the extender of the components that protect sperm plasma membranes against cryogenic damage. Research was conducted at the Department of Animal Reproduction Biotechnology of the National Research Institute of Animal Production to modify the composition of freezing extender by supplementing it with a mixture of vegetable protein and/or soybean lecithin (Pp) as well as antioxidants L-glutathione, butylated hydroxytoluene (BHT), and catalase. This study, involving 54 ejaculates, showed that following the freezing-thawing procedure, the highest percentage of progressively motile sperm and the highest percentage of live sperm and sperm with high mitochondrial potential were observed for the extender supplemented with BHT. The lowest percentage of apoptotic spermatozoa was identified in the extender supplemented with vegetable proteins and soybean lecithin (Pp) (0.0005 g/ml). Statistically significant differences (P<0.05) were found for the percentage of individual sperm subpopulations between different extender variants. The present study shows that cryopreservation procedure does not induce DNA fragmentation in boar spermatozoa.

KEY WORDS: boars, semen quality, cryopreservation, antioxidants, apoptotic markers

Wpływ dodatku witamin E i C w żywieniu loch na ich użytkowość i odchów prosiąt

Maria Kawęcka[1], Anna Sosnowska[1], Eugenia Jacyno[1], Anita Kołodziej[1], Beata Matysiak[1], Marian Kamyczek[2]

[1]Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie,
[2]IZ PIB Zakład Doświadczalny Pawłowice

Wprowadzając odpowiednie komponenty w żywieniu loch wysokoprośnych i karmiących można wpływać nie tylko na ich użytkowość rozpłodową, ale także na wyniki odchowu karmionych przez nie prosiąt. Rezultaty niektórych badań wskazują, że zwiększony dodatek witaminy E do pasz może wpływać na wzrost wielkości miotu oraz funkcji układu immunologicznego (obserwowany wzrost koncentracji IgG), zmniejszenie strat prosiąt do odsadzenia, włączając infekcje *Escherichia coli.* W wielu badaniach podkreśla się synergistyczne działanie witaminy E z selenem. W wyniku suplementacji α-tokoferolu i selenu uzyskano wzrost liczebności miotów przy urodzeniu i odsadzeniu, większą masę prosiąt urodzonych i wyższy ich status zdrowotny. Stwierdzono, że po zastosowaniu dodatku witaminy E zmniejsza się wystąpienie zespołu MMA. Witamina E współdziała również z witaminą C, co zwiększa zarówno odporność komórkową, jak i humoralną. Pełni też rolę regenerującą w stosunku do antyoksydantów hydrofobowych, w tym przede wszystkim α-tokoferolu. Istnieją dwa krytyczne okresy w zapotrzebowaniu prosiąt na witaminę E – po urodzeniu oraz po odsadzeniu. Niski poziom tej witaminy po urodzeniu prosiąt jest związany z niskim jej transferem przez łożysko. Zapotrzebowanie to pokrywane jest poprzez siarę i mleko loch, a później w niewielkim stopniu z paszy**.** Po odsadzeniu prosiąt stężenie α-tokoferolu znacznie się obniża, co może być spowodowane ograniczonym wchłanianiem stosowanych form witaminy E w paszy. Deficyt witaminy E częściej występuje u potomstwa loch starszych, w których ciele dochodzi do znacznego wyczerpania rezerw zgromadzonego tokoferolu**.**

Witamina C nie jest dodawana do paszy dla świń, gdyż mają one zdolność jej syntetyzowania z glukozy. Intensywna synteza witaminy C zachodzi również u płodów świń w pierwszym okresie ciąży, natomiast podczas późnego okresu ciąży głównym jej źródłem jest transfer od matki. Jest to ważny proces, ponieważ prosięta w pierwszych dniach po urodzeniu nie są zdolne do syntezy witaminy C. Uzależnione są od zapasów z transferu łożyskowego i podaży witaminy C w siarze i mleku matki. Jednocześnie zaobserwowano obniżoną koncentrację kwasu askorbinowego u loch, co może być spowodowane jej transferem do płodów i gruczołu mlecznego, a później do siary i mleka. Wykazano zmniejszenie poziomu witaminy E i C w surowicy prosiąt po podaniu im w iniekcji żelaza, co powinno być brane pod uwagę, ze względu na ważność tych substancji w prewencji chorób zakaźnych**.** Zapotrzebowanie na kwas askorbinowy gwałtownie wzrasta w sytuacjach stresowych, np. stres związany z porodem (szczególnie przedłużającym się), odsadzaniem prosiąt, przegrzaniem. Może też być spowodowane występowaniem niektórych chorób oraz wysoką produkcyjnością zwierząt. W niektórych badaniach wykazano, że zastosowanie dodatku witaminy C u prosiąt wpłynęło pozytywnie na zmniejszenie śmiertelności oraz wzrost odpowiedzi immunologicznej.

