Utjecaj prisutnosti mikotoksina u krmnim smjesama na proizvodne rezultate kokoši nesilica

Di Nuzzo, Filip

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:204:132993

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

UTJECAJ PRISUTNOSTI MIKOTOKSINA U KRMNIM SMJESAMA NA PROIZVODNE REZULTATE KOKOŠI NESILICA

DIPLOMSKI RAD

Filip Di Nuzzo

Zagreb, rujan, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij:

Ekološka poljoprivreda i agroturizam

UTJECAJ PRISUTNOSTI MIKOTOKSINA U KRMNIM SMJESAMA NA PROIZVODNE REZULTATE KOKOŠI NESILICA

DIPLOMSKI RAD

Filip Di Nuzzo

Mentor: doc. dr. sc. Dalibor Bedeković

Zagreb, rujan, 2018.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA

O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Filip Di Nuzzo**, JMBAG 0178092233, rođen 03.10.1993. u Zagrebu, izjavljujem da sam samostalno izradio diplomski rad pod naslovom:

UTJECAJ PRISUTNOSTI MIKOTOKSINA U KRMNIM SMJESAMA NA PROIZVODNE REZULTATE KOKOŠI NESILICA

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica/jedini autor ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata/upoznat s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____ _____

Potpis studenta / studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta **Filip Di Nuzzo**, JMBAG 0178092233, naslova

UTJECAJ PRISUTNOSTI MIKOTOKSINA U KRMNIM SMJESAMA NA PROIZVODNE REZULTATE KOKOŠI NESILICA

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____ , dana _____ .

Povjerenstvo:			potpisi:
1.	doc. dr. sc. Dalibor Bedeković	mentor	_____
2.	prof. dr. sc. Zlatko Janječić	član	_____
3.	doc. dr. sc. Nenad Jalšenjak	član	_____

Zahvala

Prije svega, iskreno zahvaljujem svom mentoru doc. dr. sc. Daliboru Bedekoviću na nesebičnoj i stručnoj pomoći, savjetima, susretljivosti i strpljenju.

Zahvaljujem također svim profesorima, asistentima i djelatnicima Agronomskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu na prenesenom znanju i vještinama kako bih uspješno završio studij, a posebice Zavodu za hranidbu životinja te kolegicama Mariji Mađeruh i Aniti Kurilić bez čije pomoći izrada ovog rada ne bi bila moguća.

Najveću zahvalnost dugujem svojoj obitelji koja mi je omogućila i olakšala studiranje te vjerovala u mene te mojoj djevojci Heli što mi je također uvijek bila podrška kad mi je bilo teško .

Sadržaj

1. UVOD **1**

2. PREGLED LITERATURE **2**

2.1. Plijesni polja **2**
2.1.1. Mikotoksini plijesni iz roda *Fusarium* 2
2.1.2. Mikotoksini plijesni iz roda *Penicillium* 3
2.1.3. Mikotoksini plijesni iz roda *Aspergillus* 4

2.2. Plijesni skladišta **5**
2.2.1. Plijesni skladišta iz roda *Aspergillus* 5
2.2.2. Plijesni skladišta iz roda *Penicillium* 6

2.3. Preventivne mjere nastanka mikotoksina **6**

2.4. Utjecaj mikotoksina na perad **9**
2.4.1. Trihoteceni 9
2.4.2. Zearalenon 9
2.4.3. Moniliformini 9
2.4.4. Okratoksin A 9
2.4.5. Aflatoksini 9

2.5. Kokoši nesilice **10**
2.5.1. Linijski hibridi 10
2.5.2. Hibridi za proizvodnju jaja obojene ljuske 10
2.5.3. Hisex brown kokoši nesilice 10

2.6. Pregled dosadašnjih istraživanja **12**

3. HIPOTEZA I CILJ ISTRAŽIVANJA **15**

4. MATERIJALI I METODE **16**

4.1. Smještaj **16**

4.2. Hranidba kokoši nesilica **17**

4.3. Konzumacija i konverzija krmne smjese **18**

4.4. Visina nesivosti **18**

4.5. Određivanje pokazatelja fizikalne kakvoće jaja **18**
4.5.1. Masa jaja 18
4.5.2. Indeks oblika 19
4.5.3. Čvrstoća ljuske 20
4.5.4. Određivanje boje žumanjka, visine bjelanjka i Haugh jedinica 20

5. REZULTATI I RASPRAVA **22**

5.1. Prosječna konzumacija hrane **22**

5.2. Konverzija **22**

5.3. Nesivost **23**

5.4. Fizikalni pokazatelji kakvoće jaja **24**

5.5. Mortalitet **25**

6. ZAKLJUČAK **26**

7. LITERATURA **27**

8. ŽIVOTOPIS

Sažetak

Diplomskog rada studenta Filipa Di Nuzzo, naslova

UTJECAJ PRISUTNOSTI MIKOTOKSINA U KRMNIM SMJESAMA NA PROIZVODNE REZULTATE KOKOŠI NESILICA

Plijesni su skupina mikroskopskih gljivica od kojih veliki broj proizvodi jake toksine, odnosno mikotoksine. Oni mogu biti uzročnici mnogih poremećaja kod ljudi i životinja. Kako bi se spriječio učinak mikotoksina na organizam koriste se adsorbensi koji na sebe vežu mikotoksine te se zajedno s njima izlučuju iz organizma prije nego se prošire po njemu i prouzroče štetan utjecaj. Cilj istraživanja bio je utvrditi učinak dodatka adsorbensa u krmnu smjesu na proizvodne pokazatelje kokoši nesilica i fizikalne pokazatelje kakvoće jaja. U istraživanju je korišteno 90 Hisex brown kokoši nesilica, starosti 20 do 32 tjedna. Kokoši su bile podijeljene slučajnim odabirom u 3 hranidbena tretmana: T1(kontrolna skupina hranjena komercijalnom krmnom smjesom), T2 (T1 + 2 kg adsorbensa po toni krmne smjese), a T3 (T1 + 20 kg adsorbensa po toni krmne smjese). Na temelju rezultata dobivenih u istraživanju možemo konstatirati da nije utvrđena značajna razlika između tretmana. Odnosno, dodatak adsorbenata nije imao učinak na proizvodne rezultate (konzumaciju, konverziju, nesivost, mortalitet) kao ni fizikalne pokazatelje kakvoće jaja (masa, indeks oblika, čvrstoća ljuske, visina bjelanjka, HU, udijele pojedinih dijelova u jajetu). Razlog takvih rezultata treba pripisati higijenskoj i zdravstvenoj ispravnosti krmne smjese koja se koristi u komercijalnoj proizvodnji jaja, a koja je korištena i u ovom istraživanju. Stoga bi ovakva istraživanja ubuduće trebali provesti korištenjem krmne smjese u kojoj je utvrđena prisutnost mikotoksina.

Ključne riječi: adsorbensi, fizikalni pokazatelji kakvoće jaja, Hisex brown nesilice, mikotoksini, proizvodni pokazatelji

Summary

Of the master's thesis – student **Filip Di Nuzzo,** entitled

THE IMPACT OF PRESENCE OF MYCOTOXINS IN FEED MIXTURES ON PRODUCTION RESULTS OF LAYING HENS

Molds are cluster of microscopic fungi from which a large number produce strong toxins, or mycotoxins. They may be the cause of many pathological disorders of people and animals. To prevent the effect of mycotoxins on the body adsorbens are used and they attach mycotoxins and together with them excrete from the body before they can spread and cause damage. The aim was to determine the effect of addition of adsorbens into feed micture on egg production indicators and physical indicators of egg quality of laying hens. Testing carried out used 90 Hisex brown laying hens, aged 20 to 32 weeks. Hens were randomly selected and placed within 3 dietary treatments: T1 (control group fed with commercial feed mixture), T2 (T1 + 2 kg of adsorbens per ton of feed) and T3 (T1 + 20 kg of adsorbens per ton of feed). Based on the results obtained from this study we can conclude that there is no significant difference between treatments. Regarding that, the addition of adsorbens had no effect on production results (consumption, conversion, egg production, mortality) as well as physical indicators of egg quality (weight, shape index, shell strength, height of albumin, HU, the percentage of certain parts inside of the egg). The reason for such results should be attributed to the hygienic and sanitary safety of compound feed used in commercial egg production, which was used in this research. Therefore, this kind of research, in the future, should be carried out using a feed mixture in which was indicated the presence of mycotoxins.

Key words: adsorbens, egg production indicators, Hisex brown hens, mycotoxins, physical indicators of egg quality

1. Uvod

Česta pojava krmiva kontaminiranih mikotoksinima predstavlja izravnu prijetnju za zdravlje životinja, a posljedično tome dovodi do smanjenja proizvodnih rezultata te predstavlja opasnost za zdravlje ljudi kao konačnih konzumenata životinjskih proizvoda. S obzirom da su žitarice glavna komponenta u izradi krmnih smjesa za hranidbu peradi smatra ih se glavnim izvorom mikotoksina. Mikotoksini su produkti metabolizma plijesni koje kontaminiraju zrno žitarica već tijekom boravka u polju, a u kombinaciji s neadekvatnim skladištenjem povećava se njihov udio u zrnu. S obzirom da liječenja mikotoksikoza nema, veliki značaj treba staviti na preventivu te osim pravilnog skladištenja žitarica uputno je prilikom izrade krmne smjese koristiti adsorbente mikotoksina koji iste vežu na sebe već u probavnom traktu životinja te ih izbacuju iz organizma prije nego li je došlo do njihovog štetnog djelovanja.

Utvrđeno je da velik broj različitih vrsta gljivica proizvodi jake toksine, koji uzrokuju poremećaje kod ljudi i životinja. Mikotoksikoze su najčešće uzrokovane toksičnim metabolitima različitih plijesni i nisu prenosive poput zaraznih bolesti (Rupić 2009.). Najzastupljeniji mikotoksini u prehrambenom lancu ljudi i životinja dolaze iz sljedećih rodova plijesni: *Penicilium, Aspergillus, Claviceps, Stachibotrys, i Fusarium,* ali i mnogih drugih koji parazitiraju na uskladištenim koncentriranim i voluminoznim krmivima, odnosno na klasju i zrnju. Mikotoksini nastaju u trenutku pojave stresnih uvjeta, kao što su to: neodgovarajuća temperatura, loše prozračivanje, prisutnost agresivnih čimbenika te neodgovarajuća vlaga (Sweeney i Dobson 1998.). Imaju patološko djelovanje na gotovo sve organe u organizmu čovjeka i životinja, a najviše utječu na: jetru, slezenu, bubrege, probavni i spolni sustav, sluznicu usta, središnji i periferni živčani sustav. Najčešće patološki djeluju prvenstveno na jetru, jer se proces detoksikacije mikotoksina zbiva upravo u jetri. S obzirom na ciljno mjesto djelovanja (organ), mogu se klasificirati kao hepatotoksini, nefrotoksini ili neurotoksini, a mogu imati karcinogena, mutagena, imunotoksična i teratogena svojstva.

