

SEMINARIUM DOKTORANCKIE
WYDZIAŁU MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ
I NAUK O ZWIERZĘTACH

UP Poznań

24-25 czerwca 2015

Billert Maria	59
Budaj Beata	45
Dębiński Dariusz	15
Dudek Krzysztof	19
Dudek (z d.Gawalek) Monika	84
Dziarska-Pałac Joanna	65
Gnus Michał	29
Graclik Agnieszka	92
Graczyk Lilianna	10
Gwóźdź Kinga	25
Hejdysz Marcin	56
Józwiak Piotr	2
Kaczmarek Jan	32
Kaczmarek Mikołaj	96
Kieltyka-Kurc Agata	88
Kierończyk Bartosz	4
Kołodziejewski Paweł Antoni	53
Kowalczyk Dorota	50
Kowalczyk Karolina	22
Majewski Michał	30
Mohamed El-Sherbiny	38
Mróz Dariusz	27
Nowak Piotr	17
Perkowska Anna	36
Rawski Mateusz	71
Sadkowski Sławomir	7
Salamon Sylwia	61
Sierpowska (z d. Przybylska) Katarzyna	68
Sikorska Agata	90
Stefańska Barbara	75
Stefański Paweł	79
Szczechowiak Joanna	42
Szczepańska Katarzyna	12
Świtek Stanisław	82
Wodas Łukasz	34
Zdun Maciej	48

BIOMECHANICZNA OCENA RUCHU KONIA SPORTOWEGO

Piotr Jóźwiak, I rok SD

Opiekun pracy: prof. dr hab. Jędrzej M. Jaśkowski, Instytut Weterynarii

Wprowadzenie:

Jednym z najistotniejszych elementów dobrostanu zwierzęcia jest sprawność jego aparatu ruchu. Diagnostyka opiera się głównie na subiektywnym badaniu klinicznym, którego jakość zależy od doświadczenia badającego oraz od krótkich obserwacji klinicznych zachowania zwierzęcia podczas wykonywania zadanych czynności, bądź swobodnego poruszania się. Niejednokrotnie o losach zwierzęcia decyduje głównie doświadczenie przeprowadzającego badanie oraz stopień przewlekłych bądź krótkotrwałych dysfunkcji ruchowych. Podkliniczne patologie aparatu ruchu często pozostają niezauważone.

Brak jest, jak dotąd wiarygodnej, obiektywnej, powtarzalnej metody oceny zachowań behawioralnych konia mogącej na podstawie standaryzowanych danych określić predyspozycje zwierzęcia do pełnienia określonych funkcji użytkowych. Potrzeby kliniczne skłaniają jednak do poszukiwań nowych precyzyjnych metod oceny ruchu konia w jego naturalnym środowisku. Dopiero taka przesiewowa analiza porównawcza zachowań behawioralnych koni w stadzie pozwala na przeprowadzenie selekcji najlepszych osobników do poszczególnych zastosowań, w tym również sportowych. Powinna ona stać się podstawą decyzji selekcyjnych koni hodowlanych, która obok doświadczenia hodowcy byłaby istotnym narzędziem diagnostyki funkcjonalnej. Wykorzystanie i weryfikacja kliniczna tej metody u koni pozwoliłoby na dalsze jej zastosowania u innych gatunków zwierząt stanowiących podstawę gospodarki hodowlanej.

Hipoteza badawcza.

Przy zastosowaniu prostej, szybkiej, powtarzalnej metody akcelerometrycznego pomiaru parametrów czasowo-przestrzennych ruchu konia możliwa jest obiektywna ocena symetrii przemieszczania kończyn jako elementu analizy sprawności aparatu ruchu.

Cel badań:

Poznanie kinematycznego wzorca symetrii przemieszczania się kończyn konia sportowego w stępie w obrazie akcelerometrycznej analizy ruchu. Celem dalszym jest określenie przydatności diagnostycznej pomiaru akcelerometrycznego ruchu do wykrywania subklinicznych form patologii ruchu konia.

Material: 5 koni pełnej krwi angielskiej wykorzystywanych w poprzednich sezonach w konkurencjach biegowych, w wieku 7 – 10 lat zostało przebadanych w jednolitych warunkach. Wszystkie konie w momencie badania były klinicznie zdrowe i nie wykazywały obecności jakichkolwiek patologii w obrębie aparatu ruchu. Wszystkie były podkute.

Metodyka badań. Pomiar parametrów czasowych oraz przestrzennych poszczególnych faz kroku koni idących stępem był rejestrowany za pomocą akcelerometru Dynaport Mc Roberts oraz cyfrowej kamery umieszczonej w statywie w odległości 10 m od przemieszczającego się zwierzęcia. Akcelerometr umieszczony był w stabilizatorze na zadzie konia w miejscu

przecięcia się linii łączącej centra guzów biodrowych i linii środkowej grzbietu konia przebiegającej wzdłuż wyrostków kolczystych kręgosłupa. Konie poruszały się na uwięzi, po torze o utwardzonej nawierzchni, o długości 10 m. Analizowano 9 przejść każdego konia. Szczegółowej ocenie poddano 3 kroki z każdego przejścia (ogółem 27 kroków u każdego konia). Jako pełen cykl chodu, uznaliśmy zjawiska czasowo-przestrzenne zachodzące od momentu oderwania lewej kończyny miednicznej (PLT) od podłoża do ponownego jej oderwania. Krok podzielony został na 4 następujące po sobie fazy: przeniesienia kończyny miednicznej lewej (PLT); przeniesienia kończyny miednicznej prawej (PPT) oraz kontaktu kończyny miednicznej lewej z podłożem (KLTcalk); kontaktu kończyny miednicznej prawej z podłożem (KPTcalk). Fazy KLTcalk oraz KPTcalk składają się z jednostek podrzędnych – KLT1 i KPT1; KLT3 i KPT3 jako momentów podporu dwukończynowego oraz KLT2 i KPT2 jako momentów podporu jednokończynowego

Dalsza analiza porównawcza dotyczyła oceny parametrów czasowo-przestrzennych ruchu tego samego zwierzęcia oraz porównania poszczególnych zwierząt między sobą. Szczegółowej analizie poddano parametry czasowe PLT i KLT1, KLT2, KLT 3, PPT, KPT1, KPT2, KPT3 oraz przestrzenne aL , aP gdzie aL , aP to wartości maksymalnego przyspieszenia zarejestrowana podczas faz PLT (aL) i PPT (aP). Uzyskane wyniki pomiarów poddano analizie statystycznej z uwzględnieniem charakteru zebranych pomiarów oraz powiązania w czasie obserwacji. Wyznaczono wartości średnie arytmetyczne i odpowiadające im odchylenia standardowe, dodatkowo podano wartości min i max analizowanych zmian. Uzyskane wyniki wartości czasowych oraz czasowo-przestrzennych zostały porównane przy pomocy współczynnika zmienności (wsp. Z) określającego wartość przeprowadzonej analizy statystycznej rozrzutu wyników. Wartości $wsp.Z$ mieszczą się w przedziale od 0% do 100%, przy czym wielkości od 0% do 20% określały małe zróżnicowanie wyników; od 21% do 40% średnie zróżnicowanie wyników; od 41% do 60% duże zróżnicowanie i powyżej 61% bardzo duże zróżnicowanie uzyskanych wyników. Warunkiem kwalifikacji analizowanego parametru do jednej z ww. grup zmienności wyników była nieprzekroczenie parametrów granicznych obserwowanych pomiarów przeprowadzonych u jakiegokolwiek konia.

Przewód doktorski: nieotwarty

Spis publikacji:

Piotr Józwiak, Bartłomiej M. Jaśkowski, Alicja Józwiak,
Wojciech Kosek, Paweł Knapkiewicz, Jędrzej M. Jaśkowski, „Kinematyczna ocena ruchu konia”, Med. Weter. 2014, 70 (1) (IF 0,203, MNiSW 15)

WYKORZYSTANIE NIZYNY W ŻYWIENIU KURCZĄT RZEŹNYCH

Bartosz Kierończyk, II rok SD

Opiekun pracy: dr hab. Damian Józefiak, Katedra Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej

Krótkie wprowadzenie

Bakteriocyny to peptydy syntetyzowane przez co trzeci szczep bakteryjny. Nizyna jako najlepiej poznana bakteriocyna, wykorzystywana jest od lat do konserwacji produktów spożywczych (m.in. sery, mięso, warzywa). Jej właściwości bakteriobójcze i bakteriostatyczne dotyczą eliminacji potencjalnie patogennych bakterii Gram-dodatnich. W dostępnej literaturze często niedoceniane są efekty bakteriocyn, które pośrednio (bakteriocynogenne szczepy probiotyczne) stosuje się w żywieniu ludzi. Zdolność produkcji bakteriocyn wykazują również mikroorganizmy zasiedlające przewód pokarmowy zwierząt, w tym kurcząt rzeźnych. Obecnie, dostępnych jest niewiele informacji na temat wykorzystania bakteriocyn w odchowie drobiu. Należy podkreślić, iż w żywieniu człowieka nizyna jako jedyna bakteriocyna uzyskała status GRAS (Generally Recognised As Safe), jak również nadano jej symbol E234.

Hipoteza badawcza

Zastosowanie nizyny (E234) w żywieniu kurcząt rzeźnych pozytywnie wpłynie na mikrobiom przewodu pokarmowego, ograniczając liczebność i aktywność drobnoustrojów potencjalnie chorobotwórczych.

Cel pracy

Celem pracy jest poznanie oddziaływania bakteriocyny nizyny (E234) na mikrobiom układu pokarmowego kurcząt rzeźnych.

Materialy i metody

W celu zweryfikowania hipotezy badawczej podjęto cykl badań żywieniowo-wzrostowych na kurczętach rzeźnych. Obejmują one zarówno pomiary wyników odchovu tj. przyrostów masy ciała, pobrania paszy oraz współczynnika wykorzystania paszy, ponadto analizy mikrobiologiczne treści przewodu pokarmowego z różnych jego odcinków (wole, jelito cienkie, jelita ślepe) oparte na metodach molekularnych – Fluorescencyjnej Hybrydyzacji *In-Situ* (FISH). W skład badań wchodzi również pomiary pH, krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA) oraz enzymów bakteryjnych w celu określenia aktywności flory bakteryjnej.

Wstępne wyniki

Wstępne wyniki przeprowadzonych doświadczeń potwierdzają postawioną hipotezę badawczą. Zastosowanie suplementacji nizyny w mieszankach pełnoporcjowych dla kurcząt rzeźnych istotnie wpływa na modyfikację składu oraz aktywności mikrobiomu jelitowego kurcząt rzeźnych. Jednocześnie, wykorzystanie nizyny w żywieniu brojlerów kurzych pozytywnie oddziałuje na ich wyniki odchovu.

Przewód doktorski: nie otwarty

Stan zaawansowania: 60%

Spis publikacji

Oryginalne prace twórcze i prace przeglądowe

1. Rawski M., Szczyrkowska A., Sypniewski J., **Kierończyk B.**, Skalski B., Józefiak D.: Ocena wpływu doustnego podawania *Bacillus licheniformis* CH 200: DSM 5749 i *Bacillus subtilis* CH 201: DSM 4750 na rozwój i skład mikroflory przewodu pokarmowego żółwi czerwonolicznych (*Trachemys scripta elegans*) na podstawie zmian jakościowych wody w akwaterrariach. Nauka Przyroda Technologie, 2012. Vol. 6 (3), str. 1-8. **MNiSW=5**
2. Rawski M., **Kierończyk B.**, Mięka R., Długosz J., Józefiak D., Rutkowski A.: Wpływ wybranych preparatów probiotycznych na wyniki odchowu i morfologię układu pokarmowego młodych żółwi żółto brzuchych (*Trachemys scripta scripta*). Nauka Przyroda Technologie. 2013, Vol. 7 (3), str. 1-11. **MNiSW=5**
3. Długosz J., Rawski M., **Kierończyk B.**, Sroka M., Józefiak D.: Wpływ czynników żywieniowych na występowanie nekrotycznego zapalenia jelit w odchowcie kurcząt rzeźnych. Magazyn Weterynaryjny Choroby Ptaków Monografia, maj 2013: 389-392. **MNiSW=3**
4. Ptak A., Józefiak D., **Kierończyk B.**, Rawski M., Żyła K., Świątkiewicz S.: Effect of different phytases on the performance, nutrient retention and tibia composition in broiler chickens. Archiv Tierzucht-Archives Animal Breeding, 2013. doi: 10.7482/0003-9438-56-104. **MNiSW=25, IF=0,463**
5. Józefiak D., **Kierończyk B.**, Juśkiewicz J., Zduńczyk Z., Rawski M., Długosz J., Sip. A., Højberg O.: Dietary nisin modulates the gastrointestinal microbial ecology and enhances growth performance of the broiler chickens. PLOS ONE, doi: 10.1371/journal.pone.0085347. 2013. **MNiSW=40, IF=3.73**
6. Józefiak D., Hejdysz M., **Kierończyk B.**, Rawski M., Rutkowski A., Engberg R. M., Højberg O.: *Clostridium perfringens* challenge and dietary fat type affect broiler chicken performance and fermentation in the gastrointestinal tract. ANIMAL, 2014. doi: 10.1017/S1751731114000536. **MNiSW=35, IF=1.648**
7. **Kierończyk B.**, Rawski M., Długosz J., Józefiak D.: Wpływ wybranych czynników żywieniowych na mineralizację układu kostno-szkieletowego drobiu. Polskie Drobiarstwo 03/2014, str. 58-63. 2014

Publikacje popularno-naukowe

1. Rawski M., Bigoszevska A., **Kierończyk B.**, Józefiak D.: Charakterystyka morfologiczna i filogenetyczna oraz praktyczne aspekty chowu *Pelomedusa subrufa* i *Pelusios castaneus* cz. I. Magazyn Weterynaryjny Dodatek on-line, 2012
2. Rawski M., Bigoszevska A., **Kierończyk B.**, Józefiak D.: Charakterystyka morfologiczna i filogenetyczna oraz praktyczne aspekty chowu *Pelomedusa subrufa* i *Pelusios castaneus* cz. II. Magazyn Weterynaryjny Dodatek on-line, 2012

3. Długosz J., Rawski M., **Kierończyk B.**, Sroka M.: Sarna europejska (*Capreolus capreolus*) w dobie intensyfikacji rolnictwa. Magazyn Weterynaryjny Dodatek on-line, 2012
4. Rawski M, **Kierończyk B.**, Bigoszevska A., Długosz J., Józefiak D.: Emydura czerwonoobrzucha (*Emydura subglobosa*) w warunkach chowu amatorskiego. Magazyn Weterynaryjny Dodatek on-line, 2012
5. **Kierończyk B.**, Rawski M., Długosz J., Zieliński D., Józefiak D.: Systematyka i morfologia modliszek (Mantodea). Cz. I. Magazyn Weterynaryjny Dodatek on-line, 2013
6. **Kierończyk B.**, Rawski M., Długosz J., Zieliński D., Józefiak D.: Modliszki (Mantodea). Cz. II. Wybrane aspekty biologii i behawioru modliszek utrzymywanych w niewoli. Magazyn Weterynaryjny Dodatek on-line, 2013
7. **Kierończyk B.**, Rawski M., Długosz J., Zieliński D., Józefiak D.: Modliszki (Mantodea). Cz. III. Żywnienie i warunki utrzymywania modliszek w niewoli. Magazyn Weterynaryjny Dodatek on-line, 2013
8. **Kierończyk B.**, Rawski M., Długosz J., Zieliński D., Józefiak D.: Modliszki (Mantodea). Cz. IV. Rozród modliszek w niewoli. *Mantis religiosa* - gatunek rodzimy. Magazyn Weterynaryjny Dodatek on-line, 2013
9. Zieliński D., Zielińska E., **Kierończyk B.**, Rawski M.: Modliszki typu „boxer” na przykładzie *Ephestiasula pictipes* (Wood-Mason, 1879). Zeszyty terrarystyczne, str. 46-51, 2013
10. Rawski M., Toborek M., **Kierończyk B.**, Długosz J., Józefiak D.: Komplikacje w rozrodzie żółwia hełmogłowego (*Pelomedusa subrufa*, Lacépède 1788) w niewoli - opis przypadku. Magazyn Weterynaryjny Dodatek on-line, 2014
11. **Kierończyk B.**, Rawski M., Zieliński D., Zielińska E., Długosz J., Mencil M.: Zmysł wzroku i jego zaburzenia u modliszek (Mantodea) Cz. I. Magazyn Weterynaryjny Dodatek on-line, 2014
12. **Kierończyk B.**, Rawski M., Zieliński D., Zielińska E., Długosz J., Mencil M.: Zmysł wzroku i jego zaburzenia u modliszek (Mantodea) Cz. II. Magazyn Weterynaryjny Dodatek on-line, 2014
13. Zieliński D., Zielińska E., **Kierończyk B.**, Rawski M.: Modliszki z rodzaju *Deroplatys* na przykładzie *Deroplatys desiccata* (Beier, 1935). Zeszyty Terrarystyczne, str.29-33, 2014

PROFILE OTŁUSZCZENIA ŚWIŃ ORAZ ICH UWARUNKOWANIE GENETYCZNE

Sławomir Sadkowski, rok II

Opiekun: Prof. dr hab. Maciej Szydlowski, Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt

Wprowadzenie

Obecnie wiadomo, że cechy otłuszczenia świń na tle innych cech produkcyjnych wykazują bardzo duże zróżnicowanie mimo jednolitego chowu i żywienia. Odziedziczalność poszczególnych cech jest średnia, a wiedza o wpływie pojedynczych genów jest niewielka mimo licznych doświadczeń asocjacyjnych. Możliwe, że pojedyncze geny wpływają na rozmieszczenie tkanki tłuszczowej w organizmie, natomiast ogólna ilość odkładanego tłuszczu jest uwarunkowana nieznanymi czynnikami pozagenetycznymi. Jednoczesne uwzględnienie wielu cech otłuszczenia świń pozwala na obserwację tendencji co do miejsca deponowania tkanki tłuszczowej w tuszy, a tendencje te można statystycznie zgrupować do kilku wyraźnie wyodrębnionych profili otłuszczenia, niezależnych od całkowitego otłuszczenia zwierzęcia. Innowacyjne podejście do charakteru otłuszczenia świń może skutkować poznaniem wpływów genetycznych z nim związanych. Dzięki temu możliwe będzie zastosowanie nowych kryteriów selekcji i kojarzenia tych zwierząt, co w efekcie może poprawić jakość tuszy, mięsa i w konsekwencji ekonomikę produkcji żywca.

Hipotezy badawcze

1. Świnie wykazują różne preferencje w odniesieniu do miejsca odkładania tkanki tłuszczowej, co jest widoczne już w młodym wieku.
2. W populacji można wyodrębnić 3 profile otłuszczenia, niezależne od ogólnego otłuszczenia świń.
3. Profil otłuszczenia podlega wpływom genetycznym, w tym wykrywalnym wpływom pojedynczych genów.

Cele pracy

1. Zdefiniowanie nowej cechy – „profil otłuszczenia”, który wynika z 7 pomiarów grubości słoniny, masy tłuszczu otrzewnowego i procentowej zawartości tłuszczu śródmięśniowego.
2. Analiza asocjacji między profilem otłuszczenia oraz:
 - Znanymi polimorfizmami genów kandydujących
 - Poziomem transkryptów genów kandydujących
 - Poziomem kwasów tłuszczowych

Material i metody

W pracy doktorskiej wykorzystam pomiary fenotypowe pochodzące z innych projektów badawczych. Pomiary te dotyczą populacji 679 loch reprezentujących dwie rasy matczyne: WBP i PBZ oraz linię ojcowską 990, utworzoną sztucznie na bazie sześciu ras. W badaniach wykorzystam również wyniki genotypowania 46 miejsc polimorficznych w 17 genach kandydujących dla cech otłuszczenia. Genotypy te określono dla opisanej fenotypowo populacji 679 świń. Niektóre genotypy wymagają uzupełnienia, gdyż nie zawsze

genotypowanie obejmowało wszystkie 3 rasy. Ponadto zostaną wykorzystane pomiary poziomu transkryptów wybranych genów kandydujących. Transkrypty w 3 tkankach opisano dla co najmniej dwóch genów w panelu 4 ras świń (Duroc, Pietrain, WBP, PBZ) dla łącznie 85 osobników. Analizie zostanie poddany również związek profilu ze składem tłuszczu. Procentowy udział 11 różnych kwasów tłuszczowych opisano w 3 tkankach u 85 świń w panelu 4 ras.

Genotypowanie zostanie uzupełnione dla kilku genów metodą PCR-RFLP. W celu definicji nowej cechy otluszczenia, jaką jest profil, wykorzystam standaryzację danych oraz metody klasyfikacji hierarchicznej takie jak metoda k-średnich. Analiza asocjacji między profilem świni a genotypem, poziomem transkryptów oraz kwasów tłuszczowych zostanie przeprowadzona z zastosowaniem znanych metod do analizy uogólnionych modeli liniowych. Analizy zostaną wykonane za pomocą pakietu statystycznego R (R Development Core Team).

Wstępne wyniki

Z zastosowaniem standaryzacji danych oraz metody k-średnich wyodrębniłem w populacji badanych świń 3 profile otluszczenia (grzbietowy, lędźwiowy oraz otrzewnowy). Każdą świnię można zaklasyfikować do jednego z tych trzech profili. Przykładowy wynik dotyczy znanej mutacji genu *RYR1*. Okazuje się, że mutacja ta prowadzi do istotnej zmiany, jeśli chodzi o miejsce odkładania tłuszczu. U osobników *CC* - wolnych od mutacji w genie *ryanodiny* – większość osobników ma profil „otrzewnowy”, w którym głównie odkładany jest tłuszcz otrzewnowy. Z kolei obecność jednego zmutowanego allelu *T* prowadzi do sytuacji, w której większość osobników ma profil „lędźwiowy” z tendencją do odkładania tłuszczu w sadle w odcinku lędźwiowym (wyniki opublikowane w czasopiśmie *Animal Science Papers and Reports*). Inny przykład dotyczy genu *ME1* i jego polimorfizmu *GT* w intronie. Obecność dwóch alleli *T* powiązana jest z częściową zmianą otluszczenia otrzewnowego na sadło w okolicy lędźwi. Choć wpływ powyższych mutacji na skład tuszy opisywano już wcześniej, te wyniki dowodzą, że zaproponowana tu klasyfikacja zwierząt według profili otluszczenia może być praktyczna i prowadzić do wykrycia innych genów głównych dla otluszczenia. Aktualnie prowadzone są badania związane z genem *FTO*.

Przewód doktorski: otwarty

(2 lipca 2013, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu)

Stan zaawansowania: 65%

SPIS PUBLIKACJI

Oryginalne prace twórcze

Sadkowski S., Molinska-Glura M., Molinski K., Szczepankiewicz D., Switonski M., Szydłowski M. (2015). A well-known mutation in *RYR1* alters distribution of adipose tissue in gilts. *Animal Science Papers and Reports*, 33(2): 147-154. (IF₂₀₁₃=0,814; MNiSW=25 pkt.)

Dybus A., Proskura W.S., **Sadkowski S.**, Pawlina E. (2013). A single nucleotide polymorphism in exon 3 of the myostatin gene in different breeds of domestic pigeon (*Columba livia* var. domestica). *Veterinarni Medicina*, 58: 32–38. (IF₂₀₁₁=0,679; MNiSW=25 pkt.)

Doniesienia konferencyjne

Szydłowski M., Stachowiak M., Maćkowski M., Cieślak J., Bartz M., Nowacka-Woszek J., Grześ M., Kociucka B., Salamon S., Madeja Z., Mańkowska M., Szczerbal I., **Sadkowski S.**, Świtoński M. (2014). Związek wybranych polimorfizmów genów kandydujących ze zmiennością cech otluszczenia świń. *Zjazd Katedr Genetyki i Metod Hodowli Zwierząt, Poznań, 1-3 lipca 2014*, Streszczenia: 24.

Szydłowski M., **Sadkowski S.**, Świtoński M. (2013). Znana mutacja genu RYR1 zmienia typ otluszczenia loszek wskazując na jego potencjalną rolę w determinacji otyłości brzusznej człowieka. *IV Polski Kongres Genetyki, Poznań, 10-13 września 2013*, Streszczenia: s. 131.

Dybus A., **Sadkowski S.**, Pawlina E., Proskura W.S. (2012). Myostatin gene polymorphism in domestic pigeons (*Columbia livia* var. *domestica*). *Book of Abstracts of the XXV International Conference Genetic Days, Wrocław 18-20 września 2012*, Streszczenia: s. 55.

WPLYW DIETY NA ONTOGENEZĘ PRZEWODU POKARMOWEGO U TROCI WĘDROWNEJ (*SALMO TRUTTA M. TRUTTA*) W WYKORZYSTANIEM HISTOPATOLOGII JELITA ŚRODKOWEGO I WĄTROBY.

Lilianna Graczyk, Rok studiów: I

Opiekun: dr hab. Jan Mazurkiewicz, Zakład Rybactwa Śródlądowego i Akwakultury

Wprowadzenie i motywacja: Rozwój przewodu pokarmowego u ryb jest obiektem zainteresowania badaczy od kilkadziesiąt lat. Kolkovski (2001) uwypuklił fakt, że w niezaburzonym trawieniu pokarmu niezbędna jest prawidłowa struktura przewodu pokarmowego. W przypadku ryb morskich zauważono pozytywną korelację pomiędzy dodawaniem do diety wolnych aminokwasów, a zmniejszoną śmiertelnością osobników po przejściu na odżywianie egzogenne (Fyhn 1989). Inni badacze (Verreth i in. 1992) wykazali, że procesy trawienne, które zachodzą po przejściu larw na odżywianie pokarmem pochodzącym ze środowiska, diametralnie różnią się od tych zachodzących podczas odżywiania substancjami zawartymi w woreczku żółtkowym. Bliską korelację zauważono również u jesiotra syberyjskiego pomiędzy wydzielaniem się enzymów trawiennych i rozwojem morfologicznym układu pokarmowego (Gisbert i in. 1993). Włączanie się kolejnych narządów układu pokarmowego do procesów trawienia i rozwój morfologiczny przewodu pokarmowego obserwowano także u ryb z rodziny ostrobokowatych (Chen i in. 2006). Badacze zasugerowali, że lepsze zrozumienie przebiegu ontogenezy ryb może znacznie poprawić ich wykorzystanie w akwakulturze. **Poza tym, należy mieć na uwadze także** wysoką śmiertelność narybku we wczesnych stadiach rozwoju osobniczego. W przypadku ryb łososiowatych istnieje również wątpliwość co do dokładnego czasu przejścia ryby z żywienia substancjami z woreczka żółtkowego, a pokarmem ze środowiska (Zamani i in. 2009). Podobny problem zasygnalizowano w przypadku ontogenezy łosia atlantyckiego (Sahlmann i in. 2015); zauważono wówczas, że fizjologiczne aspekty rozwoju form młodocianych są wciąż słabo poznane. Większość przytoczonych badań została przeprowadzona z wykorzystaniem histopatologii przewodu pokarmowego, technik immunohistochemicznych i histochemicznych. Główną motywacją do podjęcia się tej tematyki jest możliwość dogłębnego zbadania biologii gatunku troci wędrownej. Dodatkowym atutem jest również fakt, że badania prowadzone na tym gatunku są do tej pory nieliczne (Dziewulska i Domagała 2006).

Hipoteza badawcza: Zbilansowana dieta istotnie wpływa na rozwój przewodu pokarmowego u troci wędrownej (*Salmo trutta m. trutta*). Dieta zostanie przygotowana w oparciu o zmienny udział białek niskocząsteczkowych oraz różny okres karmienia artemią (pokarm naturalny). Dodatkowo zostanie przeprowadzona kontrola z udziałem dwóch grup kontrolnych zwierząt.

Cel pracy:

1. Oszacowanie wpływu diety na ontogenezę układu pokarmowego u troci wędrownej.
2. Oszacowanie całkowitej śmiertelności osobników.
3. Określenie tempa wzrostu i wykorzystania paszy badanych osobników.
4. Ocena zmian morfologicznych jelita środkowego i wątroby.
5. Ocena rozwoju przewodu pokarmowego na podstawie porównania wyników analizy histologicznej i statystycznej z kolejnych lat badań.

Cele badawcze zostaną zrealizowane w oparciu o histopatologię narządów trawiennych i narzędzia analizy wariancji. Dodatkowo zostanie wykonana analiza chemiczna osobników biorących udział w doświadczeniu oraz analiza chemiczna eksperymentalnych pasz.

Literatura uzupełniająca:

1. Chen B.N., Qin J.G., Kumarb M.S., Hutchinsonb W., Clarkeb S. 2006. *Ontogenetic development of the digestive system in yellowtail kingfish *Seriola lalandi* larvae*. Aquaculture 256 (1-4): 489-501.
2. Dziewulska K., Domagała J. 2006. *Histological assessment of early maturation in sea trout (*Salmo trutta m. trutta*) males in western Pomerania*. Journal of Applied Ichthyology 22: 446–450.
3. Fyhn H.J. 1989. *First feeding of marine fish larvae: are free amino acids the source of energy?* Aquaculture 80 (1-2): 111-120.
4. Gisbert E., Sarasquete M.C., Williot P., Castelio-Orvay F. 1999. *Histochemistry of the development of the digestive system of Siberian sturgeon during early ontogeny*. Journal of Fish Biology 55 (3): 596-616.
5. Kolkovski S. 2001. *Digestive enzymes in fish larvae and juveniles – implications and applications to formulated diets*. Aquaculture 200 (1-2): 181-201.
6. Sahlmann C., Gu J., Kortner T.M., Lein I., Krogdahl A., Bakke A.M. 2015. *Ontogeny of the digestive system of atlantic salmon (*Salmo salar* L.) and effects of soybean meal from start-feeding*. PLoS One: 10(4):e0124179. doi: 10.1371/journal.pone.0124179.
7. Verreth A.J., Torreele E., Spazier E., Sluiszen A., Roombout J., Booms R., Segner H. 1992. *The development of functional digestive system in the african catfish *Clarias gariepinus* (Burchell)*. Journal of the World Aquaculture Society 23 (4): 286-298.
8. Zamani A., Hajimoradloo A., Madani R., Farhangi M. 2009. *Assessment of digestive enzymes activity during the fry development of the endangered Caspian brown trout *Salmo caspius**. Journal of Fish Biology 75: 932-937.

