

ANNALES  
UNIVERSITATIS MARIAE-CURIE SKŁODOWSKA  
LUBLIN — POLONIA

VOL. XXXII/XXXIII, 17

SECTIO DD

1977/1978

Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa w Puławach  
Instytut Biologii Wydziału Biologii i Nauk o Ziemi UMCS w Lublinie

Piotr GÓRSKI, Grzegorz GÓRSKI,  
Marian JURZYSTA

**Wpływ saponin lucerny w diecie myszy na wzrost, narządy wewnętrzne  
oraz obraz morfologiczny krwi obwodowej**

Влияние сапонинов люцерны на рост, внутренние органы и морфологическую  
картину периферического кровообращения крыс

A Dietary Effect of Alfalfa Saponins on the Growth, Internal Organs and Blood  
in Mice

Znane jest hamujące działanie saponin na wzrost i produktywność zwierząt jednożłądkowych żywionych dużymi dawkami paszy z lucerny (1, 3, 6, 14). Przypuszcza się, że związkami działającymi toksycznie są glikozydy kwasu medikagenowego (9, 16). Nie jest jednak dotychczas znany mechanizm działania saponin. Istnieją przypuszczenia, że zahamowanie wzrostu i obniżona produktywność zwierząt żywionych paszą zawierającą saponiny może być spowodowana zmianą smaku pożywienia i niechętnym spożywaniem takiej paszy (4, 11). Problem szkodliwości saponin występuje nie tylko w przypadku żywienia zwierząt mączką z lucerny (głównie w drobiarstwie). Wprowadzane ostatnio do żywienia zwierząt nieprzeżuujących preparaty białka roślinnego wytwarzane są najczęściej z lucerny. W zależności od technologii produkcji preparaty te mogą zawierać znaczne ilości toksycznych saponin, których usuwanie jest skomplikowane.

W Zakładzie Biochemii i Fizjologii Roślin Uprawnych przeprowadzono selekcję lucerny mieszańcowej na zawartość toksycznych saponin przy użyciu testu mikrohemolitycznego (10). Otrzymano populację: niskosaponinową zawierającą 0,10% saponin w suchej masie i wysokosaponinową o zawartości 1,95%, przy średniej zawartości w materiale wyjściowym 0,82% saponin w suchej masie.

Celem niniejszej pracy jest zbadanie, czy żywienie myszy paszą z lucerny selekcyjowanej o wysokiej i bardzo niskiej zawartości saponin wpływa na przyrost ciężaru ciała zwierząt oraz czy powoduje zmiany w narządach wewnętrznych i krwi obwodowej. W poprzedniej naszej pracy stwierdziliśmy bowiem duże zmiany histologiczne w narządach wewnętrznych (aż do martwicy włącznie) po parenteralnym podaniu toksycznych saponin lucerny (7).



## MATERIAŁ I METODY

Do badań użyto 3-tygodniowe myszy obu płci, hodowli wsobnej. Zwierzęta karmiono *ad libitum* paszą zawierającą: 30% mączki lucernianej o różnej zawartości saponin, 65% mąki pszennej i 5% białka. Zwierzęta otrzymywały również wodę *ad libitum*. Myszy podzielono na 3 grupy po 15 zwierząt: I grupa „N” otrzymywała paszę o niskiej zawartości saponin (0,03% z selekcjonowanej lucerny niskosaponinowej); II grupa „S” otrzymywała paszę o średniej zawartości saponin (0,25% z lucerny nieselekcjonowanej); III grupa „W” otrzymywała paszę o wysokiej zawartości saponin (0,59% z selekcjonowanej lucerny wysokosaponinowej). Doświadczenie prowadzono w ciągu 18 dni. Następnie po zważeniu zwierzęta uśmiercano, ważono wątrobę i śledzionę, pobierano wycinki z narządów wewnętrznych do badania histologicznego oraz krew, w której oznaczano ilość czerwonych i białych ciałek oraz zawartość hemoglobiny (tab. 1 i 2). W celu porównania wyników zastosowano test t-Studenta, przyjmując jako kryterium znamienności różnic  $p \leq 0,05$ .

