

SEMINARIUM DOKTORANCKIE  
WYDZIAŁU MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ  
I NAUK O ZWIERZĘTACH

UP Poznań

*18 czerwca 2018 r.*

Billert Maria	19
Bykowska Marta	42
Bryszak Magdalena	22
Dobrzański Jan	37
Dylewski Łukasz	2
Grzemski Adrian	12
Hoffmann Lilianna	80
Jagięło Zuzanna	58
Kaczmarek Jan	71
Kaźmierczak Sandra	10
Kęsy Mateusz	49
Krzemińska Paulina	77
Kubiś Marta	17
Kwiatkowska Patrycja Kamila	54
Leciejevska Natalia	8
Majewski Michał	25
Małyszka Natalia	47
Matysiak Alicja	75
Nowak Piotr	32
Perkowska Anna	14
Sikorska Agata	63
Składanowska-Baryza Joanna	38
Stachecka Joanna	67
Szulc Paulina	50
Świtek Stanisław	34
Tołkacz Monika	29
Wodas Łukasz	5
Woźna Joanna	52
Yulianri Rizki Yanza	56
Ziarniak Kamil	60

Łukasz Dylewski, III rok SD

Opiekun naukowy: dr hab. Janusz Kloskowski

Instytut Zoologii

## Wstęp

Inwazje biologiczne uważane są za drugą z najważniejszych przyczyn obecnej i postępującej utraty bioróżnorodności. Rośliny inwazyjne stanowią duże zagrożenie dla środowiska naturalnego, powodując wypieranie z nich naturalnie występujących gatunków, a tym samym prowadząc do zmiany charakteru zajmowanego siedliska. Od strony naukowej ważne jest poznanie i zrozumienie mechanizmów odpowiedzialnych za ich sukcesy i porażki, ponieważ zwiększa to szanse na skuteczną z nimi walkę. Odnoszenie sukcesu przez rośliny obce na obszarach poza ich naturalnym zasięgiem związane są z: produkcją związków allelopatycznych, uwolnieniem od naturalnych wrogów tj. grzyby, patogeny, wirusy, roślinożercy, konsumenci nasion, występujących w ich naturalnym zasięgu oraz przez przeznaczanie większych kosztów metabolicznych na wzrost i rozwój organów generatywnych i wegetatywnych. Rośliny inwazyjne od momentu introdukcji mogą stać się po jakimś czasie dodatkowym źródłem pokarmu dostępnym w środowisku. Te założenia przewiduje hipoteza biotycznej odporności, która zakłada, że zwierzęta mogą utrudniać inwazję gatunków obcych i stanowić rodzaj biofiltru. Włączanie do diety nasion gatunków inwazyjnych może wynikać z faktu, iż niektóre z nich produkują nasiona bogate w substancje wysokoenergetyczne (np. nasiona drzew iglastych, nasiona oleiste). Jednakże należy zwrócić uwagę na to, iż zwierzęta nie tylko mogą zjadać nasiona roślin obcych, ale także aktywnie je rozprzestrzeniać.

## Hipotezy

1. Kolczurka klapowana (*Echinocystis lobata*) uwolniona od naturalnych wrogów (roślinożercy, wirusy, patogeny) występujących w pierwotnym zasięgu ich występowania, tworzy nowe interakcje (mutualistyczne i antagonistyczne) z rodzimymi gatunkami zwierząt
2. Gryzonie jako konsumenci nasion żerujących na nasionach wpływają na populacje kolczurki klapowanej
3. Kolczurka klapowana posiada mechanizmy ochronne chroniące część wyprodukowanych diaspor przed konsumentami nasion.

## Cel

Badania mają na celu weryfikację dwóch hipotez: hipotezy uwolnienia się od wrogów, która wyjaśnia sukces gatunków inwazyjnych w miejscach introdukcji oraz hipotezy biotycznej oporności, tłumaczącej dlaczego nie wszystkie gatunki obce są w stanie przetrwać w nowym środowisku na przykładzie kolczurki klapowanej

## Materialy i Metody

### Eksperyment I

Ekspertyment przeprowadzony został na dwóch powierzchniach badawczych oddalonych od siebie o 90km. Powierzchnie charakteryzowały się typowym środowiskiem, gdzie występuje kolczurka klapowana. Na każdej powierzchni wytypowany został transekt o długości 1km na którym umieszczonych zostało 10 tacek w odległości 100m od siebie. Tacki zostały przykryte siatką o oczkach 2cm zabezpieczającą przed żerowaniem ptaków. Na każdej tacce umieszczono 6 luźnych nasion kolczurki klapowanej oraz trzy owoce. Czas trwania eksperymetu wynosił 24h. W celu sprawdzenia jakie gatunki gryzoni żerują na nasionach kolczurki klapowanej przy każdej tacce rozstawiane zostały pułapki żywołowne.

## Ekspertyment II

Na tych samych powierzchniach badawczych oraz w takich samych odległościach co w poprzednim eksperymencie, umieszczane zostały tacki dla gryzoni oraz tacki na wysokości 1.5m dla ptaków. Na każdej tacce umieszczonych zostało 30 nasion. Czas trwania eksperymetu wynosił 5 dni. W celu identyfikacji gatunków ptaków zabierających nasiona z tacki przy dwóch tackach rozstawiono fotopułapki.

## Wyniki

Wyniki pierwszych eksperymetów wykazały, że naturalni konsumenci nasion przystosowały się do żerowania na nasionach tej inwazyjnego rośliny co zaprzecza hipotezie uwolnienia się od wrogów i stanowi potwierdzenie hipotezie biotycznej odporności. Dodatkowo odkryto nową adaptację u kolczurki klapowanej chroniącą część nasion przeciwko konsumentów nasion. Gryzoni w przeciwieństwie do ptaków częściej zabierały nasiona z tacki, które następnie były gromadzone w ich skrytkach pokarmowych. Podczas eksperymetu przeprowadzonego w warunkach kontrolnych gryzoni chętniej zjadały nasiona roślin obcych (kolczurki klapowanej i kukurydzy) niż nasiona roślin rodzimych.

Wyniki tych badań będą miały duże znaczenie w walce z gatunkami inwazyjnymi roślin opanowujących nowe obszary szczególnie tereny objęte prawną ochroną (rezerwy, parki narodowe, parki krajobrazowe, użytki ekologiczne). Badania pozwoliły dokładnie zgłębić ekologię inwazyjnego gatunku kolczurki klapowanej oraz poznać nowo wytworzone interakcje między tym gatunkiem a naturalnie występującymi zwierzętami.

Przewód doktorski: nieotwarty

Stan zaawansowania: 80%

Źródło finansowania: Dotacja dla młodych naukowców nr 507.511.56

## Oryginalne prace twórcze:

Myczko Ł., **Dylewski Ł.**, Zduniak P., Sparks T. H., Tryjanowski P. (2014), Predation and dispersal of acorns by European Jay (*Garrulus glandarius*) differs between a native (Pedunculate Oak *Quercus robur*) and an introduced oak species (Northern Red Oak *Quercus rubra*) in Europe. *Forest Ecology and Management*, 331 s. 35-39. [MNiSW 45 pkt. IF= 3.064]

Myczko Ł., Skóra P., **Dylewski Ł.**, Sparks T.H., Tryjanowski P. (2015) Color mimicry of empty seeds influences the probability of predation by birds. *Ecosphere* 6:177. [MNiSW 30 pkt. IF= 2.490]

**Dylewski Ł.**, Przyborowski T., Myczko Ł. (2016). Winter habitat choice by foraging the red squirrel (*Sciurus vulgaris*). *Annales Zoologici Fennici* 53, 194-200. [MNiSW 20 pkt. IF= 1.533]

Banaszak-Cibicka W., Ratyńska H., **Dylewski, Ł.** (2016). Features of urban green space favourable for large and diverse bee populations (Hymenoptera: Apoidea: Apiformes). *Urban Forestry & Urban Greening*, 20, 448-452. [MNiSW 40 pkt. IF=2.113]

Myczko Ł., **Dylewski, Ł.**, Sparks T.H., Łochyński M., Tryjanowski, P. (2017) Co-occurrence of birds and bats in natural nest-holes. *Ibis*, 159, 235-237. [MNiSW 40 pkt. 2.279]

Kwieciński Z., Rosin ZM., **Dylewski Ł.**, Skórka P. (2017) Sexual differences in food preferences in the white stork: an experimental study. *The Science of Nature (Naturwissenschaften)* 104: 39. [MNiSW 30 pkt. IF=2.221]

**Dylewski Ł.**, Kurek P., Wiatrowska B., Jerzak L., Tryjanowski P. (2017) Man-made perching sites—electricity pylons accelerate fleshy-fruited plants succession in farmlands. *Flora* 231, 51-56. [MNiSW 25 pkt. IF=1.125]

**Dylewski Ł.**, Reuven Y., Myczko Ł. (2017) Difference on cone size preferences between two coniferous species by Great Spotted Woodpecker (*Dendrocopos major*). *PeerJ* 5:e3288. [MNiSW 35 pkt. IF=2.177]

**Dylewski Ł.**, Mikula P., Tryjanowski P., Morelli F., Yosef R. (2017) Social media and scientific research are complementary – YouTube and shrikes as a case study. *The Science of Nature* 104:48 [MNiSW 30 pkt. IF=2.221]

Myczko Ł., **Dylewski Ł.**, Chrzanowski A., Sparks T.H. (2017) Acorns of invasive Northern Red Oak (*Quercus rubra*) in Europe are larval hosts for moths and beetles. *Biological Invasions* 19, 2419–2425 [MNiSW 35 pkt. IF=2.473]

### **Granty:**

Grant Preludium: Nieczynne linie kolejowe jako ważne siedlisko dla ptaków i owadów zapylających w krajobrazie rolniczym. Nr 2016/21/N/NZ8/01289

# OCENA ZWIĄZKU POLIMORFIZMÓW GENÓW KODUJĄCYCH BIAŁKA SERWATKOWE MLEKA KLACZY (*LGB1*, *LGB2*, *LALBA*) Z POZIOMEM ICH EKSPRESJI

**Łukasz Wodas, IV rok SD**

Promotor: prof. dr hab. Dorota Cieślak  
Promotor pomocniczy: dr Jakub 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  $\beta$ -laktoglobuliny i  $\alpha$ -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 serwatkowe 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

## **Material i metody:**

Materiał podzielony był na dwie grupy: pierwszą związaną z poszukiwaniem polimorfizmów i genotypowaniem zwierząt (technika RFLP, sekwencjonowanie DNA, technika HRM), w której materiał stanowiły próby pochodzące z rutynowej kontroli pochodzenia z Laboratorium Badań Markerów Genetycznych u Koni zebrane w panel rasowy (12 ras koni). Drugą grupę materiału badawczego związaną z analizą względnego poziomu transkryptów genów (technika Real-Time PCR) stanowiły próby mleka pochodzące z projektu SONATA pobrane w 5, 10 i 15 tygodniu po wyżebieniu.

**Wyniki:**

- Analiza regionów 5'-flankujących 3 genów (LGB1 LGB2 i LALBA) kodujących białka serwatkowe mleka wykazała występowanie 14 polimorfizmów (odpowiednio 7,3,4).
- Analiza części strukturalnych genu LALBA kodującego  $\alpha$ -laktoalbuminę wykazała występowanie 10 polimorfizmów.
- Wstępna analiza części strukturalnych genu LGB1 i LGB2 kodującego  $\beta$ -laktoglobulinę wykazała występowanie stosunkowo niewielkiej liczby polimorfizmów.

**Wnioski:**

- Stwierdzono brak istotnych korelacji poziomu mRNA z poziomem białka w badanych próbach.
- Stwierdzono istotny wpływ rasy i fazy laktacji na poziom mRNA i białek w badanych próbach.
- Wykryte polimorfizmy w regionie 5'-flankującym nie wykazują związku z poziomem ekspresji genów objętych badaniem w modelu uwzględniającym wszystkie osobniki.

**Publikacje:**

## Prace naukowe:

- Cieslak J., Borowska A., Wodas L., Mackowski M. (2018). Interbreed distribution of the myostatin (MSTN) gene 5'-flanking variants and their relationship with horse biometric traits. *Journal of Equine Veterinary Science*. (IF' 2016=0.882).
- Cieslak J., Wodas L., Borowska A., Cothran E.G., Khanshour A.M., Mackowski M. (2017). Characterization of the Polish Primitive Horse (Konik) maternal lines using mitochondrial D-loop sequence variation. *PeerJ*. 5: e3714. (IF'2016=2.17).
- Cieslak J., Wodas L., Borowska A., Sadoch J., Pawlak P., Puppel K., Kuczynska B., Mackowski M. (2017). Variability of lysozyme and lactoferrin bioactive protein concentrations in equine milk in relation to LYZ and LTF gene polymorphisms and expression. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. (IF'2016=2.463).
- Cieslak J., Pawlak P., Wodas L., Borowska A., Stachowiak A., Puppel K., Kuczynska B., Luczak M., Marczak L., Mackowski M. (2016) Characterization of equine CSN1S2 variants considering genetics, transcriptomics, and proteomics. *Journal of Dairy Science*. DOI:10.3168/jds.2015-9807 (IF'2015=2.408).

**Doniesienia Konferencyjne:**

- Wodas L., Cieslak J., Borowska A., Cothran E.G., Khanshour A.M., Mackowski M. , (2017), Characteristics of the two primitive horse breeds (Polish Primitive Horse and Hucul) maternal lines using mtDNA D-loop sequence variation , 36th International Society for Animal Genetics Conference, Dublin, Ireland (16-21 July) , Abstracts: 71264.
- Cieslak J., Wodas L., Mackowski M. , (2017), The known variants of the TBX3 gene do not explain the variability of grullo coat color shades in Polish Primitive Horse (Konik) , 36th International Society for Animal Genetics Conference, Dublin, Ireland (16-21 July) , Abstracts: 71457.
- Wodas L., Mackowski M., Borowska A., Pawlak P., Cieslak J. , (2016), Association between polymorphisms of genes encoding mare's milk whey proteins(LALBA, LGB1, LGB2) and their expression level. V Polski Kongres Genetyki, Łódź 19-22 września 2016, Streszczenia: 1222.

- Cieslak J., Wodas L., Borowska A., Khanshour A., Cothran G., Mackowski M. (2016), Characterization of Polish Primitive Horse maternal lines using mitochondrial D-loop sequence polymorphism. V Polski Kongres Genetyki, Łódź 19-22 września 2016, Streszczenia: 1223.
- Cieslak J., Pawlak P., Wodas L., Borowska A., Stachowiak A., Puppel K., Kuczynska B., Luczak M., Marczak L., Mackowski M., (2015), Novel variants of the equine alpha-s2 casein (CSN1S2) and their association with gene expression level, Abstracts of the 6th International Symposium on Animal Functional Genomics. July 27-29 492015, Piacenza, Italy, Abstract 37
- Cieslak J., Mackowski M., Wodas L., Pawlak P., Cholewinski G., (2015), Polymorphism and expression of genes related to mare's milk composition, Abstracts of the 11th Dorothy Russell Havemeyer Foundation International Equine Genome Mapping Workshop. July 22-25 2015. Hannover, Germany, s. 83-84
- Kania-Gierdziewicz, R., Wilisowska, M., Maćkowski, Ł., Wodas, (2014) Analiza występowania umaszczenia srebrnego (SILV/PEML17) u koni różnych ras w Polsce., Międzynarodowa Konferencja Naukowa –Badania molekularne w naukach o zwierzętach, Kraków 9-10 czerwca 2014
- Cieślak J., Wodas Ł., Sadoch J., Maćkowski M., (2013), Polimorfizm regionów 5'-flankujących genów kodujących lizozym (LYZ) i laktoferynę (LTF) konia., IV Polski Kongres Genetyki, Poznań 10-13 września 2013, Streszczenia: 1362

#### **Prace popularno-naukowe:**

- Cieślak J., Wodas Ł., Maćkowski M. , (2017), Rzecz o koniach „kolorowych” , Hodowca i Jeździec , 3(54): 102-104.
- Cieślak J., Wodas Ł., Maćkowski M. , (2016), Analizy genetyczne umaszczeń., Hodowca i Jeździec, 2(49):
- 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 5 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., KP65838

**Przewód doktorski: otwarty –30. 06.2017 WMWiNoZ, UP Poznań**

**Planowany termin obrony: luty 2019**

# ROLA MAKROFAGÓW W ROZWOJU ZWŁÓKNIENIA MACICY KLACZY

**Natalia Leciejewska, I rok SD**

Opiekun: prof. dr hab. n. wet. Dariusz Skarżyński

Katedra Fizjologii i Biochemii Zwierząt

Za przyczynę włóknienia tkanki łącznej powszechnie uznaje się reakcje immunologiczne, zmiany w obrębie naczyń krwionośnych oraz patologiczną aktywację fibroblastów. Powodują one zaburzenia funkcjonowania i w konsekwencji niewydolność narządu. W przypadku klaczy włóknienie macicy to jedna z najczęstszych przyczyn brakowania zwierząt w stadzie i strat ekonomicznych związanych z niepłodnością.

Włóknienie endometrium jest to wynik zaburzonych reakcji komórek na stymulację hormonalną, kumulowania składników macierzy pozakomórkowej (ECM), nadmiernej proliferacji komórek zapalnych oraz tworzenia się torbieli okołogruczołowych. Endometrosis to choroba wieloczynnikowa, na wystąpienie której mogą składać się wiek, przebyte ciąży i porody. Ponadto może być efektem nawracających stanów zapalnych na skutek infekcji lub urazu. Wiele różnych typów komórek jest zaangażowanych w proces naprawy tkanek, jednak makrofagi (MΦ) wydają się pełnić kluczową rolę dzięki możliwości ich polaryzacji w odmiennym kierunku. Opisano dwie możliwości polaryzacji makrofagów- „klasycznie” aktywowane makrofagi MΦ1 oraz „alternatywnie” aktywowane MΦ2. MΦ1 ze względu na swoje zdolności sekrecyjne związane są z rozwojem procesu zapalnego, który inicjuje procesy profibrotyczne. MΦ2 pełnią przeciwzapalne funkcje i odgrywają ważną rolę w procesie naprawy tkanek. Fibroblasty związane są z odpowiedzią na przewlekły stan zapalny i jeśli aktywacja fibroblastów stanie się niekontrolowana, powodują one nasilenie procesów fibrotycznych. Wzajemna komunikacja pomiędzy MΦ, a fibroblastami nie jest dobrze poznana. Zrozumienie mechanizmów etiopatogenezy na poziomie komórkowym może przyczynić się do stworzenia nowych metod diagnostycznych jak również nowych strategii terapeutycznych.

## **Cele pracy:**

1. Określenie stosunku MΦ1 do MΦ2 w endometrium macicy klaczy z endometriosis.
2. Polaryzacja i repolaryzacja makrofagów *in vitro* z monocytów izolowanych z pełnej krwi klaczy.
3. Określenie czy makrofagi mają wpływ na funkcję fibroblastów w warunkach hodowli *in vitro*.

## **Hipotezy:**

1. W rozwoju zwłóknienia obserwuje się wzrost populacji MΦ1 w porównaniu do MΦ2
2. W warunkach *in vitro* fenotyp, morfologia, ekspresja mRNA i funkcja wydzielnicza obu typów makrofagów jest różna
3. Makrofagi poprzez parakrynną aktywność biorą udział w rozwoju zwłóknienia wpływając na fibroblasty endometrium.



**Przewód doktorski:** nieotwarty

**Publikacje:**

Kolodziejski PA, Sassek M, Chalupka D, **Leciejewska N**, Nogowski L, Mackowiak P, Jozefiak D, Stadnicka K, Siwek M, Bednarczyk M, Szwaczkowski T, Pruszynska-Oszmalek E Incretins are involved in the action of synbiotics in broiler chickens *Journal of Animal Science and Biotechnology* IF= 2,052, 1. pkt MNiSW= 35

# OPTIMALIZACJA PRACY ENZYMÓW CELULOLITYCZNYCH POCHODZĄCYCH Z JELIT OWADÓW

**Sandra Kaźmierczak, I rok SD**

Opiekun naukowy: dr hab. Oskar Wasielewski

Instytut Zoologii

## **Wprowadzenie:**

Celuloza jest jednym z najpowszechniej występujących związków w biosferze, stanowi ona składnik ścian komórkowych roślin wyższych a także niektórych glonów oraz grzybów. Produkowana jest podczas procesu fotosyntezy i obok dwutlenku węgla, ma istotne znaczenie dla obiegu węgla w przyrodzie. Część zwierząt zaadaptowało się do trawienia celulozy i pokarm obfitujący w ten polisacharyd stanowi podstawę ich diety. Owady stanowią mikroskopijne i bardzo skuteczne systemy konwersji biomasy, na które składają się enzymy endogenne oraz pochodzące od symbiotycznych organizmów - celulazy egzogenne. System trawienny owadów dostarcza wielu ciekawych informacji o działaniu enzymów celulolitycznych. Zrozumienie trawienia celulozy u owadów, wzrasta wraz z pojawianiem się nowych genomowych i proteomicznych technologii, które ułatwiają poznanie interakcji symbiotycznych, zwiększających rozkład polisacharydów roślinnych. Wiele prac naukowych poświęconych zagadnieniu trawienia celulozy pomaga zidentyfikować najsprawniej działające kompleksy enzymatyczne, które w przyszłości po oczyszczeniu umożliwią rozwój technologii degradacji produktów ligno-celulozowych i efektywniejszej produkcji biopaliwa.

## **Hipotezy badawcze:**

- Aktywności enzymów celulolitycznych u wybranych gatunków owadów jest różna.
- Różne warunki środowiska reakcji wpływają na aktywność celulaz.
- Dieta ma wpływ na aktywność celulaz.

## **Cel pracy:**

- Charakterystyka kinetyki reakcji enzymatycznej na podstawie modelu Michaelisa-Menten.
- Optymalizacja warunków dla enzymów celulolitycznych u poszczególnych gatunków owadów.

**Przewód doktorski:** nie otwarty

**Finansowanie:** Badania finansowane są z grantu „Enzymatyczna hydroliza celulozy – poszukiwanie nowych kompleksów celulaz”. Nr projektu: 2014/13/B/NZ9/02442

**Kierownik projektu:** dr Kinga Szentner

# WPLYW ZMIENNOŚCI LICZBY KOPII FRAGMENTÓW GENOMU NA OTYŁOŚĆ U PSÓW RASY LABRADOR RETRIEVER

**Adrian Grzemeski, II rok SD**

Promotor: prof. dr hab. Maciej Szydlowski

Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt

## **Wstęp:**

Pomimo wielu lat badań genetyczne podłoże otyłości oraz predyspozycji do rozwinięcia otyłości pozostają wciąż słabo poznane. Wiedza na temat otyłości u psów, zwierzęcia uznawanego za dobry model chorób człowieka, jest jeszcze skromniejsza. Klasą wariantów, która do tej pory nie była szeroko badana w kontekście otyłości jest zmienna liczba kopii fragmentów genomu (ang. Copy Number Variation). Dotychczasowe badania wykazały związek między zmiennością w liczbie kopii a występowaniem otyłości u ludzi. U psa, jak dotąd zdołano, wytypować jedynie 3 rejony kandydujące zawierające geny powiązane z otyłością u ludzi, w których wykryto występowanie CNVów.

## **Hipotezy:**

- I. Zmienna liczba kopii obszarów w genomie psa ma wpływ na rozwój otyłości.
- II. Struktura zmienności liczby kopii oraz miejsca ich występowania wykazują podobieństwo do genomu człowieka.

## **Cele:**

- 1) Analiza danych z całogenomowego sekwencjonowania 50 psów w celu wykrycia potencjalnych regionów o zmiennej liczbie kopii i powiązanie ich z otyłością u psów.
- 2) Dokonanie opisu wykrytych CNVów, ich dystrybucji na chromosomach, długości, charakterystyka regionów, w których występują.
- 3) Wykonanie analizy porównawczej między CNVami psa i człowieka wykorzystując bazy danych wariantów.

## **Materiały i metody:**

CNVy wykryte z całogenomowego sekwencjonowania 50 psów rasy Labrador Retriever zostaną przeanalizowane z wykorzystaniem oprogramowania statystycznego i bioinformatycznego.

