
ANNALES
UNIVERSITATIS MARIAE CURIE-SKŁODOWSKA
LUBLIN – POLONIA

VOL. XXIII, 43

SECTIO EE

2005

Katedra Biochemii i Toksykologii Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt
Akademii Rolniczej w Lublinie

Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt
Akademii Rolniczej w Lublinie

Instytut Żywienia Zwierząt Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt Akademii Rolniczej w Lublinie

ANNA CZECH, PAWEŁ RÓŻAŃSKI, EUGENIUSZ R. GRELA

*Wpływ mannooligosacharydów w dawkach
dla źrebiąt na składniki krwi*

The Influence of Mannan Oligosaccharides in Foal Diets on Blood Composition

Młode konie, jak inne młode zwierzęta, narażone są na wnikanie drogą pokarmową różnego rodzaju drobnoustrojów, nie zawsze korzystnie oddziałujących w przewodzie pokarmowym. Czynione są więc starania wprowadzenia pożytecznej mikroflory bakteryjnej poprzez zastosowanie tzw. probiotyków lub też stworzenie korzystnych warunków dla rozwoju bakterii kwasu mlekowego, wprowadzając do paszy substancje zaliczane do prebiotyków. Wynikiem działania prebiotyków jest stymulacja odporności organizmu przez zróżnicowanie rozwoju pożądanej mikroflory jelitowej, zwalczanie infekcji powodowanych przez bakterie chorobotwórcze lub niwelowanie następstw będących wynikiem szkodliwego wpływu produkowanych przez nie toksyn [7]. Najskuteczniejszym bio- i immunomodulatorem są mannooligosacharydy, uzyskiwane ze ścian drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. Mannooligosacharydy (MOS) pobudzają lokalne mechanizmy obronne jelit (wydzielnicze immunoglobulin) oraz wykazują działanie neutralizujące w stosunku do szkodliwych bakterii [7]. Dotychczas wykonano szereg badań z wykorzystaniem mannooligosacharydów w żywieniu drobiu [1], prosiąt [6], cieląt [5], a także królików [2]. Niewiele jest natomiast doniesień dotyczących wpływu tego prebiotyku na zdrowotność źrebiąt.

Celem badań było określenie wpływu dodatku mannooligosacharydów w żywieniu źrebiąt na składniki hematologiczne krwi oraz wybrane wskaźniki profilu metabolicznego osocza.

MATERIAŁ I METODY

Badania zrealizowano w okresie od września 2003 r. do stycznia 2004 r. na źrebiętach rasy pełnej krwi angielskiej (xx) w Stadninie Koni w Kozienicach. Doświadczenie przeprowadzono na 20 roczniakach (10 klaczek i 10 ogierkach), które podzielono równomiernie z uwzględnieniem płci na dwie grupy – kontrolną (K) i doświadczalną (D). Zwierzęta obu grup otrzymywały jednakoowe dawki pokarmowe, w których zawartość składników pokarmowych była ustalona na podstawie zaleceń Norm Żywienia Koni [1997]. Skład dawki pokarmowej przedstawiono w tabeli 1. Grupa doświadczalna otrzymywała dodatkowo w paszy treściwej preparat zawierający mannano-oligosacharydy w ilości 10 g dziennie. W trakcie doświadczenia konie karmiono trzy razy dziennie. W odpasie porannym i wieczornym podawano owies gnieciony, a w południowym mieszankę paszową składającą się z gniecionego owsa oraz śruty z kukurydzy, pszenicy i nasion bobiku. Siano łąkowe zadawano trzy razy dziennie. Mieszankę paszową przed podaniem uwilgotcano wodą z niewielkim dodatkiem melasy. Pasze treściwe podawano do żłobów, a siano na drabinkę. Żrebięta miały nieograniczony dostęp do wody z poidel. Konie w stajni utrzymywano pojedynczo. Warunki środowiskowe (temperatura i wilgotność) w stajni były zgodne ze standardami dla koni. Przed rozpoczęciem doświadczenia i w jego trakcie konie odrobaczano.

