Możliwość zastosowania śruty rzepakowej w paszy dla ryb jesiotrowatych

Raport z projektu sfinansowanego z Funduszu Promocji Roślin Oleistych

Dr inż. Karolina Wnęk-Auguścik
Dr inż. Magdalena Fajkowska
Dr Małgorzata Rzepkowska

SZKOŁA GŁÓWNA
GOSPODARSTWA
WIEJSKIEGO

1 Spis treści

2 Wstęp 3
3 Materiały i metody 4
3.1 Pochodzenie i podchów ryb 4
3.2 Założenia eksperymentu 4
3.3 Przygotowanie paszy 7
3.4 Fizyczne i chemiczne parametry wody podczas odchowu 7
3.5 Pomiary i obliczenia statystyczne 8
3.6 Metodyka histologii przewodu pokarmowego 9
3.7 Metodyka analizy składu podstawowego mięśni szkieletowych 9
4 Wyniki i wnioski 10
4.1 Parametry hodowlane 10
4.2 Analiza histologiczna wątroby 11
4.3 Analiza histologiczna jelita przedniego i spiralnego 13
4.4 Analiza składu mięśni szkieletowych 15
5 Podsumowanie 16
6 Załączniki 17
6.1 załącznik 1 17
6.2 Załącznik 2 18
6.3 Załącznik 3 19
7 Wyjaśnienie 20

2 WSTĘP

Możliwość zastosowania w praktycznym żywieniu zwierząt rośliny uprawnej i będącego jej pochodną surowca jest podstawą oceny jej potencjału paszowego. Wpływ na to ma wiele czynników m. in. zawartość, strawność i przyswajalność substancji odżywczych, ale także zawartość substancji antyodżywczych, która w komponentach paszowych powinna być jak najniższa. Ważnym wyznacznikiem praktycznego zastosowania plonu są także właściwości uprawne i wymagania agrotechniczne rośliny oraz wyznacznik kosztów uprawy z jednoczesnym uzyskaniem potencjalnych przychodów z produkcji. Rzepak jest jedną z najważniejszych roślin oleistych uprawnianych w Polsce jak i całej Unii Europejskiej, która z powodzeniem jest wykorzystywana w celach konsumpcyjnych i przemysłowych. Ziarno rzepaku stanowi źródło cennego oleju oraz posiada niezbyt wygórowane potrzeby agrotechniczne, zachowując przy tym relatywnie wysoką odporność i zapewniając stabilny plon o pożądanej jakości. Biorąc pod uwagę fakt, że Polska jest trzecim największym producentem rzepaku w UE, istotna jest możliwość jego optymalnego wykorzystania w rozwoju polskiego rolnictwa m. in. w produkcji zwierzęcej. W procesach odolejowania ziaren rzepaku można uzyskać uboczny i pełnowartościowy produkt – poekstrakcyjną śrutę, która jest wartościowym pod względem składu aminokwasów i tanim źródłem białka paszowego. Dzięki niskiej zawartości tłuszczu (od 2% do 4%) i niskiej wilgotności poekstrakcyjna śruta rzepakowa może być długoterminowo przechowywana, nie pogarszając przy tym jakości surowca. Ponadto jej dostępność stale rośnie, co jest związane ze zwiększeniem produkcji rzepaku z przeznaczeniem na olej i do produkcji biopaliw.

Obecnie akwakultura jest najszybciej rozwijającym się sektorem rolnictwa na świecie i ważną gałęzią gospodarki w wielu krajach, co generuje także stale rosnące zapotrzebowanie na pasze dedykowane dla różnych gatunków ryb utrzymywanych w akwakulturach. Jednym z cennych gatunków ryb hodowlanych ze względu na mięso oraz pozyskiwany od nich kawior są jesiotry. Niestety, liczne przełowienia, kłusownictwo oraz dewastacja naturalnych siedlisk przyczyniły się do zagrożenia wyginięciem wielu gatunków ryb jesiotrowatych. Rosnący popyt na produkty pozyskiwane od tych ryb i szybko kończące się zasoby naturalne spowodowały rozpoczęcie opracowywania technik chowu i hodowli ryb jesiotrowatych, w tym także jesiotra syberyjskiego, w celu ich komercyjnego wykorzystania.

W naturalnym środowisku jesiotry są mięsożercami, a ich dieta bogata jest w duże ilości białka, zatem wysokobiałkowe pasze stosowane w żywieniu tych ryb zapewniają wysoką przeżywalność i szybkie tempo wzrostu osobników, co jest głównym warunkiem opłacalności produkcji. W akwakulturze, produkty białkowe pochodzenia zwierzęcego wykorzystywane do produkcji pasz, czyli głównie mączki rybne, ze względu na ich ograniczoną podaż i wysoką cenę, często zastępowane są tańszymi zamiennikami pochodzenia roślinnego, głównie soją i jej produktami pochodnymi. Jednakże obecnie szczególnie w krajach zachodnich panują coraz silniejsze trendy przeciwko używaniu produktów sojowych w żywieniu zwierząt. Śruta rzepakowa ma potencjał do zastąpienia śruty sojowej w paszach dla zwierząt hodowlanych, w tym także ryb. W związku z powyższym celem przeprowadzonych badań było określenie możliwości zastosowania poekstrakcyjnej śruty rzepakowej w paszy dla ryb jesiotrowatych.

3 MATERIAŁY I METODY

Doświadczenie przeprowadzono zgodnie z krajowymi przepisami dotyczącymi dobrostanu zwierząt i zatwierdzono przez Lokalną Komisję Etyczną ds. Doświadczania na Zwierzętach Instytutu Rybactwa Śródlądowego im. Stanisława Sakowicza w Olsztynie - Państwowego Instytutu Badawczego. Badanie zrealizowano jako pracę zleconą przez Polskie Stowarzyszenie Producentów Oleju ze środków Funduszu Promocji Roślin Oleistych.

