

Ocena stanu zaopatrzenia mineralnego z uwzględnieniem aktywności wybranych enzymów w surowicy koni, w zależności od intensywności użytkowania*)

HANNA BIS-WENCEL, LEON SABA, WIOLETTA WNUK, BOŻENA NOWAKOWICZ-DĘBEK, JERZY KRZYSZYCHA

Pracownia Biologii Rozrodu Katedry Higieny Zwierząt i Środowiska Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt AR, ul. Akademicka 13, 20-950 Lublin

Bis-Wencel H., Saba L., Wnuk W., Nowakowicz-Dębek B., Krzyszycha J.

Evaluation of mineral levels in the trophic system with regard to activity of select enzymes in horses' blood serum before and during intensive activity period

Summary

Horses as phytophagous animals react to biological balance disturbances of mineral elements in the trophic system of soil-plant-animal. The investigations covered 10 half-bred saddle horses, and were conducted in herd „N” in the Central Pomorze region, where horses were utilized for recreational purposes. The level of minerals in the trophic system was designated. It was proved that clear deficits of copper existed in the soils and fodder. The blood serum examinations were conducted three times: the first time in April (low activity period), the second in July, and the third in August (both in the highest activity period). Deficits of copper (7.55-7.79 $\mu\text{mol/l}$) and iron (16.35-17.67 $\mu\text{mol/l}$) were also detected in the blood serum and were below the norms. The activity of a few selected enzymes in the blood serum was also designated. Only in the second examination was the activity of AST, ALT and LDH enzymes the highest. CK enzyme activity was on the increase in the second (572.36 U/l) and third (670.75 U/l) examinations (intensive activity period), but these values were not above the norms. This may prove that the horses were well prepared for intensive activity.

Keywords: trophic system, copper, iron, AST, ALT, LDH, CK

Konie jako zwierzęta roślinożerne reagują na zakłócenia równowagi biologicznej, pierwiastków w glebie, a zatem w roślinach i paszy. Zostało to potwierdzone badaniami zaburzeń zdrowotnych pochodzenia geochemicznego, powstałych szczególnie na tle niedoborów miedzi, selenu, molibdenu i manganu, czy też nadmiaru pierwiastków antagonistycznych (2, 8). U tego gatunku zwierząt zaburzenia równowagi biochemicznej znajdują odzwierciedlenie w chorobach mięśni, układu kostnego i stawowego (1, 3, 8). Nieprawidłowości równowagi metabolicznej koni, szczególnie wykorzystywanych dla celów sportowych, rekreacyjnych i terapeutycznych mogą ujawnić się także zmianami aktywności enzymów (15, 16). Celem badań było określenie stanu zaopatrzenia mineralnego koni w układzie troficznym oraz pomiar aktywności wybranych enzymów w surowicy, zależnie od intensywności użytkowania rekreacyjnego koni.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w stadzie „N” położonym w rejonie Pomorza Środkowego. Do badań wybrano 10 koni

wierzchowych półkrwi, przy równej liczbie obu płci, o wyrównanych parametrach hodowlanych, w wieku 4-6 lat. Konie utrzymywane były w celach rekreacyjno-sportowych. Szczyt eksploatacji przypadał na miesiące letnie (lipiec, sierpień). Zwierzęta przez cały rok utrzymywane były w stajni, w której zachowano prawidłowe parametry zoohigieniczne wymagane dla tego gatunku. Żywiące były paszami pochodzenia lokalnego zgodnie z normami żywienia koni (13). W I okresie badań, tj. w kwietniu otrzymywały w dawce pokarmowej siano łąkowe 5 kg, słomę owsianą 2 kg, ziarno owsa 3 kg, a w okresie intensywnego użytkowania (lipiec-sierpień) siano łąkowe 3 kg, ziarno owsa 5 kg i zielonkę pastwiskową 15 kg.

Konie były pod stałym nadzorem lekarza weterynarii. W stadzie nie stwierdzono chorób zakaźnych ani pasożytniczych. Problem stanowiła okresowa nadmierna eksploatacja zwierząt w wymienionych miesiącach. U koni obserwowano okresowy spadek kondycji. Badaniem klinicznym sporadycznie wykrywano nieznaczne odkształcenia kopyt, odbarwienia sierści i pojedyncze przypadki schorzeń morzyskowych o niewielkim stopniu nasilenia.

W przebiegu doświadczenia z pastwisk i pól uprawnych pobrano dwukrotnie próbki gleby w szczycie sezonu wegetacyjnego, tj. w czerwcu i we wrześniu, z głębokości 0-15 cm za pomocą łaski gleboznawczej. Oznaczenia za-

*) Praca finansowana przez KBN nr projektu 5PO6K 021 19.

wartości wybranych pierwiastków: Mg, Fe, Cu i Zn w próbkach glebowych dokonano metodą ASA, pH oznaczono metodą instrumentalną w 1 M KCl.

