

tak duży, aby wykazać różnice statystycznie istotne. Statystycznie istotne różnice uzyskano w pozostałych dwóch grupach ($P \leq 0,01$ i $P \leq 0,05$). Zmiany w aktywności AP wystąpiły w kwietniu, tj. z chwilą wyjścia krów na pastwisko lub otrzymanie paszy zielonej w oborze. Reakcja ta może również być czysto fizjologiczna. Zwierzęta zareagowały na czynniki klimatyczne (ciepło, słońce, zwiększona aktywność ruchowa), jak również zmieniła się ich przemiana materii, co jest związane ze zmianą sposobu żywienia (Cąkała i wsp., 1971; Żarski i Rokicki, 1987).

Otrzymane przez nas wyniki doświadczenia potwierdzają istotną zależność badanych składników od pory roku, sposobu utrzymania i od ich zawartości w paszy (Klakow i wsp., 1990; Majewski i wsp., 1979; Markiewicz i Kurski, 1975; Mayland i Wilkinson, 1989; Roga-Franc i wsp., 1976; Wilson,

1981). Istotne różnice w zawartości składników mineralnych w surowicy krwi zostały też potwierdzone przez innych badaczy (Cąkała i Albrycht, 1973; Majewski i wsp., 1977, 1979). Badania nad zbilansowaniem i przyswajalnością składników mineralnych potwierdziły konieczność stosowania wszelkiego rodzaju dodatków mineralnych w postaci mieszanek do pasz (Kruczyńska, 1980). Przy tak różnej zawartości składników mineralnych w paszy, należałoby zastanowić się nad bardziej zróżnicowanymi mieszankami mineralnymi stosowanymi w zależności od pory roku i sposobu utrzymania. Przy znacznym niedoborze wapnia w surowicy krwi należałoby zastosować dodatek CaCl_2 w wodzie pitnej, jako jeden ze sposobów poprawienia bilansu tego pierwiastka (Kondracki i Bednarek, 1997).

39 pozycji literatury do wglądu u Autorów i w Redakcji

Znaczenie selenu i witaminy E w reprodukcji świń

Ewa Kotowska, Bogumił Kotowski

Do niedawna selen uznawany był za pierwiastek toksyczny. Dopiero w 1957 roku, dzięki badaniom Schwarza i Foltza [cyt. 4], selen został zaliczony do mikroelementów niezbędnych do życia ssaków. Z pracy Kossakowskiego [9] wynika, że pierwiastek ten jest niezbędnym mikroelementem, którego niedobory powodują upośledzenie zdolności rozrodczych i rozwoju, wywołują dystrofię mięśni i kulawizny u świń, zwłaszcza na fermach przemysłowych. Wykazano także, że selen jest integralnym składnikiem enzymu peroksydazy glutationowej (GSH-Px), odgrywającego z witaminą E rolę przeciwutleniaacza lipidów membran komórkowych [2, 4]. Aktywność GSH-Px niezbędna jest neutrofilom i makrofagom do prawidłowego przebiegu procesu fagocytozy. W wyniku jej obniżenia dochodzi do zwiększonej wrażliwości organizmu na choroby zakaźne i inwazyjne [11, 13].

Przyjmuje się [6], że zapotrzebowanie większości gatunków zwierząt na selen pokrywa pasza o zawartości 0,1 ppm tego pierwiastka, czyli 0,1 mg w 1 kg paszy. Należy zaznaczyć, że w naszych warunkach dużo selenu zawierają nasiona rzepaku „00”, owsa, jęczmienia, żyta i pszenżyta. Uboga w selen jest kukurydza i soja. W ziarnach polskich zbóż stwierdza się od około 0,4 do 0,7 ppm selenu. Uważa się [6, 7, 8], że zawartość selenu w paszy poniżej 0,1 ppm jest bezwzględnie niewystarczająca. Również przy poziomie 0,1-0,5 ppm może dojść do niedoboru tego pierwiastka w organizmie, szczególnie w przypadku niedoborów witaminy E w dawce pokarmowej lub w następstwie hamującego wpływu związków siarkowych. Stąd za najważniejszą, pierwotną przyczynę niedoboru selenu u zwierząt uznaje się długotrwałe skarmianie pasz o niskiej zawartości tego pierwiastka, tj. 0,05 mg w 1 kg suchej masy.