## WYNIKI I DYSKUSJA

W przedstawionej pracy wykazano statystycznie znamienny spadek ciężaru ciała u myszy karmionych paszą z lucerny o dużej zawartości saponin (tab. 1). Jest to zgodne z doniesieniami innych autorów, którzy stwierdzili statystycznie znamienne różnice w ciężarze ciała myszy, szczurów, kurcząt oraz spadek nieśności kur karmionych paszą z większą zawartością saponin (1, 3, 6, 14). Zawartość w karmie 0,2% saponin jest najmniejszą ilością, która powoduje hamowanie wzrostu kur (1). Dodatek cholesterolu (w ilości 1%) znosi ujemne działanie saponin zawartych w paszy (6, 15). Przypuszcza się, że działanie to polega na wytworzeniu się nieaktywnego, nierozpuszczalnego w wodzie kompleksu cholesterolu z saponiną (2, 8, 12).

Obniżenie średniego ciężaru ciała myszy może być następstwem niechęci do jedzenia spowodowanej zmianą smaku paszy lub innych zaburzeń w procesie trawienia i przyswajania (4, 11). Birk (2) donosi o hamowaniu przez saponiny aktywności chymotrypsyny, proteinazy i cholinesterazy. Hamowanie enzymów w przewodzie pokarmowym jest, być może, odpowiedzialne za upośledzone wchłanianie pokarmów i spadek ciężaru ciała. Doustne podawanie dużych dawek saponin wywołuje podrażnienie błon śluzowych żołądka i jelit, biegunkę, a nawet krwotoczne zapalenie jelit (13). W naszym doświadczeniu nie obserwowano uchwytanych zmian w jelitach nawet u zwierząt, które otrzymywały duży dodatek saponin w pożywieniu.

W jelitach następuje częściowy rozpad saponin na sapogeniny i cukry (13). U kurcząt, myszy i szczurów karmionych paszą zawierającą 20% saponin soi wykazano w jelicie cienkim obecność saponin, a brak sapogenin, zaś w jelicie grubym obecność sapogenin, a brak saponin. Nato-



Tab. 1. Względny przyrost ciężaru ciała oraz średnie wartości ciężaru ciała, wątroby, śledziony i ilości erytrocytów, leukocytów i hemoglobiny w krwi obwodowej myszy

Relative values of body weight gains and mean values of the body, liver and spleen weights and numbers of erythrocytes, leukocytes and the hemoglobin level in the peripheral blood of mice

| Grupa zwierząt | Przyrost ciężaru ciała (%) | Średnia wartość oraz błąd standardowy |                     |                       |                                |                               |                 |
|----------------|----------------------------|---------------------------------------|---------------------|-----------------------|--------------------------------|-------------------------------|-----------------|
|                |                            | Ciężar ciała (g)                      | Ciężar wątroby (mg) | Ciężar śledziony (mg) | Erytrocyty w 1 mm <sup>3</sup> | Leukocyty w 1 mm <sup>3</sup> | Hemoglobina g/% |
| N              | 42,5                       | 18,23 ± 0,72                          | 1470,0 ± 63,1       | 401,4 ± 22,9          | 8 470 000 ± 494 650            | 6914 ± 910                    | 12,86 ± 0,38    |
| S              | 36,0                       | 17,93 ± 0,64                          | 1069,3 ± 130,5**    | 277,1 ± 20,6***       | 9 681 000 ± 419 790            | 4779 ± 490                    | 13,90 ± 0,33    |
| W              | 14,4                       | 15,38 ± 0,40**                        | 931,5 ± 62,2***     | 133,8 ± 17,8***       | 8 649 000 ± 340 720            | 4540 ± 290*                   | 12,10 ± 0,23    |

N — pasza o zawartości 0,03% saponin, S — pasza o zawartości 0,25% saponin, W — pasza o zawartości 0,59% saponin.

\* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\* p<0,001 w stosunku do grupy N.

N — feed containing 0.03 per cent saponin, S — feed containing 0.25 per cent saponin, W — feed containing 0.59 per cent saponin.

