

Tytuł rozprawy doktorskiej:

„Określenie prebiotycznych właściwości laktozy serwatkowej w mieszankach paszowych dla kurcząt rzeźnych”

Autor: **lek. wet. Mohamed Nabil Alloui**

Promotor: dr hab. Witold Szczurek

Streszczenie

Laktoza – dwucukier występujący w mleku – nie jest bezpośrednio wchłaniana z przewodu pokarmowego, a znikoma ilość enzymu β -galaktozydazy (laktazy) wytwarzana w rąbku szczoteczkowym jelita cienkiego ptaków powoduje, że drób w odróżnieniu do ssaków nie jest w stanie skutecznie trawić laktozy do składowych cukrów prostych: D-galaktozy i D-glukozy. W szeregu dotychczasowych badań wykazano, że laktoza trafiająca do dolnych odcinków przewodu pokarmowego kurcząt, w tym do jelit ślepych, jest metabolizowana przez część endogennej mikroflory bakteryjnej z wytworzeniem krótkołańcuchowych kwasów organicznych, głównie kwasu mlekowego i lotnych kwasów tłuszczowych (LKT). W zakwaszającym i bakteriostatycznym, względem niekorzystnych mikroorganizmów, działaniu tych związków upatruje się głównych potencjalnych korzyści ze stosowania laktozy w żywieniu drobiu, które mogą skutkować poprawą funkcjonowania jelit, polepszeniem ogólnego stanu zdrowia ptaków, a w ślad za tym możliwością uzyskania wyższych przyrostów masy ciała. Do niedostatecznie rozwiązanych problemów związanych z zastosowaniem laktozy jako dodatku paszowego dla kurcząt rzeźnych należy między innymi określenie jej optymalnej ilości w diecie, pozwalającej na uzyskanie istotnej poprawy wskaźników produkcyjnych, a także ustalenie intensywności skutków ubocznych występujących po spożyciu przez ptaki paszy zawierającej różne dawki tego dwucukru. Nierozłożona laktoza pozostająca w jelitach może powodować np. zatrzymanie w nich wody, objawiające się rozwolnieniem odchodów lub biegunką osmotyczną.

Jedynie niewielka część dotychczasowych badań na kurczętach brojlerach była poświęcona wykorzystaniu suszonej serwatki jako źródła laktozy w diecie, a także efektem jednoczesnego dodatku laktozy serwatkowej i bakterii fermentacji mlekowej (LAB), które mogą wykorzystywać ten disacharyd jako substrat energetyczny, stymulując korzystne warunki w przewodzie pokarmowym ptaków. W niniejszej rozprawie podjęto próbę powiązania obu powyższych zagadnień, wychodząc z założenia iż, wobec obowiązującego zakazu stosowania antybiotykowych stymulatorów wzrostu, badania ukierunkowane na ocenę efektywności naturalnych dodatków paszowych i ich kombinacji mają swoje praktyczne uzasadnienie. W pracy postawiono dwie zasadnicze hipotezy badawcze. W pierwszej hipotezie założono, że oczekiwane prebiotyczne działanie umiarkowanych ilości laktozy wprowadzanej do paszy pełnoporcjowej w postaci dodatków suszonej serwatki, poprzez korzystne zmiany w mikrośrodkowisku przewodu pokarmowego, odzwierciedli się wyraźną poprawą wskaźników produkcyjnych i poubojowych kurcząt brojlerów. W hipotezie drugiej przyjęto, że dodatkowe włączenie do diety bakterii z rodzaju *Lactobacillus* będzie