## **Wstępne wyniki:**

W ramach pracy doktorskiej dokonano oceny jakości opisu genomu psa. Dodatkowo wytypowano listę genów kandydujących powiązanych z występowaniem otyłości u ludzi z

wykorzystaniem danych literaturowych oraz metod informatycznych. Zaawansowanie pracy doktorskiej oceniam na 40%.

Projekt badawczy realizowany w ramach grantu: OPUS 12 2016/23/B/NZ2/01762

# ZNACZENIE POLIMORFIZMU I EKSPRESJI WYBRANYCH GENÓW KANDYDUJĄCYCH DLA ROZWOJU POLIPÓW JELITA GRUBEGO I ZMODYFIKOWANYCH GENETYCZNIE ŚWIŃ W *LOCUS* GENU *APC*

**mgr Anna Perkowska, IV rok SD**

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

Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt

Ko-promotor: dr hab. Tatiana Flisikowska, Uniwersytet Techniczny w Monachium, Wydział Nauk o Życiu, Weihenstephan, Freising

## **Wprowadzenie**

Nowotwór jelita grubego jest pierwotnym nowotworem złośliwym wywodzącym się z nabłonka błony śluzowej jelita. Jest trzecim najczęstszym nowotworem złośliwym u mężczyzn i drugim u kobiet. W ostatnich latach notuje się wzrost zachorowań na ten typ nowotworu, co spowodowane jest czynnikami środowiskowymi, takimi jak: dieta typowa dla krajów wysokorozwiniętych (duża ilość czerwonego mięsa i tłuszczów nasyconych, zbyt małe spożycie warzyw, owoców oraz błonnika), palenie tytoniu, otyłość, nadużywanie alkoholu oraz brak aktywności fizycznej (WHO, 2014). Rak jelita grubego, poza czynnikami środowiskowymi, ma również podłoże genetyczne. Choroby takie jak zespół Lyncha (dziedziczny rak jelita grubego niezwiązany z polipowatością) oraz FAP (rodzinna polipowatość gruczolakowata) rozpoczynają się od utworzenia w jelicie grubym niezłośliwych gruczolaków lub pojedynczych polipów. Wraz z progresją choroby liczba polipów zwiększa się, prowadząc do ich transformacji w kierunku nowotworów złośliwych. Przyczyną powstawania polipów u osób z FAP jest mutacja genu *APC* (adenomatous polyposis coli). Gen ten koduje białko wchodzące w skład szlaku sygnałowego Wnt, który bierze udział w kontroli transkrypcji genów związanych z proliferacją komórkową. Kodowane białko ma charakter supresorowy dla rozwoju nowotworów, stąd mutacje tego genu pełnią istotną rolę w zapoczątkowaniu procesu nowotworzenia (Nätke, 2004). Ze względu na znaczne różnice w wielkości ciała oraz fizjologii małe zwierzęta modelowe, takie jak myszy i szczury, mają ograniczone zastosowanie w badaniach nad rakiem jelita grubego ludzi. Z tego względu utworzono świński model obarczony mutacją w genie *APC* (Flisikowska i wsp., 2012). Świnie *APC*<sup>I311/+</sup> są odpowiednikami dominującej mutacji u ludzi (*APC*<sup>I309</sup>), odpowiedzialnej za zespół rodzinnej polipowatości gruczolakowatej (FAP). Mutację tę uzyskano na drodze krzyżowania heterozygotycznego knura (*APC*<sup>I311/+</sup>) ze świniami z różnym udziałem ras niemieckiej krajowej (DL) oraz pietrain (Pi). W konsekwencji uzyskano świnie z dużą liczbą polipów (high polyps, HP) małą liczbą polipów (low polyps, LP), które różniły udziałem się rasy pietrain w ich genotypie: w linii LP 25%, a w linii HP 12,5%.

## **Hipoteza badawcza**

Polimorfizmy (SNP) występujące w wybranych genach związanych z procesem nowotworzenia w jelicie grubym mogą wpływać na poziom ekspresji tych genów. Szczególne znaczenie mają dziedziczne warianty genów, określane terminem polimorfizmów lub mutacji germinalnych (Flisikowski i wsp., 2017). Wykazanie różnic w poziomie ekspresji genów w zależności od zidentyfikowanych polimorfizmów w genach kandydujących u świń zdrowych oraz świń modyfikowanych genetycznie w *locus APC* może dostarczyć informacji na temat

niepoznanych jeszcze mechanizmów prowadzących do zróżnicowanego tempa rozwoju polipów jelita grubego.

### **Cel badań**

Identyfikacja polimorfizmów w wybranych genach kandydujących (takich jak: *TAP1*, *APC*, *ME1* oraz *MMP1*) i analiza ich wpływu na ich ekspresję w błonie śluzowej jelita grubego modyfikowanych genetycznie świń w *locus APC* różniących się tempem rozwoju polipów oraz świń reprezentujących wybrane rasy komercyjne.

### **Materiały i metody**

Materiał badawczy stanowią genetycznie zmodyfikowane świnię *APC<sup>I311/+</sup>* o niskiej liczbie polipów (Low Polyp, LP) oraz o dużej liczbie polipów (High Polyp, HP). Grupę kontrolną stanowią blisko spokrewnione osobniki bez wprowadzonej mutacji oraz niemodyfikowane genetycznie świnię rasy polska biała zwisłoucha (pbz), wielka biała polska (wbp), pietrain, duroc, hampshire oraz linia syntetyczna 990. Metody: Izolacja DNA, izolacja RNA, PCR, sekwencjonowanie kapilarne technika Sangera, reakcja odwrotnej transkrypcji (RT-PCR), real-time PCR (qPCR), klonowanie molekularne, ocena poziomu transkrypcji z wykorzystaniem techniki SEAP (sekrecji embrionalnej alkalicznej fosfatazy), analiza metylacji w oparciu o konwertowany DNA i pirosekwencjonowanie.

### **Wyniki**

W pracy doktorskiej do badań wytypowano geny: *TAP1*, *APC*, *ME1* oraz *MMP1*. Gen *TAP1* został wybrany *a priori* w oparciu o dane literaturowe, bowiem należy on do genów związanych z głównym kompleksem zgodności tkankowej i bierze udział w odpowiedzi immunologicznej. Badania koncentrowały się na analizie porównawczej polimorfizmu genu *TAP1* w prawidłowych komórkach (poszukiwanie polimorfizmów germinalnych) i związku między wariantami polimorficznymi w promotorze tego genu i jego poziomem transkrypcji. Sekwencjonowaniem objęto świnię linii LP i HP oraz 6 ras kontrolnych i 1 linii syntetycznej. Łącznie zsekwencjonowano fragment o długości ponad 5 000 pz, który obejmował sekwencję promotorową, 5'- i 3'-UTR, całą sekwencję kodującą oraz część sekwencji intronowych. Ogółem zidentyfikowano 40 polimorfizmów, a w tym 38 opisano po raz pierwszy. W części 5' flankującej genu *TAP1* zidentyfikowano 11 polimorfizmów, 6 w części 3'UTR, w intronach opisano 12 oraz 11 w części kodującej genu. Dla polimorfizmów w części 5' flankującej przeprowadzono analizę *in silico* miejsc wiązania czynników transkrypcyjnych. Wykonano również analizę aktywności promotora, w zależności od występujących polimorfizmów, przy pomocy techniki SEAP. Badanie to wykazało istotny wpływ 7 polimorfizmów na aktywność promotorową genu *TAP1*. Analiza ekspresji genu *TAP1* wykazała statystycznie istotne różnice w ekspresji między linią LP i HP. Linia LP miała znacząco niższą ekspresję ( $p < 0.05$ ) niż linia HP. Wykonano również analizę metylacji dla promotora genu *TAP1* i wykazano statystycznie istotną różnicę ( $p < 0.05$ ) dla jednej z badanych cytozyn. Opisane powyżej wyniki są opisane w maszynopisie pracy oryginalnej, w której jestem pierwszym autorem. Aktualnie manuskrypt znajduje się w recenzjach czasopisma Gene. Badania genu *APC* prowadzone są ze względu na jego kluczową rolę w patogenezie FAP. Podkreślić należy, że dotąd struktura i polimorfizm tego genu nie były badane u świni domowej. W badaniu genu *APC* opisaliśmy 18 polimorfizmów występujących w części kodującej genu. Zidentyfikowaliśmy również wariant splicingowy obejmujący ekson 1. W nabłonku jelita grubego oraz w wątrobie świni zaobserwowaliśmy wariant splicingowy zawierający wszystkie eksony, natomiast w mięśniach szkieletowych zidentyfikowaliśmy wariant pozbawiony eksonu 1. Badania genów *ME1* oraz *MMP1* podjęto ze względu na wyniki statystyczne RNA-seq wskazujące na ich rolę w patogenezie powstawania polipów. Wyniki analizy qPCR wskazują na statystycznie istotne różnice ekspresji tych genów pomiędzy liniami LP oraz HP.

**Przewód doktorski:** Otwarty 30.06.2017, UP Poznań, WMWNZ

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

Spis publikacji

1. Oryginalne prace twórcze:

„WNT/ $\beta$ -Catenin Signaling Affects Cell Lineage and Pluripotency-Specific Gene Expression in Bovine Blastocysts: Prospects for Bovine Embryonic Stem Cell Derivation” Madeja ZE, Hryniewicz K, Orsztynowicz M, Pawlak P, **Perkowska A**

Stem Cells and Development, (IF’2015= 3,727, 5-years IF’= 4,06, Pkt. MNiSW= 40)

"Porcine familial adenomatous polyposis model enables systematic analysis of early events in adenoma progression, T Flisikowska, M Stachowiak, H Xu, A Wagner, A Hernández-Cáceres, C Wurmser, C Wander, H Pausch, K Fischer, **A Perkowska**, D Frishman, R Fries, M Switonski, A Kind, D Saur, A Schnieke, K Flisikowski. 2017. Scientific Reports (IF’2017=2,259, 5-years IF’=4,847, MNiSW=40)

2. Artykuły naukowe w czasopismach recenzowanych

"Germline gene polymorphisms predisposing domestic mammals to carcinogenesis" Flisikowski, Krzysztof; Flisikowska, Tatiana; Sikorska, Agata; **Perkowska, Anna**; Kind, Alex; Schnieke, Angelika; Świtonski, Marek. Veterinary and Comparative Oncology, 2015 (IF’2015= 2,733, 5-years IF’= 2,34, Pkt. MNiSW= 35)

3. Artykuł popularno-naukowy:

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

4. Doniesienia konferencyjne – streszczenia w materiałach konferencyjnych:

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

**Perkowska A.**, Flisikowska A, Flisikowski K, Schnieke A, Kindl A, Świtoński M (2016). Comparative sequence analysis of *APC* and *TAP1* genes in genetically modified pig-models for human colorectal cancer. V Polski Kongres Genetyki, Łódź 19-22.09.2016

Stachowiak M., Flisikowska T., Wander C., **Perkowska A.**, Sikorska A., Kind A., Schnieke A., Flisikowski K., Świtoński M. (2017). Poziom ekspresji wybranych genów u zmodyfikowanych genetycznie świń *APC<sup>D311</sup>* z różnym tempem rozwoju polipów w jelicie grubym. Zjazd Katedr Jednoimiennych - Genetyki i Metod Hodowli Zwierząt, 3-5. lipca 2017r w Lublinie.

Flisikowska T., Wander C., Wagner A., Bruening F., Kind A., Flisikowski K., Schnieke A., Wurmser C., Fries R., Stachowiak M., **Perkowska A.**, Switonski M, Bauersachs S., Saur D.. Precancerous molecular features committing development of colonic polyps revealed by



studies on the porcine model of human familial adenomatous polyposis. Poster, ISAG 2016, Salt Lake City

## ŻYWIENIOWE INTERAKCJE POMIĘDZY EGZOGENNYMI KARBOHYDRAZAMI I EMULSYFIKATORAMI W BADANIACH NA DROBIU

**Marta Kubiś, II rok SD**

Opiekun: dr hab. Sebastian Kaczmarek

Katedra Żywienia Zwierząt

Przewód nieotwarty

**Wprowadzenie:** Efektywne trawienie i wchłanianie kwasów tłuszczowych jest możliwe tylko wtedy gdy utworzą one micelle w przewodzie pokarmowych. Jest to proces niezbędny ze względu na hydrofobowe właściwości związków tłuszczowych. W przewodzie pokarmowym w tym procesie uczestniczą emulsyfikatory (tj. sole żółciowe). Do poprawy strawności tłuszczu pochodzącego z paszy w początkowym okresie odchowu stosuje się dodatek egzogennej emulsyfikatorów. W paszach pochodzenia roślinnego występuje frakcja polisacharydów nieskrobiowych (NSP). Ich niekorzystny wpływ na wyniki produkcyjne polega na znacznym zwiększeniu lepkości treści pokarmowej, co z kolei powoduje spore ograniczenia w trawieniu i wchłanianiu składników pokarmowych. Zwiększona lepkość w przewodzie pokarmowym może być również przyczyną rozwoju niekorzystnej mikroflory. W żywieniu drobiu dość popularne jest stosowanie enzymów mających ograniczyć negatywne działanie węglowodanów nieskrobiowych. W poprzednich doświadczeniach badających wpływ karbohidraz i emulsyfikatorów na strawność składników pokarmowych zauważono ciekawą interakcję pomiędzy tymi dwoma dodatkami. Wykazano, że strawność węglowodanów (NDF) jest większa w paszach z karbohidrazą i emulsyfikatorem niż w przypadku stosowania samego enzymu.

**Hipoteza badawcza:** Karbohidrazy jak i emulsyfikatory wpływają na skład ilościowy i jakościowy mikroflory układu pokarmowego drobiu poprawiając wykorzystanie składników pokarmowych a także rozkład mikrobiologiczny węglowodanów strukturalnych w dolnym odcinku układu pokarmowego

**Cel badań:** Określenie zmian w wykorzystaniu składników pokarmowych, i składzie mikroflory układu pokarmowego po zastosowaniu emulsyfikatora, karbohidrazy lub mieszaniny obu.

**Materiały i Metody** W doświadczeniu wykorzystano 480 jednodniowych kogutków linii ROSS 308. Ptaki zostały losowo rozmieszczone w klatkach podłogowych i podzielone na 4 grupy doświadczane (15 powtórzeń w każdej, 8 ptaków w powtórzeniu). Pierwsza grupa żywiona była dietą podstawową (DP) (kukurydziano-pszena, poekstrakcyjna śruta sojowa i łój wołowy) bez żadnego dodatku. W drugiej grupie do DP dodano emulsyfikator (E), natomiast w trzeciej enzym - ksylanaza (K). Ostatnia grupa otrzymywała paszę (DP) z dodatkiem (E) + (K). Zawartość łożu wołowego zmieniała się w czasie trwania doświadczenia od 0 % (starter) do prawie 6 % w diecie finiszera.

**Wyniki** Zauważono tendencję ( $P=0.051$ ) do poprawy FI po dodaniu (E) lub (E) + (K). W grupach z dodatkiem emulsyfikatora lub emulsyfikatora + ksylanazy ptaki charakteryzowały się istotnie wyższym BWG ( $P<0.001$ ) w 42 dniu doświadczania niż pozostałe grupy. FCR został poprawiony we wszystkich grupach doświadczalnych w porównaniu z grupą kontrolną

( $P < 0.01$ ). Również strawność tłuszczu została ulepszona we wszystkich grupach doświadczalnych ( $P < 0.05$ ).

**Wnioski** Rezultaty doświadczenia wskazują, że dodatek emulsyfikatora pozytywnie wpłynął na wyniki odchowu kurcząt, zarówno w grupach z dodatkiem ksylanazy (E) + (K) jak i tych bez niej (E).

# ROLA KANAŁU TRPV4 W REGULACJI EKSPRESJI I SEKRECJI INSULINY ORAZ PROLIFERACJI I ŚMIERCI KOMÓREK BETA WYSP TRZUSTKI

**Maria Billert, IV rok SD**

Promotor: prof. dr hab. Krzysztof W. Nowak

Promotor pomocniczy: dr inż. Marek Skrzypski

Katedra Fizjologii i Biochemii Zwierząt

## **1. Wprowadzenie**

W homeostazie wapnia niezbędnego w procesach regulacji wydzielania insuliny w komórkach beta trzustki kluczową rolę odgrywają kanały jonowe przepuszczalne dla jonów wapnia, m.in. rodzina wrażliwych na temperaturę receptorów waniloidowych TRPV (ang. *transient receptor potential vanilloid*). Należący do tej grupy kanał TRPV4 bierze udział w procesach regulacji metabolizmu i wrażliwości na insulinę. Biorąc pod uwagę dotychczasowe dane na temat roli kanału TRPV4 w komórkach beta wysp trzustki oraz mając na uwadze fakt, że jony wapnia uczestniczą w regulacji niemal wszystkich funkcji komórek beta, przypuszcza się, że aktywność tego kanału może mieć ważne znaczenie dla fizjologii tych komórek.

## **2. Hipoteza badawcza**

Kanał TRPV4 bierze aktywny udział w regulacji ekspresji mRNA insuliny, proliferacji i apoptozie komórek beta trzustki oraz pośredniczy w procesach związanych z sekrecją insuliny.

## **3. Cel badań**

Celem badań jest scharakteryzowanie roli kanału TRPV4 w ekspresji wybranych genów zaangażowanych w metabolizm i proliferację oraz ekspresję i sekrecję insuliny w komórkach beta trzustki, a także procesy proliferacji i apoptozy. Zostanie podjęta próba identyfikacji wewnątrzkomórkowych mechanizmów odpowiedzialnych za efekty TRPV4 w komórkach beta oraz mechanizmy regulacji sekrecji insuliny w związku z aktywacją TRPV4. W celu poznania endogennych czynników, które mogą regulować aktywność TRPV4 komórkach beta w normalnym stanie fizjologicznym, zbadany zostanie wpływ wysokiej glukozy oraz agonisty receptora glikokortykoidów, deksametazonu. Część badań zostanie powtórzona na izolowanych od szczura wyspach trzustkowych, oceniony będzie również wpływ sekrecję glukagonu.

## **4. Materiał i metody**

Materiał: szczurza linii komórek beta INS-1E oraz izolowane od szczurów szczepu Wistar wyspy trzustkowe

Metody: hodowle komórkowe, izolacja wysp trzustkowych, transfekcja siRNA, izolacja RNA, odwrotna transkrypcja, real time PCR, izolacja białek, western blot, testy kolorymetryczne i ELISA, immunofluorescencja pomiar dokomórkowego transportu  $Ca^{2+}$

przy użyciu fluorochromu Fluo-3 AM oraz Fura-2 AM, chemiluminescencyjny pomiar stężenia azotynów w medium komórkowym.

## 5. Wyniki badań

Aktywacja kanału TRPV4 pod wpływem syntetycznego agonisty, GSK1016790A, moduluje ekspresję insuliny w komórkach INS-1E. Efekt ten jest dwufazowy; po 3 godz. obserwowano zwiększenie poziomu ekspresji genów związanych z sekrecją insuliny, a po 24 godz. odnotowano ich spadek. Wykazano, że aktywacja TRPV4 prowadzi do wzrostu śmierci komórek po 24 godz. inkubacji. Ponadto, określono wpływ kanału TRPV4 na fosforylację ERK1/2, uzyskując znaczący wzrost w stosunku do kontroli po 5 i 10 min. inkubacji z GSK1016790A. Zbadano także wpływ GSK1016790A na stężenie azotynów  $\text{NO}_2^-$  w medium hodowlanym po 24 h inkubacji, gdzie wykazano stymulujący efekt agonisty TRPV4 na stężenie  $\text{NO}_2^-$ . Określono także wpływ GSK1016790A na ekspresję indukowalnej syntazy NO (iNOS) po 24 h inkubacji. Obserwowany wzrost poziomu ekspresji i  $\text{NO}_2^-$  powiązano ze wzrostem aktywności śmierci komórek po 24 h i spadkiem ekspresji mRNA insuliny. Wykazano, że zastosowanie inhibitora syntaz NO, L-NAME, prowadzi do odwrócenia obserwowanego efektu hamowania ekspresji insuliny oraz wzrostu śmierci komórek po 24 godz. inkubacji. Badania prowadzone na izolowanych od szczurów wyspach trzustkowych wykazały, że GSK1016790A powoduje wzrost ekspresji mRNA insuliny po 3 h, ale nie wywiera żadnego efektu po 24 h inkubacji.

## 6. Podziękowania

Badania zostały sfinansowane z projektu „Juventus Plus”, nr IP2014 042273 (kierownik: dr hab. Marek Skrzypski) oraz z dotacji celowej finansującej badania dla młodych naukowców (nr 507.558.82 i 507.558.13)

**Stan zaawansowania:** 55%

**Przewód doktorski:** otwarty (26.05.2017 r., Rada Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu)

### Spis publikacji:

1. **Billert M**, Skrzypski M, Sassek M, Szczepankiewicz D, Wojciechowicz T, Mergler S, Strowski MZ, Nowak KW. 2017. TRPV4 regulates insulin mRNA expression and INS-1E cell death via ERK1/2 and NO-dependent mechanisms. *Cellular Signalling*, 35:242-249. doi: 10.1016/j.cellsig.2017.03.018. pkt MNiSW – 30
2. Skrzypski M, Billert M, Nowak KW, Strowski MZ. 2018. The role of orexin in controlling the activity of the adipo-pancreatic axis. *J Endocrinol*, May 30. doi: 10.1530/JOE-18-0122. pkt MNiSW – 35
3. Kaczmarek P, Skrzypski M, Pruszyńska-Oszmałek E, Sassek M, Kolodziejcki PA, Billert M, Szczepankiewicz D, Wojciechowicz T, Maechler P, Nowak KW, Strowski MZ. 2017. Chronic orexin-A (hypocretin-1) treatment of type 2 diabetic rats improves glucose control and beta-cell functions. *J Physiol Pharmacol*, Oct;68(5):669-681. pkt MNiSW – 25

4. Skrzypski M, Billert M, Mergler S, Khajavi N, Nowak KW, Strowski MZ. 2017. Role of TRPV channels in regulating various pancreatic  $\beta$ -cell functions: Lessons from in vitro studies. *BioScience Trends*, 11(1), pp. 9-15. pkt MNiSW – 25
5. Kołodziejski PA, Pruszyńska-Oszmałek E, Sassek M, Kaczmarek P, Szczepankiewicz D, Billert M, Mackowiak P, Strowski MZ, Nowak KW. 2017. Changes in obestatin gene and GPR39 receptor expression in peripheral tissues of rat models of obesity, type 1 and type 2 diabetes. *Journal of Diabetes*, 9(4), pp. 353-361. pkt MNiSW – 25
6. Wojciechowicz T, Skrzypski M, Szczepankiewicz D, Hertig I, Kołodziejski PA, Billert M, Strowski MZ, Nowak KW. 2016. Original Research: Orexins A and B stimulate proliferation and differentiation of porcine preadipocytes. *Experimental biology and medicine*, 241(16), pp. 1786-1795. pkt MNiSW – 25
7. Skrzypski M, Khajavi N, Mergler S, Billert M, Szczepankiewicz D, Wojciechowicz T, Nowak KW, Strowski MZ. 2016. Orexin A modulates INS-1E cell proliferation and insulin secretion via extracellular signal-regulated kinase and transient receptor potential channels. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 67(5), pp. 643-652. pkt MNiSW – 25
8. Skrzypski M, Khajavi N, Mergler S, Szczepankiewicz D, Kołodziejski PA, Metzke D, Wojciechowicz T, Billert M, Nowak KW, Strowski MZ. 2015. TRPV6 channel modulates proliferation of insulin secreting INS-1E beta cell line. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1853(12), pp. 3202-3210. pkt MNiSW – 35
9. Arafat AM, Kaczmarek P, Skrzypski M, Pruszyńska-Oszmałek E, Kołodziejski P, Adamidou A, Ruhla S, Szczepankiewicz D, Sassek M, Billert M, Wiedenmann B, Pfeiffer AF, Nowak KW, Strowski MZ. 2014. Glucagon regulates orexin a secretion in humans and rodents. *Diabetologia*, 57(10), pp. 2108-2116. pkt MNiSW – 40

# ŁUBIN WĄSKOLISTNY JAKO POTENCJALNY CZYNNIK MODULUJĄCY PROCES BIOUWODOROWANIA I METANOGENEZY W ŻYWIENIU KRÓW MLECZNYCH

Magdalena Bryszak, I rok SD

Opiekun pracy: Prof. dr hab. Adam Cieślak

Katedra Żywienia Zwierząt

**Wstęp:** Deficyt białka na świecie, w tym białka paszowego, jest przyczyną powrotu do analizy możliwości wykorzystania w żywieniu zwierząt pasz, które w przeszłości m.in. z uwagi na zawartość czynników antyżywniowych, zostały wyeliminowane z powszechnego stosowania. Zapotrzebowanie na białko paszowe w Polsce, wynoszące około 1 milion ton rocznie, aż w 80% jest pokrywane paszami z importu, głównie poekstrakcyjną śrutą sojową (Hanczakowska i Księżak, 2012). Tańsze krajowe źródła białka potencjalnie mogą stanowić zamiennik białka importowanego i tym samym zmniejszyć jego deficyt. Koniecznym jednak jest sprawdzenie oddziaływania proponowanych źródeł białka na procesy fizjologiczne zachodzące w żywieniu zwierząt.

