

UTJECAJ ORGANSKOG SELENA NA RAST I BIOKEMIJSKE POKAZATELJE U SERUMU FAZANSKIH PILIĆA

EFFECTS OF ORGANIC SELEN ON GROWTH AND BIOCHEMICAL PARAMETERS IN PHEASANTS CHICKEN

Marcela Šperanda, T. Florijančić, I. Bošković, I. Bogut, H., Gutzmirtl, Đ. Senčić, Z. Antunović, D. Bodakoš

Izvorni znanstveni članak
UDK: 636.5.:636.085.12
Primljeno: 9. svibanj 2005.

SAŽETAK

Selen je esencijalni mikroelement potreban svim životinjama za rast, zdravlje i održavanje normalnih biokemijskih funkcija. Deficit selena u ptica, osobito uz istovremeni nedostatak vitamina E, uzrokuje pojavu eksudativne dijateze, encefalomalaciju i atrofiju pankreasa, a utvrđen je i pad otpornosti, smanjenje proizvodnje jaja, te porast embrionalne smrtnosti. Istraživanje je provedeno na fazanskim pilićima (n=24) koji su prvih 28 dana hranjeni standardnom krmnom smjesom s 28% sirovih bjelančevina. Nakon toga pilići su podijeljeni u dvije skupine i do 70. dana starosti hranjeni krmnom smjesom s 24% sirovih bjelančevina ("Valpovka" Valpovo). Pokusnoj je skupini umiješan pripravak organskog selena (200 g/tonu, Sel-Plex®, Alltech, inc.). Tjelesne mase pilića kontrolne skupine bile su veće za 5,98% 56. dana, a 14,15% 70. dana tova. Biokemijskom pretragom seruma fazanskih pilića 70. dana pokusa utvrđena je statistički značajno (P<0,01) niža razina kreatinina, niža razina (P<0,05) triglicerida, ukupnog kolesterola i LDL-kolesterola u pokusnoj skupini, dok je koncentracija ukupnih bjelančevina i albumina bila viša. Hematološkom pretragom utvrđen je statistički značajno veći (P<0,05) udio štapićastih heterofila u pokusnih životinja. Jednostavnom raščlambom trupova nakon klanja utvrđena je značajno (P<0,05) manja masa kože i iznutrica (P<0,01) u pokusnoj skupini, dok je udio vrijednih dijelova trupova bio ujednačen.

Ključne riječi: organski selen, fazanski pilići, biokemijski pokazatelji, rast, svojstva trupova

UVOD

Selen je kemijski element koji se u prirodi pojavljuje u organskom i anorganskom obliku. Anorganski se selen može naći u različitim mineralima u obliku selenita, selenata i selenida. Organski se selen, iz pojedinih krmiva (žitarice,

Doc. Marcela Šperanda, dr. vet. med, mr. sc. Tihomir Florijančić, dr. vet. med., Ivica Bošković, dipl. ing., prof. dr. sc. Ivan Bogut, prof. dr. sc. Đuro Senčić, prof. dr. sc. Zvonko Antunović, Poljoprivredni fakultet u Osijeku; Hrvoje Gutzmirtl, dr. vet. med., Centar za unaprijeđenje stočarstvu Osijeku; Dragutin Bodakoš, Medical Intertrade.

trava, krmiva obogaćena uljem), pojavljuje s aminokiselinama metioninom i cisteinom. Životinje uobičajeno primaju selen iz biljaka u obliku selenometionina (Combs i Combs, 1986) u količinama koje ovise o koncentraciji selena u tlu, a ona može značajno varirati (Reilly, 1996). Iako se godinama kao dodatak hrani koristio anorganski selen, utvrđena je njegova slabija učinkovitost u odnosu na organski selen, prirodni sastojak biljke. Štoviše, utvrđena je pro-oksidativna aktivnost natrijeva selenita kroz reakcije s reduciranim glutathionom (Yan i Spallholtz, 1993). Danas je u upotrebi komercijalni izvor selenometionina iz kvasca *Saccharomyces cerevisiae* (Sel-Plex[®]) koji se metabolizira kao i metionin (Wolfram, 1999). Životinje i čovjek ga ne proizvode već ga moraju unijeti hranom (Schrauzer, 2000), a u organizmu je dijelom mnogobrojnih selenoproteina: glutathion peroksidaze, tioredoksin reduktaze, iodotironin deiodinaze i drugih.