3.1 POCHODZENIE I PODCHÓW RYB

Materiałem doświadczalnym był jesiotr syberyjski pochodzący z kontrolowanego tarła przeprowadzonego w Zakładzie Hodowli Ryb Jesiotrowatych w Pieczarkach, Instytutu Rybactwa Śródlądowego w Olsztynie. Podchów ryb do 150 dnia po wykluciu (dpw) był wykonywany w zamkniętych obiegach recyrkulacyjnych wody (RAS) w standardowych dla tego gatunku warunkach.

3.2 ZAŁOŻENIA EKSPERYMENTU

Do eksperymentu wybrano 300 sztuk narybku jesiotra syberyjskiego w wieku 150 dpw o zbliżonej masie i długości. Średnia masa ciała ryb przed rozpoczęciem eksperymentalnego żywienia wynosiła 216,2 ± 45,7 g, a średnia długość całkowita ciała ryb wynosiła 41,3 ± 2,9 cm. Doświadczenie prowadzono w dwóch niezależnych powtórzeniach stanowiących dwa oddzielne baseny dla każdej z badanych grup (zdjęcie nr 1).

Zdjęcie nr 1. Hale oraz zbiorniki z zamkniętymi obiegami recyrkulacyjnymi wody, w których utrzymywane były jesiotry syberyjskie w trakcie doświadczenia.

Ryby utrzymywane były w 10 basenach, w obsadzie 30 sztuk/basen. Obsadę w każdej grupie eksperymentalnej przedstawiono w tabeli nr 1.

Tabela nr 1. Obsada [kg/m^2] ± odchylenie standardowe ryb w trakcie eksperymentu żywieniowego, grupa A-0% (kontrolna); B-10%; C-20%; D-30%; E-30%+fitaza – zaw. śruty.

Grupa	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
150 dpw	1,62±0,06	1,58±0,01	1,57±0,00	1,6±0,04	1,6±0,03
206 dpw	3,3±0,13	3,17±0,0	3,13±0,03	3,15±0,03	3,02±0,04

Podczas eksperymentu ryby żywione były skomponowaną na potrzeby doświadczenia pełnoporcjową paszą (tabela nr 2), której podstawowy skład po wytworzeniu przedstawiono w tabeli nr 3. Poszczególne grupy doświadczalne żywione były paszą o różnej zawartości poekstrakcyjnej śruty rzepakowej (A=0%, B=10%, C=20%, D=30%) i odpowiednio zmniejszonej zawartości śruty sojowej i mączki rybnej. Dodatkowo, do paszy zawierającej

30% poekstrakcyjnej śruty rzepakowej dodano preparat enzymatyczny zawierający fitazę RENOZYME® HiPhos 20000 (grupa E).

Tabela nr 2. Skład paszy zastosowanej w doświadczeniu.

SKŁADNIKI	Zawartość (g/kg)				
	A	B	C	D	E
śruta poekstr. rzepak.	0,0	100,0	200,0	300,0	300,0
mączka rybna	500,0	450,0	400,0	350,0	350,0
mąka pszenna	180,0	135,0	90,0	40,0	40,0
śruta poekstr. sojowa	90,0	60,0	30,0	20,0	20,0
olej rybny	79,8	84,8	89,8	94,8	94,8
HP-300	50,0	60,0	80,0	65,0	65,0
gluten pszenny	40,0	50,0	50,0	70,0	70,0
drożdże paszowe	28,0	28,0	28,0	28,0	28,0
kreda pastewna	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0
premiks	9,3	9,3	9,3	9,3	9,3
chlorek choliny	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
lizyna	0,7	0,7	0,7	0,7	0,7
witamina E	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
fitaza (j.m./kg)					2000,0
NFE	19	18,5	18,2	17,5	17,5
GE (MJ/kg)	20,0	20,1	20,1	20,2	20,2
CP/GE (g/MJ)	23,2	22,8	22,5	22,3	22,3

Tabela nr 3. Podstawowy skład paszy zastosowanej w doświadczeniu [g/100g].

Grupy badawcze	Białko ogólne	Tłuszcz surowy	Popiół surowy	Sucha masa	Włókno surowe
A	46,4	13,5	9,8	93,9	5,8
B	45,9	13,8	9,7	93,8	6,7
C	45,2	14,1	10,0	95,1	9,7
D	44,7	14,2	9,2	92,6	10,2
E	43,5	13,9	9,1	90,6	10,5

Eksperyment żywieniowy prowadzono przez 8 tygodni (56 dni), od 150 do 206 dpw. W trakcie trwania eksperymentu ryby żywiono ręcznie, co dwie godziny (12 razy/dobę). Dobowa dawka paszy wynosiła 1% biomasy ryb. W doświadczeniu wykorzystano paszę o granulacji 2 mm (150 – 185 dpw) i 3 mm (186 – 206 dpw). Codziennie kontrolowano upadki, czyli śmiertelność (s) i stan zdrowia ryb.