**Hipoteza badawcza** zakładała, że dodatek śrutowanych nasion łubinu wąskolistnego, jako nośnika polisacharydów nieskrobiowych (NSP), do dawki pokarmowej dla krów mlecznych zmieniając ilość i jakość mikroorganizmów bytujących w żwaczu, ograniczy proces biouwodorowania i metanogenezy, zwiększając tym samym ilość niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych w mleku. Suplementacja dawki łubinem obniży ponadto produkcję metanu, ograniczając negatywne oddziaływanie produkcji zwierzęcej na środowisko naturalne.

**Cele badawcze:** Celem pracy była ocena zastosowania łubinu wąskolistnego odmiany Tango, jako komponentu dawki pokarmowej wysoko wydajnych krów mlecznych i jego wpływu na proces biouwodorowania nienasyconych kwasów tłuszczowych w żwaczu oraz profil długołańcuchowych kwasów tłuszczowych w mleku. Oceniony został także rozmiar produkcji i emisji metanu.

**Materiał i metody:** W celu weryfikacji hipotezy badawczej przeprowadzono doświadczenie z wykorzystaniem 48 krów mlecznych. Doświadczenie trwało 60 dni. W 58 dniu przez powłoki skórne pobrano płyn żwacza, z którego wyizolowano bakteryjne DNA oraz określono ilościową oraz jakościową liczebność metanogenów odpowiadających za proces metanogenezy. Pomiar ilościowy bakteryjnego DNA dla wybranych gatunków oraz całkowitej liczby bakterii w żwaczu oraz poziom ekspresji genów wykonano przy użyciu metody real-time PCR, natomiast liczebność metanogenów została określona za pomocą fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH). Dodatkowo, podczas doświadczenia zebrano próby mleka w celu określenia ilości niezbędnych, nienasyconych kwasów tłuszczowych z ich izomerycznymi formami. Dodatkowo określono ekspresję 5 genów [carboxylazy 1 acetyl-CoA (ACACA), syntetazy kwasów tłuszczowych (FASN), lipazy lipoproteinowej (LPL), desaturazy stearoyl-CoA (SCD), desaturazy 1 kwasów tłuszczowych (FADS1) oraz elongazy 5 kwasów tłuszczowych (ELOVL5)] odpowiedzialnych za procesy syntezy, elongacji i denaturacji kwasów tłuszczowych w gruczole mlekowym. Oznaczenia profilu długołańcuchowych kwasów tłuszczowych wykonano przy użyciu chromatografu gazowego

(Brucker-456GC). Wszystkie uzyskane wyniki zostały poddane weryfikacji statystycznej z wykorzystaniem testu t-studenta.

**Wyniki:** Badania wykazały istotnie statycznie zredukowanie względnej ilości DNA bakterii *Anaerovibrio lipolytica* (o 46 %), *Fibrobacter succinogenes* (o 76 %) oraz *Ruminococcus albus* (o 48%) w stosunku do grupy kontrolnej. Nie stwierdzono różnic dla względnej ilości DNA bakterii *Butyrivibrio fibrisolvens* oraz *Fibrobacter succinogenes*. Stwierdzono wybiórcze oddziaływanie NSP na wskaźniki biochemiczne żwacza a także na wzajemne proporcje mikroorganizmów w żwaczu. Dodatek łubinu odmiany „Tango” obniżył liczebność metanogenów ( $P < 0.05$ ), poprzez ograniczenie ilości dostępnego wodoru – substratu do prawidłowego wzrostu i rozwoju metanogenów. Wyniki analizy ekspresji genów wykazały statystycznie istotne zmiany w ekspresji dwóch genów (LPL i ELOVL 5). Zmniejszona ekspresja LPL może skutkować zmniejszeniem zawartości C10:0, C12:0; C14:0; C16:0 i C18:0. Ponadto, wzrost względnej obfitości transkryptu ELOVL 5 może być związany ze wzrostem zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (np. C18:2 c9 c12; C20:2, C20:3n3, C22:2, C20:5n3) w stosunku do grupy kontrolnej.

**Podsumowanie:** W podsumowaniu należy stwierdzić, iż łubin wąskolistny odmiany Tango jest nie tylko dobrym nośnikiem białka w diecie przeżuwaczy, ale także działa redukująco na populację ilościową wybranych metanogenów, co w rezultacie przyczynia się do zmniejszenia emisji metanu wysoko wydajnych krów wpływając pozytywnie na środowisko naturalne.

**Przewód doktorski: nieotwarty**

**Finansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego, V edycja  
Diamentowego Grantu (ID 323627)**

**Spis publikacji :**

1. Effects of herbal nutraceuticals and/or zinc against *Haemonchus contortus* in lambs experimentally infected. Váradyová, Z., Mravčáková, D., Babják, M., Bryszak, M., Grešáková, L., Čobanová, K., & Slusarczyk, S. (2018). BMC veterinary research, 14(1), 78. IF 1.750, liczba punktów MNiSW: 40 pkt,
2. Blood serum metabolic profile and fatty acid composition in sheep fed concentrates with *Camelina sativa* cake and distillers dried grains with solubles. R. Steppa, A. Cieślak, M. Szumacher-Strabel, S. Bielińska-Nowak, M. Bryszak, M. Stanis, K. Szkudelska, (2017) Small Ruminant Research, 156, 20-26 IF 0.947, liczba punktów MNiSW: 30 pkt,
3. The effect of triterpenoid saponins from *Saponaria officinalis* on some blood hormones, metabolic parameters and fatty acid composition in dairy cows, Szkudelska K., Szumacher-Strabel M., Szczechowiak J., Bryszak M., Pers-Kamczyc E., Stochmal A., Cieslak A. (2016) Journal of Agricultural Science, 154 (03), 532-541, IF = 1.157, liczba punktów MNiSW 35 pkt,
4. Tannins from *Sanguisorba officinalis* affect in vitro rumen methane production and fermentation. Cieslak A., Zmora P., Matkowski A., Nawrot-Hadzik I., Pers-Kamczyc E., El-Sherbiny M., Bryszak M., Szumacher-Strabel M., (2016). Journal of Animal and Plant Sciences 26 (1): 54-62., IF = 0.448, liczba punktów MNiSW 20 pkt,

5. Effect of dietary supplementation with *Saponaria officinalis* root on rumen and milk fatty acid proportion in dairy cattle (2016) Szczechowiak J., Szumacher-Strabel M., El-Sherbiny M., **Bryszak M.**, Stochmal A., Cieślak A. (2016) *Animal Science Papers and Reports*, 33 (3) 221-232 liczba punktów MNiSW 25 pkt,
6. Cieślak, A., El-Sherbiny, M., Szczechowiak, J., Kowalczyk, D., Pers-Kamczyc, E., **Bryszak, M.** & Szumacher-Strabel, M. (2015). Rapeseed and fish oil mixtures supplied at low dose can modulate milk fatty acid composition without affecting rumen fermentation and productive parameters in dairy cows. *Animal Science Papers and Reports*, 33(4), 357-372. liczba punktów MNiSW 25 pkt.



# LEKOOPORNOŚĆ SZCZEPÓW *ESCHERICHIA COLI* STANOWIĄCYCH NATURALNĄ FLORE JELIT KURCZĄT BROJLERÓW NA KOLISTYNĘ Z UWZGLĘDNIENIEM ASPEKTU ZDROWIA PUBLICZNEGO

**lek. wet. Michał Majewski, IV rok SD**

Promotor pracy: dr hab. Krzysztof Anusz prof. SGGW (Wydział Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie, Katedra Higieny Żywności i Ochrony Zdrowia Publicznego)

Celem pracy jest określenie zagrożeń zdrowia publicznego związanych z występowaniem oporności na siarczan kolistyny u niepatogennych szczepów *Escherichia coli* izolowanych od kurcząt rzeźnych. U szczepów opornych na kolistynę prowadzone będzie badanie w kierunku wykrycia plazmidowego genu *mcr-1*. Ocena częstości występowania wymienionych mechanizmów może pozwolić na ocenę ryzyka rozprzestrzenienia się genów oporności na inne gatunki bakterii i rozprzestrzenianie się zjawiska antybiotykooporności u bakterii, co ma szczególnie istotny wpływ na zdrowie publiczne.

## **Hipoteza:**

Leczenie stad kurcząt brojlerów siarczanem kolistyny powoduje wzrost odsetka stad posiadających plazmidowe geny oporności *mcr-1* u niepatogennych szczepów *Escherichia coli* stanowiących florę jelitową kurcząt brojlerów.

## **Material:**

Materiał badawczy stanowią wymazy z kloaki kurcząt rzeźnych, pochodzących z komercyjnych stad drobiu. Materiał został pobrany po uboju w rzeźniach. Próby podzielono na dwie grupy badawcze – stada nieleczone i leczone siarczanem kolistyny. Na docelową grupę badawczą będą się składały próbki pochodzące od co najmniej 100 stad leczonych i 100 stad nieleczonych siarczanem kolistyny.

## **Metoda:**

Próbki zostały pobrane z kloaki poddanych ubojowi kurcząt brojlerów za pomocą wymazówek NRS II Transwab with 10ml Buffered Peptone Water (Medical Wire & Equipment). Badany materiał siano na podłoże agarowe MacConkey'a z dodatkiem 2 mg/L siarczanu kolistyny. Następnie 24-godzinną hodowlę bakterii poddano identyfikacji wyrosłych drobnoustrojów oraz za pomocą jałowej wymazówki kolonie *E. coli* przesiano na podłoże agar Muellera-Hinton i za pomocą metody gradientowo-dyfuzyjnej (E-test) oznaczono minimalne stężenie hamujące wzrost bakterii. Jednocześnie kolonie badanych szczepów przeniesiono do 4 ml demineralizowanej wody (Thermo), tak by otrzymać zawiesinę o zmętnieniu równoważnym wzorcowi zmętnienia 0,5 w skali McFarlanda. Odpowiednie zmętnienie uzyskano za pomocą aparatu Sensititre Nephelometr (Thermo). Tak przygotowaną zawiesinę w ilości 10 µl przenoszono do 11 ml pożywki Mueller-Hinton Broth (Thermo). Otrzymane inokulum nanoszono na płytkę POLBV w ilości 50 µl do każdego dołka płytki za pomocą aparatu Sensititre AutoInoculator (Thermo). Inkubację prowadzono w 37°C±1°C przez 18-24 godzin. Po inkubacji płytki Sensititre odczytywano w urządzeniu Vizion (Thermo) z wykorzystaniem programu Swin. Interpretacja wyników badań przeprowadzono zgodnie z wytycznymi CLSI (VET01 Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria isolated From Animals). Poza kolistyną ocenie poddawano również wrażliwość bakterii na: amoksycylinę, amoksycylinę z kwasem klawulanowym, doksycylinę, enrofloksacynę, florfenikol,

neomycynę, norfloksacynę, spectynomycyna, trimetoprim z sulfametoksazolem. W badaniu PCR, mającym potwierdzić obecność plazmidowego genu *mcr-1*, materiał stanowiły żywe pojedyncze kolonie bakterii, u których stwierdzono oporność na kolistynę. Zastosowano startery 515\_ecoli\_MCR-1\_F CGGTCAGTCCGTTTGTTC oraz 516\_ecoli\_MCR-1\_R CTTGGTCCGGTCTGTAGGG (Liu et al., 2015). Jako próbę kontrolną wykorzystano gen w plazmidzie dla szczepu *E.coli* (ZTA14/01057) pochodzący z Visa Vet Health Surveillance Center (Hiszpania). Produkt reakcji miał wielkość 309 pz. Próbę kontrolną negatywną stanowiły 4 izolaty *E. coli*, które nie wzrastały na podłożu z dodatkiem siarczanu kolistyny (2µg/L) oraz nie wykryto ich oporności na kolistynę w badaniu gradientowo-dyfuzyjnym, a także próbka kontrolna negatywna, w której DNA zastąpiono wodą w takiej samej objętości. Do badania wykorzystano próbkę stanowiącą żywe kolonie rozpuszczone w 50uL wody destylowanej, które poddano denaturacji w 98°C przez 5 minut, a następnie odwirowano przy 10 000 rpm. Do reakcji wykorzystano 3µL supernatantu.

Warunki dla reakcji PCR (schemat):

94°C przez 5 min + 35 x (94°C 40 sec + 60°C 40 sec + 72°C 40 sec) + 15°C przez czas nieokreślony. Elektroforezę przeprowadzono w 1.5% żelu agarozowym.

### **Wyniki:**

Zaobserwowano, że zarówno częstość leczenia zbadanych na terenie Polski stad kurcząt brojlerów, jak i prewalencja opornych na kolistynę szczepów *Escherichia coli* jest znacznie wyższa niż w innych krajach Europy. Z przebadanych 92 stad, 66.3% było leczone w czasie tuczu preparatami z siarczanem kolistyny. Dotychczasowe badania wskazują, że w stadach drobiu leczonych kolistyną, oporność na ten antybiotyk u niepatogennych szczepów *E. coli* występuje równie często jak w stadach nieleczonych (kolejno 13.1% i 12.9%). Najczęściej stwierdzano minimalne stężenie hamujące wzrost wynoszące 6 ug/L (50% próbek kolistynoopornych) oraz 4 ug/L (33.33% próbek kolistynoopornych). U wszystkich dotychczas przebadanych kolistynoopornych izolatów stwierdzono obecność plazmidowego genu *mcr-1*. Zaobserwowano wysoki odsetek szczepów wielopornych. 58.3% szczepów opornych na kolistynę było niewrażliwe na co najmniej 5 z badanych antybiotyków, a 33.3% na 7 lub więcej. Antybiotykiem, który wykazywał wysoką skuteczność była neomycyna (100% szczepów wrażliwych). Najniższą skuteczność wobec kolistynoopornych szczepów *E. coli* wykazały amoksycylina (0% wrażliwych), amoksycylina z kwasem klawulanowym (16.6% wrażliwych, 33.3% średnio wrażliwych), florfenikol (33.3% wrażliwych), doksycyklina (16.6% wrażliwych, 50% średnio wrażliwych), enrofloksacyna (33.3% wrażliwych), norfloksacyna (33.3% wrażliwych, 14.1% średnio wrażliwych), trimetoprim z sulphametoksazolem (25% wrażliwych) i spektynomycyna (41.6% średniowrażliwych).

### **Podziękowania:**

Powyższe badania związane z izolacją oraz oznaczeniem wrażliwości bakterii na antybiotyki wykonywane są we współpracy z Weterynaryjnym Laboratorium Diagnostycznym Lab-Vet w Tarnowie Podgórnym, a badanie PCR wykonywane jest we współpracy z Katedrą Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt WMWiNZ Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu. Metody badawcze oraz wyniki są konsultowane z Alberto Quesada Molina z Universidad de Extremadura w Hiszpanii.

Przewód doktorski: otwarcie na Wydziale Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie w czerwcu 2018 r.

Spis artykułów:

1. **Majewski M.**, Racewicz P., Dziubdziela L., Kierbić A.K., Kmiecik J.M., Herudzińska M.: Niekonwencjonalne metody eliminacji *Listeria monocytogenes*. *Gospodarka Mięsna* 7/2016 (7 pkt MNiSW)
2. **Majewski M.**, Racewicz P., Kierbić A.K., Kmiecik J.M., Herudzińska M.: Konsekwencje ekonomiczne występowania włóknikowo-ropnego zapalenia skóry i tkanki podskórnej (cellulitis) w komercyjnych stadach brojlerów kurzych. *Polskie Drobiarstwo* 9/2016 (3 pkt MNiSW)
3. Kneblewski P., Budzyk J., Szabłoński L., Olechnowicz J., **Majewski M.**, Skoracki A., Urbaniak K., Jaśkowski J.M.: Sytuacja epidemiologiczna gorączki Q u owiec, kóz i bydła w województwie wielkopolskim w latach 2011-2015 na podstawie badań monitoringowych oraz przypadków z praktyki klinicznej. *Med. Weter.* 2017, 73(1), 56-61 (15 pkt MNiSW, 0,195 IF)
4. **Majewski M.**, Racewicz P., Silna W.: Ogniska wysoce zjadliwej grypy ptaków – podtyp H5N8 w Polsce. *Polskie Drobiarstwo* 1/2017 (3 pkt MNiSW)
5. **Majewski M.**, Racewicz P., Silna W.: Wysoce zjadliwa grypa ptaków podtypu H5N8 – sytuacja epizootyczna w Polsce i Europie. *Polskie Drobiarstwo* 2/2017 (3 pkt MNiSW)
6. **Majewski M.**, Racewicz P.: *Kampylobakterioza – coraz większy problem dla zdrowia publicznego.* *Polskie Drobiarstwo* 4/2017 (3 pkt MNiSW)
7. **Majewski M.**, Racewicz P., Turlewicz H., Strzelecka M., Wyladnowska A.: Akty terrorystyczne w łańcuchu żywnościowym. Aktualne wyzwania w zapewnieniu bezpieczeństwa żywności. *Polskie Drobiarstwo* 7/2017 (3 pkt MNiSW)
8. **Majewski M.**, Dziubdziela L., Turlewicz H., Strzelecka M., Wyladnowska A.: Czy możliwe jest ograniczenie stosowania antybiotyków i chemioterapeutyków u drobiu? *Polskie Drobiarstwo* 10/2017 (3 pkt MNiSW)
9. Dziubdziela L., **Majewski M.**, Bojarski M.: Układ inkretynowy kotów. Nowe metody terapii cukrzycy. *Życie Weterynaryjne*, 2017, 92 (11) (4 pkt MNiSW)
10. Racewicz P., Sobek J., **Majewski M.**, Różańska-Zawieja J.: Przydatność pomiarów termowizyjnych w stadach krów mlecznych. *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego*, t. 14 (2018), nr 1, 55-69 (7 pkt MNiSW)
11. **Majewski M.**, Anusz K.: Antybiotykooporność czynników zoonotycznych związanych z bezpieczeństwem żywności pochodzenia zwierzęcego. *Życie Weterynaryjne*, 2018, 93 (2) (4 pkt MNiSW)
12. **Majewski M.**, Dziubdziela L.: Analiza powiadomień dotyczących żywności pochodzenia zwierzęcego zgłoszonych w RASFF przez Polskę w czasie 14 lat uczestnictwa w systemie. *Życie Weterynaryjne*, 2018, 93 (3) (4 pkt MNiSW)
13. **Majewski M.**: Mięso drobiowe oddzielone mechanicznie – produkcja i wymagania prawne. *Polskie Drobiarstwo*, 3/2018 (3 pkt MNiSW)
14. **Majewski M.**, Turlewicz H., Strzelecka M., Wyladnowska A.: Analiza powiadomień w RASFF - mięso drobiowe. *Polskie Drobiarstwo* 6/2018 (3 pkt MNiSW)
15. **Majewski M.**, Turlewicz H., Strzelecka M., Wyladnowska A.: Analiza powiadomień w RASFF - jaja. *Polskie Drobiarstwo* 7/2018 (3 pkt MNiSW)

#### **Monografie: (w planie wydawniczym na rok 2018)**

1. Racewicz P., **Majewski M.**, Felsman M., Czyżak-Runowska G.: *Weterynaryjna ochrona zdrowia publicznego. Higiena zwierząt rzeźnych i mięsa, higiena mleka, administracja weterynaryjna.* UP w Poznaniu, 2018

#### **Doniesienia konferencyjne:**

1. Józefiak A., Rybska M., **Majewski M.**, Jaśkowski J.M., Wojciechowicz J.: The nasopharyngeal microbiota characterization of red deer using metagenomic analysis. XV kongres PTNW, 22-24 września 2016, Lublin

2. **Majewski M.**, Józefiak A., Wilczyński J.: Lekooporność chorobotwórczych szczepów *Escherichia coli* izolowanych u drobiu. II Sympozjum Naukowe Zdrowe Zwierzęta – Zdrowa Żywność. 9-10 marca 2017, Poznań
3. Racewicz P.,Bilska-Zajac E., Różycki M., Cencek T., **Majewski M.**, Maternik A., Hudak-Nowak M., Łakomiec J.: Occurrence of *Trichinella* spp. in Greater Poland. II International Parasitological Symposium "Modern Problems of General and Special Parasitology" SPbSAVM. Sankt Petersburg, 2017.

# SPECYFIKA BUDOWY ORAZ ANOMALIE KOŚĆCA I POKROJU KONI UŻYTKOWANYCH WE WSPÓŁCZESNYM SPORCIE JEŹDZIECKIM

**Monika Tołkacz, III rok SD**

Opiekun pracy: dr hab. Marcin Komosa

Zakład Anatomii Zwierząt, Instytut Zoologii

## **Krótkie wprowadzenie:**

W dzisiejszych czasach koń jest użytkowany typowo pod siodłem. Wzrasta zainteresowanie wyczynowym sportem jeździeckim, co skłania do prowadzenia szczegółowych badań nad funkcjonowaniem ciała konia w aspekcie biomechaniki ruchu. Coraz częściej słyszy się o problemach jeźdźców z kontaktem oraz z kulawizną będącą efektem pewnych anomalii w ciele konia. Pojęcie „kontakt” oznacza oddziaływanie ręki jeźdźcy poprzez wodzę na pysk konia. Objawy jakie koń wykazuje przy problemach z kontaktem to najczęściej: rzucanie głową, niechęć do przyjmowania wędzidła, zgrzytanie zębami, nerwowe gryzienie wędzidła, uciekanie od kontaktu, kulawizna czy problemy behawioralne jak ponoszenie, brykanie, niechęć do ruchu naprzód. Oczywiście samych objawów jak i przyczyn jest więcej. Jednak istotą rzeczy jest dobre zdiagnozowanie czynnika wywołującego te problemy.

Pierwszy etap badań dotyczył kości potylicznej, której struktura odgrywa istotną rolę w układzie mięśniowo-szkieletowym. Kość potyliczna konia razem z pierwszym kręgiem szyjnym tworzy staw szczytowo-potyliczny oraz jest miejscem przyczepu powrózka karkowego i wielu mięśni szyi i głowy. Powróżek karkowy jako część więzadła karkowego bierze udział w stabilizacji kręgosłupa. Zaburzenia w prawidłowym funkcjonowaniu tych miękkich struktur wynikające z anomalii, procesów zwyrodnieniowych i stanów zapalnych kości potylicznej będą zaburzać biomechanikę ruchu konia i mogą znacząco wpływać na zachowanie konia w treningu.

Drugi etap pracy obejmuje pomiary biometryczne wybranych elementów kośćca szyi, tułowia i zadu. Badania te mają wykazać występowanie asymetrii/ lub jej brak w ciele konia. Wszelkie nieprawidłowości w budowie kośćca mogą mieć znaczący wpływ na motorykę ruchu konia i ograniczać jego charakter użytkowy. Brak bilateralności parzystych elementów kostnych może nierównomiernie rozkładać napięcie przyczepów mięśniowo-więzadłowych co prowadzi do nieprawidłowego funkcjonowania stawów i głównych połączeń w ciele konia, a w dalszej konsekwencji do ich urazów.