Coraz częściej sugeruje się stosowanie zwiększonych, nawet dwukrotnie, dawek witamin [16]. W niektórych badaniach podjęto próby zastosowania znacznie wyższych dawek witaminy E i C w żywieniu świń niż w obowiązujących w wielu krajach normach [7, 15]. W praktyce producenci premiksów często przekraczają, nawet podwójnie, zalecane w normach ilości witamin dodawanych do preparatów. Dzieje się tak ze względu na większą wydajność aktualnie utrzymywanych świń i stres temperaturowy w okresie letnim.

Mając na uwadze powyższe spostrzeżenia, podjęto badania nad oceną wpływu zastosowania większej, niż w zalecanych normach, ilości witaminy E oraz dodatku witaminy C w żywieniu loch w ostatnim okresie ciąży i w okresie karmienia prosiąt na użytkowość rozrodczą loch i odchów prosiąt. Materiał badawczy stanowiło 139 loch wieloródek linii 990, inseminowanych nasieniem knurów tej linii. Doświadczenie przeprowadzono w dwóch częściach, obejmujących dwie pory roku, tj. okres jesienno-zimowy (60 loch) oraz okres letni (79 loch). Lochy od 90. dnia ciąży żywiono mieszanką pełnoporcjową (granulowaną) dla loch prośnych i karmiących, o tej samej wartości pokarmowej, zgodnie z obowiązującymi w Polsce normami żywienia (tab. 1). Żywienie loch w poszczególnych grupach zróżnicowane było udziałem stosowanego zwiększonego dodatku witamin, zgodnie z układem podanym w tabeli 2. Okres karmienia prosiąt wynosił 32 dni.

W przeprowadzonych badaniach wykazano, iż w wyniku zastosowania zwiększonego dodatku witaminy E (200 mg/kg) w paszy dla loch od 90. dnia ciąży i w okresie laktacji, nastąpił znaczny wzrost jej koncentracji w surowicy krwi (tab. 3). Należy podkreślić, że najwyższą koncentrację witaminy E w surowicy stwierdzono u loch otrzymujących witaminę E podaną łącznie z witaminą C (500 mg/kg). Potwierdzałoby to zdolności witaminy C do ochrony witaminy E przed utlenianiem bądź zwiększeniem jej regeneracji. Wielu autorów podkreśla występowanie interakcji pomiędzy witaminą E i C. W badaniach Laurdsen i Jensen [7] dodatek witaminy C w paszy dla odsadzonych prosiąt spowodował wzrost zawartości tokoferolu w ich wątrobie oraz wzrost jej poziomu w mięśniach.

Tabela 1

Skład i wartość pokarmowa mieszanki stosowanej w żywieniu loch

Wyszczególnienie	Zawartość (%)
Pszenica	35,0
Owies	10,0
Pszenżyto	20,0
Kukurydza	10,0
Otręby pszenne do 9% włókna	5,35
Poekstrakcyjna śruta sojowa, 46%	15,0
Olej rzepakowy	1,0
L-lizyna	0,2
DL-metionina	0,1
L-treonina	0,05
Rovimix locha 0,5%	0,5
Kreda pastewna	1,4
Fosforan 1-Ca	0,8
NaCl	0,45
Lepiszcze	0,15
Wartość pokarmowa (g/kg)	
Energia metaboliczna (MJ/kg)	13,2
Białko ogólne	172,0
Włókno surowe	39,2
Lizyna	9,5
Metionina+cystyna	6,8
Treonina	6,3
Tryptofan	1,9
Wapń	8,5
Fosfor	6,5