\* p<0.05; \*\* p<0.01; \*\*\* p<0.001 in relation to group N.



Tab. 2. Stosunek ciężaru wątroby i śledziony do ciężaru ciała zwierząt  
Ratio of the liver and spleen weights to the body weight of the animals

| Grupa zwierząt | Stosunek ciężaru wątroby do ciężaru ciała | Stosunek ciężaru śledziony do ciężaru ciała |
|----------------|-------------------------------------------|---------------------------------------------|
| N              | 8,08%                                     | 2,20%                                       |
| S              | 5,96%                                     | 1,55%                                       |
| W              | 6,06%                                     | 0,87%                                       |

miast we krwi nie wykryto ani saponin, ani sapogenin (2). Może to świadczyć o tym, że substancje te nie wchłaniają się z przewodu pokarmowego. Natomiast O ż a r o w s k i (13) uważa, że sapogeniny są wchłaniane, a następnie wydalone z moczem. B i r k (2) twierdzi, że w przewodzie pokarmowym brak jest enzymów, które mogłyby rozkładać saponiny. Ponieważ jelito grube nie wydziela enzymów, za rozpad saponin odpowiedzialne są mikroorganizmy obecne w jelicie grubym. Saponiny obniżają ilość cholesterolu we krwi i wątrobie na skutek łączenia się w nieaktywny kompleks (2). Dotyczy to nie tylko cholesterolu podawanego z pokarmem, ale także cholesterolu endogennego pochodzącego z żółci (5, 8, 12).

Wyraźne zahamowanie wzrostu myszy zaobserwowane w naszym doświadczeniu w grupie zwierząt żywionych selekcionowaną lucerną wysokosaponinową było spowodowane dużą zawartością toksycznych glikozydów kwasu medikagenowego. Natomiast w skład saponin lucerny niskosaponinowej wchodziły głównie mało aktywne glikozydy sojasapogenoli (9). Stwierdzono również statystycznie znamienne spadki ciężaru wątroby i śledziony u myszy przy diecie średnio i wysokosaponinowej (tab. 1). Równocześnie widoczny jest procentowy spadek ciężaru wątroby i śledziony w stosunku do ciężaru ciała (tab. 2). Nie znaleziono natomiast w tych narządach uchwytnych zmian histologicznych. Trudno jest stwierdzić, jakie są powody tak dużego spadku ciężaru wątroby i śledziony. Być może narządy te w pierwszym rzędzie reagują na obniżone wchłanianie produktów pokarmowych z jelit, a tym samym niższy bilans kaloryczny.

W obrazie krwi obwodowej nie znaleziono uchwytnych różnic ilościowych oprócz nieznacznego obniżenia ilości białych ciałek krwi w grupie zwierząt karmionych paszą o dużej zawartości saponin. Patomechanizm tego zjawiska jest trudny do wytłumaczenia i wymaga dalszych obserwacji i badań.

#### WNIOSKI

1. Myszy karmione paszą zawierającą 0,59% saponin lucerny wykazują znamienne zahamowanie przyrostu ciężaru ciała.



2. Myszy karmione paszą zawierającą 0,25% saponin nie wykazują znamiennej zahamowania przyrostu ciężaru ciała.

3. Ciężar wątroby i śledziony myszy karmionych paszą o wysokiej oraz średniej zawartości saponin jest niższy od średniego ciężaru tych narządów zwierząt karmionych paszą o niskiej zawartości saponin.