Deficit selena u ptica, osobito uz istovremeni nedostatak vitamina E, uzrokuje pojavu eksudativne dijateze (Barthlomew i sur., 1998), encefalomalaciju (Combs i Hady, 1991) i atrofiju pankreasa (Combs, 1994), a utvrđen je i pad otpornosti, smanjena proizvodnja jaja, te porast embrionalne smrtnosti (Combs i Combs, 1984). Uloga selenoproteina kao elementa antioksidativnog sustava objašnjava pojavu znakova oštećenja i bolesti u slučaju nedostatka ovoga elementa. Selen je prisutan u svim stanicama i tkivima, ali su najviše koncentracije zabilježene u kori bubrega, jetri, žlijezdanom tkivu (pankreas, hipofiza), manje su količine u srčanom i skeletnom mišiću, krvi, kostima, a vrlo su niske količine u masnome tkivu (Košutić, 1998). Unatoč poznatom toksičnom učinku selena u višim dozama, podaci za perad su ponekad kontradiktorni. Skupina istraživača nije utvrdila toksični učinak selena pri dozama do 6 mg/kg (Moksnes, 1983, Ort i Latshaw, 1976), a Todorović i sur. (1999) utvrdili su smanjene dnevne priraste pri dozi od 5 mg/kg hrane. Dok natrijev selenit pokazuje izrazitu citotoksičnost jer u reakciji s glutathionom promiče sintezu superovodikovih radikala (Seko i Imura, 1997), selenometionin nije toksičan za stanice, naprotiv, snažan je antioksidans (Vinson i sur., 1998). Važnost hranidbe za tjelesnu kondiciju i sposobnost fazanskih pilića za uzgoj ističu Draycott i sur., (1998) i Draycott i sur., (2002), apelirajući na neophodnu

pojačanu hranidbu fazana u intenzivnom uzgoju radi povećanja proizvodnje.

S obzirom na navedeno cilj našeg istraživanja bio je utvrditi učinak dodatka organskog selena hrani fazanskih pilića tijekom 40 dana tova na zdravlje, proizvodne, hematološke i biokemijske pokazatelje, te udjele pojedinih dijelova tijela.

MATERIJAL I METODE

Istraživanje je provedeno na obiteljskom poljoprivrednom gospodarstvu na fazanskim pilićima (n=24). Prvih 28 dana držani su zajedno i hranjeni standardnom krmnom smjesom «Starter za fazane» s 28% sirovih bjelančevina, a zatim, podijeljeni u dvije skupine po 12 fazanskih pilića obaju spolova, hranjeni standardnom krmnom smjesom «Grover za fazane» s 24% sirovih bjelančevina ("Valpovka" Valpovo) do 70. dana starosti. Pokusnoj je skupini umiješan pripravak organskog selena (200 g/tonu, Sel-Plex®, Alltech, inc.). Životinje su hranjene po volji. Tjelesna masa kontrolirana je na početku pokusa, a zatim 28., 42., 56. i 70. dana života. Krv je uzimana sterilno punkcijom krilne vene u količini od 2 ml u epruvetu s dinatrijevom soli etilendiaminomtetraoctene kiseline (EDTA) kao antikoagulansom za hematološku pretragu i 2 ml u epruvetu tipa Microtainer® za biokemijsku pretragu. Diferencijalna krvna slika pretražena je mikroskopom u pripremljenim krvnim razmazima obojenim po Pappenheimu. Radi utvrđivanja razine metabolita (glukoza, urea, kreatinin, urati, proteini, albumini, kolesterol, trigliceridi), kao i elektrolita (Ca, P, Na, K, Cl) korišten je automatski analizator Olympus 640. Nakon klanja izvršena je raščlamba na osnovne dijelove trupova fazana (ukupna masa trupa, koža, iznutrice, masa trupa bez ekstremiteta, masa ekstremiteta). Vrijednost pH₁ mesa izmjerena je u prsnom mišićju 45 minuta *post mortem* pomoću kontaktnog pH-metra Mettler Toledo, nakon hlađenja mesa na +4 °C.

Dobivene vrijednosti pretražvanih pokazatelja obrađene su računalnim programom Statistica (StatSoft Inc., 2001). Značajnost razlika između kontrolne i pokusnih skupina određena je neparametrijskim Mann-Whitney U-testom neovisnih varijabli.