ZMIANY ULTRASONOGRAFICZNE JAMY BRZUSZNEJ PSÓW I KOTÓW PRZY OBJAWACH OSTREGO BRZUCHA. NIEINWAZYJNA I SZYBKA INFORMACJA DLA LEKARZA WETERYNARII W PROTOKOLE OGÓLNEGO POSTĘPOWANIA KLINICZNEGO.

Katarzyna Szczepańska III rok SD

Opiekun: Prof. dr hab. Kornel Ratajczak, Instytut Weterynarii

Krótkie wprowadzenie:

Diagnostyka zespołu „ostrego brzucha”, która obejmuje podejrzenie ciał obcych w przewodzie pokarmowym zwierząt, nadal jest wyzwaniem dla lekarza weterynarii. Skomplikowana interpretacja badań kontrastowych i interpretacja obrazów ultrasonograficznych nie pozwala jednoznacznie określić, czy należy wdrożyć postępowanie chirurgiczne (laparotomia zwiadowcza), czy nadal można obserwować pacjenta i leczyć go zachowawczo. Wiele ciał obcych, przebywa drogę przewodu pokarmowego nie powodując żadnych objawów, uszkodzeń. Niektóre z nich zostają wydalane bez większych przeszkód, wywołując przemijające objawy enteropatii, stanowiąc jedynie ryzyko niedrożności.

Protokoły postępowania powszechnie ułatwiają postępowanie terapeutyczne szczególnie lekarzom bez doświadczenia lub tym, którzy nie mają możliwości wykonania zdjęcia RTG. Istnieje szereg innych przyczyn objawów tzw. „ostrego brzucha”, wymagających natychmiastowego wdrożenia postępowania chirurgicznego. Zespół cech uwidocznionych w obrazie ultrasonograficznym jamy brzusznej może być pomocnym narzędziem w interpretacji wyników badań dodatkowych tj. RTG, USG, badania krwi i innych wykonywanych powszechnie w trakcie postępowania lekarskiego. Szereg danych powinien być interpretowany w odniesieniu do oceny aktualnego stanu pacjenta połączony z danymi uzyskanymi z wywiadu lekarskiego. Całokształt wiedzy pozwala na podjęcie szybkiej decyzji odnośnie dalszego postępowania. Wyszczególnione cechy badania USG uwzględniają nieprawidłowości wskazujące na zagrożenie niebezpiecznych dla zdrowia i życia pacjenta powikłań, wśród których w sytuacji zbyt późnego podjęcia decyzji o zabiegu, pacjent może nie mieć szansy na przeżycie. W toku analizy przypadków udokumentowano potrzebę wdrożenia takiego postępowania oraz zaobserwowano niekorzystny przebieg choroby, ze skutkiem śmiertelnym, w sytuacji odwlekania decyzji o zabiegu chirurgicznym. W obrazie ultrasonograficznym można wykryć cechy świadczące m.in. o perforacji jelita, zapaleniu otrzewnej, zaburzeniach krążenia. Ten problem diagnostyczny dotyczy również medycyny człowieka, a ogrom danych literaturowych wskazuje na potrzebę dalszych badań w kierunku ułatwienia lekarzom weterynarii procedur związanych z podjęciem właściwej decyzji. Dopóki metody praktyczne nie będą powszechnie dostępne dla lekarzy praktyków, dopóty w praktyce lekarsko-weterynaryjnej umiejętności związane z szybką decyzją będą uzależnione od dostępu lekarza specjalisty. Ciało obce cieniujące w obrazie RTG oraz te, które powodują całkowitą niedrożność są z powodzeniem stwierdzane w badaniu radiologicznym, dlatego te bezpośrednio nie zostaną ujęte w badaniu, jednak pośrednio ich obraz ultrasonograficzny, zostanie wykorzystany do szerszej interpretacji zmian patologicznych w obrazie USG.

Hipoteza badawcza:

Zgromadzone dotychczas przypadki potwierdzają, że badanie ultrasonograficzne pozwala na kwalifikację zwierzęcia do zabiegu operacyjnego. Dodatkowo przy podejrzeniu ciała obcego, badanie ultrasonograficzne pozwala na wykluczenie innych przyczyn objawów sugerujących częściową niedrożność przewodu pokarmowego tj. guzy ściany przewodu pokarmowego, zapalenia oraz inne przyczyny zaburzeń perystaltyki. Aktualny stan wiedzy pozwala na nieinwazyjną diagnostykę potwierdzającą, czy ciało obce wymaga obserwacji, czy niezwłocznego wdrożenia postępowania chirurgicznego. Zmiany widoczne w obrazie ultrasonograficznym powinny być skorelowane z oceną kliniczną pacjenta.

Cel pracy:

Wyznaczenie cech ultrasonograficznych zmian patologicznych zespołu „ostrego brzucha”, którym może towarzyszyć obecność ciała obcego w jamie brzusznej małych zwierząt, pozwalających na podjęcie decyzji o wdrożeniu postępowania chirurgicznego. Utworzenie zestawu objawów ultrasonograficznych, pozwalających na uniknięcie niepotrzebnego znieczulenia ogólnego i zabiegu operacyjnego, zwiększa szansę przeżycia pacjentów o niespecyficznych objawach klinicznych.

Wstępne wyniki:

Zgromadzone materiały z przypadków klinicznych potwierdzają użyteczność ultrasonografii w podjęciu decyzji o laparatomii diagnostycznej. Protokół oparty o wyniki badań dodatkowych i badanie kliniczne uzupełnia obrazy uzyskane badaniem ultrasonograficznym kwalifikujące pacjenta do dalszych obserwacji lub niezwłocznego podjęcia interwencji chirurgicznej.

Przewód doktorski: otwarcie w przygotowaniu. Utrudnieniem jest konieczność obrony na innym wydziale.

Podziękowania: Firma MEDINCO, Firma istnieje na rynku od 2003 r. Jest autoryzowanym dystrybutorem GE Healthcare Ultrasound & BMD Products w zakresie sprzedaży ultrasonografów i densytometrów. Firma w osobie Pana Rafała Ratajczaka umożliwiła podjęcie badań klinicznych, bez którego uzyskanie aktualnych danych do pracy doktorskiej byłoby niemożliwe.

Udostępniona aparatura: **LOGIQ Book XP z 2 sondami**. (udostępniona bezpłatnie)

Spis publikacji:

1. „Objaw prążkowania w obrazie USG błony śluzowej jelit” *Weterynaria w Praktyce* 10/2009 – 2 pkt. MNiSW
2. Ultrasonografia, jak prawidłowo ocenić trzustkę?” *Weterynaria w Praktyce* 7-8/2010 - 2 pkt. MNiSW
3. „Diagnostyka na przykładzie typowego przypadku klinicznego hemangiosarcoma”, *Weterynaria w Praktyce* 4/2010 - 2 pkt. MNiSW
4. „Chondromatoza stawu łokciowego u dorosłego psa. Opis przypadku”, *Weterynaria w Praktyce* 1-2/2011.- 2 pkt. MNiSW
5. „Obraz ultrasonograficzny wybranych zmian patologicznych trzustki u psów i kotów”, *Weterynaria w Praktyce* 5/2011 - 2 pkt. MNiSW
6. „Obraz ultrasonograficzny nadnerczy u psów, kotów i tchórzofretek”, *Magazyn Weterynaryjny* vol 20, 2011, Nr 169, str. 26-31. – 3 pkt. MNiSW.
7. Plakat EVDI Comparison of blood flow changes by means of Doppler technique in femoral artery of a sheep before and after osteotomy-a prospective study, Giessen, 2010
8. Plakat EVDI Scientific Conference, „ value of ultrasonography in detecting capsule thickening in dog with elbow synovial osteochondromatosis”. Londyn 2011
9. Normal testicular volume measured by ultrasonography in 19 Raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*, 1834 Gray, Canidae) using the formula $V=L \times W^2 \times 0,59$. 17th EVSSAR Congress – Wrocław, 2014
10. **The arteries of the head and encephalic base in a case of conjoined twin cattle** – nadal recenzowane.
11. Przynajmniej 2 publikacje w przygotowaniu – praca w toku.

UNACZYNIENIE TĘTNICZE UKŁADU ROZRODCZEGO ŻEŃSKIEGO DANIELA (DAMA DAMA) I JELENIA SZLACHETNEGO (CERVUS ELAPHUS) WYSTĘPUJACYCH W WARUNKACH NATURALNYCH I FERMOWYCH

Dariusz Dębiński, II rok studium doktoranckiego

Opiekun pracy: dr hab. Hieronim Frąckowiak, prof. nadzw. Zakład Anatomii Zwierząt, Instytut Zoologii

Krótkie wprowadzenie:

Ukrwienia układu rozrodczego samic jest poznane i opisane u zwierząt gospodarskich (owca, bydło, koń), u niektórych gatunków laboratoryjnych, a także zwierząt towarzyszących człowiekowi. Znajomość tych struktur u zwierząt z rodziny Cervidae i podrodziny jelenie nie jest kompletna. Niniejsze badania wzbogaca stan wiedzy na temat odmian, morfologii i topografii naczyń tętnicznych jajnika, macicy, pochwy i zewnętrznych narządów rodnych w różnych stanach fizjologicznych samic (ciąża). Piśmiennictwo tematyczne przedstawia tylko krótkie wzmianki i opisy układu krążenia gatunków zagrożonych z rodziny Cervidae.

Cel badań:

Głównym celem badań jest analiza wzorca sposobu odejścia, przebiegu, podziału oraz wzajemnych połączeń i ukrwienia układu rozrodczego samic w zależności od stanu fizjologicznego, oraz środowiska bytowania. Ponadto określenie stanu fizjologicznego, przeprowadzona zostanie analiza morfometryczna, poszczególnych elementów wchodzących w skład układu rozrodczego.

Hipoteza:

Unaczynienie narządów rozrodczych samicy daniela (Dama dama) i jelenia szlachetnego (Cervus elaphus) w różnych stanach fizjologicznych samic dziko żyjących, wykazuje różnice w porównaniu do samic utrzymywanych w warunkach fermowych.

Materiał i Metody:

Badaniami objęto tętnice narządów rodnych samic: jelenia szlachetnego (Cervus elaphus) i daniela (Dama dama), które pozyskano od grupy zwierząt, które utrzymywano na fermach i drugiej grupy łań pozyskanych metodą polowań z łowisk. Wiek zwierząt wahał się w przedziale od 3 do 7 lat. Zwierzęta pochodziły z różnych ferm oraz łowisk na terenie Puszczy Zielonki i koła łowieckiego „Omyk” Turostowo. Materiał badawczy pochodzący od zwierzyny łownej gromadzono w okresie polowań, a narządy od danieli utrzymywanych na fermach pozyskiwano z ubojni przez cały rok. Naczynia krwionośne pobranych narządów rodnych samic obu gatunków jeleniowatych wypełniano syntetycznym barwionym lateksem LBS3060 i utrwalano w formalinie. Na tak przygotowanych preparatach śledzono przebieg naczyń preparując je ręcznie narzędziami chirurgicznymi. W celu otrzymania preparatów korozyjnych tętnice część pozyskanych narządów rodnych wypełniono masą iniekcyjną

Duracryl, a następnie macerowano enzymatycznie. Ponadto mierzono długość i szerokość szyjki macicy przy użyciu suwmiarki.

Wyniki wstępne :

Tętnice zaopatrujące trzon i szyjkę macicy po stronie do grzbietowej tworzyły trzy rodzaje odmian. Rogi macicy zaopatrywane były przez tętnicę maciczną, która rozdziela się na gałąź dogłową tętnicy macicznej z odgałęzieniem bocznym i przyśrodkowym. Gałąź doogonową tętnicy macicznej z kolei ulegała podziałowi na boczną i przyśrodkową, które zaopatrywały szyjkę macicy oraz tworzyły anastamozy z tętnicą maciczną prawą i lewą. Zespołenia gałęzi doogonowych tętnic macicznych i gałęzi macicznych ułożonych na dobrzusznej ścianie trzonu i szyjki macicy tworzyły trzy rodzaje odmian.

Przewód doktorski: nie otwarty

Stan zaawansowania: 20%

Spis publikacji

Frąckowiak H., Komosa M., Dębiński D., Zdun M. (2015): The arterial circle of the brain, its branches and connections in selected representatives of the Antilopinae. *Journal of Morphology* DOI: 10.1002/jmor.20377 25 pkt. MNiSW IF = 1,553

EFEKTYWNOŚĆ STOSOWANIA WIELOSKŁADNIKOWYCH DODATKÓW PASZOWYCH W ŻYWIENIU PROSIĄT I WARCHLAKÓW

Piotr Nowak, I rok SD

Opiekun pracy: prof. dr hab. Andrzej Frankiewicz, Katedra Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej

Wprowadzenie:

W ostatnim czasie jednym z najbardziej rozwijających się działów żywienia zwierząt jest grupa dodatków paszowych. Jest to głównie uwarunkowane wprowadzeniem w 2006 roku zakazu stosowania antybiotykowych stymulatorów wzrostu. Spowodowało to poszukiwanie innych podobnie efektywnych w produkcji zwierzęcej dodatków paszowych takich jak pre- i probiotyki, zakwaszacze, fitobiotyki itp. które mogłyby je zastąpić. Dlatego pojawił się pomysł by wcześniej poznane dodatki połączyć w grupy, które stanowiłyby podstawę do opracowania preparatu wieloskładnikowego, który mógłby zastąpić wycofane antybiotykowe stymulatory wzrostu. Taki preparat mógłby poprawiać wyniki produkcyjne, a także stan zdrowotny zwierząt, a przede wszystkim prawidłowe funkcjonowanie przewodu pokarmowego, które zależy głównie od równowagi mikrobiologicznej. Wspomniana mikroflora rozwija się w początkowym okresie życia świń. Dlatego prosięta są najbardziej zagrożoną grupą technologiczną świń na rozwój populacji mikroorganizmów chorobotwórczych, który zawsze prowadzi do pogorszenia wyników produkcyjnych. Wszechstronne działanie preparatów wieloskładnikowych polega na specyficznych właściwościach antagonistycznych użytych szczepów laktofilnych, substancji aktywnych zawartych w ziołach, krótkołańcuchowych kwasów organicznych w stosunku do patogennych szczepów bakterii (*Clostridium perfringens*, *E.coli*) występujących w przewodzie pokarmowym prosiąt. Współdziałanie aktywnych bakterii i fitoczynników poprawia, a zarazem przyspiesza zasiedlanie przewodu pokarmowego przez pożyteczną florę bakteryjną oraz gwarantuje prawidłowy rozwój kosmków jelitowych, zwłaszcza u zwierząt młodych, poprawiając efektywność ich odchowu. Dodatkowym efektem działania preparatu wieloskładnikowego, wynikającym z obecności substancji aktywnych w materiale zielarskim, jest poszerzenie zakresu działania produktu (w porównaniu ze stosowanymi obecnie oddzielnie probiotykami i ziołami), co jednocześnie potwierdza innowacyjność proponowanego rozwiązania.

Hipoteza badawcza:

Wieloskładnikowe dodatki paszowe charakteryzują się wyższą efektywnością oddziaływania w kierunku poprawy zdrowotności oraz wskaźników odchowu u prosiąt i warchlaków.

Cel pracy:

Celem jest opracowanie wieloskładnikowych dodatków paszowych oraz porównanie wpływu ich stosowania w mieszankach na wskaźniki odchowu prosiąt i warchlaków.

Przewód doktorski: nie otwarty

Źródło finansowania: **PBS1/A8/10/2012**

Doniesienia konferencyjne:

Kasprowicz-Potocka M., Zaworska A., **Nowak P.**, Frankiewicz A., *The effect of combined eubiotic preparations on the performance and gastrointestinal ecology in growing pigs*, Digestive Physiology in Pigs Symposium, May 19-21, 2015 Kliczków

Kasprowicz-Potocka M., Zaworska A., **Nowak P.**, Nowak W., Frankiewicz A., *The effect of combined feed additives on the performance and gastrointestinal ecology in growing pigs*, Nutrition of livestock, companion and wild animals XLIV Scientific Session Group of Animal Nutrition, Committee of Animal Nutrition, Polish Academy of Sciences Department of Animal Nutrition and Biotechnology, Warsaw University of Life Sciences Warsaw, 16/17 June 2015

Przyjęte zgłoszenie na konferencje do prezentacji:

Nowak P., Kasprowicz-Potocka M., Zaworska A., Frankiewicz A., *The eubiotics preparations in the feeding of pigs*, XII International Conference of Young Researchers „Physiology and Biochemistry in Animal Nutrition”, Łowicz, 23-24 September 2015

BIORÓŻNORODNOŚĆ, A PREWALENCJA PATOGENÓW ODKLESZCZOWYCH.

(zatwierdzony przez Radę Wydziału)

Krzysztof Dudek, III rok

Prof. dr hab. Piotr Tryjanowski, Instytut Zoologii

Przewód doktorski otwarty 24.04.2015 na WMWiNoZ

Wprowadzenie

Ostatnie odkrycia sugerują silne związki pomiędzy bioróżnorodnością gatunkową, a występowaniem chorób odwektorowych. Pokazano, że większa różnorodność gatunkowa gospodarzy pasożytów-wektorów powoduje zmniejszenie prewalencji przenoszonych przez nie patogenów. Zjawisko to nazwano efektem rozcieńczenia. Opiera się ono na fakcie, że gospodarze wektorów są zróżnicowani pod względem zdolności rezerwuarowej. Hipoteza mówi, że w środowisku najliczniej reprezentowane są gatunki będące dobrymi rezerwuarami patogenów. Zwiększenie bioróżnorodności wiąże się z napływem innych gatunków, będących zazwyczaj słabszymi rezerwuarami. Zatem im wyższa bioróżnorodność na danym terenie tym większa szansa, że szukający żywiciela pasożyt trafi na gospodarza, który jest słabym rezerwuarem patogenów i dzięki temu uniknie on zakażenia patogenem.

Hipoteza badawcza

Większa bioróżnorodność zwierząt powoduje spadek prewalencji patogenów w kleszczach.

Cel pracy

Celem badań jest sprawdzenie na drodze eksperymentalnej czy występuje efekt rozcieńczenia w krajobrazie rolniczym. Badania mają wskazać czy obecność pewnych gatunków powoduje zmianę częstości występowania patogenów odkleszczowych.

Materiały i metody

Badania prowadzone są w ekstensywnie użytkowanym krajobrazie rolniczym w południowej Wielkopolsce. Eksperyment składa się z czterech etapów i prowadzony jest równolegle na dziewięciu powierzchniach badawczych, z których sześć jest testowych, a trzy kontrolne. W pierwszym etapie badań, na wszystkich powierzchniach odławiane są gryzonie i jaszczurki. Na złapanych zwierzętach wyszukiwane są kleszcze i pobierane do badań wraz z próbką tkanki. Drugi etap badań zostanie przeprowadzony w kolejnym roku. Ponownie odławiane będą zwierzęta, ale tym razem gryzonie na powierzchni testowej I-III, a jaszczurki na IV-VI przed wypuszczeniem zostaną pokryte preparatem odstrasżającym kleszcze. Powierzchnie VII-IX stanowią kontrolę, na której zwierzęta także będą odławiane w celu pobrania próbek tkanki ale nie będą traktowane repelentami. Jednocześnie podczas każdego etapu pobierana będzie za pomocą flagi próba kleszczy żyjących wolno w środowisku. Podczas kolejnych lat badań przeprowadzone zostaną te same procedury badawcze.

Wszystkie zebrane roztocze i pobrane tkanki zostaną przebadane pod kątem obecności patogenów odkleszczowych w specjalistycznym laboratorium parazytologicznym.

Wstępne wyniki

Wykonane badania pokazały, że kleszcze licznie występują w krajobrazie rolniczym i są częstymi nosicielami patogenów. Uzyskałem także wyniki pokazujące, że jaszczurki są częstym gospodarzem kleszczy jednak bardzo rzadko zarażają się od nich bakteriami borelii. Badania innych gatunków kleszczy, np. pozyskanych z bydła pozwoliły mi na dopracowanie metod badań materiału genetycznego także innych patogenów jak pierwotniaki czy bakterie Ehrlichia spp. Część wyników została już opublikowana, a niektóre są aktualnie w recenzji.

Podsumowanie

Zaawansowanie badań oceniam na 30%. Przeprowadziłem badania wstępne które pozwoliły mi na dobranie odpowiedniej metodyki, a obecnie prowadzę I etap eksperymentu.

Podziękowania

Grant Preludium 2014/13/N/NZ8/02487 NCN. Realizacja: 27.01.2015 – 26.01.2018. **Spis publikacji**

1. Oryginalne prace twórcze:

1. **Dudek K**, Koczura R, Gawalek M, Sajkowska Z, Ekner-Grzyb A (in press) Detection of Salmonella enterica in a sand lizard (*Lacerta agilis*, Linnaeus, 1758) city population. *Herpetological Journal*, (MNiSW: 25)
2. **Dudek K**, Ekner-Grzyb A, Sajkowska Z, Gawalek M, Tryjanowski P (2015) Often using body condition index is an unreliable indicator: a case of sand lizard. *Turkish Journal of Zoology*, 39:182-184. (MNiSW: 15)
3. Gawalek M, **Dudek K**, Ekner-Grzyb A, Kwieciński Z, Śliwowska JH (2014). Ecology of the field cricket in farmland: Importance of livestock grazing. *North Western Journal of Zoology*, 10:325-332. (MNiSW: 20)
4. **Dudek K**, Sajkowska Z, Gawalek M, Ekner-Grzyb A (2014) Układ i liczba tarczek zanozdrzowych, jako cecha taksonomiczna jaszczurki zwinki i jaszczurki żyworodnej. *Chrońmy Przyrodę Ojczyzn*, 70:83-87. (MNiSW: 3)
5. **Dudek K**, Ekner-Grzyb A (2014) Field observation of two-tailed sand lizard (*Lacerta agilis*) and common lizard (*Zootoca vivipara*). *Slovenia Naturae*, 16:65-66.
6. Ekner-Grzyb A, Sajkowska Z, **Dudek K**, Gawalek M, Skórka P, Tryjanowski P (2013) Locomotor performance of sand lizards (*Lacerta agilis*): effects of predatory pressure and parasite load. *Acta Ethologica*, 16:173-179. (MNiSW: 20)
7. Ekner A, **Dudek K**, Sajkowska Z, Majláthová V, Majláth I, Tryjanowski P (2011) Anaplasmatataceae and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in the sand lizard *Lacerta agilis* and, co-infection of these bacteria in hosted *Ixodes ricinus* ticks. *Parasites & Vectors*, 4:182. (MNiSW: 35)
8. Ekner A, Sajkowska Z, **Dudek K**, Tryjanowski P (2011) Medical cautery units as a permanent and non-invasive method of marking lizards. *Acta Herpetologica*, 6:229-236. (MNiSW: 15)

2. Przeglądowe artykuły naukowe (recenzowane)

1. **Dudek K** (2014) Railroads as anthropogenic dispersal corridors. Possible way of the colonization of Poland by a common wall lizard (*Podarcis muralis*, Lacertidae). *Ecological Questions*, 20:71-73 (MNiSW: 6)
2. **Dudek K** (2014) Impact of biodiversity on tick-borne diseases. *Przegląd Epidemiologiczny*, 68:681-684 (MNiSW: 7)
3. **Dudek K** (2013) Recenzja: Krzysztof Klimaszewski, Płazy i gady, MULTICO Oficyna Wydawnicza, Warszawa 2013, ss. 144, ISBN 978-83-7073-992-8. *Kosmos*, 62:615. (MNiSW: 4)

SPECYFIKA TĘTNICZEGO UNACZYNIENIA GŁOWY NIEPARZYSTOKOPYTNYCH (*PERISSODACTYLA*) I PORÓWNANIE ZE WZORCEM TYCH TĘTNIC U INNYCH TAKSONÓW SSAKÓW

Karolina Kowalczyk, III rok

Opiekun pracy: dr hab. Hieronim Frąckowiak, prof. nadzw.
Zakład Anatomii Zwierząt Instytutu Zoologii

Krótkie wprowadzenie

Znajomość unaczynienia organizmu dostarcza wielu informacji nie tylko dla celów badawczych i dydaktycznych, ale również o charakterze ogólnobiologicznym. Niektóre cechy układu naczyniowego zwierząt znajdują zastosowanie w taksonomii (Shoshani i McKenna 1998) i odgrywają istotną rolę w dyskusjach nad klasyfikacją i filogenezą poszczególnych gatunków zarówno współczesnych jak i wymarłych (Rougier i in. 1992). Naczynia krwionośne głowy były także przedmiotem badań fizjologów, którzy zajmowali się wyjaśnieniem mechanizmów niektórych procesów związanych z przepływem lub regulacją ciśnienia krwi w ośrodkowym układzie nerwowym lub termoregulacją mózgowia (Lluch i in. 1985). Wiedza na temat unaczynienia pomaga także w realizacji celów klinicznych i in. potrzeb praktyki weterynaryjnej. Ponadto deficyt informacji z zakresu unaczynienia głowy u poszczególnych gatunków zwierząt z rzędu nieparzystokopytnych oraz parzystokopytnych, skłonił do podjęcia badań tego obszaru naczyniowego.

Hipoteza badawcza

Tętnica twarzowa i tętnica poprzeczna twarzy będą miały podobną budowę i przebieg u gatunków bliskich filogenetycznie.

Cel pracy

Celem badań będzie porównanie i opis przebiegu, połączeń i odgałęzień tętnicy twarzowej i tętnicy poprzecznej twarzy u wybranych gatunków z rodzin *Equidae*, *Tapiridae* i *Rhinocerotidae*, należących do rzędu nieparzystokopytnych (*Perissodactyla*), a następnie porównanie ze wzorcem tych tętnic u wybranych gatunków z rzędu parzystokopytnych (*Artiodactyla*), należących do rodzin *Suidae*, *Tayassuidae* i *Hippopotamidae* oraz rzędem *Hyracoidae*.

Materiał i metody

Materiał badawczy stanowią częściowo preparaty zgromadzone w kolekcji Zakładu Anatomii Zwierząt oraz preparaty sporządzane na bieżąco z materiału zwierzęcego, pozyskanego z krajowych ogrodów zoologicznych, ubojni i stadnin koni. Preparaty wykonywane są metodą iniekcji tętnic roztworem barwionego tworzywa sztucznego (superchlorok winyli) lub syntetycznym lateksem, które wprowadza się do tętnic szyjnych wspólnych. Następnie, po utwardzeniu, preparaty poddawane są maceracji w wyniku, której uzyskuje się odlewy tętnic na rusztowaniu kostnym głowy, a w przypadku preparatów lateksowych, po utrwaleniu ich w formalinie, przystępuje się do manualnej preparacji tętnic.

Wstępne wyniki

U analizowanych gatunków z rzędu nieparzystokopytnych tętnica twarzowa odchodziła od pnia językowo- twarzowego u rodziny *Equidae* lub bezpośrednio od tętnicy szyjnej zewnętrznej u rodzin *Tapiridae* i *Rhinocerotidae*. Natomiast tętnica poprzeczna twarzy u wszystkich badanych zwierząt z tego rzędu odchodziła od tętnicy skroniowej powierzchownej: wraz z tętnicą uszną donosową i oddawała gałąź stawową skroniowo-żuchwową u rodziny *Equidae* lub wraz z tętnicą uszną donosową i o oddawała gałęzie

do mięśnia żwacza u rodziny *Tapiridae* albo wraz z tętnicą uszną donosową i tętnicą potyliczną i oddawała gałęzie do mięśnia żwacza u rodziny *Rhinocerotidae*.

Przewód doktorski: nieotwarty

Spis publikacji:

Oryginalne prace twórcze:

- Kiełtyka-Kurc A., Frąckowiak H., Nabzdyk M., **Kowalczyk K.**, Zdun M., Tołkacz M. (2014): The arteries on the base of the brain in the camelids (*Camelidae*). Italian Journal of Zoology, 81: 215 -220. MNiSW: **20pkt.**
- **Karolina Kowalczyk**, Hieronim Frąckowiak, Marcin Komosa, Agata Kiełtyka- Kurc, Anna Charuta (2014): Interrelations between heart mass, carcass mass and age in male European roe deer (*Capreolus capreolus*), Nauka Przyroda Technologie, t.8, z.3, #36. MNiSW: **6pkt**
- Frąckowiak H., Zdun M., **Kowalczyk K.**, Komosa M., Kiełtyka-Kurc A. (2014): Comparison of cerebral base arteries in antelopes of *Tragelaphus*, *Taurotragus* and *Boselaphus* genera. Zoomorphology, 133: 351-357. MNiSW: **25pkt.**
- Marcin Komosa, Stanisław Łazowski, Jan Włodarek, **Karolina Kowalczyk**, Anna Charuta, Maciej Zdun (2014): Gross and histological evaluation of early lesions of navicular bone and deep digital flexor tendon in horses, Bull Vet Inst Pulawy, 58: 87-91. MNiSW: **20pkt.**
- Maciej Zdun, Hieronim Frąckowiak, **Karolina Kowalczyk**, Hieronim Maryniak, Agata Kiełtyka-Kurc (2014): Comparative analysis of the course of the facial and transverse facial arteries in selected ruminant species, Annals of Anatomy -Anatomischer Anzeiger, 196: 129-134. MNiSW: **30pkt.**
- Maciej Zdun, Hieronim Frąckowiak, Agata Kiełtyka-Kurc, **Karolina Kowalczyk**, Maria Nabzdyk, Anita Timm (2013): The Arteries of Brain Base in Species of Bovini Tribe, The Anatomical Record, 296: 1677-1682. MNiSW: **25pkt.**

Artykuły:

- Hieronim Frąckowiak, **Karolina Kowalczyk** (2014): Jaki- bydło na Dachy Świata, Bydło, ogólnopolskie czasopismo specjalistyczne dla hodowców bydła, producentów mleka i wołowiny, nr 5.
- Hieronim Frąckowiak, **Karolina Kowalczyk** (2013): XIV Krajowa Wystawa Koników Polskich TARPANIADA 2013, Przegląd hodowlany, nr 6. **4pkt.**

Doniesienia konferencyjne:

- Hieronim Frąckowiak, Maciej Zdun, Dariusz Dębiński, **Karolina Kowalczyk** (2015): „Aparat podzastawkowy lewej części serca wybranych krajowych gatunków *Cervidae*”, XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Anatomicznego, Warszawa.
- Hieronim Frąckowiak, Maciej Zdun, Dariusz Dębiński, **Karolina Kowalczyk**, Hieronim Maryniak (2015): „Porównanie aparatu podzastawkowego serca dzika i świni domowej”, XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Anatomicznego, Warszawa.
- Hieronim Frąckowiak, Katarzyna Szczepańska, Maciej Zdun, **Karolina Kowalczyk**, Dariusz Dębiński (2015): „Aparat podzastawkowy w prawej części serca konia”, XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Anatomicznego, Warszawa.
- Anna Nowicka- Połusznna, Anna Konieczna, **Karolina Bora** (2011): „Wyniki konkursów jeździeckich a czynniki środowiskowe”, LXXVI Zjazd Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego im. Michała Oczapowskiego, Poznań.
- Anna Nowicka- Połusznna, **Karolina Bora** (2011): „Znaczenie koni rasy wielkopolskiej we współczesnej hodowli koni w Polsce”, konferencja naukowa „Konie trakeńskie i wielkopolskie w realiach XXI wieku”, Olsztyn.

