

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Robert FLERE

**VPLIV DODATKA KRATKOVERIŽNIH
MAŠČOBNIH KISLIN NA KAKOVOST JAJČNE
LUPINE**

DIPLOMSKO DELO

Univerzitetni študij

Ljubljana, 2005

UNIVERZA V LJUBLJANI
BIOTEHNIŠKA FAKULTETA
ODDELEK ZA ZOOTEHNIKO

Robert FLERE

**VPLIV DODATKA KRATKOVERIŽNIH MAŠČOBNIH KISLIN NA
KAKOVOST JAJČNE LUPINE**

DIPLOMSKO DELO
Univerzitetni študij

**EFFECT OF SHORT CHAIN FATTY ACIDS SUPPLEMENTATION
ON EGG-SHELL QUALITY**

GRADUATION THESIS
University studies

Ljubljana, 2005

Diplomsko delo je zaključek univerzitetnega študija kmetijstvo - zootehnika. Opravljeno je bilo na Katedri za prehrano Oddelka za zootehniko Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani. Poskus je bil opravljen v poskusnih hlevih Oddelka za zootehniko, kemijske analize v laboratoriju Katedre za prehrano in v laboratoriju Perutnine Ptuj na Ptuju. Merjenje trdnosti jajčne lupine je bilo opravljeno na Oddelku za živilstvo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.

Komisija za dodiplomski študij Oddelka za zootehniko je za mentorja diplomskega dela imenovala prof. dr. Janeza Salobirja.

Recenzentka: prof. dr. Antonija HOLCMAN

Komisija za oceno in zagovor:

Predsednik: prof. dr. Jurij POHAR
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Članica: prof. dr. Antonija HOLCMAN
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Član: prof. dr. Janez SALOBIR
Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko

Datum zagovora: 23. 5. 2005

Delo je rezultat lastnega raziskovalnega dela.

Robert FLERE

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

- ŠD Dn
- DK UDK 636.5.084/.087:637.4(043.2)=863
- KG kokoši/nesnice/prehrana živali/krma/krmni dodatki/jajca/jajčna
lupina/kakovost/kratkoverižne maščobne kisline/butirat/propionat/tanko
črevo/kosti/mineralizacija
- KK AGRIS L51/6100/9610
- AV FLERE, Robert
- SA SALOBIR, Janez (mentor)
- KZ SI-1230 Domžale, Groblje 3
- ZA Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za zootehniko
- LI 2005
- IN VPLIV DODATKA KRATKOVERIŽNIH MAŠČOBNIH KISLIN NA
KAKOVOST JAJČNE LUPINE
- TD Diplomsko naloga (Univerzitetni študij)
- OP IX, 41 str. 17 pregl., 6 sl., 47 vir.
- IJ sl
- JI sl/en
- AI Absorbcija mineralov je v pozni nesnosti omejena oz. zmanjšana. Tudi zato lahko pride do motenj v presnovi mineralov in posledično do slabše kakovosti jajčne lupine. V naši raziskavi smo želeli ugotoviti ali dodatek mešanice propionske in maslene kisline, ki naj bi ugodno vplivali na absorpcijsko sposobnost tankega črevesa, pri nesnicah v pozni nesnosti vpliva na proizvodne lastnosti, kakovost jajčne lupine in mineralizacijo kosti. Raziskava je potekala na 54 kokoših, materah pitovnih piščancev ROSS 308, starih 60 tednov (37. teden nesnosti). Živali smo krmili individualno v prvem tednu z osnovno krmno mešanico, nato pa smo živali razdelili v tri skupine po 18 živali. V 28 dnevnom poskusu je prva skupina kokoši še naprej zauživala osnovno krmno mešanico, druga skupina krmo z 0,65 % dodatka kratkoverižnih maščobnih kislin (KVMK) in tretja skupina krmo z dodatkom 1,30 % KVMK. Živali so bile krmljene individualno s po 160 ± 2 g krme. Rezultati kažejo, da dodatek nobene od koncentracij KVMK v krmi ni vplival na telesno maso, na zauživanje krme, na nesnost, na maso jajc in na kakovost jajčne lupine. Masa stegenic in njena mineralna sestava pri kokoših s slabšo nesnostjo (20-49 %) je pokazala ugoden vpliv dodatka KVMK. Kokoši z nesnostjo nad 70 % so imele nekoliko manjšo maso stegenice, manjšo vsebnost surovega pepela in mineralnih snovi (kalcij, magnezij, fosfor). Vpliva KVMK pa ni bilo zaznati.

KEY WORDS DOCUMENTATION

- DN Dn
- DC UDC 636.5.084/.087:637.4(043.2)=863
- CX poultry/laying hens/animal nutrition/feed/feed additives/eggs/egg shell quality/short chain fatty acids/butyrate/propionate/small intestine/bones/mineralization
- CC AGRIS L51/6100/9610
- AU FLERE, Robert
- AA SALOBIR, Janez (supervisor)
- PP SI-1230 Domžale, Groblje 3
- PB University of Ljubljana, Biotechnical Faculty, Zootechnical Department
- PY 2005
- TI EFFECT OF SHORT CHAIN FATTY ACIDS SUPPLEMENTATION ON EGG-SHELL QUALITY
- DT Graduation thesis (University studies)
- NO IX, 41 p. 17 tab., 6 fig., 47 ref.
- LA sl
- AL sl/en
- AB Limited or reduced mineral absorption at the end of laying period leads to disorders in hen's mineral metabolism and consequently worse egg-shell quality. The aim of our research was to determine, if the mixture of propionic and butyric acids in layers at the late stage of lay has any influence on digestive conditions, digestive organs structure and consequently on egg-shell quality and bone mineralization. The research was performed on 54 mothers of broilers ROSS 308 hens, at the age 60 week old hens, 37th week of lay. The animals were fed individually with the same (control) diet for 7 days, and then they were divided into 3 groups, each contained 18 animals. In 28 day experimental period the first group was fed with control diet, the second diet was supplemented by 0.65 % of short chain fatty acids (SCFA) and third diet with 1.30 % SCFA. The animals were fed restrictively with 160 ± 2 g feed per day. The results of the experiment showed that the supplement of SCFA in feed had no influence on live weight, feed intake, laying, egg weight and egg-shell quality. Thighbone weight and content of crude ash in hens with low rate of lay (20-49 %) showed statistically significant effect of SCFA supplement. Hens with the rate of lay higher than 70 % had low thighbone weight, lower content of crude ash and minerals (calcium, phosphorus). The influence of SCFA was not observed.

KAZALO VSEBINE

	str.
Ključna dokumentacijska informacija (KDI)	III
Key words documentation (KWD)	IV
Kazalo vsebine	V
Kazalo preglednic	VII
Kazalo slik	VIII
Okrajšave in simboli	IX
1 UVOD	1
2 PREGLED OBJAV	3
2.1 NASTANEK IN ZGRADBA JAJČNE LUPINE	3
2.2 KAKOVOST JAJČNE LUPINE	6
2.3 POTREBE IN KRITJE POTREB PO MINERALIH PRI NESNICAH	7
2.3.1 Kalcij	8
2.3.2 Fosfor	12
2.3.3 Magnezij	13
2.3.4 Vitamin D ₃ (antirahitični hormon, kalciferol)	13
2.4 KRATKOVERIŽNE MAŠČOBNE KISLINE (KVMK) IN NJIHOV VPLIV NA ZDRAVSTVENO STANJE PREBAVIL	15
2.4.1 Pomanjkanje KVMK in stimulatorni učinek na rast epiteljskih celic črevesja	16
2.4.2 Vpliv KVMK na pH v črevesju	16
3 MATERIAL IN METODE	19
3.1 IZVEDBA POSKUSA, SPREMLJANJE PARAMETROV, KEMIJSKE ANALIZE	19
3.2 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV	22
4 REZULTATI	24
4.1 PRIRAST IN ZAUŽIVANJE KRME	24
4.2 NESNOST	24
4.3 MASA JAJC	25

4.4	KAKOVOST JAJČNE LUPINE	27
4.5	ANALIZA VSEBNOSTI SUROVEGA PEPELA (SP) IN POSAMEZNIH MINERALOV V STEGNENICI	31
5	RAZPRAVA IN SKLEPI	34
5.1	RAZPRAVA.....	34
5.2	SKLEPI.....	36
6	POVZETEK	37
7	VIRI	38
	ZAHVALA	

KAZALO PREGLEDNIC

	str.
Pregl. 1: Vloga različnih delov jajcevoda kokoši (Holcman in sod., 2004: 72).....	3
Pregl. 2: Potrebe po makromineralih (Simons, 1986: 146).....	8
Pregl. 3: Delež Ca in P v telesu (Berne in sod., 1998: 754).....	9
Pregl. 4: Priporočilo za oskrbo nesnic s Ca [g/kg mešanice z 11,25 MJ ME/kg] (Simons, 1986: 148).....	12
Pregl. 5: Sestava krmnih mešanic v poskusnih skupinah.....	20
Pregl. 6: Analiza krmnih mešanic.....	20
Pregl. 7: Vpliv dodajanja KVMK na telesno maso, prirast in zauživanje krme v celotnem poskusu in zauživanje krme v posameznih poskusnih obdobjih.....	24
Pregl. 8: Vpliv KVMK na nesnost (%) v posameznih in celotnem poskusnem obdobju....	25
Pregl. 9: Vpliv dodajanja KVMK na skupno maso jajc, povprečno maso jajc in povprečno maso jajca na dan v gramih v posameznih in skozi celotno poskusno obdobje...	26
Pregl. 10: Vpliv dodajanja KVMK na skupno maso jajc, povprečno maso jajc in povprečno maso jajca na dan v gramih v celotnem poskusnem obdobju v odvisnosti od razreda nesnosti.....	27
Pregl. 11: Vpliv dodajanja KVMK na delež jajc s poškodovano lupino.....	28
Pregl. 12: Vpliv dodajanja KVMK na trdnost jajčne lupine.....	28
Pregl. 13: Vpliv dodajanja KVMK na trdnost jajčne lupine v odvisnosti od razreda nesnosti.....	29
Pregl. 14: Vpliv dodajanja KVMK na vsebnost pepela v jajčni lupini v posameznih obdobjih in skupaj.....	30
Pregl. 15: Vpliv dodajanja KVMK na vsebnost pepela v jajčni lupini skupno v obeh obdobjih v.....	31
Pregl. 16: Vpliv dodajanja KVMK na kemijsko sestavo stegenice.....	32
Pregl. 17: Vpliv KVMK v odvisnosti od razreda nesnosti na maso stegenice in na vsebnost SP, Ca, Mg in P v stegenici.....	33

KAZALO SLIK

	str.
Slika 1: Reproductivni organi kokoši (Alderton, 1988: 36).....	4
Slika 2: Struktura jajčne lupine (Solomon, 1991: 89).....	5
Slika 3: Shematični prikaz dnevne bilance Ca in P pri kokoših nesnicah (Leeson in Summers, 2001: 349).....	10
Slika 4: Nastanek in presnova vit. D ₃ (Sutton in sod., 2003: 778).....	14
Slika 5: Shematični prikaz celičnih mehanizmov pri absorpciji KVMK (Marcus in sod., 2002: 289).....	17
Slika 6: Kokoši matere pitovnih piščancev ROSS 308 v individualnih kletkah.....	19

OKRAJŠAVE IN SIMBOLI

1,25(OH) ₂ D ₃	1,25- dihidroksiholekalciferol
25-OH-D ₃	25-hidroksiholekalciferol
Ca	kalcij
CaCO ₃	kalcijev karbonat
CO ₂	ogljikov dioksid
Cl	klor
D ₃	vitamin D ₃
K	kalij
Kisl-0,65	skupina kokoši, krmljenih z 0,65 % kratkoverižnih maščobnih kislin
Kisl-1,30	skupina kokoši, krmljenih z 1,30 % kratkoverižnih maščobnih kislin
Kont	kontrolna skupina
KVMK	kratkoverižne maščobne kisline
Mg	magnezij
Na	natrij
P	fosfor
PTH	paratireoidni hormon
SP	surovi pepel

1 UVOD

Skrbno načrtovana, pravilno sestavljena in odmerjena krma je eden ključnih dejavnikov sodobne živinoreje. Krma vpliva na ekonomičnost, zdravstveno stanje in splošno počutje živali ter na njihovo produkcijo. Pri uspešnosti reje kokoši nesnic je zelo pomembna kakovost jajčne lupine, na katero poleg prehrane vplivajo še starost kokoši nesnic, čas znesenega jajca, čas zadrževanja jajca v maternici (Koelkebeck, 2002), temperatura okolja (Nys, 2001), stres, zdravstveno stanje živali.

Jajčna lupina ima pomembno vlogo kot »embalaža« pri transportu jajc in zaščita pred vdorom bakterij v jajce (npr. salmonele). Kakovost jajčne lupine je pomembna tako pri valilnih kot pri jedilnih jajcih.