Tab. 1. Skład dawki pokarmowej dla źrebiąt
Composition of foals' diet

Składniki dawki pokarmowej	Ilość paszy (kg)
Ziarno owsa	3,20
Śruta pszenna	0,20
Śruta z kukurydzy	0,10
Śruta z nasion bobiku	0,10
Siano łąkowe	4,00
Mieszanka mineralno- witaminowo-aminokwasowa ^a	0,006

^a Mieszanka mineralno-witaminowo-aminokwasowa zawierała w 1 kg: witamina A 640 j.m.; E 3 mg; B₁ 6,6 mg; B₂ 19,9 mg; B₆ 13,2 mg; B₁₂ 0,02 mg; biotyna 0,88 mg; kwas nikotynowy 226,4 mg; kwas pantotenowy 17,7 mg; kwas foliowy 8,8 mg; cholina 2,3 g; wapń 195 g; fosfor 6,3 g; sód 0,34 g; żelazo 153,6 mg; cynk 44,1 mg; lizyna 17,9 g; metionina 3,8 g; treonina 11,8 g; tryptofan 2,2 g.

W wieku dziesięciu miesięcy (początek doświadczenia) i czternastym miesiącu życia (koniec badań), przed porannym zadaniem paszy, od wszystkich źrebiąt pobrano krew z żyły zewnętrznej szyjnej. W pełnej krwi oznaczono: wskaźniki hematologiczne: liczbę hematokrytową (Ht), zawartość hemoglobiny (Hb), liczbę krwinek czerwonych (RBC) i białych (WBC) na aparacie hematologicznym ABACUS. W pełnej krwi wykonano leukogram, barwiąc rozmazy krwi metodą Pappenheima. W osoczu krwi oznaczono: zawartość glukozy, poziom białka ogólnego, triacylglicerydów (TG), cholesterolu całkowitego (Chol), frakcji HDL-chol, aktywność fosfatazy zasadowej (AP), aminotransferazy alaninowej (ALT), aminotransferazy asparaginianowej (AST) oraz dehy-

drogenazy mleczanowej (LDH) – przy użyciu monotestów firmy Cormay. Poziom lizozymu w surowicy krwi oznaczano metodą basenikowo-dyfuzyjną w żelu agarowym. Frakcję lipoproteinową cholesterolu o niskiej gęstości (LDL-chol) wyliczono ze wzoru Friedewalda [1972]:

$$\text{LDL-chol (mmol l}^{-1}\text{)} = \text{cholesterol całkowity} - \text{HDL-chol} - \text{triacyloglicerydy}/2,2$$

Uzyskane dane liczbowe poddano ocenie statystycznej testem analizy wariancji jednoczynnikowej ANOVA, przyjmując poziom istotności 0,05.

WYNIKI I OMÓWIENIE

Wartości wskaźników hematologicznych krwi źrebiąt (tab. 2), zarówno w grupie kontrolnej jak i doświadczalnej, mieszczą się w granicach wartości referencyjnych [10], a także są zgodne z wynikami prezentowanymi przez innych autorów [3, 4]. Źrebięta otrzymujące w paszy dodatek mannanooligosacharydów

Tab. 2. Średnie wartości wybranych wskaźników hematologicznych krwi źrebiąt
Average value of some hematological parameters of foals' blood

Wskaźnik	Miesiąc życia	Grupy żywieniowe						SEM
		K			D			
Ht	10	31,78	±	2,46	29,57	±	3,87	0,95
%	14	34,67 ^a	±	2,42	37,08 ^b	±	1,72	0,68
Hb	10	12,13	±	1,14	11,02	±	1,63	0,42
g dl ⁻¹	14	12,52	±	1,38	12,52	±	0,99	0,33
RBC	10	10,33	±	0,90	9,55	±	1,11	0,30
10 ¹² l ⁻¹	14	8,08 ^a	±	3,80	12,05 ^b	±	2,27	0,38
WBC	10	14,82	±	1,55	13,87	±	2,28	0,55
10 ⁹ l ⁻¹	14	11,67	±	2,88	11,58	±	2,57	0,88
Leukogram (%)								
Neutrocyty	10	40,17	±	5,08	40,50	±	8,26	1,89
	14	40,50	±	9,97	45,17	±	11,09	2,99
Limfocyty	10	50,00	±	6,96	47,50	±	8,17	2,12
	14	51,17	±	10,89	49,33	±	10,41	2,94
Monocyty	10	0,67	±	0,82	1,50	±	1,05	0,29
	14	2,50	±	1,64	2,67	±	1,51	0,43
Eozynocyty	10	9,00	±	3,29	10,50	±	1,87	0,77
	14	5,83	±	3,82	2,33	±	2,34	1,02
Bazocyty	10	0,17	±	0,41	0,00	±	0,00	0,08
	14	0,00	±	0,00	0,50	±	0,84	0,18
H/L	10	0,82	±	0,19	0,90	±	0,32	0,07
	14	0,87	±	0,44	1,00	±	0,48	0,13