wzmacniało prebiotyczny efekt laktozy serwatkowej i jej pozytywny wpływ na produktywność i/lub zdrowotność kurcząt. W celu sprawdzenia tych hipotez przeprowadzono dwa kolejne doświadczenia produkcyjno-fizjologiczne na kurczętach rzeźnych Ross 308, żywionych fazowo zbożowo-sojowymi mieszankami paszowymi. Standardowa suszona serwatka, stosowana w paszy od 8 dnia życia, pochodziła od krajowych wytwórców. W obu doświadczeniach przedmiotem obserwacji były wyniki produkcyjne 6-tygodniowego odchowu i wskaźniki poubojowe kurcząt, w połączeniu z oceną wybranych parametrów jelit: fizyko-biochemicznych (pH, LKT) i mikrobiologicznych (liczebność niektórych grup bakterii oznaczana metodą płytkową lub techniką fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ - FISH) oraz wskaźników morfometrycznych (długość i/lub masa) niektórych odcinków przewodu pokarmowego i narządów wewnętrznych. W trakcie obydwu doświadczeń prowadzono również wizualną ocenę stanu odchodów metodą bonitacji punktowej według skali od 1 do 5, gdzie wartość 1 oznaczała odchody suche, naturalnej formy, zaś wartość 5 - odchody bardzo mokre, charakterystyczne dla biegunki. Ogólnym celem poznawczym Doświadczenia 1 było zbadanie wpływu stosowania paszy z udziałem 1%, 2% lub 3% laktozy serwatkowej (LAC), wprowadzanej z rosnącą ilością dodatku suszonej serwatki, na wymienione powyżej wskaźniki u kurcząt utrzymywanych w systemie odchowu klatkowego (grupowe klatki o podłodze drucianej), z próbą identyfikacji najbardziej korzystnego poziomu LAC w diecie. Celem uzupełniającym w tym doświadczeniu było porównanie efektów krótko- (8-21 dzień) i długookresowego (8-42 dzień życia) żywienia paszą z LAC dla zbadania czy i w jaki sposób wybrane wielkości dodatku LAC wprowadzane jedynie do diety stosowanej we wczesnej fazie wzrostu wpłyną na końcowe wyniki produkcyjne odchowu ptaków. W oparciu o wyniki tego etapu badań wytypowano najbardziej skuteczną dawkę laktozy serwatkowej do zastosowania w drugim eksperymencie. W Doświadczeniu 2, sprawdzenie zakładanej w hipotezie możliwości wzmocnienia efektów działania optymalnej dawki laktozy serwatkowej w diecie, poprzez jej połączenie z dodatkiem bakterii z grupy LAB, wykonano na podstawie danych otrzymanych przy odchowu kurcząt w boksach ściółowych, tj. w warunkach zbliżonych do odchowu fermowego. Wykorzystano niekomercyjny preparat bakteryjny zawierający żywe bakterie z gatunku *Lactobacillus agilis* w stosując dawkę 90 mln bakterii na 1 kg paszy. W tym doświadczeniu, oprócz wspomnianych wyżej parametrów, określano także wskaźniki biochemiczne surowicy krwi oraz parametry kości udowych kurcząt. Przyjęty układ żywienia pozwalał przeanalizować wpływ łącznego i oddzielnego stosowania badanych dodatków oraz ich działanie jako niezależnych źródeł zmienności.

W Doświadczeniu 1 rosnący udział LAC w diecie powodował sukcesywne zwiększenie stopnia rozwolnienia odchodów – najwyższe wartości liczbowe w ocenie wizualnej kałomoczu przypisano grupie żywieniowej 3% LAC. Wraz ze wzrostem ilości LAC w paszy rosło stężenie ogólnej sumy LKT w treści jelit ślepych kurcząt w wieku 21 dni. Towarzyszył temu spadek wartości pH, a istotne zwiększenie koncentracji kwasu octowego, propionowego i masłowego w formie niezdysojowanej odnotowano na dietach zawierających 1% i 2% LAC. Względna długość oraz masa jelit ślepych u ptaków otrzymujących 2% i 3% LAC w paszy była istotnie wyższa niż u ptaków żywionych paszą kontrolną. Analizy bakteriologiczne treści jelit ślepych kurcząt w wieku 42 dni (metoda płytkowa) wykazały, że 2- i 3-procentowy udział LAC w mieszance paszowej zmniejszyła istotnie liczebność bakterii z grupy coli, zwiększając jednocześnie liczebność populacji bakterii typu LAB. Nie