Pri nesnicah v pozni nesnosti se zmanjšujeta odstotek in debelina jajčne lupine (Al-Batshan in sod., 1994). Število poškodovanih jajc se v pozni nesnosti poveča za 12-20 %, kar je precej odvisno tudi od tehnologije reje (Nys, 2001). Raziskave kažejo, da se s starostjo kokoši absorpcija kalcija (Ca) zmanjšuje, povečuje pa se velikost jajc in s tem posledično poraba absorbiranega Ca (Al-Batshan, 1994). Izkoriščanje Ca pri nesnicah se s starostjo zmanjšuje s 50 na 40 % (Simons, 1986). Vzrok je v fiziološkem stanju prebavil, predvsem tankega črevesa, v katerem poteka pretežni del absorpcije Ca. Tako imajo na primer starejše kokoši nesnice slabše razvite celice črevesne sluznice, manjšo višino črevesnih resic, večjo globino črevesnih kript, kar zmanjša absorptivno sposobnost prebavil (Vugt in sod., 2001).

Z uravnavanjem vsebnosti mineralov in drugih hranil v krmi lahko le do neke mere vplivamo na izboljšanje kakovosti jajčne lupine v pozni nesnosti, zato se poskuša na druge načine vplivati na prebavne procese in absorpcijsko sposobnost.

Poznamo kar nekaj dodatkov, ki imajo pomembno vlogo pri delovanju prebavil: glutamin, kratkoverižne maščobne kisline (KVMK), prebiotiki, probiotiki,...KVMK nastajajo v prebavilih kot glavni produkti mikrobne fermentacije prehranskih vlaknin oz.

neprebavljivega materiala in so v prebavilih vedno prisotne (Graham in sod., 1989; Salobir J. in Salobir B., 2001). Pri delovanju tankega črevesja imajo pomembno vlogo, saj obnavljajo črevesno sluznico (Sakata, 1987) in uravnavajo presnovo v črevesju (Mc Burney in sod., 1997).

Najpomembnejša med KVMK je maslena kislina (butirat), ki predstavlja obvezen vir energije za celice debelega črevesa - kolonocite (Salobir J. in Salobir B., 2001). Butirat ima pomembno varovalno funkcijo pred vnetjem kolona in kolorektalnim rakom (Scheppach in sod., 1997). Podobno vlogo, kot jo ima butirat v debelem črevesu, ima v tankem črevesu propionat. Delovanje KVMK pri kokoših nesnicah ni poznano, poznan je le potencialno ugoden vpliv dodajanja KVMK na proizvodne rezultate (Vugt in sod., 2001).

Z raziskavo smo želeli ugotoviti ali dodatek KVMK (propionske in maslene) ugodno pliva na proizvodne lastnosti, kakovost jajčne lupine in mineralizacijo pri težkem tipu kokoši (materah pitovnih piščancev) v poznem nesnem obdobju. Delovna hipoteza raziskave je bila, da KVMK ugodno vplivajo na absorpcijsko sposobnost prebavil, v tolikšni meri, da pride do izboljšanja oskrbe s Ca in posledično do izboljšanja kakovosti jajčne lupine.

2 PREGLED OBJAV

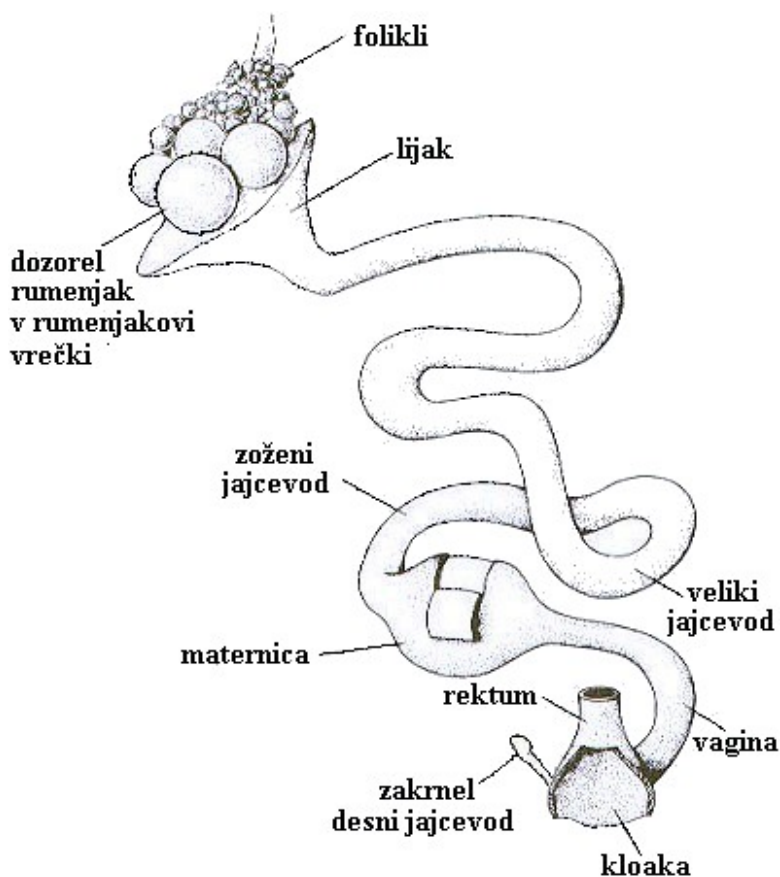
2.1 NASTANEK IN ZGRADBA JAJČNE LUPINE

Jajce nastaja v jajčniku in jajcevodu. Jajcevod je pri kokoših dolg približno 80 cm in sestavljen iz petih delov, ki se med seboj razlikujejo po zgradbi, dolžini in pomenu (Preglednica 1). Tvorba jajca, od sprostitve dozorelega folikla iz jajčnika v jajcevod, do znesenega jajca traja približno 24 ur (Holcman in sod., 2004).

Preglednica 1: Vloga različnih delov jajcevoda kokoši (Holcman in sod., 2004: 72)

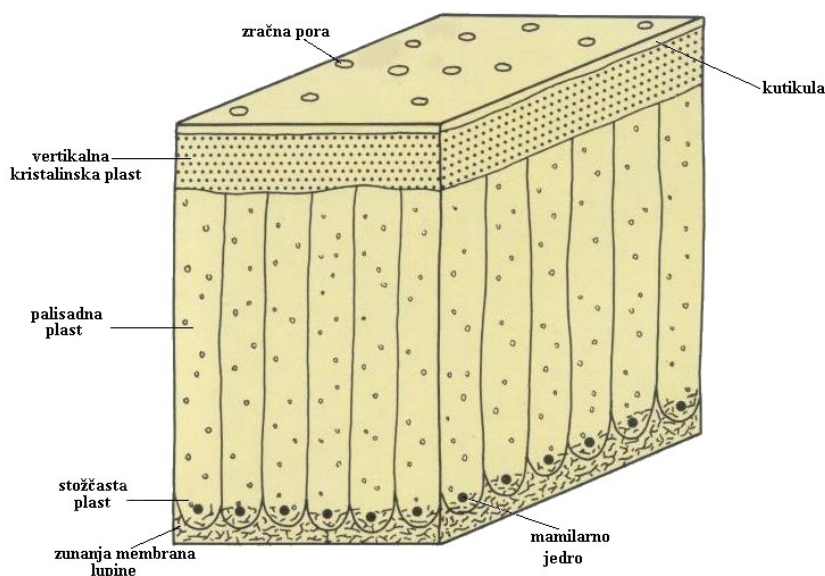
del jajcevoda	čas zadrževanja	funkcija
lijak (<i>infundibulum</i>)	15 minut	Sprejme rumenjaki iz jajčnika in ga obda s tanko plastjo beljaka. Če so prisotne semenčice pride do oploditve jajčne celice (valilno jajce).
veliki jajcevod (<i>magnum</i>)	3 ure	Obda več plasti beljaka.
zoženi jajcevod (<i>isthmus</i>)	1 ura	Doda dve mebrani, nekaj vode.
maternica (<i>uterus</i>)	19-20 ur	Tvorba jajčne lupine, zadnje ure obarva lupino, tvorba povrhnjice čez lupino.
nožnica (<i>vagina</i>)	manj kot minuto	Prehod jajca ob znesenju.

Jajčna lupina se začne tvoriti v zoženem jajcevodu (*isthmus*), v glavnem pa se tvori v maternici (*uterus*) od 5.-22. ure po ovulaciji in spada med najhitrejše mineralizacijske procese (Nys, 2001). Intenzivno nalaganje Ca v jajčno lupino je med 12. in 18. uro ciklusa. Kalcifikacija-nalaganje Ca, poteka medtem, ko jajce počasi potuje med isthmusom in uterusom in sovпада z nastajanjem mamilarne plasti, ta pa je z bazalno kapico vezana na zunanjo membrano lupine. Jajce se zadrži v uterusu okrog 20 ur (Slika 1) (Cestnik, 1993).



Slika 1: Reproductivni organi kokoši (Alderton, 1988: 36)

V uterusu ima jajce že izoblikovano stožčasto plast (mamilarno plast) z mamilarnim jedrom. Sinteza jajčne lupine poteka z zgoščevanjem kalcijevega karbonata (CaCO_3) na membrani in nalaganjem plasti. Naložene plasti predstavljajo palisadno plast, ki daje lupini trdnost in debelino (Slika 2). Debelina jajčne lupine pri kokoših znaša okrog 0,33 mm, povprečna trdnost je 30 N (newton) (Nys, 2001). Jajčno lupino v 90 - 95 % sestavlja kalcit, ki je najbolj stabilna polimorfna oblika CaCO_3 , nekaj odstotkov pa predstavlja še beljakovinski del v stožčasti in palisadni plasti. Jajčna lupina je čvrsta apnenčasta zunanja ovojnica, ki preprečuje učinke fizikalnih in kemičnih dejavnikov okolja na jajce ter ščiti zarodek med embrionalnim razvojem. Največji delež predstavlja CaCO_3 (93 %), ostanek pa magnezijev karbonat (1,6 %), kalcijev in magnezijev fosfat (0,5 - 1,4 %) ter organska masa keratinske sestave (3 - 6 %). V sledovih se v njej nahajajo tudi kalij, cink, mangan, jodidi in kloridi (Cestnik, 1993).



Slika 2: Struktura jajčne lupine (Solomon, 1991: 89)

V uterusu se lahko v 15 urah izloči do 2g Ca, kar pomeni, da bi se brez posebnega uravnalnega mehanizma v kratkem času ves Ca iz krvi izločil za sintezo jajčne lupine. Ca, ki se izloča v uterusu, pride po krvi iz kosti in črevesja. V kosteh pride do intenzivnega nalaganja Ca že v času pred ovulacijo (Cestnik, 1993).

Ca izločajo epitelne celice uterusa, bikarbonatne ione pa cevaste žleze, ki ležijo pod epitelijem. Obe sestavini tako tvorita na površini keratinske opne jajčno lupino. Slabša tvorba lupine je lahko povezana s pomanjkanjem Ca ali pa s slabšim nastankom bikarbonata. Po končani sintezi jajčne lupine ovoporfirin obarva jajce. Ovoporfirin je porfirinsko barvilo, ki nastane pri razgradnji hemoglobina (Cestnik, 1993). V Sloveniji dajejo porabniki prednost jajcem z rjavo barvo lupine. Za kar 22 % anketiranih je barva lupine pomembna lastnost (Holcman, 1997a).

Jajčna lupina predstavlja embalažo, najvidnejšo lastnost znesenega jajca, ki je pomembna tako za rejca kot za marketing in porabnika. Izraz kakovost lupine se pogosto uporablja kot sinonim za trdnost lupine, kar pomeni sposobnost jajčne lupine prenašati zunanje sile, ne da bi se natrla ali zlomila (Holcman, 1997b).

2.2 KAKOVOST JAJČNE LUPINE

Pod pojem kakovosti lupine štejemo: čistost, barvo, debelino, trdnost, poroznost, gladkost, deformiranost. Najpomembnejša lastnost tako za rejca kot porabnika je kakovost jajčne lupine. Natrta in razpokana jajčna lupina pomeni glavno ekonomsko izgubo pri prireji jajc (Izat in sod., 1985; Leeson in Summers, 2001). Jajčna lupina kot embalaža jajčne vsebine pomembno vpliva na ekonomičnost prireje valilnih in jedilnih jajc. Solomon (1991) navaja, da je poškodovanih ali natrtih lupin 6 - 8 % vseh znesenih jajc in to predstavlja velike izgube. Približno 10 % vseh znesenih jajc se razbije od gnezda do trgovine. Kot kakovost jajčne lupine ponavadi obravnavamo le trdnost lupine (Holcman, 1998). Pogostnost natrtih jajc je minimalna na začetku nesnega obdobja in narašča od 12 % do več kot 20 % proti koncu nesnosti (Nys, 2001).

Iz ekonomskega vidika ima kakovost lupine velik pomen, saj lupina nudi zaščito pred vdorom nezaželenih mikroorganizmov (Nys, 2001). Pri slednjem je ključnega pomena predvsem povrhnjica preko lupine, ki ščiti jajčno vsebino. Pomembno je tudi število in struktura por jajčne lupine, ki vplivajo na vdor mikroorganizmov, izgubo ogljikovega dioksida in vode. Povprečno veliko kokošje jajce ima 8000 por, lahko tudi do 15000 (Holcman in sod., 2004).

Na kakovost jajčne lupine vpliva več dejavnikov, ki jih lahko na grobo razdelimo na: genetske vplive, vpliv starosti in vplive okolja (Al-Batshan in sod., 1994). Summers (1997) med dejavnike, ki močno vplivajo na kakovost jajčne lupine vključuje zauživanje kalcija, fosforja, vit. D, kakovost zaužite vode, visoke temperature, obremenitev kokoši, starost in zdravstveno stanje živali. Poleg vseh naštetih dejavnikov sta Roberts in Leary (2000) opisala še management, način uhlevitve in stres. Opozarjata pa tudi na zahtevnost iskanja pravih vzrokov pri slabi jajčni lupini, kadar pride do interakcij različnih negativnih dejavnikov.