3.3 PRZYGOTOWANIE PASZY

W trakcie przygotowywania paszy jej suche składniki, za wyjątkiem premiksu Dolmix Pstrąg 1,5% (DOLFOS, Polska), lizyny, chlorku i kredy pastewnej, zostały dokładnie wymieszane. Do mieszanki składników dodano wodę w ilości 14% jej masy a następnie poddano ją wstępnemu kondycjonowaniu w jednoślimakowym ekstruderze (Metalchem, Polska) w temperaturze 115°C przy obrotach ślimaka 90 rpm i matrycy o średnicy 6 mm. Uzyskany półprodukt, ułożony w warstwach ok. 2 cm grubości, suszono w komorze z przepływem powietrza w temperaturze 45°C przez 2 godziny a następnie zmielono w młynie młotkowym wyposażonym w sito o średnicy 0,8 mm. Do rozdrobnionej mieszaniny dodawano pozostałe suche składniki i dokładnie mieszano. Następnie dodawano wodę w ilości 12% rozprowadzając ją równomiernie w całej objętości mieszanki. Ekstruzję prowadzono w tym samym ekstruderze jednoślimakowym; temperatura w pierwszym segmencie układu plastyfikującego wynosiła 100°C, w segmencie drugim 95°C, a temperatura głowicy 86°C. W zależności od wytwarzanej partii paszy, głowicę wyposażano w matrycę o średnicy otworu 2 lub 3 mm. Uzyskany półprodukt suszono jak poprzednio a następnie natłuszczano w komorze próżniowej stosując emulsję składającą się z tłuszczu, wody i gliceryny spożywczej w proporcji 89:10:1. W przypadku paszy E, przed przygotowaniem emulsji rozpuszczono w wodzie naważkę fitazy (2000 j.m./kg). Do przygotowanej emulsji dodawano witaminę E (octan tokoferolu) a następnie wymieszano ją z peletem. Pokryty emulsją pelet umieszczano w komorze próżniowej i obniżono ciśnienie wewnątrz do -0,9 bara, jednocześnie mieszając zawartość. Po ok. 3 minutach do komory wpuszczano powietrze. Cykl ten powtarzano 3 krotnie. Gotową paszę umieszczono w odpowiednio oznakowanych pojemnikach z tworzywa sztucznego, które pozostawiano odkryte na 24 godziny w temperaturze pokojowej. Po tym czasie paszę pakowano do przepuszczających powietrze worków z tworzywa sztucznego i przewieziono do miejsca, gdzie utrzymywane były ryby. Przez cały okres odchowu paszę przechowywano w warunkach chłodniczych.

3.4 FIZYCZNE I CHEMICZNE PARAMETRY WODY PODCZAS ODCHOWU

W czasie trwania doświadczenia monitorowano parametry fizykochemiczne wody na odpływie wody ze zbiorników. Zawartość tlenu i pH określono za pomocą miernika CyberScan PCD 5500 (Eutech Instruments, USA). Całkowity azot amonowy (TAN = NH_4^+-N + NH_3-N) oraz stężenie azotu azotynowego (NO_2-N) określono za pomocą spektrofotometru

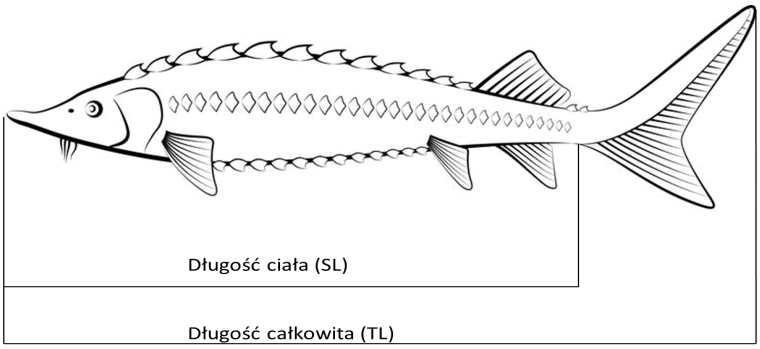
(Aquamate UV-Vis Plus). Parametry jakości wody mierzono co najmniej dwa razy w tygodniu, a temperaturę wody codziennie. Średnia temperatura wody podczas odchowu wynosiła 18,2°C (± 2,3). Stężenie tlenu w wodzie wypływającej z basenu nie spadło poniżej 7,33-9,2mg O_2 l^{-1} (± 0,42), a wartości pH mieściły się w zakresie od 7,2 do 7,7. Maksymalne stężenia azotu amonowego i azotu azotynowego nie przekraczały odpowiednio 0,284 ± 0,083mg TAN l^{-1} oraz 0,012 ± 0,003mg NO_2-N l^{-1}. Przepływ wody w basenach utrzymywano na poziomie 15 l min^{-1}.

3.5 POMIARY I OBLICZENIA STATYSTYCZNE

W dniu rozpoczęcia eksperymentu tj. w 150 dpw, po 4 tygodniach (w 178 dpw) i na końcu doświadczenia (206 dph) odłowiono wszystkie ryby z basenów w celu określenia ich biomasy (BW; ± 0,1 g). Wykonano także pomiary długości ciała (SL; ± 0,1 cm) i długości całkowitej (TL; ± 0,1 cm) (Rycina nr 1). Ponadto, co siedem dni dokonywano pomiarów średniej masy ciała 10 ryb z każdego zbiornika w celu ustalenia dawki pokarmowej.

Na podstawie pomiarów wykonanych ostatniego dnia eksperymentu tj. w 206 dpw, obliczono średnią arytmetyczną (AW) dla BW [g], SL i TL [cm]. Powyższe dane wykorzystano do obliczeń wskaźników hodowlanych takich jak: współczynnik kondycji wg. Fultona (K), średni dzienny przyrost (SGR), współczynnik konwersji paszy (FCR) i przyrost biomasy (BGR).

Rycina nr 1. Miejsca pomiarów długości ciała (SL) i długości całkowitej (TL).



Analizę statystyczną opracowano przy użyciu programu Statistica 13,3 Pl (TIBCO Software Inc, USA). Za pomocą testu ANOVA (HSD), badano istotność statystyczną wskaźników BW, SL, TL, K, SGR i BGR, natomiast testem Kruskalla-Wallisa współczynnika FCR. W każdym z powyższych testów przyjęto poziom istotności $P<0,05$. Wyniki przedstawiono jako wartości średniej arytmetycznej danego parametru w każdej z badanych grup żywieniowych.

