

Z. Steiner, S. Benak, I. Babić, K. Horvat, B. Feix, J. Novoselec, Željka Klir Šalavardić, M. Ronta

Izvorni znanstveni članak – Original scientific paper
Primljeno - Received: 20. rujan – September 2022

SAŽETAK

Fitobiotici pomažu prilagođavanju različitim okolišnim uvjetima, zaštiti od parazita te imaju antiviralno, antimikrobno, antioksidativno i protuupalno djelovanje. Dodatak fitobiotika hrani za životinje može poboljšati konzumaciju te iskorištavanje hranjivih tvari što može rezultirati boljim proizvodnim pokazateljima. Provedeno je istraživanje s ciljem utvrđivanja utjecaja mješavine fitobiotika na zdravstvene i proizvodne pokazatelje u sisajuće teladi. U istraživanju su bile dvije skupine; kontrolna (K) i pokusna (P), pri čemu je u svakoj skupini bilo 14 životinja ravnomjerno raspoređenih prema spolovima (7♂ : 7♀). Istraživanje je trajalo 10 dana. Obje skupine napajane su mliječnom zamjenicom pomoću automata za napajanje s 4 L/teletu dnevno. Pokusnoj skupini dodana je mješavina fitobiotika u količini od 3 g/teletu dnevno. Telad je izvagana odmah nakon teljenja te deseti dan istraživanja. Uzorkovanje krvi za refraktometriju rađeno je 48 sati nakon davanja kolostruma, a za određivanje hematoloških pokazatelja deseti dan istraživanja. Osim uzorkovanja krvi deseti dan istraživanja sakupljeni su i uzorci fecesa. Od proizvodnih pokazatelja praćeni su tjelesna masa, prosječni dnevni prirast te konverzija hrane, dok su od zdravstvenih pokazatelja praćeni pasivni imunitet, hematološki pokazatelji te pojavnost kriptosporidija u fecesu. Rezultati istraživanja nisu pokazali statistički značajne razlike između praćenih pokazatelja, ali je pokusna skupina imala tendenciju viših vrijednosti ($P = 0,088$) tjelesne mase te leukocita ($P = 0,082$) deseti dan istraživanja. Osim toga, pojavnost kriptosporidija u fecesu bila je manja kod pokusne u odnosu na kontrolnu skupinu (3 : 6). Prema dobivenim rezultatima može se zaključiti kako dodavanje fitobiotika u mliječnu zamjenicu ima potencijalno povoljno djelovanje na promatrane pokazatelje te da je potrebno provesti daljnja istraživanja.

Ključne riječi: fitobiotici, mliječna zamjenica, proizvodni pokazatelji, zdravstveni pokazatelji, telad