REZULTATI I RASPRAVA

Hranidbom fazanskih pilića tijekom 70 dana podijeljenih u dvije faze (početna krmna smjesa i smjesa za tov) pri čemu je u drugoj fazi tova pokusnoj skupini dodan pripravak organskog selena (Sel-Plex®), postignute su ujednačene tjelesne mase, osobito nakon prve faze. U drugom dijelu tova (od 42. do 70. dana), kada su pilići dobivali selen, tjelesne mase pilića kontrolne skupine bile su veće za 5,98% 56. dana, a 14,15% 70. dana tova (Slika 1). Postignute tjelesne mase objiju skupina bile su u granicama za vrstu i kategoriju životinja, a Strakova i sur., (2004) ističu da je vrijeme od 40. do 70. dana razdoblje najintenzivnijeg rasta fazanskih pilića.

Tablica 1. Tjelesne mase fazanskih pilića hranjenih smjesom uz dodatak selena do 70. dana starosti

Table 1. Body mass of the pheasant chickens fed mixture with organic selenium until day 70

Dani Days	Kontrola, N=13 Control group, N=13		Sel-Plex®, N=11 Experimental group, N=11	
	ASV, g	SD	ASV, g	SD
28. dan	193,46	34,05	180,45	23,17
42. dan	321,53	51,25	317,72	35,45
56. dan	476,15	80,31	447,72	47,29
70. dan	615,84	185,68	528,72	148,72

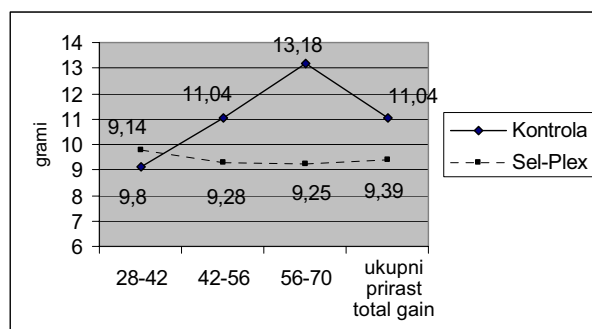
Sukladno tome, dnevni prirasti bili su veći u kontrolnoj skupini fazanskih pilića (Slika 1), osobito između 56. i 70. dana tova, no razlike nisu bile statistički značajne.

Biokemijskom pretragom seruma fazanskih pilića 70. dana pokusa utvrđena je statistički značajno ($P < 0,01$) niža razina kreatinina u pokusnoj skupini, kao i niža razina ($P < 0,05$) triglicerida u istoj skupini (Tablica 2), dok je koncentracija ukupnih bjelančevina i albumina bila viša, što je u skladu s istraživanjem Gursu i sur. (2003). Koncentracija ukupnog i LDL-kolesterola bila je niža u pokusnoj skupini životinja. Poznat je učinak selena na pretvorbu tetrajodtironina (T4), kao transportnog oblika hormona štitnjače, u

trijodtironon (T3), a ovaj je odgovoran za anabolički učinak bjelančevina, smanjenu koncentraciju kolesterola u krvi, kao i pojačanu apsorpciju glukoze. S obzirom na odnos ukupnih bjelančevina

Slika 1. Dnevni prirasti fazanskih pilića hranjenih smjesom uz dodatak organskog selena

Slide 1. Daily gain of the pheasant chickens fed feed mixture with organic selenium



i albumina (Tablica 2) može se zaključiti da je pokusna skupina imala višu razinu globulinske frakcije bjelančevina, što govori o stimulirajućem imunom odgovoru pod utjecajem selena. Dodatkom selena podiže se stanični i humoralni imunski odgovor, a utvrđena je viša razina IgG i IgM u serumu krava koje su dobivale sol sa 60 ppm organskoga selena (Awadeh i sur., 1998a). Gursu i sur. (2003) utvrdili su povišenu koncentraciju Ca, P i K, ali sniženu koncentraciju Na uz dodatak selena, dok je u našem istraživanju utvrđena viša razina Ca, P i Na u pokusnoj skupini, ali bez statističke značajnosti (Tablica 3). Spomenuti metabolički učinak selena na smanjenje triglicerida, ukupnog kolesterola, kao i LDL kolesterola utvrđen je i kod štakora (Izuka i sur., 2001). Vjerojatno se radi o smanjenoj aktivnosti sintetaze masnih kiselina što ima posebno povoljan učinak pri povišenoj razini kolesterola. Dodatak selena u hrani može prevenirati hiperlipidemiju, a selen izravno utječe na porast aktivnosti glutathion peroksidaze u jetri (Kang i sur., 2000) i dostupnost selenoproteina odgovornih za zaštitu staničnih membrana od štetnih oksidativnih radikala. Antioksidativni učinak selenometionina utječe na kakvoću mesa, a ona je važno obilježje proizvoda za izbirljivog potrošača. Utvrđeno je da dodatak selena od 0,25 ppm povećava aktivnost glutathionperoksidaze (GSH-Px)