3.6 METODYKA HISTOLOGII PRZEWODU POKARMOWEGO

Do analiz histologicznych przewodu pokarmowego losowo wybrano po 10 sztuk jesiotrów z każdej z pięciu grup doświadczalnych (łącznie 50 sztuk ryb). Przed pobraniem ryby zostały ogłuszone, a następnie uśmiercone poprzez przerwanie ciągłości rdzenia kręgowego. Do analizy histologicznej pobrano lewy płat wątroby (W) oraz jelito przednie (JP) i spiralne (JS) (zdjęcie nr 2).

Zdjęcie nr 2. Zdjęcie poglądowe pobranych wycinków układu pokarmowego jesiotra syberyjskiego. Wątroba (W), jelito przednie (JP) i jelito spiralne (JS).

Po pobraniu materiał został utrwalony w płynie Bouina i poddany standardowej procedurze histologicznej w celu uzyskania parafinowych preparatów mikroskopowych. Przygotowane kostki parafinowe krojono poprzecznie na skrawki o grubości 5µm i wybarwiono metodą HE (Hematoksylina i Eozyna). Analizę histologiczną przeprowadzono przy użyciu mikroskopu Nikon Eclipse 90i z kamerą Nikon DSFI3 oraz programu do analizy obrazu, NiS Elements 5.01.00. Pomiary długości kosmków jelitowych [µm] JP wykonano przy pomocy programu ImageJ 1.53 (National Institutes of Health, USA). Dla każdego osobnika wykonano pomiary czterech najdłuższych kosmków, w każdym z przekrojów.

Różnice w stopniu nasilenia zmian histopatologicznych oceniano subiektywnie przypisując: 0 – brak zmian; 1 (*) – zmiany łagodne; 2 (**) – zmiany umiarkowane; 3 (***) – zmiany ciężkie. Na podstawie powyższej oceny wyliczono średnie ważone dla poszczególnych zmian w każdej grupie badanej.

3.7 METODYKA ANALIZY SKŁADU PODSTAWOWEGO MIĘŚNI SZKIELETOWYCH

Z każdej grupy pobrano dziesięć próbek w postaci filetu, na który składały się mięśnie szkieletowe z okolic zagłowowych, centralnych i ogonowych. Z każdego filetu została usunięta skóra i elementy szkieletu (zdjęcie nr 3). Próbki zostały zamrożone w -20°C. W dniu

analiz próbki zostały rozmrożone i zhomogenizowane. Suchą masę, białko ogólne, tłuszcz surowy i popiół surowy oznaczono wg metody AOAC (1990).

Zdjęcie nr 3. Oskórowany filet mięśniowy.

4 WYNIKI I WNIOSKI

4.1 PARAMETRY HODOWLANE

W trakcie żywienia ryb eksperymentalnymi paszami nie odnotowano upadków (s=0), a ogólny stan zdrowia ryb oceniono jako dobry i nie odbiegający od normy w żadnej z badanych grup. Różnice istotne statystycznie dla BW i TL (P<0.05) wystąpiły jedynie pomiędzy grupą E a pozostałymi grupami żywieniowymi. W grupie E zaobserwowano najniższe wartości tych paramentów (tabela nr 4), co najprawdopodobniej jest związane z najniższą zawartością białka w paszy oraz jednocześnie najwyższą zawartością włókna surowego. Dodatek fitazy nie spowodował w tym wypadku polepszenia strawności paszy, stąd najprawdopodobniej wyniki otrzymane w tej grupie odbiegały od uzyskanych w grupach pozostałych.

Tabela nr 4. Średnia arytmetyczna ± odchylenie standardowe dla masy (BW) [g], długość całkowita (TL) i długość ciała ryb (SL) [cm], grupa A-0% (kontrolna); B-10%; C-20%; D-30%; E-

Parametr	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
BW	440 ±71	423 ±67	417 ±53	420 ±69	403 ±73*
TL	50,7 ±2,6	50,4 ±2,9	49,9 ±2,4	49,7 ±2,9	49,3 ±3,3*
SL	39,2 ±2,1	39,1 ±2,5	38,9 ±2,5	38,4 ±2,2	38,4 ±2,8

30%+fitaza – zaw. śruty, *P<0.05.

Nie odnotowano różnic istotnych statystycznie pomiędzy grupami dla żadnego z badanych parametrów hodowlanych przy P<0.05 (tabela nr 5). Oznacza to, że ogólna kondycja ryb, przyrost ryb, wykorzystanie paszy potrzebnej do przyrostu masy i ogólna biomasa ryb w danym zbiorniku były podobne we wszystkich analizowanych grupach. W związku z tym można wnioskować, że ryby żywione paszą eksperymentalną z dodatkiem poekstrakcyjnej śruty rzepakowej, niezależnie od jej procentowej zawartości w paszy, osiągnęły zbliżone parametry do ryb z grupy kontrolnej.

Tabela nr 5. Parametry hodowlane, grupa A-0% (kontrolna); B-10%; C-20%; D-30%; E-30%+fitaza – zaw. śruty,*P<0.05.