Wtórny niedobór selenu jest natomiast spowodowany czynnikami zakłócającymi przyswajanie tego pierwiastka z dawki pokarmowej. Istotne znaczenie ma siarka, która łatwo zastępuje selen zarówno w układzie gleba-roślina, jak i roślina-zwierzę, hamując przez to jego wykorzystanie przez rośliny i zwierzęta. Bardzo duże znaczenie w powstawaniu wtórnego niedoboru selenu ma witamina E, której niedobór zwiększa zapotrzebowanie zwierząt na ten pierwiastek. Istotny wpływ ma również zawartość w dawce pokarmowej żelaza, miedzi, manganu i niektórych metali ciężkich, np. ołowiu, kadmu, rtęci. Godny podkreślenia jest fakt, że zwierzęta monogastryczne znacznie lepiej wykorzystują pod tym względem pasze niż przeżuwacze. Pobrany z paszy selen wchłaniany jest w jelitach cienkich, głównie w dwunastnicy, i wykorzystywany w około 85% u świń, natomiast u bydła, owiec i kóz tylko w 35%.

Witamina E występuje głównie w nasionach roślin oleistych, ziarnie zbóż oraz w tranie i mięsie ryb. Naturalnie występująca witamina E składa się z kilku tokoferoli – alfa, beta, gamma i delta. Zwierzęta nie potrafią syntezować witaminy E, musi więc być ona dostarczona z paszą. Małe ilości alfa-tokoferolu występują w owocach, warzywach i zielonych liściach. Alfa-tokoferol wchłania się w jelitach cienkich w 10-40%, natomiast podany parenteralnie (poza jelitowo) – w 100%. Przy bardzo wysokiej koncentracji witaminy E w diecie, poziom we krwi wzrasta 3-krotnie i maksymalne wartości osiąga w przeciągu 4 tygodni.

Witamina E pełni w organizmie wiele funkcji; bierze udział w przemianie materii, jako związek antyoksydacyjny i zwiększający podaż tlenu, zapobiega utlenianiu witaminy A, nienasyconych kwasów tłuszczowych i innych lipidów, uniemożliwiając tworzenie toksycznych produktów ich utleniania. Aktywizuje układy enzymatyczne oddychania tkankowego, ułatwia przyswajanie tlenu przez erytrocyty, zwiększa zużycie białka, wpływa też na rozwój i funkcje gruczołów płciowych oraz chroni ciążę.

Jest dzisiaj faktem niepodważalnym [11], że wysoki poziom witaminy E jest niezbędny do prawidłowego funkcjonowania układu immunologicznego. Badania przeprowadzone u zwierząt oraz ludzi wykazały, że hipowitaminoza E powoduje osłabienie odpowiedzi immunologicznej, podczas gdy podanie znacznie wyższych ilości niż zalecane prowadzi do jej wzmożenia. Wykazano, że u prosiąt z deficytem witaminy

E zakażonych eksperymentalnie *Brachyspira hyodysenteriae* objawy były bardzo ostre, a śmiertelność wyższa w porównaniu z grupą otrzymującą adekwatne ilości alfa-tokoferolu w diecie. Także suplementacja dawki pokarmowej witaminą E, w ilości 150 mg/kg paszy, zalecana przed szczepieniami, podnosi ich efekty.

Z badań wielu autorów [2, 3, 5, 8, 14] wynika, że wśród czynników żywieniowych wpływających na płodność i plenność swni coraz częściej zwraca się uwagę na selen. Wykazano, że niedobór tego pierwiastka u loch prośnych powoduje, że prosięta rodzą się słabe, mało odporne, częściej padają. W wątrobie tych prosiąt występują śladowe ilości selenu. Z doświadczeń wynika, że dodatek selenu i witaminy E w okresie prośności poprawia płodność loch w następnym cyklu rozrodczym [3, 5, 16], zwiększa liczebność miotu, masę urodzonych prosiąt oraz ich przeżywalność.

Wykazano także [2, 8], że selen wpływa dodatnio na aktywność plemników, dzięki czemu możliwy jest ich szybszy transport w obrębie dróg rodnych do miejsca połączenia z komórką jajową. Mechanizm działania selenu polega na pobudzeniu aktywności peroksydazy glutationowej w obrębie mitochondriów, znajdujących się w komórkach wstawki plemnika. Stwierdzono, że plemniki są szczególnie bogate w selen (około 30 ppm/g), natomiast knury żywione paszą o niskim poziomie selenu (0,01 ppm) wykazywały zmniejszoną liczbę plemników oraz dawały dużo martwych płodów w miocie. Ponadto zaobserwowano korzystny wpływ dodatku selenu na aktywność płciową knurów [8].