Za ohranjanje kakovosti jajčne lupine je potrebna selekcija na to lastnost, kajti povečevanje nesnosti in velikost jajc zmanjša trdnost lupine. Specifična masa jajca, kot posredno merilo

trdnosti jajčne lupine, je v srednji oziroma nizki, večinoma negativni korelaciji z nesnostjo (Holcman, 1998).

Izat in sod. (1985) so v raziskavi o vplivu starosti ptice in letnega časa na kakovost jajčne lupine ugotovili, da starost ptic in letni čas statistično značilno vplivata na maso jajčne lupine in njen delež. Kakovost jajčne lupine se s starostjo slabša, še posebej v zadnji četrtini nesnosti. Večje kot je jajce, slabša je kakovost jajčne lupine (Al-Batshan in sod., 1994).

Debelina jajčne lupine se s trajanjem nesnosti, ko se masa jajc večja, tanjša. Jajčna lupina je tanjša tudi konec pomladi in v poletnih mesecih, ko včasih temperatura v kurnici naraste na 32,2°C; debelejša pa je v jesenskih in zimskih mesecih, ko temperatura pade na 15,6°C. Tanka jajčna lupina je lahko rezultat slabega zdravstvenega stanja, toksinov v krmi, fiziološke oblike Ca v krmi (Izat in sod., 1985; Leeson in Summers, 2001).

Poznamo več vrst napak v jajčni lupini: nagubana lupina, lupina z izbočenim obročem na najširšem mestu, stransko sploščena, hrapava, mozoljasta lupina. Te napake povzročajo stresne razmere v jati, bolezni ter neustrezna prehrana (Holcman in sod., 2004). Mozoljavost jajčne lupine predstavljajo majhni kalciferozni depoziti, ki se izražajo kot majhne pikice oz. mozolji na površini jajčne lupine. Mozoljavost se značilno poveča s prekomernim dodajanjem vit. D₃ v krmo (Goodson-Williams in sod., 1987).

2.3 POTREBE IN KRITJE POTREB PO MINERALIH PRI NESNICAH

Minerali so pri pticah pomembni za izgradnjo skeleta, vzdrževanje ozmotskega ravnotežja v telesu, so integralni deli hormonov in aktivatorji encimov. Kalcij in fosfor sta nujna za nastajanje in vzdrževanje struktur skeleta in imata tudi funkcijo pri nastajanju jajčne lupine. Natrij (Na), kalij (K), magnezij (Mg) in klor (Cl) skupaj s fosfati in bikarbonati vzdržujejo homeostazo, ozmotsko ravnotežje in optimalni pH telesa (Simons, 1986).

V intenzivni reji perutnine je metabolna aktivnost kokoši zelo velika. V enoletni nesni sezoni dobra nesnica proizvede 10-kratno lastno telesno maso jajc. Kokoši nesnice v enem

letu naložijo v jajčno lupino 30 do 40-kratno skeletno maso Ca (Simons, 1986). Nesnice imajo zaradi izjemne proizvodnosti zelo velike prehranske potrebe. Za vzdrževanje in nadomestitev endogenih izgub makromineralov potrebujejo kokoši na dan 0,1 g Ca, 0,13 g P, ostalih mineralov okrog 1 % (Simons, 1986). Izkoristljivost makromineralov pri kokoših nesnicah se giblje od 50 % za Ca, 50 - 60 % P, 60 % Mg, do 70 % za Na, K, Cl. Na koncu nesnega obdobja se izkoristljivost Ca zmanjša na 40 % (Simons, 1986). Preglednica 2 nam prikazuje vsebnost makromineralov v jajcu z lupino

Preglednica 2: Makrominerali v jajcu z lupino v mg/g jajca (Simons, 1986: 146)

	Ca	P	Mg	Na	K	Cl
Vsebnost v jajcih (mg/g jajčne mase)	35,9 (32,9) ^a	2,0	0,4	1,2	1,2	1,4

^a na koncu nesnega obdobja

Na kakovost jajčne lupine vplivajo Ca, P in vitamin D₃. Aktivna oblika vit. D je 1,25-dihidroksiholekalciferol (1,25(OH)₂D₃). Že nekaj raziskav je pokazalo ugoden vpliv 1,25(OH)₂D₃ na kalcifikacijo jajčne lupine (Soares in Ottinger, 1988). Kokoši s slabo jajčno lupino imajo nižjo koncentracijo (1,25(OH)₂D₃) v krvi, kokoši z debelejšo jajčno lupino pa višjo.

2.3.1 Kalcij

Pri pticah predstavlja Ca pretežni del mineralov v njihovem organizmu. Še posebej je pomemben pri rasti skeleta in pri tvorbi jajc. Absorpcija Ca je največja pri kokoših nesnicah pri tvorbi jajčne lupine (Larbier in Leclercq, 1992). Ca sodeluje pri strjevanju krvi, s kalijem in natrijem vzdržuje normalni ritem srca, uravnava kislinsko ravnotežje (Leeson in Summers, 2001). Glavne funkcije Ca so konstitucijska, v procesih ekscitacije vzdražljivih tkiv (zapiranje natrijevih kanalov), kontrakcija mišic, prenos živčnih dražljajev preko sinaps, kot aktivator encimov je Ca pomemben pri aktivaciji kalcijeva ATP-aze (Cestnik, 1993). Pomanjkanje Ca v krmi privede do slabše rasti, slabšega zauživanja krme, zmanjšane aktivnosti in občutljivosti živali, rahitisa in osteoporoze, nagnjenosti h krvavitvam, nenormalni drži telesa in hoji, zmanjšani nesnosti in tanki jajčni lupini (Leeson in Summers, 2001).

Ca je najbolj zastopan mineral v telesu, zavzema 0,8 do 1,7 % telesne mase v telesu odraslih živali, od tega se ga 97 - 99 % nahaja v kosteh (Leeson in Summers, 2001; Cestnik, 1993). Ca se v kosteh nahaja v obliki drobnih kristalčkov kalcijevega hidroksiapatita, ki so kompleksno vgrajeni v kolagenska vlakna. Na hidroksiapatit se vežejo še soli drugih mineralnih soli v nekrystalinski obliki (Cestnik, 1993). V preglednici 3 so razvidni deleži Ca in P v telesu.

Preglednica 3: Delež Ca in P v telesu (Berne in sod., 1998: 754)

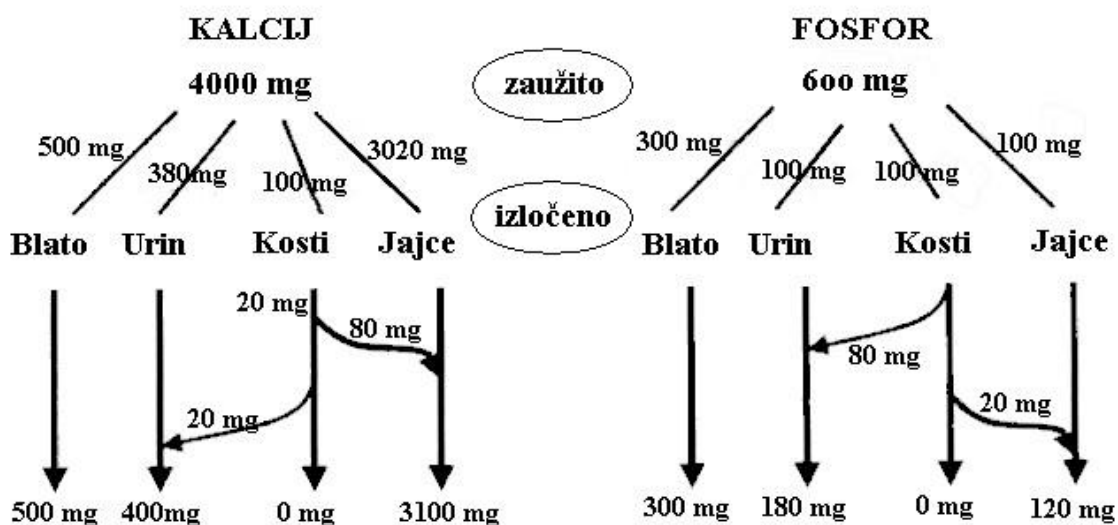
	v kosteh	znotrajcelično	zunajcelično
Ca ⁺⁺	99 %	1 %	0,10 %
P _i	86 %	14 %	0,03 %

Največji del Ca je v kosteh v obliki amorfnih soli; manjši del pa ga najdemo v hepatocitih in kolonocitih. Koncentracijo Ca uravnavajo kalcitriol, metabolit vitamina D₃, kot stimulator, in dva hormona: paratireoidni hormon (PTH) in kalcitonin (Cestnik, 1993; Berne in sod. 1998). Pri hipokalcemiji PTH aktivira 1,25(OH)₂D₃, ta pa vpliva na absorpcijo Ca iz črevesja. Hiperkalcemija sproži obraten proces pri katerem se sproži izločanje kalcitonina. Kalcitonin zavira izločanje Ca iz kosti in s tem zmanjša količino Ca v telesu (Larbier in Leclercq, 1992).

Poseben pomen pri procesih kalcifikacije imajo osteoblasti in osteoklasti. Osteoblasti izločajo kolagensko osnovno substanco, ki polimerizira in nastane osteoid (po videzu podoben hrustancu). Osteoblasti in osteociti koncentrirajo v mitohondrijih velike količine Ca in P. Vezikli napolnjeni s kalcijevim fosfatom se odcepljajo iz mitohondrijev in potujejo do celične membrane, kjer izločajo kristalčke kalcijevega fosfata v okolico. Tu se vežejo na vlakna kolagena in tvorijo kristalizacijska jedra. 20 - 30 % kalcijevih soli ostane trajno v amorfni obliki in predstavljajo zalogo (depo) iz katerega se Ca lahko hitro absorbira v kri (Cestnik, 1993).

PTH je odgovoren za povečanje koncentracije Ca in P v krvi in se prične izločati iz obščitnične žleze, ko koncentracija Ca pade. PTH spodbudi resorpcijo mineralov iz kosti, reabsorpcijo v ledvičnih tubulih in absorpcijo iz črevesa. Antagonist PTH je kalcitonin. Kalcitonin izločajo parafolikularne celice ščitnice in deluje kot inhibitor. Poveča se število

osteoblastov, ki kost izgrajujejo. Pri pticah ga izloča poseben organ, imenovan ultimobranhialno telo. Njegovo izločanje pospešuje povečanje koncentracije Ca v krvi in s tem zmanjšuje aktivnost in število osteoklastov. Izločanje Ca poteka predvsem skozi prebavni trakt, v manjšem delu tudi skozi ledvice. (Cestnik, 1993; Berne in sod. 1998). Shematični prikaz dnevne bilance Ca in P pri kokoših nesnicah v času nesnosti prikazuje Slika 3.



Slika 3: Shematični prikaz dnevne bilance Ca in P pri kokoših nesnicah (Leeson in Summers, 2001: 349)

Pri absorpciji iz črevesa je pomembna tudi medsebojna odvisnost Ca in P, ki mora biti v določenem sorazmerju. Optimalno razmerje Ca:P v organizmu kokoši je 3:2 (človek 2:1). V krvi se Ca nahaja v okvirnih vrednostih od 2-3,5 mmol/l, pri perutnini v času nesenja celo 6-6,7 mmol/l. Ca ne prehaja skozi eritrocitno membrano, najdemo ga v plazmi, v treh različnih oblikah: 50 % v ionizirani obliki; 41 % proteinsko vezanega in 9 % vezanega v obliki kompleksnih fosfatnih in citratnih soli (Cestnik, 1993).

Prostaglandini podobno kot estradiol in testosteron neposredno vplivajo na presnovo Ca. Steroidni hormoni povečajo absorpcijo Ca in povišajo plazemsko koncentracijo 1,25(OH)₂D₃ (Larbier in Leclercq, 1992). Pomemben vpliv na presnovo Ca imajo tudi ledvice, pogosto del ledvic odpove, pojavljajo se tudi ledvični kamni. Pri

visokoproduktivnih nesnicah je odpoved ledvic pogosto vzrok za pogin živali (Summers, 1997).

Pretežni del kosti je zgrajen iz kalcijevega fosfata, vsebuje pa še 13 % CaCO_3 , 2 % magnezijevega fosfata ($\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$) in 5 % drugih substanc (0,5 - 3 % citrati). Pri kokoših nesnicah je mobilizacija mineralov iz kosti nujna, da se zagotovi zadostna količina Ca za izgradnjo jajčne lupine. Pretežni del kalcifikacije poteka v času teme, ko kokoši ne zauživajo krme. V času nesnosti imajo kokoši okrog 740 mg rezervnega Ca v kostnem mozgu, največ ga je v stegenici (290 mg) in golenici (230 mg). Če nastopi deficit Ca, se njegova rezerva zmanjša na okoli 50 mg, hkrati pride do prekinitve delovanja jajčnikov ali pa začne kokoš črpati minerale iz drugih delov kosti, da bi potekala normalna kalcifikacija jajčne lupine (Leeson in Summers, 2001).