Parametr	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
K	0,34	0,33	0,34	0,34	0,34
SGR	4	3,78	3,66	3,63	3,38
FCR	0,80	0,82	0,84	0,85	0,91
BGR	50,95	50,1	49,1	48,51	46,9

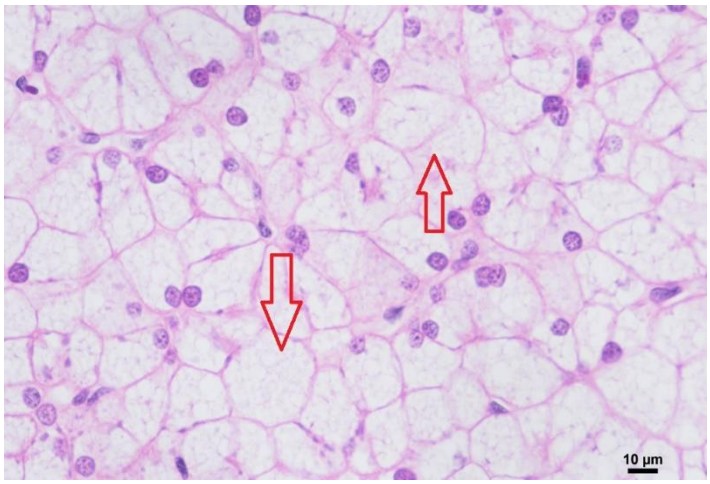
4.2 ANALIZA HISTOLOGICZNA WĄTROBY

We wszystkich grupach żywieniowych odnotowano występowanie stłuszczenia wątroby, czyli steatozy mikropęcherzykowej (zdjęcie nr 4). Największym stopniem stłuszczenia hepatocytów charakteryzowały się osobniki z grupy B i C, a najniższym z grupy E, aczkolwiek różnice pomiędzy grupami w stopniu nasilenia tej zmiany były nieznaczne (tabela nr 6).

Tabela nr 6. Stopień nasilenia zmian histopatologicznych obserwowanych w wątrobach jesiotrów żywionych paszami eksperymentalnymi.

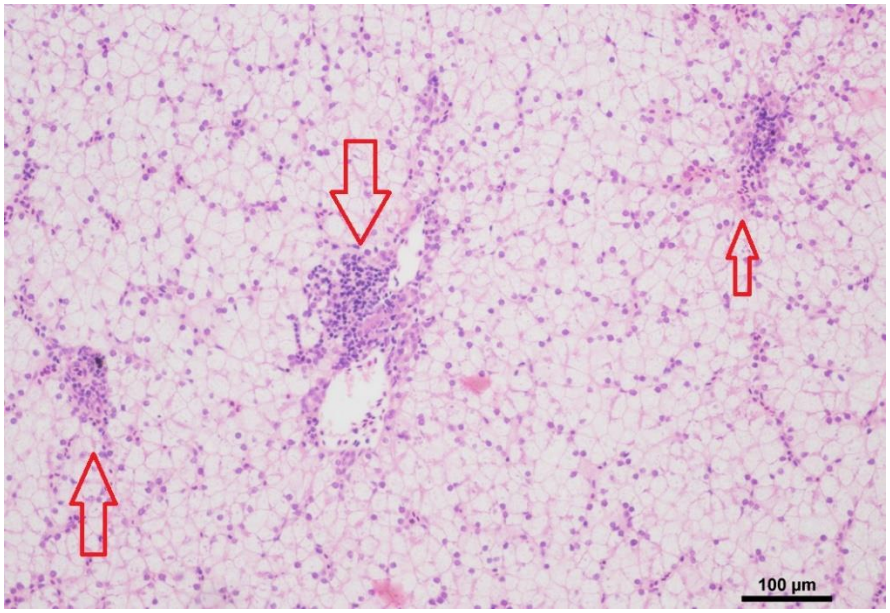
Grupa	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Steatoza mikropecherzykowa	4,17	4,33	4,33	4,16	4,00
Zapalenie portalne	2,67	2,33	2,83	2,67	2,33

Zdjęcie nr 4. Steatoza mikropęcherzykowa występująca u jesiotrów żywionych eksperymentalnymi paszami. Słuszczone hepatocyty (czerwone strzałki). Barwienie HE.



U żadnego z osobników nie stwierdzono przekrwień oraz podejrzenia zwłóknień. Nacieki limfocytarne świadczące o możliwym rozwoju przewlekłego stanu zapalnego występowały głównie przy większych naczyniach krwionośnych (zapalenia portalne) (zdjęcie nr 5).

Zdjęcie nr 5. Zapalenie portalne występujące u jesiotrów żywionych eksperymentalnymi paszami. Nacieki limfocytów (czerwone strzałki). Barwienie HE.



Ten typ zapalenia, głównie o małym i umiarkowanym nasileniu, obserwowano u wszystkich osobników we wszystkich grupach. Średnio najbardziej tą patologią dotknięte były osobniki z grupy C, a najmniej z grupy B i E (tabela nr 6). Podobnie jak w przypadku stłuszczenia, także w przypadku zapaleń portalnych, różnice w stopniu nasilenia tej patologii były nieznaczne pomiędzy badanymi grupami. Występowanie zapaleń w wątrobie jest często następstwem rozwoju steatozy. W związku z tym pojawienie się tego typu patologii może być związane z

niewłaściwym bilansem energetycznym, czyli żywieniem ryb zbyt kaloryczną paszą, a nie bezpośrednio wynikać z zastosowania dodatku śruty rzepakowej jako dodatku do paszy. Szczegółowy opis zmian histopatologicznych obserwowanych w wątrobach wszystkich analizowanych osobników przedstawiono w tabeli nr 11 stanowiącej załącznik 1 do niniejszego raportu.