2. Pregled literature

Prema Ožegović i Pepeljnjak (1995.) postoje tri osnovna ekološka tipa plijesni:
- plijesni polja *(Alternaria, Diplodia, Helminthosporium, Gibberella, Cladosporium i Fusarium*);
- plijesni skladišta (*Penicillium i Aspergillus*);
- plijesni uznapredovalog kvarenja (Papulospora, Sordaria, Mucor, Chaetomium i Rhizopus).

2.1. Plijesni polja

Gljivice polja napadaju zrnje ratarskih kultura dok su još u polju i zriobi pa im je potrebna velika količina vlage. Idealni uvjeti potrebni za razvoj gljivica ovise o vrsti, ali im je primarno potrebna povišena vlaga i temperatura. Infekcija se može pojaviti u različitim fazama rasta, cvatnje, berbe te žetve. Na zrnju žitarica nije uvijek golim okom vidljiv rast gljivica jer na početku njihova razvoja one su mikroskopske veličine. Gljivice koje napadaju žitarice su nespecifične te napadaju više vrsta biljaka.

Mikotoksini kukuruza najvažniji su za Hrvatsku jer je kukuruz osnovno krmivo u hranidbi domaćih životinja. Kukuruz je podložan napadu toksinogenih gljivica iz rodova *Fusarium, Penicillium* i *Aspergillus.*

2.1.1. Mikotoksini plijesni iz roda *Fusarium*

Najznačajniji mikotoksini vrsta iz roda *Fusarium* su: Trihoteceni, Fumonizini, Zearalenon i njegovi derivati.

Gljivicama roda *Fusarium* pogoduju područja umjerene klime, gdje parazitiraju na kukuruzu, te kako bi proizvele toksine potrebne su im niske temperature. U Hrvatskoj su toksini tih gljivica najčešći mikotoksini kukuruza. Gljivice *Fusarium* poljske su gljivice i uzročnik su dvije bolesti klipa: crvena trulež klipa te bolest (neoštećenog i oštećenog) zrnja. Preživljavaju na polju na ostacima kukuruzne biljke, prenoseći se tako na idući usjev kukuruza na istom polju (Chelkowski 2011.). Gljivice mogu biti mikroskopske veličine zbog čega zrna kukuruza često budu 60-100 % zaražena, a da se ne primijeti.

Nakon naseljavanja gljivica na zrno, postoji velika vjerojatnost da će proizvesti mikotoksine. Ukoliko spore gljivica dospiju do zrna kukuruza, koji se nalazi u skladištu, u povoljnim uvjetima proširiti će se te stvoriti mikotoksine (Rupić 2009.).



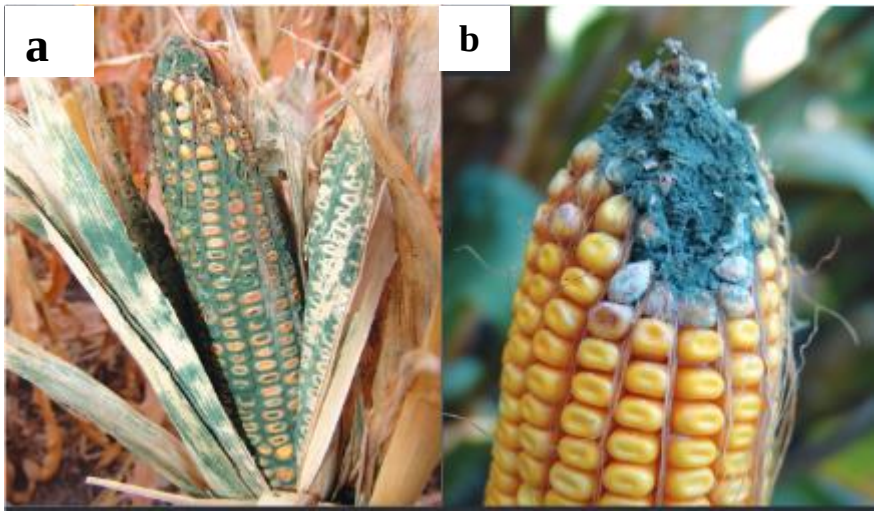
Slika 2.1.1.1. Prikaz klipova kukuruza obraslih gljivicama iz roda *Fusarium*
Izvor: https://www.ent.iastate.edu/imagegal/plantpath/corn/fusarium/fusarium_insect_inj.html

2.1.2. Mikotoksini plijesni iz roda *Penicillium*

Gljivice *Penicillium* na zrnu kukuruza stvaraju plavo-zelene praškaste tvorbe (Tamra i sur. 2012), ali njihova boja varira među vrstama gljivica. Određene gljivice ovog roda, koje se nalaze u zrnu kukuruza, proizvode mikotoksine.

Najveći broj gljivica napada zrno kukuruza koji se nalazi u skladištu, dok *Penicillium oxalicum* napada klip kukuruza na polju te uzrokuje gnjiloću. Na samom zrnu kukuruza mikotoksine proizvode samo *Penicillium viridicatum* i *Penicillium verrucosum* i to okratoksine, citopiazonsku kiselinu, peniciničnu kiselinu, rubratoksin i citrinin, dok druge vrste iz roda *Penicillium* ne proizvode mikotoksine. Okratoksine, veliku skupinu sličnih kemijskih spojeva, a često i citrinin proizvode *Aspergillus ochraceus, Penicillium viridicatum* i *Penicillium verrucosum* i to na područjima umjerenih klimatskih prilika (topline i vlažnosti) (Furlan 2016).

Pojedini sojevi gljivica proizvode Okratoksin A koji se nalazi u zrnju zobi i ječma prije žetve, ali nalazimo ga i u zrnju kukuruza u poljima u nekim dijelovima svijeta. Mehanizam patološkog djelovanja Okratoksina još uvijek nije dovoljno proučen. Istraživanjima dokazano je da Okratoksin u stanicama proksimalnih tubula inhibira aktivnost fenilalanin-t RNA sinteze zbog čega dolazi do smanjenja sinteze bjelančevina te inhibicije aktivnosti enzima koji kataliziraju intermedijarni stanični prijetvor tubularnog epitela. Poznata su nam i ostala patološka djelovanja Okratoksina, znamo da uzrokuje upalu tankog crijeva i degeneraciju jetre, ali nije kancerogen (Rupić 2009.).



Slika 2.1.2.1. Prikaz: a) Zelene plijesni iz roda *Penicillium* b) Plave plijesni iz roda *Penicillium*
Izvor: http://extensionpublications.unl.edu/assets/pdf/ec1901.pdf

2.1.3. Mikotoksini plijesni iz roda *Aspergillus*

Među vrstama iz roda *Aspregillus* koji proizvode mikotoksine najvažniji je *Aspergillus parasiticus*, a vrste *Aspergillus* mogu kukuruz i ostale žitarice onečistiti na njivama i u skladištima. Gljivica *Aspergillus flavus* na poljima prouzročava trulež klipa kukuruza, na kojem se onda pojavljuju maslinasto zelene brašnaste naslage. Takve naslage u posebnim uvjetima na polju, prije berbe, proizvode velike količine aflatoksina (Valpotić i Šerman 2006.).

Plijesni iz roda Aspergillus proširene su po cijelom svijetu, ali najčešće se nalaze u krajevima sa toplim klimatskim uvjetima. Visoke temperature okoliša (iznad 25 °C) te suše dovode do stanja stresa kod *Aspergillus flavus-a* zbog čega u tim uvjetima proizvodi aflatoksine (Bankole i Adebanjo 2003.). Aflatoksini, od svih mikotoksina, najbolje su proučeni te je otkriveno da imaju kancerogen učinak na ljude i životinje. Kukuruz i ostale žitarice sadrže, uglavnom više različitih mikotoksina, koje patološki djeluju na organizam životinja (Rupić 2009.).



Slika 2.1.3.1. Prikaz *Aspergillosa* klipa kukuruza
Izvor: https://www.pioneer.com/web/site/serbia/agronomy/corn_diseases/

2.2. Plijesni skladišta

Najznačajnije plijesni skladišta su iz roda *Aspergillus* i *Penicillium*.

2.2.1. Plijesni skladišta iz roda *Aspergillus*

Najveći utjecaj na količinu mikotoksina u zrnu kukuruza ima vrijeme berbe. Ranija berba smanjuje koncentraciju mikotoksina u zrnu kukuruza. Kasnijom berbom zrno kukuruza oštećuju kukci te se stvaraju povoljni uvjeti za naseljavanje gljivica. Tijekom berbe, prijevoza i skladištenja dolazi do ozljeda kukuruza te se na mjestu oštećenja nastanjuju gljivice nakon čega dolazi do sinteze mikotoksina. Poznato je da su zrna kukuruza polutvrdunaca i tvrdunaca manje sklona oštećenju i lomu, a time će i njihovo onečišćenje gljivicama biti manje (Grbeša 2005.). Nakon berbe razvoj gljivica, osobito na zrnu kukuruza smanjuje se sušenjem. Iz tog razloga potrebno je unutar 48h nakon berbe sušenjem smanjiti količinu vlage u zrnu ispod 14 % (vlaga skladištenja) (Bainton i sur. 1980.). No pored sušenja i niske vlage skladišta gljivice mogu proizvoditi mikotoksine. Zrnje zahvaćeno većom količinom gljivica potrebno je osušiti u što kraćem vremenskom razdoblju kako bi se smanjila količina mikotokisina. Prije skladištenja kukuruza veoma je važno očistiti skladišta te ukloniti sva pljesniva zrna kako se gljivice ne bi mogle prenijeti na uskladišteni kukuruz. Pri jakim gljivičnim onečišćenjima skladišta potrebno je primijeniti detoksikaciju skladišta kao i inhibitore rasta gljivica. Zrnje kukuruza treba čuvati na temperaturi 1 – 4 °C (što je u praksi teško izvedivo) jer je na toj temperaturi sporiji rast i razvoj gljivica (Rupić 2009.). Tijekom toplijeg godišnjeg razdoblja u skladištu bi se trebala postići temperatura 10 – 15 °C. Prilikom porasta temperature, u proljeće, postoji mogućnost klijanja vlažnih zrna koja uzrokuju nastajanje plijesni koja velikom brzinom napada zrno. Pregled kukuruza u silosu (temperatura, vlažnost, plijesni na zrnju, miris plijesni, pojava vrućih džepova) treba provoditi jednom tjedno ljeti odnosno svaka 2 tjedna zimi. Otkrivene nepravilnosti potrebno je što prije ukloniti: smanjiti temperaturu, prozračiti silos izbaciti topla i pljesniva zrna. Suho zrno kukuruza, onečišćeno plijesnima iz rodova *Penicillium* i *Fusarium* može se tretirati propionskom kiselinom koja sprječava daljnji rast plijesni. Treba naglasiti da propionska kiselina ne uništava ranije nastale mikotoksine u zrnju kukuruza. Kukci i grinje na uskladištenom kukuruzu oštećenjem zrnja šire gljivice po uskladištenoj masi. Najčešće se na kukuruzu nalazi kukuruzni moljac *Ostrinia nubilalis* (Widstrom 1996.). Insekti koji napadaju uskladišteno zrno jako su osjetljivi na temperaturu. Njihov razvoj i reprodukcija su smanjeni pri temperaturama nižim od 21 °C, a potpuno im prestaje razvoj i reprodukcija na temperaturi od 10 °C. Skladištenje zrna mora biti u spremnicima otpornim na najezde glodavaca. Kontrola insekata i glodavaca se provodi održavanjem silosa i spremnika čistim od zrna, otpada i vegetacije. Prema potrebi potrebno je primijeniti insekticide kako bi se spriječile njihove štetne aktivnosti u skladištu (silosu). Relativna vlaga zraka, vlažnost zrna i temperatura imaju značajnu ulogu u razvoju aflatoksina na kukuruzu, a to su temperature između 27 i 37 °C, relativna vlaga zraka 85 do 100 % i vlažnost zrna 18 % (Williams i sur. 2004.). Ako se relativna vlaga može smanjiti kretanjem zraka, odmah se i