stwierdzono istotnego wpływu krótkotrwałej obecności laktozy serwatkowej w diecie (mieszanka typu starter, 8-21 dzień) na wskaźniki produkcyjne uzyskane zarówno w dalszym okresie żywienia mieszankami typu grower bez udziału LAC, jak i na ostateczne wyniki 6-tygodniowego odchowu. Wykazano natomiast korzystny efekt długotrwałego żywienia dietami z 1% i 2% udziałem LAC (8-42 dzień) odzwierciedlony w wyższych przyrostach masy ciała i lepszych współczynnikach wykorzystania paszy w całym okresie odchowu. Długookresowe stosowanie paszy zawierającej 2% LAC poprawiło również ($P=0,051$) wydajność mięśni piersiowych (% masy tuszki) w stosunku do wydajności odnotowanej na diecie kontrolnej. Żywienie kurcząt paszą z dodatkiem 3% laktozy serwatkowej wywarło natomiast istotny negatywny wpływ na wyniki produkcyjne ich odchowu w porównaniu z 1% i 2% dodatkiem tego dwucukru, lecz nie w odniesieniu do grupy kontrolnej. Wyniki uzyskane w warunkach tego doświadczenia sugerowały, że za najbardziej efektywną dawkę LAC można uznać jej 2-procentowy udział w diecie.

W Doświadczeniu 2 wpływ dodatku 2% LAC na odczyn pH oraz stężenie LKT (w tym niezdysonansowanych) w treści jelit ślepych był podobny do obserwowanego w pierwszym eksperymencie. Stwierdzono także wyższą koncentrację obu form kwasu propionowego i masłowego jako niezależny efekt dodatku *L. agilis*. Przy obecności LAC w diecie odnotowano również istotne zmniejszenie pH treści wola oraz jelita biodrowego kurcząt. Analizy bakteriologiczne treści jelit ślepych wykonane techniką FISH wykazały, że w wyniku stosowania dodatków LAC i *L. agilis* zarówno oddzielnie jak i w wersji połączonej, nastąpiło istotne ograniczenie populacji bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* oraz spadek liczby laseczek gatunku *Clostridium perfringens*. Nie stwierdzono jednak istotnego wpływu tych dodatków na względną masę narządów limfoidalnych i fagocytarnych (śledziona, kaletka Fabrycjusza, wątroba) oraz masę serca. Obserwowano istotnie niższy poziom trójglicerydów oraz zmniejszoną zawartość azotu mocznikowego w surowicy krwi ptaków jako odrębny efekt dodatku preparatu *L. agilis*. Analizy fizykochemiczne kości udowych wykazały natomiast ogólny korzystny wpływ dodatku 2% LAC na względną wartość siły łamania (niuton/100 g masy ciała) oraz zwiększony udział popiołu surowego w tych kościach. Podobnie jak w pierwszym doświadczeniu względna masa jelit ślepych była większa u ptaków otrzymujących w diecie LAC, a odchody tych ptaków uzyskały niekorzystną (wyższą) punktację w ocenie wizualnej i zawierały mniej suchej masy. Postulowane w hipotezie potęgowanie przez dodatek *L. agilis* korzystnego wpływu laktozy serwatkowej na wskaźniki badane w tym doświadczeniu odnotowano w przypadku liczebności bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* oraz gatunku *Clostridium perfringens*, a także stężenia kwasu masłowego w treści jelit ślepych. Wskaźniki produkcyjne stwierdzone po 6. tygodniach odchowu w boksach ściółkowych nie potwierdziły obserwowanego w pierwszym eksperymencie, korzystnego wpływu 2% udziału LAC w paszy pełnoporcjowej na przyrosty masy ciała kurcząt, a połączenie laktozy z dodatkiem preparatu *L. agilis* nie wpłynęło istotnie na zmianę tego parametru. Badane dodatki paszowe, stosowane zarówno oddzielnie jak i w postaci kombinacji: 2% LAC + 90 mln bakterii *L. agilis*/kg paszy, nie różnicowały wyników analizy dysekccyjnej tuszek kurcząt w zakresie udziału mięśni piersiowych oraz mięśni nóg.

Balice, 17 września 2015 r.