## **Cel badań:**

- III. wskazanie obecności względnie braku asymetrii u koni sportowych
- IV. określenie zmienności budowy kości potylicznej u osobników o prawidłowej budowie kości potylicznej
- V. wskazanie i omówienie zmian patomorfologicznych na kości potylicznej

**Hipoteza badawcze :** konformacja ciała koni cechuje się zróżnicowaniem w zależności od typu użytkowego i charakteru wykonywanej pracy w aspekcie czynników biomechanicznych

## **Material i metody:**

- 75 czaszek koni poddanych eutanazji, sklasyfikowanych w 5 grupach wiekowych
- konie żywe aktualnie użytkowane sklasyfikowane pod względem wieku, płci rasy, dyscypliny sportowej, przebytych i aktualnych urazów i kontuzji.

4) **Metody badawcze:** metody opisowe i pomiary biometryczne, analizy statystyczne

5)

## 6) **Wstępne wyniki:**

Wyniki badań 75 czaszek koni przedstawiają różnorodność zmian patomorfologicznych w obrębie kości potylicznej konia. Tylko u jednego konia w wieku 6 lat nie zaobserwowano żadnych nieprawidłowości. U pozostałych 74 koni zaobserwowano remodeling kostny na obu głównych strukturach kości potylicznej: łusce potylicznej i części bocznej kości potylicznej. Remodeling miały charakter kostnych nacieków, ubytków w kości oraz deformacji kości wynikających ze zmian zapalnych lub innych czynników.

Największą ilość zmian patomorfologicznych zaobserwowano na łusce potylicznej. Wyniki te są porównywalne z badaniami innych naukowców. Zmiany w postaci remodelingu kostnego były charakterystyczne dla stanów zapalnych przyczepów więzadłowych i mięśniowych powrózka karkowego tzw. entezopatii. Pozostałe zmiany patomorfologiczne na kości potylicznej obejmowały remodeling kostny w postaci: martwicy kości i osteofitozy..

Martwicę kości określono jako zagłębienia (wydrążenia) kostne na kości potylicznej. Osteofitozę określono jako zmiany zwyrodnieniowe stawu szczytowo-potylicznego w postaci nabudowania tkanki kostnej na kłykciach potylicznych. Badania statystyczne wykazały zależności pomiędzy poszczególnymi zmianami (entezopatia i martwica) oraz dodatni wpływ wieku na tworzenie się zmian (osteofitoza)

Poza typowymi zmianami patomorfologicznymi, u badanych koni zaobserwowano anomalie, które trudno scharakteryzować jako patomorfologiczne:

- asymetria grzebienia karkowego bez widocznych zmian chorobowych
- ponadnormatywne długości wyrostków przykłykciowych
- różnice w długości prawego i lewego wyrostka przykłykciowego
- różnice w grubości prawego i lewego wyrostka przykłykciowego

W przypadku asymetrii grzebienia karkowego trudno określić przyczynę, można jedynie przypuszczać że taki stan był konsekwencją urazu lub zwykłej zmienności osobniczej. Również w pozostałych przypadkach trudno jasno określić przyczynę, należy je traktować jako cechy indywidualne dla danego osobnika.

**Stan zaawansowania: 50 %** określono zmienność budowy kości potylicznej, wskazano i

omówiono zmiany patomorfologiczne na kości potylicznej. Obecnie kompletowany jest materiał badawczy – pomiary biometryczne wybranych elementów kostnych przeprowadzane na żywych koniach. Gotowy jest manuskrypt pierwszej pracy.

Przewód doktorski: złożono dokumenty do otwarcia przewodu

**Spis publikacji:**

M. Komosa, J. Włodarek, M. Dzierżęcka, A. Nienartowicz-Zdrojewska, M. Tołkacz,  
„Comparison of pathological lesions in navicular bone (os sesamoideum distale) and analysis  
of remodelling capacity in warmblood and coldblood horses”  
Polish Journal of Veterinary Sciences Vol. 21, No. 1, (2018) ,13-27

Kiełtyka-Kurc A., Frąckowiak H., Zdun M., Nabzdyk M., Kowalczyk K., Tołkacz M., „The  
arteries on the base of the brain in the camelids (*Camelidae*)”  
Italian Journal of Zoology, 81(2):215-220

# EFEKTYWNOŚĆ STOSOWANIA WIELOSKŁADNIKOWYCH DODATKÓW PASZOWYCH W ŻYWIENIU PROSIĄT I WARCHLAKÓW

**Piotr Nowak, IV rok SD**

Promotor: dr hab. Małgorzata Kasproicz-Potocka

Promotor pomocniczy: dr inż. Anita Zaworska

Katedra Żywienia Zwierząt

## **Wprowadzenie:**

Prosięta wcześnie odłączane od loch są szczególnie narażone na stres oraz oddziaływanie niekorzystnych warunków środowiskowych. Zachodzi więc konieczność poszukiwania nowych, efektywniejszych dodatków paszowych, opartych na naturalnych bezpiecznych komponentach, które wpływając pozytywnie na środowisko przewodu pokarmowego zapewnią podobne efekty odchowu jak wycofane antybiotykowe stymulatory wzrostu czy tlenek cynku.

## **Hipoteza badawcza:**

Opracowany wieloskładnikowy preparat eubiotyczny wpłynie pozytywnie na zdrowotność zwierząt i poprawi wskaźniki odchowu prosiąt i warchlaków.

## **Cel pracy:**

Celem pracy było opracowanie wieloskładnikowych dodatków paszowych oraz porównanie wpływu ich stosowania w mieszankach na zdrowotność, przyrosty masy ciała, spożycie i wykorzystanie paszy oraz wybrane wskaźniki mikrobiologiczne, biochemiczne i chemiczne w przewodzie pokarmowym u prosiąt i warchlaków.

## **Materiał i metody:**

Wykonano 2 doświadczenia wstępne na prosiętach odsadzonych (po 48 szt. w każdym). Zwierzęta były utrzymywane w kojcach indywidualnych i żywione *ad libitum*. Każde doświadczenie trwało 28 dni, a zwierzęta zostały podzielone na 6 grup żywieniowych po 8 osobników w grupie. W każdym doświadczeniu wyodrębniono grupę kontrolną bez dodatku oraz grupy doświadczalne, które otrzymywały jednoskładnikowe lub wieloskładnikowe dodatki eubiotyczne zawierające (kwasy organiczne, bakterie probiotyczne, prebiotyki, fitobiotyki, drożdże). Po zakończeniu doświadczeń z każdej grupy poddano ubojowi 6 prosiąt, od których pobrano próby treści jelitowej z różnych odcinków przewodu pokarmowego w celu wykonania analiz chemicznych, biochemicznych, mikrobiologicznych i morfometrycznych. Na podstawie wyników wstępnych wytypowano produkty eubiotyczne o najkorzystniejszym składzie, które wykorzystano w doświadczeniu 3 w podobnym układzie.

## **Wyniki:**

W dośw. 1 stwierdzono korzystny ( $P < 0,05$ ) wpływ stosowania dodatków jednoskładnikowych (ekstraktów ziołowych i bakterii probiotycznych) na wskaźniki odchowu świń oraz na badane wskaźniki przewodu pokarmowego. Nie zanotowano jednoznacznie pozytywnego wpływu kompozycji eubiotycznych na badane parametry. W dośw. 2 dokonano



zmiany w składzie preparatów wieloskładnikowych, wprowadzając dodatkowe komponenty, i stwierdzono lepsze ( $P>0,05$ ) wskaźniki odchowu. Na tej podstawie do kolejnego testu wybrano preparaty wieloskładnikowe zawierające (1) ekstrakty wodny z oregano i tymianku, średniołańcuchowe kwasy tłuszczowe, drożdże (*Y. lipolytica*) oraz (2) bakterie probiotyczne, średniołańcuchowe kwasy tłuszczowe, drożdże (*Y. lipolytica*). W dośw. 3 potwierdzono pozytywny wpływ tych kompozycji na wyniki odchowu świń.

#### Podsumowanie i wnioski

Przeprowadzone doświadczenia wykazały, że opracowane kompozycje eubiotyczne zastosowane jako dodatki paszowe mogą efektywnie wspierać rozwój przewodu pokarmowego prosiąt, co korzystnie wpływa na parametry ich odchowu oraz zdrowotność.

Przewód doktorski: otwarty – 25.05.2018 r. na posiedzeniu Rady Wydziału Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

**Stan zaawansowania:** 70%

#### Spis publikacji:

1. **Nowak P.**, Kasprowicz-Potocka M., Zaworska A., Nowak W., Stefańska B., Sip A., Grajek W., Juzwa W., Taciak M., Barszcz M., Tuśnio A., Grajek K., Foksowicz-Flaczyk J., Frankiewicz A., 2017, *The effect of eubiotic feed additives on the performance of growing pigs and the activity of intestinal microflora*, Archives of Animal Nutrition, Volume 71, 2017 - Issue 6, 30 pkt MNiSW, IF 1.306
2. Kasprowicz-Potocka M., Zaworska A., Gulewicz P., **Nowak P.**, Frankiewicz A., 2017, *The effect of fermentation of high alkaloid seeds of *Lupinus angustifolius* var. Karo by *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces lactis* and *Candida utilis* on the chemical and microbial composition of products*, Journal of food processing and preservation, Volume 42, Issue 2, February 2018, Version of Record online : 26 SEP 2017, DOI: 10.1111/jfpp.13487, 20 pkt MNiSW, IF 0.791

**Źródło finansowania:** „Opracowanie preparatów eubiotycznych dla zwierząt gospodarskich” PBS1/A8/10/2012, finansowane przez NCBiR.

# OCENA DZIAŁAŃ MAJĄCYCH NA CELU ZWIĘKSZENIE BIORÓŻNORODNOŚCI I POZIOMU USŁUG EKOSYSTEMOWYCH W POLSKIM ROLNICTWIE

**Stanisław Świtek, IV rok SD**

Promotor pracy: prof. dr hab. Piotr Tryjanowski, Instytut Zoologii, UPP  
Promotor pomocniczy: dr inż. Zuzanna Sawinska, Katedra Agronomii, UPP

## **1. Wstęp**

Współczesnymi kierunkami rozwoju i badań agronomii powinny być powiązania produkcji rolniczej ze środowiskiem i diagnoza problemów pojawiających się w tym obszarze. Interdyscyplinarny charakter agronomii obejmuje m in. biologię, ekonomię, ekologię, teoretyczną i praktyczną wiedzę o rolnictwie oraz zarządzaniu gospodarstwem. Poszukiwane nowe metody zrównoważonej produkcji w rolnictwie mają spowodować zmniejszenie oddziaływania rolnictwa na środowisko. Zmiana systemu gospodarowania przez rolników jest jednak już teraz wymuszana przez regulacje prawne i wymogi stawiane przez wspólną politykę rolną Unii Europejskiej, która to na przestrzeni lat ewaluowała kilkakrotnie. Ostatnią zmianą jest wprowadzenie tzw. zazielenia i wspierania przy pomocy dopłat nieproduktywnej wartości rolnictwa. Działania takie jak zmianowanie roślin, siew międzyplonów, wzbogacanie gleby w materię organiczną mają przyczynić się do wzrostu poziomu usług ekosystemowych i bioróżnorodności. Ważna staje się przez to ocena tych działań i ich wpływu na rolnictwo w Polsce.

## **2. Hipoteza**

Wymagania ekologizacji produkcji stawiane przed polskim rolnictwem są zgodne z potrzebami ochrony środowiska i wpływają na ograniczenie produkcji rolniczej, zwiększenie poziomu usług ekosystemowych i bioróżnorodności zaś sama ich zmiana jest negatywnie odbierana przez rolników.

## **3. Cel badań**

Praca doktorska składać się będzie z 4 części, które pozwolą zweryfikować postawioną hipotezę. Każdej z nich postawione jest cel badawczy:

- a. Ocena wpływu zawartości materii organicznej i zmianowania roślin na możliwość ograniczenia stosowania azotu i poziom bioróżnorodności.
- b. Wskazanie działań które, według rolników, przynoszą największą i najmniejszą korzyść dla środowiska.
- c. Poznanie opinii rolników na temat wymogów stawianych w ramach tzw. zazielenienia i reformy wspólnej polityki rolnej.
- d. Poznanie opinii osób związanych naukowo z ochroną środowiska na obszarach rolniczych i wskazanie przez nich miejsc wymagających bardziej zaawansowanych badań.

## **4. Wyniki**

### **Część A**

Jakość i wysokość plonu związana była z poziomem nawożenia azotem. Wysoka zawartość materii organicznej kompensowała zmniejszoną ilość azotu i dzięki czemu spadek plonu był niewielki. Była ona jednak nie wystarczająca dla utrzymania jakości ziarna. Parametry takie

jak liczba opadania, zawartość białka i skrobi były powiązane bezpośrednio z zastosowaniem azotu. Wysoka zawartość materii organicznej wpłynęła na liczebność naziemnych owadów z grupy biegaczowatych. Ograniczenie azotu nie wpłynęło na zwiększenie poziomu bioróżnorodności na którą wpływ miała ilość materii organicznej.

#### Część B

Najpopularniejszą praktyką pro środowiskową wśród rolników było zmianowanie roślin, następnie siew międzyplonów i siew roślin wiążących azot. Najmniej popularne okazało się odłogowanie ziemi stosowane przez co 20 rolnika. Ponad 1/3 uczestników badań nie posiadała zwierząt, a wśród tych którzy mieli je najpopularniejszym było bydło mięsne, trzoda chlewna i bydło mleczne. 52

Rolnicy uważają, że ich gospodarstwo jest atrakcyjne dla owadów zapylających, zwierzyny łownej i ptaków oraz mniej atrakcyjne dla płazów, gadów, gryzoni, chwastów i ziół. Elementy obszarów proekologicznych (EFA) występujące najczęściej w gospodarstwach to według częstotliwości występowania: drzewa wolnostojące, miedze śródpolne, rowy, zadrzewienia grupowe oraz oczka wodne. Rolnicy oceniają, że wpływ EFA na przyrodę jest przeciętny i w przeważającej części nie zmienili oni stanu posiadania elementów proekologicznych. Zazielenienie i dopłaty z nim związane mają według rolników przeciętny i słaby wpływ na produkcję rolniczą i stan środowiska.

#### Część C

Polscy rolnicy są negatywnie nastawieni do idei zazielenienia. Wybierają najtańsze metody aby sprostać wymaganiom wspólnej polityki rolnej EU, które równocześnie nie są najbardziej wartościowe dla środowiska. Ponad to są oni niezadowoleni ze zwiększenia kosztów i oceniają reformę Wspólnej Polityki Rolnej Unii Europejskiej negatywnie z powodu wprowadzenia przez nią obowiązku zmianowania roślin lub np. wysiewu międzyplonów dla zrównoważenia braku naturalnych elementów. W rezultacie zrezygnowali by z podejmowania działań pro – środowiskowych w momencie zaprzestania ich finansowania w ramach dopłat.

#### Część D

Obszary rolnicze stanowią 60% powierzchni Polski i zaliczają się do terenów o najwyższym poziomie bioróżnorodności w Europie. Jednak wraz z intensyfikacją produkcji rolnej ich obecny stan jest bardzo zagrożony. Celem pracy było wskazanie kluczowych problemów badawczych, które mogą pomóc w ochronie środowiska przyrodniczego polskich obszarów wiejskich. Przedstawione problemy mają formę ogólną i mogą stanowić znaczące wprowadzenie do dalszej dyskusji pomiędzy decydentami a naukowcami. Jej podjęcie jest kluczowe dla skutecznej ochrony zasobów przyrodniczych krajobrazu rolniczego w Polsce.

Przykładowymi pytaniami badawczymi były:

Jak ekonomia produkcji wpływa na środowisko ?

Jak zachować balans pomiędzy produkcją rolniczą, a ochroną środowiska?

Jaka jest przyszłość polskiego rolnictwa i czy jest alternatywa dla jego intensyfikacji ?

#### **Spis publikacji**

Gagic V., Kleijn D., Báldi A., Boros G., Jørgensen H. B., Elek Z., Garratt M. P. D., Groot G.A., Hedlund K., Kovács-Hostyánszki A., Marini L., Martin E., Peveri I., Potts S.G., Redlich S., Senapathi D., Dewenter I.S., **Świtek S.**, Smith H.G., Takács V., Tryjanowski P., Putten W. H., Gils S., Bommarco R. 2017. Combined effects of agrochemicals and ecosystem services on crop yield across Europe. *Ecology letters* 20. 1427-1436.

Switek S., Sawinska Z. 2017. Farmer rationality and the adoption of greening practices in Poland. *Scientia Agricola* 74. 275-284.

Tryjanowski P., Sparks T.H., Blecharczyk A., Małecka-Jankowiak I., **Switek S.**, Sawinska Z. 2018. Changing Phenology of Potato and of the Treatment for its Major Pest (Colorado Potato Beetle)- A Long-term Analysis. American Journal of Potato Research 95. 26-32.

Garratt M.P.D., Bommarco R., Kleijn D., Martin E., Mortimer SR., Redlich S., Senapathi D., Steffan-Dewenter I., **Świtek S.**, Takacs V., Gils S., Putten WH., Potts S.G. 2018. Enhancing Soil Organic Matter as a Route to the Ecological Intensification of European Arable Systems. Ecosystems 1-12.

**Świtek S.**, Jankowiak Ł., Rosin ZM., Sawinska Z., Steppa R., Takacs V., Zbyryt A., Tryjanowski P. 2017. Jak zachować wysoki poziom bioróżnorodności na obszarach rolniczych w Polsce?: identyfikacja najważniejszych problemów badawczych. Wieś i Rolnictwo 4. 115-138

Piechota T., Sawinska Z., Kowalski M., Majchrzak L., **Świtek S.**, Dopierała A. 2017. Plonowanie i zdrowotność wybranych odmian żyta ozimego uprawianego z przeznaczeniem na biogaz. Fragmenta Agronomica 34. 67-74.

**Informacja dotycząca przewodu doktorskiego:**

Przewód doktorski otwarty, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii, UPP

Planowany termin obrony pracy doktorskiej: kwiecień 2019

# BADANIE GENETYCZNEGO PODŁOŻA ZMIENNOŚCI WIELKOŚCI MIOTU ŚWIŃ RASY WIELKA BIAŁA

**Jan Dobrzański, I rok SD**

Opiekunowie naukowci: Prof. dr hab. Tomasz Szwaczkowski, dr inż. Ewa Sell-Kubiak

Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt

## **WSTĘP**

Wielkość miotu jest złożoną cechą warunkowaną wieloma czynnikami fizjologicznymi jak i genetycznymi, o kluczowym znaczeniu ekonomicznym dla hodowców trzody. Intensywna selekcja ukierunkowana na zwiększanie liczebności miotu wpłynęła jednocześnie na zwiększenie zmienności ilości prosiąt w miocie. Różnice pomiędzy lochami rasy wielkiej białej mogą dochodzić do ponad 20 prosiąt, powodując dodatkowe koszty związane z utrzymaniem loch i prosiąt a także wpływając na dobrostan tych zwierząt. Jedną z metod badania zmienności w obrębie cechy jest analiza wariancji resztowej. Badania prowadzone u świń, królików, łososi i krów dowiodły istnienia komponentu genetycznego dla wariancji resztowej. Zwiększa to zainteresowanie badaniami nad zmiennością cech mając w perspektywie ukierunkowanie hodowli na zmniejszenie zróżnicowania między zwierzętami, a także wskazanie genów kontrolujących zmienność danej cechy. Do tej pory jednak powstała tylko jedna praca wskazująca na polimorfizmy pojedynczych nukleotydów (SNP) powiązanych ze zmiennością miotu świń.

## **HIPOTEZA**

Zmienność wielkości miotu jest uwarunkowana genetycznie i istnieją regiony genomu świni, które je kontrolują.

## **CEL PRACY**

Do najważniejszych celów planowanej rozprawy doktorskiej należy stworzenie nowych fenotypów dla zmienności wielkości miotu z wykorzystaniem wariancji resztowej. Następnie, na podstawie uzyskanych wyników, przeprowadzone zostanie badanie asocjacyjne całego genomu w celu potwierdzenia, już poznanych regionów genomu świni biorących udział w kontroli zmienności wielkości miotu a także wskazanie nowych genów kandydujących.

## **PLAN PRACY**

Badania będą prowadzone z wykorzystaniem 246,799 miotów rasy wielkiej białej, udostępnionych przez firmę Topigs Norsvin. W pierwszym etapie zostanie przeprowadzona analiza statystyczna mająca na celu uzyskanie nowych fenotypów zmienności wielkości miotu. W tym celu zostanie użyty program statystyczny ASReml 4.1. Następnie otrzymane fenotypy zmienności posłużą do przeprowadzenia badania asocjacyjnego całego genomu świń z wykorzystaniem genotypów kilku tysięcy zwierząt pozyskanych z chipa 80tys SNP.

Przewód doktorski: nieotwarty

Numer grantu NCN: 2016/23/D/NZ9/00029

# JAKOŚĆ I PRZYDATNOŚĆ TECHNOLOGICZNA MIĘSA HYBRYD KRÓLICZYCH

**Joanna Składanowska-Baryza, II rok SD**

Opiekun: dr hab. Marek Stanisław

Katedra Hodowli Zwierząt i Oceny Surowców

## **Wprowadzenie i motywacja:**

Jakość mięsa dotyczy szeregu cech chemicznych i fizykochemicznych surowca, obejmuje aspekty bezpieczeństwa, jego przydatności kulinarnej i technologicznej oraz cechy sensoryczne. Prowadzone badania w obszarze tematyki odnoszącej się do jakości mięsa wskazują na istnienie wielu zależności pomiędzy transportem żywych zwierząt, metodą uboju, a kierunkiem oraz tempem przemian poubojowych na cechy jakościowe wykształcone w trakcie procesu dojrzewania mięsa. Mięso królicze jest coraz bardziej cenionym surowcem, o czym świadczy wzrost pogłowia królików na świecie. Surowiec ten należy do mięs białych, chudych, zawiera wysoką ilość dobrze przyswajalnego białka, korzystny skład aminokwasów, a ponadto w surowcu króliczym znajduje się wiele niezbędnych witamin (głównie z grupy B) i mikroelementów. Pomimo dużego potencjału ras brojlerowych, coraz większą uwagę zaczęto poświęcać mieszańcom (hybrydom). Króliki hybrydowe to linie genetyczne wyhodowane poprzez krzyżowanie ras czystych. Króliki te doskonale nadają się do intensywnej produkcji mięsa króliczego. Okres tuczu mieszańców rozpoczyna się najczęściej w wieku około 30 dni i kończy pomiędzy 80. a 100. dniem życia. Badania na hybrydach wykazały, iż jakość mięsa hybryd nie ulegnie obniżeniu w porównaniu do ras czystych, jeśli zostaną one ubite pomiędzy 77. a 90. dniem życia. Dotychczasowe badania przeprowadzone zostały głównie na mięsie królików czystych ras i koncentrowały się m.in. na przebiegu poubojowych procesów biochemicznych oraz ich wpływie na jakość mięsa. Jednak ważnym parametrem jakości mięsa jest wartość pH, od kwasowości zależna jest zdolność utrzymania wody, kruchość, smak mięsa i jego barwa. Kwasowość mięsa zależna jest od wielu czynników, a jednym z nich jest stres wywołany zabiegami przedubojowymi i ubojem. Wielu autorów wykazało wysoki wpływ stresu na jakość pozyskanego mięsa (Kowalska i in. 2017, Liste i in. 2008, Maria i in. 2006, Trocino i in. 2003).

## **Hipoteza badawcza:**

Hipoteza badawcza zakłada istotne zależności pomiędzy postępowaniem ze zwierzętami przed ubojem, metodą uboju, a przemianami poubojowymi w mięsie, które mają wpływ na jakość technologiczną mięsa hybryd króliczych.

## **Cel badań:**

Celem badań jest analiza chemiczna i fizykochemiczna mięsa hybryd króliczych oraz analiza zależności pomiędzy metodą uboju oraz postępowaniem przed ubojowym (m.in. transport), a jakością mięsa.