UVOD

Kako je telad neposredno nakon teljenja vrlo osjetljiva i podložna razvoju bolesti, očuvanje povoljnog zdravstvenog statusa predstavlja pravi izazov i prioritet prilikom uzgoja. Da bi se umanjila upotreba lijekova kao jedno od rješenja nudi se korištenje različitih biljnih ekstrakata odnosno fitobiotika. Fitobiotici predstavljaju veliku skupinu spojeva male molekularne mase koji pomažu prilagođavanju različitim okolišnim uvjetima, zaštiti od parazita te imaju antiviralno, antimikrobno, antioksidativno i protuupalno djelovanje (Liu i sur., 2014.; Reddy i sur. 2020.). Kad se govori o antibakterijskom djelovanju fitobiotici djeluju protiv širokog spektra bakterija uključujući rodove *Escherichia*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Bacillus*, *Clostridium*, i *Mycobacterium* (Dorman i Deans, 2000.; Wong i sur., 2008.). Osim navedenog fitobiotici mogu poboljšati fermentaciju u buragu, doprinijeti razvoju povoljnije mikroflore kako buraga, tako i intestinalnog sustava te jačanju imunološkog sustava (Cobellis i Trabalza-Marinucci, 2016.; Wanapat i sur., 2012.; Al-Jaf i Del, 2019.). Dodavanje fitobiotika u krmnu smjesu može poboljšati samu kvalitetu smjese poboljšavajući konzumaciju te iskorištavanje hranjivih tvari što može rezultirati boljim proizvodnim pokazateljima (Montoro i sur., 2011.; Akbarian - Tefaghi i sur., 2018.). Fitobiotici mogu dolaziti iz različitih biljaka. Piskavica (*Trigonella foenum-graecum*) odnosno sjemenke piskavice osim što posjeduju snažno antioksidativno djelovanje (Kaur i sur., 2011.; Akbari i sur., 2012.) bogati su izvor saponina koji se u probavnom sustavu pretvaraju u sapogenine (Smith, 2003.; Akbari i sur., 2012.). Saponini su glikozidi koji imaju brojne biološke učinke pa tako utječu na metabolizam masti i glukoze, te otpuštanje hormona rasta, imaju imunostimulativno, antiupalno, antibakterijsko, antifungalno, antiviralno i antiparazitsko svojstvo (Francis i sur., 2002.; Sparg i sur., 2004.; Biggs, 2022.). Osim toga, umanjuju populaciju protozoa u buragu, poboljšavaju mikrobiološku sintezu u buragu i povećavaju udio proteina nerazgradivih u buragu, utječu na endokrini sustav, poboljšavaju iskorištavanje hranjivih tvari i dr. (Degirmencioglu i sur., 2016.; Biggs, 2022.). Većina bioloških učinaka proistječe iz njihovog djelovanja na stanične membrane (Hart i sur., 2008.). Piskavica sadrži različite sapogenine kao što su: sarsapogenin, jukagenin, smilagenin te diosgenin koji ima najjače biološko djelovanje a koji se ovisno o kultivaru u sjemenki

nalazi između 0,24 i 0,75 % (Akbari i sur., 2012.; Raju i Rao, 2012.; Garg, 2016.). Osim saponina, fitobiotici sadržavaju i terpenoide koji također predstavljaju važne, biološki aktivne spojeve. Neki autori (Calsamiglia i sur., 2017.) ističu kako su terpenoidi jedni od ključnih spojeva koji utječu na biološku aktivnost fitobiotika. Terpeni su velika i raznovrsna skupina organskih spojeva koji se prema broju atoma ugljika mogu podijeliti na monoterpen, diterpen, triterpen, tetraterpen, sesquiterpen i politerpen te su sastavni dio esencijalnih ulja (Reddy i sur., 2020.).

Lišće eukaliptusa bogato je terpenima poput 1,8 cineola, alfa pinena, p-cimena, spathulenola i brojnih drugih (Li i Madden, 1995.). Također, lišće eukaliptusa ima antiseptičko, antispazmičko te imunostimulatorno djelovanje kod bronhitisa, astme i manjih respiratornih smetnji a osim toga posjeduje i antibakterijska svojstva (Juergens i sur., 2003.; Trivedi i Hotchandani, 2004.). Propolis zbog svog antimikrobnog, protuupalnog, imunomodulatornog, antiviralnog, antioksidativnog svojstva (Alencar i sur., 2007.) ima veliki potencijal kao dodatak stočnoj hrani. Zeleni propolis sadrži derivate p-kumarinske kiseline i o-hidroksi-acetofenona što ga čini karakterističim u odnosu na ostale vrste propolisa (Kralj, 2009.). Propolis obično sadrži široki raspon biološki aktivnih spojeva poput fenola, flavonoida, terpena, vitamina, lipidno-voštanih spojeva, enzima, aminokiselina, sterola, i steroida (Marcucci, 1995.; Sahinler i Kaftanoglu, 2005.). Cilj ovog istraživanja bio je ispitati utjecaj mješavine fitobiotika koja se sastojala od piskavice, eukaliptusa i zelenog propolisa na zdravstvene i proizvodne pokazatelje u sisajuće teladi.

MATERIJAL I METODE RADA

Istraživanje je provedeno s dvije skupine teladi nakon poroda; kontrolna (K) i pokusna (P). U svakoj skupini bilo je 14 životinja ravnomjerno raspoređenih prema spolu (7♂ : 7♀). Životinje su smještene grupno i raspoređene u dva boksa. Istraživanje je trajalo 10 dana. Obje skupine napajane su mliječnom zamjenicom pomoću automata za napajanje s 4 L/teletu dnevno.

