UNIWERSYTET ROLNICZY
im. Hugona Kołłątaja w Krakowie
Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt

mgr inż. Agnieszka Waliczek

Wpływ dodatku oleju lninanego i witaminy E do dawki pokarmowej na strawność składników pokarmowych i przemiany metaboliczne u koni sportowych

Autoreferat rozprawy doktorskiej wykonanej
w Katedrze Żywienia, Biotechnologii Zwierząt i Rybactwa

Promotor:	prof. dr hab. inż. Piotr Micek
Promotor pomocniczy:	dr inż. Jadwiga Flaga, prof. URK
Obszar wiedzy:	nauki rolnicze, leśne i weterynaryjne
Dziedzina wiedzy:	nauki rolnicze
Dyscyplina:	zootechnika i rybactwo

KRAKÓW, 2023

1. Wstęp

Konie utrzymywane obecnie w Europie wykorzystuje się przede wszystkim w sporcie i rekreacji. Zmienił się zatem tradycyjny kierunek ich wykorzystania przez człowieka a w ślad za tym zmieniło się ich zapotrzebowanie na składniki pokarmowe i energię. Wykazano, że konie startujące w rajdach długodystansowych, gdzie w zależności od poziomu zawodów pokonują dystans od 20 do 160 km w ciągu jednego dnia, mają zapotrzebowanie dwu- lub nawet trzykrotnie wyższe od koni niepracujących (NRC, 2007). Wzmożony wysiłek fizyczny powoduje, że konie karmione do woli wyłącznie paszą objętościową (zielonką, sianem) nie zaspokajają jednak swoich potrzeb pokarmowych. Konieczne jest uzupełnianie dawki pokarmowej paszami treściwymi - najczęściej mieszankami paszowymi uzupełniającymi, których głównym komponentem są ziarna zbóż, zasobne w skrobię stanowiącą łatwostrawne źródło energii.

Wysokie pobranie skrobi w dawce pokarmowej koni sportowych może być przyczyną schorzeń metabolicznych i zaburzeń behawioralnych. Nadmierne ilości tego składnika nie są trawione w jelicie cienkim i przedostają się do jelita grubego, gdzie podlegają fermentacji przez mikroorganizmy do kwasu mlekowego i LKT (Julliand i in., 2001; Medina i in., 2002). Zmieniona mikroflora jelit upośledza trawienie włókna – najważniejszego składnika pokarmowego dla koni (Julliand i in., 2006). Dlatego alternatywą dla mieszanek treściwych opartych na zbożach są dodatki tłuszczu do dawki pokarmowej, stosowane najczęściej w postaci różnego typu olejów (Geor i in., 2013). Ze względu na niskie tempo trawienia i przemian w organizmie konia, oleje są uznawane za dobre źródło tzw. „wolno uwalnianej energii". Wysoka zawartość energii w tłuszczach pozwala na skarmianie mniejszej ilości pasz, co ma istotne znaczenie zwłaszcza w żywieniu koni biorących udział w rajdach długodystansowych i wyścigach. Uważa się, że w trakcie takich prób nie należy obciążać układu pokarmowego konia nadmierną ilością paszy, stąd coraz większe zainteresowanie stosowaniem tłuszczów różnego pochodzenia.

Hipoteza pracy zakładała, że dodatek oleju lnianego do dawek pokarmowych dla koni nie powoduje zmniejszenia strawności składników pokarmowych. Dodatkowo przyjęto założenie, że stosowanie oleju lnianego wraz z witaminą E poprawia wydolność wysiłkową zwierząt intensywnie użytkowanych wierzchowo, mierzoną na podstawie wybranych wskaźników zaburzenia homeostazy i objawów zmęczenia, a także markerów stresu oksydacyjnego.

Celem pracy było określenie wpływu dodatku oleju lnianego do paszy dla koni na współczynniki strawności składników pokarmowych oraz wskaźniki krwi, a także zbadanie wpływu oleju lnianego podawanego wraz z witaminą E na wskaźniki przemian metabolicznych oraz wybrane wskaźniki zaburzenia homeostazy i objawów zmęczenia koni intensywnie użytkowanych wierzchowo. Dodatkowo, na podstawie ekspresji mRNA w białych krwinkach określono wpływ czynników doświadczalnych na wybrane markery stresu oksydacyjnego oraz na ekspresję genów związanych z przeżywalnością komórek.