## **Material:**

Materiał badawczy stanowić będzie 120 tuszek królików hybrydowych. Zwierzęta zostaną podzielone na 3 grupy po 40 sztuk ze względu na kierunek prowadzonych analiz. Dotychczas przeprowadzono i opisano wpływ transportu na jakość mięsa króliczego. Analizowany materiał stanowiło 40 królików linii hybrydowych (Martini x Hyla), podzielono je na dwie grupy (kontrolną i eksperymentalną). Eksperyment ten służył ocenie wpływu stresu, spowodowanego transportem, na jakość mięsa (biorąc również pod uwagę wpływ mięśnia i płci).

## **Przewidziana metodyka:**

Wykonane zostaną pomiary: pH, elektrodą szklano kalomelową podłączoną do przenośnego pH metru (Handylab 2, SCHOTT), pomiar temperatury elektronicznym termometrem (Candy BBQ), barwy ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ ,  $H^\circ$ ) przy pomocy aparatu Minolta Colorimeter CR-200b oraz zdolności zatrzymania wody w mięsie: wyciek naturalny (%) i wyciek termiczny (%) metodą Honkiela (1998), woda wolna (%) metodą Grau i Hamm (1953), w modyfikacji Pohja i Niinivaara (1957) oraz plastyczność ( $cm^2$ ) metodą Grau i Hamm (1953). Instrumentalny pomiar twardości wykonywany będzie aparatem TA.XT.plus Texture Analyzer przy pomocy przystawki Warner- Bratzler (siła cięcia) oraz przystawki Volodkevich Bite Jaw (gryzienie). Badanie składu chemicznego będzie obejmowało: zawartość suchej masy (%) (PN-ISO 1442. 2000), białka ogólnego (%) metodą Kjeldahla (PNA-4018) oraz tłuszczu śródmięśniowego (%) metodą Soxhleta (PN-ISO 1444. 2000). Przy pomocy oprogramowania SAS ver. 9.4 zostanie wykonana analiza statystyczna. Wpływ stresu spowodowanego transportem został oceniony za pomocą wyjściowego poziomu kortyzolu w surowicy oraz insuliny, glukozy, cholesterolu całkowitego, triglicerydów, NEFA i białka (Baías i in., 2012, Fazio i in., 2015). Profil metaboliczny został zmierzony za pomocą komercyjnych testów diagnostycznych enzymatyczno-kolorymetrycznych. Triglicerydy, całkowity cholesterol, glukoza, całkowite stężenie białka został określony przy użyciu Pointe Scientific (zestawów odczynników). Stężenie niezestryfikowanych kwasów tłuszczowych (NEFA) została zmierzona za pomocą zestawu do oznaczania NEFA (HR Series NEFA-HR (2)). Gęstość optyczna próbek została oceniona przy użyciu czytnika mikroplitek Synergy 2. Ocena profilu hormonalnego surowicy została oznaczona stosując zestawy do radioterapii radioimmunologicznej (RIA). Kortyzol zbadano stosując zestaw Cortisol. Insulina została oznaczona z zastosowaniem zestawu Insulin RIA. Radioaktywność próbek zmierzono za pomocą licznika Gamma firmy Wallac Wizard 1470.

## **Przewód doktorski: nieotwarty**

### **Wstępne wyniki:**

Materiał badawczy stanowiło 40 królików dwóch linii hybrydowych (Martini x Hyla), ubitych w 90. dniu. Grupa kontrolna przetransportowana została tuż po odsadzeniu (w wieku 50 dni), a grupa eksperymentalna przez ubojem (24h). Zwierzęta z grupy eksperymentalnej charakteryzowały się wyższym poziomem kortyzolu we krwi, glukozy i triglicerydów oraz niższym poziomem insuliny, w porównaniu do grupy kontrolnej. Stwierdzono także spadek pH w badanych grupach spowodowany czasem po uboju ( $P < 0,0001$ ). Transport miał istotny wpływ na jasność, udział barwy czerwonej i udział barwy żółtej mięsa królika ( $P < 0,0001$ ,  $P = 0,001$  i  $P < 0,0001$ ). Procent wody wolnej i jej udział w wodzie całkowitej był wyższy w przypadku nietransportowanych królików w porównaniu z transportowanymi ( $p < 0,0001$ ).

Ponadto, mięso z grupy kontrolnej charakteryzowało się większą plastycznością w porównaniu z grupą eksperymentalną. Podsumowując, cechy jakościowe mięsa pochodzącego z grupy transportowanych królików hybrydowych wyraźnie wskazywały na rozwój wady mięsa DFD (dark, firm, dry) – ciemne, twarde, suche.

## Spis publikacji:

### 1. Oryginalne prace twórcze

1. **Składanowska-Baryza J.**, Ludwiczak A., Pruszyńska-Oszmałek E., Kołodziejki P., Bykowska M., Stanisław M. (2018). The effect of transport on the quality of rabbit meat. *Animal Science Journal*. doi:10.1111/asj.12966 (IF=1,325; MNiSW=30 pkt)
2. Bykowska M., Stanisław M., Ludwiczak A., **Składanowska J.**, Ślósarz P. (2018). Quality of meat from three muscles of farmed fallow deer (*Dama dama*), *Animal Production Science*, 58(2) 376-384. (IF=1,371; MNiSW=35 pkt)
3. Bykowska M., Stanisław M., Ludwiczak A., **Składanowska J.**, Ślósarz P. (2018). The effect of muscle, time post-mortem and sex on the quality of meat from fallow deer (*Dama dama*) farmed in Poland. *Small Ruminants Research* 160, 12-18. (IF=0,947; MNiSW=30 pkt)
4. **Składanowska-Baryza J.** (2017). Królik- znaczenie gospodarcze, dobór ras i linii do produkcji mięsa. *Wiadomości Zootechniczne*. 3: 13–23 (MNiSW=7 pkt)
5. Ludwiczak A., Stanisław M., Bykowska M., **Składanowska J.**, Ślósarz P. (2017). Effect of storage on quality traits of the semimembranosus muscle of farmed fallow deer (*Dama dama*) bucks and does, *Animal Science Journal* 88, 1149-1155. (IF=1,048, MNiSW= 30 pkt)
6. Ludwiczak A., Stanisław M., Lisiak D., Janiszewski P., Bykowska M., **Składanowska J.**, Ślósarz P. (2017). Novel ultrasound approach for measuring marbling in pork. *Meat Science* 131, 176-182. (IF=2,801, MNiSW=35 pkt)
7. Ludwiczak A., Stanisław M., Bykowska M., **Składanowska J.**, Sikora Ł., Ślósarz P. (2016). The effect of sex, storage time and muscle type on the quality French Lop rabbit meat, *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego* 12(2): 45-49. (MNiSW=7 pkt)

### 2. Doniesienia konferencyjne – streszczenia w materiałach konferencyjnych

1. Kaczor U., Stanisław M., Bykowska M., **Składanowska J.**, Wojtysiak D., Kaczor A. (2016). Fatty acid profile of intramuscular fat in *supraspinatus*, *longissimuslumborum* and *semimembranosus* muscles of farmed fallow deer, International Conference on Biotechnology and Welfare in Animal Science with a session on "7<sup>th</sup> Poultry Days" : Krakow, 23-24 June 2016. Str. 187.
2. **Składanowska J.**, Stanisław M., Ludwiczak A., Bykowska M., Ślósarz P. (2016). The effect of storage of fallow deer (*Dama dama*) meat in vacuum packaging on selected quality traits, Proceedings of the 7<sup>th</sup> International Conference on the "Quality and safety in food production chain" : Wrocław 23-24 June 2016, str. 88-89.
3. Bykowska M., Stanisław M., Ludwiczak A., **Składanowska J.**, Sikora Ł., Ślósarz P. (2016). Influence of age and sex on meat quality from hybrid rabbits, Proceedings of the 7<sup>th</sup> International Conference on the "Quality and safety in food production chain" : Wrocław 23-24 June 2016, str. 9.



4. Ludwiczak A., Stanisław M., Bykowska M., **Składanowska J.**, Woźniak A., Ślósarz P. (2016). Quality of meat from wild boar (*Sus scrofa*) hunted in Wielkopolska region in Poland, Proceedings of the 7<sup>th</sup> International Conference on the "Quality and safety in food production chain" : Wrocław 23-24 June 2016, str. 59.
5. Ludwiczak A., Stanisław M., Lisiak D., Bykowska M., **Składanowska J.**, Ślósarz P. (2016). Novel approach to USG measurements on the *longissimus* muscle of pig carcasses. 62<sup>nd</sup> International Congress of Meat Science and Technology (ICOMST). August 14-19, Bangkok, Thailand.
6. **Składanowska J.**, Ludwiczak A., Stanisław M. 2016. Wpływ transportu królików na przydatność technologiczną ich mięsa .Innowacyjność nauk o zwierzętach w XXI wieku : LXXXI Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego. Warszawa, 21-23 września 2016, Materiały konferencyjne. Warszawa: [b.w.], 2016. s. 238
7. **Składanowska-Baryza J.** (2017). Wpływ wieku uboju na wybrane cechy jakościowe tuszy królików. Nowoczesna hodowla a dobrostan zwierząt : LXXXII Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego. Poznań, 20-22 września 2017, Materiały konferencyjne Poznań: 2017 s. 271
8. Stanisław M., Ludwiczak A., **Składanowska-Baryza J.**, Bykowska M., Sikora Ł., Cichowlas D. (2017). Wpływ wieku uboju na wybrane cechy jakościowe tuszy królików. Nowoczesna hodowla a dobrostan zwierząt : LXXXII Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego. Poznań, 20-22 września 2017, Materiały konferencyjne Poznań: 2017 s.272

### 3. Artykuły popularno-naukowe:

1. **Składanowska J.** (2017). Wartości odżywcze mięsa króliczego. Poradnik Gospodarski 6, 32-33
2. Kopciński B., **Składanowska J.**, Szwaczkowski T., Hejdysz M. (2016). Studenci Animal Production Management za granicą. Wieści Akad. 1/4 (208/211), s. 46-47
3. **Składanowska-Baryza J.** (2017). Dodatki w żywieniu królików- pasze znane oraz przyszłościowe. Ceny Rolnicze. Dostępne online: <https://www.cenyrolnicze.pl/wiadomosci/produkcjazwierzeca/pozostale-zwierzeta-hodowlane/10698-dodatki-w-zywieniu-krolikow-pasze-znane-oraz-przyszlosciowe>
4. **Składanowska-Bayza J.** (2017). Wartości odżywcze mięsa króliczego. Ceny Rolnicze. Dostępne online: <https://www.cenyrolnicze.pl/wiadomosci/produkcjazwierzeca/pozostale-zwierzeta-hodowlane/10067-wartosci-odzywcze-miesa - kroliczego>.
5. **Składanowska-Bayza J.** (2018). Hodowla Zwierząt Futerkowych- ważna gałąź przemysłu rolnego. Ceny Rolnicze. Dostępne online: <https://www.cenyrolnicze.pl/wiadomosci/produkcja-zwierzeca/pozostale-zwierzeta-hodowlane/12147-hodowla-zwierzat-futerkowych-wazna-galaz-przemyslu-rolnego>
6. **Składanowska-Baryza J.** (2018). Przyszłość dla hodowli królików w Polsce i na Świecie – linie hybrydowe. Dostępne online: <https://www.cenyrolnicze.pl/wiadomosci/rynki-rolne/pozostale-zwierzeta-hodowlane/9937-przyszlosc-dla-hodowli-krolikow-w-polsce-i-na-swiecie-linie-hybrydowe>

# OCENA WYBRANYCH CECH JAKOŚCIOWYCH MIĘSA DANIELA EUROPEJSKIEGO (DAMA DAMA) UTRZYMYWANEGO W CHOWIE FERMOWYM

**Marta Bykowska, III rok SD**

Opiekun naukowy: dr hab. Marek Stanisław

Katedra Hodowli Zwierząt i Oceny Surowców

## **1. Krótki wstęp**

Fermowa hodowla jeleniowatych zaczęła się rozwijać po imporcie zwierząt dziko żyjących na teren Nowej Zelandii (Bogdaszewska i Bogdaszewski 2014). Kraj ten jest światowym pionierem w hodowli jeleniowatych, utrzymując ok. 2 miliony tych zwierząt (Wiklund i in. 2004). W Europie zauważalny jest wzrastający popyt na jeleninę fermową stwarzający możliwość rozwoju tej gałęzi przemysłu mięsnego. Brak sztucznych dodatków w diecie zwierząt jak i w produkcie jakim jest mięso wpływa korzystnie na jego jakość i sprzedaż (Volpelli i in. 2003). Istnieje wiele czynników wpływających na jakość jeleniny fermowej. Pośród tych czynników wymienia się system utrzymania i metodę uboju (Daszkiewicz i in. 2015), płęć (Sims i in. 2004; Stanisław i in. 2015), żywienie i kondycję zwierząt (Volpelli i in. 2002; Hutchison 2012), rodzaj mięśnia i czas jego dojrzewania (Bykowska i in. 2018, Ludwiczak i in. 2016). Podjęte badania są pierwszymi w Polsce, które dotyczą oceny jakości mięsa daniela europejskiego (*Dama dama*), którego ubój przeprowadzono w rzeźni. Uzyskane wyniki badań istotnie poszerzą wiedzę o jakości pozyskiwanego surowca z uboju w rzeźni w porównaniu z tradycyjnym ubojem wykonanym poprzez odstrzał na fermie. Badania te mogą być szczególnie przydatne w hodowli, gdyż umożliwią prześledzenie ewentualnego wpływu czynników związanych z utrzymaniem (wykonywanymi zabiegami) a metodą uboju na jakość mięsa.

## **2. Hipoteza badawcza**

Hipoteza badawcza pracy zakłada występowanie różnic jakości mięsa przy różnych systemach uboju (ubój w rzeźni, odstrzał w gospodarstwie) na cechy jakościowe mięsa daniela europejskiego (*Dama dama*) utrzymywanego w chowie fermowym.

## **3. Cel badań**

Celem badań jest wykazanie zróżnicowania wybranych cech jakościowych mięsa daniela europejskiego (*Dama dama*) utrzymywanego w chowie fermowym, którego ubój przeprowadzono w rzeźni lub poprzez odstrzał w gospodarstwie.

## **4. Materiał badawczy**

Materiał badawczy stanowią wybrane elementy tuszy/mięśnie (*m. longissimus*, *m. supraspinatus*, *m. semimembranosus*) pozyskane od 48 danieli europejskich (łan i byków) utrzymywanych w chowie fermowym.

## **5. Metody badawcze**

Ocena jakości obejmuje analizę mięsa bezpośrednio po uboju oraz po przechowywaniu próżniowym (98%) przez 7 i 14 dni zapakowanych przy pomocy pakowarki próżniowej TEPRO PP4.2. Wykonane zostaną pomiary: pH, elektrodą szklanokalomelową podłączoną do przenośnego pH metru (Handylab 2, SCHOTT), pomiar temperatury

elektronicznym termometrem (Candy BBQ), barwy ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$ ,  $H^\circ$ ) przy pomocy aparatu Minolta Colorimeter CR-200b oraz zdolności zatrzymania wody w mięsie: wyciek naturalny (%) i wyciek termiczny (%) metodą Honkiela (1998), woda wolna (%) metodą Grau i Hamm (1953), w modyfikacji Pohja i Niinivaara (1957) oraz plastyczność ( $cm^2$ ) metodą Grau i Hamm (1953). Badanie składu chemicznego będzie obejmowało: zawartość suchej masy (%) (PN-ISO 1442. 2000), białka ogólnego (%) metodą Kjeldahla (PNA-4018) oraz tłuszczu śródmięśniowego (%) metodą Soxhleta (PN-ISO 1444. 2000). Przy pomocy oprogramowania SAS ver. 9.4 zostanie wykonana analiza statystyczna.

### Wstępne wyniki

**Kwasowość (pH) mięsa daniela.** Mięsień *supraspinatus* zwierząt ubitych w rzeźni ( $pH_{24godz.}=5,9-6,32$ ;  $pH_{15dni}=5,93$ ) oraz ubitych na pastwisku metodą odstrzału ( $pH_{24godz.}=5,68$ ;  $pH_{8dni}=5,71$ ;  $pH_{15dni}=5,73$ ) charakteryzował się najwyższym pH spośród analizowanych mięśni zarówno tuż po uboju jak i po dojrzewaniu. Mięsień *longissimus* miał najniższe pH ( $pH_{24godz.}=5,51-5,69$ ;  $pH_{8dni}=5,54$  i  $pH_{15dni}=5,55-5,69$ ). Kwasowość mięśni zwierząt ubitych w rzeźni była zróżnicowana. Spośród analizowanych mięśni, 10 mięśni *supraspinatus* (62,5 %) charakteryzowało się wysokim  $pH > 6,0$ . Kwasowość mięsa była wyższa od zwierząt, których ubój przeprowadzono w rzeźni.

**Barwa mięsa daniela.** Spośród analizowanych mięśni *m. supraspinatus* charakteryzował się najciemniejszą barwą zmierzoną 24 godz., 8 i 15 dni po uboju. Przechowywanie wpłynęło na wzrost jasności analizowanych mięśni.

**Zdolność utrzymania wody własnej i udział poszczególnych frakcji wody w mięsie.** Mięsień *supraspinatus* daniela ubitych metodą odstrzału charakteryzował się najmniejszym wyciekami naturalnym (0,73 w porównaniu do 1,05 i 1,02%), najmniejszą zawartością wody wolnej (25,8 w porównaniu do 27,9 i 29,1%), najmniejszym wyciekami termicznymi (23,2 w porównaniu do 23,5 i 24,0%) oraz najmniejszą plastycznością (3,63 w porównaniu do 4,35 i 3,98  $cm^2$ ) w porównaniu do mięśnia *longissimus* i *semimembranosus* analizowanego 24 godz. po uboju. Przechowywanie próżniowe wpłynęło na zwiększenie plastyczności oraz zmniejszenie wycieku termicznego, wycieku naturalnego i zawartości wody wolnej analizowanych mięśni. Wraz z wydłużającym się czasem przechowywania wzrastała wartość wycieku po przechowywaniu.

**Skład chemiczny.** Mięsień *supraspinatus* charakteryzował się najniższą zawartością suchej masy (24godz.=22,3-22,4%; 8dni=22,6%; 15dni=22,8-24,1%) i białka (24godz.=19,2-19,4%; 8dni=19,4%; 15dni=19,6-20,9%) oraz najwyższą zawartością tłuszczu (24godz.=0,78-0,95%; 8dni=0,81%; 15dni=0,85-1,06%) i największym stosunkiem wody do białka (24godz.=4,02-4,05; 8dni=3,99; 15dni=3,63-3,96) w porównaniu do mięśni *longissimus* i *semimembranosus*. Przechowywanie wpłynęło na zwiększenie zawartości suchej masy, białka ogólnego oraz na zmniejszenie stosunku wody do białka we wszystkich analizowanych mięśniach.

### Podsumowanie.

Podsumowując można stwierdzić, iż występują różnice w jakości i przydatności technologicznej surowca w zależności od metody uboju. W mięsie daniela europejskiego wysokie pH i ciemna barwa nie zawsze oznaczają obniżoną jakość określaną jako mięso DFD (ciemne, twarde, suche).

Stopień zaawansowania badań wynosi **70%**.

Przewód doktorski : nieotwarty

## Oryginalne prace twórcze:

1. Stanisław M., Ludwiczak A., Buda P., Pietrzak M., **Bykowska M.**, Kryza A., Ślósarz P. (2015). The Effect of Sex on the Dressing Percentage, Carcass, and Organ Quality in the Fallow Deer (*Dama dama*). *Annals of Animal Science* 15(4), 1055-1067. (IF= 0,599; MNiSW=20 pkt).
2. Ludwiczak A., **Bykowska M.**, Stanisław M., Ślósarz P. (2015). Students' sensory assessment of lamb meat taking into account selected consumer considerations. *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego* 11 (2), 103-112. (MniSW=7 pkt)
3. Ludwiczak A., Stanisław M., **Bykowska M.**, Składanowska J., Sikora Ł., Ślósarz P. (2016). The effect of sex, storage time and muscle type on the quality French Lop rabbit meat. *Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego* 12(2), 45-49. (MniSW=7 pkt)
4. Ludwiczak A., Stanisław M., **Bykowska M.**, Składanowska J., Ślósarz P. (2017). Effect of storage on quality traits of the semimembranosus muscle of farmed fallow deer (*Dama dama*) bucks and does. *Animal Science Journal* 88, 1149-1155. (IF=1,325; MNiSW= 30 pkt)
5. Ludwiczak A., Stanisław M., Lisiak D., Janiszewski P., **Bykowska M.**, Składanowska J., Ślósarz P. (2017). Novel ultrasound approach for measuring marbling in pork. *Meat Science* 131, 176-182. (IF=3,126; MNiSW=40 pkt)
6. **Bykowska M.**, Stanisław M., Ludwiczak A., Składanowska J., Ślósarz P. (2018). Quality of meat from three muscles of farmed fallow deer (*Dama dama*). *Animal Production Science* 58 (2), 376-384. (IF=1,371; MNiSW=35 pkt)
7. Składanowska-Baryza J., Ludwiczak A., Pruszyńska-Oszmałek E., Kołodziejcki P., **Bykowska M.**, Stanisław M. (2018). The effect of transport on the quality of rabbit meat. *Animal Science Journal*. doi:10.1111/asj.12966 (IF=1,325; MNiSW=30 pkt)
8. **Bykowska M.**, Stanisław M., Ludwiczak A., Składanowska J., Ślósarz P. (2018). The effect of muscle, time post-mortem and sex on the quality of meat from fallow deer (*Dama dama*) farmed in Poland. *Small Ruminants Research* 160, 12-18. (IF=0,947; MNiSW=30 pkt)

## 2. Przeglądowe artykuły naukowe (recenzowane)

1. **Bykowska M.** (2018). Influence of selected factors on meat quality from farm-raised and wild fallow deer (*Dama dama*)- a review. *Canadian Journal of Animal Science*. DOI: 10.1139/CJAS-2017-0146. (IF= 0,827; MNiSW= 30 pkt)

## 3. Doniesienia konferencyjne

### - Międzynarodowe

1. Ludwiczak A., Ślósarz P., Lisiak D., Przybylak A., Boniecki P., Stanisław M., Koszela K., Zaborowicz M., Przybył K., Wojcieszak D., Janczak D., **Bykowska M.** (2015). Different methods of image segmentation in the process of meat marbling evaluation. 7th International Conference on Digital Image Processing (ICDIP 2015), 9-10.04.2015, Los Angeles, California, United States. Proceedings of SPIE - The International Society for Optical Engineering, ISSN 0277-786X; vol. 9631, DOI:10.1117/12.2197071. (MniSW = 15 pkt)

2. Ludwiczak A., Stanisław M., Lisiak D., Przybylak A., Boniecki P., Koszela K., Zaborowicz M., Wojcieszak D., Przybył J., **Bykowska M.**, Kozłowski R., Ślósarz P. (2016). A computer method to analyse the impact of ultrasound frequency on the brightness of USG image of muscle cross-sections. Proceedings of SPIE – The International Society for Optical Engineering. International Conference on Optoelectronics and Image Processing (ICOIP), June 10-12, Warsaw, Poland, DOI: 10.1117/12.2248338 (MNiSW = 15 pkt)
3. **Bykowska M.**, Jarmakiewicz P., Stanisław M. (2015). The processing utility of farmed deer (*Dama dama*) meat. 4th International Conference on Trends in meat and meat products manufacturing. Polish Society of Food Technologists, Faculty of Food Technology, University of Agriculture in Krakow, 11-12.06.2015. Department of Animal Products Technology, str.21.
4. Kaczor U., Stanisław M., **Bykowska M.**, Składanowska J., Wojtysiak D., Kaczor A. (2016). Fatty acid profile of intramuscular fat in *supraspinatus*, *longissimus lumborum* and *semimembranosus* muscles of farmed fallow deer. International Conference on Biotechnology and Welfare in Animal Science with a session on "7<sup>th</sup> Poultry Days" : Krakow, 23-24 June 2016. str. 187.
5. Składanowska J., Stanisław M., Ludwiczak A., **Bykowska M.**, Ślósarz P. (2016). The effect of storage of fallow deer (*Dama dama*) meat in vacuum packaging on selected quality traits. Proceedings of the 7<sup>th</sup> International Conference on the "Quality and safety in food production chain" : Wrocław 23-24 June 2016, str. 88-89.
6. **Bykowska M.**, Stanisław M., Ludwiczak A., Składanowska J., Sikora Ł., Ślósarz P. (2016). Influence of age and sex on meat quality from hybrid rabbits. Proceedings of the 7<sup>th</sup> International Conference on the "Quality and safety in food production chain" : Wrocław 23-24 June 2016, str. 9.
7. Ludwiczak A., Stanisław M., **Bykowska M.**, Składanowska J., Woźniak A., Ślósarz P. (2016). Quality of meat from wild boar (*Sus scrofa*) hunted in Wielkopolska region in Poland. Proceedings of the 7<sup>th</sup> International Conference on the "Quality and safety in food production chain" : Wrocław 23-24 June 2016, str. 59.
8. Ludwiczak A., Stanisław M., Lisiak D., **Bykowska M.**, Składanowska J., Ślósarz P. (2016). Novel approach to USG measurements on the *longissimus* muscle of pig carcasses. 62<sup>nd</sup> International Congress of Meat Science and Technology (ICOMST). August 14-19, Bangkok, Thailand.