Pokusnoj skupini u mliječnu zamjenicu dodana je komercijalni pripravak fitobiotika u količini od 3 g/teletu dnevno. Mješavina fitobiotika sastojala se od sjemena piskavice, lišća eukaliptusa te zele-

nog propolisa. U svrhu praćenja prosječne tjelesne mase, vaganje teladi izvršeno je odmah nakon teljenja te deseti dan istraživanja. Na temelju vrijednosti prosječne tjelesne mase izračunate su vrijednosti prosječnog dnevnog prirasta. Uzorkovanje krvi za refraktometriju rađeno je 48 sati nakon davanja kolostruma pomoću sonde za drenčiranje. Refraktometrija krvi napravljena je pomoću optičkog ručnog

Tablica 1. Sastav mliječne zamjenice

Table 1 Composition of milk replacer

Kemijski sastav Chemical composition	
Suha tvar (%) / Dry matter (%)	96,20
Sirove bjelančevine (%) / Crude protein (%)	22,00
Sirova mast (%) / Crude fat (%)	20,00
Sirova vlakna (%) / Crude fiber (%)	0,00
Sirovi pepeo (%) / Crude ash (%)	9,00
Laktoza (%) / Lactose (%)	38,40
Lizin (%) / Lysin (%)	2,00
Metionin i cistin (%) / Methionin and Cystin (%)	0,90
Treonin (%) / Threonine (%)	1,20
Triptofan (%) / Tryptophan (%)	0,30
Kalcij (%) / Calcium (%)	0,60
Fosfor (%) / Phosphorus (%)	0,60
Natrij (%) / Natrium (%)	0,80
Kalij (%) / Potassium (%)	2,40
Metabolička energija (MJ/kg) / Metabolic energy (MJ/kg)	18,7

Tablica 2. Proizvodna svojstva

Table 2 Production traits

Proizvodno svojstvo (kg) Production trait (kg)	K	P	P - vrijednost P - value
	$\bar{x} \pm Sd$	$\bar{x} \pm Sd$	
Porođajna tjelesna masa Birth weight	36,79 ± 5,48	38,93 ± 3,52	0,229
Tjelesna masa 10. dan Body weight on the 10 th day	41,12 ± 5,40	44,39 ± 4,29	0,088
Ukupni prirast Total body weight gain	4,34 ± 2,94	5,46 ± 2,23	0,263
Prosječni dnevni prirast Average daily gain	0,43 ± 0,29	0,55 ± 0,22	0,263

K=kontrola - control; P=pokus - experiment; \bar{x} =srednja vrijednost - mean; Sd=standardna devijacija - standard deviation; P=statistička značajnost - statistical significance

refraktometra (RHB-32ATC) i izražena u Brixovoj vrijednosti prema Deelenu i sur., (2014.). Na temelju vrijednosti IgG-a izvršena procjena pasivnog imuniteta. Za određivanje hematoloških pokazatelja uzorkovanje krvi izvršeno je deseti dan istraživanja sakupljeni su i uzorci fecesa kako bi se utvrdila pojavnost kriptosporidija. Za utvrđivanje kriptosporidija prvo je korištena metoda flotacije za utvrđivanje kokcidija, a zatim direktna imunofluorescencija za pripadnika roda *Cryptosporidium* (*Meridian Bioscience™ MeriFluor™ Cryptosporidium/Giardia Test Kit*) uz ranije pročišćavanje i koncentraciju fecesa. U punoj krvi teladi određeni su sljedeći hematološki pokazatelji: ukupan broj leukocita, eritrocita, sadržaj hemoglobina, hematokrit, prosječni volumen eritrocita, prosječna masa hemoglobina u eritrocitima i prosječna koncentracija hemoglobina u eritrocitima. Analiza hematoloških pokazatelja provedena je na 3 diff hematološkom analizatoru poch-100iV (Sysmex, Japan). Životinje su kroz cijeli pokus bile popraćene adekvatnom veterinarskom zaštitom. Kako bi se utvrdilo ima li statistički značajnih razlika između skupina, rezultati istraživanja obrađeni su programom STATISTICA (StatSoft Inc. 2012.) na razini značajnosti $P < 0,05$.