Skład premiksu w 1 kg mieszanki: wit. A – 15000 IU; wit. D_3 – 1800 IU; wit. E – 60 mg; wit. K – 1,5 mg; wit. B_1 – 1,5 mg, wit. B_2 – 6 mg; wit. B_6 – 4 mg; wit. B_{12} – 25 µg; niacyna – 40 mg; kwas pantotenowy – 16 mg; kwas foliowy – 2 mg; biotyna – 300 µg; chlorek choliny – 300 mg; Fe – 80 mg; Mn – 40 mg; Zn – 80 mg; Cu – 15 mg; I – 0,5 mg; Co – 0,5 mg; Se – 0,3 mg; Ca – 1 g

Tabela 2

Układ doświadczenia

Zawartość witamin (mg/kg paszy)	Grupy		
	I (kontrolna)	II (doświadczalna)	III (doświadczalna)
Witamina E w 1 kg podstawowej paszy	60	60	60
Dodatek witaminy E[1]	–	140	140
Dodatek witaminy C[2]	–	–	500

[1]Lutavit E50 (firmy BASF)
[2]Witamina C otoczkowana (firmy Roche)

Tabela 3

Koncentracja witamin A, E i C w surowicy krwi loch w zależności od poziomu tych witamin w paszy

Wyszczególnienie	Zawartość witamin w paszy (mg/kg)		
	witamina E 60	witamina E 200	witamina E+C 200+500
Witamina E (µg/100 ml)	132,0^{A}	223,3^{Ba}	272,2^{Bb}
Witamina C (mg/100 ml)	2,66^{A}	2,85^{A}	4,64^{B}
Witamina A (µg/100 ml)	52,9^{A}	64,3^{a}	88,4^{Bb}

A, B – średnie wartości oznaczone różnymi dużymi literami różnią się istotnie przy P≤0,01
a, b – średnie wartości oznaczone różnymi małymi literami różnią się istotnie przy P≤0,05

Siara, oprócz wartości odżywczych, jest przede wszystkim źródłem immunoglobulin, gwarantujących poziom biernej odporności osesków. Zwiększona podaż witamin w ostatnim okresie ciąży loch nie wpłynęła na koncentrację IgG w siarze. Hayek i wsp. [4], w wyniku iniekcji loch na dwa tygodnie przed oproszeniem witaminą E lub selenem oraz łącznie, uzyskali wzrost koncentracji immunoglobulin w siarze. W badaniach Lechowskiego [8] wykazano, że zastosowany dodatek samej witaminy C do paszy loch w okresie 6 tygodni przed porodem, spowodował istotny wzrost zawartości białka oraz immunoglobulin (IgG) w siarze bezpośrednio po porodzie. Takich różnic pomiędzy białkami siary, w zależności od zastosowanych witamin, nie wykazano w badaniach własnych.

W badaniach własnych, w wyniku suplementacji pasz dla loch, wykazano wzrost witaminy E oraz C w mleku, co świadczy, że nastąpił ich transfer do mleka (tab. 4). W odniesieniu do witaminy E potwierdza to wyniki uzyskane przez innych autorów, którzy stosując zwiększone dodatki witaminy E u loch również uzyskali wzrost tej witaminy w surowicy, siarze oraz mleku loch [7, 10, 11, 15]. Zastosowanie w żywieniu loch zwiększonych dodatków witamin E oraz C spowodowało wzrost ich koncentracji w surowicy prosiąt (tab. 4). Nie wykazano jednak różnic w koncentracji witaminy E w surowicy prosiąt pochodzących od loch, do których paszy dodano samą zwiększoną dawkę witaminy E oraz witaminę E łącznie z witaminą C. Podobnie nie wykazano istotnych różnic pomiędzy grupami doświadczalnymi w koncentracji witaminy E w mleku loch.