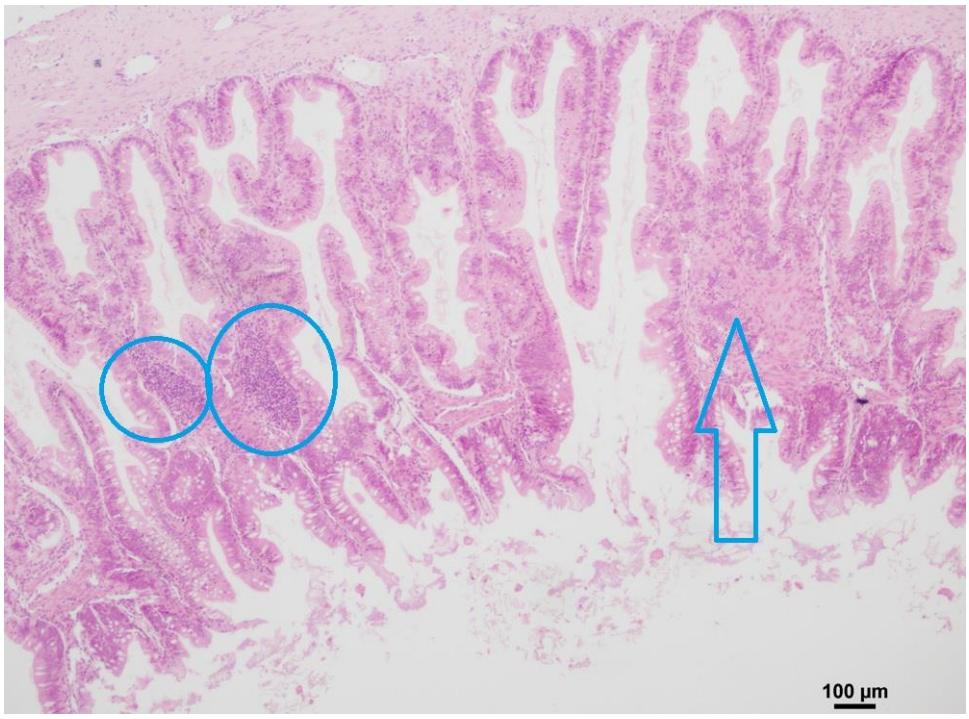
4.3 ANALIZA HISTOLOGICZNA JELITA PRZEDNIEGO I SPIRALNEGO

Najczęściej obserwowanymi zmianami histopatologicznymi w obrębie jelita przedniego były zapalenia z naciekiem limfocytarnym i dotyczyły one osobników z każdej z analizowanych grup. Zmiany mogące świadczyć o przewlekłym stanie zapalnym były najbardziej zaawansowane i najczęściej obserwowane w grupie B, a najrzadziej w grupie E. We wszystkich badanych grupach zaobserwowano zrosty kosmków jelitowych z przerostem tkanki łącznej (zdjęcie nr 6). Najbardziej nasilone zmiany tego typu obserwowano w grupie C, a najłagodniejsze w grupie D (tabela nr 7). W żadnej z grup doświadczalnych w obrębie nabłonka jelita przedniego nie zaobserwowano wysięków, zmian metaplastycznych, dysplastycznych ani nekrotycznych, które prowadzą do dysfunkcji jelit. Niewielkie nadmierne złuszczanie nabłonka, które może ograniczać wchłanianie substancji odżywczych, odnotowano u pojedynczych osobników w grupach A, C i E.

Tabela nr 7. Stopień nasilenia zmian histopatologicznych obserwowanych w jelicie przednim jesiotrów żywionych paszami eksperymentalnymi.

Grupa	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Zapalenie	0,83	2,17	1,83	1	0,67
Zrosty kosmków	2,67	3,33	3,50	2,33	3,0

Zdjęcie nr 6. Zrost tkanki łącznej (niebieska strzałka) i niewielkie nacieki limfocytarne (niebieskie kółka), w jelicie przednim. Barwienie HE.



Średnia długość kosmków jelitowych w odcinku jelita przedniego była podobna w obrębie wszystkich grup doświadczalnych przy P<0.05 (tabela nr 8).

Tabela nr 8. Średnie długości kosmków jelitowych [µm] ± odchylenie standardowe (SD); α = 0.05; grupa A-0% (kontrolna); B-10%; C-20%; D-30%; E-30%+fitaza – zaw. śruty, *P<0.05.

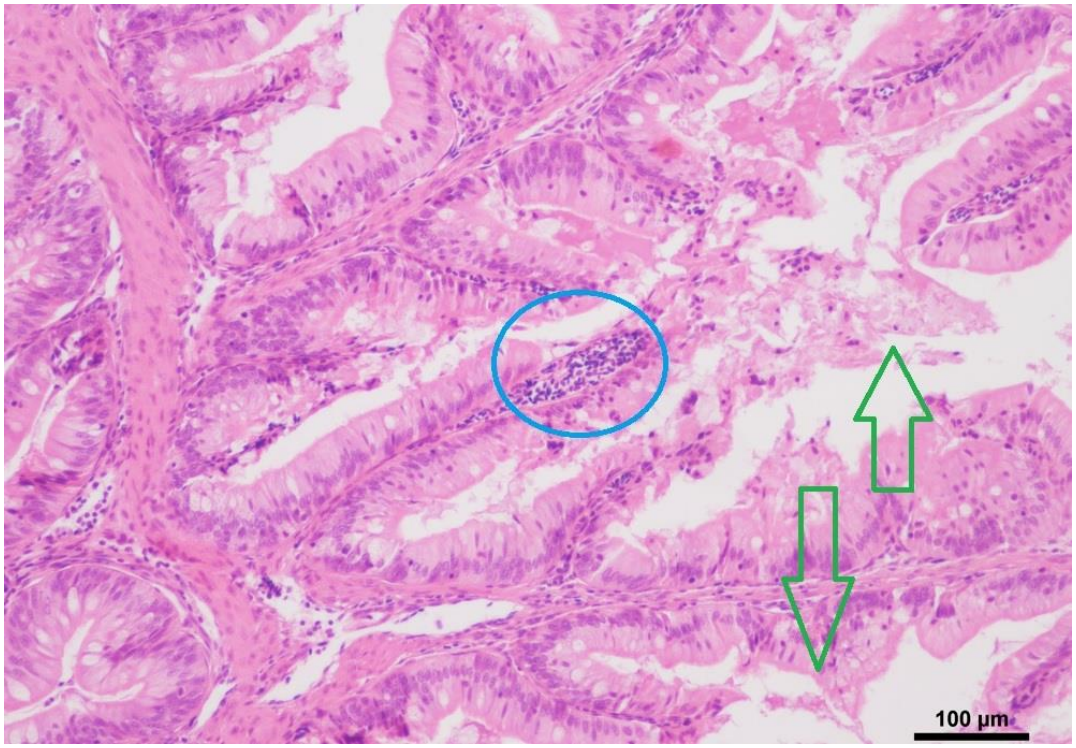
Grupa	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Długość kosmków	1351,52 ±311,86	1215,52 ±281,52	1247,37 ±290,08	1259,22 ±261,69	1214,68 ±176,99