- **Krajowe**

1. Stanisław M., Ludwiczak A., **Bykowska M.**, Ślósarz P. (2015). Wschodniofryzyjska owca mleczna w stadzie Złotniki. LXXX Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego, Produkty lokalne pochodzenia zwierzęcego szansą rozwoju regionalnego, Bydgoszcz, 21-23.09.2015, materiały konferencyjne, str. 98.
2. **Bykowska M.**, Ludwiczak A., Stanisław M. (2015). Assessment of selected quality traits of meat from fallow deer (*Dama dama*) after a period of maturation in vacuum. LXXX Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego, Produkty lokalne pochodzenia zwierzęcego szansą rozwoju regionalnego, Bydgoszcz, 21-23.09.2015, materiały konferencyjne, str. 239.
3. **Bykowska M.**, Ludwiczak A., Stanisław M. (2016). Wpływ poziomu kwasowości na cechy jakościowe *musculus supraspinatus* danieli europejskich (*Dama dama*) utrzymywanych w chowie fermowym. Innowacyjność nauk o zwierzętach w XXI wieku : LXXXI Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego, Warszawa, 21-23.09.2016 roku, materiały konferencyjne, str. 218.

4. **Bykowska M.** (2017). Influence of slaughter method on meat quality from fallow deer (*Dama dama*). Nowoczesna hodowla a dobrostan zwierząt: LXXXII Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego, Poznań 20-22.09.2017, materiały konferencyjne, str. 34.
5. Stanisław M., Ludwiczak A., Składanowska-Baryza J., **Bykowska M.**, Sikora Ł., Cichowlas D., (2017). Wpływ wieku uboju na wybrane cechy jakościowe tuszy królików. Nowoczesna hodowla a dobrostan zwierząt : LXXXII Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego. Poznań, 20-22 września 2017, Materiały konferencyjne Poznań: 2017 s.272.

#### 4. Artykuły popularnonaukowe:

1. **Bykowska M.** (2017). Zwierzęta łowne to nie tylko problem: wartość dietetyczna i odżywcza dziczyzny. Dostępne online: <http://www.farmer.pl/produkcja-zwierzeca/inne-hodowle/zwierzeta-lowne-to-nie-tylko-problem-wartosc-dietetyczna-i-odzywca-dziczynny,74134.html>
2. **Bykowska M.** (2017). Fakty i mity hodowli zwierząt futerkowych. Dostępne online: <https://www.cenyrolnicze.pl/wiadomosci/ryniki-rolne/pozostale-zwierzeta-hodowlane/10608-fakty-i-mity-hodowli-zwierzat-futerkowych>
3. **Bykowska M.** (2018). Smak dziczyzny. Czy możliwy jest większy popyt na zdrowe mięso. Dostępne online: <https://www.cenyrolnicze.pl/wiadomosci/produkcja-zwierzeca/mieso/11193-smak-dziczynny-czy-mozliwy-jest-wiekszy-popyt-na-zdrowe-mieso>
4. **Bykowska M.** (2018). Hodowla nerek – Polska jako II producent w Europie. Dostępne online: <https://www.cenyrolnicze.pl/wiadomosci/produkcja-zwierzeca/pozostale-zwierzeta-hodowlane/11444-hodowla-nerek-polska-jako-ii-producent-w-europie>
5. **Bykowska M.** (2018) Jak zachować jakość mięsa na dłużej, czyli pakowanie próżniowe dziczyzny. Dostępne online : <https://www.cenyrolnicze.pl/wiadomosci/produkcja-zwierzeca/mieso/11842-jak-zachowac-jakosc-miesa-na-dluzej-czyli-pakowanie-prozniowe-dziczynny>
6. **Bykowska M.** (2018) Dzik nie taki straszny, czyli bezpieczeństwo i jakość mięsa. Dostępne online: <https://www.cenyrolnicze.pl/wiadomosci/produkcja-zwierzeca/mieso/12168-dzik-nie-taki-straszny-czyli-bezpieczenstwo-i-jakosc-miesa>

# UDZIAŁ KWASU ARACHIDONOWEGO W KSZTAŁTOWANIU JAKOŚCI OOCYTÓW ŚWINI DOMOWEJ

**Natalia Małyńska, III rok SD**

Opiekun pracy: prof. Dr hab. Dorota Cieślak

Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt

## **Wprowadzenie**

Świnia domowa jest uznanym gatunkiem modelowym w badaniach z zakresu biotechnologii rozrodu. Zainteresowanie tym gatunkiem wynika m.in. z licznych podobieństw fizjologiczno-anatomicznych do człowieka. Z powodu rosnącego zapotrzebowania na zarodki świni uzyskiwane *in vitro*, dąży się do zwiększenia efektywności procedury kompleksowego ich pozyskiwania (IVM, IVF, IVC). Efektywność stosowanej procedury *in vitro* wyraża się, udziałem zarodków w przedimplantacyjnym stadium blastocysty w stosunku do oocytów poddanych zapłodnieniu (30-40%). Na efektywność procedury istotny wpływ ma potencjał rozwojowy (jakość) oocytu.

Jednym z czynników kształtujących jakość oocytów ssaków jest metabolizm lipidów. W przypadku świni dodatkową motywacją do badań metabolizmu lipidów jest ich wyjątkowo wysoka zawartość w oocytach. Lipidy zawarte w oocytach i w płynie pęcherzykowym (np. kwasy tłuszczowe – FA) regulują procesy rozrodcze poprzez m.in. zaangażowanie w gospodarkę hormonalną. Kwas arachidonowy (AA) oraz kwas linolowy stanowią główne składniki błony fosfolipidowej. Duża zawartość AA będącego prekursorem bioaktywnych pochodnych lipidów (prostaglandyny i leukotrieny) może odgrywać znaczącą rolę w procesie dojrzewania oocytów świni. Potwierdzeniem tego może być obserwowana u bydła zmiana stężenia kwasu arachidonowego w świeżych i mrożonych oocytach przed oraz po procesie dojrzewania *in vitro*. Pomimo istotnego zaangażowania lipidów w procesy wzrostu i dojrzewania oocytów, stan wiedzy na temat ich metabolizmu w gametach świni jest ograniczony. Motywację podjęcia niniejszych badań jest chęć wyjaśnienia roli kwasu arachidonowego w kształtowaniu jakości oocytów świni domowej poprzez analizę wybranych ścieżek metabolizmu lipidów podczas dojrzewania *in vitro*.

## **Hipoteza**

Oocyty świni domowej charakteryzuje wysoka zawartość kwasu arachidonowego, prekursora prostaglandyn. Eksperymentalna modyfikacja wybranych ścieżek metabolizmu kwasu AA podczas IVM pozwoli na ocenę jego znaczenia w kształtowaniu potencjału rozwojowego oocytów.

## **Cele badań**

Ocena znaczenia kwasu arachidonowego w kształtowaniu potencjału rozwojowego oocytów świni domowej dojrzewających *in vitro* przy modyfikacji wybranych ścieżek metabolizmu kwasu AA z użyciem szerokiego panelu parametrów charakteryzujących jakość oocytów.

## Material i metody

Kompleksy oocyt – kumulus (COC) pozyskane z jajników dojrzałych płciowo loszek rzeźnych poddane dojrzewaniu *in vitro* (IVM) w obecności czynników modyfikujących metabolizm kwasu AA. Doświadczenie obejmie 5 grup COC: 1) przed IVM, 2) po IVM w warunkach standardowych (kontrola), 3) po IVM w obecności inhibitora fosfolipazy A<sub>2</sub>, 4) po IVM w przy zahamowanej aktywności cyklooksxygenazy, 5) po IVM w pożywce uzupełnionej egzogennym kwasem arachidonowym. Analizowany materiał biologiczny: przed dojrzewaniem *in vitro* [płyn pęcherzykowy (FF), oocyty, komórki pęcherzykowe (FC)], po IVM (oocyty, FC) oraz blastocysty pozyskane 7 dnia po aktywacji chemicznej doświadczalnych oocytów. Zastosowany panel procedur: real-time PCR (ekspresja genów na poziomie mRNA w FC i oocytach przed oraz po IVM), chromatografia gazowa (ilość i profil kwasów tłuszczowych w FF), Elisa (poziom hormonów w FF), barwienia fluoroscencyjne (liczba i powierzchnia kropli lipidowych, średnica w FC oraz oocytach przed oraz po IVM i stadium mejozy oocytu w oocytach po IVM).

## Wyniki

Przeprowadzono kompleksową charakterystykę składu płynu pęcherzykowego (FF) pobranego z 74 indywidualnych par jajników dojrzałych płciowo loch. Określono koncentrację 3 hormonów: prostaglandyna E<sub>2</sub>, 17-β estradiol i progesteron. Analizowano profil kwasów tłuszczowych (FA) zawartych w FF, w szczególności: kwasu arachidonowego, palmitynowego, oleinowego, linolowego i stearynowego. Analiza statystyczna wykazała korelacje stężeń następujących parametrów: 1) progesteronu i kwasu palmitynowego (-0,29 P<0,05), 2) kwasu oleinowego z czterema FA: arachidonowym (0,34 P<0,01), stearynowym (0,38 P<0,01), palmitynowym (0,39 P<0,01) i linolowym (0,55 P<0,01), 3) kwasu linolowego z arachidonowym (0,34 P<0,01) i estradiolem (0,30 P<0,05) oraz 4) kwasu palmitynowego i stearynowego (0,84 P<0,01).

Z puli 74 prób FF wyselekcjonowano 13 posiadających oczekiwany profil FA i koncentrację hormonów (wartość dla każdego z 7 czynników w danej próbie mieściła się w przedziale średnia +/- sd). Po zmieszaniu 13 prób otrzymano 10ml płynu pęcherzykowego o znanym składzie stanowiącego podstawę dalszego eksperymentu. Analiza składu standaryzowanego FF wykazała, że średnia wartość stężeń analizowanych parametrów (profil FA + hormony) nie różni się statystycznie od średniej 74 wyjściowych prób. Jedyne wyjątek stanowi zawartość estradiolu, która w próbie standaryzowanej różni się istotnie (P<0,05) od średniego stężenia w 74 prób wyjściowych. Jest to prawdopodobnie efektem dużej zmienności stężenia estradiolu wynikającej z fazy cyklu rujowego dawczyń jajników.

**Przewód doktorski:** nieotwarty

## Spis publikacji

Pawlak P., Chabowska A., **Malyszka N.**, Lechniak D.: Mitochondria and mitochondrial DNA in porcine oocytes and cumulus cells - A search for developmental competence marker. *Mitochondrion* 27:48-55 (IF<sub>2014</sub>=3.249 MNiSW=30).



OCENA MOŻLIWOŚCI WYKORZYSTANIA MURARKI OGRODOWEJ (*OSMIA RUFAL.*)  
JAKO CZYNNIKA ZWIĘKSZAJĄCEGO PLONOWANIE WYBRANYCH GATUNKÓW DRZEW W  
LEŚNYCH PLANTACJACH NASIENNYCH

**Mateusz Kęsy, I rok SD**

Promotor: dr hab. Monika Fliszkiewicz,  
dr Weronika Banaszak-Cibicka

Instytut Zoologii

Obecnie w związku z dużym zapotrzebowaniem na materiał siewny drzew liściastych w Lasach Państwowych istotnym jest próba znalezienia sposobu na zwiększenie ich plonowania. Celem prowadzonych działań jest określenie przydatności murarki ogrodowej (*Osmia rufa L.*) w zapylaniu upraw nasiennych wybranych gatunków drzew liściastych. Badania mają na celu także ocenę możliwości rozmnażania owadów zapylających na terenie upraw nasiennych. Dotychczas murarka ogrodowa była wykorzystywana głównie do zapylania nasienniczych upraw warzywnych oraz upraw sadowniczych, dlatego też próba wprowadzenia jej jako zapylacza do leśnych plantacji nasiennych ma charakter pionierski. Badania naukowe będą prowadzone przez okres 4 lat (2017-2021), w miesiącach marzec-wrzesień na wybranych powierzchniach zlokalizowanych w nadleśnictwach z terenu Wielkopolski oraz województw sąsiadujących. W okresie 01.10.2017-28.02.2018 zostaną wyznaczone miejsca prowadzonych badań oraz nastąpi nawiązanie współpracy z wybranymi nadleśnictwami, gdzie występują plantacje nasienne drzew liściastych (m.in. lipy, buki, klony, jawory, dęby, olchy). W pierwszym roku badań (2018) zostanie przeprowadzone określenie składu ilościowego i jakościowego apidofauny na wybranych plantacjach nasiennych oraz ocena wielkości naturalnej populacji murarki ogrodowej występującej na badanym terenie. Zostaną także wytypowane drzewa doświadczalne, przy których umieszczone zostaną sztuczne agregacje pszczoł samotnic (oprządy z owadami oraz gniazda z trzciny pospolitej do zasiedleń) oraz zbliżone w wielkości i pokroju drzewa kontrolne, przy których nie będzie umieszczana murarka. Wystawienie ich będzie zsynchronizowane z terminem zakwitania danego gatunku drzew. Zarówno na drzewach zapylanych dodatkowo przez murarkę, jak i bez niej, zostaną wytypowane gałęzie ze zbliżoną liczbą kwiatów, na które zostaną nałożone izolatory z siatki. Będzie to miało na celu określenia stopnia samozapylania się drzew. W czasie kwitnienia i zasiedlania gniazd przez pszczoły samotnice zostaną pobrane losowo rurki trzciniowe w celu analizy pyłkowej komór legowych. Umożliwi to określenie stopnia wykorzystania pyłku badanych drzew przez murarkę. Na końcu sezonu badawczego zostaną zebrane nasiona z wytypowanych drzew w celu określenia ilości i jakości materiału siewnego. W celu oceny możliwości efektywnego rozmnażania murarki ogrodowej w monokulturach upraw nasiennych, zimą (po zakończeniu rozwoju owadów) zostanie przeprowadzona kontrola zasiedlonych gniazd (liczba zasiedlonych rurek, liczba zbudowanych komór legowych, liczba spasożytowanych komór oraz liczba w pełni wykształconych oprządów). Planowane badania zostaną powtórzone w dwóch kolejnych sezonach badawczych. We wszystkich latach badań będą także uwzględnione warunki pogodowe na analizowanych obszarach. W ostatnim roku (2021) zostanie przeprowadzone podsumowanie badań, zestawienie i porównanie uzyskanych wyników.

ROLA I MECHANIZM DZIAŁANIA BIOLOGICZNIE AKTYWNYCH SUBSTANCJI  
POCHODZĄCYCH Z PAULOWNIA CLON IN VITRO 112® W REGULACJI PROCESU  
BIOUWODOROWANIA W ŻWACZU KRÓW MLECZNYCH

**Paulina Szulc, I rok SD**

Opiekun: prof. dr hab. Adam Cieślak

UPP Katedra Żywienia Zwierząt

**Wprowadzenie:** W związku z zapotrzebowaniem społecznym na produkty pochodzenia zwierzęcego o charakterze prozdrowotnym poszukiwane są metody poprawy jakości mleka zwierząt przeżuwających. Jednym z kierunków zmian jest modulowanie ilości nienasyconych kwasów tłuszczowych w żwaczu, które decydują o ich zawartości w gruczole mlekowym i w mleku np. poprzez wzbogacenie dawki pokarmowej w komponenty paszowe oddziałujące na procesy żwaczowe.

Paulownia Clon in Vitro 112® (Oxytree) jest rośliną uzyskaną w warunkach laboratoryjnych w wyniku krzyżowania *Paulownia Elongata* z *Paulownia Fortunei*. Głównym celem uprawy Oxytree jest produkcja dobrego gatunkowo drewna, na co pozwalają właściwości rośliny. Po zagospodarowaniu drewna pozostaje produkt uboczny - masa organiczna złożona głównie z liści, które, jak wskazują wstępne badania, mogą potencjalnie stanowić komponent dawki pokarmowej dla przeżuwaczy.

Wstępne wyniki badań uzyskane w Zakładzie Biochemii i Jakości Plonów IUNG-PIB (Puławy), wskazują na występowanie w liściach Paulowni flawonoidów (glikozydów kemferolu i luteoliny), glikozydów fenyloetanolowych (werbaskozyd i izowerbaskozyd) oraz irydoidów (katalpol), z kolei wstępne analizy biochemiczne przeprowadzone w Katedrze Żywienia Zwierząt UPP, wykazały, że liście są dobrym źródłem składników pokarmowych, między innymi białka (ok. 18%), włókna (ok. 10%) i tłuszczu (ok. 3%).

Udowodniono, że związki biologicznie aktywne, np. flawonoidy, wykazujące potencjał antymikrobiologiczny, mogą zatem modulować przebieg procesów żwaczowych poprzez wpływ na poszczególne grupy mikroorganizmów tam bytujących.

**Hipoteza badawcza** zakładała, że biologicznie aktywne substancje, zawarte w liściach Paulowni CLON IN VITRO 112®, oddziałując na populacje mikroorganizmów żwacza, ograniczą intensywność biouwodorowania nienasyconych kwasów tłuszczowych w płynie żwacza oraz monokulturach pierwotniaków. Konsekwencją działań będzie poznanie mechanizmów modulujących intensywność procesu biouwodorowania na pewnych jego etapach oraz intensyfikacja formowania sprzężonych izomerów nienasyconych kwasów tłuszczowych o właściwościach prozdrowotnych.

**Cele badawcze:** Określenie roli i mechanizmu działania biologicznie aktywnych substancji (m.in. flawonoidów) pochodzących z Paulownia CLON IN VITRO 112® w regulacji procesu biouwodorowania w żwaczu.

**Materiał i metody:** Wstępne badania przeprowadzono za pomocą Hohenheim *In Vitro* Gas Production System w celu zbadania wpływu Paulowni CLON IN VITRO 112® na procesy przemian żwaczowych w warunkach *in vitro*. Wyodrębniono 5 grup eksperymentalnych: (i) suszona kiszonka z lucerny (Grupa Kontrolna), (ii) liofilizowane liście i łodygi Paulowni CLON IN VITRO 112® zmieszane w proporcji 1:1, (iii) liofilizowane liście Paulowni CLON IN VITRO 112®, (iv) liofilizowane łodygi Paulowni CLON IN VITRO 112®, (v) świeża kiszonka z Paulowni CLON IN VITRO 112®. Po 24 godzinnej inkubacji płynu żwacza określono poziom produkcji metanu, kinetykę gazu, stężenie amoniaku, a także całkowitą liczbę bakterii i pierwotniaków. Określono ponadto profil kwasów tłuszczowych. Wyniki poddano analizie statystycznej stosując procedurę GLM opartą na jednoczynnikowej ANOVA. Statystyczne znaczące różnice stwierdzano dla  $P < 0,01$ .

**Wstępne wyniki** wskazały, że zawarte w Paulowni CLON IN VITRO 112® flawonoidy mogą ograniczyć produkcję i emisję metanu u przeżuwaczy. Aktualnie trwa analiza pozostałych wskaźników, które pozwolą na uzyskanie informacji niezbędnych do zweryfikowania hipotezy badawczej oraz realizacji celu badawczego a w konsekwencji do przygotowania oryginalnej pracy twórczej.

Przewód doktorski: **nietwarty**

#### **Spis publikacji:**

1. El-Sherbiny M., Cieślak A., Szczechowiak J., Kołodziejcki P., **Szulc P.**, Szumacher- Strabel M. (2016) Effect of nanoemulsified oils addition on rumen fermentation and fatty acid proportion in a rumen simulation technique. *Journal of Animal and Feed Sciences* 25;116-124. (IF= 0,917, pkt MNiSW= 20)
2. Cieślak A., El-Sherbiny M., Szczechowiak J., Kowalczyk D., Pers-Kamczyc E., Bryszak M., **Szulc P.**, Józwik A., Szumacher-Strabel M. (2015) Rapeseed and fish oil mixtures supplied at low dose can modulate milk fatty acid composition without affecting rumen fermentation and productive parameters in dairy cows. *Animal Science Papers and Reports*, vol.33; 357-372. (IF= 0,725, pkt MNiSW= 25)

## ĘKOLOGIA POPULACJI BOCIANA BIAŁEGO

**Joanna T. Woźna, II rok SD**

Opiekun: dr hab. Janusz Kloskowski

Instytut Zoologii

Wielokrotnie sugerowano, że warunki pogodowe na zimowiskach wpływają na zdolności reprodukcyjne gatunków migrujących, co nazywa się efektem przeniesienia (ang. ‘carry-over effect’). W wielu badaniach wykazano istnienie związku między warunkami na zimowiskach a terminami odlotów i przylotów na lęgowiska oraz sukcesem lęgowym. Niewiele prac pokazuje jednak jak warunki na zimowiskach wpływają na produkcję jaj.

Odnotowaliśmy 863 daty przylotów dla 191 gniazd w latach 2005-2016 i wielkości zniesień w 412 gniazdach oraz 1725 pomiarów jaj w latach 2003-2016 dla bociana białego w zachodniej Polsce. Wykorzystaliśmy Sahelian Precipitation Index (SPI) and Indian Ocean Dipole (IOD) jako wskaźniki pogodowe na zimowiskach oraz opady i temperature na lęgowiskach.

Bocian biały przylatuje na lęgowiska istotnie wcześniej w sezonach poprzedzonych ciepłym i deszczowym marcem, podczas gdy warunki pogodowe w Afryce nie mają wpływu na termin przylotu. Samice składają więcej i większe jaja w sezonach poprzedzonych bardziej deszczowymi zimami w Afryce. Na sukces lęgowy wpływa wyłącznie pogoda na lęgowiskach.

Warunki pogodowe na zimowiskach mogą wpływać na ptaki migrujące nie poprzez zmiany w datach przylotu, ale poprzez zmiany w produkcji jaj. Badania izotopów stabilnych mogą przynieść więcej informacji na temat przebiegu tego procesu.

Przewód doktorski: **nieotwarty**.

## **Spis publikacji**

### **Oryginalne prace twórcze:**

Budka M., Deoniziak K., Tumiel T., Woźna J.T. 2018. Vocal individuality in drumming in great spotted woodpecker – a biological perspective and implication for conservation. PLoS ONE 13(2): e0191716. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191716> (40 pkt. MNiSW)

Prokop, P., Dylewski, Ł., Woźna, J.T., Tryjanowski P. 2018. Cues of woman's fertility predict prices for sex with prostitutes. Current Psychology. <https://doi.org/10.1007/s12144-018-9807-9> (20 pkt. MNiSW)

Tobolka, M., Dylewski, L., Wozna, J. T., & Zolnierowicz, K. M. 2018. How weather conditions in non-breeding and breeding grounds affect the phenology and breeding abilities of white storks. Science of The Total Environment, 636, 512-518. (40 pkt. MNiSW)

Woźna J.T. 2018. Bociany na wysypiskach śmieci. Aura 4:2-3. (6 pkt. MNiSW)

Woźna J.T. 2018. Osobowość u ptaków - założenia teoretyczne, kierunki i metody badań. Kosmos (w druku) (10 pkt. MNiSW)

Wozna, J.T., Hromada, M., Reeve, N.F., Szymański, P., Zolnierowicz, K.M. & Tobolka, M. 2017. Patchy versus linear non-cropped habitats in farmland: which is better for nesting success of the Red-backed Shrike *Lanius collurio*? Bird Study 64: 98-103. DOI:10.1080/00063657.2016.1270897 (25 pkt. MNiSW)

### **Artykuły popularno-naukowe:**

Wozna J.T. 2016. Wpływ intensyfikacji rolnictwa na ptaki. W: zadrzewienia dla ochrony bioróżnorodności i klimatu. Pakiet edukacyjny. Red. Konieczny K., Krukowska-Szopa I., Szatan S., Bochyńska M., Woźnicka J. Fundacja Ekologiczna „Zielona Akcja”, Legnica. ISBN: 978-83-946128-0-1

Woźna J.T. 2018. Ptasie osobowości. Ptaki. Kwartalnik Ogólnopolskiego Towarzystwa Ochrony Ptaków 2(97): 8-11.