do 4 dana nakon skladištenja mesa na +4°C, a razina lipidne peroksidaze ostaje snižena (De Vore i sur., 1983). Posljedica toga je oksidativna stabilnost skeletnih mišića, smanjen je gubitak vode. Povezana su svojstva kapaciteta vezanja vode i stabilnosti membrane eritrocita (Edens, 2001). Hematološkom pretragom utvrđen je statistički značajno ($P<0,05$) veći udio štapićastih heterofila što govori o pojačanom ubacivanju novih

heterofila u cirkulaciju. Istovremeno, utvrđen je veći udio monocita, ali manji udio limfocita u pokusnoj skupini (Tablica 4). Jednostavnom raščlambom trupova nakon klanja utvrđena je značajno ($P<0,05$) manja masa kože i iznutrica ($P<0,01$) u pokusnoj skupini, dok je udio vrijednih dijelova trupova ujednačen. Završne mase kao i mase pojedinih dijelova trupova podudaraju se s istraživanjem Strakove i sur. (2004).

Tablica 2. Biokemijski pokazatelji u serumu fazanskih pilića hranjenih smjesom uz dodatak organskog selena 70. dana pokusa

Table 2. Biochemical parameters in the serum of pheasant chicken fed the mixture with organic selenium on day 70 of the trial

Pokazatelji - Parameters	Kontrola N=5		Selplex® N=5	
	AV	SD	ASV	SD
Glukoza - Glucose (mmol/L)	18,34	2,32	17,32	1,75
Urea - Urea (mmol/L)	0,98	0,25	1,02	0,44
Kreatinin - Creatinine (μmol/L)	11,00	2,54	3,60**	0,55
Urati - Urates (μmol/L)	926,20	327,00	549,80	264,66
Bjelančevine - Total proteins (g/L)	36,20	3,62	39,60	4,16
Albumini - Albumen (g/L)	16,38	1,38	18,48	1,98
Kolesterol - Cholesterol (mmol/L)	4,55	0,81	4,27	0,45
HDL - kol - HDL - Chole (mmol/L)	2,93	0,34	3,12	0,30
LDL - kol - LDL - Chole (mmol/L)	1,18	0,48	1,00	0,20
Trigliceridi - Tryglicerids (mmol/L)	0,96	0,35	0,44*	0,11

* $P<0,05$; ** $P<0,01$

Tablica 3. Elektroliti u serumu fazanskih pilića hranjenih uz dodatak organskog selena 70. dana starosti

Table 3. Electrolites in the serum of pheasant chickens fed with feed mixture organic selenium on day 70 of the trial

Pokazatelji - Parameters	Kontrola - Control group N=5		Selplex® - Experimental group N=5	
	AV	SD	ASV	SD
Kalcij - Calcium (mmol/L)	2,45	0,10	2,55	0,18
Fosfor - Phosphate (mmol/L)	2,97	0,16	3,01	1,25
Natrij - Sodium (mmol/L)	162,00	0,00	163,33	0,57
Kalij - Potassium (mmol/L)	5,20	0,98	5,23	0,47
Klor - Chloride (mmol/L)	115,50	2,12	115,33	1,52

Tablica 4. Imunohematološki pokazatelji u krvi fazanskih pilića uz dodatak organskog selena 70. dana tova

Table 4. Immunohaematological parameters in the blood of pheasants chicken fed feed mixture with organic selenium on day 70 of the trial