2. Materiał i metody

Weryfikowanie przyjętej hipotezy badawczej przeprowadzono w trzech etapach, na które składały się trzy osobne doświadczenia. W e**tapie I** wykonano doświadczenie strawnościowe na koniach niepracujących, którego wyniki posłużyły do sprecyzowania ilości oleju stosowanego w dawce pokarmowej koni, która nie wpływa negatywnie na strawność składników pokarmowych oraz procesy fermentacyjne w przewodzie pokarmowym. Na podstawie wyników doświadczenia *in vitro* z wykorzystaniem metody *gas-test* w **etapie II** sprawdzono jak zwiększający się udział oleju lnianego w paszy wpływa na stopień oraz kinetykę jej fer-

mentacji. Wreszcie w **etapie III** badań przeprowadzono doświadczenie fizjologiczno-żywieniowe na koniach poddanych intensywnemu wysiłkowi fizycznemu. W doświadczeniu testowano wpływ dodatku do paszy oleju lnianego stosowanego z lub bez udziału witaminy E na wybrane wskaźniki zaburzenia homeostazy i objawów zmęczenia, a także markery stresu oksydacyjnego. Dodatkowo, przeprowadzono analizy wybranych wskaźników przemian metabolicznych u koni.

Etap I badań

W etapie I badań przeprowadzono doświadczenie strawnościowe *in vivo* metodą wskaźnikową na 6 koniach niepracujących w układzie powtórzonego kwadratu łacińskiego. Zwierzęta otrzymywały dawki pokarmowe z dodatkiem 0, 150 lub 300 ml/szt./dz. oleju lnianego. Określono strawność pozorną składników pokarmowych metodą wskaźnikową z wykorzystaniem popiołu nierozpuszczalnego w kwasie (AIA). Analizy krwi obejmowały wskaźniki morfologiczne oraz biochemiczne. Oszacowanie produkcji gazów oraz strawności masy organicznej próbek siana i owsa wykonano za pomocą techniki gazowej *gas-test*.

Etap II badań

W celu uzupełnienia badań *in vitro* przeprowadzonych w etapie I wykonano doświadczenie *gas-test* z udziałem wysłodków buraczanych suszonych, które miało na celu sprawdzenie jak zwiększająca się ilość oleju roślinnego w paszy wpływa na stopień i przebieg fermentacji *in vitro*. Doświadczenie wykonano w Ośrodku Badawczym Uniwersytetu Przyrodniczego w Ås w Norwegi (*Livestock Production Research Center of the Norwegian University of Life Sciences* - NMBU), na koniach rasy norweski kłusak zimnokrwisty. Do badań użyto płynu pobranego bezpośrednio z jelita ślepego, od 4 koni wyposażonych w trwałe kaniule jelitowe.

Etap III badań

W etapie III badań przeprowadzono doświadczenie wydolnościowe na 30-stu koniach sportowych będących w treningu wyścigowym na Wrocławskim Torze Wyścigów Konnych Partynice. W doświadczeniu wzięło udział 19 koni czystej krwi arabskiej (oo) w wieku od 3 do 5 lat oraz 11 koni rasy pełnej krwi angielskiej (xx) w wieku 3 lat. Konie podzielono na 3 grupy żywieniowe po 10 szt., różniące się rodzajem stosowanego oleju w dawce pokarmowej oraz dodatkiem witaminy E. W każdej grupie zwierzęta otrzymywały po 0,5 ml/dz./kg MC oleju roślinnego. Grupa kontrolna (**K**) otrzymywała olej sojowy, natomiast grupy eksperymentalne **E1** i **E2** olej lniany bez (E1) lub z (E2) dodatkiem witaminy E (20 mg/kg $MC^{0,75}$). W trakcie doświadczenia konie poddawano próbom wysiłkowym oraz pobierano krew do analiz chemicznych. Analizy krwi obejmujące morfologię oraz biochemię pozwoliły na określenie wpływu rodzaju stosowanego oleju oraz witaminy E na parametry wydolności wysiłkowej, przemiany metaboliczne oraz wskaźniki stresu oksydacyjnego koni. Określono również poziom witaminy E i profil KT we krwi, a także przeprowadzono izolację jednojądrzastych komórek krwi obwodowej w celu określenia względnej ekspresji mRNA GPX1, GPX3, SOD1, SOD2 , NFkB, NFE2L2 oraz BIRC3 za pomocą ilościowego testu real-time PCR.