W odcinku jelita spiralnego podobnie jak w jelicie przednim największy udział zmian stanowiły zapalenia z naciekiem limfocytarnym i dotyczyły osobników ze wszystkich analizowanych grup. Największym stopniem tych zmian charakteryzowała się grupa B, a najmniejszym D. W porównaniu do jelita przedniego w jelicie spiralnym było znacznie mniej miejscowych zrostów fałd oraz przerostów tkanki łącznej, które zaobserwowano u pojedynczych osobników w każdej z grup (tabela nr 9). W nabłonku jelita spiralnego podobnie jak w nabłonku jelita przedniego u badanych osobników ze wszystkich grup nie zaobserwowano zwiększonych wysięków, zmian metaplastycznych, dysplastycznych ani nekrotycznych. Dodatkowo w grupie C stwierdzono niewielkie nadmierne złuszczenie nabłonka (zdjęcie nr 7). Szczegółowy opis histologiczny dla poszczególnych osobników przedstawiono w tabelach nr 12 i 13 stanowiących załączniki 2 i 3 do niniejszego raportu.

Tabela nr 9. Stopień nasilenia zmian histopatologicznych obserwowanych w jelicie spiralnym jesiotrów żywionych paszami eksperymentalnymi.

Grupa	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**
Zapalenie	1,83	3	1,33	0,83	2,5
Zrosty fałd	0,5	0,33	0,5	0,83	0,5

Zdjęcie nr 7. Niewielkie ognisko limfocytarne (niebieskie kółko) i złuszczanie nabłonka (zielone strzałki) w jelicie spiralnym. Barwienie HE.



4.4 ANALIZA SKŁADU MIĘŚNI SZKIELETOWYCH

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono większy udział suchej masy i tłuszczu w mięśniach jesiotrów w grupie B w porównaniu do pozostałych grup. Większy udział białka ogólnego odnotowano w mięśniach zwierząt w grupach C i E w porównaniu do grupy A. Stwierdzona większa zawartość suchej masy w grupie B wynikała ze zwiększonego udziału tłuszczu w analizowanych próbach. Należy jednak podkreślić, brak różnic w podstawowym składzie chemicznym filetów ryb z grupy D, a mięśniami ryb z grupy A (tabela nr 10). W związku z powyższym, można stwierdzić, że dodatek poekstrakcyjnej śruty rzepakowej w paszy dla jesiotrów nie wpłynął negatywnie na skład podstawowy mięśni szkieletowych badanych ryb.

Tabela nr 10. Wyniki średnich wartości składu podstawowego mięśni jesiotrów [%] ± SD, grupa A-0% (kontrolna); B-10%; C-20%; D-30%; E-30%+fitaza – zaw. śruty; a, b, c — wartości w wierszach oznaczone różnymi literami różnią się statystycznie istotnie P ≤ 0,05; SEM – błąd standardowy średniej.

Grupa	**A**	**B**	**C**	**D**	**E**	SEM	p-Value
sucha masa	24,47a ±0,89	**25,83b** ±1,78	24,66a ±1,00	23,78a ±0,50	24,4a ±1,07	0,427	0,0308
białko ogólne	18,95a ±0,52	19,0ab ±0,52	**19,83c** ±0,92	18,95a ±0,47	19,62bc ±0,23	0,216	0,0128
tłuszcz surowy	4,42a ±0,45	**5,26b** ±1,29	4,07a ±0,63	4,28a ±0,29	4,66ab ±0,46	0,270	0,0419
popiół ogólny	1,17 ±0,03	1,12 ±0,07	1,11 ±0,04	1,12 ±0,05	1,12 ±0,03	0,018	0,1560

5 PODSUMOWANIE

Na podstawie przeprowadzonych badań można stwierdzić, że wykorzystanie poekstrakcyjnej śruty rzepakowej jako zamiennik śruty sojowej i mączki rybnej nie wpłynęło negatywnie na większość badanych parametrów, co daje szeroką możliwość bilansowania dawki pokarmowej różną zawartością śruty rzepakowej. Jedynie wyniki uzyskane w grupie E, czyli u ryb żywionych paszą zawierającą 30% udział śruty z dodatkiem fitazy nieznacznie odbiegały od wyników w pozostałych grupach i w związku z tym należy rozważyć możliwość przeprowadzenia kolejnych badań uwzględniających zastosowanie różnych stężeń fitazy oraz różnych produktów zawierające fitazę, co mogłoby polepszyć strawność paszy i przyczynić się do poprawy wartości badanych wskaźników. Histologiczna ocena wątrób jesiotrów ze wszystkich analizowanych grup wykazała występowanie zaawansowanego stłuszczenia hepatocytów, jednakże najprawdopodobniej było to wynikiem podawania zbyt wysoko energetycznej paszy, a nie wynikało z suplementacji diety śrutą rzepakową. Szczególną uwagę należy zwrócić natomiast na fakt, że 30 procentowy dodatek śruty rzepakowej ograniczył występowanie niektórych zmian histopatologicznych w odcinku jelita przedniego i spiralnego u badanych jesiotrów, co może wskazywać na jej właściwości prozdrowotne. Ponadto, wyniki podstawowego składu chemicznego mięsa jesiotrów żywionych paszą z dodatkiem śruty wskazują na jego stabilność, a wyższy udział tłuszczu lub białka w filetach ryb otrzymujących dodatek śruty poekstrakcyjnej rzepakowej może być rozpatrywany w

kategoriach korzyści płynących ze stosowania poekstrakcyjnej śruty rzepakowej jako zamiennika dla mączki rybnej, niemniej ocena przydatności śruty rzepakowej jako zamiennika maczki rybnej i śruty sojowej w paszach dla jesiotrów wymaga przeprowadzenia dalszych i bardziej szczegółowych badań.