^{a, b}Wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $P \leq 0,05$

cechowały się istotnie wyższą wartością wskaźników układu czerwono krwinkowego. Dotyczyło to szczególnie erytrocytów, których ilość była o około 49% wyższa w grupie doświadczalnej w porównaniu z grupą kontrolną, a także wartości hematokrytu (wzrost o 7%). Nie zanotowano jednak zmian w zawartości hemoglobiny, ilości leukocytów oraz składu odsetkowego krwinek białych. W dostępnym piśmiennictwie nie napotkano żadnych doniesień na ten temat.

Tab. 3. Średnie wartości wybranych wskaźników biochemicznych osocza krwi źrebiąt
Average value of some biochemical parameters of foals' blood plasma

Wskaźnik	Miesiąc życia	Grupy żywieniowe						SEM
		K			D			
Białko ogólne	10	72,56	±	3,14	69,67	±	4,55	1,30
g dl ⁻¹	14	66,52	±	2,08	66,06	±	1,31	0,48
Glukoza	10	5,87	±	0,28	5,84	±	0,37	0,09
mmol l ⁻¹	14	5,77	±	0,24	6,06	±	0,38	0,10
Cholesterol	10	2,97	±	0,25	3,00	±	0,24	0,07
całkowity.	14	2,47 ^b	±	0,10	2,01 ^a	±	0,18	0,03
mmol l ⁻¹								
HDL-chol	10	1,65	±	0,30	1,64	±	0,20	0,07
mmol l ⁻¹	14	1,33 ^a	±	0,05	1,55 ^b	±	0,12	0,04
LDL-chol	10	0,96	±	0,12	1,03	±	0,12	0,03
mmol l ⁻¹	14	0,86 ^b	±	0,06	0,75 ^a	±	0,01	0,03
TG	10	0,78	±	0,15	0,72	±	0,08	0,03
mmol l ⁻¹	14	0,61	±	0,06	0,66	±	0,05	0,02

^{a, b}Wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $P \leq 0,05$

Tab. 4. Średnie aktywności wybranych enzymów osocza krwi źrebiąt
Average activity of some enzymes of foals' blood plasma

Wskaźnik	Miesiąc życia	Grupy żywieniowe						SEM
		K			D			
ALT	10	8,69	±	2,08	10,00	±	1,61	0,54
U l ⁻¹	14	7,06	±	0,61	6,61	±	0,80	0,21
AST	10	223,9	±	50,9	235,3	±	60,9	15,5
U l ⁻¹	14	211,1	±	32,2	213,1	±	20,2	7,40
AP	10	194,7	±	44,39	220,2	±	21,95	10,0
U l ⁻¹	14	155,7 ^a	±	7,76	208,9 ^b	±	18,5	8,91
LDH	10	716,9	±	66,9	673,6	±	62,9	18,9
U l ⁻¹	14	678,4 ^b	±	31,15	611,3 ^a	±	29,4	13,1
Lizozym	10	1,45	±	0,10	1,40	±	0,12	0,08
mg l ⁻¹	14	1,28 ^a	±	0,14	1,55 ^b	±	0,15	0,04