Tabela 4

Koncentracja witamin A, E i C w mleku loch i surowicy prosiąt w zależności od poziomu tych witamin w paszy loch

Wyszczególnienie	Zawartość witamin w paszy loch (mg/kg)		
	witamina E 60	witamina E 200	witamina E+C 200+500
Mleko:			
witamina E (µg/100 ml)	165,8^{A}	415, 8^{B}	450,7^{B}
witamina C (mg/100 ml)	2,66^{a}	2,70^{a}	3,39^{b}
witamina A (µg/100 ml)	44,3^{Aa}	62,9^{b}	68,8^{Bb}
Surowica prosiąt:			
witamina E (µg/100 ml)	188,3^{Aa}	288,0^{B}	240,9^{b}
witamina C (mg/100 ml)	2,31^{Aa}	3,72^{Ab}	5,75^{B}
witamina A (µg/100 ml)	62,4	57,5	51,4

A, B – średnie wartości oznaczone różnymi dużymi literami różnią się istotnie przy P≤0,01
a, b – średnie wartości oznaczone różnymi małymi literami różnią się istotnie przy P≤0,05

Mając na uwadze doniesienia Jensen i wsp. [6], że dopiero koncentracja tokoferolu w surowicy wynosząca około 3 mg/l gwarantuje optymalną odpowiedź immunologiczną, można uznać, że zastosowana ilość witaminy E w badaniach własnych (200 mg/kg paszy) dała pozytywne efekty, podnosząc koncentrację witaminy E w surowicy prosiąt do pożądanego minimum. Podobne wyniki uzyskali również inni autorzy [10, 11, 14, 15], którzy stosując zwiększone dodatki witaminy E w paszy loch stwierdzili istotny wzrost koncentracji tokoferolu w surowicy prosiąt. Ma to istotne znaczenie, gdyż status witaminy E u nowo narodzonych prosiąt zależny jest od ich matek. Witamina E jest ważna dla wzrostu i zdrowia prosiąt, które rodzą się z bardzo małym zapasem tłuszczu i niską zawartością tej witaminy w tkankach, co może być przyczyną padnięć**.** Wzrost koncentracji witaminy E w surowicy prosiąt może być rozpatrywany jako krótkookresowa pula nadwyżki, która ostatecznie zostanie przetransformowana do tkanek. Ten efekt potwierdzono w badaniach Laurdsen i Jensen [7]. Odnotowano, iż zastosowany zwiększony dodatek witaminy E (150 i 250 IU/kg) w żywieniu loch spowodował wzrost jej poziomu w mitochondriach mięśni, komórkach tłuszczu oraz sercu prosiąt. W ten sposób, poprzez zwiększenie poziomu witaminy E w żywieniu loch w okresie laktacji, został poprawiony status witaminy E u prosiąt. Jest to istotne, w niektórych badaniach wykazano bowiem obniżenie poziomu witaminy E u prosiąt po odsadzeniu. Koncentracja witaminy E w surowicy prosiąt odsadzonych obniża się gwałtownie, osiągając dramatycznie niski poziom już w 7. dniu, a najniższy w 21. dniu po odsadzeniu**.** Niskie jest też wykorzystanie przez prosięta syntetycznej witaminy E podawanej w ich paszy.

Pomimo wzrostu koncentracji witamin w surowicy prosiąt, nie stwierdzono wpływu zastosowania zwiększonych dawek witamin na liczbę prosiąt urodzonych żywych, martwych i masę miotu przy urodzeniu i odsadzeniu (tab. 5).

Tabela 5

Użytkowość loch i ich potomstwa

Cechy	Zawartość witamin w paszy loch (mg/kg)		
	witamina E	witamina E	witamina E+C
	60	200	200+500
Liczba loch	45	48	46
Temperatura rektalna (°C)	38,9^{A}	38,9^{A}	38,5^{B}
Liczba prosiąt żywo urodzonych	9,7	9,4	10,1
Liczna prosiąt martwo urodzonych	0,98	1,02	0,89
Liczba prosiąt ssących po standaryzacji miotów	9,6	9,4	9,7
Liczba prosiąt odsadzonych w 30. dniu życia	9,3	8,9	9,1
Liczba prosiąt w 45. dniu życia	9,2	8,7	8,9
Masa miotu przy urodzeniu (kg)	14,8	14,5	15,1
Masa miotu przy odsadzeniu (kg)	65,9	62,2	63,0
Masa miotu w 45. dniu życia (kg)	97,2^{A}	86,0^{B}	88,2^{B}
Przeżywalność prosiąt do odsadzenia (%)	96,7	94,2	94,9
Przeżywalność prosiąt od odsadzenia do 45. dnia życia (%)	99,4	98,5	98,0
Kolejny miot loch			
Liczba loch wybrakowanych	11	13	5
Okres jałowienia (dni)	8,1	8,2	8,0
Liczba prosiąt urodzonych ogółem	9,9^{A}	9,3^{A}	10,7^{B}
Liczba prosiąt martwo urodzonych	1,11	0,97	0,95