REZULTATI I RASPRAVA

Kako je vidljivo u Tablici 2. porođajna tjelesna masa bila je ujednačena (36,79 : 38,93 kg) te između skupina nisu utvrđene statistički značajne razlike ($P = 0,229$).

Tjelesna masa 10. dana istraživanja nije se također značajno razlikovala iako je bila za 8 % viša kod pokusne skupine u odnosu na kontrolnu skupinu te je utvrđen i trend viših vrijednosti ($P = 0,088$). Vrijednosti ukupnog prirasta također se nisu statistički značajno razlikovale ($P = 0,263$) te su bile ujednačene (4,34 : 5,46 kg). Naposljetku, vrijednosti prosječnog dnevnog prirasta bile su u skladu s ostalim vrijednostima proizvodnih pokazatelja te također nisu utvrđene statistički značajne ($P = 0,263$) razlike (0,43 : 0,45 kg/danu).

Sukladne rezultate dobili su brojni autori (Soltan i sur., (2009.); Rivaroli i sur., (2017.); Akbarian-Tefagi i sur., (2018.)) koji su u svojim istraživanjima također koristili eukaliptus u obliku ulja u kombinaciji s različitim biljkama. Za razliku od njih El-Bordeny i sur., (2011.) su koristeći eukaliptus utvrdili značajno bolje proizvodne pokazatelje kod toвне junadi tumačeći rezultate poboljšanom fermentacijom u buragu iz koje slijedi poboljšana iskoristivost hrane odnosno povećani anabolizam i smanjeni katabolizam proteina. Također, Seifzadeh i sur., (2017.) su u svom istraživanju utvrdili poboljšane proizvodne pokaza-

telje koji su, kako navode, vjerojatno rezultat veće konzumacije starter smjese i boljeg zdravstvenog statusa teladi kojima je u hranu dodana mješavina biljaka među kojima je i eukaliptus. Koristeći sjeme piskavice u svom istraživanju provedenom na toвної junadi Devant i sur., (2007.), gledajući proizvodne pokazatelje utvrdili su bolji (4 %) prosječni dnevni prirast koji bi mogao biti rezultat povoljnog djelovanja saponina na fermentaciju u buragu. Navedena istraživanja u kojima su utvrđeni pozitivni učinci na proizvodne pokazatelje provedena su na toвної junadi ili starijoj teladi kojima je burag bio funkcionalniji odnosno razvijeniji što bi moglo biti objašnjenje izostanka značajnih razlika u provedenom istraživanju. Dodatak 10 % ekstrakta propolisa u mliječnu zamjenu istraživali su Kupczyński i sur., (2012.) te utvrdili veće vrijednosti tjelesne mase u skupini kojoj je dodano 4 ml po danu. Autori su naveli kako su veće vrijednosti prosječne tjelesne mase vjerojatno rezultat veće količine dodanog propolisa u odnosu na drugu skupinu kojoj je dodano 2 ml po danu, čime je ta skupina imala i više flavonoida u mliječnoj zamjenici što je rezultiralo povoljnijim zdravstvenim statusom te posljedično i većom tjelesnom masom.

Tablica 3. Hematološki pokazatelji teladi

Table 3 Hematological indicators of calves

Pokazatelj Indicator	K	P	P - vrijednost P - value
	$\bar{x} \pm sd$	$\bar{x} \pm sd$	
Leukociti ($\times 10^9/L$) Leukocytes ($\times 10^9/L$)	8,91 \pm 4,33	12,74 \pm 6,60	0,082
Eritrociti ($\times 10^{12}/L$) Erythrocytes ($\times 10^{12}/L$)	8,68 \pm 1,23	8,95 \pm 1,61	0,624
Hemoglobin (g/L) Haemoglobin (g/L)	107,29 \pm 19,85	114,93 \pm 18,37	0,300
Hematokrit (L/L) Hematocrit (L/L)	0,33 \pm 0,05	0,34 \pm 0,06	0,590
Prosječni volumen eritrocita (fL) Average erythrocyte volume (fL)	62,71 \pm 91,34	38,61 \pm 1,91	0,333
Prosječna masa hemoglobina (pg) Mean corpuscular haemoglobin (pg)	12,33 \pm 0,90	12,96 \pm 1,29	0,142
Prosječna koncentracija hemoglobina (g/L) Mean corpuscular haemoglobin concentration (g/L)	321,57 \pm 17,01	313,37 \pm 96,44	0,756
Trombociti ($\times 10^9/L$) Platelets ($\times 10^9/L$)	909,36 \pm 228,20	900,71 \pm 268,60	0,927
Limfociti ($\times 10^9/L$) Lymphocytes ($\times 10^9/L$)	3,00 \pm 0,83	3,70 \pm 1,78	0,194