vlažnost zrna smanjuje, a time i potencijalni nastanak plijesni. Treba spomenuti da se u slučaju niske koncentracije mikotoksina, onečišćeno zrnje kukuruza može upotrijebiti za hranidbu starijih preživača, ako se pomiješa sa zdravim, odnosno zrnjem kukuruza koje ne sadrži mikotoksine. Znaci onečišćenja zrnja kukuruza i žitarica gljivicama u silosima su promjene boje, mirisa i kemijskog sastava žitarica. Boja se mijenja ovisno o vrsti gljivica koje su se naselile na zrnje kukuruza i žitarica. Onečišćeno, odnosno pljesnivo zrnje, ima tipičan ustajali miris na plijesni, smanjuju se i specifična težina zrnja.

2.2.2. Plijesni skladišta iz roda *Penicillium*

Penicillium vrste osim *P. marneffei* se obično smatraju zagađivačima, ali su također poznati proizvođači mikotoksina. Na primjer, *P. verrucosum* proizvodi mikotoksin, Okratoksin A, koji je štetan za bubrege (nefrotoksičan) i karcinogen je. Proizvodnja toksina odvija se kod žitarica u hladnim klimatskim uvjetima Ta plijesan može rasti i pri temperaturama nižim od 0 °C, što ju čini vrlo otpornom na razne temperaturne utjecaje (Duraković i Duraković 2000.), ali je izoliran u zgradama kontaminiranim *Penicillium-om*. Osim Okratoksina A gljivice roda *Penicillium* sintetiziraju i patulin, citrinin i citroviridin.

2.3. Preventivne mjere nastanka mikotoksina

U procesu proizvodnje hrane pojavljuju se mikotoksini te je zbog toga važna prevencija nastanka mikotoksina, koja obuhvaća cjelokupni proces proizvodnje. Agrotehničkim mjerama čovjek biljci treba stvoriti što povoljnije uvjete za rast i plodonošenje, manje stresa, kako ne bi došlo do pojave mikotoksina. Za proizvodnju zdravoga i kvalitetnoga zrna bitna je primjena dobre gospodarske prakse. Prva mjera za smanjenje zaraze, s toksinogenim gljivicama u sklopu dobre gospodarske prakse je:

Izbor hibrida ili sorte: Potrebno je odabrati sorte ili hibride koje su manje osjetljive na toksinogene gljivice (Bhatnagar 2010.), a da uz to daju zadovoljavajući urod i kvalitetu. Izbor hibrida kukuruza treba odrediti na osnovi višegodišnjih klimatskih uvjeta i vremena dozrijevanja.

Izbor staništa: Treba uzeti u obzir mikroklimatske i edafske čimbenike pri izboru parcele jer mogu utjecati na pojavu raznih bolesti. Unutar depresija u kojima se dugo zadržavaju rose i magle stvaraju se povoljniji preduvjeti za pojavu infekcije toksikogenih gljivica.

Sklop: Visoki prinosi žitarica, uz ostale zahvate, realiziraju se i gušćim sklopom. U usjevima gustog sklopa strnih žitarica relativna vlaga (80 – 95 %) zadržava se 14 – 20 sati, što dovodi do pojave infekcija. Optimalnom sjetvenom normom za pojedini hibrid i sortu u edafskim i klimatskim prilikama toga područja postižu se najbolji prinosi. Takvi usjevi podložni su

stresu u dugim sušnim razdobljima zbog nedostatka vlage, što može pospješiti tvorbu mikotoksina.

Sjeme: Važan preduvjet za ostvarivanje željenoga sklopa i početni razvoj biljke je sjetva zdravog i fungicidom tretiranog sjemena, dobre klijavosti i energije klijanja. Potrebno je koristiti certificirano sjeme jer se neke toksigene gljivice prenose sjemenom kukuruza, pa čak sistemično prorastaju biljku.

Plodosmjena: Jedna je od najvažnijih mjera u biljnoj proizvodnji, a osobito u zaštiti od štetnih organizama. Plodosmjena kukuruza prekida lanac prenošenja plijesni u drugu vegetacijsku sezonu. *Fusarium* vrste imaju jak i štetan utjecaj na kukuruz, a žetveni ostaci su primarni izvor zaraze *F. graminearun* koji uzrokuje *Gibberellioznu* trulež klipa kukuruza i produkciju deoksinivalenola (DON). Zato se plodosmjena preporučuje kao kontrolna mjera kontaminacije kukuruza DON-om. Radi ublažavanja kontaminacije *Fusarium sp*. plijesni preporuča se izmjena kukuruza sa djetelinsko travnim smjesama.

Oštećenja zrna: Oštećenja zrna od tuče, ptica i insekata pridonose zarazi parazitskim gljivicama, koje su preduvjet za naseljavanje saprofitskih gljivica u unutrašnjosti zrna. Dokazano je da kroz oštećenja od insekata nastaju infekcije gljivicom *Aspergillus flavus* (McMillian i sur. 1978.). Kukuruzni moljac (*Ostrinia/Pyrausta nubilalis*) prenosi spore gljivica *F. verticillioides* i *F. subglutinans*. Četverotočkasti sjajnik (*Glischrochilus quadrisignatus*) i kukuruzna zlatica (*Diabrotica virgifera virgifera*) mogu biti prenosnici gljivica *F. verticillioides* (Kurtz 2010.) i *F. subglutinans* (Gilberston i sur. 1986.). Ranija sadnja i berba te dublje oranje i navodnjavanje tijekom suše smanjuju mogućnost napada moljaca te također mikotoksinima, u umjerenom klimatskom području.

Gnojidba: Jednostrana primjena dušika pospješuje bujan rast u vlažnim uvjetima produžava vegetaciju. U takvim okolnostima zrno sadrži povišen postotak vlage pa je podložno pljesnivoći ako se ne dosuši prije pohrane u silose. Kukuruz gnojen sa 147 kg/ha dušika ima manje aflatoksina nego onaj gnojen sa 112 kg/ha (Jones i sur. 1981.).

Navodnjavanje: Ukoliko nedostaje vode u tlu, smanjena je mikrobiološka aktivnost tla, pa u kompeticiji mikroorganizama prevladavaju kserofiti, poput *A. flavus* i *A. parasiticus*. U uvjetima suše smanjene su obrambene reakcije biljke na infekcije (Pitt i Hocking 2009.). Povišene temperature pogoduju nastajanju termofilnim *Aspergillus* vrstama. Navodnjavanjem se može osigurati najpovoljniji razvoj kukuruza u sušnim godinama te tako smanjiti posljedice stresa i sinteze mikotoksina.

Fungicidi: U Hrvatskoj nije registriran niti jedan fungicid za foliarno suzbijanje gljivica iz roda *Fusarium* na kukuruzu. Međutim, za zaštitu klasa strnih žitarica od gljivica iz roda *Fusarium* registrirani su fungicidi na osnovi djelatnih tvari ili njihovih kombinacija: prokloraz + tebukonazol; propikonazol + ciprolonazol; propikonazol + karbendazim; spiroksamin + tebukonazol + triadimenol; tebukonazol, tebukonazol + protiokonazol i karbendazim (Cvjetković i sur. 2014.). Optimalan rok za zaštitu je u vrijeme od oko 15 %

klasa u cvatnji (Wegulo i sur. 2008.) Prijašnja iskustva su da je optimalni rok za zaštitu pojava prvih antera uz uvjet da za infekcije postoje klimatski uvjeti, što se može previdjeti prognoznim modelima (De Wolf i sur. 2003.; Rossi 2008.).

Žetva i berba: Oštećenja na zrnju koja nastaju tijekom mehaničke berbe, transporta, sušenja i skladištenja pogoduju naseljavanju gljivica koje uzrokuju pljesnivost zrnja. Kako bi se smanjilo oštećenje zrnja, strojeve i postupke korištene prilikom žetve treba prilagoditi. U silose potrebno je pohraniti zdravo i neoštećeno zrnje odgovarajuće vlage za pojedinu vrstu zrna te dužinu skladištenja. To je jedan od preduvjeta da se onemogući razmnožavanje gljivica te njihovo širenje u skladištu ili silosu.

Adsorbensi: Za neutralizaciju neželjenog učinka mikotoksina danas se najviše rabe adsorbensi poput mananooligosaharida, koji vežu mikotoksine u probavnom sustavu peradi, nedozvoljavajući da se resorbiraju u krvotok i prošire po organizmu. Tako adsorbens hidrirani natrijev kalcijev alumino-silikat (HSCAS) može ublažiti aflatoksikozu ali ne i fuzariotoksikoze. Bentonitom-glinom uspješno se odstranjuje T2 toksin (dodaje se hrani u većim količinama) još neki tipovi glina, zatim klinoptiloliti (zeoliti) imaju sposobnost vezanja T-2 toksina ako se nalazi u većim količinama (Rupić 2009.). Potpuno prirodan ekološki proizvod obrađen specijalnim tehnološkim postupkom te sadrži 90 % klinoptilolota. Kao spužva upija sve mikotoksine i trajno ih veže na sebe. Ne zadržava se u organizmu životinje već se kompletno sa fekalijama izbacuje van. Prirodni zeolit zbog svoje specifične molekularne rešetke veže na sebe samo toksične tvari, a vitamine i mineralne tvari ostavlja nedirnute u probavnom traku životinje.