3. Wnioski

1. Nie wykazano negatywnego wpływu dodatku oleju lnianego stosowanego w ilości 150 lub 300 ml/dz./szt. (od 0,4 do 1,5 ml/dz./kg MC) do dawki pokarmowej dla koni na strawność składników pokarmowych. Wraz ze zwiększającą się ilością oleju w dawce pokarmowej obserwowano zwiększanie się wartości współczynnika strawności tłuszczu surowego.

2. Wysoki współczynnik strawności tłuszczu surowego zapewnia dobre wykorzystanie oleju lnianego na cele energetyczne, co może być istotne zwłaszcza w przypadku żywienia koni sportowych, wychudzonych lub koni słabo przybierających na masie ciała.
3. W badaniach *in vitro* wykazano, że dodatek oleju lnianego do dawki pokarmowej dla koni może powodować zmiany w składzie mikrobioty przewodu pokarmowego lub aktywności wybranych grup mikroorganizmów. Efektywność procesów trawiennych u koni otrzymujących taki dodatek może być więc modulowana bezpośrednio poprzez zwiększoną podaż tłuszczu lub pośrednio poprzez wpływ tłuszczu na skład lub aktywność mikrobioty przewodu pokarmowego.
4. Stosowanie dodatku oleju lnianego do dawki pokarmowej dla koni sportowych powoduje nieznaczne zwiększenie zawartości WBC i LYM oraz NEU we krwi bezpośrednio po wysiłku. Zwierzęta otrzymujące taki dodatek mają w spoczynku zwiększoną zawartość we krwi RBC i HCT oraz tendencję do wyższego stężenia HGB, co może świadczyć o podnoszeniu się ich wydolności tlenowej, a przez to wpływać korzystnie na wyniki sportowe.
5. Nie wykazano jednoznacznie pozytywnego lub negatywnego wpływu dodatkowych ilości witaminy E stosowanych w dawkach pokarmowych z udziałem oleju lnianego na parametry morfologiczne i biochemiczne krwi koni sportowych.
6. Długotrwałe podawanie oleju lnianego w ilości 250 ml/szt./dz. (0,5 ml/dz./kg MC) do paszy dla koni sportowych zmniejsza wartości wskaźników stopnia wyczerpania mięśniowego i zaburzeń homeostazy, np. poziom mleczanów oraz aktywność CK.
7. Stosowanie w dawce pokarmowej dla koni sportowych dodatku olejów roślinnych bogatych w NNKT może przeciwdziałać reakcjom zapalnym organizmu, na co wskazują optymalne poziomy we krwi zarówno SAA jak i haptoglobiny. Dodatkowo, obniżenie poziomu białek ostrej fazy - CRP sugeruje, że olej lniany, bogaty w kwasy omega-3, może zapobiegać uszkodzeniom mięśni i występowaniu stanów zapalnych u koni poddawanych intensywnemu wysiłkowi fizycznemu.
8. Zwiększona ekspresja mRNA genów zmiatających wolne rodniki (GPX3 i SOD2) w grupach otrzymujących dodatek oleju lnianego bez lub z udziałem witaminy E do dawki pokarmowej może świadczyć o bardziej intensywnej reakcji obronnej organizmu i zapobieganiu negatywnym skutkom stresu oksydacyjnego w porównaniu do koni żywionych dawkami pokarmowymi z udziałem oleju sojowego.
9. Jednoczesne stosowanie dodatku oleju lnianego i witaminy E do dawki pokarmowej może powodować zwiększenie przeżywalności i zmniejszenie apoptozy białych krwinek (zwiększona ekspresja RELA, NFE2L2 oraz BIRC3), co z kolei może sugerować zwiększoną wydolność sportową koni otrzymujących takie dodatki.