A, B – średnie wartości oznaczone różnymi dużymi literami różnią się istotnie przy P≤0,01

Pinelli-Saavedra i Scaife [15] nie odnotowali istotnych różnic w zakresie liczebności miotu po urodzeniu w zależności od zastosowanego dodatku witamin E (200 i 400 mg/kg paszy) i C (1 i 10 g/dzień) w okresie ciąży i laktacji. Nie wykazano też różnic odnośnie do masy miotu, jak i masy jednego prosięcia, zarówno przy urodzeniu, jak i przy odsadzeniu [9, 11, 15]. W badaniach innych autorów, w wyniku śródmięśniowych iniekcji α-tokoferolu lub jego dodatku do paszy dla loch podczas ciąży, następował wzrost liczebności miotów, wzrost masy prosiąt przy urodzeniu i odsadzeniu oraz zmniejszeniu ulegała śmiertelność prosiąt w okresie po odsadzeniu. W badaniach tych sugeruje się jednak, że witamina E powinna być w kombinacji z selenem [2, 12, 13, 14]. Natomiast Lechowski [8] podaje, że w wyniku zastosowania dodatku witaminy C (2,5 g/dzień) w paszy dla loch różnych ras (6 tygodni przed porodem) uzyskano wzrost masy miotu przy urodzeniu, liczby odchowanych prosiąt oraz ich masy w 21. dniu życia, a także zmniejszenie śmiertelności prosiąt do 21. dnia**.** Autor ten sugeruje, że poprawa mogła być spowodowana pośrednim oddziaływaniem witaminy C na syntezę L-karnityny. Ta z kolei może mieć pozytywny wpływ na rozwój i wzrost płodów, powodując zwiększenie ich masy przy urodzeniu, zmniejszenie liczby prosiąt urodzonych martwych oraz zwiększenie produkcji mleka u loch.

Greer i wsp. [4] podają, że zastosowanie dużych dawek witaminy C (4 g/dzień) w okresie letnim nie przyniosło pożądanych rezultatów w łagodzeniu sezonowej niepłodności loch ani w poprawie odchowu miotów. Jak wykazano w badaniach na szczurach, wysokie dawki witaminy C mogą wręcz nasilać stres, przez działanie prooksydacyjne. Działanie antyoksydacyjne witamina C wykazuje przy łącznym podaniu z witaminą E [5].

W wyniku przeprowadzonych obserwacji w badaniach własnych stwierdzono, że prosięta, których matki otrzymywały zwiększone dodatki witamin charakteryzowały się po odsadzeniu (w 45. dniu życia) niższą masą ciała. Mogłoby to sugerować niekorzystne oddziaływanie tak dużych dawek witamin podawanych lochom w okresie laktacji. Jednak ten efekt zaobserwowano tylko w okresie letnim. Obserwując odchów prosiąt, nie stwierdzono wpływu zwiększonego poziomu witamin E i C na zmniejszenie strat prosiąt w okresie odchowu. Należy jednak podkreślić niski procent strat prosiąt, zarówno do odsadzenia, jak i w okresie 15 dni po odsadzeniu. W innych badaniach wykazano efekt przeniesienia na prosięta witamin podanych lochom w laktacji oraz dodatni wpływ wysokiego poziomu α-tokoferolu oraz witaminy C na odpowiedź immunologiczną u prosiąt [1, 7].

W badaniach własnych zwiększona suplementacja witamin E i C w paszy dla loch, pomimo wzrostu koncentracji tych witamin w surowicy prosiąt, nie miała jednoznacznego korzystnego wpływu na wyniki odchowu prosiąt. Stwierdzono natomiast, że stosowanie wysokich dawek witaminy E łącznie z witaminą C ma korzystny wpływ na lochy (tab. 5). Dodatek witaminy E (200 mg/kg paszy) podanej łącznie z witaminą C (500 mg/kg paszy) wpłynął istotnie na obniżenie wewnętrznej temperatury ciała loch w kolejnych trzech dniach po porodzie, szczególnie w okresie letnim. Występowanie MMA u loch w pierwszych dniach po wyproszeniu jest zjawiskiem dość częstym. Zaleca się stosowanie zwiększonych dodatek witaminy E i selenu**.** W grupie, w której zastosowano łączny dodatek witaminy E i C odnotowano też o wiele mniejszą liczbę loch wybrakowanych po odchowaniu miotu. Dodatek tych witamin wpłynął także korzystnie na użytkowość rozpłodową loch w następnym cyklu reprodukcyjnym, zwiększając liczbę prosiąt urodzonych ogółem i żywych.