K=kontrola - control; P=pokus - experiment; \bar{x} =srednja vrijednost - mean; Sd=standardna devijacija - standard deviation; P=statistička značajnost - statistical significance

U Tablici 3. prikazane su vrijednosti hematoloških pokazatelja među kojima nisu utvrđene statistički značajne razlike. Prema Knowlesu i sur., (2000.) navedene vrijednosti nalaze se unutar fizioloških granica. Od svih hematoloških pokazatelja jedino je kod broja leukocita utvrđena tendencija ($P = 0,082$) viših vrijednosti kod pokusne skupine. Prema Talasu i Gulhanu (2009.) te Nassaru i sur., (2012.) propolis može djelovati imunostimulirajuće te utjecati na povećanje broja leukocita zahvaljujući flavonoidima što u predmetnom istraživanju nije utvrđeno.

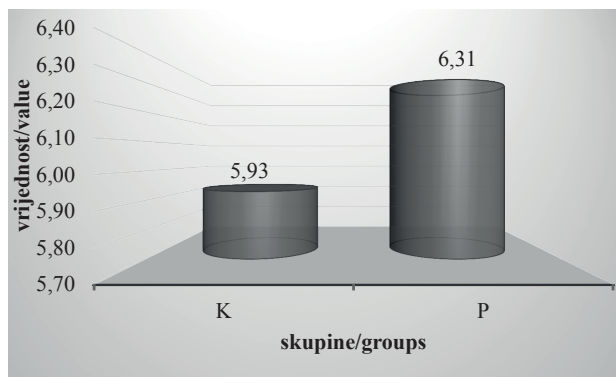
Utvrđene vrijednosti refraktometrije seruma prikazane u Grafikonu 1. nisu se značajno ($P = 0,181$) razlikovale između skupina (5,93 : 6,31). Kako svježje oteljena telad ima nisku koncentraciju imunoglobulina u krvi ona ih nadoknađuje zahvaljujući sposobnosti apsorpcije IgG i drugih imunoglobulina putem kolostruma (Sarker i sur., 2010.). Rezultati refraktometrije u skladu su s istraživanjem koje su proveli Slanzon i sur., (2019.) a koji također nisu utvrdili značajne razlike u pasivnom imunitetu dodavajući ekstrakt crvenog propolisa u količini od 4 mL/d.

Pojavnost kriptosporidija prikazana u Grafikonu 2. bila je 50 % veća kod teladi kontrolne skupine u odnosu na telad pokusne skupine (6 : 3). Kod teladi starosti do mjesec dana kriptosporidije i rotavirusi najčešći su uzročnici dijareje (Trotz-Williams i sur., 2007.; Silverlas i sur., 2010.). Rezultati predmetnog istraživanja u skladu su s rezultatima istraživanja

Soltana i sur., (2009.) koji su u svom istraživanju davali ulje eukaliptusa, kristale mente i ulje metvice, kao i Slanzona i sur., (2019.). Navedeni autori smanjenu pojavu dijareje tumače djelovanjem dodanih fitobiotika na uzročnike dijareje.