Keshavarz in Nakajima (1993) sta ugotovila, da povečanje Ca v obroku, preko optimalne vrednosti (4g/dan), ni vplivalo na kakovost jajčne lupine. Prav tako pri visokih koncentracijah Ca v obroku ni bilo statistično značilnih razlik v nesnosti, velikosti in masi jajc, zauživanju krme in izkoriščanju krme. Kokoši nesnice imajo visoko toleranco za povečano količino Ca v obroku. 5,5 % Ca v obroku ni imelo negativnih posledic na kondicijo kokoši.

V praksi naj bi kokoši s krmo dobile 4 - 4,5 g Ca dnevno, kar pomeni za pasmo beli leghorn približno 4,4 - 5,0 % Ca pri zauživanju 90 - 100 g krme na dan. Na splošno pomeni višja koncentracija Ca v krmi večjo debelino in trdnost jajčne lupine. Čeprav nad 5 % Ca povzroči mozoljasto jajčno lupino, ki hitro počí ali se natre (Leeson in Summers, 2001).

Potrebe po Ca delimo na dve komponenti: vzdrževalno in produkcijsko. Količina Ca je močno odvisna od produkcijskih, manj od vzdrževalnih potreb. Odrasla perutnina ima izredno nizek nivo vzdrževalnih potreb po Ca, okrog 50 mg/kg telesne mase (Larbier in Leclercq, 1992).

Preglednica 4: Priporočilo za oskrbo nesnic s Ca [g/kg mešanice z 11,25 MJ ME/kg] (Simons, 1986: 148)

g jajčne mase/dan	začetek in sredina nesnega obdobja	konec nesnega obdobja
Lahke nesnice (1,8 kg ž.t.*)		
50	32,5	37,5
60	36,0	41,5
70	/	45,0
Srednje težke nesnice (2,3 kg ž.t.*)		
50	31,0	35,5
60	34,5	39,5
70	/	43,0

* ž.t. – telesna masa živih živali

2.3.2 Fosfor

P ima pomembno vlogo pri strukturi skeleta in celičnih funkcijah. Številne biokemijske reakcije potekajo s pomočjo P, njegova absorpcija poteka v dvanajstniku, stimulator $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ pozitivno vpliva na absorpcijo. P prihaja iz mineralnih soli kot anorganski fosfat ali v obliki organskih molekul (fosfoprotein, fitat, fosfolipid). Presnova P poteka na dveh nivojih, v kosteh in v ledvicah.

V telesu odraslih živali je delež P od 0,5 - 1,0 %. Od skupne količine se 75 - 80 % P nahaja v kosteh, preostalih 20 - 25 % pa v mišičnem in živčnem tkivu, jetrih in drugih organih. Aktivno se resorbira v tankem črevesu, resorpcijski koeficient se s starostjo zmanjšuje (Cestnik, 1993).

Tako Ca kot P se mobilizirata iz medularnih kosti s pomočjo PTH; PTH pa stimulira sintezo $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. S pomočjo PTH poteka reabsorpcija P in Ca iz proksimalnih ledvičnih tubulov. Povečano izločanje fosfatov privede do t.i. pojava fosfaturije, ki se kaže kot povečana vsebnost fosfatov v krvi. Pri hipofosfatemiji se lahko kot posledica pojavi rahitis. Hiperfosfatemija pa je ponavadi znak za okvaro ledvic. Potrebe po P pri kokoših nesnicah so manjše kot po Ca, saj jajčna lupina vsebuje poleg CaCO_3 zelo malo fosfata (Larbier in Leclercq, 1992).

Gunaratne in Boorman (1996) sta ugotavljala povezavo med maso jajčne lupine in koncentracijo anorganskega P v krvni plazmi pri posameznih kokoših nesnicah. Poskus je potekal na 30-ih kokoših in pokazal statistično značilno negativno korelacijo med maso jajčne lupine in koncentracijo P v krvni plazmi. Iz tega lahko sklepamo, da je slabše nalaganje mineralnih snovi v jajčni lupini povezano s skeletno mobilizacijo mineralnih snovi, kar dokazuje povečana količina P v krvni plazmi.

Dodajanje $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ namesto vitamina D_3 je statistično značilno izboljšalo kakovost jajčne lupine in kalcifikacijo tibialne kosti. Razlik v masi in nesnosti ob tem niso opazili (Soares in Ottinger, 1988).

2.3.3 Magnezij

Mg se nahaja predvsem intracelularno, kjer sodeluje pri reakcijah nastanka ATP. Sodeluje pri anabolnih procesih izgradnje proteinov in lipidov ter pri mišičnih aktivnostih. Mg se absorbira v tankem črevesju z aktivnim transportom, izloča se preko ledvic. V perutninski prehrani ponavadi Mg ne primanjkuje, toksični simptomi se pojavijo pri vsebnosti 0,3 - 0,4 %. Pomanjkanje, ki se pojavi le izjemoma pri sintetični prehrani in boleznih, pri mladih živalih lahko vodi do zmanjšanja hitrosti rasti, letargijo, konvulzije in v ekstremnih primerih celo v smrt. Pri kokoših nesnicah se zmanjša število in velikost jajc, jačna lupina je krhka, v rumenjaku je manjša vsebnost Mg (Larbier in Leclercq, 1992).

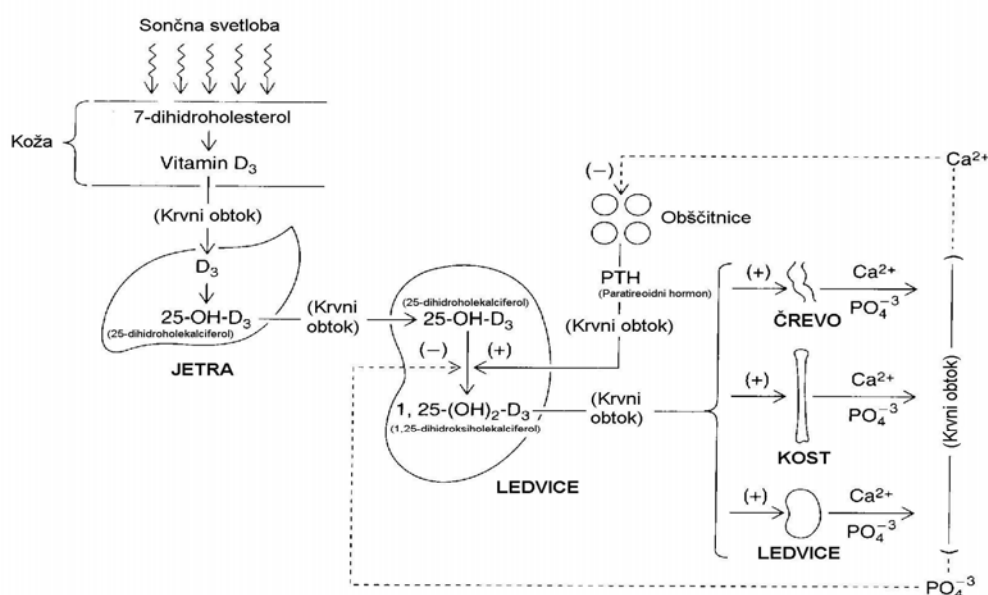
Mg sestavlja 0,03 - 0,05 % telesne mase, 62 % se ga nahaja v kosteh. Fiziološka vloga magnezijevih ionov je pri aktivaciji encimov, ki sodelujejo pri pretvorbi ATP v ADP in tudi pri nekaterih drugih. Sodeluje tudi pri krčenju mišic. Količino Mg v telesu uravnava PTH (Larbier in Leclercq, 1992).

2.3.4 Vitamin D_3 (antirahitični hormon, kalciferol)

Vitamin D_3 nastaja v koži pod vplivom ultravijoličnih žarkov iz provitamina 7-dehidroholesterol. Absorpcija vitamina D_3 poteka v črevesju. Ta v jetrih preide v 25-hidroksiholekalciferol (25-OH-D_3), ta pa v ledvicah v $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, ki mu pravimo tudi calcitriol in deluje v celicah črevesnega epitela (Slika 4) (Lehninger in sod., 1993; Cestnik, 1993). Delovanje $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ na sintezo proteinov v enterocitih je podobno delovanju

steroidnih hormonov, zato nekateri vit. D uvrščajo kar med steroidne hormone (Cestnik, 1993; Berne in sod., 1998).

Aktivna oblika vitamina D je $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, v črevesnih celicah pospešuje sintezo specifičnega proteina, ki ima sposobnost vezave Ca. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ deluje kot regulator metabolizma Ca in fosfata (Lehninger in sod., 1993).



Slika 4: Nastanek in presnova vit. D₃ (Sutton in MacDonald., 2003: 778)

Vitamin D je derivat holesterola in prekursor hormonov, ki vplivajo na kalcijevo in fosfatno presnovo (Lehninger in sod., 1993).

Potrebe po vit. D: piščanci (200 IE/kg krme), kokoši nesnice (500 IE/kg krme). (Cestnik, 1993). Deficit vitamina D pripelje do motenj v izgradnji kostnine, kar lahko vodi do rahitisa (Lehninger in sod., 1993).

Shen in sod. (1981) so raziskovali vpliv vit. D₃ na nesnost in kakovost jajčne lupine. Ugotovili so, da se v štirih tednih brez vit. D₃ nesnost zmanjša na 30 %, veliko jajc pa je z mehko lupino ali brez lupine. Daljša odsotnost vit. D₃ privede do paralize in smrti kokoši.

2.4 KRATKOVERIŽNE MAŠČOBNE KISLINE (KVMK) IN NJIHOV VPLIV NA ZDRAVSTVENO STANJE PREBAVIL

Med KVMK prištevamo C2-5 organske kisline, najpomembnejše so očetna (C₂), propionska (C₃), maslena (C₄), mlečna (C₅) (Wächtershäuser in Stein, 2000). KVMK so glavni produkt fermentacije prehranske vlaknine v debelem črevesju (Scheppach in sod., 1997; Salminen in sod., 1998; Salobir J. in Salobir B. 2001; Williams in sod., 2001; Blottiere in sod., 2003; Musara in sod., 2003). Poleg teh se pojavljajo v debelem črevesu kot produkt fermentacije ogljikovih hidratov in beljakovin, ki uidejo prebavi v tankem črevesu, še druge karboksilne kisline: mravljična, valerianska, kaprojska, izomaslena in izo-valerianska (Salminen in sod., 1998).

Bakterije v kolonu metabolizirajo ogljikove hidrate v energijo za lastno rast in razvoj. Glavni produkti mikrobne fermentacije poleg KVMK so še CO₂, CH₄, H₂ in toplota (Salobir J. in Salobir B., 2001; Williams in sod., 2001).

V človeškem prebavnem traktu se 34-59 % topnih neprebavljivih polisaharidov pretvori v KVMK (Kihara in Sakata, 2002). KVMK lahko nastanejo tudi iz strukturnih lipidov npr. iz tributirata (Wächtershäuser in Stein, 2000).

Anaerobno fermentacijo lahko zapišemo v obliki kemijske reakcije:



Okvirno razmerje KVMK (pri sesalcih) očetna : propionska : maslena = 1 : 0,31 : 0,23 (Williams in sod., 2001).

Williams in sod. (2001) so raziskovali povezavo med fermentacijo v debelem črevesju in zdravstvenim stanjem živali z enostavnim želodcem. KVMK nastajajo v črevesni sluznici na več načinov. Vse KVMK se absorbirajo v debelem črevesu, le očetna kislina doseže sistemsko cirkulacijo preko jeter, od koder se metabolizira v mišicah. Presnova maslene kisline poteka v kolonocitah, nekaj je najdemo tudi v portalni krvi. Propionska kislina metabolizira v jetrih, kjer inhibira glukoneogenezo.

2.4.1 Pomanjkanje KVMK in stimulatorni učinek na rast epitelijskih celic črevesja

Pomanjkanje KVMK lahko privede do črevesnih vnetij kot sta ulcerozni in divertikularni kolitis (Rabassa in Rogers., 1992; Scheppach in sod., 1997; Wächtershäuser in Stein, 2000). Med vnetnimi boleznimi črevesja je potrebno omeniti še Chronovo bolezen. Chronova bolezen predstavlja kronično granulomsko vnetje, ki lahko prizadene vsak del prebavne cevi od požiralnika do zadnjika. Ta bolezen se pogosteje pojavlja v razvitejših državah z večjim zauživanjem predelane hrane (z manj vlaknine). Možne posledice Crohnove bolezni so: prekomerno zoženje črevesa, razjede, karcinom kolona. Ulcerozni kolitis je pogosta, kronična in ponavljajoča se diarealna bolezen, za katero so značilne hude razjede, ki se običajno pojavljajo v rektumu, lahko pa se razširijo tudi po vsem debelem črevesju. Za divertikularni kolitis so značilni divertikli, majhne vrečaste izbokline, ki nastanejo iz dveh najpomembnejših vzrokov: šibka mesta v steni debelega črevesa, pretirana peristaltična kontrakcija. Preventivno priporočena prehrana za te bolezni je hrana bogata z vlakninami (Kumar in sod., 1992).

Sakata (1987) je ugotavljal stimulatorni učinek KVMK na rast črevesnega epitela pri podganah. KVMK spodbujajo produkcijo epitelnih celic, ta je bila 3-4 krat večja pri krmljenju živali z dodanimi prehranskimi vlakninami, v primerjavi s tistimi brez dodatka vlaknin, ki je vir KVMK.