Pokazatelji - Parameters	Kontrola - Control group N=5		Selplex [®] - Experimental group N=5	
	ASV	SD	ASV	SD
Eritrociti - Erythrocytes x10 ¹² /l	2,55	0,63	1,75	1,5
Eozinofili - Eosinophil, %	3,25	2,63	6,40	1,67
Bazofili - Basophil, %	0,20	0,44	0,00	0,00
Nesegment - Heterophil (band), %	5,00	2,44	9,60*	0,54
Segmentirani - Heterophil, %	19,20	25,66	13,80	3,03
Limfociti - Lymphocyte, %	61,80	25,83	56,20	4,86
Monociti - Monocyte, %	12,20	4,38	14,00	2,54

* P<0,05

Tablica 5. Masa trupa i manje vrijednih dijelova fazanskih pilića hranjenih uz dodatak organskog selena nakon raščlambe 70. dana starosti

Table 5. Body mass of less valuable parts of pheasant chickens fed feed mixture with organic selenium on day 70 of the trial

Pokazatelji - Parameters, g	Kontrola - Control group N=5		Selplex [®] - Experimental group N=5	
	AV	SD	ASV	SD
Masa trupa - Body mass	615,00	77,62	569,00	62,38
Masa trupa bez ekstremiteta - Body mass without limbs	368,56	43,77	357,68	39,28
Koža - Skin	122,16	15,76	108,65*	11,17
Iznutrice - Offal	92,20	20,49	60,94**	7,38
pH	6,00	0,29	6,13	0,14

*P<0,05; ** P<0,01

ZAKLJUČAK

S obzirom na rezultate biokemijskih i hematoloških pretraga vidljiva je učinkovitost dodatka selena koji u organskom obliku predstavlja antioksidativnu rezervu. Životinje u uvjetima stresa (djelovanje visoke temperature, puštanje u divljinu), kada je povećana proizvodnja slobodnih radikala, imaju osiguranu proizvodnju selenoproteina, što je preduvjet boljeg imunskog odgovora. Rezerve selena postoje u mišićima, a kada su pojačane

potrebe, katabolizmom proteina oslobađa se i selenometionin koji ima antioksidativnu ulogu u tkivima s pojačanom proizvodnjom slobodnih radikala.

LITERATURA

1. Awadeh, F. T., M. M. Abdelrahman, R. L. Kinkaid, J. W. Finley (1998a): Effect of selenium supplements on the distribution of selenium among serum