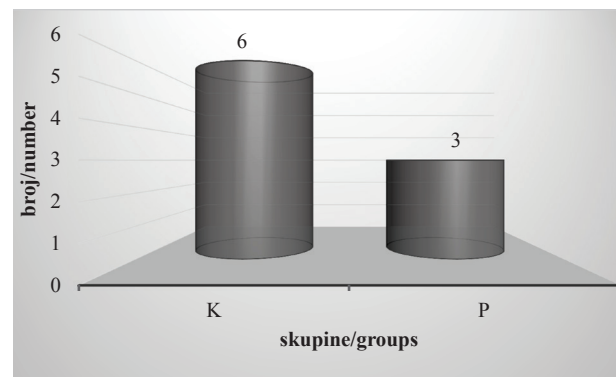
ZAKLJUČAK

Rezultati istraživanja pokazuju su da su proizvodni pokazatelji ujednačeni te nisu utvrđene statistički značajne razlike između skupina, no tjelesna masa 10. dana bila je za 8 % viša kod pokusne skupine u odnosu na kontrolnu skupinu te je utvrđen i trend viših vrijednosti ($P = 0,088$). Od hematoloških pokazatelja jedino kod broja leukocita utvrđena je tendencija ($P = 0,082$) viših vrijednosti kod pokusne skupine dok su ostale vrijednosti bile ujednačene. Rezultati refraktometrije, odnosno vrijednosti IgG-a također su bile ujednačene (5,93 : 6,31) te nisu utvrđene razlike u pasivnom imunitetu. Pojava kriptosporidija u fecesu bila je za 50 % niža kod pokusne skupine u odnosu na kontrolnu što može upućivati na antibakterijsko djelovanje dodanih fitobiotika. Rezultati istraživanja upućuju na zaključak da dodani fitobiotici odnosno sjeme piskavice bogato saponinima, lišće eukaliptusa bogato terpenima te zeleni propolis bogat flavonoidima imaju povoljan učinak na zdravstveni status teladi. Za dobivanje više podataka o učinku dodavanja odabranih fitobiotika potrebno je provesti daljnja istraživanja.



Grafikon 1. Rezultati refraktometrije seruma izraženi u Brixovoj vrijednosti (K = kontrola; P = pokusna)

Figure 1 Serum refractometry results expressed in Brix value (K = control; P = experiment)



Grafikon 2. Rezultati analize pojavnosti kriptosporidija u fecesu (K = kontrola; P = pokusna)

Figure 2 Results of analysis of occurrence of *Cryptosporidium* in feces (K = control; P = experiment)