^{a, b}Wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $P \leq 0,05$

Uzyskane wartości analizowanych wskaźników biochemicznych w osoczu krwi źrebiąt mieszczą się w granicach wartości referencyjnych [10]. Zawartość wskaźników profilu lipidowego, białka oraz glukozy w osoczu krwi źrebiąt zestawiono w tabeli 3. Wskaźniki lipidowe krwi uległy istotnym zmianom w grupie źrebiąt otrzymujących do mieszanek dodatek mannanooligosacharydów. Zawartość cholesterolu ogólnego w grupie doświadczalnej była o około 16,6% niższa w porównaniu z grupą kontrolną, co korelowało z takim samym wzrostem zawartości frakcji HDL-chol. W grupie tej istotnie obniżyła się zawartość LDL-chol o około 12,8%. Nie zanotowano jednak wpływu mannanooligosacharydów na zawartość triacyloglicerydów, białka ogólnego oraz glukozy w osoczu krwi koni. Poziom wskaźników biochemicznych krwi koni był zbliżony do prezentowanych w innych pracach [4, 9], różnice mogą jednak wynikać z faktu, iż na wskaźniki te ma wpływ między innymi płeć, wiek, rasa, pora roku oraz z dawane pasze [3].

Aktywność aminotransferazy alaninowej i asparaginianowej w osoczu krwi źrebiąt zarówno w grupie doświadczalnej jak i kontrolnej kształtowała się na zbliżonym poziomie ($p \geq 0,05$) – tab. 4. Źrebięta z grupy doświadczalnej cechowały się natomiast istotnym wzrostem aktywności fosfatazy zasadowej o około 34% oraz spadkiem aktywności dehydrogenazy mleczanowej o około 10% w porównaniu ze zwierzętami grupy kontrolnej (tab. 4). Dodatek mannanooligosacharydów w znacznym stopniu wpłynął również na wzrost aktywności lizozymu (około 21%) w surowicy krwi źrebiąt. Uważa się, że enzym ten po uwolnieniu ze struktur lizosomalnych przechodzi do osocza i pomiary jego aktywności stanowią wskaźnik obrotu fagocytów. Jest on jednym z najważniejszych komponentów humoralnej odpowiedzi immunologicznej, a jego działanie dotyczy głównie lizy drobnoustrojów zakażonych komórek, przez co nie dopuszcza on do zasiedlenia się zarazków w ustroju [8]. Może to więc wskazywać na stymulację układu odpornościowego przez mannanooligosacharydy. Określenie wpływu dodatku mannanooligosacharydów na profil metaboliczny krwi źrebiąt ze szczególnym uwzględnieniem wskaźników immunologicznych wymaga jednak dalszych badań.

WNIOSKI

1. Źrebięta otrzymujące w paszy dodatek mannanooligosacharydów (MOS) charakteryzowały się wyższymi wartościami wskaźników układu czerwono-krwinkowego (wartość hematokrytu i ilości erytrocytów) oraz aktywnością lizozymu, a także fosfatazy zasadowej w osoczu krwi.

2. Zwierzęta żywione paszą z dodatkiem MOS cechowały się również mniejszą koncentracją cholesterolu ogólnego i LDL-chol, natomiast większą zawartością HDL-chol w osoczu krwi.

3. Dodatek mannanooligosacharydów nie spowodował istotnych zmian w ilości leukocytów, obrazie białokrwinkowym, aktywności aminotransferazy alaninowej i asparaginianowej oraz zawartości białka ogólnego, glukozy i triacyloglicerydów we krwi żrebiąt.