- Anna Nowicka- Postulszna, **Karolina Bora**, Katarzyna Balińska (2010): „Wstępna ocena realizacji programu ochrony zasobów genetycznych koni rasy wielkopolskiej”, LXXV Zjazd Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego im. Michała Oczapowskiego, Olsztyn.

**PORÓWNANIE METABOLIZMU, ZDOLNOŚCI SEKRECYJNEJ I WEWNĄTRZKOMÓRKOWYCH
SZLAKÓW TRANSDUKCJI SYGNAŁU ORAZ PARAMETRÓW BIOCHEMICZNYCH I HORMONALNYCH
U SZCZURÓW W ZALEŻNOŚCI OD WIEKU.**

Kinga Gwóźdź, II rok

Opiekun naukowy: Dr hab. Katarzyna Szkudelska, Katedra Fizjologii i Biochemii Zwierząt.

➤ **Wstęp**

➤ W procesie starzenia tkanki tłuszczowej dochodzi do wielu zmian, które mogą skutkować obniżeniem wrażliwości na działanie agonistów głównych procesów zachodzących w tej tkance. Zmiany te mogą zachodzić na poziomie receptora jak i wewnątrz komórki. Zaburzenia procesów transdukcji sygnału skutkują pogorszeniem aktywacji kaskady szeregu kinaz mających znamienne znaczenie w metabolizmie komórek. Co w konsekwencji może prowadzić do wielu zaburzeń i obniżenia podstawowej przemiany materii dla danej tkanki.

➤ **Hipotezy badawcze:**

➤ H1: Wraz z wiekiem zachodzą zmiany w szlaku insuliny prowadzące do pogorszenia sygnalizacji między ważnymi enzymami wewnątrzkomórkowymi.

➤ H2: Zmiany zależne od wieku dotyczą parametrów biochemicznych i hormonalnych.

➤ **Zadania badawcze:**

➤ 2013/2014 Cel pracy: Porównanie procesu lipolizy, lipogenezy, utleniania i transportu glukozy do adipocytów, parametrów biochemicznych i metabolicznych u szczurów w zależności od wieku.

➤ 2014/2015 Cel pracy: Badanie szlaku insuliny, wydzielania adipokin, parametrów biochemicznych i hormonalnych związanych z metabolizmem u szczurów młodych i starych.

➤ **Materiał i metody:**

➤ Materiał do badań stanowiły samce szczura szczepu Wistar o masie <200g (około 8 tyg.) >400g (ok. 18 tyg.). Podczas dekapitacji pobrano tkankę tłuszczową z okolic najądrzy oraz krew na surowicę do dalszych analiz. Metody: Izolacja komórek metodą Rodbell'a z modyfikacjami (Rodbell 1964). Kolorymetryczne oznaczanie glicerolu (Foster and Dunn 1973). Oznaczanie parametrów biochemicznych (AspAT, AlAT) i hormonalnych w surowicy krwi oraz medium inkubacyjnym (hormony tarczycy, adipokiny: leptyna, adiponektyna) z użyciem kitów RIA, EIA, ELISA. Ponadto przeprowadzono doświadczenia *in vitro* na adipocytach izolowanych od szczurów młodych i starych. Zbadano szlak insuliny w kontekście jej antylipolitycznego wpływu na lipolizę stymulowaną adrenaliną w obecności wybranych inhibitorów tego szlaku; inhibitora kinazy PI3K- wortmaniny, oraz inhibitora kinazy zależnej od

fosfatydyloinozytolu- PDK-1- GSK 2334470, a także przeprowadzono szereg inkubacji adipocytów w układach z potencjalnymi agonistami uczestniczącymi w procesie sekrecji adipokin: glukozy, alaniny, leucyny, pirogronianu i analogu adenozyiny (N6-fenylizopropyladenozyny). Komórki stymulowano insuliną oraz kwasem nikotynowym.

➤ **Wyniki i Wnioski**

- Wyniki wskazują, że aktywność ważnych kinaz uczestniczących w insulinozależnym szlaku transdukcji sygnału może zmieniać się z wiekiem, przy czym większe znaczenie w regulacji antylipolitycznej zaobserwowano na poziomie kinazy PDK-1. Ponadto wraz z wiekiem dochodzi do zmian parametrów biochemicznych i hormonalnych istotnych dla utrzymania homeostazy organizmu.

➤ **Podziękowania:**

- Grant nr 507.558.27 realizowanego w ramach dotacji celowej na zadania służące rozwojowi młodych naukowców

- **Przewód doktorski:** nie otwarty

- **Stan zaawansowania:** 35%

➤

➤ **Spis publikacji/ doniesienia konferencyjne:**

➤

- Kinga Gwóźdź, Paweł Maćkowiak, Agnieszka Stefańska, Katarzyna Szkudelska, Tomasz Szkudelski, Joanna Ferber. *Age-dependent changes in thyroid hormones concentration and thyroid hormones status during feeding high-protein and high-fat diet*. Międzynarodowa Konferencja Młodych Naukowców Student's Science Conference Wrocław University of Technology, Boguszów-Gorce 18-21.09.2014, ISSN 1732-0240, s.27.

- Kinga Gwóźdź. *Biologiczne aspekty starzenia organizmu*. Dzień Doktoranta 2014, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu 29-30.09.2014.

- Kinga Gwóźdź, Agnieszka Stefańska, Łukasz Szczeszek, Tomasz Szkudelski, Katarzyna Szkudelski, Leszek Nogowski. *The age-dependent changes in metabolic activity of rat adipocytes*. 21 European Congress on Obesity, Sofia, Bulgaria, 28-31.05.2014. *Obes Facts* 2014;7(suppl 1):49-50 (DOI:10.1159/000363668). **IF=1,583, MNiSW- 20 pkt.**

➤

- Kinga Gwóźdź, Agnieszka Stefańska. *Porównanie metabolicznej aktywności adipocytów in vitro i szczurów młodych i starych*. ``Wpływ młodych naukowców na osiągnięcia polskiej nauki`. Creativetime. Gdańsk, 26-27.04.2014, Gdańsk. ISBN 978-83-63058-39-5. Wyróżnienie podczas prezentacji posteru oraz wyróżnienie za czynny udział w konferencji.

➤

ROLA MODYFIKACJI HISTONÓW W EPIGENETYCZNEJ REGULACJI EKSPRESJI GENÓW WPŁYWAJĄCYCH NA ODKŁADANIE TKANKI TŁUSZCZOWEJ ŚWINI DOMOWEJ

Dariusz Mróz, rok I

Opiekun: dr hab. Izabela Szczerba, Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt

Wprowadzenie

Poznanie molekularnych mechanizmów odpowiadających za odkładanie tkanki tłuszczowej jest intensywnie rozwijanym wątkiem badawczym, zarówno w naukach zootechnicznych jak i medycznych. W przypadku świni wiadomo, że jakość mięsa i efektywność tuczu jest związana z zawartością tkanki tłuszczowej. Gatunek ten traktowany jest również jako modelowy dla otyłości człowieka. Otluszczenie traktowane jest jako cecha o złożonym uwarunkowaniu, na która wpływ mają zarówno czynniki genetyczne jak i środowiskowe oraz interakcje między nimi. Dotychczas skupiano się na podłożu genetycznym (mutacjach i polimorfizmach) cech otluszczenia, co zaowocowało identyfikacją szeregu genów kandydujących. Najnowsze badania wskazują jednak, że w procesie odkładania tkanki tłuszczowej istotny udział mają także mechanizmy epigenetyczne. Poza podstawowym mechanizmem jakim jest metylacja DNA, również modyfikacje histonów odgrywają istotną rolę w tym typie regulacji. Proces ten polega na potranslacyjnym przyłączeniu określonych grup chemicznych do histonów, co skutkuje aktywacją lub wyciszeniem procesu transkrypcji. Do tej pory zagadnienie to nie było badane w odniesieniu do procesu powstawania komórek tłuszczowych świni domowej.

Cel pracy

Celem badań jest poznanie roli wybranych modyfikacji histonów na ekspresję genów kluczowych dla procesu adipogenezy świni domowej.

Cele szczegółowe:

- optymalizacja izolacji i hodowli mezenchymalnych komórek macierzystych świni oraz charakterystyka tych komórek
- opracowanie systemu różnicowania mezenchymalnych komórek macierzystych świni w komórki tłuszczowe oraz charakterystyka uzyskanych komórek
- ocena wpływu modyfikacji histonów na ekspresję genów w trakcie adipogenezy za pomocą techniki immunoprecypitacji chromatyny (ChIP)

Hipoteza badawcza

Istnienie specyficznego wzoru modyfikacji histonów genów kluczowych dla adipogenezy, który podlega zmianom w czasie procesu różnicowania i wpływa na regulację transkrypcji.

Istnienie różnic międzyrasowych we wzorze modyfikacji histonów genów wpływających na odkładanie tkanki tłuszczowej u świni.

Przewód doktorski: *nieotwarty*

Spis publikacji:

Badura-Stronka M., **Mróz D.**, Beighton P., Łukawiecki S., Wicher K., Latos-Bieleńska A., Kozłowski K., (2015) Novel mutation in the BMPR1B gene (R486L) in a polish family and further delineation of the phenotypic features of BMPR1B-Related brachydactyly., Birth Defects Res A Clin Mol Teratol. 2015 Mar 16. doi: 10.1002/bdra.23354. [Epub ahead of print] (IF=2,221;MNIŚW=25)

Publikacje popularno-naukowe

Szczerbal I., **Mróz D.**, Świtoński M., (2014), Jak polimorfizmy DNA w sekwencjach intronowych wpływają na fenotyp?, Przegląd Hodowlany, 5/2014: 8-10. (MNIŚW=4)

EFEKTY WDROŻENIA APARATURY WŁASNEGO POMYSŁU DO LAPAROSKOPOWEJ REPOZYCJI LEWOSTRONNEGO PRZEMIESZCZENIA TRAWIEŃCA U BYDŁA.

Michał Gnus I rok SD

Opiekun naukowy: Prof. dr hab. Kornel Ratajczak, Instytut Weterynarii

Krótkie wprowadzenie:

Tematyka prowadzonych przeze mnie badań dotyczy laparoskopowej repozycji lewostronnego przemieszczenia trawieńca u bydła. System chowu bydła mlecznego w krajach wysokorozwiniętych a koncentrujący się wokół chowu wielkostadnego predysponuje do coraz częstszego diagnozowania tego schorzenia. Obecnie w praktyce weterynaryjnej stosuje się metody zachowawcze (lonżowanie krów, przetaczanie, sondowanie) oraz chirurgiczne: przezskórną, otwartą oraz przy użyciu laparoskopu, która jest połączeniem obu wcześniejszych.

Hipoteza badawcza:

Opiera się na opracowaniu techniki medycznej minimalizującej niebezpieczeństwa urazu jatrogennego podczas laparotomii małoinwazyjnej. Propozycja nowego protokołu postępowania operacyjnego skróci czas zabiegu i jego traumatogenność. Opracowanie protokołu postępowania i odpowiedniego instrumentarium udoskonali metodę repozycji przemieszczonego trawieńca. Innowacyjne rozwiązanie narzędzi operacyjnych (zgiębnika), zostały przedstawione Rzecznikowi Patentowemu w celu ich ochrony patentem. Zakłada się, że proponowany sprzęt umożliwi bezpieczne wykonanie zabiegu poprzez ochronę narządów wewnętrznych przed urazem. Opracowany nowy zestaw laparoskopowy i sposób jego wykorzystania będzie przedmiotem popularyzacji zmodyfikowanej techniki terapeutycznej, skracającej czas rekonwalescencji krów z lewostronnym przemieszczeniem trawieńca.

Cel badań:

Celem planowanych badań jest porównanie sprawności terapeutycznej dotychczas stosowanych metod repozycji lewostronnie przemieszczonego trawieńca u bydła mlecznego z wynikami leczenia tej choroby, z użyciem sprzętu zastrzeżonego patentem własnego autorstwa. Jednocześnie ocenie klinicznej i laboratoryjnej poddana zostanie całość protokołu postępowania leczniczego. Kryteriami oceniającymi będą rezultaty i związek między nimi takich zmiennych jak: rasa, warunki zootechniczne w oborze, zachorowalność w poszczególnych grupach produkcyjnych i wiekowych, czas powrotu do pełnej wydajności mlecznej, powikłania śród- i pooperacyjne oraz badania laboratoryjne (morfologia, białko całkowite, białko CRP).

Przewód doktorski: nie otwarty

ZMIANY ZANIECZYSZCZENIA MIKROBIOLOGICZNEGO W ŚLUZIE HIGIENICZNEJ W UBOJNIACH PRODUKUJĄCYCH MIĘSO BIAŁE I CZERWONE W KOLEJNYCH DNIACH CYKLU PRODUKCYJNEGO.

Michał Majewski, I rok SD

Opiekun pracy: prof. dr hab. Jędrzej M. Jaśkowski, Instytut Weterynarii

dr hab. Marek Steigert

Wprowadzenie:

Przed rozpoczęciem pracy w każdej rzeźni przeprowadza się proces mycia i dezynfekcji całego zakładu. Jego skuteczność zależy od liczby i kwalifikacji pracowników, metody, środków dezynfekcyjnych jakie zostały użyte oraz czasu trwania poszczególnych czynności. Większość dużych zakładów pracuje w systemie pięciodniowym, tzn. od poniedziałku do piątku, dlatego pracownicy odpowiadający za stan higieniczny ubojni mają wystarczająco dużo czasu żeby przeprowadzić dokładne mycie i dezynfekcję przed rozpoczęciem kolejnego systemu (cyklu) pracy. W kolejnych dniach tygodnia czas ten się może być krótszy, co może się odbijać na dokładności, a co za tym idzie - skuteczności mycia i dezynfekcji.

Śluza higieniczna jest w ubojni miejscem szczególnie ważnym, a nieprawidłowo przeprowadzone procesy mycia i dezynfekcji tego obszaru mogą powodować wzrost zanieczyszczenia mikrobiologicznego, nie tylko pracowników, ale także produktów. W literaturze fachowej nie było do tej pory porównania skuteczności mycia i dezynfekcji oraz porównania jakościowego i ilościowego zanieczyszczenia mikrobiologicznego śluz higienicznych w zakładach produkujących mięso białe i czerwone. Porównanie to ma wykazać popełniane błędy oraz wskazać rozwiązania pomagające zminimalizować poziom drobnoustrojów w śluzie.

Hipoteza badawcza:

Zakłada się, że dochodzi do zmiany zanieczyszczenia mikrobiologicznego w śluzie higienicznej w ubojniach produkujących mięso białe i czerwone w kolejnych dniach tygodnia.

Cel badań:

Celem badań jest wyznaczenie krytycznych punktów, mających wpływ na skuteczność mycia i dezynfekcji śluz higienicznej, oraz wprowadzenie procedur i metod minimalizujących poziom zanieczyszczenia. Ma to pośrednio poprawić jakość produktów wytwarzanych w zakładach mięsnych.

Ocena w jakim stopniu długotrwałe (20-30lat) stosowanie środków chemicznych do mycia i dezynfekcji wpływa na genotypy bakterii.

Przewód doktorski: nieotwarty

Spis publikacji: -----

UŻYTKOWANIE UPRAW MISKANTU *MISCANTHUS X GIGANTEUS* PRZEZ PTAKI KRAJOBRAZU ROLNICZEGO

Jan Kaczmarek, I rok

Opiekun pracy: dr hab. inż. Tadeusz Mizera, Zakład Zoologii

1. Krótkie wprowadzenie.

Niektóre relatywnie nowe rodzaje upraw wykorzystywanych do produkcji biomasy na cele energetyczne mogą mieć neutralny lub nawet pozytywny wpływ na populacje ptaków krajobrazu rolniczego. Do tej grupy potencjalnie zaliczają się uprawy miskantu *Miscanthus x giganteus*. Wszystkie dotychczasowe prace dotyczące awifauny pól miskantu oraz ich relatywnej wartości dla ptaków były przeprowadzane w Europie Zachodniej, tj. w Wielkiej Brytanii. Zagęszczenia ptaków w uprawach miskantu są wyższe niż w tradycyjnych intensywnych uprawach, takich jak pszenica ozima. Zarazem w uprawach miskantu generaliści i ptak leśne współwystępują ze specjalistami krajobrazu rolniczego. Część zmniejszających swoją liczebność ptaków krajobrazu rolniczego może czerpać korzyści z ekspansji tej nowej uprawy, natomiast niektóre gatunki mogą być przez to wykluczane z przyszlých, zdominowanych przez rośliny energetyczne krajobrazów.

2. Cel pracy

Celem pracy jest zbadanie składu gatunkowego i wybiórczości siedliskowej ptaków w krajobrazie rolniczym ze znacznym udziałem upraw miskantu. Umożliwi to weryfikację potencjalnych kosztów i korzyści zwiększającego się arealu upraw tej uprawy w Polsce z punktu widzenia ochrony ptaków krajobrazu rolniczego.

3. Hipoteza badawcza

- Skład gatunkowy ptaków krajobrazu rolniczego w uprawach miskantu w Polsce jest różny od składu gatunkowego ptaków korzystających z tej uprawy w Europie Zachodniej
- Wprowadzanie nowych upraw nie wywiera znacznego wpływu na społeczność ptaków krajobrazu rolniczego przy zachowaniu nienaruszonych struktur marginalnych w krajobrazie (zakrzewienia, nieużytki, pobocza dróg)

4. Przewód doktorski: *nie wszczęty*

Spis publikacji:

Kaczmarek J. M., Kaczmarowski M., Pędziwiatr K. 2014. Changes in the batrachofauna in the city of Poznań over 20 years. P. Indykiewicz, J. Böchner [red.]. *Animal, Man and the City – interactions and relationships*. ArtStudio, Bydgoszcz: 27-38. ISBN 978-83-936060-5-4. Punktów MNiSW: 5

Kaczmarek J. M., Kaczmarowski M., Pędziwiatr K., Konieczna P. 2014. Podsumowanie projektu „Atlas płazów Poznania”. *Przegląd Przyrodniczy XXV* (2), str. 117-123, ISSN 1230-509X. Punktów MNiSW: 2

Kaczmarek J. M., Kaczmarski M., Pędziwiatr K. Atlas of amphibian distribution in Poznan - a tool for effective conservation. Materiały z II Konferencji BioGIS, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza. [przyjęte do druku]. Punktów MNiSW: 5

Kaczmarski M., Kaczmarek J. M., Kolenda K., Kubicka A. 2014. Zastosowanie rejestratorów wilgotności i temperatury w badaniach herpetologicznych. Borczyk B. [red.], Studenckie Prace Herpetologiczne t. I, str. 17-24. ISBN: 978-83-939167-0-2 Punktów MNiSW: 4

Kaczmarski M., Kaczmarek J. M. 2013. Mortality of the Smooth Newt (*Lissotriton vulgaris*) during spring migration on the protected area 'Traszki Ratajskie' in the city of Poznan, Poland. The Functioning and Protection of Water Ecosystems. Threats, protection and management of water resources, p. 153 –159. ISBN: 8362298375. Punktów MNiSW: 5

Prace popularnonaukowe:

Kaczmarek J. M., Tryjanowski P. 2014. Uprawy roślin energetycznych i ich wpływ na populacje ptaków. Czysta energia 10: 30-31. ISSN 1643-126X

Kaczmarski M., Kaczmarek J. M. 2014. Six years of active conservation of amphibians in the city of Poznań, Poland. FrogLog 109: 17-18. ISSN: 1026-0269, eISSN:1817-3934

ZWIĄZEK WYBRANYCH POLIMORFIZMÓW GENÓW KODUJĄCYCH BIAŁKA SERWATKOWE MLEKA KLACZY (*LALBA*, *LGB1*, *LGB2*) Z POZIOMEM ICH EKSPRESJI.

Łukasz Wodas, I rok

Opiekun: prof. dr hab. Dorota Cieślak, Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt.

Wstęp:

W ostatnich latach można zauważyć znaczący wzrost zainteresowania mlekiem klaczy jako produktem spożywczym, zwłaszcza w kontekście wykorzystywania go w diecie dzieci wykazujących alergię na mleko krowie. Mimo, iż zainteresowanie mlekiem klaczy stale wzrasta, dostępna literatura koncentruje się wyłącznie na składzie mleka klaczy i jego podobieństwie do mleka kobiecego. Do dnia dzisiejszego nie przedstawiono doniesień naukowych dotyczących podłoża genetycznego zmienności cech składu mleka klaczy. Badania prowadzone na innych gatunkach zwierząt gospodarskich wykazują na istnienie związku polimorfizmów genów i białek mleka (w tym β -laktoglobuliny i α -laktoalbuminy) z różnymi cechami jego składu oraz z potencjałem alergennym. Ponadto, wykazano wpływ niektórych polimorfizmów na poziom ekspresji genów w gruczole mlekowym. Wydaje się, że wykrycie istotnych statystycznie zależności polimorfizm \rightarrow poziom ekspresji genu \rightarrow skład mleka może w przyszłości zaowocować wykorzystaniem niektórych polimorfizmów jako markery genetyczne w selekcji zwierząt, w kierunku otrzymania surowca o jak najbardziej korzystnym składzie chemicznym (przede wszystkim w kontekście możliwego wykorzystania mleka klaczy jako preparatu mleko zastępczego dla noworodków).

Hipoteza badawcza:

- Polimorfizmy genów kodujących białka mleka klaczy (*LALBA*, *LGB1*, *LGB2*) mają związek z poziomem ich ekspresji.

Cel badań:

- Analiza molekularna genów kodujących białka serwatki mleka klaczy (*LALBA*, *LGB1* i *LGB2*) konia domowego.
- Poszukiwanie polimorfizmów w częściach kodujących i regulatorowych.
- Analiza względnego poziomu transkryptów genów w komórkach somatycznych mleka klaczy.
- Ocena potencjalnego związku polimorfizmów z poziomem ekspresji genów.

Przewód doktorski: nie otwarty

Publikacje:

Prace naukowe:

- J. Cieślak, P. Pawlak, **Ł. Wodas**, A. Borowska, A. Stachowiak, K. Puppel, B. Kuczyńska, M. Luczak, Ł. Marczak, M. Mackowski, Novel variants of the equine alpha-s2 casein (CSN1S2) are not an effect of alternative splicing, but 1.3kb in-frame deletion spanning two coding exons, Submitted to the Journal of Dairy Science (12.05.2015) IF 3,080 MNiSW 45 pkt.)

Prace popularno-naukowe:

- Cieślak J., **Wodas Ł.**, Maćkowski M , (2015), Miostatyna - czyli kto szybciej. O możliwościach przewidywania predyspozycji sportowych koni pełnej krwi angielskiej na podstawie analiz DNA., *Hodowca i Jeździec*, 1(44): 96-97
- **Wodas Ł.**, Maćkowski M. , (2014), Wpływ mutacji w genie DMRT3 na chody koni., *Przegląd Hodowlany* , 6: 17-18 (MNiSW 4 pkt.)
- Strabel T., **Wodas Ł.** , (2014), Podstawy dziedziczenia umaszczeń występujących u bydła mięsnego., *Bydło Mięsne*, 2/2014: 31-32

Sekwencje nukleotydowe zdeponowane w bazie GenBank:

- Cieslak,J., Mackowski,M., **Wodas,L.** and Stachowiak,A. Equus caballus alphaS2-casein (CSN1S2) mRNA, CSN1S2-A allele, complete cds., KP658381
- Cieslak,J., Mackowski,M., **Wodas,L.** and Stachowiak,A. Equus caballus alphaS2-casein (CSN1S2) mRNA, CSN1S2-B allele, complete cds., KP658382

ANALIZA PORÓWNAWCZA POZIOMU TRANSKRYPCJI (PCR W CZASIE RZECZYWISTYM) WYBRANYCH GENÓW MIKRORNA U ŚWIŃ ZE ZRÓŻNICOWANĄ PREDYSPOZYCJĄ DO ROZWOJU NOWOTWORU JELITA GRUBEGO.

mgr Anna Perkowska, rok I

Opiekun naukowy: Prof. dr hab. Marek Świtoński, Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt

Wprowadzenie

Choroby nowotworowe występują w każdej populacji i cechują się stosunkowo dużą śmiertelnością. W krajach rozwiniętych choroby nowotworowe stanowią drugą najczęstszą przyczynę zgonu. W Polsce nowotwór jelita grubego jest drugim najczęściej diagnozowanym nowotworem u kobiet oraz trzecim u mężczyzn. Częstość występowania raka jelita grubego rośnie wraz ze wzrostem długości życia, zmianą stylu życia oraz zmianą nawyków żywieniowych. Podatność na zachorowanie na ten typ nowotworu ma również podłoże genetyczne. Identyfikacja genów predysponujących do rozwoju raka jelita grubego pozwoli na wprowadzenie profilaktyki poprzez prowadzenie odpowiedniego stylu życia oraz pozwoli na dostosowanie terapii leczniczej.

U pacjentów z dziedziczną predyspozycją do raka jelita grubego, jak np. osób z rodzinną polipowatością jelita grubego (FAP, Familial Adenomatous Polyposis) dochodzi do rozwoju setek gruczolakowatych polipów w jelicie grubym począwszy od wieku dojrzewania aż do wieku około 20 lat. Przy braku podjęcia leczenia, niemal zawsze dochodzi do rozwoju procesu nowotworowego. Molekularne podstawy powstawania polipów są takie same zarówno u pacjentów z FAP jak i u pacjentów ze spontanicznym nowotworem jelita grubego. Mutacje genu gruczolakowatej polipowatości jelita grubego (*APC*, adenomatous polyposis coli), kodującego białko supresorowe nowotworów, pełnią kluczową rolę w inicjacji tego procesu. Białko APC działa antagonistycznie w szlaku sygnałowym Wnt pośrednio kontrolując transkrypcję genów odpowiedzialnych za proliferację komórkową.

Utworzona w zespole Prof. A. Schnieke (Politechnika Monachijska), na drodze modyfikacji genetycznej, świnia z mutacją w genie *gruczolakowatej polipowatości jelita grubego* (*APC*) – świnia *APC^{1311/wt}* jest odpowiednikiem ludzkiego wariantu *APC^{1309/wt}* odpowiadającego za rozwój ciężkiej postaci zespołu rodzinnej polipowatości jelita grubego (FAP), prowadzącej do dziedzicznej formy raka jelita grubego. Badanie knura-założyciela (*APC^{1311/wt}*) w wieku jednego roku, ujawniło obecność ponad 60 polipów w jelicie grubym i odbytnicy, co bardzo przypominało gruczolakowatość u człowieka. W dysplastycznych gruczolakach stwierdzono akumulację β -kateniny i utratę heterozygotyczności dla genu *APC*. Obecnie analizowane są pokolenia F₁-F₄ w celu monitorowania wzoru i przebiegu tworzenia polipów i rozwoju procesu nowotworowego. W świetle bieżących wyników świnie modelowe z FAP odzwierciedlają rozwój tej choroby u ludzi. Jednakże, zaobserwowano istotne różnice pod względem liczby polipów w dwóch liniach świń *APC^{1311/wt}* (HP – duża liczba polipów i LP – mała liczba polipów), różniących się udziałem dwóch ras tworzących te linie: niemiecki landrace i pietrain. Wiadomo, że tło genetyczne ma wpływ na liczbę polipów u myszy, które są nosicielami mutacji *APC^{Min}*. Pomimo, iż wiadomo, że mutacje w genie *APC* człowieka wykazują różną penetrację, nie znaleziono do tej pory ludzkich odpowiedników tych *loci*.

Hipoteza badawcza

Na zróżnicowaną liczbę polipów w jelicie grubym dwóch linii świń *APC¹³¹¹* wpływają mutacje w regionach regulatorowych i/lub modyfikacje epigenetyczne nieznanymi genów.

Cel badań

Analiza transkryptomu i małych niekodujących cząsteczek RNA u blisko spokrewnionych świń $APC^{I311/wt}$, u których występuje znaczne zróżnicowanie liczby polipów jelita grubego, określanych jako grupy świń o wysokiej (HP) i niskiej polipowatości (LP), a także skonstruowanie i walidacja zestawu genów związanych z rozwojem procesu nowotworowego świni.

Przewód doktorski: nieotwarty.

Projekt badawczy realizowany w ramach grantu NCN-HARMONIA (NCN DEC-2013/10/M/NZ2/00284; Zintegrowana analiza genomiczno-epigenomiczna świni domowej jako modelu dla dziedzicznych nowotworów jelita grubego człowieka).

Spis publikacji

Artykuły popularno-naukowe

- M. Orsztynowicz, M. Hryciuk, **A. Perkowska**, D. Lechniak „Sztuczne unasienianie w hodowli koni. Część 1. Pozyskiwanie i ocean nasienia”, *Konie i rumaki*, 9 (401) wrzesień 2013, INDEKS 326259, ISSN 1231-6865

Streszczenia

- Hryniewicz K., Warzych E., Madeja Z.E., **Perkowska A.**, Lechniak-Cieślak D. (2014), „Wpływ inhibitorów ścieżek różnicowania komórkowego (system 2i) na jakość blastocyst bydła - indeks apoptotyczny i całkowita liczba blastomerów.”, *VII Zjazd Towarzystwa Biologii Rozrodu, Toruń, 11-13 Września 2014.*, Streszczenia: 142

NANOEMULSIFIED AND MICROENCAPSULATED POLYUNSATURATED FATTY ACIDS RICH OILS: EFFECT ON RUMEN BIOHYDROGENATION AND MILK FATTY ACIDS CONTENT IN DAIRY COWS

Mohamed El-Sherbiny, 2nd year AFIDS

Supervisor: Prof. Dr. Małgorzata Szumacher-Strabel,
Department of Animal Nutrition and Feed Management

Introduction

For decades, various feed supplements were introduced to modulate the rumen fatty acid profile and consequently ruminant products. There is considerable interest in the development of nutritional strategies meant to boost the unsaturated fatty acids (UFA) of milk and meat. Unsaturated fatty acids offer potential benefits for human health, these benefits are mainly attributed to conjugated isomers of linoleic acid, to n-3, and to n-6 fatty acids. Increasing the supply of unsaturated fatty acids in the human diet can help to prevent or delay atherosclerosis and related diseases, and coronary heart disease, while helping to avoid inflammatory conditions. Increasing the supply of UFA can also retard the growth of tumor cells (McCorie et al., 2011; Koba and Yanagita, 2013). Some of the most commonly used forms of UFA supplementation are edible oils of either plant or marine origin. Oils showed an ability to modulate the rumen fatty acid profile by affecting the activity of rumen microorganisms, especially the bacterial population (AbuGhazaleh and Ishlak, 2013; Boerman and Lock, 2014). Supplements do have some limits and restrictions in ruminant nutrition due to the possible negative impact on rumen fermentation (Martinez Marin et al., 2013; Ishlak et al., 2014). These limits make it desirable to find other dietary unsaturated fatty acid sources that can affect and modulate the rumen fatty acid profile without negatively affecting the microorganisms or rumen fermentation indicators.