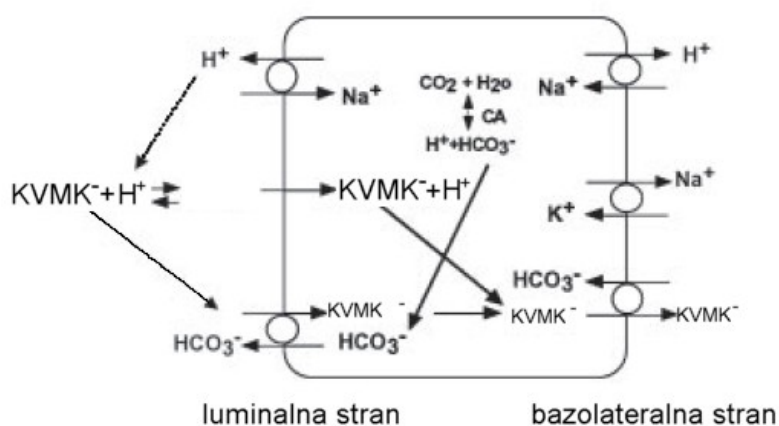
2.4.2 Vpliv KVMK na pH v črevesju

Knarreborg in sod. (2002) so ugotavljali antimikrobni učinek šestih organskih kislin (mravljična, propionska, maslena, mlečna, benzojska, fumarična) na koliformne in mlečnokislinske bakterije v proksimalnem delu gastrointestinalnega trakta pujskov. V raziskavi so ugotovili vpliv mravljične, maslene in mlečne kisline na zmanjšanje življenjskih sposobnosti koliformnih bakterij. Mravljična in maslena kislina delujeta tudi zaviralno na rast mlečnokislinskih bakterij.

KVMK imajo antibakterijski učinek in preprečujejo prekomerno naselitev patogenih črevesnih bakterij (Sakata, 1987). Značilno v višjih koncentracijah se nahajajo v predelih, kjer se pretežno nahaja anaerobna mikroflora. V industriji živalskih krmil se organske kisline uporabljajo kot fungistatiki. Propionska kislina v kombinaciji z mravljično se

uporablja kot antibakterijski aditiv v krmilih in posameznih sestavinah krmil, ki so kontaminirana s patogenimi mikroorganizmi. Omenjeni kislini obravnavamo kot zaviralca *Salmonelle*, koliformnih bakterij in *E. coli* v črevesju kokoši (Ricke, 2003).

KVMK stimulirajo absorpcijo natrija in vode v kolonu (preko aktivacije apikalnega Na/H izmenjevalca), kar je povezano z izmenjavo H^+ ionov in ima zaviralni vpliv na pojav driske (Slika 5). Prav tako KVMK vplivajo na proliferacijo črevesnega epitelijskega tkiva in ščitijo pred atrofijo mukoze (Ebihara in Nakamoto, 1998; Williams in sod., 2001).



Slika 5: Shematični prikaz celičnih mehanizmov pri absorpciji KVMK (Säemann in sod., 2002: 289)

Mineo in sod. (2001) so preiskovali vpliv KVMK na absorpcijo Ca v debelem črevesu pri laboratorijskih podganah. Ugotovili so, da KVMK pospešujejo absorpcijo Ca.

Raziskave kažejo, da povečana koncentracija KVMK zaradi uživanja neškrobnih polisaharidov ali neprebavljivih oligosaharidov zniža pH v debelem črevesu, kar vodi do pretvorbe NH_3 v NH_4^+ , ki pa ne more prehajati iz prebavil. Posledica tega je razbremenitev presnove, saj pride ob povečanem izločanju dušika z blatom do zmanjšane sinteze sečnine v jetrih in manjšega izločanja dušika s sečem (Younes in sod., 1996).

Posebej se je v raziskavah zadnjih let izkazal butirrat, ki ima pomembno vlogo pri presnovi in razvoju epitelne tkiva debelega črevesa. Znano je, da predstavlja butirrat primarni vir energije za kolonocite (Wächtershäuser in Stein, 2000), 70 - 90% ga porabijo celice sluznice v debelem črevesu. Butirrat zavira nastanek polipov, razna vnetja kolona in kolorektalnega raka, s tem ko stimulira fiziološko proliferacijo normalnih kolonocit in

hkrati zavira hiperproliferacijo neoplastičnih kolonocit. Zavira tudi migracijo in sposobnost rakastih celic epitelne sluznice za prehod skozi bazalno membrano oz. za metastaziranje (Scheppach in sod., 1997; Wächtershäuser in Stein, 2000).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 IZVEDBA POSKUSA, SPREMLJANJE PARAMETROV, KEMIJSKE ANALIZE



Slika 6: Kokoši matere pitovnih piščancev ROSS 308 v individualnih kletkah

V individualne kletke s krmilnikom in kapljičnim napajalnikom (kapalko) smo uhlevili 54 kokoši mater pitovnih piščancev ROSS 308, ki so bile stare 60 tednov (37. teden nesnosti). Razdelili smo jih v tri skupine s po 18 živali. Prva skupina je bila kontrolna, dobivala je krmno mešanico brez dodatkov. Poskusna skupina 1 je dobivala krmno mešanico z dodatkom 0,65 % mešanice propionske in maslene kisline. Poskusna skupina 2 je dobivala krmno mešanico z dodatkom 1,30 % mešanice propionske in maslene kisline. Skupini z dodatkom KVMK sta dobivali 0,65 in 1,30 % mešanice propionske in maslene kisline v razmerju 1:1 . Dnevno smo odmerili po $160\text{g} \pm 2\text{g}$ krme na posamezno žival.

Preglednica 5: Sestava krmnih mešanic v poskusnih skupinah

Sestava obroka (%):	SKUPINE		
	Kontrolna	Kisl-0,65	Kisl-1,30
- Propionska kislina	-	0,43	0,86
- Maslena kislina	-	0,41	0,82
- Nativni škrob	0,92	0,79	0,66
- Soda	1,42	0,71	-
- KCl	0,16	0,16	0,16
- Koruza (%)	51,1	51,1	51,1
- Sojine tropine (%)	22,0	22,0	22,0
- Ječmen (%)	6,0	6,0	6,0
- Lucerna (%)	3,0	3,0	3,0
- Krmilna moka (%)	3,0	3,0	3,0
- Apnenec (%)	7,1	7,1	7,1
- Monokalcijev fosfat (%)	1,1	1,1	1,1
- Sojino olje (%)	0,6	0,6	0,6
- Holin (%)	0,13	0,13	0,13
- Metionin (%)	0,09	0,09	0,09
- Premiks (%)	1,0	1,0	1,0
	100	100	100

Preglednica 6: Rezultati analize krmnih mešanic

Hranilna vrednost:	Kontrolna	Kisl-0,65	Kisl-1,30
- Presnovna energija (MJ kg ⁻¹)*	11,71	11,71	11,71
- Suha snov (%)	89,43	89,45	89,62
- Surove beljakovine (%)	15,70	-	-
- Surova vlaknina (%)	4,03	-	-
- Surovi pepel (%)	9,95	10,06	10,01
- Ca (%)	2,59	2,69	2,65
- P (%)	0,55	0,55	0,55
- Mg (%)	0,19	0,19	0,19
- Kalij (%)	0,87	0,86	0,80
- Na (%)	0,38	0,40	0,36

*ocenjena vrednost

Obdobje prilagajanja na način reje je trajalo en teden, ko so vse skupine dobivale krmo kontrolne skupine. V tem obdobju smo spremljali nesnost kokoši. Sledilo je poskusno obdobje, ki je trajalo štiri tedne. Živali so imele enak osvetlitveni program kot pred preselitvijo, in sicer 17 ur/dan prižgano luč in 7 ur/dan temo.

Kokoši smo stekali ob uhlevitvi in po končanem poskusu ter tako ocenili morebitno povečanje ali zmanjšanje telesne mase. Dnevno smo beležili nesnost vsake posamezne kokoši in maso znesenih jajc. Jajcem znesenim v obdobju od 16. do 19. in od 23. do 26. dne poskusnega obdobja smo analizirali trdnost jajčne lupine s pomočjo instrumenta INSTRON. V obdobjih od 8. do 14. dne in od 20. do 29. dne smo zbrali lupine vseh znesenih jajc. Lupine jajc vsake posamezne kokoši smo stekali, nato pa smo jih spirali s toplo, destilirano vodo. Tako smo odstranili beljakovine in druge primesi. Sledilo je sušenje in tehtanje posušenih jajčnih lupin. Nato smo lupine zmleli v kavnem mlinčku. V žarilni lonček smo zatehtali 5 g vzorca oz. v primeru, kjer je bilo jajčnih lupin manj, celotno količino zmletih jajčnih lupin. Po žarjenju smo vzorce ohladili in ponovno stekali. Razlika v zatehti je pomenila maso surovega pepela jajčne lupine posamezne kokoši v določenem obdobju.

Na koncu poskusnega obdobja smo živali žrtvovali, jim odvzeli stegnenico in jo analizirali na vsebnost Ca, P in Mg. Vsako kost smo stekali, nato zdrobili in jih preko noči sušili pri 105 °C. Po sušenju smo jih ponovno stekali in določili vsebnost suhe snovi. Nato smo jih pri temperaturi 250 °C žarili 8-12 ur, dali v eksikator, shladili in navlažili na zraku. Takšne vzorce smo s kavnim mlinčkom fino zdrobili in hkrati homogenizirali. 1 g vzorca smo zatehtali v paralelkah in 8 ur žarili v peči pri temperaturi 550 °C. Po žarjenju smo jih ponovno dali v eksikator in jih ohladili. Ostanek vzorca smo omočili z destilirano vodo in dodali 5 ml 25 % HCl in tako pripravili solno-kislinski izvleček. Takšen vzorec smo postavili na izparevanje pri 250 °C (peščena kopel) in malo pred koncem izparevanja dodali še 3 ml HCl in do polovice lončke napolnili z destilirano vodo. Sledila je filtracija in razredčitev na 100 ml. Koncentracijo Ca in Mg v kosteh smo določili z atomskim absorpcijskim spektrofotometrom (Perkin Elmer 1100 B), koncentracijo P pa na barvnem spektrofotometru (Cary 50 Probe).

Med poskusom smo opravili naslednje meritve:

- količina tedensko zaužite krme
- tehtanje živali (ob vselitvi, na začetku in koncu poskusnega obdobja)
- dnevno spremljanje nesnosti in mase jajc ter vizualna ocena nepravilnosti jajčne lupine (delež zlomljenih jajc, delež jajc brez lupine, delež natrtih jajc, jajca z mozoljasto lupino)
- celotni količini jajc iz drugega in četrtega tedna poskusa smo določili maso in količino surovega pepela (SP)
- na koncu poskusa smo stehali kokoši in jih zaklali ter na klavni liniji odvzeli stegnenico, v kateri smo določili koncentracijo pepela, Ca, P in Mg.

3.2 STATISTIČNA OBDELAVA PODATKOV

Za statistično obdelavo podatkov smo uporabili programski paket SAS/STAT (SAS User's guide, 2000). Osnovne statistične parametre smo izračunali s proceduro MEANS, s proceduro UNIVARIATE pa smo podatke testirali na normalnost porazdelitve. Pri obdelavi podatkov s statističnim modelom smo uporabili proceduro GLM (General Linear Model). Razlike med skupinami smo ovrednotili s pomočjo linearnih kontrastov.

Za obdelavo podatkov smo uporabili dva statistična modela. Prvega smo uporabili za obdelavo meritev rasti in zauživanja krme, drugega pa za obdelavo ostalih meritev. V prvi statistični model (statistični model 1) smo vključili sistematski vpliv skupine in kot kovariabla maso živali na začetku poskusa. V drugi statistični model (statistični model 2) pa smo vključili le sistematski vpliv skupine.

Da bi iz vrednotili tudi vpliv nesnosti na opazovane parametre smo v posebni obdelavi v oba modela vključili tudi vpliv razreda nesnosti (1=20-49 %, 2=50-69 %, 3=70-100 %) in interakcijo med skupino ter razredom nesnosti (statistična modela 3 in 4). Vsi podatki so predstavljeni kot ocenjene srednje vrednosti (LS-mean).

Statistični model 1:

$$y_{ij} = \mu + S_i + b T_{ij} + e_{ij}$$

Statistični model 2:

$$y_{ij} = \mu + S_i + e_{ij}$$

Statistični model 3:

$$y_{ijk} = \mu + S_i + R_j + SR_{ij} + b T_{ijk} + e_{ijk}$$

Statistični model 4:

$$y_{ijk} = \mu + S_i + R_j + SR_{ij} + e_{ijk}$$

y_{ij}, y_{ijk} = opazovana vrednost

μ = srednja vrednost

S_i = vpliv i-te skupine; $i = 1, 2, 3$

R_j = vpliv j-tega razreda nesnosti; $j = 1, 2, 3$ (1=20-49 %, 2=50-69 %, 3=70-100 %)

SR_{ij} = vpliv interakcij med i-to skupino in j-tim razredom nesnosti

b = linearni regresijski koeficient

T_{ij}, T_{ijk} = telesna masa na začetku poskusa

e_{ij}, e_{ijk} = ostanek

4 REZULTATI

Poskus je potekal brez posebnosti. Med poskusom nismo opazili zdravstvenih težav pri živalih. Prav tako ni bilo opaziti nobenih posebnosti pri krmljenju in oskrbi z vodo. Vse meritve (tehtanje na začetku, na koncu, odvzem vzorcev kosti, zbiranja jajc) so potekale brez posebnosti.