Uzyskane wyniki wskazują na potrzebę prowadzenia dalszych badań nad stosowaniem zwiększonych dodatków witamin E i C w żywieniu loch w różnych okresach cyklu reprodukcyjnego, z uwzględnieniem wnikliwej obserwacji reakcji prosiąt w okresie odchowu na zastosowany dodatek.

Literatura: 1. Babinszky L., Langhout D.J., Verstegen M.W.A, den Hartog I.A., Joling P., Nieuwland M., 1991 – J. Anim. Sci. 69, 1833-1842**. 2**. **Chavez E.R., Patton K.L.**, 1986 – Can. J. Anim. Sci. 66, 1065-1074. **3**. **Greer E.B., Gardner I.A., Wright G.L.**, 1987 – Aust. J. Exp. Agr. 27, 343-347**. 4. Hayek M.G., Mitchell G.E. Jr., Harmon R.J., Stahly T.S., Cromwell G.L., Tucker R.E., Barker K.B.**, 1989 – J. Anim. Sci. 67, 1299-1306. **5. Jedlińska-Krakowska M.**, 2006 – Med. Weter. 62 (10), 1183-1185. **6. Jensen M., Fossum C., Ederoth M., Hakarrainen R.V.J**., 1988 – J. Vet. Med. B. 35, 549-555. **7. Lauridsen C., Jensen S.K**., 2005 – J. Anim. Sci. 83, 1274-1286. **8. Lechowski J.**, 2009 – Rozp. Nauk. Uniw. Przyr. w Lublinie, zesz. 334. **9**. **Loudenslager M.J., Ku P.K., Whetter P.A., Ullrey D.E., Whitehair C.K., Stowe H.D., Miller E. R.**, 1986 – J. Anim. Sci. 63, 1905-1914. **10. Mahan D.C.**, 1991 – J. Anim. Sci. 69, 2904-2917. **11. Mahan D.C.**, 1994 – J. Anim. Sci. 72, 2870-2879. **12. Mavromatis J., Koptopoulos G., Kyriakis S.C., Papasteriadis A., Saoulidis K.**, 1999 – J. Vet. Med., Berlin 46, 543-553. **13. Migdal W., Kaczmarczyk J.,** 1993 – World Rev. Anim. Prod. 28, 68-71. **14. Pehrson B., Holmgrin N., Trafikowska U.**, 2001 – J. Vet. Med. A 48, 569-575. **15. Pinelli-Savedra A., Scaife J.R.**, 2005 – Livest. Prod. Sci. 97, 2-3, 231-240. **16**. **Whittemore C.T., Close W.H.**, **Hazzledine M.J.**, 2002 – Pig News and Information 23 (3), 67N-74N.

Effect of dietary vitamin E and C supplementation on performance of sows and piglets

Summary

The study was carried out on 139 multiparous sows, divided into 3 groups which received the following addition to their diet: control group –vitamin E (60 mg/kg of diet), experimental group – vitamin E (200 mg/kg), experimental group – vitamin E (200 mg/kg) + vitamin C (500 mg/kg). In spite of an increased concentration of these vitamins in the serum of piglets, no clear advantageous effect on the rearing results was found. However, the advantageous post-effect of the vitamins fed to sows was shown. An addition of vitamin E fed together with vitamin C had a significant influence on a decreased body temperature of sows after farrowing and reduced the number of sows culled after the rearing of litter. Sows from this group delivered a larger the number of piglets born in the subsequent litter compared to the sows that were given only an increased dose of vitamin E and sows from the control group.

KEY WORDS: high-pregnant and suckled sows, nutrition, vitamin E, vitamin C, rearing of piglets