Recently, nanotechnology has found innumerable applications in different lines of work. Delivery of bioactive components using nanoscale technology has been documented in pharmaceuticals as well as the cosmetic and food sciences (Fathi et al., 2012; Ghosh et al., 2013; Zhang et al., 2014). Nanoemulsion is one of the most important nanotechnology applications with a wide usage in several scientific and practical fields. Nanoemulsion is defined as multiphase colloidal dispersions formed by a mixture of one liquid that is dispersed as nanoscale droplets in another immiscible liquid. Physical shear-induced rupturing takes place leading to a droplet's diameter that is less than 100 nm (Mason et al., 2006).

Our study establishes new approaches for modulating the rumen fatty acid profile as a result of the incorporation of an oil-in-water nanoemulsion as a novel dietary component. The effect of incorporating an oil-in-water nanoemulsion into ruminant diets has never been investigated.

Hypothesis

Our research hypothesis establishes new approaches for modulating the rumen biohydrogenation and enhancing the milk fatty acids content as results of incorporation of both nanoemulsified (rumen biohydrogenated form) and microencapsulated oils mix (the rumen bypass form) as novel dietary components.

Aim

The scientific aim of the research project is to modulate the rumen biohydrogenation using novel forms of unsaturated fatty acids sources (oils mix). The first form of addition is the nanoemulsified form, supplemented as the oils in water nanoemulsion (NEs). It is aimed to supply the rumen microflora with sustained doses of long-chain unsaturated fatty acids (LCUFA) sources during the additions. The second form is the microencapsulated form. The microencapsulated oils beads (MEs) are targeted to protect unsaturated fatty acids (UFA) sources from being biohydrogenated by rumen microflora at pH 5.9 – 6.7 until they reach the abomasum at pH 2.5-3.5 and release of the MEs oils contents. That will allow a high proportion of unsaturated fatty acids to be available to the small intestine for absorption and eventually incorporation into milk fat and body tissues.

Materials and Methods

The proposed research methodologies are consisted of the following stages:

a- Preparation of nanoemulsified oil in water (NEs) and microencapsulated beads (MEs) using a mix of soybean oil and fish oil (1:1)

Nanoemulsion (also known as miniemulsions or submicron emulsions) is nanoscale droplets of multiphase colloidal dispersions formed by dispersing of one liquid in another immiscible liquid by physical shear-induced rupturing with a mean droplet size as low as 135 ± 5 nm (Liu et al., 2006; Mason et al., 2006; Kentish et al., 2008). The nanoemulsified oil in water (NEs) is produced according to the method of Kentish et al. (2008) by a 400S Hielscher sonifier of 400 W nominal power and frequency 24 kHz equipped with a 22 mm sonotrode tip using a mixture of oils (soybean oil and fish oil, 1:1) and water, Tween 80 as an emulsifier.

The microencapsulated beads (MEs) are produced using patent of El-Nashar et al. (2012) using Tween 80 as emulsifier and biopolymers such as carrageenan and alginate which are abundant in nature, FDA (United States Food And Drug Administration) approved and were widely used to entrap oils and for immobilization of enzymes (Tanriseven et al., 2001). The soybean oil and fish oil mix (1:1) is used in the concentration 18-20% v/v. The gel formulations will be prepared using 2.5% w/v of both alginate and carrageenan in 50°C deionized water, then mixed using overhead mechanical stirrer until complete dispersion. After steering with the emulsifier and oils the prepared gels is directly dropped in a hardening solution of 2.5% w/v calcium chloride. Fatty acids contents analysis of basic materials: crude oils, nanoemulsified oil in water and microencapsulated beads represent the main target of our research with special focus on the omega-3, omega-6 and conjugated isomers of linoleic acid.

b- In vitro experiments to study the effects of nanoemulsified oils mix on fatty acid content in the rumen fluid after fermentation in RUSITEC system

The experiments was performed using a continuous culture system Rusitec (Rumen Simulation Technique; Czerkawski and Breckenridge, 1977), consisted of four air-tight vessels 1 L letters Immersed in a water bath maintained at 39 °C. Rations used in the experiments was the same as the one used in the second stage of the research carried out on the rumen cannulated cows; their number was converted to a dry matter and tailored to the capacity of the fermentor. Each vessel was filled with 900 ml of strained rumen fluid, 100 ml of artificial saliva, one nylon bag (100 µm pore size) (Carro et al., 1995) containing 11 g DM of digesta solids and another containing the experimental diet (10.9 g DM/bag). Artificial saliva was created by dissolving 9.80 g Na_2HCO_3 and 4.68 g Na_2HPO_4 /L of double distilled water ddH_2O . To this, 10 ml/L of salt mix was added, which contained 47 g NaCl, 57 g KCl, 5.40 g CaCl_2 and 12.80 g MgCl_2 dissolved in a 1 L of ddH_2O . The incubation vessel was then sealed and saturated with N_2 to obtain anaerobic conditions. Bags were moved up and down by the motor-driven arms continuously. Artificial saliva was continuously infused using a peristaltic pump adjusted to attain a liquid dilution rate of 0.035/h (500 ml of saliva/d).

Displaced effluent and fermentation gases were collected in an effluent vessel and gas collection bag respectively. To stop fermentation in the effluent vessels, 10 ml of 6N HCl was added to each. After 24 h of incubation, each vessel was opened and bags with rumen digesta solids were removed, squeezed and washed with artificial saliva. The new bag, containing the experimental diet, was inserted into the incubation vessels. On subsequent days, the bag which had been incubated for 48 h was withdrawn and replaced with a new one in a similar way. This system introduces high advantages concerning the rumen fermentation simulation and microorganisms' cultivation due to its 8 fermenters with a capacity of 1 liter each. One of the main advantages of RUSITEC system, comparing to other in vitro rumen simulation techniques, is the incubation time of the medium that lasts at least 10 days.

c- In vivo procedure using rumen cannulated Polish Holstein dairy cows

This experiment is conducted mainly to investigate the NEs effects on the rumen biohydrogenation and the MEs efficacy of protection, additionally the complementary effect of both NEs and MEs on n6/n3 ratio and conjugated isomers of linoleic acid, as well as measuring fatty acids content in samples collected from milk. Four ruminally cannulated lactating Polish Holstein-Friesian dairy cows (2 x 2 Latin square designs) will be housed in a tie-stall barn at individual farm in Szemborowo and will have an average age of 3 years and an average body weight of 600 kg throughout the trial. The diet

was balanced and formulated according to INRA standards [IZ-INRA 1993]. The experimental groups will be as follow: A- Control diet using TMR; B- Control diet + (NEs + MEs). The NEs microencapsulated beads mix will be defined based on the most effective results of RUSITEC experiments. Cows will be milked at 05.00 h and 15.00 h, TMR will be supplied ad libitum. Animals will be also given free access to fresh water (mixed with the nanoemulsified oil in water estimated according to Cardot et al., 2008; FWI equation). Each experimental trial will last 26 days, with 21 days of initial period and 5 days of experimental one. Within the last 5 days, the dry matter intake (DMI) and milk yield will be recorded daily. The rumen digesta will be obtained every day during the experimental period before morning feeding and 3 h and 6 h after morning feeding. Moreover, blood samples will be collected after 6 h of the morning feeding.

Preliminary results

We recently realized an initial in vitro study on the effect of nanoemulsified oils mix on the rumen basic parameters and fatty acids content; this study was carried out using short term batch culture system for 24 h in order to obtain some preliminary indications about the validity of our hypothesis. The study was consisted of nine treatments (3 types of additions at 3 levels). Three different levels of soybean oil and fish oil 1:1 mix were used (3%, 5% and 7% on dry matter basis). The levels of supplementation were calculated based on the dry matter (the total mixed ration). The three levels of nanoemulsion were calculated (equal to the levels used in the raw oils supplementations) based on the amount of crude oils used in the nanoemulsion preparation using a Hielscher UP50H ultrasonic processor (about 15% of oils mix). Concerning the other three levels of Tween 80 (which works as an emulsifier in the nanoemulsion preparations), they were also calculated based on the amount of Tween 80 in the nanoemulsion preparations (same levels of nanoemulsified oils addition but without using the oils in the nanoemulsion preparation).

The results obtained from this experiment showed that nanoemulsified oils mix in the three tested levels tended to significantly decrease the saturated fatty acids (SFA) compared to the same levels of crude oils supplementation. One of the most obvious positive results is the significant increase in omega 3 and omega 6 fatty acid contents compared with the same level of crude oils supplementations and also with the control group. Total monounsaturated fatty acids (MUFA), total polyunsaturated fatty acids (PUFA) and total unsaturated fatty acids (UFA) contents increased significantly as well by using nanoemulsion technology compared to other oils treatments and control. The obtained results confirmed the validity of our assumptions. The preliminary study mostly showed the effectiveness of nanoemulsion technology in modulation of the rumen fatty acid content. The full results of the preliminary study will be published soon.

Acknowledgements (no grant, name of the sponsor, foundations etc)

This study was funded by the Poznan University of Life Sciences grants for young researchers (nr. 501.533.13).

Doctoral studies: not opened

Publications:

a- Szumacher-Strabel M., **El-Sherbiny M.**, Cieslak A., Szczechowiak J., Winiarska H (2015). Bioactive Lipid Components from Ruminants Milk and Meat: The New Face of Human Health. In: Biotechnology of Bioactive Compounds: Sources and Applications, ed. by Gupta V. K., Tuohy M. G., O'Donovan A. and Lohani M., Wiley-Blackwell, UK , Chapter 25, pp. 599-630.

b- Cieslak A., Stanisz M., Wójtowski J., Pers-Kamczyc E., Szczechowiak J., **El-Sherbiny M.** and Szumacher-Strabel M. (2013). Camelina sativa affects the fatty acid contents in M. longissimus

muscle of lambs. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 115(11):1258-1265; IF year 2012 = 2.266; 5 year IF = 2.314.

c- Abd El-Gawad A.M., Abo El-Nor S.A.H., **El-Sherbiny M.A.**, El-Shewy A.A. and Abdel Gawad M.H. (2010). Effect of Feeding Different Oil Sources on Conjugated Linoleic Acid Content in Egyptian Buffalo Milk. *Egyptian J. Nutrition and Feeds* 13 (3): 507-517.

d- **El-Sherbiny M.**, Cieślak A., Szczechowiak J., Kowalczyk D., Szumacher-Strabel M. (2015). Nanoemulsified oils did modulate rumen polyunsaturated fatty acids in RUSITEC system. XLIV Sesja Naukowa Sekcji Żywienia Zwierząt KNZ PAN, Warszawa 16-17 June, (Poster).

e- **El-Sherbiny M.**, Szczechowiak J., Kowalczyk D., Cieślak A., Tuzińska M., Zbonik P., Szumacher-Strabel M. (2014). Effect of supplemented lingonberry tannin with or without mixed oils on the in vitro rumen parameters. XI Conference of Young Researchers “Physiology and Biochemistry in Animal Nutrition, Siedlce – Serpelice, 1-3 June (Oral Presentation).

f- Szczechowiak J., **El-Sherbiny M.**, Kowalczyk D., Szumacher-Strabel M., Zbonik P., Tuzińska M., Cieślak A. (2014). Saponaria Officinalis Supplementation Affects both Rumen and Milk Parameters in Polish Dairy Cows. XI Conference of Young Researchers “Physiology and Biochemistry in Animal Nutrition, Siedlce – Serpelice, 1-3 June.

g- **El-Sherbiny M.**, Cieślak A., Szczechowiak J., Szumacher-Strabel M. (2013). BioFlo® - system wykorzystywany w analizie wtórnych metabolitów roślinnych w warunkach in vitro: możliwości i korzyści. III Krajowa Konferencja “Naturalne substancje roślinne – aspekty strukturalne i aplikacyjne”, Puławy (Poster).

h- Abd El-Gawad A.M., Ali R.A., Allam S.M., Abo El-Nor S.A.H., Khattab M.S.A. and **El Sherbiny M.A.** (2011). Effect of Olive Oil, Sunflower Oil and Monensin on Production of Vaccenic Acid in Continuous Culture Fermenters. 9th Euro Fed Lipid Congress, Rotterdam, the Netherlands (Poster).

PROFIL KWASÓW TŁUSZCZOWYCH W PŁYNIE ŻWACZA I MLEKU KRÓW ŻYWIANYCH DAWKĄ POKARMOWĄ Z DODATKIEM WTÓRNYCH METABOLITÓW ROŚLINNYCH ORAZ OLEJÓW

(Temat zatwierdzony przez Radę Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt dn. 27-06-2014
na Uniwersytecie Przyrodniczym w Poznaniu)

Joanna Szczechowiak IV rok

Opiekun pracy: prof. dr hab. Adam Cieślak, Katedra Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej

Wprowadzenie

Mleko i mięso pochodzące od przeżuwaczy są ważnym źródłem składników odżywczych. Dodatkowo, są one głównym źródłem sprzężonych izomerów nienasyconych kwasów tłuszczowych, z których niektóre wykazują właściwości prozdrowotne. Sprzężone izomery nienasyconych kwasów tłuszczowych powstają w żwaczu w efekcie procesu biouwodorowania oraz poprzez syntezę *de novo* kwasów tłuszczowych m.in. w gruczole mlekowym. Jedną z metod umożliwiających zwiększenie udziału aktywnych biologicznie form kwasów tłuszczowych w mleku przeżuwaczy, jest stosowanie dodatków paszowych w żywieniu zwierząt przeżuwających. Stosując dodatki paszowe bogate w nienasycone kwasy tłuszczowe (np. oleje) lub wykazujące właściwości antymikrobiologiczne (np. wtórne metabolity roślinne) można regulować procesy zachodzące w żwaczu m.in. proces biouwodorowania.

Zastosowanie wtórnych metabolitów roślinnych i/lub olejów jako dodatków paszowych, mogących oddziaływać synergistycznie na populacje mikroorganizmów żwacza, stanowi nowoczesne podejście w dziedzinie żywienia zwierząt w aspekcie zwiększenia ilości biologicznie aktywnych kwasów tłuszczowych w produktach np. mleku. Działanie wtórnych metabolitów roślinnych oraz olejów oparte jest między innymi na hamowaniu aktywności niektórych gatunków bakterii (np. *Butyrivibrio fibrisolvens*), biorących udział w procesie biouwodorowania nienasyconych kwasów tłuszczowych.

Hipoteza badawcza

Wtórne metabolity roślinne i/lub oleje, będące odpowiednio źródłem biologicznie aktywnych substancji oraz nienasyconych kwasów tłuszczowych, podawane jako dodatek do dawki pokarmowej dla krów mlecznych, modulując przebieg procesu biouwodorowania w żwaczu, zwiększają zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych w żwaczu i w mleku.

Cel pracy

Ocena możliwości działania wtórnych metabolitów roślinnych (saponin, tanin) oraz mieszaniny olejów (sojowego i rybnego), jako naturalnych dodatków paszowych do dawek pokarmowych w żywieniu krów mlecznych, w kierunku zwiększenia zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych, w tym sprzężonych izomerów kwasu linolowego i/lub izomerów kwasu oleinowego w żwaczu i mleku.

Materiały i metody

Materiałem badawczym jest płyn żwacza pobrany od krów rasy polskiej HF z założoną trwałą kaniulą dożwaczową oraz mleko pozyskane od krów będących w doświadczeniu. Czynnikiem doświadczalnym wykorzystanym w cyklu doświadczeń są wtórne metabolity roślinne pochodzące z rodzimych gatunków roślin oraz mieszanina olejów sojowego i rybnego. Analizę długołańcuchowych kwasów tłuszczowych w próbach przeprowadzono przy użyciu chromatografu gazowego Varian Star CP 3800 wyposażonego w detektor płomieniowo-

jonizacyjny (FID). Dodatkowo w celu określenia zmian zachodzących pod wpływem zastosowanych dodatków przeanalizowano skład ilościowy mikroorganizmów żwacza oraz podstawowe wskaźniki fermentacji żwaczowej.

Wyniki

Etap I:

Wyniki uzyskane w efekcie przeprowadzenia doświadczenia dotyczącego wpływu saponin mydlnicy lekarskiej na profil kwasów tłuszczowych w żwaczu i mleku krów wskazują na istotny statystycznie wzrost zawartości sumy nienasyconych kwasów tłuszczowych w płynie żwacza w porównaniu do grupy kontrolnej bez dodatku. Zaobserwowano istotnie statystycznie wzrost zawartości kwasu *trans*-11C18:1 oraz *cis*-9, *cis*-12 C18:2 w płynie żwacza, przy jednoczesnym zmniejszeniu zawartości izomeru *cis*-9 *trans*-11 C18:2 w dawce z dodatkiem saponin w porównaniu do grupy kontrolnej. W odróżnieniu od wyników uzyskanych w płynie żwacza, dodatek saponin miał istotny wpływ na zawartość większości kwasów tłuszczowych w mleku. Stwierdzono pozytywny wpływ saponin na zawartość izomeru *trans*-11 C18:1 oraz *cis*-9, *trans*-11 C18:2, których poziom wzrósł w dawce z dodatkiem saponin, w porównaniu do grupy kontrolnej. Ponadto zaobserwowano zwiększenie zawartości sumy nienasyconych kwasów tłuszczowych (UFA) przy jednoczesnym obniżeniu zawartości nasyconych kwasów tłuszczowych (SFA) w mleku.

Etap II:

Połączenie tanin borówki brusznicy z mieszaniną oleju sojowego i rybnego zwiększyło zawartość kwasów *trans*-10 C18:1, *trans*-11 C18:1, *cis*-9,*cis*-12 C18:2 and *cis*-9, *trans*-11 C18:2 w płynie żwacza, przy jednoczesnym zmniejszeniu zawartości kwasu C18:0. Zaobserwowane zmiany w zawartości kwasu stearynowego i izomerów kwasu linolowego i oleinowego mogły być związane z synergistycznym działaniem mieszaniny tanin i olejów na mikroorganizmy żwacza zaangażowane w proces biouwodorowania. W przypadku mleka, dodatek tanin borówki brusznicy w połączeniu z mieszaniną olejów, nie wpłynął korzystnie na zawartość izomerów CLA oraz kwasu *trans*-11 C18:1. Zaobserwowano jedynie statystycznie istotne obniżenie zawartości kwasu C8:0, C10:0, C12:0, C14:0 oraz zwiększenie zawartości kwasów C20:5n3, C22:5n3, C22:6n3 w mleku.

Praca doktorska została sfinansowana ze środków NCN 2013/09/N/NZ9/01870 oraz ze środków MNiSW N311 476339.

Stan zaawansowania pracy: 90%

Spis publikacji (przede wszystkim oryginalne prace twórcze z podaniem liczby pkt. MNiSW)

1. Zmora P., Cieslak A., Jedrejek D., Stochmal A., Pers-Kamczyc E., Oleszek W., Nowak A., **Szczechowiak J.**, Lechniak D., Szumacher-Strabel M. 2012. Preliminary *in vitro* study on the effect of xanthohumol on rumen methanogenesis. Archives of Animal Nutrition 66(1): 66-71, MNiSW = 30, IF = 1.095
2. Zmora P., Cieslak A., Pers-Kamczyc E., Nowak A., **Szczechowiak J.**, Szumacher-Strabel M. 2012. Effects of *Mentha piperita* L. on *in vitro* rumen methanogenesis and fermentation. Acta Agriculturae Scandinavica, Section A – Animal Science, 62(1): 46-52, MNiSW = 20, IF = 0.607
3. **Szczechowiak J.**, Szumacher-Strabel M., Stochmal A., Nadolna M., Pers-Kamczyc E., Nowak A., Kowalczyk M., Cieslak A. 2013. Effect of *Saponaria officinalis* L. or *Panax ginseng* C.A Meyer triterpenoid saponins on ruminal fermentation *in vitro*. Annals of Animal Science, 13 (4): 815–827, DOI: 10.2478/aoas-2013-0055, MNiSW = 15, IF = 0.420
4. Cieslak A., Stanisław M., Wojtowski J., Pers-Kamczyc E., **Szczechowiak J.**, El-Sherbiny M., Szumacher-Strabel M. 2013. *Camelina sativa* Affects the Fatty Acid Contents in M. longissimus Muscle of Lambs. European Journal Of Lipid Science And Technology, 115 (11): 1258–1265, MNiSW = 25, IF = 2.314
5. Cieslak A., Zmora P., Stochmal A., Pecio L., Oleszek W., Pers-Kamczyc E., **Szczechowiak J.**, Nowak A., Szumacher-Strabel M. 2014. Rumen antimethanogenic effect of *Saponaria officinalis* phytochemicals *in vitro*. Journal of Agricultural Science. DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/S0021859614000239>. MNiSW = 45, IF = 1.691

6.Szumacher-Strabel M., El-Sherbiny M., Cieslak A., **Szzechowiak J.** and Winiarska H. 2015. *Bioactive lipid components from ruminant milk and meat: The new face of human health* rozdział w książce: *Biotechnology of Bioactive Compounds: Sources and Applications* Vijai Kumar Gupta (Editor), Maria G. Tuohy (Editor), Anthonia O'Donovan (Co-Editor), Mohtashim Lohani (Co-Editor) ISBN: 978-1-118-73349-3 March 2015, Wiley-Blackwell.

ZMIENNOŚĆ CZĘSTOŚCI REKOMBINACJI GENETYCZNYCH W SPERMATOCYTACH ORAZ POLIMORFIZM GENU *MLH1* JAKO POTENCJALNE MARKERY OBNIŻONEJ PŁODNOŚCI BUHAJÓW

Beata Budaj, rok II

Opiekun: prof. dr hab. Marek Świtoński, Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt

Krótkie wprowadzenie

Przebieg podziału mejotycznego ma kluczowe znaczenie dla procesu gametogenezy i w konsekwencji płodności. Wśród szeregu czynników, które mogą niekorzystnie wpływać na prawidłowość mejozy można wskazać nosicielstwo strukturalnych mutacji chromosomowych (głównie translokacji wzajemnych) oraz częstość i dystrybucję miejsc, w których dochodzi do *crossing over*. Badania dotyczące płodności mężczyzn wskazują, że liczba i rozmieszczenie miejsc, w których doszło do *crossing over* może być parametrem związanym z płodnością (Ferguson i wsp., 2007, 2009). Analizy tego typu nie były dotąd prowadzone w odniesieniu do zwierząt domowych, w tym bydła. W proces *crossing over* zaangażowanych jest szereg białek, takich jak *MLH1*, *MLH3*, *MSH4*, *MSH5*. Prawdopodobne wydaje się, że niektóre polimorfizmy genów kodujących w/w białka mogą mieć wpływ na zachodzenie *crossing over*. Zidentyfikowanie takich polimorfizmów może mieć istotne znaczenie hodowlane, szczególnie w selekcji buhajów inseminacyjnych. Ważną kwestią dotyczącą bydła jest również określenie częstości występowania translokacji wzajemnych, które w znaczącym stopniu obniżają płodność nosicieli. Identyfikacja takich mutacji jest bardzo trudna w przypadku bydła z racji na trudności w identyfikacji zmian w strukturze chromosomów. Jedną z możliwości wykonania badań przesiewowych jest analiza kompleksów synaptonemalnych w jądrach samców poddawanych ubojowi w rzeźni. Identyfikacja tetrawalentów w komórkach pachytenowych, świadczy o nosicielstwie translokacji wzajemnej.

Hipoteza badawcza

Częstość występowania nosicieli translokacji wzajemnych u bydła może być wyższa niż wynika to z wiedzy o zidentyfikowanych przypadkach takich mutacji chromosomowych (ok. 20). Wykonanie badań przesiewowych przy pomocy techniki uwidaczniania kompleksów synaptonemalnych może wnieść nowe, istotne informacje na temat występowania tego typu mutacji u bydła. W przypadku zwierząt z prawidłowym kariotypem wpływ na użytkowość rozplodową może mieć częstość zachodzenia i równomierność rozmieszczenia w biwalentach miejsc, w których wystąpiło *crossing over*. Przebieg tego procesu może mieć związek z polimorfizmem genów kodujących białka zaangażowane w przeprowadzenie *crossing over* (np. *MLH1*, *MSH4*, *MSH5 itp*).

Cele pracy

Celem badań jest przeprowadzenie przesiewowej oceny przebiegu mejozy u ok. 300 buhajów (gonady będą pozyskiwane poubojowo, dzięki współpracy z ubojniami), z wykorzystaniem techniki immunofluorescencyjnego uwidaczniania kompleksów synaptonemalnych (detekcja białka SCP3) oraz foci *MLH1*, będących znacznikami zajścia *crossing over*. Zaplanowane analizy mają na celu

identyfikację nieprawidłowych struktur koniugacyjnych (wstępna identyfikacja nosicieli mutacji chromosomowych) oraz ocenę zmienności liczby foci MLH1.

Drugim celem prowadzonych badań będzie poszukiwanie polimorfizmu w genach *MLH1*, *MSH4* i *MSH5*, które kodują białka zaangażowane w przeprowadzenie *crossing over*.

Material i metody

Materiał do badań kompleksów synaptonemalnych stanowią uzyskane poubojowo jądra buhajów pochodzące z ubojni bydła (np. w Błotnicy). Natomiast badania molekularne będą prowadzone na DNA wyizolowanym z nasienia 200 buhajów, które były lub nadal są użytkowane w Wielkopolskim Centrum Hodowli i Rozrodu Zwierząt w Tulcach.

Preparaty cytogenetyczne przeznaczone do barwień immunofluorescencyjnych są przygotowywane z wykorzystaniem zmodyfikowanej procedury z artykułu zespołu Vozdova i wsp. (2013). Analiza kompleksów synaptonemalnych obejmuje barwienia przeciwciałami skierowanymi przeciwko białkom elementów lateralnych SC (synaptonemal complex), tj. SCP3 oraz foci *MLH1*. Badania molekularne obejmują analizę *in silico* sekwencji nukleotydowych zdeponowanych w bazie NCBI, w celu zaprojektowania starterów do reakcji PCR dla genów zaangażowanych w *crossing over*. Amplifikację sekwencji kodującej oraz 5' oraz 3' flankujących genów *MLH1*, *MSH4* oraz *MSH5*. Następnie będzie przeprowadzona analiza wykrytych polimorfizmów w grupie 200 buhajów, dla których dostępne są informacje o użytkowości rozplodowej (cechy nasienia, wskaźnik niepowtarzalności rui).

Wstępne wyniki

W części molekularnej obejmującej sekwencjonowanie amplikonów, z wykorzystaniem automatycznego sekwenatora DNA analizie poddano część kodującą oraz 5' i 3' flankującą trzech genów: *MLH1*, *MSH4*, *MSH5* zaangażowanych w proces *crossing over*. W genie *MLH1* wykazano obecność 3 polimorfizmy: 2 typu SNP w części kodującej niezmieniające sensu, oraz 1 polimorfizm insercyjno-delecyjny 3 nukleotydów w części 5'UTR. W genie *MSH4* zidentyfikowano 2 polimorfizmy SNP w części 5'UTR. Analiza kolejnego genu - *MSH5* ujawniła 16 polimorfizmów: 6 polimorfizmów typu SNP w części kodującej, w tym dwa zmiany sensu N na S (aspargina > serynę) w eksonie 12 oraz zmiana R na Q (arginina > glutamina) w eksonie 19, 4 polimorfizmy SNP w 5'UTR, 2 SNP w regionie 5'-flankującym oraz 4 SNP w 3'-flankującym. Analizy nie ujawniły polimorfizmów w części 3'UTR badanego genu.

W badaniach cytogenetycznych zoptymalizowano metodykę barwienia kompleksów synaptonemalnych. Preparaty cytogenetyczne przeznaczone do barwień immunofluorescencyjnych zostały przygotowane dla 10 osobników z zastosowaniem zmodyfikowanej procedury wykorzystującej materiał mrożeniowy. Analiza kompleksów synaptonemalnych objęła barwienia z użyciem przeciwciał I rzędowych SCP3 oraz MLH1 oraz odpowiednich przeciwciał II rzędowych.

Przewód doktorski: *nieotwarty*

Spis publikacji:

Szczerbal I., Budaj B., Świtoński M. (2013), [Czego dowiedzieliśmy się o świni po sekwencjonowaniu jej genomu?](#), Przegląd Hodowlany, 4/2013: 1-3; (4 pkt MNiSW)

Doniesienia konferencyjne

Budaj B., Kociucka B., Szczerbal I. (2013), [Epigenetyczne modyfikacje chromosomów B jenota chińskiego.](#), *IV Polski Kongres Genetyki, Poznań, 10 - 13 września 2013.*, Streszczenia: s. 137 (plakat ZP-4)

ANATOMICZNE PODSTAWY PŁODNOŚCI SAMCÓW U WYBRANYCH GATUNKÓW Z RZĘDU CARNIVORA. (WSTĘPNY TYTUŁ PRACY DOKTORSKIEJ)

Maciej Zdun, III rok studium doktoranckiego

Opiekun pracy: dr hab. Hieronim Frąckowiak prof. nadzw., Zakład Anatomii Zwierząt Instytutu Zoologii

Krótkie wprowadzenie:

Szczegółowe poznanie budowy anatomicznej zwierząt, poza ogólnobiologicznymi walorami poznawczymi, dostarcza informacji przydatnych dla ewentualnych celów klinicznych i podstawowej wiedzy niezbędnej dla hodowców. Budowa jąder jest poznana i opisana u zwierząt gospodarskich (świnia, bydło, koń), u niektórych gatunków laboratoryjnych, a także zwierząt towarzyszących człowiekowi. Mięsożerne z rodzaju *Vulpes* w ekosystemach i łowiskach stanowią istotną i ważną grupę drapieżników, a *Vulpes* i *Nyctereutes* w gospodarce hodowlanej cenną grupę zwierząt utrzymywanych na fermach zwierząt futerkowych.