LITERATURA

1. Akbari, M., Rasouli, H., Bahdor, T. (2012.): Physiological and pharmaceutical effect of fenugreek: a review. *IOSR Journal of Pharmacy (IOSRPHR)*, 2(4): 49-53.
2. Akbarian-Tefaghi, M., Ghasemi, E., Khorvash, M. (2018.): Performance, rumen fermentation and blood metabolites of dairy calves fed starter mixtures supplemented with herbal plants, essential oils or monensin. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 102(3): 630-638.
3. Al-Jaf, K. A. H., Del, Y. K. (2019.): Effect of different feed additives on growth performance and production in livestock. *Int. J. Agric. For*, 9: 16-31.
4. Alencar, S.M.D., Oldoni, T.L.C., Castro, M.L., Cabral, I.S.R., Costa-Neto, C.M., Cury, J.A., Rosalen, P.L., Ikegaki, M., (2007.): Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis. *Journal of ethnopharmacology*, 113 (2): 278-283.
5. Biggs, S. (2022.): The effect of fenugreek seed cotyledon extract on milk yield and composition in Holstein cows.
6. Casamiglia, S., Busquet, M., Cardoza, P., Castillejos, L., Ferrett, A. (2017.): Essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation: A review. *J. Dairy Sci*, 90: 2580-2595.
7. Cobellis, G., Trabalza-Marinucci, M., Yu, Z. (2016.): Critical evaluation of essential oils as rumen modifiers in ruminant nutrition: A review. *Science of the Total Environment*, 545: 556-568.
8. Degirmencioglu, T., Unal, H., Ozbilgin, S., Kuraloglu, H. (2016.): Effect of ground fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum*) on feed consumption and milk performance in Anatolian water buffaloes. *Archives Animal Breeding*, 59 (3): 345-349.
9. Deelen, S. M., Ollivett, T. L., Haines, D. M., Leslie, K. E. (2014.): Evaluation of a Brix refractometer to estimate serum immunoglobulin G concentration in neonatal dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 97(6): 3838-3844.
10. Devant, M., Anglada, A., Bach, A. (2007.): Effects of plant extract supplementation on rumen fermentation and metabolism in young Holstein bulls consuming high levels of concentrate. *Animal Feed Science and Technology*, 137(1-2): 46-57.
11. Dorman, H. D., Deans, S. G. (2000.): Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, 88(2): 308-316.
12. El-Bordeny, N. E. (2011.): Performance of calves fed ration containing Eucalyptus globules leaves. *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, 13(1): 13-22.
13. Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H. P., Becker, K. (2002.): The biological action of saponins in animal systems: a review. *British journal of Nutrition*, 88(6), 587-605.
14. Garg, R. C. (2016.): Fenugreek: multiple health benefits. In *Nutraceuticals* (pp. 599-617). Academic Press.
15. Hart, K. J., Yanez-Ruiz, D. R., Duval, S. M., McEwan, N. R., Newbold, C. J. (2008.): Plant extracts to manipulate rumen fermentation. *Animal feed science and technology*, 147(1-3): 8-35.
16. Juergens, U. R., Dethlefsen, U., Steinkamp, G., Gillissen, A., Repges, R., Vetter, H. (2003.): Anti-inflammatory activity of 1,8-cineol (eucalyptol) in bronchial asthma: a double-blind placebo-controlled trial. *Respiratory medicine*, 97(3): 250-256.
17. Kaur, J., Singh, H., Khan, M. U. (2011.): Multifarious therapeutic potential of fenugreek: a comprehensive review. *Int J Res Pharm Biomed Sci*, 2(3): 863-71.
18. Knowles, T. G., Edwards, J. E., Bazeley, K. J., Brown, S. N., Butterworth, A., Warriss, P. D. (2000.): Changes in the blood biochemical and haematological profile of neonatal calves with age. *Veterinary Record*, 147(21): 593-598.
19. Kralj, M. (2009.): *Sastavnice propolisa i njegova imunoadjuvatna svojstva* (Doctoral dissertation, University of Zagreb. Faculty of Science, Department of Biology).
20. Kupczyński, R., Adamski, M., Falta, D., Roman, A. (2012.): The efficiency of propolis in post-colostral dairy calves. *Archives Animal Breeding*, 55(4), 315-324.
21. Li, H., Madden, J. L. (1995.): Analysis of leaf oils from a Eucalyptus species trial. *Biochemical systematics and ecology*, 23(2): 167-177.
22. Liu, Y., Song, M., Che, T. M., Lee, J. J., Bravo, D., Maddox, C. W., Pettigrew, J. E. (2014.): Dietary plant extracts modulate gene expression profiles in ileal mucosa of weaned pigs after an *Escherichia coli* infection. *Journal of Animal Science*, 92 (5): 2050-2062.
23. Marcucci, M. C. (1995.): Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26(2): 83-99.
24. Montoro, C., Ipharraguerre, I., Bach, A. (2011.): Effect of flavoring a starter in a same manner as a milk replacer on intake and performance of calves. *Animal feed science and technology*, 164(1-2): 130-134.