Oceny wpływu podawania selenu na rozród swni dokonali Dembiński i wsp. [5]. Autorzy przeprowadzili badania w warunkach fermy Gi-Gi na loszkach i lochach. Samice były żywione mieszanką pełnoporcjową zawierającą około 0,4 ppm selenu oraz 22,2 ppm witaminy E. Zwierzęta otrzymywały selen parenteralnie, w formie iniekcji podskórnej, bądź jako dodatek do paszy. W obydwu grupach zwierząt stosowano selen w postaci 1% wodnego seleninu sodu, w dawce od 0,11 do 0,23 mg/kg masy ciała. Dwu- i trzykrotne parenteralne podanie lochom selenu wywarło korzystny wpływ na odsetek zapłodnień po pierwszym kryciu. Wartość tego wskaźnika wzrosła u zwierząt tej grupy średnio o 6-7% w porównaniu z grupą kontrolną. Jednocześnie przy 3-krotnym podawaniu tego pierwiastka obserwowano nieznaczne skrócenie okresu międzyporodowego. Wykazano także, że lepsze efekty uzyskano u loch otrzymujących selen w postaci dodatku do paszy.

Z piśmiennictwa wynika [10, 14, 15, 16], że wielu autorów zaleca stosowanie w okresie przedporodowym związków selenu i witaminy E w formie iniekcyjnej lub dodatku do paszy, jako działanie profilaktyczne przeciwko zaburzeniom mleczności poporodowej u loch.

Z badań Schulza i wsp. [14] wynika, że stosowanie u wysokoprośnych loch preparatu Ursoselevit, który zawiera selen i witaminę E, nie w każdej populacji zwierząt powodowało zmniejszenie zachorowań loch z objawami zespołu MMA (*metritis-mastitis-agalactiae*). Autorzy fakt ten tłumaczą różnym poziomem selenu i tokoferolu w paszy przeznaczonej do skarmiania w badanych obiektach. Również z pracy Hanse na i wsp. [8] wynika, że jednorazowa suplementacja paszy w dawce 0,05 mg seleninu sodu/kg m.c. nie dawała wyraźnych różnic pomiędzy poszczególnymi grupami (badane i kontrolne) loch i urodzonymi przez nie prosiętami. Autorzy sugerują, na podstawie przeprowadzonych doświadczeń, że

profilaktyka z zastosowaniem przeciwutleniaczy (dotyczy to również selenu) może być uwzględniana pod warunkiem, że dawka paszy jest poprawnie zbilansowana.

Wawron [16], badając wpływ preparatu Ursoselevit na występowanie zespołu MMA i płodność loch, wykazał, że podawanie lochom w 5. i 3. tygodniu przed oproszeniem ww. preparatu, w dawce 1 ml/20 kg m.c. (1 ml preparatu zawiera 5 mg seleninu sodu i 30 mg octanu tokoferolu), spowodowało zmniejszenie zachorowalności loch z objawami MMA. Ponadto podany preparat wpłynął korzystnie na wybrane wskaźniki płodności macior. Znalazło to wyraz w skróceniu czasu od odłączenia prosiąt do wystąpienia objawów rui. Znaczne różnice odnotowano także w skuteczności krycia. Autor podaje, że w grupie doświadczalnej 94,4% loch zostało prośnych i urodziło prosięta, natomiast w grupie kontrolnej tylko 75,9%. Również liczba odchowanych prosiąt, w 28 dniu życia, przypadających na 1 lochę była wyższa w grupie doświadczalnej (9,5 prosięcia) niż w kontrolnej (9,05 prosięcia). U prosiąt pochodzących od samic, którym podawano Ursoselevit odnotowano zmniejszoną częstotliwość występowania biegunek.

Z badań Kotowskiego [10] wynika, że suplementacja dziennej dawki paszy preparatem Nutril Se poprawiła zdrowotny stan loch. Nutril Se jest preparatem w postaci proszku do rozpuszczania w wodzie, zawiera zestaw witamin z dodatkiem aminokwasów i selenu. Preparat podawano przez około 10 dni przed oproszeniem i 5 dni po oproszeniu, podczas rannego karmienia, w dawce 20 g na lochę. Wykazano, że podawanie preparatu Nutril Se wpłynęło korzystnie na stan zdrowia loch, bowiem w grupie zwierząt, które go otrzymywały schorzenia z objawami zespołu MMA wystąpiły u 6,66%, natomiast w grupie kontrolnej u 20% loch. Również efekty chowu prosiąt, wyrażające się dziennym przyrostem masy ciała, były statystycznie istotnie (P<0,05) wyższe w grupie doświadczalnej. Przyrost masy ciała prosiąt osesków uważa się za najbardziej wymierny wskaźnik mleczności loch [10, 12, 14, 15]. W tym przypadku mleczność loch była odzwierciedleniem skuteczności preparatu. Autor podaje także, że znacznie zdrowsze prosięta uzyskano od samic, którym podawano Nutril Se, w porównaniu z kontrolnymi. Noworodki od tych loch były dobrze rozwinięte, cechowały się dużą żywotnością oraz w mniejszym stopniu zapadały na biegunkę. Upadki prosiąt były o 1,33% mniejsze w grupie doświadczalnej w porównaniu z grupą kontrolną.