W badaniu uwzględniono analizę zasobności składników mineralnych w podstawowych paszach stosowanych w żywieniu koni. Próbkę pasz pobierano w miarę wprowadzania ich do żywienia, przestrzegając zasady reprezentatywności prób. Poziom wymienionych pierwiastków w paszach oznaczono przy użyciu spektrofotometru płomieniowego ASA-Unicam 939.

Krew pobrano trzykrotnie z żyły powierzchownej szyjnej, w kwietniu, lipcu i sierpniu, w godzinach porannych, w spoczynku zwierząt, przed ich karmieniem i pojeniem, metodą na skrzep do probówek jednorazowych. W surowicy przeprowadzono analizę zawartości wymienionych pierwiastków metodą ASA oraz aktywności enzymów: transaminazy asparaginianowej E. C. 2.6.1.1. (AST), transaminazy alaninowej E. C. 2.6.1.2. (ALT), dehydrogenazy mleczanowej E. C. 1.1.1.27. (LDH) i kinazy kreatynowej E. C. 2.7.3.2. (CK) metodą kinetyczną, przy użyciu zestawów diagnostycznych Cormay.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej ANOVA obliczając średnią arytmetyczną i odchylenie standardowe. Istotność różnic między średnimi w obrębie grupy weryfikowano testem Tukey'a.

Wyniki i omówienie

Przeprowadzone analizy zasobności mineralnej próbek gleby w miejscach bytowania koni można określić jako wybitnie deficytowe w miedź (4,1 mg/kg s.m.) oraz umiarkowanie ubogie pod względem zawartości w magnez (1,7 g/kg s.m.) i cynk (235,0 mg/kg s.m.), a zasobne w sole żelaza (9,9 mg/kg s.m.) przy pH 6,3 (2, 4, 10, 14). Wcześniejsze badania stanu geochemicznego tego regionu przeprowadzane w odniesieniu do bydła wykazały, że zwierzęta roślinożerne utrzymywane w tym rejonie były zagrożone niedoborami mineralnymi. Potwierdziło to fakt, że przybrzeżny rejon Bałtyku jest obszarem bardzo zróżnicowanym jeśli chodzi o warunki biogeochemiczne (10, 11). Odzwierciedleniem składu mineralnego gleb był poziom badanych pierwiastków w paszach. Na podstawie wartości zawartych w tab. 1 i 2 można stwierdzić, że lokalnie produkowane pasze, stosowane w żywieniu koni nie cechowały się wystarczającą zasobnością miedzi i cynku. Wyjątek stanowiło ziarno owsa pokrywające potrzeby mineralne koni (1, 13). Z badań przeprowadzonych przez Sabę i wsp. (14) wynika, że gleby rejonu Pomorza Środkowego są zasobne w potas i wapń, co może być powodem ich antagonistycznego działa-

Tab. 1. Wartość pokarmowa dawek dla koni w różnych okresach ich użytkowania

Rodzaj paszy	Zawartość poszczególnych składników w 1 kg paszy						
	s.m. kg	b.o. str. g/kg	MJEN kg	Mg g	Fe mg	Cu mg	Zn mg
Siano	0,85	32	2,24	0,89	108,29	1,79	18,45
Słoma	0,85	10	1,29	0,34	103,45	0,35	10,80
Owies	0,875	84	5,78	5,43	172,03	6,07	63,30
Pastwisko	0,25	35	1,06	0,43	32,23	0,73	6,95
Okres użytkowania	Zawartość poszczególnych składników w dawce						
Przed wysiłkiem	8,575	432	31,152	21,5	1264,4	27,8	303,8
Podczas wysiłku	10,675	1041	51,566	36,33	1668,37	46,59	476,16

Tab. 2. Poziom składników mineralnych w paszach dla koni w stadzie N ($\bar{x} \pm s$)

Rodzaj paszy	Liczba próbek	Poziom pierwiastków			
		Mg g/kg s.m.	Fe Mg/kg s.m.	Cu Mg/kg s.m.	Zn Mg/kg s.m.
Ziarno owsa	10	6,21 ± 1,9	196,6 ± 12,7	6,94 ± 0,9	72,36 ± 11,7
Siano łąkowe	15	1,05 ± 0,3	127,4 ± 7,6	2,10 ± 89,0	21,70 ± 11,1
Słoma owsiana	8	0,41 ± 0,2	121,7 ± 9,8	0,41 ± 0,1	12,70 ± 1,3
Zielonka z pastwiska	21	1,73 ± 0,2	128,9 ± 25,4	2,90 ± 0,8	27,80 ± 6,9

nia na metabolizm miedzi i cynku, manifestującego się wtórnymi niedoborami tych pierwiastków. Podobna opinia na temat wzajemnego oddziaływania pierwiastków, chociaż w odniesieniu do innych rejonów Polski należy między innymi do Grzebuły (4).