# CRENOSOMA STRIATUM (NEMATODA: METASTRONGYLOIDEA) U JEŻY WSCHODNICH I ZACHODNICH (*ERINACEUS ROUMANICUS ET EUROPAEUS*)

Patrycja K. Kwiatkowska, II rok SD

Opiekun: prof. dr hab. Piotr Tryjanowski

Instytut Zoologii

## WSTĘP

*Crenosoma striatum* to żyworodny nicien należący do rzędu Strongylida. Pasożyt ten przechodzi złożony cykl życiowy – znanym żywicielem pośrednim są ślimaki lądowe. Pasożyt ten jest wysoce specyficzny. Tylko u gatunków rodzaju *Erinaceus* jest w stanie produkować larwy, a zatem dokończyć swój cykl życiowy. Stadia dojrzałe znajdują się w płucach, gdzie mogą przyczyniać się do powstawania stanu zapalnego, wtórnych zakażeń oraz mikropni, w związku z czym, ich obecność związana jest ze znacznym wzrostem śmiertelności. Najbardziej wrażliwe są młode osobniki, a ich śmiertelność jest najwyższa w okresie przygotowywania się do pierwszej hibernacji. Bardzo specyficzną cechą larw z rodzaju *Crenosoma* jest ich niebywała wręcz odporność na niskie temperatury: w temp. -20 st. C przeżywają okres 3-7 miesięcy, a w -80 st. C do 50 dni. Nie są również wrażliwe na wielokrotne zamrażanie i rozmrażanie.

Oba badane gatunki jeży występują sympatrycznie w Europie środkowej. Uważa się, że na tych obszarach różnice międzygatunkowe zaznaczają się bardziej – zarówno te fenotypowe, jak i te w ich ekologii. Liczne badania wskazują na to, że zantropogenizowane środowisko bardzo im odpowiada, zapewniając dostatek pożywienia i schronienie

## HIPOTEZY

H1. U obu gatunków występuje różna prewalencja *Crenosoma striatum*.

H2. U obu badanych gatunków jeży występują różne genotypy *Crenosoma striatum*.

## CELE

1. Zbadanie prewalencji występowania *Crenosoma striatum* u obu gatunków jeży.

Oba gatunki różnią się od siebie ekologią – choć badań jest niewiele, to sugerują one jednak pewne różnice, a te różnice z kolei mogą wpływać na skład parazytologicznego biomu.

2. Zbadanie różnorodności genetycznej pasożytów u obu gatunków jeży, w strefie ich sympatrycznego występowania – czy faktycznie jest to tylko *C. striatum*; jeśli nie, to czy dochodzi do hybrydyzacji pasożytów występujących u obu gatunków jeży.

Podczas cyklicznych zmian klimatu, izolacji związanej ze zlodowaceniami i związanych z nimi zmianami puli genowej, mogła nastąpić ścisła specjalizacja pasożytów u poszczególnych gatunków jeży.

## MATERIAŁY I METODY

Materiałem do badań będą larwy pozyskane z płuc zwierząt pochodzących głównie z wypadków komunikacyjnych oraz larwy pozyskane z kału zwierząt żywych. W celu pozyskania larw z materiału, wykonane zostaną larwoskopia zmodyfikowaną metodą Baermanna. Z larw zostanie wyizolowany materiał DNA, który po poddaniu reakcjom PCR z użyciem kilku par starterów (markery 18S, 28S i COX), zostanie poddany elektroforezie. Zamplikowane fragmenty DNA o żądanej długości zostaną oczyszczone i przesłane do sekwencjonowania. Uzyskane sekwencje zostaną następnie poddane analizie z użyciem

oprogramowania komputerowego, w celu porównania z sekwencjami zamieszczonymi w GenBanku i utworzeniu drzewa filogenetycznego.

### **WSTĘPNE WYNIKI**

Kilkadziesiąt osobników zgromadzonych w Czechach (Brno) oraz kilka osobników zebranych w Poznaniu. Prace na materiale z poszczególnych osobników są na różnych stopniach zaawansowania; z kilkunastu osobników posiadam już gotowe sekwencje badanych genów.

### **STOPIEŃ ZAAWANSOWANIA**

15%

### **SPIS LITERATURY**

- Bolfiková, B., & Hulva, P. (2012). Microevolution of sympatry: landscape genetics of hedgehogs *Erinaceus europaeus* and *E. roumanicus* in Central Europe. *Heredity*, 108(3), 248-255.
- **Bryja, J., Ribas, A., Baird, S. J., Piálek, J., & Goüy de Bellocq, J. (2016). Testing parasite ‘intimacy’: the whipworm *Trichuris muris* in the European house mouse hybrid zone. *Ecology and evolution*, 6(9), 2688-2701.**
- Čabanová, V., Miterpáková, M., Druga, M., Hurníková, Z., & Valentová, D. (2018). GIS-based environmental analysis of fox and canine lungworm distribution: an epidemiological study of *Angiostrongylus vasorum* and *Crenosoma vulpis* in red foxes from Slovakia. *Parasitology Research*, 1-10.
- Pfäffle, M., Bolfiková, B. Č., Hulva, P., & Petney, T. (2014). Different parasite faunas in sympatric populations of sister hedgehog species in a secondary contact zone. *PloS one*, 9(12), e114030.
- Rózsa, L., Reiczigel, J., & Majoros, G. (2000). Quantifying parasites in samples of hosts. *Journal of Parasitology*, 86(2), 228-232.

Przewód doktorski: nieotwarty.

Numer grantu NCN: 2016/22/Z/NZ8/00004.

# METHANE MITIGATION, MILK PRODUCTION AND FATTY ACID COMPOSITION OF DAIRY COWS FED DIETS COMPOSED OF TROPICAL SOURCES

**Yulianri Rizki Yanza, II rok SD**

Opiekun: prof. dr hab. Adam Cieślak

UPP Katedra Żywienia Zwierząt

**Wprowadzenie:** Ruminants are substantial contributors of anthropogenic and enteric methane emissions in the world. The effective strategy to reduce methane emission in ruminants by dietary supplementation of plants rich in phytochemicals (secondary plant metabolites) is still required. Several studies confirmed that phytochemicals such as phenolics, saponins, tannins, flavonoids, and essential oils reduce methane emissions from ruminants while simultaneously improving livestock productivity. Moreover, phytochemicals including phenolics influence milk fatty acid profile due to modulation of the ruminal biohydrogenation process by microbials. The research on phytochemicals that may mitigate ruminal methane production simultaneously modulating the ruminal biohydrogenation process towards increased health beneficial fatty acid proportions is greatly required. Some tropical sources i.e. *Coleus amboinicus* Lour. and Galohgor® are capable to modify rumen methanogenesis and biohydrogenation, and finally production.

**Hipoteza badawcza:** The hypothesis driven idea based on the inclusion of tropical plants in the dairy cows diet stated that the secondary plant metabolites available in those plants modulate both rumen methanogenesis and biohydrogenation as well as rumen fatty acid profile.

**Cele badawcze:** To investigate: 1) the effect of phytochemicals of the tropical plants as well as their synergistic action on *in vitro* rumen fermentation. 2) the quantitative and qualitative changes in the rumen microbial population to better understand the mechanisms controlling hydrogen distribution directly associated with biohydrogenation and methanogenesis. 3) the tropical sources of phytochemicals on ruminant production, fatty acid profile and methane emission *in vivo*.

**Cele szczegółowe:** 1) Investigate the *Coleus amboinicus* Lour. on rumen methanogenesis and biohydrogenation as well as basic rumen fermentation parameters and microbial populations *in vitro*. 2) Investigate the Mix herbs Galohgor® on rumen methanogenesis and biohydrogenation as well as basic rumen fermentation parameters and microbial populations *in vitro*. 3) Investigate the *Coleus amboinicus* Lour. and Mix herbs Galohgor® effects on rumen methanogenesis, biohydrogenation, basic rumen fermentation parameters and microbial populations in dairy cows *in vivo*. Blood parameters and milk production will also be determined.

**Material i metody:** The phytochemical content of *Coleus amboinicus* Lour. was initially analyzed. After that, the *in vitro* experiment was carried out using Hohenheim gas test system with 40 ml of buffered rumen fluid incubated for 24 h at 39 °C in anaerobic conditions. Approximately 400 mg (DM basis) of total mixed ration (TMR) was used as a control substrate and the *Coleus amboinicus* Lour. was used at doses of 10, 20, 40, and 80 mg DM replacing equal amounts of TMR. All data were analyzed based on one-way ANOVA using



SAS (version 9.1). Tukey post-hoc test was used for determining the significant differences among groups and the polynomial contrasts to determine the linear and quadratic responses of different doses of *Coleus amboinicus* Lour. included in the diet.

**Wstępne wyniki:** At the first stage of study the *Coleus amboinicus* Lour (CAL) was analysed. CAL contained higher phenolic acid concentrations followed by flavonoid and diterpens. The phenolic compound was dominant due to high accumulation of rosmarinic acid that has the antimicrobial and antioxidant properties. Addition of CAL decreased methane production up to 30% linearly and the decrease was dose-dependent. *In vitro* dry matter digestibility (IVDMD) and ammonia concentration tended to increase with increasing doses of CAL. Concentration of total volatile fatty acids was not affected by the CAL although there appeared to be a minor positive linear trend; however, acetate, butyrate and isobutyrate proportion increased quadratically. CAL tended to linearly increase  $\alpha$ -linolenic acid and conjugated linoleic acid as well as increased stearic acid concentration in ruminal fluid. CAL increased total protozoa and bacterial populations during fermentation, but inhibited methanogens. It is concluded that the CAL leaves may be promising feed additive to decrease rumen methanogenesis as well as to modulate biohydrogenation of rumen fatty acids.

**Przewód doktorski:** nieotwarty

#### **Spis publikacji:**

3. D.A. Marrez, A. Cieślak, R. Gawad, H.M. Ebeid, M. Chrenková, M. Gao, **Y.R. Yanza**, M. El-Sherbiny, M. Szumacher-Strabel (2017) Effect of freshwater microalgae *Nannochloropsis limnetica* on the rumen fermentation *in vitro*. *Journal of Animal and Feed Science*. (IF= 1.024, pkt MNiSW= 20)
4. **Y. R. Yanza**, M. Szumacher-Strabel, M. Bryszak, M. Gao, P. Kołodziejcki, A. Stochmal, S. Slusarczyk, A.K. Patra, A. Cieślak (2018) *Coleus amboinicus* (Lour.) leaves as modulator of rumen methanogenesis and biohydrogenation *in vitro*. (under revision: JAS-2018-2710).
5. **Y. R. Yanza**, A. Jayanegara, A. M. Kasenta, M. Szumacher-Strabel, A. Cieślak (2018) The effect of MCFA sources (C12:0 and C14:0) on rumen methanogenesis *in vitro*: a meta-analysis (ready for submission).

# WARUNKI GNIAZDOWE ODPOWIEDZIALNE ZA ROZWÓJ PISKŁĄT BOCIANA BIAŁEGO

Zuzanna Jagiełło, I rok SD

Zakład Zoologii

Opiekun pracy: dr hab. Grzegorz Maciorowski

Opiekunowie pomocniczy: dr Marcin Tobółka, dr Jose Ignacio Aguirre

## Wprowadzenie:

Warunki abiotyczne – temperatura, opady, nasłonecznienie, jakość siedliska oraz warunki biotyczne – opieka rodzicielska, pokarm, środowisko mikrobiologiczne i pasożytnicze, materiały gniazdowe (w tym materiały pochodzenia antropogenicznego) wpływają na rozwój piskląt bociana białego. Okazuje się, że rozwój fizyczny, nie informuje o przeżywalności i powracalności osobników do populacji. To kondycja, wydajny układ immunologiczny wpływają istotnie na przeżywalność i powracalność osobników do populacji. Kompleksowe badania wpływu warunków gniazdowych na rozwój bociana białego nie zostały jeszcze przeprowadzone. Zdecydowana większość podobnych badań była do tej pory poświęcona zależności występującej pomiędzy ekologią rozrodu a antropogenicznymi źródłami pokarmu. Badania nad wpływem śmieci na ptaki zazwyczaj dotyczą: spożycia, zaplątania, albo użycia jako materiału gniazdowego. Bardzo ważnymi czynnikami, które istotnie wpływają na sprawność osobniczą to warunki mikrobiologiczne oraz obecność ektopasożytów w gniazdach, które zostaną zbadane. Poza tym będzie badany wpływ śmieci, związanej z nimi mikrobiologii na indywidualny rozwój osobników. Sprawność będzie sprawdzana poprzez wydajność układu immunologicznego piskląt (reakcja hemolizy-hemoaglutynacji). Dodatkowo, w związku z presją antropologiczną zbadany zostanie jej wpływ na biologię bocianów - przetestujemy czy wbudowywanie śmieci w gniazda u bocianów kolonijnych jest związane z obecnością, liczebnością w środowisku, w najbliższym otoczeniu gniazda, w zależności od gradientu urbanizacyjnego.

## Hipotezy badawcze:

**H1:** Wbudowywanie śmieci w gniazda u bocianów kolonijnych rośnie wraz z gradientem urbanizacyjnym. Alternatywnie, zanieczyszczenie środowiska śmieciami wokół gniazd nie ma wpływu na ich wbudowywanie w gniazda przez bociany kolonijne.

**H2:** Stopień zaśmiecenia gniazda wpływa na rozwój układu immunologicznego piskląt w odpowiedzi na zróżnicowaną ilość patogenów w gnieździe.

## Cele badawcze:

Głównym celem projektu jest zbadanie w jaki sposób warunki biotyczne i abiotyczne gniazda, materiały gniazdowe pochodzenia naturalnego i antropogenicznego oraz różnorodność pokarmu zapewnianego przez rodziców wpływa na rozwój, kondycję oraz system immunologiczny piskląt bociana białego.

Przewód doktorski: nie jest otwarty

Spis publikacji:

Artykuły popularnonaukowe:

Jagiello Z. A. 2016 Śmieci w gniazdach ptaków, w: Zadrzewienia dla ochrony bioróżnorodności i klimatu. Pakiet edukacyjny. Red. Konieczny K., Krukowska, Szopa I., Szatan S., Bochyńska M., Woźnicka J. Fundacja Ekologiczna „Zielona Akcja”, Legnica.  
ISBN: 978-83-946128-0-1

# NEURONY KNDY A DYSFUNKCJE UKŁADU ROZRODCZEGO U SZCZURZYC Z INDUKOWANĄ EKSPERYMENTALNIE OTYŁOŚCIĄ I CUKRZYCĄ TYPU 2

Kamil Ziarniak, II rok SD

Opiekun pracy: dr hab. Joanna Śliwowska, prof. nadzw.

Pracownia Neurobiologii, Instytut Zoologii

## Wstęp

Otyłość i cukrzyca uznawane są przez Światową Organizację Zdrowia (WHO) za choroby cywilizacyjne. U chorych, poza nieprawidłowościami metabolicznymi i hormonalnymi (m.in. hyperglikemia, insulinooporność) często występują zaburzenia w funkcjonowaniu osi podwzgórze – przysadka mózgowa – gonady (PPG; m. in. hypogonadyzm czy rozregulowanie cyklu płciowego). Niedawno poznany, nadrzędnym elementem w regulacji osi PPG jest kisspeptyna (KP), która w jądrze łukowatym podwzgórza (ARC) ulega koekspresji z dwoma innymi peptydami – neurokininą B (NKB, peptyd z grupy tachykinin) i dynorfiną (DYN, endogenny opioid), tworząc tzw. neurony KNDy.

Choć w literaturze dostępne są informacje nt. wpływu statusu energetycznego na ekspresję kisspeptyny i jej receptora (GPR54) – wiadomo między innymi, że ekspresja kisspeptyny w podwzgórze hamowana jest przez ujemny bilans energetyczny – o tyle skupiają się one w zasadzie wyłącznie na samcach. Ponadto, rola pozostałych dwóch peptydów w regulacji osi PPG również nie jest dobrze poznana – dotychczas zebrane dane sugerują, że NKB stymuluje, zaś DYN hamuje wydzielanie kisspeptyny. Podobnie również jak w przypadku KP, niewiele wiadomo o wpływie dodatniego bilansu energetycznego na ekspresję dwóch pozostałych peptydów w mózgu samic, jak również o roli pozostałych tachykinin (neurokinina A, substancja P) w regulacji osi PPG. Stąd też moje badania prowadzone będą na poziomie centralnym i dotyczyć będą jądra łukowatego podwzgórza samic, w którym zlokalizowane są neurony KNDy i gdzie mogą zachodzić interakcje pomiędzy centralną regulacją procesów metabolicznych i rozrodczych.

## Hipotezy badawcze

1. Dieta wysokotłuszczowa prowadząca do otyłości i cukrzycy typu 2 wpływa na zaburzenia procesów rozrodczych, wynikających z deregulacji osi podwzgórze-przysadka mózgowa-gonady oraz cyklu płciowego szczurzyca.
2. Otyłość i/lub cukrzyca typu 2 wpływają na ekspresję peptydów neuronów KNDy w jądrze łukowatym podwzgórza szczurzyca.
3. Usunięcie jajników i/lub podanie estradiolu i progesteronu wpływa na ekspresję peptydów KNDy w jądrze łukowatym podwzgórza szczurzyca z eksperymentalnie indukowaną otyłością i cukrzycą typu 2.
4. Podanie receptorów tachykinin (NKA, NKB, SP) wpływa na sekrecję LH i FSH u szczurzyca z eksperymentalnie wywołaną cukrzycą typu 2 po owariektomii (OVX) oraz owariektomii suplementowanej estrogenem (E<sub>2</sub>).

## Cele pracy

W ramach projektu zamierzam:

1. Określić wpływ otyłości indukowanej dietą (DIO) i cukrzycy typu 2 (DM2) na ekspresję peptydów neuronów KNDy w podwzgórze oraz na profil hormonalny, metaboliczny i cykl płciowy samic szczurów;

2. Określić wpływ: i. usunięcia jajników (OVX); ii. usunięcia jajników i podania estrogeny (OVX+E<sub>2</sub>); oraz iii. usunięcia jajników i podania estrogeny i progesteronu (OVX+E<sub>2</sub>+P<sub>4</sub>) na ekspresję peptydów neuronów KNDy u szczurzyk kontrolnych, z DIO i DM2;
3. Określić efekt domózgowego podania agonistów dla receptorów tachykinin: neurokininy A (NKA), neurokininy B (NKB) oraz substancji P (SP) na sekrecję LH i FSH u szczurzyk z eksperymentalnie wywołaną DM2 po OVX oraz OVX+ E<sub>2</sub>.

## **Materiały i metody**

**Eksperyment 1:** Określenie wpływu DIO i DM2 na ekspresję peptydów neuronów KNDy w podwzgórzu oraz na profil hormonalny, metaboliczny i cykl płciowy samic szczurów.

**Eksperyment 2:** Określenie wpływu – i. usunięcia jajników (OVX); ii. usunięcia jajników i podania estrogeny (OVX+E); oraz iii. usunięcia jajników i podania estrogeny i progesteronu (OVX+E<sub>2</sub>+P<sub>4</sub>) na ekspresję peptydów neuronów KNDy u szczurzyk zdrowych, z DIO i DM2.

Samice szczurów szczepu Wistar (wiek 6 tygodni) będą karmione dietą wysokotłuszczową (50 % tłuszczu) przez okres 10 tygodni w celu zaindukowania otyłości. U części otyłych zwierząt zostanie wywołana cukrzyca typu 2 poprzez podanie kilku niskich dawek STZ (streptozotocyna, toksyna uszkadzająca komórki  $\beta$  trzustki). Zwierzęta z grupy kontrolnej karmione będą standardową paszą laboratoryjną dla gryzoni. Po upływie 8 tygodni od zwierząt ze wszystkich grup będą pobierane co rano (w godz. 8:00-10:00, przez 10 kolejnych dni) wymazy w celu określenia fazy cyklu płciowego. Wymazy oceniane będą „na świeżo”, następnie zaś, po wyschnięciu, podbarwione i oceniane powtórnie, by zminimalizować ryzyko ewentualnej błędnej oceny. Uzyskane informacje pozwolą na wskazanie wpływu wywołanych stanów metabolicznych na regularność cyklu płciowego. Dodatkowo, po zaindukowaniu cukrzycy, przeprowadzony zostanie test obciążenia glukozą (GTT).

W eksperymencie 2 zwierzęta zostaną podzielone dodatkowo na następujące grupy: 1) OVX (zwierzęta poddane zabiegowi wycięcia gonad - owarietomii), 2) OVX+E<sub>2</sub> (zwierzęta poddane zabiegowi owarietomii i podania estrogeny) oraz 3) OVX+E<sub>2</sub>+P<sub>4</sub> (zwierzęta poddane zabiegowi owarietomii i podania estrogeny i progesteronu). Hormony będą podawane z użyciem implantów zawierających hormony płciowe.

Po zakończeniu eksperymentów zwierzęta będą dekapitowane, a tkanki zostaną pobrane do dalszych analiz. W celu lokalizacji i oceny liczby komórek KP-immunoreaktywnych prowadzone będą badania immunohistochemiczne. Ponieważ KP współdziała razem z NKB i DYN, prowadzone będą również badania nad lokalizacją i określeniem liczby tych neuronów w podwzgórzu. Badany będzie profil metaboliczny (poziom: glukozy, trigliceroli, cholesterolu) oraz hormonalny (poziom: insuliny, leptyny, estradiolu i progesteronu) przy pomocy metod radioimmunologicznych (RIA), oraz testów ELISA (metoda immunoenzymatyczna).

## **Wstępne wyniki**

### **Eksperyment 1:**

- Odsetek szczurzyce, u których cykl płciowy występuje nieregularnie, różni się w poszczególnych grupach eksperymentalnych: w grupie DIO jest to 36%, zaś w grupie DM2 to 42%.
- Szczurzyce z eksperymentalnie zaindukowaną cukrzycą typu 2 wykazują zmiany w profilu metabolicznym i hormonalnym.
- Nie wykazano różnic w odpowiedzi neuronów KP-ir, NKB-ir i DYN-ir w jądrze łukowatym podwzgórza na indukcję wspomnianych stanów metabolicznych (DIO, DM2).

### **Eksperyment 2:**

Tkanki z eksperymentu 2 poddawane są obecnie analizie.

**Przewód doktorski:** nie otwarty

**Stan zaawansowania:** 30%.

**Finansowanie:** Badania finansowane są z grantu NCN OPUS 2015/17/B/NZ4/02021.

Kierownik: dr hab. Joanna Śliwowska, prof. nazdw. oraz z dotacji dla młodych naukowców nr 507.511.4.

### **Podziękowania**

Badania prowadzone są we współpracy z Katedrą Fizjologii i Biochemii Zwierząt (dr Ewa Pruszyńska-Oszmałek, mgr Paweł Kołodziejski).

### **Spis publikacji**

#### **Oryginalne prace twórcze:**

1. Dudek, M., Kołodziejski, P.A., Pruszyńska-Oszmałek, E., Sassek, M., **Ziarniak, K.**, Nowak, K.W. and Sliwowska, J.H., (2016). Effects of high-fat diet-induced obesity and diabetes on Kiss1 and GPR54 expression in the hypothalamic–pituitary–gonadal (HPG) axis and peripheral organs (fat, pancreas and liver) in male rats. *Neuropeptides*, 56, pp.41-49. (IF: 2,726 , MNiSW: 20 pkt.)
2. Dudek, M., Kołodziejski, P.A., Pruszyńska-Oszmałek, E., **Ziarniak, K.** and Sliwowska, J.H., (2017). Effects of Orchidectomy and Testosterone Replacement on Numbers of Kisspeptin-, Neurokinin B-, and Dynorphin A-Immunoreactive Neurones in the Arcuate Nucleus of the Hypothalamus in Obese and Diabetic Rats. *Journal of neuroendocrinology*, 29(2). (IF: 3,146 ; MNiSW: 25 pkt.)