Interesujące wyniki odchovu prosiąt po podaniu preparatu Nutril Se przedstawił Lauk [12]. Autor stwierdził, że wielkość upadków prosiąt od urodzenia do odsadzenia w wieku 5-6 tygodni wynosiła 12,27%, a po zastosowaniu preparatu spadła do 5,16%. Nastąpiło także wyraźne zmniejszenie liczby prosiąt z objawami biegunki oraz poprawiła się żywotność prosiąt i ich apetyt. O bardzo zbliżonych rezultatach donoszą także inni autorzy [3, 8, 14], którzy uzyskali zwiększoną liczebność miotów oraz lepszą ich przeżywalność.

Z nowszych danych [1] wynika, że zidentyfikowano już i dokładnie opisano jedenaście białek, których funkcje związane są ściśle z obecnością selenu w ich aktywnych centrach. Jak podaje autorka [1], działanie 50, a nawet 100 enzymów i białek jest ograniczone lub ustaje zupełnie przy niedoborze tego mikroelementu. Dlatego też celowe wydaje się zwrócenie uwagi producentom trzody chlewnej na potrzebę suplementacji pasz preparatami selenu i witaminy E.

Reasumując można stwierdzić, że suplementacja paszy lub stosowanie pozajelitowe preparatów selenowych bądź w połączeniu z witaminą E może przyczynić się do poprawy efektywności produkcji, zarówno w hodowli, jak i w chowie świń.

Literatura: 1. **Bik D.:** Diagnostyka biochemiczna chorób zwierząt gospodarskich. Mat. konf. nauk. Puławy 14-15 grudnia 2000; 2. **Bronicki M., Dembiński Z.:** Medycyna Wet. 47, 464, 1991; 3. **Chavez E.R., Patton K.L.:** Can. J. Anim. Sci. 66, 1065, 1986; 4. **Dębski B.:** Medycyna Wet. 44, 457, 1988; 5. **Dembiński Z., Bronicki M., Wandurski A.:** Medycyna Wet. 48, 164, 1992; 6. **Grela E., Baranowska**

M.: Przegląd Hod. 5, 22, 1993; 7. **Grela E., Sembratowicz J.:** Medycyna Wet. 53, 385, 1997; 8. **Hansen J.C., Deguchi J.:** Acta vet. scand. 37, 19, 1996; 9. **Kossakowski S.:** Medycyna Wet. 35, 4, 1980; 10. **Kotowski K.:** Życie Wet. 73, 229, 1998; 11. **Kubiński T.:** Magazyn Wet., Suplement, Puławy 9-10 czerwca 1998; 12. **Lauk A.:** Życie Wet. 73, 367, 1998; 13. **Ramisz A.:** Nowości Wet. 11, 125, 1981; 14. **Schulz J., Elze K., Gottschalk F., Demmrich K., Stengel S., Berger K., Dreschel B.:** Mh. Vet.-Med. 38, 661, 1983; 15. **Wandurski A.:** Medycyna Wet. 46, 54, 1990; 16. **Wawron W.:** Medycyna Wet. 49, 212, 1993.

Podwyższona wrażliwość świń na czynniki stresowe jako efekt mutacji punktowej w genie RYR – podłoże molekularne i efekt biologiczny