Hipoteza badawcza:

Analiza porównawcza przedstawicieli *Vulpes* i *Nyctereutes* powinna wykazać pewne podobieństwo do dotychczas opisanych zwierząt mięsożernych.

Cel pracy:

Celem badań jest analiza anatomiczna budowy makroskopowej i mikroskopowej jąder wybranych gatunków hodowlanych zwierząt mięsożernych w różnym wieku i różnych porach roku. Ponadto ocena różnic w unaczynieniu jąder w określonym wieku i porze roku oraz zmian osobniczych.

Materiał i metody:

Badaniami zostały objęte samce: lisa (*Vulpes vulpes*) w wieku od 7 miesięcy do 4 lat oraz jenota (*Nyctereutes procyonoides*) w wieku od 6 miesięcy do 4 lat. Zwierzęta pochodziły z różnych hodowli. Materiał zbierano w okresie rozrodczym oraz poza sezonem rozrodczym.

Po uboju zwierząt dokonywano pomiarów masy oraz wymiarów tuszy. Następnie wykonywano badanie ultrasonograficzne jąder dokonując pomiarów. Ponadto mierzono jądra metodą tradycyjną przy użyciu suwmiarki. W dalszej kolejności wypełniano naczynia krwionośne tworzywami sztucznymi, wykorzystując do tego celu barwiony Lateks LBS3060. Na tak przygotowanych preparatach śledzono przebieg naczyń preparując je ręcznie narzędziami chirurgicznymi. W celu otrzymania preparatów korozyjnych naczynia wypełniono masą iniekcyjną Duracryl oraz poddano kilkutygodniowej maceracji enzymatycznej.

Wstępne wyniki:

Stworzono bazę danych z dotychczas zebranymi wynikami morfometrycznymi. Utworzono kolekcję kilkuset preparatów lateksowych i korozyjnych. W toku jest analiza przebiegu i podziału tętnicy jądrowej na otrzymanych preparatach. Nie zakończono również prac związanych z preparowaniem brzusznej części tego naczynia.

Przewód doktorski: nie otwarty

Spis wybranych publikacji:

- **Zdun M.**, Frąckowiak H., Kowalczyk K., Maryniak H., Kiełtyka-Kurc A. (2014): Comparative analysis of the course of the facial and transverse facial arteries in selected ruminant species. *Annals of Anatomy*, 196:129-134
30 pkt.
- **Zdun M.**, Frąckowiak H., Kiełtyka-Kurc A., Kowalczyk K., Nabzdyk M., Timm A. (2013): The Arteries of Brain Base in Species of Bovini Tribe. *Anatomical Record*, vol. 296, 11: 1677-1682
25 pkt.
- Frackowiak H., **Zdun M.**, Kowalczyk K., Komosa M., Kiełtyka-Kurc A. (2014): Comparison of cerebral base arteries in antelopes of *Tragelaphus*, *Taurotragus* and *Boselaphus* genera. *Zoomorphology*, 133:351-357
25 pkt.
- Frąckowiak H., Komosa M., Dębiński D., **Zdun M.** (2015): The arterial circle of the brain, its branches and connections in selected representatives of the Antilopinae. *Journal of Morphology* DOI: 10.1002/jmor.20377
25 pkt.
- Kiełtyka-Kurc A., Frąckowiak H., Nabzdyk M., Kowalczyk K., **Zdun M.**, Tołkacz M. (2014): The arteries on the base of the brain in the camelids. *Italian Journal of Zoology*, 81:215-220
20 pkt.
- Komosa M., Łazowski S., Włodarek J., Kowalczyk K., Charuta A., **Zdun M.** (2014): Gross and histological evaluation of early lesions of navicular bone and deep digital flexor tendon in horses. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*. 58:87-91
15 pkt.
- Maryniak H., **Zdun M.**, Bukowska B., Ciesiółka S., Kempisty B., Bruska M., Frąckowiak H. (2014): Zjawisko zrośnięcia u ludzi i zwierząt – niewyjaśniony problem. *Postępy Biologii Komórki* 41:721-728
15 pkt.

SAPONINY LUCERNY SIEWNEJ *MEDICAGO SATIVA* (L.), JAKO MODULATORY FERMENTACJI ORAZ PROCESU METANOGENEZY W ŻWACZU *IN VITRO* I *IN VIVO*.

(wstępny tytuł pracy doktorskiej)

Dorota Kowalczyk, I rok SD

Opiekun pracy: prof. dr hab. Małgorzata Szumacher-Strabel,
Katedra Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej

Wprowadzenie

Procesy fermentacji i metanogenezy zachodzą w żwaczu przy udziale bytujących tam mikroorganizmów. W celu modulacji przebiegu wspomnianych procesów stosowano dotychczas antybiotykowe stymulatory wzrostu (ASW) jako dodatek do dawki pokarmowej oddziałujący na mikroorganizmy. Wprowadzony w styczniu 2006 roku na terenie Unii Europejskiej zakaz stosowania dodatków chemicznych w żywieniu zwierząt spowodował intensyfikację badań nad substancjami pochodzenia naturalnego, o właściwościach antymikrobiologicznych, które mogą zastąpić wycofane antybiotykowe stymulatory wzrostu. Do takich substancji należą wtórne metabolity roślinne, tzw. fitocynniki, do których zaliczyć można m.in saponiny, taniny i olejki eteryczne. Dane literaturowe wskazują, iż saponiny podawane w dawce pokarmowej mogą powodować defaunację żwacza (ograniczenie bądź całkowitą eliminację populacji pierwotniaków), modyfikować kierunek procesów fermentacji w żwaczu (np. w kierunku zwiększonej produkcji kwasu propionowego) oraz tym samym wykazują potencjał do redukcji ilości produkowanego w żwaczu metanu. Saponiny, w przeciwieństwie do stosowanych dotychczas ASW, wykazują działanie selektywne w stosunku do poszczególnych grup mikroorganizmów. Skład i zawartość saponin w roślinach zależy od wielu czynników, m.in. od gatunku rośliny, odmiany, miejsca pozyskiwania oraz od warunków, w których roślina jest uprawiana. Wykorzystanie saponin w żywieniu zwierząt przeżuwających, podawanych zarówno w formie dodatku paszowego, i/lub jako roślin stanowiących podstawę lub komponent dawki pokarmowej (np. rodzime odmiany roślin bogatych w saponiny), potencjalnie przyczyni się do regulacji procesu fermentacji w żwaczu, w tym procesie metanogenezy, przez co ograniczona zostanie emisja metanu do środowiska naturalnego.

Hipoteza badawcza

Rodzime odmiany lucerny siewnej *Medicago sativa* (L.), jako źródło saponin, stosowane jako suplement oraz jako komponent dawki pokarmowej, modulują przebieg procesu fermentacji żwaczowej obniżając produkcję i emisję metanu od krów mlecznych.

Cel pracy

Celem pracy jest analiza wpływu saponin pochodzących z rodzimych odmian lucerny siewnej, powszechnie stosowanej jako komponent dawek pokarmowych dla przeżuwaczy, na procesy zachodzące w ekosystemie żwacza krów mlecznych, ze szczególnym uwzględnieniem procesu metanogenezy zarówno w warunkach *in vitro* jak i *in vivo*.

Zakładany plan pracy:

1. Określenie koncentracji saponin w dziesięciu rodzimych odmianach lucerny siewnej *Medicago sativa* (L.), zarówno w zielonkach, jak i materiale zakiszonym.
2. Wybór dwóch odmian lucerny siewnej, charakteryzujących się najwyższą zawartością saponin, do dalszych badań.
3. Analiza wpływu saponin pochodzących z dwóch wyselekcjonowanych odmian lucerny siewnej na fermentację żwaczową w warunkach *in vitro* z zastosowaniem systemów: In Vitro Gas Production oraz RUSITEC.
4. Analiza wpływu kiszonki z dwóch odmian lucerny siewnej, będącej komponentem dawki pokarmowej, na fermentację żwaczową oraz skład chemiczny mleka. Badania w układzie kwadratu łacińskiego z wykorzystaniem czterech przetokowanych dożwaczowo krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej.
5. Analiza wpływu ww. kiszonek na produkcję metanu u krów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej z wykorzystaniem komór respiracyjnych.

Badania finansowane z grantu NCN nr: 2013/09/B/NZ9/02364.

Zaawansowanie prac: 20%

Przewód doktorski: nie otwarty

Spis publikacji:

Oryginalne prace twórcze:

1. Cieślak, A., Zmora, P., Pers-Kamczyc, E., Stochmal, A., Sadowinska, A., Salem, A. Z., **Kowalczyk D.**, ... & Szumacher-Strabel, M. (2014). Effects of two sources of tannins (*Quercus L.* and *Vaccinium vitis idaea L.*) on rumen microbial fermentation: an *in vitro* study. *Ital J Anim Sci*, 13(2) 290-294, MNiSW 20 pkt, IF= 0.604
2. El-Sherbiny M., Cieślak A., Szczechowiak J., **Kowalczyk D.**, Bryszak M., Szulc P., Szumacher-Strabel M. Rapeseed and fish oils mixture supplied at low dose can modulate milk fatty acid composition without affecting rumen fermentation and productive parameters in dairy cows: a preliminary study. *Anim Sci Pap Rep*, (przyjęta do druku; 2015), MNiSW 25 pkt

Doniesienia konferencyjne:

1. Szczechowiak J., El-Sherbiny M., **Kowalczyk D.**, Szumacher-Strabel M., Zbonik P., Tuzińska M., Cieślak A. (2014). *Saponaria Officinalis* Supplementation Affects both Rumen and Milk Parameters in Polish Dairy Cows. XI Conference of Young Researchers "Physiology and Biochemistry in Animal Nutrition, Siedlce – Serpelice, 1-3.06.2014; p. 90-92
2. El-Sherbiny M., Szczechowiak J., **Kowalczyk D.**, Cieślak A., Tuzińska M., Zbonik P., Szumacher-Strabel M. (2014). Effect of supplemented lingonberry tannin with or without mixed oils on the *in vitro* rumen parameters. XI Conference of Young Researchers "Physiology and Biochemistry in Animal Nutrition, Siedlce – Serpelice, 1-3.06.2014; p. 31-34
3. **Kowalczyk D.**, Cieślak A., Szczechowiak J., El-Sherbiny M., Szumacher-Strabel M. (2015). Effects of alfalfa's secondary plant metabolites on rumen fermentation *in vitro*. XLIV Sesja Naukowa Sekcji Żywienia Zwierząt KNZ PAN, Warszawa 16-17 June, (Poster)

4. El-Sherbiny M., Cieślak A., Szczechowiak J., **Kowalczyk D.**, Szumacher-Strabel M. (2015). Nanoemulsified oils did modulate rumen polyunsaturated fatty acids in RUSITEC system. XLIV Sesja Naukowa Sekcji Żywienia Zwierząt KNZ PAN, Warszawa 16-17 June, (Poster)
5. Szczechowiak J., Szumacher-Strabel M., El-Sherbiny M., Bryszak M., Szulc P., **Kowalczyk D.**, Cieślak A. (2015). The effect of lingonberry tannins with mixed oils supplemented to ruminant diets on methane production. XLIV Sesja Naukowa Sekcji Żywienia Zwierząt KNZ PAN, Warszawa 16-17 June, (Poster)
6. Szczechowiak J., Szumacher-Strabel M., El-Sherbiny M., Bryszak M., Szulc P., **Kowalczyk D.**, Cieślak A. (2015). Lingonberry tannins with mixed oils change rumen fatty acids profile in vitro. XLIV Sesja Naukowa Sekcji Żywienia Zwierząt KNZ PAN, Warszawa 16-17 June, (Poster)

Prace popularno-naukowe:

Kowalczyk D., Kwiatkowska P., Gruss M. (2015). Cieplarniane bydło. Ekonatura, 4(137):15

WPLYW OBESATYNY NA PROFIL HORMONALNY I METABOLIZM W SZCZURZYM I MYSIM MODELU OTYŁOŚCI I CUKRZYCY TYPU 2.

Paweł Antoni Kołodziejski, IV SD

Opiekun pracy: Prof. dr hab. Krzysztof W. Nowak, Katedra Fizjologii i Biochemii Zwierząt.

Wprowadzenie:

W regulację wewnątrzkomórkowej gospodarki lipidowej zaangażowanych jest wiele czynników biologicznie aktywnych, jednakże szacuje się, że rola wielu z nich pozostaje wciąż do wyjaśnienia. Obecnie duże zainteresowanie budzą dwa hormony pochodzące od wspólnego, zbudowanego z 117 aminokwasów (aa) prekursora – preprogreliny, którymi są: grelina- opisana w 1999 roku (Kojima M. i wsp.), a także odkryta stosunkowo niedawno obesatyna.; (Zhang J. i wsp., 2005). Obesatyna jest 23 aa peptydem produkowanym przez komórki szlaku żołądkowo- jelitowego (*ang. Gastrointestinal (GI) Tract*), zaangażowanym w pobieranie pokarmu i regulację masy ciała. Ekspresję i obecność tego peptydu stwierdzono także w wielu tkankach takich jak m.in.: tkanka tłuszczowa, dwunastnica, jelito czcze, okrężnica, trzustka, jelito cienkie i grube, śledziona, gruczoł sutkowy, a ponadto w mleku i osoczu. Badania przeprowadzone dotychczas sugerują, iż receptorem dla tego peptydu jest/ są receptory sprzężone z białkami G – GPR39 lub/ i GLP-1.

Hipoteza badawcza:

Obesatyna wpływa na:

- i) poprawę stanu metabolicznego związanego z przemianami lipidów i węglowodanów
- ii) profil hormonalny myszy i szczurów z eksperymentalnie indukowaną otyłością i cukrzycą typu 2

Cel pracy:

Celem badań jest wykazanie pozytywnego wpływu obesatyny na:

- i) profil hormonalny
- ii) metabolizm glukozy i metabolizm lipidowy myszy i szczurów z eksperymentalnie indukowaną otyłością i cukrzycą typu 2

Materiał i metody:

- Doświadczenia in vivo z wykorzystaniem zwierząt modelowych (szczur szczepu Wistar, myszy szczepu Balb/c oraz C57BL/6)
- Techniki biologii molekularnej i komórkowej: izolacje RNA, białek, RT, Real Time PCR, Western blot.
- Oznaczenia stężenia hormonów: ELISA, RIA
- Oznaczenia parametrów węglowodanowo-lipidowych oraz elektrolitów: testy kolorymetryczne
- Techniki związane z hodowlą komórek in vitro: linie komórkowe, ustalone linie komórkowe, inkubacje izolowanych komórek.

Wyniki:

- Istnieją zmiany w poziomie ekspresji i sekrecji obesatyny we krwi i tkankach obwodowych podczas otyłości i cukrzycy II typu
- Występują zmiany w poziomie ekspresji receptora obesatyny GPR39 w takich stanach patologicznych takich jak otyłość i cukrzyca.
- obesatyna wpływa na obniżenie aktywności enzymów będących markerem niealkoholowego stłuszczenia wątroby towarzyszącego cukrzycy typu 2

- poziom obstatyny we krwi skorelowany jest z poziomem enzymów trzustkowych – insuliny i glukagonu
- poziom obstatyny skorelowany jest z poziomem adipokin – leptyny, adiponektyny, rezystyny i visfatyny
- nie wykazano korelacji pomiędzy obstatyną i greliną u szczurów z cukrzycą typu 2.

Przewód doktorski: Otwarty 23.05.2014. Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt/Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

SPIS PUBLIKACJI

2015

1. E. Pruszyńska-Oszmałek, **P. A. Kołodziejski**, K. Stadnicka, M. Sassek, D. Chalupka, B. Kustoń, L. Nogowski, P. Mackowiak, G. Maiorano, J. Jankowski, and M. Bednarczyk, In ovo injection of prebiotics and synbiotics affects the digestive potency of the pancreas in growing chickens, *Poultry Science* (accepted 25.04.2015)

2014

1. Ayman M Arafat, Przemysław Kaczmarek, Marek Skrzypski, Ewa Pruszyńska-Oszmałek, **Paweł Kołodziejski**, Aikaterini Adamidou, Stephan Ruhla, Dawid Szczepankiewicz, Maciej Sassek, Maria Billert, Bertram Wiedenmann, Andreas FH Pfeiffer, Krzysztof W Nowak, Mathias Z Strowski, Glucagon regulates orexin A secretion in humans and rodents., *Diabetologia*. 2014 Oct;57(10):2108-16. doi: 10.1007/s00125-014-3335-4. Epub 2014 Jul 27.

2013

1. Arafat AM, Kaczmarek P, Skrzypski M, Pruszyńska-Oszmałek E, **Kołodziejski P**, Szczepankiewicz D, Sassek M, Wojciechowicz T, Wiedenmann B, Pfeiffer AF, Nowak KW, Strowski MZ (2013) Glucagon increases circulating fibroblast growth factor 21 independently of endogenous insulin levels: a novel mechanism of glucagon-stimulated lipolysis? *Diabetologia*, 56(3):588-97. (40 pkt MNiSW, IF= 6,487)
2. Pruszyńska-Oszmałek E, Szczepankiewicz D, Hertig I, Skrzypski M, Sassek M, Kaczmarek P, **Kołodziejski PA**, Mackowiak P, Nowak KW, Strowski MZ, Wojciechowicz T (2013) Obestatin inhibits lipogenesis and glucose uptake in isolated primary rat adipocytes. *Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents*, 27(1):23-33. (20 pkt MNiSW, IF= 5,180)
3. Vater A, Sell S, Kaczmarek P, Maasch C, Buchner K, Pruszyńska-Oszmałek E, **Kołodziejski P**, Purschke W, Nowak KW, Strowski MZ, Klausmann S (2013), A Mixed Mirror-image DNA/RNA Aptamer Inhibits Glucagon and Acutely Improves Glucose Tolerance in Models of Type 1 and Type 2 Diabetes, *Journal of Biological Chemistry*, 288(29):21136-47 (35 pkt MSWiA, IF=4,651)
4. Sassek M, Pruszyńska-Oszmałek E, Nowacka-Woszek J, Szczerbal I, Szczepankiewicz D, Kaczmarek P, **Kołodziejski PA**, Switonski M, Mackowiak P, Resistin - from gene expression to development of diabetes, *of Biological Regulators and Homeostatic Agents* 2013 Jul-Sep;27(3):647-54 (20 pkt MNiSW, IF= 5,180)

2012

5. Skrzypski M, Pruszyńska-Oszmałek E, Ruciński M, Szczepankiewicz D, Sassek M, Wojciechowicz T, Kaczmarek P, **Kołodziejski PA**, Strowski MZ, Malendowicz LK, Nowak KW (2012) Neuropeptide B and W regulate leptin and resistin secretion, and stimulate lipolysis in isolated rat adipocytes. *Regulatory Peptides*, 176(1-3):51-6. (25 pkt MNiSW, IF= 2,056)

2011

6. Skrzypski M, T Le T, Kaczmarek P, Pruszynska-Oszmalek E, Pietrzak P, Szczepankiewicz D, **Kolodziejski PA**, Sassek M, Arafat A, Wiedenmann B, Nowak KW, Strowski MZ (2011) Orexin A stimulates glucose uptake, lipid accumulation and adiponectin secretion from 3T3-L1 adipocytes and isolated primary rat adipocytes. *Diabetologia*, 54(7):1841-52. (40 pkt MNiSW, IF= 6,487)

OCENA WARTOŚCI ENERGETYCZNEJ (AME_N) I BIAŁKOWEJ, SUROWYCH ORAZ EKSTRUROWANYCH NASION WYBRANYCH ODMIAN BOBIKU NISKOTANINOWEGO (*VICIA FABA L.*) I GROCHU SIEWNEGO (*PISUM SATIVUM L.*) W ŻYWIENIU KURCZĄT RZEŹNYCH”

Marcin Hejdysz, rok III

Profesor dr hab. Andrzej Rutkowski, Katedra Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej

Krótkie wprowadzenie

Niezbyt optymistyczne prace naukowe z lat 80-90 ubiegłego wieku na temat wykorzystania bobiku i grochu w żywieniu drobiu spowodowały zmniejszenie zainteresowania tymi komponentami jako surowcami paszowymi. Negatywny wpływ bobiku jak i grochu w większości pracach argumentowany był wysoką zawartością tanin (pow. 0,5 mg/g SM), które w istotny sposób pogarszały wykorzystanie składników pokarmowych. Powstanie w ostatnich latach nowych odmian bobiku niskotaninowego oraz grochu siewnego stworzyło szanse na ich powtórne wykorzystanie w żywieniu drobiu. Obecnie ilość prac naukowych określająca wykorzystanie nowych niskotaninowych odmian bobiku oraz grochu w żywieniu drobiu jest nieznaczną. Prace tłumacząc wpływ procesów uszlachetniania na wykorzystanie nasion bobiku odmian niskotaninowych praktycznie nie występują, natomiast w przypadku grochu siewnego są bardzo niespójne. Przeprowadzenie złożonych doświadczeń zaplanowanych w ramach pracy doktorskiej, pozwoliło na określenie przydatności żywieniowej nowych odmian bobiku niskotaninowego oraz grochu siewnego w żywieniu kurcząt rzeźnych.

Hipoteza badawcza

Odmiana bobiku niskotaninowego i grochu siewnego oraz proces ekstruzji wpływa na strawność składników pokarmowych oraz wartość AME_N w żywieniu kurcząt rzeźnych.

Cel pracy

Określenie wpływu surowych i ekstrudowanych nasion nowych odmian bobiku niskotaninowego oraz grochu siewnego na strawność składników pokarmowych oraz wartość AME_N w żywieniu kurcząt rzeźnych.

Materiały i Metody

Przedmiotem badań są nasiona bobiku odmian niskotaninowych (Albus, Amulet, Kasztelan, Olga, Merlin) oraz grochu siewnego (Turnia, Milwa, Muza, Cysterski, Sokolik) w formie surowej oraz poddane procesowi baro-termicznemu (ekstruzji).

Na szesnastodniowych kogutkach linii ROSS 308 przeprowadzone zostały dwa doświadczenia. Zarówno w pierwszym jak i drugim doświadczeniu połowa nasion badanych roślin strączkowych poddana została procesowi ekstruzji. Pierwsze doświadczenie przeprowadzone zostało z

wykorzystaniem pięciu odmian bobiku niskotaninowego zarówno w formie surowej jak i ekstrudowanej. Natomiast w drugim doświadczeniu wykorzystane zostały nasiona pięciu odmian grochu siewnego również w formie surowej jak i ekstrudowanej. W obydwóch doświadczeniach, 16 dniowe kurczęta żywione były przez okres 6 dni mieszankami zawierającymi 60 % diety podstawowej oraz 40 % badanych roślin strączkowych w formie surowej lub ekstrudowanej. Na koniec doświadczeń przeprowadzona została kolekcja kała-moczu oraz ubój doświadczalnych umożliwiający pobranie treści jelita cienkiego za uchyłkiem Meckela. Nasiona badanych roślin strączkowych w formie surowej i ekstrudowane, mieszanki doświadczalne, próby kała-moczu oraz treść jelita cienkiego poddane zostały analizie chemiczną umożliwiającą określenie koncentracji substancji antyżywniowych (taniny, inhibitory trypsyny, fosfor w formie fitynowej, oligosacharydy z rodziny rafinozy), składników pokarmowych (białko ogólne, tłuszcz surowy) oraz wartości energii metabolicznej. Wykorzystując metodę różnicową obliczono strawność składników pokarmowych (jelitową oraz całkowitą) oraz zawartość AME_N w badanych nasionach roślin strączkowych. Uzyskane wyniki poddane zostały analizie statystycznej z wykorzystaniem programu komputerowego SAS 9.3. (USA).

Wstępne wyniki

Przeprowadzone dotychczas badania wskazują że badane odmiany bobiku ale również i grochu siewnego nieznacznie różniły się między sobą pod względem koncentracji składników pokarmowych. Jednakże znaczne różnice zostały potwierdzone w przypadku koncentracji substancji antyżywniowych takich jak: fosfor w formie fitynowej, oligosacharydy z rodziny rafinozy czy tanin. Analiza surowych i ekstrudowanych nasion bobiku wybranych odmian bobiku niskotaninowego i grochu siewnego pokazała iż ekstruzja wpływa pozytywnie na wartość pokarmową nasion bobiku i grochu poprzez obniżenie poziomu fosforu fitynowego, inhibitorów trypsyny oraz skrobi odpornej. Przeprowadzone doświadczenia na zwierzętach pokazały iż proces ekstruzji znacząco poprawia wartość energetyczną i białkową badanych roślin strączkowych. Wydaje się, że poprawienie wartości energetycznej i białkowej ekstrudowanych nasion wynika z znaczącego obniżenia koncentracji fosforu w formie fitynowej, inhibitorów trypsyny oraz skrobi odpornej. Pozytywny wpływ obniżenia substancji antyżywniowych na wartość pokarmową nasion bobiku i grochu został potwierdzony statystycznie. W przeprowadzonych doświadczeniach udowodniono również, że pozytywny wpływ ekstruzji w dużej mierze uzależniony jest od odmiany rośliny strączkowej. Analiza korelacji pomiędzy otrzymanymi wynikami a koncentracją substancji antyżywniowych w poszczególnych odmianach ujawniła bardzo silne, ujemne i statystycznie istotne korelację pomiędzy uzyskanymi parametrami a koncentracją fosforu fitynowego w nasionach badanych roślin strączkowych. Udowodniona zależność wykazuje, iż efektywność procesu ekstruzji w dużym stopniu uzależniona jest od koncentracji fosforu w formie fitynowej w materiale roślinnym.

Stopień zaawansowania badań około 80%

Podziękowania (nr grantu, nazwa sponsora, fundacji etc)

„Ulepszenie krajowych źródeł białka roślinnego, ich produkcji, systemu obrotu i wykorzystania w paszach. Nr w UP 505.037.07 – Uchwała Rady Ministrów 149/11 z dnia 9.08.2011. – umowa HOR zg 8422/2/201; lata :2011-2015; kierownik projektu (obszar 4): Prof. dr hab. Andrzej Rutkowski

Przewód doktorski : nie otwarty, otwarty (data, Uczelnia, Wydział)

WPLYW OREKSYNY A NA AKTYWNOŚĆ ŚRÓDBŁONKOWEJ SYNTAZY TLENKU AZOTU W ADIPOCYTACH BIAŁEJ TKANKI TŁUSZCZOWEJ

Maria Billert, I rok

Opiekun naukowy: prof. dr hab. Krzysztof W. Nowak, Katedra Fizjologii i Biochemii Zwierząt

Wprowadzenie

Oreksyna A (OXA), neuropeptyd podwzgórzowy o działaniu plejotropowym, reguluje między innymi homeostazę energetyczną i procesy pobierania pokarmu. Wywiera efekty biologiczne zarówno na poziomie ośrodkowym, jak i obwodowym, m.in. w tkance tłuszczowej (Leonard, Kukkonen, 2014).

W procesach przekazywania sygnału związanych z działaniem oreksyn istotną rolę odgrywa przypuszczalnie tlenek azotu (NO), uniwersalny neuroprzekaźnik gazowy. W tkance tłuszczowej NO hamuje lipogenezę w następstwie stosowania diety wysokotłuszczowej (Razny i wsp., 2011; Sansbury i wsp., 2012), a zwiększenie ekspresji śródbłonkowej syntazy NO (eNOS) stymuluje procesy metaboliczne i zapobiega otyłości (Sansbury i wsp., 2012).

NO pośredniczy w niektórych ośrodkowych efektach OXA, a uzyskane wstępne wyniki badań sugerują, że OXA może stymulować produkcję NO także obwodowo, w tkance tłuszczowej. W izolowanych adipocytach szczura po krótkotrwałej ekspozycji na OXA obserwowano wzrost stężenia metabolitów NO w medium hodowlanym. Wydaje się, że zaobserwowane zjawisko może wynikać z aktywacji eNOS, przypuszczalnie w następstwie odwracalnej fosforylacji enzymu (Rafikov i wsp., 2012).

Z badań prowadzonych w KFiBZ wynika, że ekspozycja adipocytów na OXA powoduje aktywację kinazy AMP zależnej (AMPK). Z kolei w komórkach śródbłonka wykazano, że AMPK fosforyluje eNOS w pozycji Ser1177, co prowadzi do niezależnej od wapnia aktywacji NOS (Zhang i wsp., 2008). Celowe wydaje się zatem zbadanie związku między tymi procesami w adipocytach.

Hipoteza badawcza

Oreksyna A stymuluje produkcję tlenku azotu w mechanizmie aktywacji śródbłonkowej syntazy tlenku azotu w adipocytach, a w procesie tym uczestniczy AMPK.

Cel pracy

Celem pracy jest ocena wpływu oreksyny A na aktywność śródbłonkowej syntazy tlenku azotu w adipocytach oraz wyjaśnienie, czy w procesie aktywacji tej izoformy syntazy uczestniczy AMPK.

Przewód doktorski: nie otwarty

Spis publikacji

Arafat AM, Kaczmarek P, Skrzypski M, Pruszyńska-Oszmałek E, Kołodziejcki P, Adamidou A, Ruhla S, Szczepankiewicz D, Sassek M, Billert M, Wiedenmann B, Pfeiffer AF, Nowak KW, Strowski MZ. *Glucagon Regulates Orexin A Secretion in Humans and Rodents*. Diabetologia. 2014 Oct;57(10):2108-16. (MNiSW – 40 pkt)

GENOMICZNA I EPIGENOMICZNA ANALIZA GENÓW KANDYDUJĄCYCH ZWIĄZANYCH Z NIEPRAWIDŁOWYM ROZWOJEM PŁCIOWYM PSÓW Z KARIOTYPEM ŻEŃSKIM (78,XX) I BRAKIEM GENU SRY

Sylwia Salamon, IV rok SD

Promotor pracy: Prof. dr hab. Marek Świtoński, Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt

Wprowadzenie

Zaburzenia w rozwoju układu rozrodczego (DSD ang. *Disorders of sexual development*, obojnactwo) stanowią poważny problem hodowlano – weterynaryjny, gdyż prowadzą do bezpłodności, a w konsekwencji dochodzi do obniżenia efektywności hodowli. Zespół odwróconej płci zwierząt z kariotypem żeńskim (78,XX) oraz brakiem genu *SRY* jest najczęściej występującą formą obojnactwa psów. Zaburzenie to polega na niezgodności pomiędzy płcią chromosomową, a fenotypową. Zwierzęta obarczone omawianą jednostką chorobową poza obecnością jąder lub/i jajnikojąder, charakteryzują się także zmaskulinizowanymi zewnętrznymi narządami płciowymi (np. powiększona łechtaczka z kością, zwiększona odległość pomiędzy sromem i odbytem). Analiza molekularna ujawnia u takiego osobnika brak genu *SRY*, który uważany jest za inicjatora męskiej ścieżki determinacji płci. Jak dotąd zespół odwróconej płci zidentyfikowano u 31 ras psów. Zdiagnozowano go ponadto u człowieka, kozy, konia, świni oraz jelenia.