4.1 PRIRAST IN ZAUŽIVANJE KRME

Skupine, ki so bile krmljene s KVMK, se v začetni in končni telesni masi ter prirastu v celotnem obdobju niso statistično značilno razlikovale (Preglednica 7). Največje vrednosti parametrov zauživanja krme v posameznih in skupnem obdobju so bili pri skupini z dodatkom 0,65 % KVMK, vendar se vrednosti niso statistično razlikovale od vrednosti pri ostalih dveh skupinah. Najmanj krme na dan je v celotnem obdobju zaužila skupina z dodatkom 1,30 % KVMK (statistično neznačilno).

Preglednica 7: Vpliv dodajanja KVMK na telesno maso, prirast in zauživanje krme v celotnem poskusu in zauživanje krme v posameznih poskusnih obdobjih

	Kontrolna	Kisl-0,65	Kisl-1,30	SE	p-vrednost
Začetna telesna masa (g)	3827	3875	3683	84,84	0,33
Končna telesna masa (g)	3761	3928	3811	105,22	0,50
Prirast (g/dan)	-0,63	5,34	1,17	3,76	0,50
Zauživanje krme v 1. in 2. tednu (g/dan)	149,0	150,8	140,7	4,53	0,33
Zauživanje krme v 3. in 4. tednu (g/dan)	136,5	150,5	137,7	8,97	0,50
Zauživanje krme v celotnem obdobju (g/dan)	142,7	150,7	139,2	6,36	0,51

SE - standardna napaka ocene.

4.2 NESNOST

Pri nesnosti skozi celotno časovno obdobje znotraj skupin, ki so bile krmljene z različnimi koncentracijami KVMK, smo opazili statistično značilne razlike (Preglednica 8). Skupina z

dodatkom 0,65 % KVMK je imela nekoliko večjo nesnost v primerjavi s skupino z dodatkom 1,30 % KVMK in tudi nekoliko večjo nesnost v primerjavi s kontrolno skupino, oboje statistično neznačilno (Preglednica 8).

V posameznih časovnih obdobjih se razlike v nesnosti med skupinami niso pokazale kot statistično značilne. V drugem in tretjem tednu je imela največjo nesnost skupina z dodatkom 0,65 % KVMK. Najmanjšo nesnost je imela skupina z dodatkom 1,30 % KVMK, vendar le od drugega do četrtega tedna poskusnega obdobja. Nesnost je znotraj posameznih skupin nihala od prvega do četrtega tedna (statistično neznačilno).

Preglednica 8: Vpliv KVMK na nesnost (%) v posameznih obdobjih in v celotnem poskusnem obdobju

	Kontrolna	Kisl-0,65	Kisl-1,30	SE	p-vrednost
1. teden	64,2	66,7	68,0	6,0	0,89
2. teden	54,0	63,6	48,2	5,9	0,27
3. teden	56,9	66,2	56,0	5,2	0,36
4. teden	56,8	48,8	43,7	5,2	0,17
Povprečni % nesnosti v poskusnem obdobju	58,0	61,3	54,0	2,2	0,13

SE - standardna napaka ocene.

4.3 MASA JAJC

Skupina z dodatkom 0,65 % KVMK je imela tendenčno večjo skupno maso jajc v celotnem poskusnem obdobju v primerjavi s skupino z dodatkom 1,30 % KVMK (Preglednica 9). Omenjena skupina je imela tudi v drugem, tretjem in četrtem tednu statistično neznačilno največjo nesnost med skupinami z dodatkom različnih koncentracij KVMK.

Pri povprečni jajčni masi in povprečni jajčni masi zneseni na dan ni bilo statističnih razlik med skupinami v posameznih obdobjih. Največjo povprečno jajčno maso in povprečno jajčno maso zneseno na dan so imele skupine na začetku poskusnega obdobja (v prvem tednu). Statistično neznačilno največjo povprečno jajčno maso na dan v celotnem obdobju je imela skupina z dodatkom 0,65 % KVMK.

Preglednica 9: Vpliv dodajanja KVMK na skupno maso jajc, povprečno maso jajc in povprečno maso jajca na dan v gramih v posameznih in skozi celotno poskusno obdobje

	Kontrolna	Kisl-0,65	Kisl-1,30	SE	p-vrednost
Skupna masa jajc (g)					
1. teden	315,1	330,5	336,6	28,4	0,83
2. teden	264,1	308,8	237,1	30,7	0,34
3. teden	274,4	323,8	278,9	25,7	0,35
4. teden	276,1	304,6	218,1	25,0	0,24
1. do 4. teden	1129,8	1267,5	1070,7	44,7	0,16
Povprečna masa jajca (g)					
1. teden	70,6	70,7	72,1	2,1	0,86
2. teden	70,7	70,1	62,4	3,7	0,25
3. teden	61,2	68,1	67,4	5,3	0,53
4. teden	70,5	69,7	63,0	5,9	0,60
1. do 4. teden	70,2	70,0	71,0	1,4	0,88
Povprečna masa jajca (g/dan)					
1. teden	45,0	47,2	48,1	4,1	0,83
2. teden	37,7	44,1	33,9	4,4	0,34
3. teden	39,2	46,3	39,8	3,7	0,35
4. teden	39,4	35,2	31,2	3,6	0,24
1. do 4. teden	40,4	43,2	38,2	1,6	0,16

SE - standardna napaka ocene.

Največjo maso jajc v celotnem obdobju, v razredu 50 – 69 % nesnosti, je imela skupina z dodatkom 1,30 % KVMK v primerjavi s skupino z dodatkom 0,65 % KVMK (Preglednica 10). Omenjena skupina je imela največjo skupno maso jajc v razredu 20 – 49 %, vendar statistično neznačilno.

Pri analizi povprečne mase jajc v celotnem obdobju vidimo, da je imela skupina z dodatkom 0,65 % KVMK v razredu 50 – 69 % večjo povprečno maso jajc v primerjavi s

skupino z dodatkom 1,30 % KVMK. Skupina z dodatkom 0,65 % KVMK je imela višjo tudi povprečno jajčno maso na dan v primerjavi s skupino z dodatkom 1,30 % KVMK.

Preglednica 10: Vpliv dodajanja KVMK na skupno maso jajc, povprečno maso jajc in povprečno maso jajca na dan v gramih v celotnem poskusnem obdobju v odvisnosti od razreda nesnosti

	Kontrolna	Kisl-0,65	Kisl-1,30	SE	p-vrednost
Skupna masa jajc (g) v celotnem poskusnem obdobju					
20 – 49 %	794,4 _a	617,8 _a	843,7 _a	71,61	P _S < 0,16
50 – 69 %	1164,0 _b	1097,1 _b	1262,1 _b		P _R < 0,001
70 – 100 %	1430,8 _c	1522,6 _c	1497,1 _c		P _S × _R < 0,71
Povprečna masa jajc (g) v celotnem poskusnem obdobju					
20 – 49 %	72,9 _a	64,2	71,6	2,21	P _S < 0,88
50 – 69 %	70,4 _{ab}	74,1	69,7		P _R < 0,54
70 – 100 %	67,2 _b	71,6	71,7		P _S × _R < 0,09
Povprečna masa jajc (g/dan) v celotnem poskusnem obdobju					
20 – 49 %	28,4 _a	30,1 _a	22,1 _a	2,56	P _S < 0,83
50 – 69 %	41,6 _b	45,1 _b	39,2 _b		P _R < 0,03
70 – 100 %	51,1 _c	53,5 _c	54,4 _c		P _S × _R < 0,72

_{a,b,c} razredi nesnosti v istem stolpcu, ki v oznaki nimajo enake nobene od črk, se statistično značilno razlikujejo (p < 0,05), SE - standardna napaka ocene.

4.4 KAKOVOST JAJČNE LUPINE

Analiza poškodb jajčne lupine se ni pri nobenem od opazovanih parametrov izkazala kot statistično značilna (Preglednica 11). Delež zlomljenih jajc, delež jajc brez lupine in delež natrtih jajc je bil statistično neznačilno največji v skupini z dodatkom 1,30 % KVMK, medtem ko sta bila delež jajc z mozoljasto lupino in delež poškodovanih jajc prav tako statistično neznačilno največja pri kontrolni skupini.

Preglednica 11: Vpliv dodajanja KVMK na delež jajc s poškodovano lupino

	Kontrolna	Kisl-0,65	Kisl-1,30	SE	p-vrednost
Delež zlomljenih jajc (%)	4,0	3,1	6,2	2,37	0,70
Delež jajc brez lupine (%)	1,4	0,5	3,0	1,37	0,54
Delež natrtih jajc (%)	5,1	4,0	5,3	2,21	0,92
Delež jajc z mozoljasto lupino (%)	20,8	14,4	6,1	6,07	0,22
Delež poškodovanih jajc (%)	32,3	25,0	23,5	7,26	0,60

SE - standardna napaka ocene.

Pri kontrolni skupini smo opazili najtrdnejšo jajčno lupino v prvem obdobju v primerjavi s skupinama, z dodatkom 0,65 % in 1,30 % KVMK (Preglednica 12). Trdnost merjena v drugem obdobju in povprečna trdnost jajčne lupine v celotnem obdobju se med skupinami niso statistično značilno razlikovale, največje vrednosti so bile prav tako pri kontrolni skupini.

Preglednica 12: Vpliv dodajanja KVMK na trdnost jajčne lupine merjeno v N (newton)

	Kontrolna	Kisl-0,65	Kisl-1,30	SE	p-vrednost
1. obdobje (od 16. do 19. dne)	35,0	29,0	31,0	0,17	0,12
2. obdobje (od 23. do 26. dne)	28,0	24,0	26,0	0,24	0,24
Skupno v obeh obdobjih	32,0	28,0	30,0	0,19	0,30

SE - standardna napaka ocene.

Dodatki mešanice KVMK v nobenem izmed razredov nesnosti niso imeli statistično značilnega vpliva na povprečno trdnost jajčne lupine znotraj posameznih razredov nesnosti (Preglednica 13). Pri prikazu povprečne trdnosti jajčne lupine skupaj v obeh obdobjih lahko vidimo, da ostaja trdnost pri kontrolni skupini približno enaka ne glede na razred nesnosti, pri skupini z dodatkom 1,30 % KVMK trdnost jajčne lupine narašča z boljšo nesnostjo; vse statistično neznačilno.

Preglednica 13: Vpliv dodajanja KVMK na trdnost jajčne lupine (N) v odvisnosti od razreda nesnosti

	Kontrolna	Kisl-0,65	Kisl-1,30	SE	p-vrednost
1. obdobje (N)					
20 – 49 %	35,5	29,1	31,0	0,28	$P_S < 0,97$
50 – 69 %	35,7	31,7	32,6		$P_R < 0,52$
70 – 100 %	32,4	28,3	32,3		$P_{S \times R} < 0,12$
2. obdobje (N)					
20 – 49 %	24,7	15,2 _a	17,3 _a	0,37	$P_S < 0,78$
50 – 69 %	31,2	28,8 _b	32,7 _b		$P_R < 0,004$
70 – 100 %	29,3	26,7 _b	27,0 _c		$P_{S \times R} < 0,24$
Skupaj v obeh obdobjih (N)					
20 – 49 %	31,5	24,8	26,5	0,30	$P_S < 0,29$
50 – 69 %	31,8	30,1	37,9		$P_R < 0,32$
70 – 100 %	31,5	27,9	30,7		$P_{S \times R} < 0,87$

^{a,b,c} razredi nesnosti v istem stolpcu, ki v oznaki nimajo enake nobene od črk, se statistično značilno razlikujejo ($p < 0,05$), SE - standardna napaka ocene.

Masa pepela jajčne lupine in odstotek mase pepela v jajcu se med posameznimi skupinami niso značilno razlikovali. Primerjava skupin med seboj je pokazala, da sta kontrolna skupina in skupina z dodatkom 1,30 % KVMK dosegli podobne vrednosti, v skupini z dodatkom 0,65 % KVMK so bile vrednosti statistično neznačilno najmanjše (Preglednica 14).

Preglednica 14: Vpliv dodajanja KVMK na vsebnost pepela v jajčni lupini v posameznih obdobjih in skupaj

	Kontrolna	Kisl-0,65	Kisl-1,30	SE	p-vrednost
Masa pepela jajčne lupine v 1. obd. (g/jajce)	4,6	4,1	4,8	0,80	0,86
Masa pepela jajčne lupine v 1. obdobju (g/dan)	2,5	2,9	2,4	0,51	0,78
Delež mase pepela od mase jajca v 1. obd. (%)	6,5	5,9	6,7	1,10	0,90
Masa pepela jajčne lupine v 2. obd. (g/jajce)	5,5	5,2	5,3	0,31	0,77
Masa pepela jajčne lupine v 2. obdobju (g/dan)	3,1	2,8	2,5	0,31	0,29
Delež mase pepela od mase jajca v 2. obd. (%)	7,9	7,3	7,4	0,63	0,46
Masa pepela jajčne lupine v 1. in 2. obdobju (g/jajce)	5,2	4,9	5,3	0,40	0,81
Masa pepela jajčne lupine v 1. in 2. obdobju (g/dan)	2,9	3,0	2,6	0,28	0,61
Delež mase pepela od mase jajca v 1. in 2. obdobju (%)	7,3	6,9	7,4	0,48	0,79

SE - standardna napaka ocene.

