B. A. (2005.): The role of the commensal gut microbial community in broiler chickens. *World's Poultry Science Journal*, 61: 95–104.
23. Laudadio, V., Dambrosio, A., Normannob, G., Khanc, R.U., Nazd, S., Rowghanie, E., Tufarellia, V. (2012.): Effect of reducing dietary protein level on performance responses and some microbiological aspects of broiler chickens under summer environmental conditions. *Avian Biology Research*, 5: 88–92.
24. Neish, A.S. (2002.): The gut microflora and intestinal epithelial cells: a continuing dialogue. *Microbes and Infection*, 4: 309–317.
25. Perić, L., Žikić, D., Lukić, M. (2009.): Application of alternative growth promoters in broiler production. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 25: 387–397.
26. Petrie, A., Sabin, C. (2000.): *Medical Statistics at a Glance*. Blackwell Science Ltd, London.
27. Rahmani, H.R., Tabatabaei, A., Edriss, M.A. (2005.): Microbial population of broiler's ileum is affected by oil extracted propolis (OEP). *Proceedings of the 15th European Symposium on poultry nutrition, Bala-tonfüred, Hungary*, 341–343.
28. Scheuermann, G. N., Junior, A. C., Cypriano, L., Gabbi, A. M. (2009.): Phytogetic additive as an alternative to growth promoters in broiler chicks. *Ciência Rural*, 39: 522–527.
29. Seven, I., Seven, P. T., Silici, S. (2011.): Effects of dietary Turkish propolis as alternative to antibiotic on growth and laying performances, nutrient digestibility and egg quality in laying hens under heat stress. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 162: 186–191.
30. StatSoft, Inc. (2010.): *Statistica for Windows 2010 (inačica 10.0)*. StatSoft Inc., Tulsa, OK, SAD.
31. Taheri, H. R., Rahmani, H. R., Pourreza, J. (2005.): Humoral immunity of broilers is affected by oil extracted propolis (OEP) in the diet. *International Journal of Poultry Science*, 4: 414–417.
32. Talas, Z.S., Gulhan, M.F. (2009.): Effects of various propolis concentrations on biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72: 1994–1998.

33. Toghyani, M., Tohidi, M., Gheisari, A. A., Tabeidian, S. A. (2010.): Performance, immunity, serum biochemical and hematological parameters in broiler chicks fed dietary thyme as alternative for an antibiotic growth promoter. *African Journal of Biotechnology*, 9: 6819–6825.
34. Tolimir, N., Perić, L., Milošević, N., Đukić–Stojčić, M., Jovanović, R., Bogdanović, V. (2012.): The effect of phase nutrition during starter period on production performances and nitrogen content in feces of broilers of different genotypes. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 28: 415–424.

### SUMMARY

Numerous studies worldwide have pointed to the possible application of propolis and bee pollen, each added separately or in their combination as additives in broiler feeding. The aim of this study was to determine the effect of propolis and bee pollen as additives in broiler feeding on values of selected indicators (dry matter, nitrogen, ashes and pH) in the feces of chickens and the total number of bacteria, the number of bacteria of the genus *Enterobacteriaceae* and the number of bacteria of the genus *Lactobacillus* in the intestinal contents of chickens. The study was conducted on 200 chickens of Ross 308 provenance of evenly distributed gender, which were divided into five groups (control and four experimental groups of chickens). The control chickens throughout the study were fed feed mixture, while the mixture that was fed to experimental chickens contained propolis and / or bee pollen, each added separately or in their combination in a given ratio. Twice during the study period (21 and 42 day) group fecal samples were collected in which the values of the above mentioned indicators were established. On 42<sup>nd</sup> day of the experiment after slaughter of selected test animals samples of chicken gut (ileum) contents were taken and numerical values of above mentioned microbiological pathogens were determined. The study showed that there was a statistically significant difference in the pH of the feces ( $p < 0.001$ ), the value of dry matter in the feces ( $p < 0.001$ ), the value of the ashes in the feces ( $p < 0.001$ ) and the value of nitrogen in the feces ( $p = 0.003$ ) between analyzed groups of chickens on day 21 of fattening. Furthermore a statistically significant difference was established in fecal pH ( $p < 0.001$ ), the value of the ashes in the feces ( $p < 0.001$ ) and the value of nitrogen in the feces ( $p = 0.001$ ) between the analyzed groups of chickens on day 42 of fattening. The study showed that there was no statistically significant difference in the total number of bacteria ( $p = 0.549$ ) and the number of bacteria of the genus *Enterobacteriaceae* ( $p = 0.485$ ) in the gut contents while there was a statistically significant difference in the number of bacteria of the genus *Lactobacillus* in the gut contents ( $p = 0.023$ ) between the analyzed groups of chickens on day 42 of fattening. It was concluded that addition of propolis and bee pollen in feed mixtures for broilers significantly modifies the values of selected indicators in the feces of chickens and has a significant positive impact on the size and composition of the microbial flora of the chickens gut content.

Key words: propolis, bee pollen, broilers, feces, microbial flora