Magdalena Zawada

AR w Krakowie

Gorączka złośliwa (*Malignant hyperthermia*) występuje u zwierząt na skutek przeciążenia organizmu działaniem czynników stresowych, takich jak: podwyższona temperatura otoczenia, nadmierne stłoczenie, poród, transport, intensywne przepędzanie czy bicie (Gronek i wsp., 1998). Natomiast u świń wrażliwych na stres, zjawisko to można także wywołać podając do wdychania środek anestetyczny, np. halotan (Pospiech, 1996). Chorobie tej towarzyszy znaczne pogorszenie jakości mięsa (Gronek i wsp., 1998), tzw. mięso PSE (Baueva i wsp., 1995), oraz obniżenie plenności (Gronek i wsp., 1998; Ostrowski i Blicharski, 1998), a jej objawami mogą być: wzrost temperatury ciała, sinoczerwone plamy na skórze w okolicach uszu i podbrzusza, sztywnienie kończyn, zaburzenia pracy serca i układu oddechowego. Ostatecznie może ona doprowadzić do śmierci zwierzęcia (Gronek i wsp., 1998). Badania genetyczne prowadzone w ostatnim dziesięcioleciu pozwoliły na ustalenie przyczyny schorzenia. Wywołuje go mutacja punktowa w genie receptora rianodynowego, czyli kanału wapniowego retikulum sarkoplazmatycznego (Ryanodine Receptor). Stąd też pochodzi nazwa tego genu – RYR. Zanim odkryto gen RYR nazywano go genem halotanowym (HAL), od nazwy środka powszechnie stosowanego do określania osobników podatnych na stres.

Metody pozwalające na identyfikację osobników podatnych na gorączkę złośliwą

Metoda halotanowa należy do pierwszych metod stosowanych u trzody chlewnej w celu wykrywania osobników wrażliwych na czynniki stresowe (Pospiech, 1996). Polega ona na podawaniu zwierzętom halotanu (2-bromo, 2-chloro,1,1,1-trój-

chloroetan) w postaci narkozy, a reakcja na ten związek występuje w korelacji z uwarunkowaniem genetycznym. Metoda ta pozwala na określenie wrażliwości, jednak bez różnicowania czy osobnik jest homo-, czy heterozygotą (Gronek i wsp., 1998). Ponadto nie jest do końca precyzyjna i nie zawsze prowadzi do jednoznacznego, wiarygodnego wyniku (Pospiech, 1996). Ograniczenia jej wynikają z następujących przyczyn: różnicowanie w stopniu wrażliwości u osobników różnych ras czy linii, a nawet u tego samego osobnika w powtórnych teście, brak wrażliwości na halotan osobników o genotypie HALⁿHALⁿ oraz niektórych osobników o genotypie HAL^NHALⁿ lub nawet HAL^NHAL^N. Wymagane jest też określenie wieku zwierząt (8-12 tygodni) oraz konieczność analizy całych miotów. Nie bez znaczenia jest, iż test halotanowy prowadzi niekiedy do śmierci zwierzęcia. Dlatego też obecnie odchodzi się od metody halotanowej, stosując w zamian inne, pozwalające na precyzyjne określenie genotypu (Kurył, 1996).

Metoda PCR-RFLP (Polimerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism), opracowana w 1991 roku w Kanadzie (Fuji i wsp., 1991), należy obecnie do najbardziej wiarygodnych i najczęściej stosowanych metod. Pozwala ona na określenie i rozróżnienie genotypów NN, Nn oraz nn (Ostrowski i Blicharski, 1998), a co za tym idzie, służy do wykrywania nosicieli zmutowanego, niekorzystnego allelu (Charon i Świtoński, 1996). W badaniu wykorzystuje się izolację genomowego DNA z różnych tkanek, a następnie przeprowadza typową reakcję PCR przy użyciu primerów (sensownego i antysensownego) oraz termostabilnej polimerazy DNA. Amplifikacja (standardowo przez 40 s) → denaturacja łańcucha DNA (w temp. 95°C) → przyłączenie primera (w temp. 60°C przez 30 s) → synteza nowo powstałego łańcucha DNA (w temp. 72°C). Następnie poddawanie produktu PCR trawieniu enzymem restrykcyjnym HhaI w celu uzyskania fragmentów łańcucha, gdzie uwidocznione są mutacje genetyczne (Houde i Pommier, 1993; Pospiech, 1996; Charon, 1997). Powstałe fragmenty identyfikuje się po rozdiale elektroforetycznym. Pomimo stosunkowo wysokich kosztów związanych z tą metodą, jej zaletą jest niewielka ilość materiału użytego do badań oraz bardzo duża powtarzalność i wiarygodność.

Reasumując, metoda PCR-RFLP jest bardzo efektywna, ponieważ:

- pozwala bezpośrednio określić wszystkie genotypy wrażliwości na stres;
- badane zwierzęta mogą być w podobnym wieku, bez konieczności testowania rodziców i rodzeństwa;
- jako materiał do badań wystarcza 50-100 µl krwi (Kurył, 1996).

Prawie 100% skuteczność identyfikacji genotypów zwierząt stwarza możliwość konstruowania nowatorskich progra-