Dodatki mešanice KVMK v nobenem izmed razredov nesnosti niso i statistično značilno vplivali na povprečno maso pepela v jajčni lupini in na delež mase pepela od mase jajca (Preglednica 15). Pri vseh omenjenih parametrih smo v razredu nesnosti 70 – 100 % ugotovili tendenčno povečanje vrednosti z naraščajočo koncentracijo KVMK v krmi, kar pri ostalih dveh razredih nesnosti ni bilo opaziti.

Preglednica 15: Vpliv dodajanja KVMK na vsebnost pepela v jajčni lupini skupno v obeh obdobjih v odvisnosti od razreda nesnosti

	Kontrolna	Kisl-0,65	Kisl-1,30	SE	p-vrednost
Masa pepela jajčne lupine (g/jajce)					
20 – 49 %	5,0	5,1	3,9	0,17	$P_S < 0,81$
50 – 69 %	5,4	5,3	5,0		$P_R < 0,46$
70 – 100 %	5,1	5,4	5,7		$P_{S \times R} < 0,77$
Masa pepela jajčne lupine (g/dan)					
20 – 49 %	1,9 _a	1,5 _a	0,8 _a	0,44	$P_S < 0,61$
50 – 69 %	3,3 _b	2,8 _a	3,2 _b		$P_R < 0,0001$
70 – 100 %	3,8 _b	4,2 _b	4,2 _b		$P_{S \times R} < 0,66$
Razmerje med maso pepela in maso jajca (%)					
20 – 49 %	6,9	6,1	6,8	0,77	$P_S < 0,79$
50 – 69 %	7,4	7,0	7,2		$P_R < 0,39$
70 – 100 %	7,5	7,6	8,0		$P_{S \times R} < 0,96$

^{a,b,c} razredi nesnosti v istem stolpcu, ki v oznaki nimajo enake nobene od črk, se statistično značilno razlikujejo ($p < 0,05$), SE - standardna napaka ocene.

4.5 ANALIZA VSEBNOSTI SUROVEGA PEPELA IN POSAMEZNIH MINERALOV V STEGNENICI

Masa stegenice, vsebnost surovega pepela in vsebnost Ca v stegenici se niso statistično značilno razlikovale med skupinami kokoši, ki so dobivale krmo z različnimi koncentracijami KVMK (Preglednica 16). Največje vrednosti je v vseh prej naštetih parametrih dosegla skupina kokoši z dodatkom 0,65 % KVMK. Omenjena skupina je imela tudi statistično značilno večjo vsebnost Mg v primerjavi z ostalima dvema skupinama in statistično značilno večjo vsebnost P v primerjavi s kontrolno skupino.

Preglednica 16: Vpliv dodajanja KVMK na kemijsko sestavo stegenice

	Kontrolna	Kisl-0,65	Kisl-1,30	SE	p-vrednost
Masa stegenice (g)	19,2	20,0	18,9	0,34	0,11
Vsebnost SP v stegenici (g/kg)	327,3	361,9	323,6	15,95	0,22
Vsebnost Ca v stegenici (g/kg)	137,7	143,8	129,1	7,63	0,49
Vsebnost Mg v stegenici (g/kg)	2,2 ^a	2,7 ^b	2,2 ^a	0,12	0,005
Vsebnost P v stegenici (g/kg)	57,9 ^a	64,5 ^b	57,2 ^{ab}	2,42	0,10

^{a,b} skupine ki v oznaki nimajo skupne nobene od črk, se statistično značilno razlikujejo ($p < 0,05$),

SE - standardna napaka ocene.

Dodatki različnih koncentracij KVMK v krmi na maso stegenice kokoši nesnic niso imeli statistično značilnega vpliva (Preglednica 17). Tendenčno večjo maso stegenice so v primerjavi s kontrolno skupino imele kokoši obeh skupin z dodatkom KVMK, vendar le v razredu nesnosti 20 - 49 %. Skupina z dodatkom 0,65 % KVMK je imela v razredu nesnosti 20 - 49 % nekoliko večjo vsebnost SP v primerjavi s kontrolno skupino, toda vrednost v skupini z višjo koncentracijo KVMK je bila precej manjša. V razredih nesnosti 50 - 69% in 70 - 100 % se, glede vsebnosti SP v stegenici, skupine niso statistično značilno razlikovale. Dodatek KVMK je na vsebnost P v stegenici imel statistično značilen vpliv le pri kokoših, ki so imele najnižjo nesnost. V skupini, ki je s krmo dobivala 0,65 % KVMK, je bila vsebnost P v stegenici statistično značilno večja v primerjavi s kontrolno skupino, medtem ko v skupini z dodatkom 1,30 % KVMK vpliv dodatka KVMK ni bil izražen. Kokoši z najslabšo nesnostjo so imele znotraj skupine z dodatkom 0,65 % KVMK statistično značilno največjo vsebnost P v stegenici, medtem ko znotraj ostalih dveh skupin ni bilo razlik med razredi nesnosti. Na vsebnost Ca v stegenici dodatki KVMK niso imeli statistično značilnega vpliva.

Preglednica 17: Vpliv KVMK v odvisnosti od razreda nesnosti na maso stegenice in na vsebnost SP, Ca, Mg in P v stegenici

Razred nesnosti	Kontrolna	Kisl-0,65	Kisl-1,30	SE	p-vrednost
Masa stegenice (g)					
20 – 49 %	19,4 _{ab}	21,0	20,1 _a	0,98	P _S < 0,11
50 – 69 %	19,9 _a	19,7	19,1 _{ab}		P _R < 0,012
70 – 100 %	18,3 _b	19,4	17,6 _b		P _S × _R < 0,29
Vsebnost SP v stegenici (g/kg)					
20 – 49 %	331,1	444,7 _a	348,5	45,52	P _S < 0,07
50 – 69 %	325,5	349,3 _a	337,9		P _R < 0,008
70 – 100 %	325,3	291,7 _b	284,5		P _S × _R < 0,24
Vsebnost Ca v stegenici (g/kg)					
20 – 49 %	154,8	168,4	140,2	21,79	P _S < 0,27
50 – 69 %	125,6	135,2	134,2		P _R < 0,02
70 – 100 %	132,6	127,9	112,9		P _S × _R < 0,80
Vsebnost Mg v stegenici (g/kg)					
20 – 49 %	2,1 ^a	3,6 ^b _b	2,5 ^a	0,19	P _S < 0,003
50 – 69 %	2,2	2,3 _a	2,3		P _R < 0,005
70 – 100 %	2,2	2,2 _a	1,9		P _S × _R < 0,04
Vsebnost P v stegenici (g/kg)					
20 – 49 %	58,5	76,4 _a	61,2	6,89	P _S < 0,03
50 – 69 %	56,4	61,4 _b	60,4		P _R < 0,008
70 – 100 %	58,6	55,7 _b	50,1		P _S × _R < 0,21

^{a,b} skupine, ki v oznaki nimajo skupne nobene od črk, se statistično značilno razlikujejo (p<0,05),

^{a,b,c} razredi nesnosti v istem stolpcu, ki v oznaki nimajo enake nobene od črk, se statistično značilno razlikujejo (p < 0,05), SE - standardna napaka ocene.

5 RAZPRAVA IN SKLEPI

5.1 RAZPRAVA

V raziskavi nas je zanimalo, ali lahko z dodatki kratkoverižnih maščobnih kislin v krmo vplivamo na proizvodne lastnosti, kakovost jajčne lupine in mineralizacijo kosti, pri materah pitovnih piščancev, v poznem nesnem obdobju. Želeli smo ugotoviti ali dodatek KVMK v krmi vpliva na absorpcijsko sposobnost prebavil, v tolikšni meri, da pride do izboljšanja oskrbe s Ca in posledično do izboljšanja kakovosti jajčne lupine.

Skupini kokoši, ki so zauživale krmo z dodatkom KVMK, se nista statistično značilno razlikovali v prirastu od kontrolne skupine. Pri zauživanju krme tudi ni bilo statističnih razlik med skupinami živali. To se sklada z rezultati Vugt-a in sod. (2001), ki pa so za razliko od naše raziskave ugotovili tudi statistično značilno izboljšano nesnost pri kokoših ISA brown. Pri naši raziskavi je bila nesnost kokoši, ki so bile krmljene z dodatkom 1,30 % dodatka KVMK nekoliko slabša. Ugotovili smo statistično značilno razliko v nesnosti, med skupinama z 0,65 % in 1,30 % dodatka KVMK v krmi. Njihova poskusna krma je vsebovala 1000 ppm mešanice KVMK, v kateri je prevladoval butirat. Ugotovili so večjo skupno maso jajc, podobno kot mi pri naši skupini z 0,65 % dodatka KVMK,

Vugt in sod. (2001) so prišli do zaključkov, da z dodatkom butirata v krmo starejšim kokošim nesnicam (nad 40 tednov) pride do statistično značilno manjšega števila jajc brez lupine, natrtih, zlomljenih ali mozoljastih jajčnih lupin. Ugotovili so, da dodatek butirata v krmi starejših kokoši nesnic izboljša absorpcijo Ca in na ta način izboljša kakovost jajčne lupine.

Pri naših skupinah kokoši, ki so zauživale krmo z dodatkom 0,65 % in 1,30 %-no koncentracijo KVMK se proti pričakovanju ni povečala vsebnost pepela v jajčni lupini. Delež mase pepela od mase jajca se ni spremenil in se je gibal med 6,9 in 7,4 %. V literaturi nismo našli rezultatov o morebitni povezavi dodatka KVMK in vsebnosti surovega pepela v jajčni lupini.

Dodatek KVMK znotraj posameznih razredov nesnosti ni statistično značilno vplival na povprečno maso jajca. Pri razredu z največjo nesnostjo smo opazili statistično neznačilno povečanje mase jajc s povečanjem koncentracije KVMK v krmi, kar je povezano s samim številom znesenih jajc.

Dodatek KVMK v naši raziskavi ni pokazal vpliva na trdnost jajčne lupine v nobenem nesnem razredu. Do drugačnih zaključkov so prišli Vugt in sod. (2001), ki so ugotovili pozitiven učinek na kakovost jajčne lupine pri kokoših starih 40 tednov in več. Prav tako dodatek KVMK ni vplival na maso stegenice in na vsebnost mineralnih snovi v stegenici. Vsebnost Mg in P v stegenici se je povečala pri skupini, ki je v krmi dobivala nižjo (0,65 %) koncentracijo KVMK, medtem ko je bila skupina z dvakratno koncentracijo podobna kontrolni skupini. Znotraj posameznih razredov nesnosti dodatek KVMK ni vplival na spremembo mase stegenice in na vsebnost Ca v njej.

Statistično značilno večje vrednosti smo dobili pri merjenju SP, Mg in P za kokoši s slabšo nesnostjo, ki so dobivale 0,65 % dodatek KVMK v primerjavi s kontrolno skupino. Statistično značilnih razlik pri kokoših z boljšo nesnostjo ni bilo.

Pri skupini kokoši z 0,65 % dodatka KVMK in nesnostjo nad 70 % smo ugotovili statistično značilno manjšo maso stegenice v primerjavi s kokošmi nižjega razreda nesnosti. Manjše so tudi vsebnosti preiskovanih mineralov (Ca, Mg in P) v stegenici teh kokoši v primerjavi s tistimi iz slabšega razreda nesnosti. To lahko kaže na učinkovito mobilizacijo mineralnih snovi, predvsem Ca, iz kosti v jajčno lupino, v času kalcifikacije (Boorman in sod., 1989).

5.2 SKLEPI

Dodatek različnih koncentracij KVMK v krmni mešanici ni vplival na parametre rasti (prirast) in zauživanje krme pri kokoših materah pitovnih piščancev.

Dodatek KVMK v krmi ni vplival na nesnost in povprečno maso jajc. Kokoši z boljšo nesnostjo, v razredih 50 - 69 % in 70 - 100 %, so nesle značilno lažja jajca od tistih s slabšo nesnostjo.

Kakovost jajčne lupine se pri kokoših krmljenih z dodatkom KVMK ni izboljšala. Trdnost jajčne lupine se ni statistično značilno razlikovala, pri kontrolni skupini je bila celo nekoliko boljša. Prav tako se ni povečala vsebnost SP v lupini in ni bilo statistično značilnega vpliva na delež poškodovanih jajc.

Statistično značilen vpliv KVMK na maso stegenice in na njeno mineralno sestavo se je pokazal pri kokoših s slabšo nesnostjo (20 - 49 %). Kokoši z najboljšo nesnostjo (nad 70 %) so imele v primerjavi z ostalimi manjšo maso stegenice in manjše vsebnosti surovega pepela, mineralnih snovi (Ca, Mg, P).