Postotak apsorpcije mikotoksina(zeolita) prema HASKAP (2017.):

- Aflatoksin B1 (99 %),
- Aflatoksin (85 %),
- B2 (82 %),
- Aflatoksin (96 %),
- G2 (97 %),
- Egosin (92 %),
- Ergotamin (98 %)

Također vlakna dehidrirane lucerne vežu mikotoksine pa tako štite od štetnog djelovanja zearalenona. U slučaju ako nije pravilno osušena može biti pljesniva i postati izvorom mikotoksina iz roda *Fusarium.*

2.4. Utjecaj mikotoksina na perad

2.4.1. Trihoteceni

Kod peradi uzrokuju nekroze sluznice usta, degeneraciju i krvarenja u unutrašnjim organima. Pojavljuju se i živčani simptomi otrovanja (tremor glave, vrata i nogu. Od starije peradi mlađa je perad osjetljivija na trihotecene. Kokoši nesu jaja s tankom i lomljivom ljuskom a javljaju se živčani simptomi i slabija nesivost jaja.

2.4.2. Zearalenon

Kokoši su najotpornije na zearalenon od svih vrsta peradi. Zearalenon patološki djeluje na spolne organe i fabricijevu žlijezdu kod peradi te je smanjena nesivost i perad sporije napreduje. Kod muške peradi dolazi do povećanog broja degenerativnih spermija i poremećaja spermatogeneze.

2.4.3. Moniliformin

Moniliformin ima najjači patološki učinak kod peradi, uzrokuje povrede sluznice probavnog sustava koje su uzrok krvarenja. Također uzrokuje propadanje srca i jetre.

2.4.4. Okratoksin A

Najtoksičniji mikotoksin za perad, tovni pilići su jako osjetljivi na koncentraciju od 5 ppm-a u hrani . Zbog njegovog djelovanja tovni pilići su zakržljali (zaostaju u rastu). Okratoksin A uzrokuje velike promijene u sastavu krvi . Dolazi do jakog oštećenja bubrega, jetre i slezene. Kod kokoši nesilica dolazi do velikog pada nesivosti i slabije valivosti jaja te do smanjenja tjelesne mase.

2.4.5. Aflatoksini

Kod peradi na aflatoksine najosjetljiviji su pačići, manje osjetljivi su purići, a najotporniji pilići (osim pasmine New Hampshire) (Rupić 2009.). Kod peradi aflatoksini uzrokuju tumore jetre te nekroze bubrega. Kod tovnih pilića dolazi do smanjenja prirasta, a smanjena je nesivost i to do 95 % kod kokoši nesilica. Aflatoksikoze kod peradi se mogu javiti u kroničnom ili akutnom obliku. Najčešće se javljaju u kroničnom obliku tako da je nesivost smanjena a mortalitet nizak. Kod većih koncentracija dolazi do pojave proljeva, opistotonusa, pojave žutice, klonulosti, nakostriješenog perja te zbog prestanka uzimanja hrane do zaostajanja u razvoju, konvulzija, povećan mortalitet, a nakon konzumiranja hrane sa 100 ppm-a aflatoksina dolazi do ugibanja 50 % nesilica unutar 48 h.

2.5. Kokoši nesilice

Kokoši nesilice prepoznatljive su po zajedničkim obilježjima koja uključuju visoku nesivost te manju tjelesnu masu (mediteranski tip kokoši). Nesilice imaju prosječnu tjelesnu masu 1,5 – 2 kg, dok su pijetlovi teški između 2 i 3 kg. Pasmine s najboljim proizvodnim rezultatima, prosjek od oko 200 jaja godišnje, su: Minorka, Leghorn (najrasprostranjenija te najčešće zastupljena) te Talijanska jarebičasta. Vrlo rano spolno sazrijevaju, umutar dobi od 5 do 6 mjeseci, a jaja su im prosječne mase od oko 60 grama (Nemanič i Berić 1995.).

2.5.1. Linijski hibridi

Leghorn, čista pasmina, ne koristi se u industrijskoj proizvodnji, već služi kao osnova za proizvodnju komercijalnih linijskih hibrida. Za proizvodnju jaja koriste se linijski hibridi podijeljeni u dvije skupine: skupina za proizvodnju jaja bijele ljuske i skupina za proizvodnju jaja obojene (tamne) ljuske. U Hrvatskoj domaći potrošači najviše konzumiraju jaja obojene ljuske, dok strani ljuske bijele boje (Nemanič i Berić 1995.). Upravo iz tog razloga u daljnjem tekstu govori se o linijskim hibridima za proizvodnju jaja obojene ljuske.

2.5.2. Hibridi za proizvodnju jaja obojene ljuske

Hibridi koji pripadaju ovoj skupini prepoznatljivi su po nešto većoj prosječnoj masi, krupnijoj i snažnijoj konstituciji tijela, mirnijeg su temperamenta te po malo većoj otpornosti u usporedbi sa hibridima za proizvodnju jaja bijele ljuske. Unutar ove skupine nalaze se: ISA Brown (SSL), Lohmann Super Brown (LSB), Hisex Brown, Golden Comet, De Calb G–Link, Tetra SL, Hubbard, Prelux R, Harko, Derko i druge.

Tjelesna masa nesilica je oko 2 – 2,5 kg, a pijetlova 2,5 – 3 kg. Nesivost im je 260 – 300 jaja godišnje. Boja perja je svijetlo ili tamno smeđa (ciglasta), različitih nijansi, dok je vratno i repno perje svijetlo, odnosno bjelkaste boje. Za razliku od skupine hibrida za proizvodnju jaja bijele ljuske, čiji su jednodnevni pilići, bez obzira na spol, svjetložućkaste boje, unutar ove skupine možemo razlikovati muške i ženske piliće prema boji. Isto tako, na kraju proizvodnje jaja, kokoši se lakše prodaju za klanje jer su teže i meso im je bolje kakvoće (Nemanič i Berić 1995.).

2.5.3. Hisex brown kokoši nesilice

Hibrid *Hisex brown* su kokoši koje nesu jaja smeđe ljuske. Proizvode velike količine jaja te imaju izvanrednu učinkovitost konverzije. Povoljne genetske karakteristike koje posjeduje pomažu im da postignu visoke rezultate samo u slučaju kada su im ispunjeni svi potrebni zahtjevi uzgoja. Ovi zakoni uključuju, ali nisu ograničeni na; kvalitetno hranjenje, brigu o zdravlju te smještaj kokoši. Glavni cilj stvaranja ovog hibrida, kao i svakog drugog, je da se dobije najveći mogući broj jaja u rasponu prikladne težine sa najvećom učinkovitosti troška po jaju ili jajčanoj masi. Kako bi se ostvario željeni cilj, kokoši moraju biti pravilno

zbrinute i hranjene od perioda valjanja do nesivosti. Postizanjem idealne mase tijela za svaki tjedan života jedini je način da se dobije željeni rast kokoši i razvoj spolnog sustava. Ovaj hibrid tolerantan je na mnoge uvjete, ali najveća nesivost i kvaliteta postižu se kada se kokoš drži u optimalnim uvjetima. Ukoliko ju se smjesti u premali prostor doći će do smanjene proizvodnje jaja, a u slučaju prevelikog prostora dolazi do velike konzumacije hrane, te energetske potrošnje (Haider 2014.).



Slika 2.5.3.1. Prikaz Hisex brown nesilice
Izvor: https://www.hisex.com/en/product/hisex-brown/

Tablica 2.5.3.1. Prikaz prosječnih vrijednosti Hisex brown nesilica u periodu nesivosti

Period nesivosti	**18-90 tjedana**
Valivost	94 %
Dob kod 50 % nesivosti	143 dana
Vrhunac nesivosti	96 %
Prosječna masa jaja	62,50 g
Ukupan broj proizvedenih jaja tijekom nesivosti	422
Ukupna masa proizvedenih jaja tijekom nesivosti	26,40 kg
Prosječna dnevna konzumacija hrane	112 g
Konverzija	2,11 kg/kg
Težina tijela	2 000 g
Čvrstoća ljuske	4,15 kg/cm^2
Boja ljuske	14,50 Lab
HU	83

Izvor: https://www.hisex.com/en/product/hisex-brown/

2.6. Pregled dosadašnjih istraživanja

Istraživanje utjecaja prirodnih zeolita na proizvodne rezultate kokoši nesilica i kvalitetu jaja provedeno od strane Öztürk i sur. (1997.), a trajalo je 4 mjeseca. U istraživanju je korišteno 180 kokoši nesilica u dobi od 37 tjedana, pasmine Babcock B-300. Kokoši sa sličnim proizvodnim karakteristikama i sličnih masa žive vage bile su podijeljene u 5 grupa. Slučajnim odabirom podijeljene su u 5 tretmana (12 replikacija i 36 kokoši po tretmanu. Prije početka pokusa kokoši su smještene u nastambe u kojima su držane i hranjene u standardiziranim uvjetima. U dobi od 37 tjedana smještene su u žičane kaveze (23x50x42 cm). Prostor je bio prirodno ventiliran, te su kokoši bile hranjene istom krmnom smjesom, podijeljenom u 5 tretmana u koje su dodani prirodni zeoliti u koncentracijama (0, 2, 4, 6, 8 %). U prvom tjednu koristila se kontinuirana rasvjeta 24 sata, koja se postepeno smanjivala nakon 21 dana nakon kojeg su bile izložene prirodnom svjetlu. Kokoši su bile držane u troetažnom kaveznom sustavu, po 3 kokoši u svakom kavezu. Ispod kaveza su se nalazile jame za sakupljanje izmeta, ventilacija je se provodila prirodnim ali i umjetnim putem kao i osvjetljenje. Sve kokoši vagane su na početku pokusa u dobi od 112 dana. Vaganje krmnih smjesa provodilo se svakih 28 dana kako bi se utvrdila dnevna konzumacija hrane i koeficijent iskorištenja hrane. Proizvodnja jaja i mortalitet praćeni su svaki dan za svaki kavez. Proizvedena jaja svake grupe prikupljena su i identificirana zadnja 3 dana svakog tjedna za svaki tretman. Jaja su vagana zajedno kako bi se mogla odrediti prosječna jajčana masa za svaku grupu. 72 jaja (dva jaja po danu) uzeta su za laboratorijsku analizu od kojih je 10 određeno slučajnim odabirom. Jaja su razbijana i napravila se analiza pokazatelja kvalitete jaja (masa jaja, indeks oblika, čvrstoća ljuske, Haugh jedinice, visina bjelanjka, boje žumanjka, postotak ljuske, bjelanjka i žumanjka itd.). Iz dobivenih rezultata vidljivo je da dodatak zeolita u krmnu smjesu nije prouzročio značajne razlike u: masi žive vage kokoši, konzumaciji hrane, koeficijentu iskorištenja hrane, mortalitetu te u kvaliteti jaja.