Hipoteza badawcza

Poszukiwana mutacja sprawcza może być położona w regionie przycentromerowym chromosomu 23 psa (CFA23), na co wskazała identyfikacja translokacji robertsonowskiej między chromosomami 5 i 23 u berneńskiego psa pasterskiego, obciążonego zespołem odwróconej płci (Świtoński i wsp., 2011). W tym regionie analizy bioinformatyczne ujawniły obecność 3 genów: *CLASP2*, *UBP1*, *FBXL2*, które ze względu na swą lokalizację stały się genami kandydującymi dla opisywanej jednostki chorobowej. Ponadto, w chromosomie 23 psa zlokalizowane są także geny zaangażowane w żeńską ścieżkę determinacji płci, do których należą: *CTNNB1* oraz *FOXL2* (Maatouk i wsp., 2008; Nef i Vassali, 2009). W świetle powyższych informacji zasadne jest sprawdzenie hipotezy, czy wytypowane geny kandydujące z chromosomu 23 są związane z występowaniem badanego zaburzenia rozwojowego.

Ponadto zakłada się, że analiza profilu metylacji wysp CpG promotorów wybranych genów podlegających ekspresji w gonadach psów zdrowych oraz obarczonych zespołem odwróconej płci (78,XX; brak genu *SRY*), może dostarczyć niepoznanych jak dotąd informacji o mechanizmach epigenetycznych zaangażowanych w rozwój i determinację płci ssaków.

Cel pracy

- Analiza wybranych genów kandydujących zlokalizowanych w chromosomie 23 psa, u psów z zespołem odwróconej płci z karyotypem żeńskim, przy pomocy technik molekularnych, m.in.: sekwencjonowania z użyciem sekwenatora kapilarnego.
- Określenie różnic profilu metylacji wysp CpG promotorów wybranych genów podlegających ekspresji w gonadach psów zdrowych oraz obarczonych zespołem odwróconej płci (78,XX; brak genu *SRY*).

Material i metody

Materiał do badań stanowi krew obwodowa 48 psów należących do trzech grup: (1) Psy z obojnactwem (n=19); (2) Psy zdrowe #1 (n=15); (3) psy zdrowe #2 (n=14). Do analizy profilu metylacji DNA wykorzystane zostaną ponadto gonady psów ze zdiagnozowanym zespołem odwróconej płci oraz pochodzące od zdrowych samic.

Metody: Izolacja DNA; PCR; Sekwencjonowanie DNA; BS (BS – ang. *bisulfite sequencing*); Klonowanie produktu PCR;

Wstępne wyniki

Analiza 3 genów regionu przycentromerowego chromosomu 23 psa (*CLASP2*, *FBXL2*, *UBPI*) ujawniła występowanie 11 polimorfizmów. Nie zaobserwowano asocjacji pomiędzy zidentyfikowanymi polimorfizmami, a badanym fenotypem.

Badania nad kolejnymi genami kandydującymi dla zespołu odwróconej płci psów z karyotypem żeńskim i brakiem genu *SRY* (*CTNNB1* oraz *FOXL2*) ujawniły występowanie 7 polimorfizmów. Analiza częstości występowania poszczególnych alleli również wskazuje na brak asocjacji pomiędzy polimorfizmami i występowaniem omawianej formy interseksualizmu psów.

Literatura

- Maatouk DM, DiNapoli L, Alvers A, Parker KL, Taketo MM, Capel B. *Stabilization of beta-catenin in XY gonads causes male-to-female sex-reversal*. Hum Mol Genet. 2008 Oct 1;17(19):2949-55. doi: 10.1093/hmg/ddn193. Epub 2008 Jul 9.
- Nef S, Vassalli JD. *Complementary pathways in mammalian female sex determination*. J Biol. 2009 Sep 2;8(8):74. doi: 10.1186/jbiol1173. Review.
- Switonski M, Payan-Carreira R, Bartz M, Nowacka-Woszek J, Szczerbal I, Colaço B, Pires MA, Ochota M, Nizanski W. *Hyospadias in a male (78,XY; SRY-positive) dog and sex reversal female (78,XX; SRY-negative) dogs: clinical, histological and genetic studies*. Sex Dev. 2012;6(1-3):128-34.

Przewód doktorski : przewód doktorski z zakresu **nauk biologicznych** otwarty 23.05.2014. na Wydziale Hodowli i Biologii Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Stan zaawansowania badań: 75%

Finansowanie: Grant nr 2012/05/B/N29/00907 OPUS „*Poszukiwanie podłoża dziedzicznego zespołu odwróconej płci psów z karyotypem 78,XX*”

Doktorant jest stypendystą w ramach projektu pt.: „Wsparcie stypendialne dla doktorantów na kierunkach uznanych za strategiczne z punktu widzenia rozwoju Wielkopolski”, Poddziałanie 8.2.2 Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki, współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej w ramach Europejskiego Funduszu Społecznego w latach 2012/2013 i 2013/2014

SPIS PUBLIKACJI

Prace wchodzące w skład przygotowywanej pracy doktorskiej:

1. **Salamon S.**, Nowacka-Woszuk J., Szczerbal I., Dzimira S., Nizanski W., Ochota M., Switonski M. A lack of association between polymorphism of three positional candidate genes (*CLASP2*, *UBP1* and *FBXL2*) and canine disorder of sexual development (78,XX; SRY-negative). *Sexual Development* (Akceptacja – 29.01.2014) **20 pkt MNiSW 2013 (IF'2012=2,215)**
2. **Salamon S.**, Nowacka-Woszuk J., Świtoński M. Exclusion of the *CTNNB1* and *FOXL2* Genes for Canine XX Testicular/Ovotesticular Disorder of Sex Development *Folia Biologica - Kracow*, 63:57-62 **20 pkt MNiSW 2013 (IF'2013=0,478)**

Oryginalne prace twórcze wchodzące w skład dorobku naukowego:

1. Mankowska M., Szydłowski M., **Salamon S.**, Bartz M., Switonski M. 2014. Novel polymorphisms in porcine 3'UTR of the leptin gene, including a rare variant within target sequence for miR-9 gene in Duroc breed, are not associated with production traits *Animal Biotechnology* (26(2):156-163. **20 pkt MNiSW 2013 (IF'2013=0,686)**

2. Nowacka-Woszuk J., Szczerbal I., **Salamon S.**, Kociucka B., Jackowiak H., Prozorowska E., Slaska B., Rozanska D., Orzelski M., Ochota M., Dzimira S., Lipiec M., Nizanski W., Switonski M. , (2014), Testicular disorder of sex development in four cats with a male karyotype (38,XY; SRY-positive). , *Animal Reproduction Science* , 151 (1-2): 42-48 **30 pkt MNiSW 2013 (IF'2013=1,581)**

3. Szczerbal I, Nowacka-Woszuk J, Nizanski W, **Salamon S**, Ochota M, Dzimira S, Atamaniuk W, Switonski M. (2014). A case of leucocyte chimerism (78,XX/78,XY) in a dog with a disorder of sexual development. *Reproduction in Domestic Animals* 2014 Jun;49(3):e31-4. doi: 10.1111/rda.12318. **30 pkt MNiSW 2013 (IF'2012=1,392)**

4. Venhoranta H., Li S., **Salamon S.**, Flisikowska T., Andersson M., Switonski M., Kind A., Schnieke A., Flisikowski K. (2014). Non-CpG hypermethylation in placenta of mutation-induced intrauterine growth restricted bovine fetuses. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 444: 391-394 **20 pkt MNiSW 2013 (IF'2012=2,406)**

5. Bartz M., Szydłowski M., Kociucka B., **Salamon S.**, Jeleń H.H. , Switonski M., (2013), [Transcript abundance of the pig stearoyl-CoA desaturase gene has no effect on fatty acid composition in muscle](#)

[and fat tissues, but its polymorphism within the putative microRNA target site is associated with daily body weight gain and feed conversion](#), *Journal of Animal Science*, 91: 10-19 **45 pkt MNiSW 2013 (IF'2012=2,093)**

6. Nowacka-Woszek J., **Salamon S.**, Górna A., Switonski M. , (2013), [Missence polymorphisms in the MC1R gene of the dog, red fox, arctic fox and Chinese racoon dog](#) , *Journal of Animal Breeding and Genetics* , 130: 136-141 **35 pkt MNiSW 2013 (IF'2012=1,654)**

7. Szydłowski M., **Salamon S.**, Grześ M., Switonski M. (2012), [SNP in the 5' flanking region of the pig FTO gene is associated with fatness in Polish Landrace.](#) , *Livestock Science* , 150: 397-400 **30 pkt MNiSW 2013 (IF'2012=1,249)**

2. Przeglądowe artykuły naukowe (recenzowane)

1. Switonski M., Mankowska M., **Salamon S.** (2013), Family of melanocortin receptor (*MCR*) genes in mammals – mutations, polymorphisms and phenotypic effects., *Journal of Applied Genetics* , 54:461-472 **20 pkt MNiSW 2013 (IF'2012=1,847)**

CZYNNIKI WPŁYWAJĄCE NA SIŁĘ KONFLIKTU U PROMISKUIITYCZNEJ WODNICZKI (*ACROCEPHALUS PALUDICOLA*): WIEK, PŁEĆ I POKREWIEŃSTWO PISKŁĄT

Joanna Dziarska-Pałac, rok II, stacjonarne SD

Opiekun naukowy: dr hab. Janusz Kloskowski, Instytut Zoologii

Wprowadzenie:

Wodniczka (*Acrocephalus paludicola*) jest gatunkiem budzącym zainteresowanie zarówno ze względu na promiskuityczny system kojarzeniowy, jak i na status zagrożenia populacji gatunku. Obecnie jest to najrzadszy i jedyny długodystansowy migrant wśród ptaków wróblowych kontynentalnej Europy, zagrożony wyginięciem w skali światowej na skutek degradacji siedlisk.

Promiskuityczny system kojarzeniowy oznacza, że samice często kopulują z więcej niż jednym samcem, w konsekwencji pisklęta z jednego lęgu mogą pochodzić aż od pięciu ojców. Samica wodniczki zaangażowana jest we wszystkie obowiązki rodzicielskie – buduje gniazdo, wysiaduje jaja, karmi młode. Natomiast samce, mimo iż mają stale określone miejsca śpiewu, nie bronią czynnie swoich terytoriów i przemieszczają się w poszukiwaniu samic.

Hipotezy badawcze:

- ◆ Czy konkurencja w lęgach u gatunku, który ma system kojarzeniowy promiskuityczny (a więc stopień pokrewieństwa piskląt w lęgu jest niższy niż u gatunków mono- i poligamicznych) jest bardziej nasiloną?
- ◆ Czy istnieje konflikt dostosowania między samicą a potomstwem, tzn. czy u wodniczki występuje selektywne karmienie piskląt ze względu na ich wiek lub płeć (tj. wyrównywanie szans potomstwa mniej konkurencyjnego lub preferowanie jednej z płci)?
- ◆ Czy konkurencja między pisklętami o pokarm jest bardziej intensywna w lęgach z wyższą liczbą genetycznych ojców?

Cel pracy:

Głównym celem niniejszego projektu jest zbadanie konfliktów dostosowania wewnątrz rodziny tj. konfliktu między rodzeństwem u młodych oraz między samicą i potomstwem.

Zastosowana metoda (mini-kamery w gniazdach) pozwoli również określić główne czynniki limitujące sukces lęgowy (drapieżnictwo, pokarm, zalanie gniazd) u wodniczki. Warunkują one charakter i stopień ekspresji konfliktów dostosowania (np. intensywność konkurencji o pokarm między

pisklętami). Obrączkowanie (kolorowe znakowanie) pozwoli ocenić przeżywalność wodniczek oraz powracalność na lęgowiska i wymianę między stanowiskami.

Materiały i metody:

Główne metody przewidziane do realizacji projektu: obrączkowanie (kolorowe znakowanie), wyszukiwanie gniazd, znakowanie piskląt, pobieranie materiału genetycznego od ptaków dorosłych i piskląt, pomiary siedliskowe oraz rejestracja video zachowania ptaków w gniazdach. Prace terenowe z użyciem powyższych metod są prowadzone od 2014 roku na Chełmskich Torfowiskach Węglanowych na Lubelszczyźnie (siedlisko: podmokłe łąki turzycowe oraz kłociowiska).

Wstępne wyniki:

Od 2014 roku zakładane są kolorowe obrączki alfanumeryczne na Torfowiskach Chełmskich (Bagno Serebryskie i Błota Serebryskie; żółte), w Poleskim Parku Narodowym (Bagno Bubnów i Bagno Staw; białe) oraz na efemerycznych stanowiskach Lubelszczyzny (rezerwat Ciesacin, dolina Tyśmienicy zbiornik Żelizna; czerwone). Oznakowano 135 samców i samic oraz pobrano od nich materiał genetyczny (krew). Monitoring gniazd na Chełmskich Torfowiskach Węglanowych (2014):

1. 45 znalezionych gniazd
2. 87 zaobrączkowanych piskląt z 20 gniazd
3. 154 godziny z 65 nagrań z 18 gniazd

Zaawansowanie pracy: 25%

Spis publikacji:

Artykuły naukowe:

Żmihorski Michał, **Dziarska-Pałac Joanna**, Sparks Tim H. & Tryjanowski Piotr

„Ecological correlates of the popularity of birds and butterflies in Internet information resources”

Oikos 122: 183–190, 2013 (punkty MNiSW: 35)

Wojczulanis-Jakubas Katarzyna, Jakubas Dariusz, Foucher Julien, **Dziarska-Pałac Joanna** & Dugué Hubert

„Differential autumn migration of a small passerine - Aquatic Warbler *Acrocephalus paludicola*”

Naturwissenschaften 100: 1095-1098, 2013 (punkty MNiSW: 40)

Jakubas Dariusz, Wojczulanis-Jakubas Katarzyna, Foucher Julien, **Dziarska-Pałac Joanna** & Dugué Hubert

„Age and sex differences in fuel load and biometrics of Aquatic warblers at autumn stopover site in the Loire estuary (NW France)”

Ardeola 61.1: 15-30, 2014 (punkty MNiSW: 20)

Foucher Julien, Jaguenet Euriel, Boucaux Marine, Giraudot Etienne, Archer Eugene, Jeanneau Benjamin, **Dziarska-Pałac Joanna**, Lachaud Aurélia & Dugué Hubert

„10 ans de suivi du Phragmite aquatique *Acrocephalus paludicola* dans l’Estuaire de la Loire: résultats et analyse des données de la station de baguage de Donges”

Alauda 82.4: 269-282, 2014 (francuskie czasopismo ornitologiczne)

Artykuły popularno-naukowe:

Joanna Dziarska-Pałac: „Badania wodniczki w trakcie jesiennej migracji we Francji - projekt badawczy francuskiej organizacji ACROLA”

Ochrona wodniczki w Polsce Wschodniej – Newsletter Projektu LIFE + Nr 1, grudzień 2011

Ogólnopolskie Towarzystwo Ochrony Ptaków

Joanna Dziarska-Pałac: „Badania wodniczki w Afryce – projekt badawczy francuskiej organizacji ACROLA”

Ochrona wodniczki w Polsce Wschodniej – Newsletter Projektu LIFE + Nr 3, kwiecień 2013

Ogólnopolskie Towarzystwo Ochrony Ptaków

Joanna Dziarska-Pałac: „Kolorowe Kolorowe obrączkowanie wodniczek na Lubelszczyźnie”

Kwartalnik PTAKI Nr 4/14 (83), grudzień 2014

Ogólnopolskie Towarzystwo Ochrony Ptaków

WYBIÓRCZOŚĆ SIEDLISKOWA RYB W JEZIORACH EUTROFICZNYCH O ZRÓŻNICOWANEJ PRESJI BIOTYCZNEJ I ANTROPOGENICZNEJ

(Tytuł pracy doktorskiej zatwierdzony przez Radę Wydziału)

Katarzyna Sierpowska, IV rok SD

Opiekun pracy: dr hab. Jan Mazurkiewicz, Instytut Zoologii, Zakład Rybactwa Śródlądowego i Akwakultury

1. WPROWADZENIE

Poznanie wybiórczości siedliskowej ryb jest tematem wciąż aktualnym, realizowanym na różnych typach wód. Na potrzeby Ramowej Dyrektywy Wodnej stworzono wskaźniki do określenia stanu ekologicznego rzek na podstawie zespołów ryb (IBI i EFI), jak dotąd nie opracowano jednak uniwersalnych indeksów do oceny stanu ekologicznego jezior. Powodem jest nadal zbyt mała wiedza na temat rozmieszczenia ryb w jeziorach. Istnieje również potrzeba dopracowania metodyki monitoringu ichtiofauny wód lenitycznych, pozwalająca uzyskać reprezentatywne dane na temat zespołów ryb.

Wykorzystując zebrane dane na temat parametrów populacyjnych i osobniczych zespołów ryb podjęty zostanie temat mający na celu opis rozmieszczenia ichtiofauny w jeziorach eutroficznym w różnych strefach wyznaczanych w jeziorach na podstawie głębokości, odległości od brzegu, obecności i typu makrofitów oraz substratu dennego.

Badane jeziora można podzielić według typu użytkowania na rekreacyjne, rybackie, rybacko-wędkarskie, wędkarskie, znajdujące się pod prawną ochroną w ramach rezerwatów i parków narodowych i będące pod presją kormorana.

2. HIPOTEZY BADAWCZE

Zastosowanie dodatkowych sieci panelowych pozwoli uzyskać istotne różnice w danych dotyczących zespołów ryb. Istotne różnice powinny pojawić się szczególnie w stosunku do dużych ryb drapieżnych. Prawdopodobnie może to wpływać na otrzymane wskaźniki bioróżnorodności.

W strefie litoralnej i sublitoralnej gradient rozmieszczenia ichtiofauny będzie miał wymiar poziomy. Wraz z zwiększającą się odległością od brzegu będzie maleć zagęszczenie oraz różnorodność gatunków ryb, co będzie prawdopodobnie skorelowane z malejącą ilością makrofitów, służących jako kryjówki dla ryb. W pelagialu gradient rozmieszczenia ma wymiar pionowy, zależny od natężenia światła i temperatury. Ponieważ odłowy badawcze były prowadzone w nocy, gradient ten będzie prawdopodobnie niezauważalny, będzie można stwierdzić tylko różnice w obecności ryb w strefie eufotycznej pelagialu (do której za dnia przenika >1% światła) i ich braku w strefie afotycznej. Typ substratu dennego prawdopodobnie nie będzie miał wpływu na rozmieszczenie zespołów ryb.

3. CEL

Walidacja metodyki badawczego połowu ryb. Określenie różnic w zespołach ryb pomiędzy dwoma metodami oraz pomiędzy sezonami odłowów.

Poznanie struktury przestrzennej zespołów ryb badanych jezior eutroficznych na podstawie analizy liczebności i biomasy gatunków oraz proporcji pomiędzy gatunkami ryb drapieżnych i spokojnego żeru w zależności od występujących warunków siedliskowych.

4. TEREN BADAŃ I MATERIAŁ BADAWCZY

Teren badań obejmuje jeziora o podobnej morfologii, w których z założenia występują podobne zespoły ryb. Wybrano sześć jezior (J. Strzeszyńskie, J. Lusowskie, J. Góreckie, J. Swarzędzkie, J. Lubiakówko i J. Wędromierz) jako studium danego typu trofii. Typ eutroficzny stanowi ponad 90% jezior na terenie Polski.

Materiał badawczy stanowią próby ichtiofauny zebrane na wybranych stanowiskach jeziora w trzech sezonach (wiosennym, letnim i jesiennym).

5. METODY BADAWCZE

Badanie trofii na podstawie wskaźników TSI (fosfor całkowity, chlorofil a, widzialność krążka Secchi'ego).

Pobór prób ichtiofauny metodą badawczego połowu ryb z wykorzystaniem sieci panelowych o wielkości oczek sieci od 5 do 55 mm (Europejska Norma EN 14757) oraz zestawem uzupełnionym o sieci panelowe o wielkości oczek sieci od 60 do 100 mm. Analizy statystyczne wartości zmiennych uzyskanych w funkcji konfiguracji sieci oraz sezonu.

6. WYNIKI

Ocena różnic pomiędzy poniższymi wartościami funkcji w zastosowaniu zestawu sieci o wielkości oczek od 5 do 55 mm oraz zestawu sieci o wielkości oczek od 5 do 55 mm + 60 do 100 mm z wykorzystaniem analizy ANOVA wykazała różnice istotne statystycznie w przypadku większości analizowanych parametrów (masy maksymalnej i długości maksymalnej, średniej masy, średniej długości oraz współczynnika Fultona) za wyjątkiem masy i długości minimalnej. Statystycznie istotne różnice między konfiguracjami sieci uzyskano także dla wielkości $m_{min.}$, $m_{maks.}$, $l_{min.}$ i $l_{maks.}$ dla okonia i leszcza. W przypadku leszcza istotnie statystycznie różnice wystąpiły także biorąc pod uwagę liczbę oraz masę osobników. Dywersyfikacja oceny zespołów ryb bazująca na dwóch konfiguracjach sieci (i) 5-55 mm + sieci pelagiczne oraz (ii) 5-55mm + 60-100 mm + sieci pelagiczne wykazała istotne statystycznie różnice w parametrach: liczby wszystkich gatunków, liczby gatunków drapieżnych, liczby gatunków niedrapieżnych, liczby i masy osobników drapieżnych oraz liczby osobników niedrapieżnych. W kolejnej ocenie metody wykorzystano porównanie wyników uzyskanych przy pomocy sześciu wskaźników bioróżnorodności. Nie otrzymano istotnych różnic pomiędzy zastosowanymi metodami względem żadnego ze wskaźników.

Przewód doktorski: otwarty 27.06.2014; Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, WHIBZ

Podziękowania: EFS „Wsparcie stypendialne dla doktorantów na kierunkach uznanych za strategiczne z punktu widzenia rozwoju Wielkopolski”

6. SPIS PUBLIKACJI

- Przybylska K., Mazurkiewicz J. 2011 Programy hodowlane w ogrodach zoologicznych – wybrane aspekty na przykładzie kilku gatunków ptaków. Przegląd Hodowlany 7/201

- Fiszer M., Przybył A., Andrzejewski W., Mazurkiewicz J., Golski J., Przybylska K., Runowski S. 2012 Vendance *Coregonus albula* (L.) from selected lakes in Wielkopolska. I. Limnological characteristic of lakes. Archives of Polish Fisheries 20: 85-95.
- Fiszer M., Przybył A., Andrzejewski W., Mazurkiewicz J., Golski J., Przybylska K., Runowski S. 2012 Vendance *Coregonus albula* (L.) from selected lakes in Wielkopolska. II. Biological characteristic. Archives of Polish Fisheries 20: 97-108.
- Fiszer M., Przybył A., Andrzejewski W., Mazurkiewicz J., Golski J., Przybylska K., Runowski S. 2012 Vendance *Coregonus albula* (L.) from selected lakes in Wielkopolska. III. Biometric characteristic. Archives of Polish Fisheries 20: 109-122.
- Andrzejewski W., Mazurkiewicz J., Przybył A., Golski J., Przybylska K. 2012 Ichthyofauna of the Postomia River. Nauka Przyroda Technologie Tom 6, zeszyt 3.
- K. Przybylska, A. Haidt, Ł. Myczko, A. Ekner, Z. Rosin, Z. Kwieciński, P. Tryjanowski, J. Suchodolska, V. Takacs, Ł. Jankowiak, M. Tobółka, O. Wasielewski, A. Graclik, A. Krawczyk, A. Kasprzak, P. Szwałkowski, P. Wylegała, A. Malecha, T. Mizera, P. Skórka 2012 Local and 39 landscape-level factors affecting the density and distribution of the Feral Pigeon *Columba livia* var. *domestica* in an urban environment. Acta Ornithologica Vol. 47 (2).
- Przybylska K., Mazurkiewicz J., W. Andrzejewski, J. Golski. „Methods for determining the structure and biomass of fish in the lakes - the applicability, effectiveness, modifications”, In: The functioning and protection of water ecosystems - Threats, protection and management of water resources. Wyd. Bonami, Poznań, 2012.
- Żołnierowicz K. M., Przybylska K., Urbańska M., Andrzejewski W., Mazurkiewicz J. 2013 Ichthyofauna na obszarach chronionych. Stud. i Mat. CEPL R. 15 Zeszyt 34 /1
- Przybylska K., Żołnierowicz K.M., Urbańska M., Mazurkiewicz J., Andrzejewski W. 2013 Metody monitoringu dzikich populacji ryb rzek i jezior krajobrazu leśnego. Stud. i Mat. CEPL R. 15. Zeszyt 36/3
- Florczyk K., Mazurkiewicz J., Przybylska K., Ulikowski D., Szczepkowski M., Andrzejewski W., Golski J. 2014 Growth performance, feed intake and morphology of juvenile European catfish, *Silurus glanis* (L.) fed diets containing different protein and lipid levels. Aquaculture International vol.21,1-10p.

ROLA PREPARATÓW PROBIOTYCZNYCH W PROCESIE KOLONIZACJI UKŁADU POKARMOWEGO ŻÓŁWI WODNO-LĄDOWYCH PRZEZ MIKROFLORĘ ZOONOTYCZNĄ

Mateusz Rawski, III rok SD

Opiekun pracy: dr hab. Damian Józefiak,
Katedra Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej

Wstęp

Mikroflora układu pokarmowego żółwi wodno-lądowych jest tematem poznanym dotychczas jedynie w niewielkim stopniu. Zwierzęta te są częstym obiektem hodowli w warunkach fermowych, amatorskich i w ogrodach zoologicznych. Mimo tego nierozwiązane pozostają zagadnienia związane z nosicielstwem przez nie bakterii potencjalnie zoonotycznych jak i ich wysoką śmiertelnością. W ramach pracy doktorskiej prowadzone są badania mające na celu zweryfikowanie możliwości użycia preparatów probiotycznych – szeroko stosowanych w przypadku ssaków i ptaków u żółwi wodno-lądowych.

Hipoteza badawcza

Skarmianie w diecie żółwi wodno-lądowych preparatów probiotycznych poprawi homeostazę mikro-ekosystemu układu pokarmowego, ograniczając występowanie bakterii zoonotycznych.

Cel badań

1. Określenie wpływu dodatku mikroorganizmów probiotycznych do diety żółwi wodno-lądowych na rozwój i występowanie bakterii zoonotycznych, z wykorzystaniem klasycznych i molekularnych metod mikrobiologicznych;
2. Poznanie roli czynników alimentarnych w procesie rozwoju i wzrostu żółwi wodno-lądowych ze szczególnym uwzględnieniem budowy morfometrycznej i histologicznej układu pokarmowego;
3. Opracowanie skutecznych metod ograniczania frekwencji bakterii zoonotycznych w układzie pokarmowym żółwi wodno-lądowych jako potencjalnego wektora zagrażającego zdrowiu ludzi.

Materiał i metody

Dla weryfikacji założonej hipotezy badawczej podjęto cykl badań żywieniowo mikrobiologicznych na młodych, szybko rosnących żółwiach wodno-lądowych. Obejmują one 52 tygodniowe doświadczenia wzrostowe, testy mikrobiologiczne prowadzone za pomocą metod klasycznych (posiewowych) jak i molekularnych – Fluorescencyjna Hybrydyzacja In Situ (FISH), oraz analizy histologiczne tkanek układu pokarmowego.

Wstępne wyniki

Wstępne wyniki przeprowadzonych doświadczeń potwierdzają postawioną hipotezę badawczą. Wskazują na istotną rolę szczepów probiotycznych w przewodzie pokarmowym żółwi wodno-lądowych jako czynnika modyfikującego jego mikroflorę jak i budowę histomorfologiczną. Preparaty probiotyczne wykazują również pozytywny wpływ na wyniki odchowu tych zwierząt.