6 ZAŁĄCZNIKI

6.1 ZAŁĄCZNIK 1

Tabela nr 11. Zmiany histopatologiczne w obrębie wątroby, legenda: + zmiany małe; ++ zmiany średnie; +++ zmiany duże; grupa A-0% (kontrolna); B-10%; C-20%; D-30%; E-30%+fitaza – zaw. śruty.

Grupa	Zapalenie portalne	Zapalenie śródmiąższowe	Przekrwienie	Stłuszczenie	Zwłóknienie
AI11	+			+++	
AI13	+			+++	
AI4	++			++	
AI7	++			++	
AI9	+			+	
AII10	+			+++	
AII12	++			+++	
AII4	++			+++	
AII6	++			+++	
AII8	++			++	
BI10	++			++	
BI11	+			+++	
BI13	+			+++	
BI5	++			+++	
BI7	++			+++	
BII11	+			+++	
BII12	++			+++	
BII5	+			+	
BII6	+			+++	
BII7	+			++	
CI11	++			+++	
CI13	+			++	
CI6	+			+++	
CI7	++			++	
CI8	+			++	
CII10	++			+++	
CII13	++			+++	
CII5	+++			++	
CII6	+			+++	
CII9	++			+++	
DI10	++			++	
DI12	+			+++	
DI4	++			++	

DI6	+			+++	
DI8	+			+++	
DII11	++			++	
DII13	+			+++	
DII5	++			+++	
DII7	++			++	
DII9	++			++	
EI2	+			+++	
EI3	++			+++	
EI5	++			++	
EI7	++			++	
EI8	+			+++	
EII10	++			++	
EII3	+			+++	
EII6	+			++	
EII7	+			++	
EII8	+			++	

6.2 Załącznik 2

Tabela nr 12. Zmiany histopatologiczne w obrębie jelita przedniego, legenda: + zmiany małe; ++ zmiany średnie; +++ zmiany duże; grupa A-0% (kontrolna); B-10%; C-20%; D-30%; E-30%+fitaza – zaw. śruty.

Grupa	Wysięki	Odklejenie nabłonka	Zapalenia	Dysplazja	Złuszczanie	Nekroza	Zrosty
AI11					+		+++
AI13							+
AI4			+				+
AI7			+				++
AI9							++
AII10							+
AII12					++		+++
AII4			+				+++
AII6			++				
AII8							
BI10							++
BI11			++				+
BI13							++
BI5			++				++
BI7			+				++
BII11			++				+
BII12			++				++
BII5			+				+++
BII6			++				+++
BII7			+				++
CI11			+				++
CI13			+				+++
CI6							++
CI7			+				
CI8							+++
CII10			++				+++

CII13			++				+++
CII5			+				+
CII6			+++		+		++
CII9							++
DI10							++
DI12			+				+++
DI4							++
DI6			+				++
DI8							+
DII11			++				
DII13							+
DII5			+				+
DII7			+				
DII9							++
EI2			+				++
EI3							
EI5							++
EI7							+
EI8			+++				+++
EII10					+		+++
EII3							++
EII6							++
EII7					+		++
EII8							+

6.3 Załącznik 3

Tabela nr 13. Zmiany histopatologiczne w obrębie jelita spiralnego, legenda: + zmiany małe; ++ zmiany średnie; +++ zmiany duże; grupa A-0% (kontrolna); B-10%; C-20%; D-30%; E-30%+fitaza – zaw. śruty.

Grupa	Wysięki	Odklejenie nabłonka	Zapalenia	Dysplazja	Złuszczanie	Nekroza	Zrosty
AI11			++				
AI13			++				+
AI4			+				
AI7			+				+
AI9							
AII10			+				
AII12			+		+		+
AII4							
AII6			++				
AII8			+				
BI10			++				
BI11			+				
BI13							
BI5			+				
BI7			+				
BII11			+++				+
BII12			+++				+
BII5			++				

BII6			+++				
BII7			++				
CI11							
CI13							
CI6			+				
CI7					+		
CI8							+++
CII10							
CII13			++				
CII5			++				
CII6			++		+		
CII9			+				
DI10							+
DI12							
DI4			+				++
DI6							
DI8							
DII11							
DII13							
DII5							++
DII7			++				
DII9			+				
EI2			+				+
EI3							
EI5							
EI7			++				+
EI8			+++				
EII10							
EII3			++				
EII6			+				+
EII7					+		
EII8							

7 WYJAŚNIENIE

Całość projektu zrealizowano terminowo, niemniej realizacja I etapu polegającego na wytworzeniu paszy, przeprowadzeniu 8-tygodniowego eksperymentu żywieniowego na jesiotrach syberyjskich, pobraniu prób do badań, oznaczeniu wskaźników morfometrycznych i hodowlanych uległa przesunięciu o około 50 dni. Powodem przesunięcia była obawa gorszego przyswajania paszy przez 100-u dniowe jesiotry, co mogłoby dać niemiarodajne wyniki eksperymentu. Powyższa decyzja została zaakceptowana przez Zleceniodawcę, a opóźnienie w realizacji tego zadania nie wpłynęło na terminowości rozliczenia projektu jako całości.