6 POVZETEK

Kakovost jajčne lupine skozi obdobje nesnosti varira. Absorpcija mineralov je v pozni nesnosti omejena oziroma zmanjšana, zato pride do motenj v presnovi in posledično do slabše kakovosti jajčne lupine. V raziskavi smo želeli raziskati ali dodatek KVMK izboljša funkcionalne sposobnosti prebavil do te mere, da se izboljša absorptivnost mineralov, predvsem Ca, kar privede ne le do izboljšanja oskrbe z minerali, ampak tudi do izboljšanja kakovosti jajčne lupine. V raziskavi smo preučevali vpliv mešanice propionske in maslene kisline na proizvodne lastnosti živali, kakovost jajčne lupine in mineralizacijo kosti. Poskus smo opravili na materah pitovnih piščancev ROSS 308, ob uhlevitvi starih 60 tednov (37. teden nesnosti). V prilagoditvenem obdobju, ki je trajalo en teden, smo vse kokoši krmili z isto krmno mešanico. Nato smo živali razdelili v tri skupine po 18 živali, na način, ki je najbolj poenotil skupine glede na telesno maso živali in nesnost v prvem tednu. Prva skupina živali je bila kontrolna in smo jo krmili z osnovno krmno mešanico, druga skupina je zauživala krmo z dodatkom 0,65 % KVMK, tretja skupina pa z dodatkom 1,30 % KVMK. Dodatki so iz osnovne krme izpodrinili ekvivalenten del nativnega škroba. Kokoši so imele stalno na voljo vodo, krmili smo jih restriktivno s 160 ± 2 g krme dnevno. Ob uhlevitvi in na koncu poskusnega obdobja, ki je trajalo štiri tedne, smo živali stehali in primerjali njihove priraste. Tedensko smo spremljali količino zaužite krme, vsakodnevno smo pobirali jajca, jih stehali in zabeležili morebitne poškodbe oziroma napake jajčne lupine. V dveh izbranih obdobjih (od 16. do 19. in od 23. do 26. dne) smo jajcem izmerili trdnost jajčne lupine in analitsko določili vsebnost SP. Po štirih tednih poskusnega obdobja smo živali zaklali in jim odvzeli stegnenico, v kateri smo določili vsebnost SP in mineralnih snovi (Ca, Mg, P). Rezultati kažejo, da dodatek KVMK v krmi ni statistično značilno vplival na prirast in zauživanje krme pri kokoših. Nesnost in povprečna masa jajc se pri poskusnih skupinah ni statistično značilno razlikovala od kontrolne skupine. Kakovost jajčne lupine se pri kokoših krmljenih z dodatkom KVMK ni izboljšala, prav tako ne trdnost, vsebnost surovega pepela se ni spremenila. Masa stegenice in njena mineralna sestava pri kokoših s slabšo nesnostjo (20-49 %) je pokazala tendenčno ugoden vpliv dodatka v skupini z dodatkom 0,65 % KVMK. Medtem ko so imele kokoši z nesnostjo nad 70 % nekoliko manjšo maso stegenice, manjšo vsebnost surovega pepela in manjšo vsebnost mineralnih snovi (Ca, Mg, P).

7 VIRI

- Al-Batshan H.A., Scheideler S.E., Black B.L., Garlich J.D., Anderson K.E. 1994. Doudenal calcium uptake, femur ash, and eggshell quality decline with age and increase following molt. *Poultry Science*, 73: 1590-1596
- Alderton D. 1988. A birdkeeper's guide to breeding birds. London, Salamander book: 117 str.
- Berne M.R., Levy N.M., Koeppen M.B., Stanton A.B. 1998. *Physiology*. Fourth edition. St. Louis, Mosby: 1131 str.
- Blottiere H.M., Buecher B., Galmiche J.P., Cherbut C. 2003. Molecular analysis of the effect of short-chain fatty acids on intestinal cell proliferation. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62: 101-106
- Boorman K.N., Volynchok J.G., Belyavin C.G. 1989. Eggshell formation and quality. V: *Recent developments in poultry nutrition*. Cole D.J.A., Haresign W. (eds.). Essex, Anchor press: 261-275
- Boorman K.N., Gunaratne S.P. 2001. Dietary phosphorus supply, eggshell deposition and plasma inorganic phosphorus in laying hens. *British Poultry Science*, 42, 1: 81-91
- Cestnik V., 1993. *Fiziologija domačih živali*. Ljubljana, Veterinarska fakulteta, 1993: 157 str.
- Ebihara K., Nakamoto Y. 1998. Comparative effect of water soluble and insoluble dietary fiber on bowel function in rats fed a liquid elemental diet. *Nutritional Research*, 18, 5: 883-891
- Goodson-Williams R., Roland D.A., McGure J.A. 1987. Eggshell pimpling in young hens as influenced by dietary vitamin D₃. *Poultry Science*, 66: 1980-1986
- Graham H., Fadel J.G., Newman C.W., Newman R.K. 1989. Effect of pelleting and β -glucanase supplementation on the ileal and faecal digestibility of a barley based diet in the pig. *Journal of Animal Science*, 67: 1293-1298
- Gunaratne S.P., Boorman K.N. 1996. Egg-shell deposition and blood plasma inorganic phosphorus concentration in individual laying hens. *British Poultry Science*, 37: 213-222
- Holcman A. 1998. Nekaj poudarkov o kakovosti jajc. *Sodobno kmetijstvo*, 31: 245-247
- Holcman A., Kovač M., Kmecl A., Zajec M. 1997a. Kakovost jajc na slovenskem tržišču. V: *Tehnologija – hrana – zdravje*. 1. slovenski kongres o hrani in prehrani, Bled, 21–25 apr. 1996. Ljubljana, Društvo živilskih in prehranskih strokovnih delavcev Slovenije: 667-674

- Holcman A., Terčič D., Zajec M. 1997b. Rezultati anketiranja potrošnikov o njihovih merilih ob nakupu jajc. V: Tehnologija – hrana – zdravje. 1. slovenski kongres o hrani in prehrani, Bled, 21–25 apr. 1996. Ljubljana, Društvo živilskih in prehranskih strokovnih delavcev Slovenije: 717-720
- Holcman A., Salobir J., Zorman-Rojs O., Kavčič S. 2004. Reja kokoši v manjših jatah. Ljubljana, Kmečki glas: 226 str.
- Izat A.L., Gardner F.A., Mellor D.B. 1985. Effects of age of bird and season of the year on egg quality 1. Shell quality. *Poultry Science*, 64, 10: 1900-1960
- Keshavarz K., Nakajima S. 1993. Re-evaluation of calcium and phosphorus requirements of laying hens for optimum performance and eggshell quality. *Poultry Science*, 72: 144-153
- Kihara M., Sakata T. 2002. Production of short-chain fatty acids and gas from various oligosaccharides by gut microbes of carp (*Cyprinus carpio* L.) in micro-scale batch culture. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 132: 333-340
- Knarreborg A., Miquel N., Granli T., Jensen B.B. 2002. Establishment and application of an in vitro methodology to study the effects of organic acids on coliform and lactic acid bacteria in the proximal part of the gastrointestinal tract of piglets. *Animal Feed Science and Technology*, 99: 131-140
- Koelkebeck K.W. 2002. What is egg shell quality and how to preserve it.
<http://ag.ansc.purdue.edu/poultry/multistate/koelkebeck1.htm> (5. apr. 2004)
- Kumar V., Cotran V.S., Robbins S.L. 1992. Basic pathology. 5th edition. Philadelphia, Saunders: 772 str.
- Larbier M., Leclercq B. 1992. Nutrition and feeding of poultry. Wiseman R.F. (ed.). Nottingham, Nottingham university press: 305 str.
- Leeson S., Summers J.D. 2001. Nutrition of the chicken. 4-th edition. Guelph, University books: 591 str.
- Lehninger L. A., Nelson L. D., Cox M. M. 1993. Principles of Biochemistry. Second edition. New York, Worth Publishers: 1013 str.
- Mineo H., Hara H., Tomita F. 2001. Short-chain fatty acids enhance diffusional Ca transport in the epithelium of the rat cecum and colon. *Life Sciences*, 69: 517-526
- McBurney M.I., Reimer R.A., Tappenden K.A. 1997. Short chain fatty acids, intestinal adaptation and nutrient utilization. V: Dietary fiber in health and disease. Kritchevsky D., Bonfield C. (eds.). New York, London, Plenum press: 135-143

- Musara C., Chamunorwa J., Holtug K., Skadhauge E. 2003. Insight into the mechanism of short chain fatty acid absorption in the ostrich (*Struthio camelus*) proximal colon. *British Poultry Science*, 44, 2: 316-326
- Nys Y. 2001. Recent developments in layer nutrition for optimising shell quality. V: 13th European symposium on poultry nutrition, Blankenberge, 30 sep. 2001. Blankenberge, WRSA – Belgium Branch: 45-52
- Rabassa A.A., Rogers A.I. 1992. The role of short-chain fatty acid metabolism in colonic disorders. *The American Journal of Gastroenterology*, 87, 4: 419-423
- Ricke S.C. 2003. Perspectives on the use of organic acids and short chain fatty acids as antimicrobials. *Poultry Science*, 82: 632-639
- Roberts J.R., Leary A. 2000. Factors affecting egg and egg shell quality in laying hens. Rural Industries Research & Development Corporation
<http://www.rirdc.gov.au/pub/shortreps/sr75/sr75.html> (20. mar. 2004)
- Sakata T. 1987. Stimulatory effect of short-chain fatty acids on epithelial cell proliferation in rat intestine: a possible explanation for tropic effects of fermentable fibre, gut microbes and luminal trophic factors. *British Journal of Nutrition*, 58: 95-103
- Salminen S., Bouley C., Boutron-Ruault M.C., Cummings J.H., Franck A., Gibson G.R., Isolauri E., Moreau M.C., Robertfroid M., Rowland I. 1998. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. *British Journal of Nutrition* 80, 1: 147-171
- Salobir J., Salobir B. 2001. Funkcionalnost prehranske vlaknine. V: Funkcionalna hrana. 21. Bitenčevi živilski dnevi, Portorož, 8-9 nov. 2001. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 51-65
- SAS/STAT User's Guide. Version 8. Vol. 2. 2000. Cary, SAS Institute: 1162 str.
- Säemann D.M., Böhmig A.G., Zlabinger J.G. 2002. Short-chain fatty acids: bacterial mediators of balanced host-microbial relationship in the human gut. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 114/8-9: 289-300
- Scheppach W., Pascu M.E., Richter F. 1997. Ballaststoffe, kurzkettige Fettsäuren und Kolonkarzinom. *Aktual Ernährung Medizin*, 22: 321-326
- Shen H., Summers J.D., Leeson S. 1981. Egg production and shell quality of layers fed various levels of vitamin D₃. *Poultry Science*, 60: 1485-1490
- Simons P.C.M. 1986. Major minerals in the nutrition of poultry. V: Nutrient requirements of poultry and nutritional research. Poultry science symposium number nineteen, Edinburgh, 1984. Fisher C., Boorman K.N. (eds.). Butterworths, Carfax publishing company: 141-154

- Soares J.H., Ottinger M.A. 1988. Potential role of 1,25 dihydroxycholecalciferol in egg shell calcification. *Poultry Science*, 67: 1322-1328
- Solomon S. 1991. *E. Egg and eggshell quality*. London, Wolfe: 149 str.
- Summers J. 1997. *Egg shell quality*. Poultry Industry Council.
<http://www.poultryindustrycouncil.ca/Factsheets/Factsheets/fact09.htm>
(20.mar.2004)
- Sutton A.L.M., MacDonald P.N. 2003. Vitamin D: More Than a "Bone-a-Fide" Hormone. *Molecular Endocrinology*, 17, 5: 777-791
- Vugt P.N.A., Wijtten P.J.A., Perdok H.B., Langhout D.J. 2001. Provimax improves the technical performance and eggshell quality of laying hens. V: 13th European symposium on poultry nutrition, Blankenberge, 30 sep. 2001. Blankenberge, WRSA – Belgium Branch: 76-77
- Wächtershäuser A., Stein J. 2000. Rationale for the luminal provision of butyrate in intestinal diseases. *European Journal of Nutrition*, 39: 164-171
- Williams B.A., Verstegen W.A.M., Tamminga S. 2001. Fermentation in the large intestine of single-stomached animals and its relationship to animal health. *Nutrition Research Reviews*, 14: 207-227
- Younes H., Demigne C., Remesy C. 1996. Acidic fermentation in the ceacum increases absorption of calcium and magnesium in the large intestine of the rat. *British Journal of Nutrition*, 75: 301-314

ZAHVALA

Rad bi se zahvalil mentorju prof. dr. Janezu Salobir, ki mi je pomagal s strokovnimi nasveti, idejami ter smernicami pri oblikovanju in nastajanju tega dela.

Iskreno se zahvaljujem prof. dr. Antoniji Holcman za natančno recenzijo diplomskega dela.

Zahvaljujem se prof. dr. Juriju Pohar za pregled diplomske naloge.

Dr. Nataši Siard in ga. Karmeli Malinger se zahvaljujem za pomoč pri oblikovanju in pregledu diplomskega dela.

Zahvaljujem se referentki Sabini Knehtl za spodbudne besede in napotke.

Zahvaljujem se tudi Boštjanu Kostanjevec in Tamari Frankič za pomoč pri izpeljavi poskusa.

Zahvala direktorici Živalskega vrta Ljubljana Zdenki Barbari Ban Fischinger za razumevanje in podporo v času nastajanja moje diplomske naloge.

Zahvala staršem, ki so mi omogočili ta študij.

Iz srca se zahvaljujem Mojci in njenim domačim za vso podporo, spodbudo in pomoč pri oblikovanju diplomske naloge, brez katerih ne bi bila to kar je.

Vsem, ki so kakorkoli pripomogli k nastanku te diplomske naloge, še enkrat hvala!