Planowane otwarcie przewodu doktorskiego: przed 1 października 2015

Publikacje naukowe

1. Józefiak D., Sip A., **Rawski M.**, Steiner T., and Rutkowski A., The dose response effects of liquid and lyophilized *Carnobacterium divergens* AS7 bacteriocin on the nutrient retention and performance of broiler chickens. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 2011, **MNiSW=20**
2. Józefiak D., Sip A., **Rawski M.**, Rutkowski A., Kaczmarek S., Højberg O., Jensen B B., Engberg, R M., Dietary divercin modifies gastrointestinal microbiota and improves growth performance in broiler chickens. *British Poultry Science*, 2011, **MNiSW=30**
3. Józefiak D., Sip A., Rutkowski A., **Rawski M.**, Kaczmarek S., Wołuń-Cholewa M., Engberg R.M., Højberg., Lyophilized *Carnobacterium divergens* AS7 bacteriocin preparation improves performance of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*. *Poultry Science*, 2012, **MNiSW=40**
4. **Rawski M.**, Szczyrkowska A., Sypniewski J., Kierończyk B., Skalski B., Józefiak D., Wpływ doustnego podawania *Bacillus licheniformis* CH 200: DSM 5749 i *Bacillus subtilis* CH 201: DSM 4750 na rozwój i skład mikroflory przewodu pokarmowego żółwi czerwonołocy (*Trachemys scripta elegans*) na podstawie zmian jakościowych wody, *Nauka Przyroda Technologie*, 2012 **MNiSW=5**
5. **Rawski M.**, Kierończyk B., Mikuła R., Długosz J., Józefiak D., Rutkowski A., *Nauka Przyroda Technologie*, Wpływ wybranych preparatów probiotycznych na wyniki odchowu i morfologię układu pokarmowego młodych żółwi żółtobrzuchych (*Trachemys scripta scripta*), *Nauka Przyroda Technologie*, 2013, **MNiSW=5**
6. Długosz J., **Rawski M.**, Kierończyk B., Sroka M., Józefiak D., , Wpływ czynników żywieniowych na występowanie nekrotycznego zapalenie jelit w odchowcie kurcząt rzeźnych, *Magazyn Weterynaryjny*, 2013, **MNiSW=3**
7. A. Ptak, D. Józefiak, B. Kierończyk, **M. Rawski**, K. Żyła: S. Świątkiewicz , Effect of different phytases on the performance, nutrient retention and tibia composition in broiler chickens, *Archives of Animal Nutrition*, 2013 **MNiSW=25**
8. Józefiak D., Kierończyk B., Juśkiewicz J., Zduńczyk Z., **Rawski M.**, Długosz J., Sip. A., Højberg O Dietary nisin modulates the gastrointestinal microbiota and performance of the broiler chickens. *PLOS ONE*, 2014, **MNiSW=40**
9. Józefiak D., Hejdysz M., Kierończyk B., **Rawski M.**, Kaczmarek S., Rutkowski A., Engberg R. M., Højberg O., *Clostridium perfringens* challenge and dietary fat type

affect broiler chicken performance and fermentation in the gastrointestinal tract, *Animal*, 2014, **MNiSW=35**

10. **Rawski M.**, Józefiak D., Body condition scoring and obesity in captive African side-neck turtles (*Pelomedusidae*), 2014, **MNiSW=20**

Publikacje popularno-naukowe

1. **Rawski M.**, Między marzeniami a możliwościami, czyli zakup żółwia wodno-łądowego. *Draco Magazyn* – magazyn herpetologiczno – terrarystyczny, 2009
2. **Rawski M.**, Żółwie- egzotyczni domownicy, *Fauna&Flora*, 2010
3. **Rawski M.**, Preibisz M., Józefiak D., Aklimatyzacja i odchów żółwi - nowe spojrzenie na potrzeby tej grupy zwierząt cz. I. *Magazyn Weterynaryjny Dodatek on-line*, 2011
4. **Rawski M.**, Preibisz M., Józefiak D., Aklimatyzacja i odchów żółwi - nowe spojrzenie na potrzeby tej grupy zwierząt cz. II. *Magazyn Weterynaryjny Dodatek on-line*, 2011
5. **Rawski M.**, Sip A., Józefiak D., Bakteriocynty – nowa grupa dodatków paszowych?. *Polskie Drobiarstwo*, 2011
6. **Rawski M.**, Sip A., Józefiak D., Bakteriocynty – nowa grupa dodatków paszowych?. *Polskie Drobiarstwo*, 2011
7. **Rawski M.**, Bigoszevska A., Kierończyk B., Józefiak D., Charakterystyka morfologiczna i filogenetyczna oraz praktyczne aspekty chowu *Pelomedusa subrufa* i *Pelusios castaneus* część 1. *Magazyn Weterynaryjny Dodatek on-line*, 2012
8. **Rawski M.**, Bigoszevska A., Kierończyk B., Józefiak D., Charakterystyka morfologiczna i filogenetyczna oraz praktyczne aspekty chowu *Pelomedusa subrufa* i *Pelusios castaneus* część 2. *Magazyn Weterynaryjny Dodatek on-line*, 2012
9. Długosz J., **Rawski M.**, Kierończyk B., Sroka M., Sarna europejska (*Capreolus capreolus*) w dobie intensyfikacji rolnictwa. *Magazyn Weterynaryjny Dodatek on-line*, 2012
10. **Rawski M.**, Kierończyk B., Bigoszevska A., Józefiak D., Emydura czerwonoobrzuca (*Emydura subglobosa*) w warunkach chowu amatorskiego. *Magazyn Weterynaryjny Dodatek on-line*, 2012
11. Kierończyk B., **Rawski M.**, Długosz J., Zieliński D., Józefiak D., Systematyka i morfologia modliszek (Mantodea). *Magazyn Weterynaryjny Dodatek on-line*, 2013
12. Kierończyk B., **Rawski M.**, Długosz J., Zieliński D., Józefiak D., Wybrane aspekty biologii i behawioru modliszek utrzymywanych w niewoli, *Magazyn Weterynaryjny Dodatek on-line*, 2013

13. Kierończyk B., **Rawski M.**, Długosz J., Zieliński D., Józefiak D., Żywnienie i warunki utrzymywania modliszek w niewoli, *Magazyn Weterynaryjny Dodatek on-line*, 2013
14. Kierończyk B., **Rawski M.**, Długosz J., Zieliński D., Józefiak D., Rozród modliszek w niewoli. *Mantis religiosa* – gatunek rodzimy, *Magazyn Weterynaryjny Dodatek on-line* 2013
15. Zieliński D., Zielińska E., Kierończyk B., **Rawski M.**, Modliszki typu „boxer” na przykładzie *Ephestiasula pictipes* (Wood-Mason, 1879). *Zeszyty terrarystyczne*, 2013
16. **Rawski M.**, Toborek M., Kierończyk B., Długosz J., Józefiak D., Komplikacje w rozrodzie żółwia hełmogłowego (*Pelomedusa subrufa*, Lacépède 1788) w niewoli - opis przypadku *Magazyn Weterynaryjny Dodatek on-line* 2014
17. Kierończyk B., **Rawski M.**, Zieliński D., Zielińska E., Długosz J., Mencil M., Zmysł wzroku i jego zaburzenia u modliszek (*Mantodea*). Cz. I *Weterynaryjny Dodatek on-line* 2014
18. Kierończyk B., **Rawski M.**, Zieliński D., Zielińska E., Długosz J., Mencil M., Zmysł wzroku i jego zaburzenia u modliszek (*Mantodea*). Cz. II *Weterynaryjny Dodatek on-line* 2014
19. Kierończyk B., **Rawski M.**, Długosz J., Józefiak D., Wpływ wybranych czynników żywieniowych na mineralizację układu kostno-szkieletowego drobiu, Bartosz Kierończyk, Mateusz Rawski, Jakub Długosz, Damian Józefiak, *Polskie drobiarstwo*, 2014

MIKROBIOLOGICZNE, BIOCHEMICZNE I IMMUNOLOGICZNE WSKAŹNIKI TOWARZYSZĄCE WYSTĄPIENIU SUBKLINICZNEJ KWASICY ŻWACZA (SARA) U KRÓW MLECZNYCH

Barbara Stefańska, III rok, stacjonarne SD

prof. dr hab. Włodzimierz Nowak, Katedra Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej

Wprowadzenie:

Przez ostatnie kilkadziesiąt lat znacząco wzrosła wydajność krów mlecznych, co poprawiło opłacalność i konkurencyjność produkcji mleka (Plaizier i in., 2009). Jednym ze skutków zwiększenia produktywności zwierząt jest wzrost zapotrzebowania na składniki pokarmowe, w tym również na energię, której źródłem są głównie pasze treściwe, zawierające znaczne ilości łatwo fermentujących węglowodanów w tym przede wszystkim skrobi. To właśnie taki model żywienia jest główną przyczyną obniżenia pH płynu żwacza na skutek fermentacji węglowodanów niestrukturalnych oraz nadmiernej kumulacji lotnych kwasów tłuszczowych (LKT) oraz kwasu mlekowego (Plaizier et al., 2009). Pogorszenie strukturalności dawki i związana z tym obniżona ilość fizycznie efektywnego NDF (feNDF) w dawce pokarmowej powoduje skrócenie czasu przeżuwania i wydzielania śliny – naturalnego bufora, neutralizującego zakwaszenie wynikające z dużej syntezy LKT oraz kwasu mlekowego, prowadząc do wystąpienia subklinicznej kwasicy żwacza (SARA) (Plaizier i in., 2009). Etiologia występowania SARA, choroby metabolicznej występującej w stadach bydła mlecznego o dużym znaczeniu ekonomicznym, opisywana jest tradycyjnie jako okresowe (3-5h/24h) obniżenie pH płynu żwacza poniżej 5.8 (Oetzel, 2007). W Stanach Zjednoczonych wskazano największy odsetek zachorowań wśród krów w okresach rozpoczęcia (19%) i szczytu laktacji (26%) (Zebeli i in., 2012). Ponadto dobowe straty ponoszone przez producentów mleka szacowane są na 12 dolarów na każdy zdiagnozowany przypadek (Stone, 1999). Plaizier i in., (2009) wskazali wśród głównych konsekwencji wystąpienia SARA obniżenie pobrania dawki kompletnej i pogorszenie strawności masy organicznej, zmniejszenie zawartości tłuszczu w mleku, biegunki, podwyższenie poziomu endotoksyn powstałych w wyniku rozkładu bakterii żwaczowych, kulawizny, ropnie i owrzodzenia wątroby oraz powstanie stanu zapalnego.

Diagnozowanie SARA nie jest proste, bowiem jest to często choroba, która przebiega bezobjawowo. Widoczne są najczęściej dopiero jej skutki, np. kulawizna. Pewne informacje o zagrożeniu SARA można uzyskać przez badanie przebiegu fermentacji w żwaczu. Do najważniejszych metod stosowanych w tym celu można zaliczyć analizę zawartości tłuszczu w mleku, analizę zawartości kwasów tłuszczowych w mleku, elektroniczne oznaczenie pH płynu żwacza (bolusy do pomiaru pH), analiza przebiegu i intensywności przeżuwania (odczytywanie dźwięków powstających w czasie ruchu żuchwy), analizę wyglądu kału, analizę struktury fizycznej dawki pokarmowej oraz niedojadów. Żadna z tych metod nie jest w pełni satysfakcjonująca i nie może być podstawą systematycznego monitoringu stad, co mogłoby być przydatne w prewencji SARA. Niestety, nie ma również obecnie testów krwi, mleka, moczu czy kału (pasków) do diagnozowania krów chorych na SARA.

Dotychczasowe badania koncentrowały się na próbach określenia etiologii i patofizjologii SARA (Oetzel, 2007; Dijkstra i in., 2012; Li i in., 2014), skupiając się głównie na określeniu granicznej wartości pH oraz jej wiarygodności przy diagnostyce tej choroby. Przypuszcza się, że niskie pH płynu żwacza krów mlecznych przez dłuższy czas (> 3 godziny) może obniżyć aktywność mikrobiologiczną mikroorganizmów, zmieniając przebieg fermentacji w żwaczu oraz pośrednio skład chemiczny mleka (Colman i in., 2013; Li i in., 2014; Rodriguez i in., 2009). Jakkolwiek, problemy towarzyszące subklinicznej kwasicy żwacza i związane z nimi mechanizmy nie zostały całkowicie scharakteryzowane i wyjaśnione (Dijkstra i in., 2012). Wyniki najnowszych badań są zróżnicowane i nie pozwalają wyjaśnić precyzyjnie mechanizmów towarzyszących wystąpieniu SARA (Coleman i in., 2013; Li i in., 2014). Ponadto brak badań wyjaśniających interakcje między wytypowanymi w licznych badaniach wskaźnikami. Dlatego w niniejszej pracy doktorskiej podjęto próbę wykonania kompleksowych badań mających na celu wskazanie potencjalnych, wiarygodnych biomarkerów diagnostycznych wystąpienia subklinicznej kwasicy żwacza w stadach bydła mlecznego.

1. Hipoteza badawcza

1. Subkliniczna kwasica żwacza (SARA) destabilizując przebieg fermentacji w żwaczu prowadzi pośrednio do pogorszenia statusu metabolicznego krów mlecznych.
2. Poznanie mechanizmów towarzyszących wystąpieniu SARA może pozwolić na opracowanie precyzyjnych biomarkerów, pomocnych przy wczesnym diagnozowaniu tej jednostki chorobowej.

2. Cel badań

Celem naukowym dysertacji doktorskiej będzie zbadanie wpływu subklinicznej kwasicy żwacza (SARA) na przebieg fermentacji w żwaczu (LPS, LKT, skład ilościowy i jakościowy populacji bakterii), wskaźniki biochemiczne krwi związane z wystąpieniem stanu zapalnego (białka fazy ostrej, ekspresja genów) oraz skład profilu kwasów tłuszczowych tłuszczu mleka, jako potencjalnego biomarkera tej choroby metabolicznej.

3. Materiał badawczy

Badania zostały przeprowadzone na 11 fermach bydła mlecznego zlokalizowanych na terenie województwa wielkopolskiego i śląskiego. Materiał doświadczalny stanowiło trzysta krów mlecznych rasy Polskiej Holsztyńsko-Fryzyjskiej, będących między 40 a 150 dniem laktacji. Podczas realizacji badań zebrano materiał biologicznego w tym próby: dawki pokarmowej, mleka, płynu żwacza, krwi, odchodów oraz dokonano pomiaru temperatury ciała od 150 podejrzanych o wystąpienie SARA („pozytywnych”) oraz 150 zdrowych („negatywnych”) krów mlecznych. Ponadto w celu stworzenia bazy danych dla każdej krowy skonstruowano kartę krowy zawierającą numer krowy, numer laktacji, datę wycielenia, dzień doju oraz aktualną w dniu pobierania materiału biologicznego wydajność.

4. Metody badawcze

W zgromadzonym materiale biologicznym planuje się wykonanie następujących analiz:

- pH płynu żwacza przy użyciu pH-metru CP-104 według metodyki Krause i Oetzel (2006);
- koncentracja LPS w płynie żwacza z wykorzystaniem, zgodnie z metodyką Andersen (2000);
- koncentracja LKT oraz kwasu mlekowego za pomocą chromatografii gazowej, zgodnie z metodyką Tangerman i Nagengast (1996);

- koncentracja azotu amoniakalnego według zmodyfikowanej metody Nesslera, Szumacher-Strabel i in. (2002);
- analiza mikroskopowa pierwotniaków (*Entodiniomorph* i *Holotrich*) w kropli płynu żwacza według metodyki opisanej przez Michałowski i in. (1986);
- analiza mikroskopowa bakterii w komorze Thoma (Blau Brand®, Wertheim, Germany) według metodyki opisanej przez Ericsson i in. (2000);
- skład ilościowy oraz jakościowy populacji bakterii z wykorzystaniem Fluorescencyjnej Hybrydyzacji In Situ (FISH) zgodnie z metodyką Shinkai i in. (2007);
- analiza podstawowa pasz według metodyk AOAC (2007) oraz PN (2006);
- skład chemiczny oraz profilu kwasów tłuszczowych tłuszczu mleka z wykorzystaniem urządzenia MilcoScan (FT-IR). Ekstrakcja tłuszczu z mleka będzie wykonana zgodnie z metodyką Stefanov i in. (2010);
- pH krwi przy użyciu pH-metru CP-104 według metodyki Gozho i in. 2005;
- białka fazy ostrej krwi, według metodyki opisanej przez Gozho i in. 2005;
- ekspresja genów z wykorzystaniem techniki molekularnej PCR. Izolacja mRNA zostanie wykonana zgodnie z metodyką Chmoczyński i in. (1987);
- pH odchodów przy użyciu pH-metru CP-104 według metodyki Li et al. (2014);
- pomiar temperatury ciała zgodnie z metodyką Li et al. (2014a).

Analiza statystyczna

Analiza statystyczna uzyskanych wyników zostanie wykonana z wykorzystaniem pakietu statystycznego SAS (SAS wersja 9.4. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 2014).

5. Wstępne wyniki

W grupie krów podejrzanych o wystąpienie subklinicznej kwasicy żwacza (SARA) stwierdzono niższą liczbę ogólnej liczby bakterii i pierwotniaków z grupy *Entodiniomorpha* i *Holotricha* oraz koncentrację azotu amoniakalnego w płynie żwacza.

6. Stopień zaawansowania badań (opisowo i w %)

Badania na zwierzętach, zebranie materiału biologicznego: 100%

Analizy chemiczne, biochemiczne, mikrobiologiczne, molekularne: 10%

7. Literatura (max 10 pozycji)

1. Andersen PH. Bovine endotoxemia: Aspects of relevance to ruminal acidosis. Dr. Vet. Sci. Thesis, The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Denmark. 2000.
2. AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. 18th Edition. Gaithersburg Maryland, USA, Editor W. Horwitz and W. Latimer. 2007.

3. Chmoczyński P., Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Analytical Biochemistry*. 1987, 162: 156-159
4. Gozho GN., Plaizier JC., Krause DO., Kennedy AD., Wittenberg KM. Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammatory response. *J Dairy Sci*. 2005, 88:1399–1403.
5. Krause MK., Otzel GR. Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds. *Anim Feed Sci Tech*. 2006, 126: 215-236.
6. Michalowski T., Harmeyer H., Breves G. The passage of protozoa from the reticulo-rumen through the omasum of sheep. *Br J Nutr*. 1986, 65: 625–634.
7. Shinkai T., Kobayashi Y. Localization of ruminal cellulolytic bacteria on plant fibrous materials as determined by Fluorescence In Situ Hybridization and Real-Time PCR. *Appl Environ Microbiol*. 2007, 73:1646–1652.
8. Stefanov I., Vlaeminck B., Fievez V. A novel procedure for routine milk fat extraction based on dichloromethane. *J. Food Compost. Anal* 2010, 23:852–855.
9. Szumacher-Strabel M., Potkański A., Kowalczyk J., Cieślak A., Czauderna M., Gubała A., Jędrozkowiak P. The influence of supplement fat on rumen volatile fatty acid profile, ammonia and pH levels in sheep fed a standard diet. *J Anim Feed Sci*. 2002, 11, 577-587.
10. Tangerman A., Nagengast F. A gas chromatographic analysis of fecal short fatty acids using the direct injection method. *Anal Biochem*. 1996, 236: 1-8.

SPIS PUBLIKACJI:

1. Oryginalne prace twórcze:

1. Włodzimierz Nowak, Robert Mikuła, Ewa Pruszyńska-Oszmałek, Paweł Maćkowiak, Barbara Stefańska, Małgorzata Kasproicz-Potocka, Andrzej Frankiewicz, Kamil Drzazga, 2013. Dietary energy density in the dry period on the metabolic status of lactating cows. *Polish Journal of Veterinary Science*, 16:4, 715–722, 20 pkt. MNiSW
2. Włodzimierz Nowak, Robert Mikuła, Ewa Pruszyńska-Oszmałek, Barbara Stefańska, Paweł Maćkowiak, Małgorzata Kasproicz-Potocka, Andrzej Frankiewicz, 2014. The effect of restricted feeding in far-off period on performance and the metabolic status of dairy cows. *Annals of Animals Science* 14:1, 89-100, 15 pkt. MNiSW
3. Paweł Stefański, Barbara Stefańska, Ireneusz Antkowiak, Jarosław Pytlewski. 2014 Częstotliwość występowania chorób racic w stadach bydła mlecznego w zależności od numeru i fazy laktacji. *Medycyna Weterynaryjna*, 70: 3, 15 pkt MNiSW

2. Przeglądowe artykuły naukowe (recenzowane)

1. Barbara Stefańska 2014. Metody oceny statusu metabolicznego wysoko wydajnych krów mlecznych. *Wiadomości Zootechniczne*. 2:281, 50-55. 5 pkt. MNiSW

WPLYW CZYNNIKÓW ŚRODOWISKOWYCH NA WYSTĘPOWANIE SCHORZEŃ RACIC O CHARAKTERZE BAKTERYJNYM ORAZ ILOŚĆ I SKŁAD CHEMICZNY MLEKA KROWIEGO

Paweł Stefański, III rok, stacjonarne SD

Opiekun: dr hab. n. wet. Marek Gehrke, prof. nadzw., Instytut Weterynarii

Krótkie wprowadzenie:

W ostatnich kilkunastu latach postępująca zarówno w Polsce jak i na świecie intensyfikacja chowu i hodowli bydła mlecznego wpłynęła negatywnie na dobrostan wysoko wydajnych krów mlecznych. Wśród najczęściej wymienianych przyczyn tego zjawiska zaliczany jest wzrost częstotliwości występowania kulawizn, powstających głównie poprzez schorzenia racic. Prowadzi to bezpośrednio do generowania znacznych strat ekonomicznych ponoszonych przez hodowców, które wynikają przede wszystkim z kosztów opieki weterynaryjnej, pogorszenia wskaźników użytkowości mlecznej oraz rozplodowej, co przyczynia się do zbyt wczesnego brakowania krów mlecznych. Dlatego jednym z ważniejszych aspektów przeciwdziałania kulawiznom jest jeszcze bardziej precyzyjne prowadzenie diagnostyki występowania jednostek chorobowych oraz analiza wybranych metod oceny warunków środowiskowych bytowania krów.

Hipoteza badawcza

W stadach wysoko wydajnych krów mlecznych może występować duża zmienność w charakterze występowania schorzeń o podłożu bakteryjnym, istotnie spowodowana czynnikami środowiskowymi.

Cel pracy

Celem prowadzonych badań będzie określenie wpływu czynników powiązanych ze środowiskiem bytowania krów (wilgotność, temperatura racic) na występowanie schorzeń bakteryjnych racic i cechy produkcyjne krów.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiło 111 krów rasy PHF poddanych rutynowemu zabiegowi korekcji racic, w jednym z gospodarstw znajdujących się na terenie województwa wielkopolskiego. Krowy, u których zdiagnozowano jednostki chorobowe o etiologii bakteryjnej stanowiły grupę krów chorych, natomiast zwierzęta bez zmian chorobowych w obrębie racic grupę kontrolną. W celu określenia ogólnego komfortu krów w stadzie w dniu poprzedzającym wykonanie zabiegu, 2 godziny po porannym zadaniu dawki paszowej TMR określono wskaźnik "*lactating cows comfort index* - CCI". W celu odniesienia wpływu warunków środowiskowych na występowanie schorzeń bakteryjnych racic, wykonano pomiar temperatury oraz wilgotności ich powierzchni przy użyciu pirometru laserowego oraz zmodyfikowanego miernika wielofunkcyjnego AZ9871. Pomiarów dokonywano na racicach kończyn tylnych (szczególnie narażonych na schorzenia bakteryjne), w 3 punktach pomiarowych zarówno w grupie krów chorych jak i zdrowych. Ponadto w celu uwzględnienia możliwości wpływu czynników żywieniowych (chorób metabolicznych) na występowanie jednostek chorobowych oceniono kondycję BCS wg. metodyki Edmonsona, a także pobrano rektalnie od wszystkich krów kał w celu oznaczenia pH. Dla określenia ewentualnego wpływu schorzeń na infekcję całego organizmu zbadano *per rectum* temperaturę ciała. W celu porównania metod szybkiej i wczesnej diagnostyki występowania kulawizn wywołanych jednostkami chorobowymi o etiologii bakteryjnej wykorzystano ocenę skali lokomocji wg. metodyki Sprechera oraz obraz racic z kamery termowizyjnej. Dane dotyczące ilości i składu chemicznego mleka krów objętych badaniami pozyskano z raportów wynikowych PFHBiPM (miesiąc przed korekcją, w miesiącu korekcji oraz miesiąc po wykonanym zabiegu). Dodatkowo pozyskano informacje z programu zarządzania stadem dotyczące: daty urodzenia, numeru laktacji, dni doju, numeru identyfikacyjnego oraz oborowego krów. Wszystkie powyższe dane zbierane podczas prowadzenia niniejszych badań były zapisywane na specjalnie przygotowanej oraz opracowanej karcie krowy.

Stan zaawansowania:

1. Zbieranie materiału biologicznego: 100%

2. Wykonanie analiz: 20%

Przewód doktorski: Nie otwarty

Spis publikacji:

Stefański P., Stefańska B, Antkowiak I., Pytlewski J.: Częstotliwość występowania chorób racic w stadach bydła mlecznego w zależności od numeru i fazy laktacji. *Med.Wet.* 2014, 70, 176-179; 15 pkt. MNiSW, IF 0.203.

Materiały konferencyjne:

Paweł Stefański. Wpływ czynników organizacyjnych i technologicznych na zdrowotność racic krów rasy Polskiej Holsztyńsko-Fryzyjskiej. 16-18 czerwiec 2014, I Letnia Szkoła Młodych Naukowców Lublin-Urszulin

Paweł Stefański. Occurrence of hoof diseases in Holstein-Friesian breed according to a number and a phase of lactation; 22 March 2014, Kraków, III International Conference of PhD Students Multidirectional Research in Agriculture and Forestry

EFEKTYWNOŚĆ PROGRAMÓW ROLNO-ŚRODOWISKOWYCH UE NA ZACHOWANIE BIORÓŻNORODNOŚCI I POZIOMU USŁUG EKOSYSTEMOWYCH NA OBSZARZE POLSKI

mgr inż. Stanisław Świtek, I rok SD

opiekun pracy: prof. dr hab. Piotr Tryjanowski, Katedra Zoologii, Zakład Zoologii

Wprowadzenie:

Polska charakteryzuje się jednym z najwyższych współczynników udziału gruntów rolnych w powierzchni kraju. Blisko 60 % powierzchni jest użytkowana rolniczo. Tak duży obszar zarówno pod względem procentowym jak i powierzchniowym (18 mln ha) ma decydujący wpływ na stan środowiska przyrodniczego. Sposób gospodarowania na terenach rolniczych, a także wszelkie zmiany, jakie dynamicznie w nim zachodzą, oddziałują na bioróżnorodność tych obszarów. Unia Europejska przeznaczona duże środki na różnego rodzaju programy trafiające na polską wieś. Środki w ramach dopłat bezpośrednich, programów rolno - środowiskowych czy od roku 2014 programów zazielenienia wiążą się z spełnieniem przez beneficjentów określonych wymagań związanych z produkcją. Zmiana sposobu produkcji, wprowadzanie nowych roślin, poplony, okresy ochronne to tylko niektóre zabiegi, które rozpowszechniły się w praktyce. Nowe okresy programowe przynoszą zmiany uwzględniając efektywność poprzednich oraz dostosowując się do nowych założeń. Zróżnicowanie przyrodnicze i kulturowe różniące poszczególne kraje wymaga indywidualnego podejścia do zamierzonych rezultatów.

Hipoteza:

Wspólna Polityka Rolna (WPR = CAP) i jej programy skierowane dla polskiego rolnictwa oddziałują na środowisko obszarów wiejskich, przyczyniają się do zmian bioróżnorodności, poprawiają efektywne wykorzystanie usług ekosystemowych, a także oddziałują na krajobraz rolniczy, który ma pośredni wpływ na produkcję rolniczą.

Cel pracy:

Praca ma wykazać pozytywne oraz negatywne skutki dla środowiska rolniczego, produkcji i gospodarowania rolnego programów pomocowych Unii Europejskiej, a w szczególności programów rolno-środowiskowych i tzw. pakietów zazielenienia. Od roku 2014 obowiązują nowe zasady proekologiczne, które rolnicy muszą spełnić, aby uzyskać dopłatę do produkcji. System dopłat bezpośrednich ewaluuje w stronę płatności za konkretne działania pro-środowiskowe, wyłącznie za które producent otrzyma pomoc finansową. Ważne jest, więc by wiedzieć, które z dotychczasowych działań przynosi wymierne korzyści finansowe nie tylko dla rolnika, ale także przede wszystkim prowadzi do głównego celu, jakim jest ochrona środowiska przyrodniczego. Praca jak i jej wyniki pozwolą ocenić wpływ CAP na obszary rolnicze naszego kraju.

W pracy doktorskiej zostaną ujęte badania przeprowadzone w ramach grantu UE LIBERATION (połączenie bioróżnorodności obszarów wiejskich z usługami ekosystemowymi w celu ekologicznej intensyfikacji produkcji rolniczej

Przewód doktorski: Nie otwarty

ROLA KISSPEPTYNY I JEJ RECEPTORA GPR54 W ZABURZENIACH PROCESÓW ROZRODCZYCH W SZCZURZYM MODELU OTYŁOŚCI I CUKRZYCY.

(niezatwierdzony przez Radę Wydziału)

Monika Dudek, III rok

Dr hab. Joanna H. Śliwowska, Pracownia Neurobiologii, Instytut Zoologii

Przewód doktorski nie otwarty

Wprowadzenie

Otyłość jest obecnie najczęściej występującą jednostką patologiczną spowodowaną zaburzeniami odżywiania, mogącą prowadzić do rozwoju cukrzycy. Oprócz zakłócenia metabolizmu, obie te jednostki chorobowe mogą powodować szereg wtórnych dysfunkcji związanych z zaburzeniami procesów dojrzewania płciowego i rozmnażania. Prawidłowy przebieg funkcji rozrodczych kierowany jest przez oś podwzgórze - przysadka mózgowa – gonady (PPG), a zaburzony status metaboliczny często skutkuje zakłóceniami w funkcjonowaniu osi PPG. Kisspeptyna, białko kodowane przez gen Kiss-1 pełni kluczową rolę w regulacji procesów rozmnażania. Status energetyczny wpływa na działanie kisspeptyny i jej receptora GPR54: ekspresja Kiss-1 w podwzgórze jest hamowana przez ujemny bilans energetyczny. Mniej poznana jest rola kisspeptyny w otyłości i cukrzycy.

Prowadzone przez mnie badania na szczurzym modelu otyłości i cukrzycy zakładają przeprowadzenie kompleksowej charakterystyki pary Kiss-1/GPR54 obejmującej analizę lokalizacji i ekspresji zarówno w osi PPG, jak i w obrębie organów zaangażowanych w regulację procesów metabolicznych - wątroba, trzustka i tkanka tłuszczowa. W czasie realizacji badań zdobyta zostanie wiedza na temat zależności pomiędzy otyłością i cukrzycą typu 1 i 2, a nieprawidłowościami w procesach rozrodczych.

Hipotezy badawcze:

1. Nieprawidłowa dieta prowadząca do otyłości, a w konsekwencji wystąpienia cukrzycy wpływa na zaburzenia procesów związanych z rozmnażaniem.
2. Długotrwałe podawanie kisspeptyny-10 (KP-10), pozytywnie wpłynie na zmniejszenie lub zniesienie negatywnych skutków wywołanych otyłością i cukrzycą typu 1 i 2 na układ rozrodczy.

Cel pracy

1. Zbadanie dystrybucji i zmian w ekspresji pary Kiss-1/GPR54 w obrębie osi podwzgórze - przysadka mózgowa - gonady (PPG) oraz trzustce, wątrobie, tkance tłuszczowej, jak i profilu hormonalnego u samców szczurów z otyłością indukowaną dietą (DIO), i cukrzycą typu 1 (DM1) i typu 2 (DM2).
2. Przeprowadzenie doświadczeń *in vivo* z długotrwałym podawaniem kisspeptyny-10 (KP-10) pozwoli na zweryfikowanie hipotezy 2, co będzie miało pożądany, pozytywny wpływ na zmniejszenie lub zniesienie negatywnych skutków wywołanych otyłością i cukrzycą typu 1 i 2 na układ rozrodczy.

Materiały i metody

Eksperyment 1: Zbadanie wpływu otyłości indukowanej dietą, cukrzycy typu pierwszego oraz drugiego (indukowanych podaniem streptozotocyny) u samców szczurów na ekspresję pary KISS1/GPR54 w obrębie osi PPG oraz w trzustce, wątrobie i tkance tłuszczowej.