PIŚMIENNICTWO

1. Ferket P.R., Parks C.W., Grimes J.L.: Benefits dietary antibiotic and mannanoligosaccharide supplementation for poultry. Multi-State Poultry Meeting, 14–16 May, 1–22, 2002.
2. Fonseca A. P., Falcão L., Kocher A., Spring P.: Effects of dietary mannan oligosaccharide in comparison to oxytetracycline on performance of growing rabbits. Proceedings of the 8th World Rabbit Congress, 829–833, 2004.
3. Grela E.R., Pastuszak J., Czech A., Kempa J.: Wpływ płci i okresu żywienia na wskaźniki hematologiczne i biochemiczne krwi żrebiąt rasy pełnej krwi angielskiej. *Annales UMCS*, sec. EE, XXI, 199–205, 2003.
4. Greppi G. F., Casini L., Gatta D., Orlandi M., Pasquini M.: Daily fluctuations of hematology and blood biochemistry in horses fed varying levels of protein. *Equine Vet. J.*, 28, 350–353, 1996.
5. Heinrichs A. J., Jones C. M., Heinrichs B. S.: Effects of mannan oligosaccharide or antibiotics in neonatal diets on health and growth of dairy calves. *J. Dairy Sci.*, 86, 12, 4064–4069, 2003.
6. LeMieux F. M., Southern L. L., Bidner T. D.: Effect of mannan oligosaccharides on growth performance of weaning pigs. *J. Anim. Sci.*, 81, 2482–2487, 2003.
7. Ott E. A.: Use of mannan oligosaccharides in diets of mares and their suckling foals. *Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries*, Proceedings of Alltech's 18th Annual Symposium Edited by T.P. Lyons and K.A. Jacques, 367–371, 2002.
8. Rzedzicki J., Kowalska A.: Funkcje lizozymu w organizmie. *Med. Wet.*, 12, 707–710, 1988.
9. Watson T. D. G., Burns L., Love S., Packard C.J., Shepherd J.: Plasma lipids, lipoproteins and post-heparin lipases in ponies with hyperlipaemia. *Equine Vet. J.*, 24, 341–346, 1992.
10. Winnicka A.: Wartości referencyjne podstawowych badań laboratoryjnych w weterynarii. Wyd. SGGW, Warszawa 2004.

SUMMARY

Studies were conducted using 20 foals (10 mares and 10 stallions) of Thoroughbred in the Horses Stud in Koźienice. At the age of 10 months they were allotted by analogues into two

feeding groups – control (C) and experimental (E). Both groups of the animals were fed the same basic diet, in which the nutrients content was established on the basis of Horse Feeding Norms [1997], but the experimental group received additionally 10 g of mannan oligosaccharide daily. At the beginning (10 months of age) and at the end (14 months of horses age) of the experiment the blood samples were taken from all the animals. The following were determined in the blood: hematocrit, haemoglobin level, number of erythrocyte and leukocyte and leucogram. In the plasma there were determined the concentrations of glucose, total protein, triglycerides, total cholesterol, cholesterol of high and low density lipoprotein and the activity of phosphatase alkaline, aminotransferase alanine and aspartate, dehydrogenase lactate and lisosyme. The foals receiving the diets supplemented with mannan oligosaccharide were characterized by higher indices of their blood red cells system (Ht level and erythrocyte number) and higher activity of lisosyme and phosphatase alkaline of their plasma. They also had a decreased concentration of total cholesterol and cholesterol of low density lipoprotein, but an increased concentration of high density lipoprotein. The mannan oligosaccharide addition, however, affected neither leukocyte number or leucogram nor the activity of aminotransferase alanine and aspartate or the content of glucose, total protein, triglycerides in the foals' plasma.

The influence of mannan oligosaccharides on some parameters of blood
of horses

W ostatnim czasie obserwuje się wzrost zainteresowania wykorzystaniem naturalnych i syntetycznych preparatów, modulatorów układu odpornościowego zwierząt oraz preparatów o właściwościach przeciwnowotworowych. Jednym z takich związków pochodzących ze źródeł naturalnych jest mannan. Główną jego rolę w układzie odpornościowym człowieka i zwierząt głównie określa się jako aktywność immunostymulacyjną skierowaną na zwiększenie aktywności układu antyoksydacyjnego oraz układu fagocytycznego krwi. W celu zwiększenia odporności oraz profilaktycznej ochrony zwierząt wykorzystuje się preparaty zielarskie [10, 11, 12]. Bardzo ciekawym dodatkiem do paszy dla zwierząt, a także naturalnym podłożem wzrostu drożdży, jest polisacharyd, który w postaci krystalicznej znajduje się w korzeniach, bulwach, główkach i łodygach roślin zielarskich (marchewki, cytrynowy, porzeczki, laski, aspartu, aloju, cytryny, ananasa). Lisdio są akceptowane w paszy zwierząt A, B, C, K, PP oraz soli mineralnych w tym również mikroelementów, jak miedź, żelazo, cynk, dlatego są one zalecane w postaci suplementów paszowych i farmaceutycznych [1-13].

Celem podjętych badań było określenie wpływu dodatku mannanu do paszy oraz zwierzęcego źródła polimeru na niektóre parametry krwi i wybrane składniki jej białej i czerwonej krwi.