Istraživanje učinka dodatka različitih količina aflatoksina, okratoksina i njihovih derivata na proizvodne rezultate i kvalitetu jaja kokoši nesilica proveli su Verma i sur. (2003.). Za istraživanje su korištene kokoši nesilice pasmine White Leghorn (WL) u dobi od 42 tjedna. 120 kokoši nesilica bilo je pojedinačno smješteno u kaveze te im je davna ista krmna smjesa podijeljena u 10 tretmana. T1 kontrolna grupa, T2 0,5 ppm AF, T3 1,0 ppm AF, T4 2,0 ppm AF, T5 1,0 ppm OA, T6 2,0 ppm OA, T7 4.0 ppm OA, T8, 0.5 ppm AF+1.0 ppm OA, T9, 1.0 ppm AF+2.0 ppm OA, T10, 2.0 ppm AF+4.0 ppm OA. Svaki tretman sastojao se od 6 replikacija (svaka nesilica predstavljala je jednu replikaciju). Nesilice su hranjene krmnom smjesom u usitnjenom obliku. Krmna smjesa sadržavala je 18.2 % CP i 2,720 kcal/kg ME. Rađena je prema uputama Zavoda za indijske standarde (BIS, 1992). Proizvodnja jaja bilježila se na dnevnoj bazi, konzumacija krmne smjese analizirala se tjedno, a količina ukupne krmne smjese računala se za cijelo razdoblje po tretmanu. Masa jaja prikazana je u gramima, a prosječna ukupna masa jaja snesenih u 50 dana uzeta je kao masa jaja svake godine. Koeficijent iskorištenja hrane računat je kao količina hrane po kilogramu jajčane mase. Također su mjereni pokazatelji kvalitete jaja (indeks oblika, indeks bjelanjka, indeks žumanjka, HU jedinice i debljina ljuske. (NEF) je izračunata prema formuli koju koristi Reddy (1972). Hranjenjem T4, T7, T8, T9 i T10 uzrokovalo je značajno smanjenje

unosa hrane kod nesilica. Dnevna proizvodnja jaja značajno je smanjena na svim razinama toksina, osim 0,5 ppm AF. Najveće smanjenje proizvodnje jajeta uočeno je s 2 i 4 ppm AF i OA. Prosječna tjelesna težina i težina jaja nisu bili pod utjecajem hrane sa toksinima. Konverzija hrane u smislu neto konverzije hrane i konzumacije hrane potrebne za proizvodnju deset jaja bila je znatno smanjena kod viših razina toksina i njihovih kombinacija. Potrošnja harane za proizvodnju 1 kg jajne mase ostala je netaknuta zbog hranjenja aflatoksinom, dok je značajan porast vrijednosti iste zabilježen na razini 4 ppm OA i kombinaciji 1 i 2 ppm AF i 2 i 4 ppm OA (T9 i T10). Različite razine OA (1-4 ppm) i sva kombinacija dva toksina (T8, T9 i T10) značajno su izmijenili indeks oblika jaja u kokoši nesilice. Debljina ljuske značajno je smanjena višom razinom AF (2 ppm), OA (2 i 4 ppm) i njihovom kombinacijom. Indeks albumina, Haugh jedinice i indeks žumanjaka ostali su nepromijenjeni uslijed ugradnje toksina u prehranu. Zaključeno je da AF, OA bilo pojedinačno ili u kombinaciji u višim koncentracijama može značajno smanjiti učinkovitost u smislu proizvodnje jaja i učinkovitosti hrane, a značajan utjecaj imali su i na parametre kvalitete jaja, tj. indeks oblika i debljina ljuske.

Suchý i sur. (2007.) istraživali su ima li krmni pripravak "ZeoFeed" učinak na produktivnost kokoši nesilica. U pokusu je korišteno 120 nesilica hibridne linije Isa Brown. Nesilice, podijeljene u dvije skupine (60 kontrolnih i 60 pokusnih kokoši) bile su hranjenje komercijalnim kompletnim krmnim smjesama N1 (prvog pola razdoblja nesivosti) i N2 (drugog pola razdoblja nesivosti). Tijekom cijelog razdoblja istraživanja nesilice su hranjene i napajane *ad libitum,* a kompletne krmne smjese istog sastava hranjivih tvari za obje skupine (pokusnu i kontrolnu) razlikovale su se u dodatku klinoptilolita u obliku krmnog pripravka "ZeoFeed". Navedeni pripravak bio je dodan u krmne smjese (N1 i N2) pokusne skupine kokoši nesilica u količini od 1 %. Tijekom istraživanja koje je trajalo 315 dana pratila se dnevna nesivost (broj snesenih jaja i njihova masa) i dnevni utrošak krmne smjese. Nakon analize i obrade podataka došlo se do zaključka da je dodatak pripravka "ZeoFeed" u krmne smjese pokusne skupine u koncentraciji od 1 % dao pozitivan učinak na klinoptilolita na njihovu produktivnost. Tako su tijekom razdoblja istraživanja od 315 dana kokoši pokusne skupine nesi snijele 16 474 jaja, a kontrolna skupina nesilica 16 289 jaja, što znači 185 jaja manje u odnosu na pokus. Također analizom podataka se utvrdila pozitivna potrošnja krmnih smjesa. Dnevni utrošak hrane tijekom pokusa u pokusnoj skupini u prosjeku je iznosio 126,22 g, a u kontrolnoj 127,92 g. Kokoši pokusne skupine trošile su 1,69 g manje hrane u odnosu na kokoši kontrolne skupine isto tako ovi rezultati potvrđuju da pripravak "ZeoFeed" poboljšava konverziju hrane.

Također, Straková i sur. (2007.) proveli su istraživanje o učinku "ZeoFeed" pripravka na pokazatelje kvalitete jaja kod kokoši nesilica. U pokusu je korišteno 30 kokoši nesilica hibridne linije Isa Brown. Nesilice su podijeljene u dvije skupine (30 kontrolnih i 30 pokusnih) i hranjene komercijalnim kompletnim krmnim smjesama N1 (prva polovica razdoblja nesivosti) i N2 (druga polovica razdoblja nesivosti). Cijelo razdoblje istraživanja koristile su se krmne smjese istog sastava hranjivih tvari, s time što su krmne smjese namijenjene pokusnoj skupini kokoši nesilica sadržavale klinoptilolit u obliku krmnog dodatka ZeoFeed i količini od 1 %. Hranu i vodu sve su kokoši dobivale *ad libitum*. Tijekom razdoblja nesivosti svaka 4 tjedna uzimana su jaja od 30 kontrolnih i 30 pokusnih nesilica (9 mjerenja). U njima su određene masa bjelanjka (g i %), masa žumanjka (g i %), masa ljuske

(g i %), čvrstoća ljuske (N/cm^2) te boja žumanjka (ljestvica u boji La Roche). Tijekom pokusnog razdoblja ukupno je analizirano 270 jaja pokusne skupine nesilica (ZeoFeed) i 270 jaja kontrolne skupine (krmne smjese bez dodanog klinoptilolita). Na temelju statističke obrade dobivenih rezultata istraživanja može se uočiti da niti dugotrajno davanje (250 dana) klinoptilolita putem pripravka ZeoFeed u krmne smjese pokusnih nesilica tijekom razdoblja nesenja nije značajnije utjecalo na masu ljuske jajeta. Iz dobivenih rezultata proizlazi da je prosjek postotnog udjela mase žumanjka u ukupnoj masi jajeta pokusne skupine kokoši nesilica bio za 0,38 % niži u usporedbi s kontrolom. Prosječne vrijednosti mase bjelanjka i postotnog udjela mase bjelanjka u ukupnoj masi jajeta nisu se značajno razlikovale. Dobiveni rezultati prosječne mase bjelanjka iznosili su tijekom cijelog razdoblja istraživanja kod pokusne skupine nesilica 42,60 g, a kod kontrolne 42,01 g. Pri postotnom izražavanju bjelanjak je u jajima pokusne skupine nesilica iznosio u prosjeku 63,21 %, a u jajima kontrolne skupine 62,81 %. Dok je rezultat prosječne čvrstoće ljuske jaja pokusne skupine kokoši nesilica tijekom cijelog razdoblja istraživanja iznosio 32,11 N/cm^2, a kod kontrolne skupine 32,94 N/cm^2.

3. Hipoteza i cilj istraživanja

Hipoteza:

Na temelju dosadašnjih istraživanja te pregleda literature, pretpostavka našeg istraživanja je bila:

- Dodatak adsorbensa u krmnu smjesu kokoši nesilica imati će pozitivan učinak na proizvodne pokazatelje kokoši i fizikalne pokazatelje kakvoće jaja.

Cilj rada:

Cilj ovog diplomskog rada bio je istražiti učinak dodatka adsorbensa u krmnu smjesu kokoši nesilica na:

- proizvodne pokazatelje (visina nesivosti, konzumacija i konverzija krmne smjese te mortalitet kokoši)
- fizikalne pokazatelje kakvoće jaja (masa, oblik, čvrstoća ljuske, visina bjelanjka, HU, boja žutanjka, udjeli pojedinih dijelova u jajetu)

4. Materijali i metode

4.1. Smještaj

Istraživanje učinka adsorbensa na produktivnost kokoši nesilice provedeno je u period između 30. studenog 2017. do 01. ožujka 2018. u prostoru za izvođenje pokusa, Zavoda za hranidbu životinja na Agronomskom fakultetu, Sveučilišta u Zagrebu. Korišteno je 90 Hisex brown kokoši nesilica nabavljenih iz tvrtke Perfa-bio d.o.o. u dobi od 20 do 32 tjedna života. Prije smještaja u kaveze, kokoši su bile izvagane. Slučajnim izborom kokoši su podijeljene u 30 kaveza, po 3 kokoši u svakom kavezu. Kavezi su podijeljeni u 3 tretmana. Broj replikacije po grupi bio je 10 (svaki kavez smatrao se jednom replikacijom). Da bi se izbjegao položajni efekt tretmani su bili raspoređeni kako je prikazano u Tablici 4.1.1..