Eksperyment 2: Zbadanie wpływ gonadektomii i podania testosteronu na liczbę kisspeptyno-immunoreaktywnych neuronów w podwzgórzu oraz określenie profilu metabolicznego i hormonalnego u samców szczurów z otyłością indukowaną dietą oraz cukrzycą typu pierwszego i drugiego indukowanych podaniem streptozotocyny.

Eksperyment 3: Zbadanie wpływu podania szczurom z otyłością indukowanej dietą oraz cukrzycy typu pierwszego i drugiego indukowanych podaniem streptozotocyny

kisspeptyny-10 w postaci roztworu uwalnianego z pomp osmotycznych na lokalizację i liczbę kisspeptyno-immunoreaktywnych neuronów w podwzgórzu oraz profilu metabolicznego i hormonalnego u samców szczurów.

Samce szczurów Wistar przez 6 tygodni będą karmione dietą wysokotłuszczową w celu uzyskania otyłych zwierząt. Cukrzyca zostanie wywołana na skutek podania w zastrzyku różnych dawek streptozotocyny (STZ). Zwierzęta z grupy kontrolnej i tych z cukrzycą typu 1 będą otrzymywać przez 6 tygodni dietę laboratoryjną dla gryzoni, a zwierzęta z grupy DM2 będą karminie przez 6 tygodni dietą wysokotłuszczową.

W eksperymencie 2 zwierzęta zostaną podzielone dodatkowo na następujące grupy: 1) C (kontrola), 2) GDX (zwierzęta poddane zabiegowi wycięcia gonad - gonadektomii) i 3) GDX+T (zwierzęta poddane zabiegowi gonadektomii i podania testosteronu).

W eksperymencie 3 szczury podzielone zostaną na 2 podgrupy: 1) poddane zabiegowi wszycia pomp osmotycznych uwalniających rozwór KP-10; 2) grupa kontrolna (bez pomp).

Po zakończeniu eksperymentów zwierzęta będą dekapitowane a tkanki zostaną pobrane do analizy. W celu lokalizacji i oceny liczby komórek kisspeptyno-immunoreaktywnych prowadzone będą badania immunocytochemiczne. Ponieważ kisspeptyna współdziała razem z neurokininą B i dynofriną prowadzone są również badania nad lokalizacją i określeniem liczby tych neuronów w podwzgórzu. Zastosowana zostanie również metoda RT-PCR, w celu pomiaru ekspresji mRNA dla systemu KISS1/GPR54 w osi PPG oraz wątrobie, trzustce i tkance tłuszczowej. Badany będzie profil metaboliczny (poziom: glukozy, trigliceroli, cholesterolu) oraz hormonalny (poziom: insuliny, glukagonu, leptyny, testosteron, LH, FSH) przy pomocy metod radioimmunologicznych (RIA), oraz testów Elisa (metoda immunoenzymatyczna).

Wstępne wyniki:

Eksperyment 1:

1) Ekspresja Kiss-1 i GPR54 w osi PPG jest związana ze statusem metabolicznym u samców szczurów z cukrzycą typu 1.

2) Szczury z cukrzycą typu 1 i 2 miały podwyższony poziom GPR54 mRNA w podwzgórzu.

3) Szczury z cukrzycą typu 1 miały obniżony poziom Kiss-1 w przysadce mózgowej oraz obniżony poziom ekspresji GPR54.

4) Szczury z indukowaną dietą otyłością miały obniżony poziom ekspresji GPR54 i Kiss-1 mRNA w przysadce mózgowej

5) W tkankach peryferyjnych wykazano istotne różnice w poziomie Kiss-1 mRNA w tłuszczu oraz w trzustce pomiędzy szczurami z grupy DM1 a pozostałymi grupami badawczymi. Również w przypadku GPR54 mRNA największe różnice wykazano w zwierząt z cukrzycą typu 1, które miały podwyższony poziom GPR54 mRNA w stosunku do pozostałych grup we wszystkich trzech typach tkanek: tłuszczowej, trzustce oraz wątrobie.

Eksperyment 2:

1) Samce szczurów z indukowaną eksperymentalnie cukrzycą typu 1 i 2 mają zaburzoną odpowiedź neuronów kisspeptyno-ir neuronów na gonadektomię, a podobne zaburzenia nie występują u szczurów otyłych.

2) Samce z grup DIO, DM2 i DM1 i C nie mają zaburzonej odpowiedzi kisspeptyno-ir neuronów na gonadektomię i podanie testosteronu (GDX+T).

3) Szczury z indukowaną eksperymentalnie cukrzycą wykazują zmiany profilu hormonalnym (mają obniżony poziom T i LH) w porównaniu z grupą kontrolną.

Stan zaawansowania: 40%.

Podziękowania

Badania wykonywane są we współpracy z Katedrą Fizjologii i Biochemii Zwierząt Uniwersytetu Przyrodniczego.

Badania finansowane są z grantu NCN OPUS; nr 2011/01/B/NZ4/04992, kierownik: dr hab. Joanna H. Śliwowska. **Spis publikacji**

1. Oryginalne prace twórcze:

- Ekner-Grzyb A, Sajkowska Z, Dudek K, **Gawałek M**, Skórka P, Tryjanowski P (2013) Locomotor performance of sand lizards (*Lacerta agilis*): effects of predatory pressure and parasite load. *Acta Ethologica*, 16:173-179. (MNiSW: 20).
- Dudek K, Sajkowska Z, **Gawałek M**, Ekner-Grzyb A (2014) Układ i liczba tarczki zanozdrzowych, jako cecha taksonomiczna jaszczurki zwinki i jaszczurki żyworodnej. *Chrońmy Przyrodę Ojczystą*, 70:83-87. (MNiSW: 3).
- **Gawałek M**, Dudek K, Ekner-Grzyb A, Kwieciński Z, Śliwowska JH (2014). Ecology of the field cricket in farmland: Importance of livestock grazing. *North Western Journal of Zoology*, 10:325-332. (MNiSW: 20).
- Dudek K, Ekner-Grzyb A, Sajkowska Z, **Gawałek M**, Tryjanowski P (2015) Often using body condition index is an unreliable indicator: a case of sand lizard. *Turkish Journal of Zoology*, 39:182-184. (MNiSW: 15).
- Dudek K, Koczura R, **Gawałek M**, Sajkowska Z, Ekner-Grzyb A (in press) Detection of *Salmonella enterica* in a sand lizard (*Lacerta agilis*, Linnaeus, 1758) city population. *Herpetological Journal*, MS. 14-120 (MNiSW: 25).

2. Przeglądowe artykuły naukowe (recenzowane)

- Sliwowska JH, Fergani C, **Gawatek M**, Skowronska B, Fichna P, Lehman NM (2015) Insulin: its Role in the Central Control of Reproduction Physiology and Behaviour, 133:197–206. (MNiSW: 30).
- **Gawatek M**, Sliwowska JH (2015) Neuronal basis of reproductive dysfunctions associated with diet and alcohol: From the womb to adulthood. Reproductive Biology, 15(2):69-78 (MNiSW: 15).

ANALIZA PORÓWNAWCZA TĘNIC PODSTAWY MÓZGOWIA U WIELBŁADOWATYCH (*CAMELIDAE*) I JELENIOWATYCH (*CERVIDAE*)

Agata Kiełtyka-Kurc, IV rok SD

Promotor: dr hab. Hieronim Frąckowiak, prof. nadzw., Zakład Anatomii Zwierząt, Instytut Zoologii

Krótkie wprowadzenie:

Tętnice podstawy mózgowia opisane są u gatunków zwierząt gospodarskich i użytkowych. Wiedza na temat tego obszaru naczyniowego u innych gatunków nie jest wystarczająca, a wręcz deficytowa. Planowane badania w pewnym zakresie uzupełnią brakujące informacje anatomoporównawcze, ponadto dostarczą argumentów do dyskusji nad taksonomią badanych zwierząt.

Hipoteza badawcza oraz cel badań:

Wzorce tętnic doprowadzających krew do mózgowia u zwierząt wykazują znaczną zgodność z usytuowaniem gatunków w taksonomii.

Cel badań stanowi analiza porównawcza wzorca tętnic podstawy mózgowia u dwóch różnych taksonów z rzędu parzystokopytnych (*Artiodactyla*), u gatunków z rodziny wielbłądowatych (*Camelidae*) i jeleniowatych (*Cervidae*).

Materiał i metody:

Materiał badawczy stanowią preparaty już zgromadzone w kolekcji Zakładu Anatomii Zwierząt oraz preparaty sporządzane sukcesywnie w miarę otrzymywania materiału zwierzęcego z ogrodów zoologicznych, ubojni itp.

Z materiału zwierzęcego sporządzono preparaty tętnic głowy i mózgowia zwierząt metodą wprowadzenia mas iniekcyjnych (superchlorok winylu i lateks) do tętnic. Materiał zwierzęcy z tętnicami wypełnionymi superchlorkiem winylu został poddany maceracji enzymatycznej celem uzyskania odlewów tętnic na rusztowaniu kostnym. Pozostały materiał po iniekcji barwionym lateksem został utrwalony w formalinie, a następnie był preparowany ręcznie. Na podstawie wyników analizy zgromadzonych preparatów opisałam przebieg, sposób połączeń oraz ewentualne odmiany naczyniowe tętnic podstawy mózgowia.

Wyniki:

Wzorzec tętnic podstawy mózgowia u gatunków z rodzaju *Camelus* i *Lama*, czyli zwierząt z rodziny *Camelidae* był identyczny. W porównaniu z innymi *Artiodactyla* wzorzec tych tętnic u *Camelidae* różnił się istotnie. Cechami wyróżniającymi wzorzec tętnic podstawy mózgowia u wielbłądowatych były: w pełni przetrwała tętnica szyjna wewnętrzna, a także bezpośrednio odejście tętnicy donosowej mózgu i tętnicy łączącej doogonowej od sieci dziwnej nadoponowej donosowej.

Analiza preparatów tętnic podstawy mózgowia zwierząt z rodziny jeleniowatych wykazała, że system tych tętnic był podobny do wzorca naczyń opisanego u innych gatunków z podrzędu *Ruminantia*. Cechą charakterystyczną dla wszystkich badanych jeleniowatych była obecność gałęzi pomiędzy tętnicą kłykciową a siecią dziwną nadoponową donosową. Ponadto u jeleniowatych w odróżnieniu od zwierząt z plemienia *Bovini* nie wykazano sieci dziwnej nadoponowej doogonowej.

Przewód doktorski otwarty, 23.05.2014 r., WHiBZ, UP w Poznaniu

Spis publikacji:

1. Górecki M. T., Kiełtyka A. (2012) Does breed affect sexual play in preweaning lambs?; *Small Ruminant Research* 106, 103-104
2. Kiełtyka-Kurc A., Rydel-Gigauri J., Górecki M. T. (2013) Circadian activity of dairy ewes kept indoors; *Annals of Animal Science* 13, 55-62
3. Zdun M., Frąckowiak H., Kiełtyka-Kurc A., Kowalczyk K., Nabzdyk M., Timm A. (2013) The arteries of brain base in species of Bovini tribe. *The Anatomical Record* 296: 1677-1682
4. Kiełtyka-Kurc A., Frąckowiak H., Zdun M., Nabzdyk M., Kowalczyk K., Tołkacz M. (2014) The arteries on the base of the brain in the camelids (*Camelidae*). *Italian Journal of Zoology* 81: 215 -220
5. Zdun M., Frąckowiak H., Kowalczyk K., Maryniak H., Kiełtyka-Kurc A. (2014) Comparative analysis of the course of the facial and transverse facial arteries in selected ruminant species. *Annals of Anatomy* 196: 129-134
6. Frąckowiak H., Zdun M., Kowalczyk K., Komosa M., Kiełtyka-Kurc A. (2014) Comparison of cerebral base arteries in antelopes of *Tragelaphus*, *Taurotragus* and *Boselaphus* genera. *Zoomorphology* 133: 351-357
7. Kiełtyka-Kurc A., Frąckowiak H., Brudnicki W. (2015) The Arteries of Brain Base in Species of the Cervid Family. *The Anatomical Record* 298:735–740
8. Kiełtyka-Kurc A., Górecki M. T. (2015) Social behavior in preweaning lambs and their preferences in social interactions. *Animal Science Journal*. 86: 221-224.

ANALIZA PORÓWNAWCZA METYLACJI WYBRANYCH GENÓW KANDYDUJĄCYCH U ŚWIŃ ZE ZRÓŻNICOWANĄ PREDYSPOZYCJĄ DO ROZWOJU NOWOTWORU JELITA GRUBEGO.

Agata Sikorska, rok I SD

Opiekun: prof. dr hab. Marek Świtoński, Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt

Wprowadzenie:

Współcześnie, nowotwory stanowią jedną z głównych przyczyn zgonów ludzi. Rak jelita grubego jest trzecim najczęściej diagnozowanym nowotworem u mężczyzn a drugim u kobiet. Ryzyko zachorowania wzrasta wraz z wiekiem i związane jest z prowadzeniem niezdrowego stylu życia (tzn.: paleniem tytoniu, brakiem aktywności fizycznej, nadwagą, spożywaniem czerwonego i przetworzonego mięsa oraz z nadużywaniem alkoholu). Jednak największe ryzyko zachorowania niesie ze sobą komponenta genetyczna, z którą związane jest nosicielstwo mutacji w genie *APC*¹³⁰⁹ oraz tło genetyczne. Identyfikacja wariantów genów, które zwiększają ryzyko zachorowania pozwoli ich nosicielom na podjęcie profilaktyki oraz umożliwi klasyfikowanie pacjentów w celu wybrania diagnostyki, metod zapobiegania i terapii choroby.

Badania nad tłem genetycznym towarzyszącym mutacji w genie *APC*¹³⁰⁹ będą prowadzone na genetycznie zmodyfikowanych świniami *APC*¹³¹¹, uzyskanych w zespole Prof. A. Schnieke, będących pierwszym dużym modelem zwierzęcym nowotworów jelita grubego człowieka, rozwijających się z polipów.

Pokolenie F1 uzyskano poprzez krzyżowanie knura *APC*1311/+ z dwoma liniami, powstałymi przy różnym udziale ras landrace niemiecki (DL) i pietrain (Pi).

Wykazano, że świnie linii o wyższym udziale rasy Pi (50%) charakteryzowały się niewielką liczbą polipów (<10), w porównaniu z ich półrodzeństwem o niższym udziale rasy Pi (25%), u których obserwowano setki polipów.

Hipoteza badawcza:

Na zróżnicowaną liczbę polipów w jelicie grubym dwóch linii świń *APC*¹³¹¹ wpływają mutacje w regionach regulatorowych i/lub modyfikacje epigenetyczne.

Cel pracy:

- Poszukiwanie polimorfizmów w wytypowanych a priori genach markerowych.
- Analiza różnic epigenomu świń *APC*¹³¹¹, u których występuje znaczne zróżnicowanie liczby polipów – grupa HP (duża liczba) i LP (małą liczbą), za pomocą:

> technologii Chip-sequencing

> Analizę metylacji DNA wysp CpG z zastosowaniem sekwencjonowania po konwersji wodorosiarczanem sodu.

Przewód doktorski: nieotwarty

Spis publikacji:

Karolczak J., Pavlyk I., Majewski Ł., Sobczak M., Niewiadomski P., Rzhetsky Y., Sikorska A., Nowak N., Pomorski P., Prószyński T., Ehler E. and Rędownicz M.J.;(2015) *Involvement of Unconventional Myosin VI in Myoblast Function and Myotube Formation.*; Histochem Cell Biol; doi 10.1007/s00418-015-1322-6

Fichna J. P., Karolczak J., Potulska-Chromik A., Misztal P., Berdyski M., Sikorska A., Filipek S., Rędownicz M. J., Kaminska A., Zekanowski C.;
Two Desmin Gene Mutations Associated with Myofibrillar Myopathies in Polish Families. (2014); PLoS ONE 9(12)

Doniesienie zjazdowe:

Sikorska A., Karolczak J., Rędownicz M.J.;
Myosin VI Involvement in Myoblast Motility and Myotube Formation; Karpacz, Poland; 27-29.06.2014
II Developmental Biology Symposium.

POTENCJALNA PŁODNOŚĆ JAKO CZYNNIK DETERMINUJĄCY PODZIAŁ PRACY U MRÓWEK.

Agnieszka Graclik IV rok SD

Opiekun: prof. dr hab. Piotr Tryjanowski

Krótkie wprowadzenie

Podział pracy na osobniki doglądające młodych (akuszerki) i zbierające pokarm (furażerki) u różnych gatunków owadów społecznych zależy od trzech głównych czynników: uwarunkowań genetycznych (osobniki z różnych linii, ojcowskich lub matczyńskich podejmują określone prace z różnym prawdopodobieństwem), polietyzmu morfologicznego (polimorfizm wśród robotnic determinuje rodzaj podejmowanej pracy) oraz polietyzmu wiekowego (wraz z upływem czasu dany osobnik zmienia rodzaj podejmowanej pracy). Czynniki te tłumaczą potrzebę podejmowania danej pracy z punktu widzenia dobra kolonii, a nie poszczególnego osobnika, stąd zasadność sprawdzenia teorii łączącej oba te aspekty. Wyjaśnić te kwestie może indywidualna potencjalna płodność, a więc predyspozycja każdej robotnicy do składania jaj w momencie śmierci królowej. Zgodnie z założeniami projektu akuszerki przebywające w gnieździe w pobliżu królowej mają większą szansę na zastąpienie jej w razie jej śmierci, niż furażerki przebywające częściej poza gniazdem, stąd powinny się one odznaczać większą potencjalną płodnością.

Hipoteza badawcza

Podział pracy na akuszerki i furażerki to podział między osobnikami o większym i mniejszym potencjale reprodukcyjnym.

Cel pracy

Badania mają na celu przetestowanie hipotezy potencjalnej płodności na szerokiej grupie gatunków mrówek z podrodzin *Ponerinae*, *Pseudomyrmecinae*, *Myrmecinae* oraz *Formicinae*. Przebadanie szerokiego spektrum gatunków umożliwi stwierdzenie czy zaobserwowana zależność jest związana wyłącznie z biologią konkretnego gatunku (np. wielkością kolonii czy rodzajem gniazda) czy też jest charakterystyczna dla mrówek w ogóle.

Materiał i metody

Badania prowadzone na mrówkach utrzymywanych w warunkach laboratoryjnych w szafach klimatycznych, znakowanych indywidualnie. Eksperyment dzielił się na 4 etapy:

Etap 1: badanie indywidualnego behawioru robotnic w koloniach: rozróżnienie akuszerki (mrówek doglądających młodych) i furażerki (mrówek zdobywających pokarm)

Etap 2: utworzenie kolonii składających się z osobników w tym samym wieku (kolonie jednokohortowe)

Etap 3: zbadanie indywidualnej potencjalnej płodności furażerek i akuszerki, tak z kolonii naturalnych, jak i jednokohortowych.

Etap 4: zbadanie czy eksperymentalne obniżenie potencjalnej płodności akuszerki prowadzi do podjęcia przez nie furażowania.

Potencjalna płodność oceniana była na podstawie wypreparowanych jajników lub porównania ilości jaj znoszonych przez mrówki w gniazdach separacyjnych

Wyniki

Już na poziomie preparacji jajników widać wyraźną różnicę w ich strukturze u robotnic z frakcji furazerek i akuszerki. Podobnie mrówki w gniazdach separacyjnych wykazują wyraźnie przeciwne względem siebie tendencje – furazerki najczęściej w ogóle nie podejmują składania jaj, podczas kiedy akuszerki niemal natychmiast przystępują do rozrodu. Analiza statystyczna została przeprowadzona dla gatunków tropikalnych *Platythyrea punctata* i *Pseudomyrmex gracilis*, wyniki potwierdziły hipotezę badawczą. Wyniki badań krajowych gatunków z gatunków *Myrmica rubra* i *Formica* są w trakcie analiz.

Podziękowania (grant NCN nr 2011 – 2013 N N304 294240)

Przewód doktorski : otwarty

Spis publikacji:

- 1) Graclik A., Wasielewski O. (2011) Diet composition of *Myotis myotis* (Chiroptera, Vespertilionidae) in Western Poland: results of faecal analyses. Turkish Journal of Zoology s. 209-213
(IF: 0,647; punkty MNiSW: 15)

- 2) Górecki M.T., Juszkiewicz A., Graclik A., Kala B. (2011) Exposure to humans and activity pattern of European souslik (*Spermophilus citellus*) in zoo conditions. Zoo biology, 2011-08-24; s. 249–254
(IF: 0,663; punkty MNiSW: 25)

- 3) Przybylska K., Haidt A., Myczko Ł., Ekner A., Rosin Z., Kwieciński Z., Tryjanowski P., Suchodolska J., Takacs V., Jankowiak Ł., Tobołka M., Wasielewski O., Graclik A., Krawczyk A., Kasprzak A., Szwajkowski P., Wylegała P., Malecha A., Mizera T. & Skorka P. (2012) Local and landscape-level factors affecting the density and distribution of the Feral Pigeon *Columba livia* var. *domestica* in an urban environment. Acta Ornithologica Vol.47 No.1
(IF: 1.229; punkty MNiSW: 20)

- 4) Graclik A., Szwajkowski P., Kasprzak K. (2011) „Możliwości czynnej ochrony gadów w środowisku przekształconym antropogenicznie, na przykładzie jaszczurki zwynki *Lacerta agilis* Linnaeus, 1758(*Reptilia, Squamata*) Zeszyty Naukowe Południowo-Wschodniego Oddziału Polskiego Towarzystwa Inżynierii Ekologicznej z siedzibą w Rzeszowie i Polskiego Towarzystwa Gleboznawczego Oddział w Rzeszowie, 14/2011; s. 23-28
(punkty MNiSW: 2)

- 5) Szwajkowski P., Graclik A., Kasprzak K. (2011) Inwazyjne gatunki żółwi stanowiące zagrożenie dla stabilności ekosystemów słodkowodnych strefy umiarkowanej. Zeszyty Naukowe Południowo-Wschodniego Oddziału Polskiego Towarzystwa Inżynierii Ekologicznej z siedzibą w Rzeszowie i Polskiego Towarzystwa Gleboznawczego Oddział w Rzeszowie, 14/2011; s. 61-65
(punkty MNiSW: 2)

- 6) Graclik A., Szwajkowski P. (2011) Obserwacja i ochrona nietoperzy jako element podwyższający atrakcyjność turystyczną miejsc bytowania tych zwierząt. Zeszyty naukowe 8(2011), Wydawnictwo Wyższej Szkoły Hotelarstwa i Gastronomii w Poznaniu, Poznań 2011, s. 155 – 164

- 7) Rozdział w książce: Graclik A. (2011) Wegetarianizm w usługach turystycznych. *Teoria i praktyka usług turystycznych, rekreacyjnych, hotelarsko – żywieniowych w świetle badań.* Wydawnictwo Wyższej Szkoły Hotelarstwa i Gastronomii w Poznaniu, s. 423-433

DIGIT RATIO JAKO BIOMARKER STRESU U PŁAZÓW

Mikołaj Kaczmarski, II rok

Opiekun: prof. dr hab. Piotr Tryjanowski, Instytut Zoologii

Krótkie wprowadzenie

Wskaźnik 2D:4D (z ang. *digit ratio*) wyraża różnice we względnej długości drugiego i czwartego palca w kończynach kręgowców. Jest on uważany za biomarker równowagi hormonalnej płodu podczas rozwoju prenatalnego, który ma wpływ na wczesny rozwój cech morfologicznych i behawioralnych. W ostatnich latach, wskaźnik 2D:4D przyciąga uwagę badaczy w biologii i psychologii. Jednakże, w celu poznania podstawy biologicznej zjawiska konieczne są szeroko zakrojone badania na organizmach innych niż człowiek. Mimo, iż dominująca hipoteza mówi, że stosunek 2D:4D jest dobrze zachowany u wszystkich czworonogów (Tetrapoda), to wyniki nielicznych prac dotyczących ssaków, ptaków i gadów, oraz płazów bezogonowych (Anura) wcale nie są jednoznaczne.

Hipoteza badawcza

1. Różnice w stosunku długości drugiego do czwartego palca (2D: 4D) u poszczególnych gatunków płazów związane są ze zróżnicowanym systemem determinacji płci (XX/XY i ZZ/ZW) występującym w gromadzie Amphibia oraz stopniem wyrażenia dymorfizmu płciowego.
2. Wskaźnik 2D:4D może służyć jako biomarker stresu spowodowanego zaburzeniami metabolizmu hormonalnego wynikającymi z zanieczyszczenia wód powierzchniowych środkami hormonalnymi i hormonami.

Cel pracy

Celem naukowym projektu jest: 1) zebranie danych o D2:D4 u krajowych przedstawicieli Salamandridae, Bufonidae, Ranidae; 2) opracowanie uniwersalnej procedury wykonywania pomiarów długości paliczek u niewielkich kręgowców jak i dalszej analizy D2:D4; 3) ocena wpływu systemów determinacji płci XX/XY i ZZ/ZW na D2:D4; 4) przetestowanie wpływu zanieczyszczenia środowiska substancjami ropopochodnymi na wskaźnik D2:D4 u ropuchy szarej *Bufo bufo*; 5) przetestowanie wpływu zanieczyszczenia hormonalnego wody (atrazyna) na wskaźnik D2:D4 u wybranego przedstawiciela Pipidae.

Wyniki

Przeprowadziliśmy badania D2:D4 u cztery gatunków traszek: *Triturus cristatus*, *Mesotriton alpestris*, *Lissotriton montandoni* i *Lissotriton vulgaris*, pochodzących ze zbiorów muzealnych w Bardejovie (Słowacja). Z powodu niewielkich wymiarów badanych obiektów stworzyliśmy metodę komputerowego pomiaru kończyn z użyciem oprogramowania do analizy kształtu (TPSDig2, TwoGroup6h). Odkryliśmy, że u *M. alpestris*, 2D:4D wszystkich czterech kończyn samic były

znacznie większe niż u samców. Także w przypadku *L. vulgaris* i *L. montandoni*, wzór się powtórzył jednakże tylko w tylnych kończynach różnice były istotne statystycznie. U *T. cristatus* nie wykazano różnic istotnie statystycznych dla wskaźnika D2:D4 co prawdopodobnie związane jest z słabo wykształconym dymorfizmem płciowym, przystosowaniem kończyn do wodnego trybu życia oraz zbyt małą próbą. Wyniki potwierdziły naszą hipotezę roboczą, że u *M. alpestris*, *L. montandoni*, *L. vulgaris*, samice mają większy stosunek 2D:4D w porównaniu do samców. Uzyskane wyniki pokazują iż wskaźnik D2:D4 u płazów ogoniastych wykazuje ten sam wzór co u większości ssaków i ptaków, w przeciwieństwie do gadów i płazów bezogonowych.

Podziękowania (nr grantu, nazwa sponsora, fundacji etc)

Przewód doktorski : nie otwarty, otwarty (data, Uczelnia, Wydział)

SPIS PUBLIKACJI

Kaczmarek M., Kubicka AM., Tryjanowski P., Hromada M. 2015 [*in press*]. Females have larger ratio of second-to-fourth digits than males in four species of Salamandridae, Caudata. The Anatomical Record Advances In Integrative Anatomy And Evolutionary Biology. DOI: 10.1002/ar.23123. MNiSW: 25, IF: 1,53.

Kolenda K., Kaczmarek M. 2015. Fabulous green frog's profesor. Alytes: 32:3-5. MNiSW: 1.

Kolenda K., Świątek Ł., Szary J., Kaczmarek M., Pstrowska K. 2015. Oleje przepracowane w środowisku wodnym jako potencjalne zagrożenie dla płazów. Kosmos 64:165-172. MNiSW: 4.

Kurek K., Bury S., Baś G., Najberek K., Kaczmarek M., Śnieżko S. 2015. Badania telemetryczne węża Eskulapa w Bieszczadach – wstępne wyniki i ocena zastosowanych metod. Chrońmy Przyrodę Ojczyzn. 70:510-522. MNiSW: 3

Kaczmarek M., Kolenda K., Pabijan M. 2014. Nowe stanowisko gniewosza płamistego *Coronella austriaca* na Ziemi Kłodzkiej. Chrońmy Przyrodę Ojczyzn. 69:71-76. MNiSW: 3.

Kaczmarek JM., Kaczmarek M., Pędziwiatr K. Atlas of amphibian distribution in Poznan – a tool for effective conservation. Materiały z II Konferencji BioGIS, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza. [przyjęte do druku]. MNiSW: 5.

Kaczmarek JM, Kaczmarek M., Pędziwiatr K. 2014. Changes in the batrachofauna in the city of Poznań over 20 years. In: URBAN FAUNA Animal, Man, and the City – Interactions and Relationships. Piotr Indykiewicz & Jörg Böhner (eds). Bydgoszcz. p. 169-177. MNiSW: 5

Kaczmarek M., Kolenda K. 2014. Handel egzotycznymi płazami w Polsce w dobie ich globalnego wymierania. In: Między Biotechnologią, a Ochroną Środowiska. Tom II. Krystyna Walińska (ed.) ISBN 978-83-7842-117-7. p. 253-270. MNiSW: 4.

Kaczmarek JM., Kaczmarek M., Pędziwiatr K., Konieczna P. 2014. Podsumowanie projektu „Atlas płazów Poznania”. Przegląd Przyrodniczy XXV: 117-123. MNiSW: 2.

Flesch A., Kaczmarowski M. 2014. W Poznaniu powstał PARK EDUKACJI PRZYRODNICZEJ im. prof. Leszka Bergera. BOCIEK. Biuletyn Klubu Przyrodników. Świebodzin, str. 24 – 27 ISSN: 1426 – 3904.

Kaczmarowski M., Kaczmarek JM., Kolenda K., Kubicka A. 2014. Zastosowanie rejestratorów wilgotności i temperatury w badaniach herpetologicznych. Borczyk B. [red.], Studenckie Prace Herpetologiczne t. I, str. 17-24. ISBN: 978-83-939167-0-2. MNiSW: 4

Kaczmarowski M., Kaczmarek JM. 2014. Six years of active conservation of amphibians in the city of Poznań, Poland. FrogLog 109, p. 17-18. ISSN: 1026-0269, eISSN: 1817-3934.

Kaczmarowski M., Kaczmarek JM. 2013. Mortality of the Smooth Newt (*Lissotriton vulgaris*) during spring migration on the protected area ‘Traszki Ratajskie’ in the city of Poznan, Poland. The Functioning and Protection of Water Ecosystems. Threats, protection and management of water resources, p. 153 – 159. ISBN: 8362298375. MNiSW: 5.