W tab. 3 przedstawiono poziom składników mineralnych w surowicy koni. Poziom magnezu mieścił się w granicach wartości uznanych za referencyjne (17) oraz utrzymywanych przez innych autorów (8, 9), przy czym w pierwszym pobraniu był istotnie wyższy niż w drugim. Poziom cynku osiągnął najwyższą średnią wartość w trzecim pobraniu, w stosunku do pierwszego – najniższego, utrzymując się powyżej górnych granic wartości otrzymanych przez innych autorów (1, 7, 8) we wszystkich trzech pobraniach i przekraczając wielkości referencyjne uznane dla koni (17). Poziomy miedzi i żelaza były niskie i statystycznie wyrównane. Przekraczały dolne wartości referencyjne (17) i były porównywalne z otrzymanymi przez Cymbaluk (1). Metabolizm mikroelementów u zwierząt jest zależny od uwarunkowań genetycznych powodujących różnice międzygatunkowe, międzyrasowe i międzyosobnicze. Mogą one dotyczyć wchłaniania, przenoszenia, magazynowania, wiązania przez receptory, przemian wewnątrzkomórkowych i wydalania. Niedobory Cu u koni często wiązane są z nadmiarem Zn w paszy.

Aktywność wybranych enzymów podano w tab. 4. Mimo dużego zainteresowania treningiem koni jego wpływ na równowagę metaboliczną zwierząt poddanych wzmożonemu wysiłkowi nie jest dostatecznie poznany. Zasadne wydaje się przyjęcie za Jansson (5)

Tab. 3. Poziom składników mineralnych w surowicy koni (n = 10)

Pierwiastek	Pobranie	$\bar{x} \pm s$	V%
Mg mmol/l	1	0,94 ± 0,095 ^b	10,16
	2	0,86 ± 0,133 ^a	15,39
	3	0,87 ± 0,099 ^{ab}	11,37
Fe μmol/l	1	16,75 ± 1,566 ^a	9,35
	2	16,35 ± 1,882 ^a	11,51
	3	17,67 ± 1,631 ^a	9,23
Cu μmol/l	1	7,55 ± 0,636 ^a	8,41
	2	7,79 ± 0,797 ^a	10,22
	3	7,71 ± 0,701 ^a	9,09
Zn μmol/l	1	15,69 ± 0,316 ^a	2,01
	2	16,33 ± 1,130 ^{ab}	6,91
	3	16,69 ± 0,762 ^b	4,56

Tab. 4. Aktywność enzymów w surowicy koni (n = 10)

Enzym	Pobranie	$\bar{x} \pm s$	V%
AST U/l	1	330,42 ± 51,44 ^b	15,57
	2	352,03 ± 47,07 ^b	13,37
	3	289,65 ± 31,05 ^a	10,72
ALT U/l	1	13,94 ± 3,78 ^a	27,11
	2	14,06 ± 4,88 ^a	34,72
	3	13,55 ± 4,07 ^a	30,03
LDH U/l	1	558,71 ± 217,47 ^a	38,92
	2	559,23 ± 122,35 ^a	21,87
	3	522,36 ± 106,18 ^a	20,32
CK U/l	1	499,66 ± 80,47 ^a	16,10
	2	572,36 ± 55,32 ^b	9,66
	3	670,75 ± 153,16 ^b	22,83

Objaśnienie: a, b – średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $p \leq 0,05$

Objaśnienie: jak w tab. 3

rozgraniczenia dwóch pojęć odnoszących się do koni poddanych treningowi, tj. konie uprawiające wyczyn sportowy (athletic horse) oraz konie w treningu, nie osiągające ekstremalnego wysiłku (exercising horse). Badane zwierzęta należy zaliczyć do grupy drugiej. Interpretacja wyników bez uwzględnienia takich podziałów może przyczynić się do powstania nieścisłości, a nawet błędów oceny wartości referencyjnych badanych zwierząt. Wybór enzymów został uwarunkowany ich funkcjami. Płeć koni nie wpłynęła na wartość badanych parametrów. AST jest enzymem wskaźnikowym m.in. funkcji mięśni szkieletowych. Podczas badania średnia aktywność enzymu utrzymywała się w granicach wartości referencyjnych (17) i potwierdzała poziomy otrzymane przez Milne i wsp. (12). W drugim pobraniu, tj. w okresie intensywnego użytkowania wierzchowego koni aktywność AST wzrosła statystycznie istotnie w stosunku do pobrania pierwszego. Wydaje się to naturalną reakcją organizmu konia na trening. W drugim miesiącu prowadzenia jazdy pod siodłem (trzecie pobranie) aktywność AST zmniejszyła się istotnie. Podobną tendencję zaobserwowano w ocenie aktywności ALT. I w tym wypadku średnia aktywność we wszystkich trzech pobraniach utrzymywała się w granicach wartości referencyjnych (17), ale bez statystycznie istotnych zmian w poszczególnych pobraniach, z tendencją do obniżania w trzecim pobraniu. Średnie wielkości zmian aktywności LDH i CK nie wskazywały na wystąpienie mikrourazów mięśni poprzecznie prążkowanych. W przypadku LDH nie przekraczały wartości referencyjnych (17) i były podobne do badań Milne i wsp. (12). Aktywność CK wzrastała w kolejnych pobraniach, przekraczając nieco górną granicę normy (17). Aktywność CK w trzecim pobraniu była statystycznie istotnie wyższa od pobrania pierwszego, a więc w okresie roztrenowania i potwierdzała spostrzeżenia innych autorów (6, 9). W