Tablica 4.1.1. Prikaz primjene tretmana po kavezima

	Prednja strana					Stražnja strana				
Kavez	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**16**	**17**	**18**	**19**	**20**
Tretman	1	1	1	1	1	2	2	2	2	2
Kavez	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**21**	**22**	**23**	**24**	**25**
Tretman	2	2	2	2	2	3	3	3	3	3
Kavez	**11**	**12**	**13**	**14**	**15**	**16**	**27**	**28**	**29**	**30**
Tretman	3	3	3	3	1	1	1	1	1	1

Kokoši su smještene u unaprijed pripremljenim i dezinficiranim kavezima. Kavezi su bili baterijskog tipa, dimenzija 40 × 46 × 44 cm. Ispod svakog kaveza nalazila se limena posuda za skupljanje izmeta. Kavezi su imali žičane podove, s nagibom prema prednjoj strani i čvrste metalne zidove, na taj način osiguravajući prostor poda od 610 cm^2/kokoši. Hrana i voda su osigurane *ad libitum* za sve tretmane. Svijetla su bila iznad glave i pratile raspored 16 sati svjetla + 8 sati mraka, od 7:00 do 23:00. Ventilacija je bila prirodna (gravitacijska) te je prostor bio grijan sa dva električna radijatora. Temperatura u objektu bila je 18 °C sa relativnom vlažnosti zraka 60 %.

4.2. Hranidba kokoši nesilica

Hrana je pripremljena u skladu sa osnovnim prehrambenim potrebama kokoši nesilica. Sva hrana, uključujući hranu tijekom adaptacijskog perioda od 2 tjedna te hranu tijekom istraživanja, je napravljena te isporučena od strane FANON d.o.o. tvrtke. Sve kokoši nesilice hranjene su krmnom smjesom istog sirovinskog sastava pri čemu je prvi tretman bio bez dodataka (kontrolna grupa), kod drugog tretmana (T2) dodano je 2 kg adsorbensa na 1 tonu krmne smjese (0,2 %) dok je kod trećeg tretmana (T3) dodano 20 kg adsorbensa na svaku tonu krmne smjese (2 %). Hranilice pocinčanog tipa nalazile su se s vanjske strane svakog kaveza, čime je bilo omogućeno neometano ručno punjenje. Kako bi se spriječilo miješanje krmnih smjesa, na svakoj hranilici, na uočljivom mjestu bilo je istaknuto koji tretman se nalazi unutar hranilice. Svaki kavez bio je opremljen s dvije automatske „nipl pojilice“ preko kojih su kokoši nesilice u svakom trenutku imale na raspolaganju dovoljnu količinu vode. Opis hranidbenog tretmana prikazan je u Tablici 4.2.1.

Tablica 4.2.1. Opis prehrambenog tretmana korištenog u istraživanju

Tretman	Opis
1	Kontrolna grupa
2	2 kg adsorbensa / 1 t krmne smjese
3	20 kg adsorbensa / 1 t krmne smjese

Analiza kemijskog sastava krmne smjese po tretmanima napravljeno je u laboratoriju Zavoda za hranidbu životinja na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu te su rezultati prikazani u Tablici 4.2.2.

Tablica 4.2.2. Prikaz analize stočne hrane

Pokazatelj	Mjerne jedinice	T1	T2	T3
Vlaga	g/kg	102,00	104,00	97,00
Pepeo	g/kg	119,00	134,00	132,00
Sirovi proteini	g/kg	160,60	169,60	169,30
Sirove masti	g/kg	49,00	45,00	69,00
Sirova vlakna	g/kg	53,00	49,00	52,00
Ca	g/kg	38,60	47,80	41,12
P	g/kg	5,00	5,00	5,00
Na	g/kg	1,90	1,90	1,80
Škrob	g/kg	345,40	343,60	297,10
Šećeri	g/kg	42,60	41,70	43,50

4.3. Konzumacija i konverzija krmne smjese

Tijekom pokusa kokoši su uzimale hranu *ad libitum*. Bilježen je unos krmne smjese na tjednoj bazi, a potom je izračunata konverzija. Konverzija hrane izračunata je kao kvocijent ukupne količine krmne smjese pojedene u 2 tjedna te ukupne količine dobivene jajčane mase u istom razdoblju, za svaki tretman zasebno.

4.4. Visina nesivosti

Visina nesivosti je uz konverziju krmne smjese i kvalitetu jaja jedan od važnijih pokazatelja u proizvodnji konzumnih jaja. Nesivost kod hibridnih nesilica počinje u dobi od 18 tjedana, kada je oko 5 %, zatim raste te je u 28. tjednu iznad 90 %. Dostignuta visoka razina nesivosti traje, ovisno o hibridu, oko 13 tjedana, a zatim opada. Kod većine hibrida nesivost do dobi od 72 tjedna, tj. do 52. tjedna proizvodnje je oko 280 jaja po useljenoj kokoši. Uzroci pada nesivosti mogu biti slabija kvaliteta hrane, promjene temperature izvan optimalnih (više od 28 °C i niže od 4 °C), bolest u jatu, cijepljenja i ostalo (Senčić i Samac 2017.). Visina nesivosti izračunata je iz podataka o broju jaja snesenih u 2 tjedna tako da se podijelio broj jaja sa brojem dana i brojem kokoši po tretmanu.

4.5. Određivanje pokazatelja fizikalne kakvoće jaja

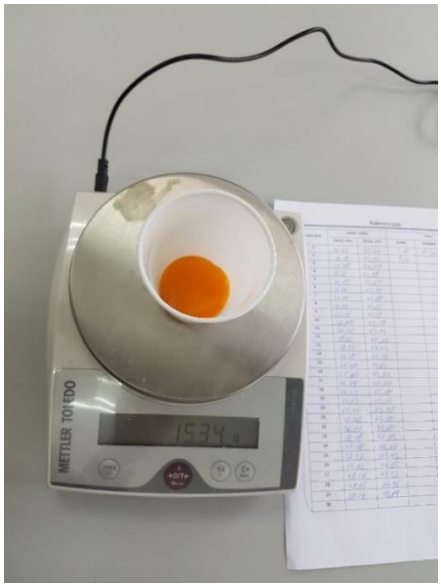
Na kvalitetu jaja utječu okolišni uvjeti kao što su temperatura, vlaga kod skladištenja, kao i plinovi u okolini, te vrijeme čuvanja (Akyurek i Okur 2009.). U laboratoriju Zavoda za hranidbu životinja Sveučilišta u Zagrebu, mjereni su pokazatelji fizikalne kakvoće jaja (masa jaja, indeks oblika, čvrstoća ljuske, Haugh jedinice, visina bjelanjka, boje žumanjka, postotak ljuske, bjelanjka i žumanjka) svaka 2 tjedna (sva jaja proizvedena tijekom 24h). Mjerenje je provedeno za svaki tretman (T1, T2, T3) i to prvog, četrnaestog, dvadeset i osmog, pedeset i šestog i sedamdesetog dana istraživanja.

4.5.1. Masa jaja

Masa jaja ovisi o vrsti peradi, ciklusu nesenja, dobi nesilica, spolnom sazrijevanju, godišnjem dobu (temperatura, svijetlost), hranidbi i mnogim drugim čimbenicima (Kralik i sur. 2008.). Postoje varijacije u masi jaja, primjerice, mlade kokoši na početku nesenja daju sitnija i lakša jaja od starih kokoši nesilica. Masa jaja povezana je i s tjelesnom masom kokoši. Tako teže kokoši daju teža i krupnija jaja. Masa jaja izražava se kao ukupna masa ljuske, bjelanjka i žumanjka. U istraživanju je najprije izvagana ukupna masa jajeta, a zatim posebno svaka od komponenta. Vaganje je izvršeno preciznom digitalnom vagom marke Mettler Toledo Jewelry (Slika 4.5.1.2. i 4.5.1.3.) i analitičkim uređajem NABEL - Digital Egg Tester DET–6000 (Slika 4.5.1.1.). Masa je prikazana u gramima (g).



Slika 4.5.1.1. Mjerenje ukupne mase jaja na analitičkom uređaju NABEL - Digital Egg Tester DET–6000
Izvor: Arhiva Zavoda za hranidbu životinja



Slika 4.5.1.2. Određivanje mase žumanjka
Izvor: Arhiva Zavoda za hranidbu životinja



Slika 4.5.1.3. Određivanje mase ljuske jajeta
Izvor: Arhiva Zavoda za hranidbu životinja

4.5.2. Indeks oblika

Oblik jajeta (indeks oblika) značajno je fizikalno svojstvo jaja sa zoohigijenskog i trgovačkog stajališta. Prikazuje se Indeksom oblika (IO) ili form indeksom, a predstavlja omjer širine i visine jajeta. Za izračunavanje indeksa oblika koristi se sljedeća formula (Panda 1996.):

$$IO\ (\%) = \frac{\text{širina} \times 100}{\text{visina}}$$

4.5.3. Čvrstoća ljuske

Čvrstoća ljuske važna je za normalnu manipulaciju i rukovanje jajima. Čvrstoća ljuske očituje se u sili pod čijim djelovanjem dolazi do pucanja ljuske jajeta. Tijekom trajanja pokusa čvrstoća ljuske mjerena je pomoću automatskog analitičkog uređaja NABEL - Digital Egg Tester DET–6000 (Slika 4.5.3.1.). Uređaj mehanički djeluje silom na ljusku jajeta, sve dok ne dođe do puknuća. Sila koja je bila potrebna za lomljenje ljuske prikaže se na ekranu uređaja (kgf).