- proteins in cattle. *Journal of Dairy Science* 81: 1089-1094.
2. Barthlomew, A., D. Latshaw, D. E. Swayne (1998): Changes in blood chemistry, hematology and histology caused by a selenium/vitamin E deficiency and recovery in chicks. *Biological Trace Element Research*. 62: 7-16.
 3. Combs, G. F., S. B. Combs (1984): The nutritional biochemistry of selenium. *Annual Review of Nutrition* 4: 257-280.
 4. Combs, G. F., S. B. Combs (1986): the Role of selenium in Nutrition. Academic Press, Inc. New York.
 5. Combs, G. F., M. M. Hady (1991): Selenium involved with vitamin E in preventing encephalomalacia in the chick. *FASEB Journal* 5: A714.
 6. Combs, G. F. (1994): Clinical implications of selenium and vitamin E in poultry nutrition. *Veterinary Clinical Nutrition* 1: 133-140.
 7. De Vore, V. R., G. L. Colnago, L. S., Jensen, B. E. Greene (1983): Thiobarbituric acid values and glutathione peroxidase activity in meat from chickens fed a selenium-supplemented diet. *Journal of Food Science* 48: 300-301.
 8. Draycott, R. A. H., A. N. Hoodless, M. N. Ludiman, P. A. Robertson (1998): Effects of spring feeding on body condition of captive-reared ring-necked pheasants in Great Britain. *Journal of Wildlife management*. 62 (2): 557-563.
 9. Draycott R. A. H., D. m. B. Parish, M. I. A. Woodburn, J. P. Carroll (2002): Spring body condition of hen pheasant *Phasianus colchicus* in Great Britain. *Wildlife Biology*. 8(4): 261-266.
 10. Edens, F. W. (2001): Involvement of Sel-Plex® in physiological stability and performance of broiler chickens. *Proceedings of Alltech's 17th Annual Symposium*. Lyons and Jacques.
 11. Gursu, M. F., N. Sahin, O. Kucuk (2003): Effects of vitamin E and selenium on thyroid status, adrenocorticotropin hormone, and blood serum metabolite and mineral concentrations of Japanese quails reared under heat stress (34 degrees C). *Journal of Trace Elements in Experimental medicine*. 16 (2-3): 95-104.
 12. Iizuka Y., E. Sakurai, Y. Tanaka (2001): Effect of selenium on serum, hepatic and lipoprotein lipids concentration in rats fed on a high-cholesterol diet. *Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*. 121 (1): 93-96.
 13. Kang, B. P. S., U. Mehta, M. P. Bansal (2000): Hyperlipidemia and Type-1-5'-monodeiodinase activity: Regulation by selenium supplementation. *Indian journal of Biochemistry@Biophysics*. 37 (3): 183-187.
 14. Košutić, I. (1998): Utjecaj selena na morfohistokemijske osobitosti dvoglavog bedrenog mišića (*m. biceps femoris*) tijekom rasta svinja. Magistrski rad.
 15. Moksnes K. (1983): Selenium deposition in tissues and eggs of laying hens given surplus of selenium as selenomethionine. *Acta Veterinaria Scandinavica* 24: 34-44.
 16. Ort J. F., J. D. Latschaw (1976): The toxic level of sodium selenite in the diet of laying chickens. *The Journal of Nutrition* 108: 1114-1120.
 17. Reilly, C. (1996): Selenium in Food and Health. Blackie Academic&Professional, an imprint of Chapman&Hall, London.
 18. Seko, Y., N. Imura (1997): Active oxygen generation as a possible mechanism of selenium toxicity. *Biomedical and Environmental Sciences* 10: 333-339.
 19. Schrauzer, G. N. (2000): selenomethionin: a review of its nutritional significance, metabolism and toxicity. *The journal of Nutrition* 130: 1653-1656.
 20. Strakova, E., F., Vitula, P. Suchy, V. Večerek (2004): Growth intensity and carcass characteristics of fattened pheasant poults. 11th International Conference Krmiva 2004.
 21. StatSoft, Inc. (2001). STATISTICA (data analysis software system), version 6. www.statsoft.com.
 22. Todorović M., M. Mihailović, S. Hristov (1999): Effects of excessive levels of sodium selenite on daily weight gain, mortality and plasma selenium concentration in chickens. *Acta Veterinaria Beograd* 49: 313-319.
 23. Vinson, J. A., J. M. Stella, T. J. Flanagan (1998): Selenium yeast is an effective in vitro and in vivo antioxidant and hypolipemic agent in normal hamsters. *Nutrition Research* 18: 735-742.
 24. Wolfram, S. (1999): Absorption and metabolism of selenium: difference between inorganic and organic sources. In: *Biotchnology in the Feed Industry*. Proceedings of 15th Alltech's Annual symposium, Edited by Lyons, T.P. and Jacques, K. A., Nottingham University Press, Nottingham, UK, 547-566.
 25. Yan, L., J. E. Spallholtz (1993): Generation of reactive oxygen species from the reaction of selenium compounds with thiols and mammary tumor cells. *Biochemical Pharmacology* 45: 429-437.

SUMMARY

Selenium is the essential trace element incorporated into the diets of all animals. It is important for the maintenance of health, growth and normal biochemical parameters. Selenium deficiency in birds can manifest exudative diathesis, encephalomalacia, pancreatic atrophy, immune deficiencies, decrease of egg production and increase of embryonic mortality. The investigation included 24 pheasant chickens divided into two groups fed standard feed mixture for pheasant chickens (starter mixture with 28% of crude proteins and grower mixture with 24% of crude proteins). In the experimental group Sel-Plex[®] was added in the concentration of 0.2%. Body weight in the control group was higher by 5.98% on day 56 of the trial and 14.15% higher on day 70 of the trial as compared to the experimental group. Biochemical investigation on day 70 of the trial showed significantly lower concentration ($P < 0.01$) of creatinine, triglycerol ($P < 0.05$), total cholesterol as well as LDL-cholesterol in the experimental group. Higher concentration of total protein and albumin was established in the experimental group compared to the controls. The level of heterophyl (band) leucocytes was significantly ($P < 0.05$) higher in the experimental group. After slaughter significantly lower ($P < 0.05$) skin weight and lower offal weight were determined in the experimental group but highly valuable parts of carcasses were equal in both groups.

Key words: organic selenium, common pheasant, growth intensity, biochemical parameters, carcass characteristic