badaniach Milne (12) również nie stwierdzono negatywnego wpływu wzmożonego treningu koni na aktywność AST, LDH i CK, co może świadczyć o wcześniejszym, dobrym kondycyjnym przygotowaniu zwierząt do sezonu jeździeckiego.

W surowicy koni nie zaobserwowano zależności badanych parametrów od płci. Stwierdzono niskie poziomy miedzi, niezależnie od obciążenia fizycznego. Wymaga to dalszych badań nad aktywnością enzymów szczególnie miedzioza-

leźnych, mających istotne znaczenie w obronie organizmu przez stresem oksydacyjnym.

Piśmiennictwo

- Cymbaluk N. F., Bristol F. M., Christensen D. A.: Influence of age and breed of equid on plasma copper and zinc concentrations. *Am. J. Vet. Res.* 1986, 47, 192-195.
- Czuba R., Gembarzewski H., Dębowski M., Klonowska Z., Mleczek E.: Zawartość rozpuszczalnych form mikroelementów w glebach Polski. IUNG, Puławy 1985.
- Gehrke M.: Miedź i mangan w patogenie chorób układu kostnego zwierząt. *Medycyna Wet.* 1997, 53, 644-646.
- Grzebuła S.: Wstępne badania nad zawartością składników mineralnych w surowicy kłaczy i źrebiąt w glebach i roślinności użytków zielonych w krajowych stadninach koni. *Mat. VII Kongresu PTNW, Lublin 1983*, s.187.
- Jansson A.: Doctoral Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala 1999.
- Kędzierski W., Podolak M.: Zmiany metaboliczne u koni w procesie ujeżdżania. *Medycyna Wet.* 2001, 57, 207-209.
- Krumych W.: Wpływ płci na wartości biochemicznych wskaźników krwi koni. *Medycyna Wet.* 1993, 49, 327-328.
- Krumych W., Wiśniewski E., Danek J., Dąbrowska J.: Sezonowa zmienność składników mineralnych, glukozy i białek we krwi koników polskich. *Medycyna Wet.* 1995, 51, 168-169.
- Krumych W., Kędzierski W., Podolak M.: Zmiany metaboliczne u koni w procesie ujeżdżania. *Medycyna Wet.* 2001, 57, 207-209.
- Lachowski A.: Skład mineralny gleb w Polsce a choroby niedoborowe zwierząt. *Medycyna Wet.* 1994, 50, 58-59.
- Losiak W.: Niedobory mineralne u krów mlecznych w dolinie rzeki Łęby. *Praca dokt. AR Lublin*, 1990.
- Milne D. W., Skarda R. T., Gabel A. A., Smith L. G., Ault K.: Effects of training on biochemical values in standardbred horses. *Am. J. Vet. Res.* 1976, 37, 285-290.
- Normy żywienia koni wartość pokarmowa pasz, Omnitech Press Warszawa 1994, s.20-35.
- Saba L., Wnuk W., Ondrasovic M., Bis-Wencel H., Odój J.: Niedobory mikroelementów u krów mlecznych w rejonie Pomorza Środkowego z uwzględnieniem stanu fizjologicznego. *Annls Univ. Mariae Curie-Skłodowska sec. EE*, 2002 (w druku).
- Szarska E.: Ocena koni startujących we wszechstronnym konkursie konia wierzchowego. *Życie wet.* 2001, 76, 379-381.
- Szarska E.: Ocena wydolności koni na podstawie zmian wybranych wskaźników krwi badanych w spoczynku, po wysiłku i po okresie restytucji. *Medycyna Wet.* 1990, 46, 452-453.
- Winnicka A.: Wartości referencyjne podstawowych badań laboratoryjnych w weterynarii. *Wyd. SGGW, Warszawa 1997*.

Adres autora: dr hab. Hanna Bis-Wencel, ul. Bychawska 1/8, 24-200 Bełżyce