Slika 4.5.3.1. Mjerenje čvrstoće ljuske
Izvor: arhiva Zavod za hranidbu životinja

4.5.4. Određivanje boje žumanjka, visine bjelanjka i Haugh jedinica

Haugh jedinice (HU) su pokazatelj svježine jaja, a izračunavaju se na temelju visine bjelanjka i mase jajeta, prema formuli:

$$\mathbf{HU = 100 \log (H + 7{,}57 - 1{,}7\ M^{0{,}37})}$$

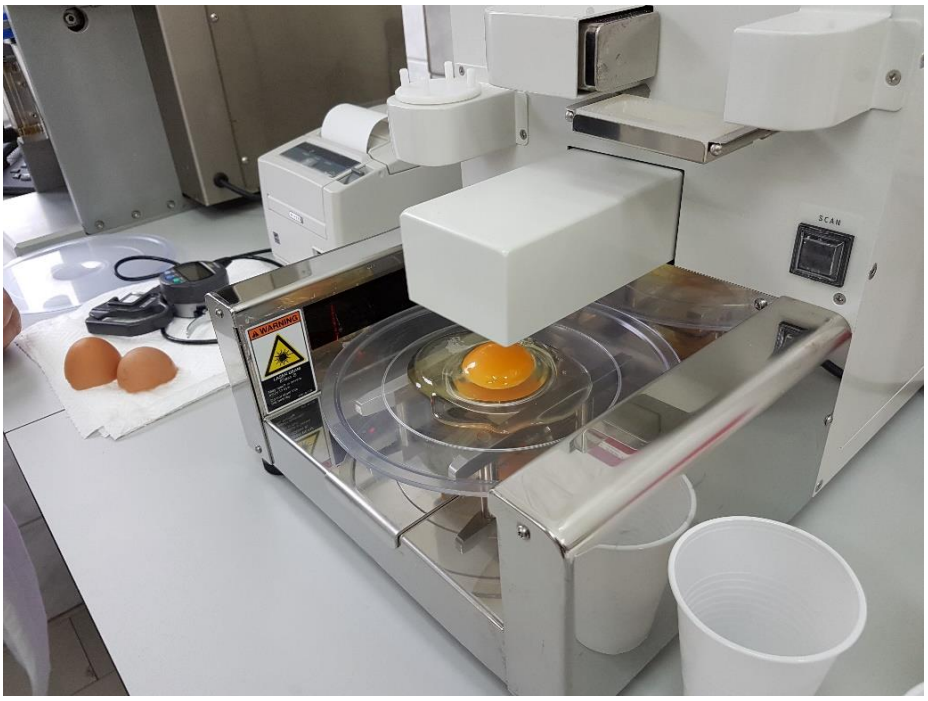
Gdje je: **H** = Visina bjelanjka (mm), a **M** = masa jajeta (g)

Visina bjelanjka mjeri se uz žumanjak. Visina bjelanjka brže opada porastom temperature skladištenja. Ovisnost visine bjelanjka o temperaturi okoliša i vremenu skladištenja može se izraziti formulom:

$$h = 6{,}95 - 0{,}12\,T - 0{,}10\,t$$

Gdje je: **h** = visina bjelanjka, **T** = temperatura skladištenja i **t** = vrijeme skladištenja

Za određivanje boje žumanjka, visine bjelanjka i Haugh jedinica korišten je automatski analitički uređaj NABEL - Digital Egg Tester DET–6000 (Slika 4.5.4.1.). Mjerenju je pristupljeno neposredno nakon razbijanja ljuske te mjerenja njezine čvrstoće i debljine. Uređaj posjeduje posebnu prozirnu površinu na koju se izlije žumanjak zajedno s bjelanjkom. Uređaj pomoću lasera skenira žumanjak i bjelanjak te se nakon nekoliko sekundi na ekranu pojavi vrijednost boje žumanjka i Haugh jedinica i visine bjelanjka.



Slika 4.5.4.1. Određivanje boje žumanjka, visine bjelanjka i Haugh jedinica
Izvor: arhiva Zavod za hranidbu životinja

5. Rezultati i rasprava

5.1. Prosječna konzumacija hrane

Tablica 5.1.1. Prosječna konzumacija hrane po kokoši od 1. do 6. tjedna istraživanja (g)

Tretman	1 tjedan	2 tjedan	3 tjedan	4 tjedan	5 tjedan	6 tjedan
1	108,31	125,83	127,26	129,42	132,59	140,14
2	114,92	127,17	128,81	134,67	127,10	134,29
3	114,57	122,58	123,85	130,57	128,33	131,51

Tablica 5.1.2. Prosječna konzumacija hrane po kokoši od 7. do 11. tjedna istraživanja (g)

Tretman	7 tjedan	8 tjedan	9 tjedan	10 tjedan	11 tjedan	1 – 11 tjedna
1	141,57	131,36	127,15	137,18	131,61	130,22
2	143,26	133,95	127,76	129,81	138,96	130,97
3	138,90	126,86	121,04	128,78	134,66	127,42

Iz Tablica 5.1.1. i 5.1.2. vidljivo je da su kokoši, unutar sva tri tretmana, u 1. tjednu imale najmanju prosječnu konzumaciju hrane, a u 7. tjednu najvišu konzumaciju. U prosjeku su kokoši iz tretmana T2 najviše hrane konzumirale, one iz tretmana T1 imale su srednju konzumaciju, dok su najmanju prosječnu konzumaciju imale kokoši iz tretmana T3.

Rezultati pokazuju da je u slučaju visokih razina adsorbensa u hrani (20 kg/t) dobivena najniža količina pojedene hrane po kokoši. Iako statistička razlika nije utvrđena moglo bi se reći da je dodatak adsorbensa u količini od 20 kg/toni krmne smjese imao negativan utjecaj na visinu konzumacije. Slične rezultate dobili su Suchý i sur. (2007.) u svom istraživanju.

5.2. Konverzija

Tablica 5.2.1. Prosječna konverzija krmne smjese

Tretman	2. i 3. tjedan	4. i 5. tjedan	6. i 7. tjedan	8. i 9. tjedan	10. i 11. tjedan	prosječno
T1	2,34	2,32	2,39	2,30	2,41	2,35
T2	2,55	2,42	2,69	2,39	2,47	2,50
T3	2,30	2,32	2,39	2,30	2,31	2,32

Iz tablice je vidljivo da je konverzija krmne smjese bila ujednačena za tretmane T1 i T3 dok za tretman T2 konverzija bila znatno viša.

Rezultati našeg istraživanja ne podudaraju se sa istraživanjima koja su provedena od strane Suchý i sur. (2007.), jer su oni utvrdili da se sa dodatkom adsorbenta konverzija krmne smjese smanjuje.

5.3 Nesivost

Tablica 5.3.1 Prosječna visina nesivosti, %

Tretman	2. i 3. tjedan	4. i 5. tjedan	6. i 7. tjedan	8. i 9. tjedan	10. i 11. tjedan	prosječno
T1	94,05	92,38	94,52	90,00	88,81	91,95
T2	85,71	87,86	81,90	85,48	85,48	85,29
T3	91,67	90,00	89,52	92,38	89,76	90,67

U Tablici 5.3.1. su prikazani rezultati visine nesivosti po tretmanima periodično kao i prosječna vrijednost po tretmanu kroz cijelo vrijeme trajanja istraživanja. Značajno nižu nesivost ostvarile su kokoši tretmana T2 kroz cijelo vrijeme istraživanja pa tako i na početku istraživanja zbog čega prikazane rezultate ne treba dovoditi u vezu sa tretmanom. Simptomatično je da visina nesivost u tretmanima sa dodatkom adsorbenta bila više-manje konstantna kroz svih 11 tjedana istraživanja dok je nesivost u kontrolnom tretmanu imala tendenciju značajnijeg pada. Iz tih rezultata se može detektirati pozitivan učinak dodavanja adsorbenata mikotoksina u krmne smjese za kokoši nesilice. U već spomenutom istraživanju autora Suchý i sur. (2007.) postignuti su slični rezultati gdje je također utvrđen pozitivan učinak dodavanja adsorbenata na visinu nesivosti.

5.4. Fizikalni pokazatelji kakvoće jaja

Tablica 5.4.1. Fizikalni pokazatelji kakvoće jaja na tijekom istraživanja

	1. dan								
Tretman	Masa jaja (g)	Indeks oblika	Čvrstoća ljuske (kgf)	HU	Visina bjelanjka (mm)	Boja žutanjka (YCF)	Udio ljuske (%)	Udio žutanjka (%)	Udio bjelanjka (%)
T1	54,10	80,25	4,29	78,19	6,29	13,15	13,77	20,18	62,88
T2	53,17	79,38	4,41	70,04	5,47	12,06	13,79	18,64	67,33
T3	53,67	79,70	4,41	79,64	6,60	11,91	13,73	20,31	65,96
	14. dan								
T1	56,16	80,73	4,29	75,76	6,18	13,00	13,98	21,28	65,31
T2	58,91	79,85	4,40	79,10	6,91	11,97	13,39	21,68	64,95
T3	58,42	80,63	4,44	86,90	7,80	11,61	13,56	21,69	64,77
	28. dan								
T1	59,75	80,71	4,12	85,31	7,74	12,92	13,04	22,41	64,49
T2	61,22	79,77	4,01	83,20	7,54	11,92	12,61	21,51	65,90
T3	62,59	80,44	4,27	81,57	7,44	11,30	12,69	22,10	65,23
	42. dan								
T1	61,72	80,26	4,00	81,45	7,15	13,27	13,19	23,56	63,29
T2	63,11	79,63	4,20	83,64	7,52	12,34	13,28	23.10	63,62
T3	63,45	79,75	4,39	79,47	7,01	11,84	12,91	23,60	63,51
	56. dan								
T1	62,62	79,60	3,97	86,06	7,64	12,66	12,79	24,62	63,27
T2	62,27	79,69	3,02	80,93	7,05	11,37	12,91	24,35	62,74
T3	63,73	78,26	4,00	80,19	6,93	11,62	12,52	24,37	63,11
	70. dan								
T1	63,46	79,70	4,18	87,24	7,86	12,90	13,65	23,57	62,80
T2	64,50	79,24	4,18	86,98	7,85	12,28	13,71	23,26	59,47
T3	64,24	79,25	4,22	88,46	8,11	11,58	12,78	24,07	63,17

Rezultati fizikalnih pokazatelja kvalitete jaja tijekom istraživanja ukazuju na oscilaciju mase jaja za sva tri tretmana. Tretman T1 uglavnom je pokazivao najniže rezultate tijekom istraživanja, T2 srednje, a T3 najviše. Sve utvrđene razlike nisu bile značajne.

Indeks oblika je neznačajno varirao između tretmana te dana. Sa sigurnošću se može potvrditi da, za ovo istraživanje, nije bilo utjecaja adsorbensa na indeks oblika jajeta. Istraživanjem se pokazalo da su rezultati čvrstoće ljuske imali blage i neznačajne varijacije za tretmane i dane, osim iznimke 56. dana kada je tretman T2 imao pad u rezultatu, ali T1 i T3

ostaju podjednaki kao i za ostale dane. HU pokazuje najveće varijacije u rezultatima među danima i tretmanima tijekom cijelog istraživanja. Niži rezultati za sve tretmane dobiveni su za 1. i 14. dan, a najviši su bili u 70. danu mjerenja, po čemu se zaključuje da postoji oscilacija povezana sa danima istraživanja. Razlike u tretmanima nisu bile dosljedne zbog čega su potrebna daljnja istraživanja za dovoljan dokaz o utjecaju adsorbensa na HU u jajima. Visina bjelanjka bila je najniža 1. dana testiranja za tretman T2, a najviša za sve tretmane 70. dan. Rezultati dobiveni za dane i tretmane nisu međusobno značajno odstupali, ali s obzirom na rezultate zadnjeg mjerenja (70. dan) potrebna su daljnja istraživanja kako bi se ustanovilo da li bi visina bjelanjka još više rasla. Vezano za boju žutanjka potrebno je naglasiti da, iako nije bilo velike razlike u rezultatima tretmana i dana, da se kontrolna grupa (T1) isticala kao tretman sa najvišim vrijednostima boje.