4. W grupie zwierząt karmionych paszą o wysokiej zawartości saponin zaobserwowano nieznaczne obniżenie ilości białych ciałek krwi, natomiast nie stwierdzono różnic w ilości czerwonych ciałek krwi oraz zawartości hemoglobiny. Nie obserwowano uchwytanych zmian w obrazie histologicznym wątroby, śledziony i jelit.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Anderson J. O.: Effect of alfalfa saponin on the performance of chicks and laying hens. *Poultry Sci.* **36**, 873, 1957.
2. Birk Y.: Toxic constituents of plant foodstuffs. Saponins, Acad. Press New York, London, 1969.
3. Cheeke P. R.: Nutritional and physiological implications of saponins. *Can. J. Anim. Sci.* **51**, 621, 1971.
4. Cheeke P. R., Kinzell J. H., Pedersen M. W.: Influence of saponins on alfalfa utilization by rats, rabbits and swine. *J. Animal Sci.* **46**, 476, 1977.
5. Cookson F. B., Altschul R., Fedoroff S.: The effects of alfalfa on serum cholesterol and in modifying or preventing cholesterol-induced atherosclerosis in rabbits. *J. Atheroscler. Res.* **7**, 69, 1967.
6. Delic J., Vucurevic N., Stojanovic S.: An investigation of alfalfa saponin inactivation under *in vivo* conditions in mice. *Acta Vet. (Beograd)*. **23**, 291, 1973.
7. Górski M., Kukielka E., Górski P. M.: Zmiany w krwi oraz narządach wewnętrznych szczurów szczepu Wistar po parenteralnym podaniu saponin lucerny. *Annales UMCS, s. C* (w druku).
8. Griminger P., Fisher H.: Dietary saponin and plasma cholesterol in the chicken. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **99**, 424, 1958.
9. Jurzysta M.: Biochemical characteristic and feeding value of alfalfa selected for saponin content. *Mat. Zjazdu Eucarpia, Radzików* (w druku), 1978.
10. Jurzysta M.: Hemolytic micromethod of rapid estimation of toxic alfalfa saponins. *Acta Agrobotanica* (w druku).
11. Kendall W. A., Leath K. T.: Effect of saponins on palatability of alfalfa to meadow voles. *Agronomy J.* **68**, 473, 1976.
12. Newman H. A. I., Kummerow F. A., Scott H. M.: Dietary saponin, a factor which may reduce liver and serum cholesterol levels. *Poultry Sci.* **37**, 42, 1958.
13. Ożarowski A.: Ziółolecznictwo. PZWL, Warszawa 1976.
14. Pedersen M. W., Anderson J. O., Street J. C., Wang Li-Chun, Baker R.: Growth response of chicks and rats fed alfalfa with saponin content modified by selection. *Poultry Sci.* **51**, 453, 1972.
15. Peterson D. W.: Some properties of a factor in alfalfa meal causing depression of growth in chicks. *J. Biol. Chem.* **183**, 647, 1950.



16. Reshef G., Gestetner B., Birk Y., Bondi A.: Effect of alfalfa saponins on the growth and some aspects of lipid metabolism of mice and quails. *J. Sci. Fd. Agric.* 27, 63, 1976.

Wpł. 20 III 1979 r.

#### РЕЗЮМЕ

Трехнедельным крысам подавали корм содержащий 30% люцерновую мало-сапониновую муку (N), высокосапониновую муку (W) и муку происходящую из сортов не подданных селекции, а содержащую сапонины (S). Животные группы N, S и W получали корм, содержащий 0,03%, 0,25% и 0,59% гемолизирующих сапонинов. В группе W замечено особое заторможение роста крыс. Спустя 18 дней относительные приросты веса тела крысы равнялись в группе N — 42,5%, в группе S — 36,0% и в группе W — 14,4%. Замечено также значительное понижение веса печени и селезенки в группах W и S и понижение количества лейкоцитов в периферическом кровообращении группы W. Не замечено четких гистологических изменений во внутренних органах, которые выступили в этих органах после перентерально примененных сапонинов люцерны.

#### SUMMARY

Twenty-one-day-old mice were fed diets containing 30% alfalfa meals made of alfalfa varieties selected for low (L) and high (H) saponin concentrations and unselected alfalfa of medium saponin content (M). The animals from L, M and H groups were fed diets containing 0.03%, 0.25% and 0.59% hemolytic saponins. High concentration of saponins in the diet had a considerable inhibitory effect on the mouse growth. After 18 days, the relative weight gains in L, M and H groups of mice were 42.5%, 36.0% and 14.4%, respectively. No obvious histological changes have been found in the internal organs of the experimental mice following the administration of alfalfa saponins. However, a very considerable damage of the internal organs was previously found out as a result of parenteral administration of alfalfa saponins.