25. Nassar, S. A., Mohamed, A. H., Soufy, H., Nasr, S. M., Mahran, K. M. (2012.): Immunostimulant effect of Egyptian propolis in rabbits. *The Scientific World Journal*, 901516-901516.
26. Raju, J., Rao, C. V. (2012.): Diosgenin, a steroid saponin constituent of yams and fenugreek: emerging evidence for applications in medicine. *Bioactive compounds in phytomedicine*, 125, 143.
27. Reddy, P. R. K., Elghandour, M. M. M. Y., Salem, A. Z. M., Yasaswini, D., Reddy, P. P. R., Reddy, A. N., Hyder, I. (2020.): Plant secondary metabolites as feed additives in calves for antimicrobial stewardship. *Animal Feed Science and Technology*, 264, 114469.
28. Rivaroli, D. C., Ornaghi, M. G., Mottin, C., Prado, R. M., Ramos, T. R., Guerrero, A., Jorge, A. M., Prado, I. N., (2017.): Essential oils in the diet of crossbred ($\frac{1}{2}$ Angus vs. $\frac{1}{2}$ Nellore) bulls finished in feedlot on animal performance, feed efficiency and carcass characteristics. *Journal of Agricultural Science*, 9(10): 205-212.
29. Sarker, M. S. K., Ko, S. Y., Lee, S. M., Kim, G. M., Choi, J. K., Yang, C. J. (2010.): Effect of different feed additives on growth performance and blood profiles of Korean Hanwoo calves. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23(1): 52-60.
30. Sahinler, N., Kaftanoglu, O. (2005.): Natural product propolis: chemical composition. *Natural Product Research*, 19(2): 183-188.
31. Seifzadeh, S., Mirzaei Aghjehgheshlagh, F., Abdibemmar, H., Seifdavati, J., Navidshad, B. (2017.): The effects of a medical plant mix and probiotic on performance and health status of suckling Holstein calves. *Italian Journal of Animal Science*, 16(1): 44-51.
32. Silverlås, C., De Verdier, K., Emanuelson, U., Mattsson, J. G., Björkman, C. (2010.): Cryptosporidium infection in herds with and without calf diarrhoeal problems. *Parasitology research*, 107(6): 1435-1444.
33. Slanzon, G. S., Toledo, A. F. D., Silva, A. P. D., Coelho, M. G., Da Silva, M. D., Cezar, A. M., Bittar, C. M. M. (2019.): Red propolis as an additive for preweaned dairy calves: Effect on growth performance, health, and selected blood parameters. *Journal of dairy science*, 102(10): 8952-8962.
34. Smith, M. (2003.): Therapeutic applications of fenugreek. *Alternative Medicine Review*, 8(1): 20-27.
35. Soltan, M. A. (2009.): Effect of essential oils supplementation on growth performance, nutrient digestibility, health condition of Holstein male calves during pre-and post-weaning periods. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8(5): 642-652.
36. Sparg, S., Light, M. E., Van Staden, J. (2004.): Biological activities and distribution of plant saponins. *Journal of ethnopharmacology*, 94(2-3): 219-243.
37. 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(7): 1994-1998.
38. Trotz-Williams, L. A., Martin, S. W., Leslie, K. E., Duffield, T., Nydam, D. V., Peregrine, A. S. (2007.): Calf-level risk factors for neonatal diarrhea and shedding of *Cryptosporidium parvum* in Ontario dairy calves. *Preventive veterinary medicine*, 82(1-2): 12-28.
39. Trivedi, N. A., Hotchandani, S. C. (2004.): A study of the antimicrobial activity of oil of Eucalyptus. *Indian Journal of pharmacology*, 36(2): 93.
40. Wanapat, M., Kongmun, P., Pongchompu, O., Cherdthong, A., Khejornsart, P., Pilajun, R., Kaenpakdee, S. (2012.): Effects of plants containing secondary compounds and plant oils on rumen fermentation and ecology. *Tropical Animal Health and Production*, 44(3): 399-405.
41. Wong, S. Y., Grant, I. R., Friedman, M., Elliott, C. T., Situ, C. (2008.): Antibacterial activities of naturally occurring compounds against *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. *Applied and environmental microbiology*, 74(19): 5986-5990.

SUMMARY

A study was conducted to determine the effect of a mixture of phytobiotics on health and production traits in suckling calves. The study included two groups; control (K) and experimental (P), with 14 animals in each group evenly distributed by sex (7♂ : 7♀). The study lasted 10 days. Both groups were fed with a milk replacer using a 4 L / calf feeder per day. A mixture of phytobiotics in the amount of 3 g / calf per day was added to the experimental group. The calves were weighed immediately after calving and on the tenth day of the study. Blood sampling for refractometry was performed 48 hours after calving, and for the determination of hematological parameters on the tenth day of the study. In addition to blood sampling on the tenth day of the study, fecal samples were collected. Body weight, average daily gain and feed conversion were monitored by production traits, while passive immunity, hematological indicators and the occurrence of cryptosporidium in faeces were monitored by health indicators. The results of the study did not show statistically significant differences between the observed indicators, but the experimental group had a tendency to higher values ($P = 0.088$) of body weight and leukocytes ($P = 0.082$) on the tenth day of the study. In addition, the incidence of cryptosporidium in faeces was lower in the experimental group compared to the control group (3: 6). Based on the obtained results, it can be concluded that the addition of phytobiotics to milk replacer has a potentially beneficial effect on the observed indicators and that further research is needed.

Key words: phytobiotics, milk replacer, production traits, health indicators, calves