Prema rezultatima analize fizikalnih pokazatelja kakvoće jaja prikazanih u Tablici 5.4.1., možemo utvrditi da dodatak adsorbenata u krmne smjese za kokoši nesilice nije imao utjecaj na masu, indeks oblika, čvrstoću ljuske, HU, visinu bjelanjka, boju žutanjka kao ni udjele pojedinih dijelova u jajetu.

5.5. Mortalitet

Potrebno je naglasiti da je tijekom provedbe ispitivanja praćen i mortalitet, ali podaci nisu prikazani u tablicama jer za vrijeme istraživanja nije bilo mortaliteta kokoši niti u jednom tretmanu.

Ovi rezultati u skladu su sa prijašnjim istraživanjima Öztürk i suradnika (1997.) kod kojih su dobiveni neutralni rezultati za dodatka zeolita na mortalitet nesilica za sve tretmane.

6. Zaključak

Na temelju rezultata dobivenih u istraživanju možemo konstatirati da nije utvrđena značajna razlika između tretmana. Odnosno, dodatak adsorbenata nije imao učinak na proizvodne rezultate (konzumaciju, konverziju, nesivost, mortalitet) kao ni fizikalne pokazatelje kakvoće jaja (masa, indeks oblika, čvrstoća ljuske, visina bjelanjka, HU, udijele pojedinih dijelova u jajetu).

Razlog takvih rezultata treba pripisati higijenskoj i zdravstvenoj ispravnosti krmne smjese koja se koristi u komercijalnoj proizvodnji jaja, a koja je korištena i u ovom istraživanju. Stoga bi ovakva istraživanja ubuduće trebali provesti korištenjem krmne smjese u kojoj je utvrđena prisutnost mikotoksina.

7. Literatura

1. Akyurek H., Okur A. A. (2009.): Effect of Storage Time, Temperature and Hen Age on Egg Quality in Free -Range Layer Hens. Department of Animal Science, Faculty of Agricultural, Namik Kemal University, Tekirdag, Turkey. Journal of Animal and Veterin ary Advances. str. 8 (10): 1953-1958
2. Bainton S.J. (1980.): Mycotoxin training manual. Tropical products Institute, London, 177.
3. Bankole, S. A., Adebanjo A. (2003.): Mycotoxins in food in West Africa: current situation and possibilities of controlling. African Journal of Biotechnology, str. 2(9):254-263.
4. Bhatnagar, D. (2010.):Elimination of postharvest and preharvest aflatoxins contamination. 10th International working conference on stored product protection, Section: Microbiology, mycotoxins and food safety,425, Estoril, Portugal.
5. Chelkowski (2011.) Determining Mycotoxins and Mycotoxigenic fungi in food and feed. Woodhead Publishing Limited
6. Cvjetković B. (2014). Pregled sredstava za zaštitu bilja, str. 1-2,1-222.
7. De Wolf E. D., Madden L. V., Lipps P. E. (2003). Risk Assessment Models for Wheat Fusarium Head Blight Epidemics Based on Within-Season Weather Data Phytopathology, str. 93; 4,428-435
8. Duraković S., Duraković L. (2000). Specijalna mikrobiologija. Durieux, Zagreb. str. 03-58.
9. Furlan I. (2016) Određivanje mikotoksina u stočnoj hrani – kukuruz u zrn u završni rad, str. 16, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera, Osijek
10. Gilberston R.L., Brown W.M., Ruppel Jr. E.G., Capinea J.L. (1986). Association of Corn Stalk rot Fusarium spp. and Wetern Corn Rotworm Beetles in Colorado, Phytopathology, str. 76; 12, 1309-1314.
11. Grbeša D. (2005). Mikotoksini zrna kukuruza i mikotoksikoze svinja : agronomski načini sprječavanja // Mogućnosti razvoja hrvatske svinjogojske proizvodnje : zbornik radova. Zagreb: Hrvatski stočarski centar, 2005. str. 53-66
12. HASKAP (2017). Zeolit i njegova primjena http://haskap.suvenirko.hr/index./zeolit-i-njegova-primjena pristupljeno 15. srpnja 2018
13. Jones R.K (1981). Effect of nitrogen fertilizer, planting date and harvest date on aflatoxin production in corn inoculated with Aspergillus flavus
14. Kralik G. (2008). Peradarstvo : biološki i zootehnički principi. Sveučilišni udžbenik, Grafika d.o.o., Osijek.
15. Kurtz B., Karlovsky P.,Vidal S. (2010). Interaction between western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) larvae and root infecting Fusarium verticillioides Environmental entomology, str. 29-37

16. McMillian W. W., Wilson D. M., Widstrom N. W. (1978). Insect Damage, Aspergillus flavus Ear Mold, and Aflatoxin Contamination in South Georgia Corn Fields in 1977 Journal of Environmental Quality, str. 7; 4,564-56.
17. Haider M. A. (2014.) Study on productive performance and management of hisex brown at islam poultry farm, chittagong. Faculty of Veterinary Medicine Department of Dairy and Poultry Science online 7 (1) 1-3 http://101.2.160.165:8080/bitstream/handle/123456789/455/Production%20report_E49%28pdf%29.pdf?sequence=1 Pristupljeno 27. srpnja 2018.
18. Nemanič J., Berić Ž. (1995). Peradarstvo. Naknadni zavod Globus, Zagreb.
19. Öztürk E., Güray ERENER, Musa SARICA (1997). University of Ondokuz Mayıs, Faculty of Agriculture, Department of Animal Science, 55139-Kurupelit-Samsun-TURKEYInfluence of Natural Zeolite on Performance of Laying Hens and Egg Quality
20. Ožegović L., Pepeljnjak S. (1995). Mikotoksikoze. Školska knjiga, Zagreb.
21. Panda P. C. (1996). Shape and Texture. In Textbook on Egg and Poultry Technology. First Edition, New Delhi, India.
22. Pitt J. I., Hocking A. D. (2009). Fungi and food spoilage (3rd ed.). Springer, New York.
23. Rossi V. (2008). La Fusariosi della spiga: una annata favorevole alla malattia che conferma però l affidabilità dei sistemi di previsione, Filiera grano duro news 2008; (8): 2-3. http://hdl.handle.net/10807/45912 Pristupljeno 15.srpnja. 2018
24. Rupić V. (2009). Zarazne i parazitske (nametničke) bolesti Hrvatska mljekarska udruga, Zagreb. Str. 185 – 209
25. Senčić Đ., Samac D. (2017). Jaja. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek. Str. 19, 40 – 41, 45 – 46, 67
26. Straková E. (2007) UČINAK KRMNOG PRIPRAVKA "ZEOFEED" NA KAKVOĆU JAJA KOKOŠI Krmiva 49 (2007), Zagreb, str. 4; 199-205
27. Suchý P. UČINAK KRMNOG PRIPRAVKA "ZEOFEED" NA PRODUKTIVNOST KOKOŠI NESILICA Krmiva 49 (2007), Zagreb, str. 5; 243-247
28. Sweeney MJ. i Dobson ADW. (1998). Mycotoxin production by Aspergillus, Fusarium ad Penicillium species. Int J Food Microbiol, str. 43, 141-158.
29. Tamra A. (2012.) Corn Disease Profile III. Ear Rot Diseases and Grain Molds, University of Nebraska–Lincoln, Department of Agriculture. http://extensionpublications.unl.edu/assets/pdf/ec1901.pdf Pristupljeno 15. kolovoza 2018.
30. Valpotić H. Šerman V. (2006.) Utjecaj mikotoksina na zdravlje i proizvodnost svinja. Krmiva str. 48, 33-42.
31. Verma J. Effect of Varying Levels of Aflatoxin, Ochratoxin and Their Combinations on the Performance and Egg Quality Characteristics in Laying Hens
32. Wegulo S. N. (2008). Fusarium Head Blight of Wheat, https://www.hubnerseed.com/content/dam/hubner-seed/en-us/agronomy/pdf/Fusarium%20Head%20Blight%20and%20Management%20in%20Wheat%20-%20Hubner.pdf Pristupljeno 18. srpnja 2018.

33. Widstrom N.W. (1996.): Advances in Agronomy.UD. Sparks (Ed.). The aflatoxin problem with corn grain,219-280. Academic Press, New York, USA.
34. Williams J.H. (2004.): Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions Am J Clin Nutr.,80:1106-1122.

Životopis

Filip Di Nuzzo rođen je 03. listopada 1993. godine u Zagrebu. Osnovnu školu završio je u Zagrebu, nakon koje, 2008. Godine, upisuje srednju medicinsku školu, Zdravstveno učilište u Zagrebu, smjer sanitarni tehničar. Nakon završenog srednjoškolskog obrazovanja te položene državne mature, 2012. godine upisuje na Sveučilištu u Zagrebu preddiplomski sveučilišni studij Ekološka poljoprivreda. Stručnu praksu na preddiplomskom studiju odrađuje u centru za travnjaštvo agronomskog fakulteta u Zagrebu. 2015. godine završava studij u roku te stječe zvanje prvostupnika inženjera ekološke poljoprivrede. Iste godine upisuje diplomski studij na Agronomskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, smjer Ekološka poljoprivreda i agroturizam. Na diplomskom studiju odrađuje praksu također u Centru za travnjaštvo te sudjeluje u proizvodnji, korištenju te analizi krme, cjepljenju životinja te edukaciji predškolske djece o domaćim životinjama (načinu držanja, hranide te postupanja i brige za domaće životinje). Bio je sudionik na nekoliko konferencija: Agro Startup i Slavonika. Tijekom trajanja preddiplomskog i diplomskog studija radio je u Dukatu d.d u proizvodnji te skladištenju mliječnih proizvoda, Atlantik trade d.o.o. grupi na pakiranju prehrambenih i drugih proizvoda te Wurth – Hrvatska d.o.o., Blitz film i video distribucija d.o.o. Sajam automobila Zagreb d.o.o., Amo dizajn jj d.o.o. na raznim poslovima pakiranja, slaganja robe, komisioniranju i dr. Koristi se računalnim operativnim sustavom Microsoft Windows i programskim paketom Microsoft Office. Također vrlo dobro koristi engleski jezik u govoru i pismu.