#### **Praca przeglądowa:**

1. **Ziarniak K.**, Dudek M., Śliwowska J. H. (2016). Kisspeptyna – peptyd o wielu obliczach. *KOSMOS* 65(2): 217-225. (MNiSW: 12 pkt.)

# ANALIZA MOLEKULARNA GENÓW TP53, CSF1R, WISP1 I S100A10 U ŚWIŃ BĘDĄCYCH MODELEM DLA RODZINNEJ POLIPOWATOŚCI JELITA GRUBEGO CZŁOWIEKA

**Agata Sikorska, IV rok SD**

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

Ko-promotor: dr hab. Krzysztof Flisikowski (Uniwersytet Techniczny w Monachium)

## **Wstęp**

Rodzinna polipowatość gruczolakowata ludzi (ang. Familial Adenomatous Polyposis; FAP) jest dziedziczną chorobą objawiającą się występowaniem licznych polipów wzdłuż jelita grubego. Główną przyczyną FAP są mutacje dziedziczne (germinalne) w genie *APC*, do których należy substytucja w kodonie 1309 odpowiedzialna za wczesne pojawienie się licznych polipów. Znacząco podnoszą one ryzyko transformacji polipów w nowotwór jelita grubego, który jest jednym z najczęściej występujących. Fenotypowe objawy mogą jednak różnić się nawet wśród pacjentów należących do jednej rodziny. Na zróżnicowaną liczbę polipów może mieć wpływ tło genetyczne – np. polimorfizmy innych genów oraz modyfikacje epigenetyczne.

W celu lepszego poznania patobiologii rozwoju nowotworu jelita grubego zespół Prof. A. Schnieke (Uniwersytet Techniczny w Monachium) stworzył genetycznie zmodyfikowane świnię noszące mutację w pozycji 1311 kodonu w genie *APC*, będącego odpowiednikiem ludzkiego wariantu *APC* w kodonie 1309. W przeciwieństwie do małych zwierząt modelowych, takich jak myszy, uzyskane transgeniczne świnię odpowiadają człowiekowi ze względu na wielkość ciała oraz fizjologię. Ponadto są pierwszym dużym modelem zwierzęcym choroby FAP człowieka. Zmodyfikowane genetycznie mieszańce uzyskano poprzez krzyżowanie knura *APC*<sup>1311/+</sup> z dwoma lochami, powstałymi przy różnym udziale ras landrace niemiecki (DL) i pietrain (Pi). Wykazano, że dla osobników z pokolenia F1 świnię linii o wyższym udziale rasy Pi (50%) charakteryzowały się niewielką liczbą polipów (świnię low polyp; LP) w jelicie grubym (<10), w porównaniu z ich półrodzeństwem o niższym udziale rasy Pi (25%), u których obserwowano setki polipów (świnię high polyp; HP).

## **Hipoteza badawcza**

Na zróżnicowaną liczbę polipów w jelicie grubym dwóch linii świń *APC*<sup>1311/+</sup> wpływać mogą polimorfizmy w sekwencjach promotorowych i kodujących genów kandydujących, a także modyfikacje epigenetyczne.

## **Cel Pracy**

Zidentyfikowanie polimorfizmów mogących wpływać na obraz fenotypowy (liczba polipów) różniący linie HP i LP w regionach promotorowych i kodujących genów *TP53*, *CSF1R*, *WISP1* i *S100A10*.

## **Materialy i metody**

Materiał badawczy stanowią próby pochodzące od:

- świń niemodyfikowanych

Genomowe DNA (gDNA): pbz (n=28), wbp (n=31), pietrain (n=28), duroc (n=23), hampshire (n=9), próby od świń linii 990 (n=12)

Komplementarne DNA (cDNA): pbz (n=6), wbp (n=8), pietrain (n=11), hampshire (n=9), próby od świń linii 990 (n=12)

- modyfikowanych genetycznie (*APC*<sup>1311/+</sup>)

gDNA: HP (n=10), LP (n=16), wild type (German landrace n=9; German landrace x pietrain n=14)

cDNA: HP (n=10), LP (n=11), wild type (German landrace x pietrain n=6).

## **Metody:**

Izolacja DNA i RNA; PCR; RT-PCR; q-PCR; sekwencjonowanie analiza metylacji z użyciem konwertowanego DNA i pirosekwencjonowanie.

## **Wyniki**

Do badań wytypowano cztery geny: *TP53*, *CSF1R*, *WISP1* i *S100A10*. W wybranym a priori genie *TP53* zidentyfikowano 19 polimorfizmów z czego 7 znajduje się w regionie promotorowym. Natomiast tylko jeden polimorfizm został zaobserwowany w regionie promotorowym świń HP, LP i WT. W sekwencji kodującej zidentyfikowano 10 polimorfizmów, a w części 3'UTR 2 polimorfizmy. W liniach HP i LP zostało zidentyfikowanych 7 polimorfizmów w sekwencji kodującej.

Analiza ekspresji nie wykazała istotnych różnic pomiędzy rasami świń oraz pomiędzy liniami HP i LP. Natomiast, statystycznie istotne różnice w ekspresji genu *TP53* wykazano tylko między próbami wyizolowanymi z polipów w różnym stadium zaawansowania dysplazji krypt jelita z wyraźnymi cechami gruczolakonowotworu – HG (o wysokim stopniu zaawansowania – High Grade) i LG (początkowym stadium zaawansowania – Low Grade). Na podstawie opisanych powyżej wyników został przygotowany maszynopis pracy oryginalnej, który obecnie znajduje się w recenzji w czasopiśmie Veterinary Research Communications.

Analiza sekwencji wykonana dla genu *CSF1R*, ujawniła w obszarze promotorowym 8 polimorfizmów zarówno wśród świń niemodyfikowanych jak i modyfikowanych (*APC*<sup>1311/+</sup>). W cDNA zidentyfikowano 27 polimorfizmów z czego 17 z nich występowało również u świń linii HP i LP. Natomiast w części 3'UTR zaobserwowano 4 polimorfizmy, jednak tylko wśród



świń niemodyfikowanych genetycznie. Natomiast analiza ekspresji nie wykazała istotnych różnic pomiędzy rasami świń niemodyfikowanych oraz pomiędzy liniami HP i LP.

W promotorze genu *WISPI* zidentyfikowano 6 polimorfizmów, z czego 5 z nich występowała wśród świń *APC<sup>L311/+</sup>*. 3 SNP zostały zidentyfikowane w sekwencji kodującej. Najwięcej – 13 SNP zidentyfikowano w sekwencji 3'UTR jednak nie zaobserwowano istotnych statystycznie różnic w frekwencji występowania poszczególnych alleli pomiędzy liniami HP i LP. Analiza ekspresji również nie wykazała istotnych różnic pomiędzy rasami świń niemodyfikowanych oraz pomiędzy liniami HP i LP.

W promotorze genu *S100A10* odnotowano 32 polimorfizmy znajdujące się wśród wszystkich wymienionych ras świń niemodyfikowanych genetycznie i linii. Jeden spośród powyższych polimorfizmów (g.97260008 C>T ) wykazał istotną statystycznie różnicę (P=0,017) w frekwencji pomiędzy linią LP a DlxPi. Poziom ekspresji mRNA nie wykazał różnic pomiędzy rasami świń niemodyfikowanych oraz pomiędzy liniami HP i LP jednak zaobserwowano, że w nabłonku jelita grubego ekspresji ulegają trzy izoformy mRNA spośród czterech występujących u *Sus scrofa*. Analiza metylacji wyspy CpG obejmującej 405pb za miejscem startu transkrypcji nie wykazała istotnych statystycznie różnic w poziomie metylacji pomiędzy próbkami LG- i HG-IEN.

**Przewód doktorski:** otwarty na posiedzeniu RW w dniu 30. czerwca 2017

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).

#### **Oryginalne prace twórcze:**

Elert-Dobkowska E; Stepniak I; Krysa W; Rajkiewicz M; Rakowicz M; Sobanska A; Rudzinska M; Wasielewska A; Pilch J; Kubalska J; Lipczynska-Lojkowska W; Kulczycki J; Kurdziel K; **Sikorska A**; Beetz C; Zaremba J; Sulek A. (2015); Molecular spectrum of the SPAST, ATL1 and REEP1 gene mutations associated with the most common hereditary spastic paraplegias in a group of Polish patients.; *J. Neurol. Sci.* 15;359(1-2):35-9. (IF= 2,126; MNiSW2015=25 pkt.)

Karolczak J., Majewski Ł., Pavlyk I., Sobczak M., Niewiadomski P., Prószyński T., Rzhetsky Y., **Sikorska A.**, Ehler E. and Rędownicz M.J. (2015) Involvement of unconventional myosin VI in myoblast function and myotube formation.; *Histochem Cell Biol* 144(1):21-38. (IF= 2,780; MNiSW2015=35 pkt.)

Fichna J. P.; Karolczak J.; Potulska-Chromik A.; Miszta P.; Berdyski M.; **Sikorska A.**; Filipek S.; Redowicz M. J.; Kaminska A.; Zekanowski C. (2014) Two desmin gene mutations associated with myofibrillar myopathies in Polish families; *PLoS ONE* 9(12): e115470. (IF=3,234; MNiSW2014=40 pkt.)

**Przeglądowe artykuły naukowe** (recenzowane)

Flisikowski K.; Flisikowska T.; **Sikorska A.**; Perkowska A.; Kind A., Schnieke A., Switonski M. (2017) Germline gene polymorphisms predisposing domestic mammals to carcinogenesis.; Vet Comp Oncol. 15(2):289-298. (IF=2,452; MNiSW2015=45 pkt.)

### **Doniesienia Konferencyjne**

#### Krajowe

Stachowiak M., Flisikowska T., Wander C., Perkowska A., **Sikorska A.**, Kind A., Schnieke A., Flisikowski K., Świtoński M.; Poziom ekspresji wybranych genów u zmodyfikowanych genetycznie świń APC1311/+ z różnym tempem rozwoju polipów w jelicie grubym; Zjazd Katedr Jednoimiennych - Genetyki i Metod Hodowli Zwierząt; Lublin, 3-5 lipca 2017

**Sikorska A.**, Flisikowska T., Flisikowski K., Kind A., Schnieke A., Świtoński M.; Polymorphism of TP53 and CSF1R genes in genetically modified pigs at the APC locus; V Polski Kongres Genetyki, Łódź 19-22.09.2016

**Sikorska A.**, Karolczak J., Rędownicz M.J.; Myosin VI involvement in myoblast motility and myotube formation; Karpacz, Polska, 27-29.06.2014 II Sympozjum Biologii Rozwoju

# ZMIANY ORGANIZACJI JĄDRA KOMÓRKOWEGO W TRAKCIE ADIPOGENEZY *IN VITRO* ŚWINI DOMOWEJ (*SUS SCROFA DOMESTICA*)

**Joanna Długosz (Stachecka), III rok SD**

Promotor: dr hab. Izabela Szczerbal

Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt

## **Wprowadzenie:**

Molekularne mechanizmy zaangażowane w proces odkładania tkanki tłuszczowej zwierząt gospodarskich ukierunkowanych na produkcję mięsną, stanowią intensywnie rozwijany wątek badawczy w naukach zootechnicznych. Dodatkowo, gatunki takie jak świnia domowa traktowane są jako modelowe w badaniach otyłości człowieka. Do tej pory większość badań skupiała się nad poznaniem genetycznego podłoża cech otluszczenia, przede wszystkim mutacji/polimorfizmów wpływających na akumulację tkanki tłuszczowej. Najnowsze badania wskazują, że w procesie odkładania tkanki tłuszczowej istotną rolę mogą pełnić również mechanizmy epigenetyczne, do których zalicza się metylację DNA, modyfikację histonów, oraz tzw. architekturę jądra interfazowego.

Architektura wewnątrzjądrowa dotyczy trójwymiarowego rozmieszczenia genów i chromosomów w przestrzeni jądra interfazowego i odgrywa znaczącą rolę w regulacji ekspresji genów. Podczas procesu różnicowania komórek w jądrze komórkowym dochodzi do istotnych zmian, zarówno w morfologii i dystrybucji struktur jądrowych a także lokalizacji genów względem określonych struktur jądrowych jak i względem siebie. Procesowi temu towarzyszą zmiany w profilu transkrypcyjnym genów kluczowych dla procesu różnicowania. Badania prowadzone w ramach pracy doktorskiej koncentrują się na dynamice zmian architektury jądra interfazowego podczas adipogenezy świnii domowej. Prowadzone są na modelu *in vitro* adipogenezy (różnicowanie mezenchymalnych komórek macierzystych świnii izolowanych ze szpiku kostnego oraz tkanki tłuszczowej w kierunku adipocytów).

## **Hipoteza badawcza:**

W trakcie adipogenezy świnii domowej dochodzi do reorganizacji jądra interfazowego, która pociąga za sobą zmiany w ekspresji genów i wpływa na powstanie dojrzałych komórek tłuszczowych.

## **Cel pracy:**

Ocena wpływu architektury jądra interfazowego na proces adipogenezy świnii domowej.

Cele szczegółowe:

- analiza rozmieszczenia wybranych struktur jądrowych podczas różnicowania komórek tłuszczowych z wykorzystaniem techniki immunofluorescencji,
- określenie znaczenia lokalizacji jądrowych genów kluczowych dla adipogenezy dla powstawania transkryptu na poziomie pojedynczej komórki,

- badanie interakcji wybranych genów zaangażowanych w proces adipogenezy oraz akumulację triglicerydów w trójwymiarowej przestrzeni jądra komórkowego.

### **Materialy i metody:**

Badania prowadzone są na modelu komórkowym adipogenezy *in vitro* świni domowej. Wykorzystywane są mezenchymalne komórki macierzyste (MSC – ang. mesenchymal stem cells) wyprowadzone z dwóch źródeł: z tkanki tłuszczowej (AD-MSC – ang. adipose tissue-derived mesenchymal stem cells) oraz szpiku kostnego (BM-MSC - ang. bone-marrow-derived mesenchymal stem cells) od świni rasy Wielka Biała Polska.

Metody badawcze obejmują:

- Prowadzenie hodowli komórek i ich różnicowanie
- Barwienia immunofluorescencyjne z przeciwciałami skierowanymi przeciwko wybranym strukturom jądra komórkowego
- Technika 3D-immuno-FISH do określenia lokalizacji genów względem wybranych struktur jądra
- Technika RNA-DNA-FISH do wizualizacji transkryptów w pojedynczej komórce
- Technika Real-Time PCR do określenia ilości transkryptu
- Test kolorymetryczny do badania aktywności białka PPAR $\gamma$
- Analiza interakcji między wybranymi loci za pomocą techniki 3D-FISH
- Mikroskopia konfokalna i analiza obrazów 3D

### **Wstępne wyniki:**

W pierwszym etapie badań dokonano kompleksowej charakterystyki globalnych zmian w zakresie organizacji jądra interfazowego w trakcie różnicowania komórek mezenchymalnych świni domowej w kierunku adipocytów. Przeprowadzono analizę dystrybucji wybranych struktur jądrowych, takich jak: lamina jądrowa, jąderka, struktury ziarniste jądra (SC-35), ciała PML, telomery i heterochromatyna. Stwierdzono, że podczas procesu adipogenezy *in vitro* zachodzą zmiany dotyczące wielkości oraz kształtu jąder komórkowych. Istotnym zmianom ulega też lamina jądrowa. Ilość białek laminy typu A budujących otoczkę jądrową ulegała istotnej redukcji w trakcie adipogenezy, co wiązało się z większą plastycznością jąder komórkowych. Istotnej reorganizacji uległy chromocentra, które identyfikowano za pomocą przeciwciała skierowanego przeciwko białku HP1 $\alpha$ . W niezróżnicowanych komórkach chromocentra były dobrze widoczne, natomiast podczas różnicowania się komórek foci HP1 $\alpha$  stawały się coraz bardziej rozproszone, co wskazuje na istotne zmiany w dystrybucji poszczególnych frakcji chromatyny w trakcie adipogenezy. Pozostałe badane struktury (jąderka, struktury SC-35 i jąderka) nie wykazały zmian zarówno pod względem liczby jak i rozmieszczenia w trójwymiarowej przestrzeni jądra. Cechą charakterystyczną stosowanego systemu różnicowania była niska liczba ciałek PML w jądrze. Mimo istotnych różnic w potencjale do różnicowania w kierunku adipocytów, w zależności czy komórki mezenchymalne wyprowadzono ze szpiku kostnego czy z tkanki tłuszczowej nie obserwowano różnic w zakresie architektury jądrowej między tymi systemami. Dowiedziono,



stem cells (MSCs) into adipocytes. *Histochemistry and Cell Biology* 149: 113-126. (IF= 2,553; 30 pkt. MNiSW)

2. Kociucka B., Stachecka J., Szydłowski M., Szczerbal I. 2017. Rapid Communication: The correlation between histone modifications and expression of key genes involved in accumulation of adipose tissue in the pig. *Journal of Animal Science* 95: 95: 4514-4519. (IF =1,863; 40 pkt. MNiSW)

#### **Doniesienia konferencyjne:**

1. Stachecka J., Nowacka-Woszuk J., Kolodziejcki P., Szczerbal I., (2018), „The role of nuclear architecture in regulating *PPARG* gene expression during porcine adipogenesis”, 23rd International Colloquium on Animal Cytogenetic and Genomics. June 9-12, 2018, Saint-Petersburg, Russia, Abstract Book: 71.
2. Stachecka J., Lemanska W., Szczerbal I., (2018), „Expression of key genes involved in DNA methylation during *in vitro* differentiation of porcine mesenchymal stem cells (MSCs) into adipocytes”, 23rd International Colloquium on Animal Cytogenetic and Genomics. June 9-12, 2018, Saint-Petersburg, Russia, Abstract Book: 72.
3. Stachecka J., Kociucka B., Szczerbal I., (2016), "Nuclear organization during *in vitro* differentiation of porcine mesenchymal stem cells (MSCs) into adipocytes", 22nd International Colloquium on Animal Cytogenetic and Genomics. July 2-5, 2016 Toulouse, France, Abstract Book: 103.
4. Stachecka J., Kociucka B., Szczerbal I., (2016), "Nuclear organization during porcine *in vitro* adipogenesis", V Polski Kongres Genetyki, Łódź 19-22.09.2016, Streszczenia: 270.
5. Kociucka B., Stachecka J., Szydłowski M., Szczerbal I., (2016), "Histone modifications at promoter regions of key genes involved accumulation of adipose tissue in the pig", V Polski Kongres Genetyki, Łódź 19-22.09.2016, Streszczenia: 275.

# ROLA DRAPIEŹNICTWA W KSZTAŁTOWANIU INTERAKCJI POMIĘDZY LARWAMI PŁAZÓW BEZOGONOWYCH (ANURA)

Jan Kaczmarek, IV rok SD

Promotor: dr hab. Janusz Kloskowski

Zakład Zoologii

## 1. Krótkie wprowadzenie.

Larwy płazów bezogonowych (Anura) są dobrym obiektem do badań nad podstawowymi zagadnieniami ekologii. Kijanki występujących w Polsce gatunków płazów mogą konkurować ze sobą o zasoby, którą to konkurencję zazwyczaj wygrywają gatunki wcześniej wylęgające się i szybko rosnące, np. żaba trawna (*Rana temporaria*). Zarazem kijanki takie są chętnie zjadane przez drapieżniki. Gatunki wyposażone w środki ochrony przed drapieżnikami (np. wydzielające niesmaczne i/lub toksyczne związki chemiczne), takie jak ropucha szara (*Bufo bufo*), są zazwyczaj słabsze konkurencyjnie. Na występowanie larw różnych gatunków płazów wpływają zatem nie tylko parametry siedliska, ale i presja drapieżników i efekty konkurencyjne. Do tej pory mało wiadomo o pośrednich interakcjach pomiędzy kijankami różnych gatunków, np. poprzez modyfikację zachowania drapieżników przez kijanki jednego gatunku, co wpływa na śmiertelność kijanek drugiego gatunku (*trait-mediated indirect effects*). Takie tzw. efekty sąsiedztwa (*associational effects*) mogą mieć znaczący wpływ na interakcje pomiędzy ofiarami a ich drapieżnikami.

## 2. Cel pracy

- Zbadanie przeżywalności kijanek żaby trawnej *Rana temporaria* i ropuchy szarej *Bufo bufo* przetrzymywanych w zróżnicowanych wzajemnych proporcjach, w obecności i bez obecności drapieżników (ryb);
- Zbadanie przeżywalności kijanek o różnych strategiach przeciwdrapieżniczych utrzymywanych w monokulturze w warunkach zróżnicowanego zagęszczenia;
- Zebranie danych faunistycznych o występowaniu płazów w Wielkopolsce.

## 3. Hipoteza badawcza

Larwy różnych gatunków płazów bezogonowych różniące się strategiami przeciwdrapieżniczymi mogą pośrednio wpływać na swoją przeżywalność. Efekt ten może być obecny w dwóch formach:

- a) zwiększenie przeżywalności gatunku będącego łatwą ofiarą w wyniku obecności w środowisku gatunku chronionego przed drapieżnikami (*associational resistance*).
- b) zmniejszenie przeżywalności gatunku chronionego przed drapieżnikami w wyniku obecności w środowisku gatunku będącego łatwą ofiarą (*associational susceptibility*);

## 4. Materiał i metody

Podchowane kijanki poszczególnych gatunków są umieszczane w zagrodach eksperymentalnych o objętości 1000 L rozmieszczonych w stawach na terenie ZDTPPiA UP w Muchocinie. Zagrody są zbudowane z siatki PCW rozciągniętej na stalowych stelażach i

umożliwiają kijankom oraz rybom swobodny dostęp do dna i ciągły przepływ wody przez przepuszczalne ściany.

Zagrody są zasiedlane kijankami w różnym zagęszczeniu i w różnym składzie gatunkowym. W eksperymencie przeprowadzonym w 2016 roku w zagrodach utrzymywano stałe zagęszczenie kijanek (40 os./klatkę), w gradiencie wzajemnych proporcji (od absolutnej dominacji żaby trawnej po absolutną dominację ropuchy szarej). Część zagród została zasiedlona rybami, które w naturze często odżywiają się kijankami płazów (karp *Cyprinus carpio*). W eksperymencie prowadzonym w roku 2017 i 2018 wykorzystano 3 gradienty: gradient rosnącego zagęszczenia kijanek ropuchy szarej utrzymywanych w monokulturze; gradient rosnącego zagęszczenia kijanek żaby trawnej przy stałym zagęszczeniu ropuchy szarej; gradient rosnącego zagęszczenia kijanek ropuchy szarej przy stałym zagęszczeniu żaby trawnej. We wszystkich klatkach razem z larwami płazów utrzymywane były ryby, otrzymujące pokarm alternatywny (gotowa pasza dla ryb) na dwóch poziomach: *ad libitum* oraz w ograniczonej ilości.

Płazy na etapie metamorfozy (zresorbowany ogon) są odławiane z klatek, liczone i poddawane pomiarom biometrycznym. Wyniki są poddawane analizie w programach SPSS i GenStat, m.in. za pomocą modeli mieszanych (GLMM).

Badania faunistyczne dotyczące współwystępowania kijanek poszczególnych gatunków płazów są obecnie w trakcie realizacji, obejmują m.in. bezpośrednie obserwacje terenowe, pobieranie prób za pomocą czerpakowania i pułapek aktywnych.

## 5. Wstępne wyniki

Wyniki eksperymentu przeprowadzonego w sezonie 2016 potwierdziły istnienie postulowanych zależności. Przy dominacji kijanek z gatunku wydzielającego toksyczne substancje (ropucha szara), przeżywalność kijanek z obu gatunków w obecności ryb istotnie wzrasta (GLMM; interakcja *udział ropuch\*obecność ryb*; żaba trawna:  $F=7,21$ ; d.f.=9,6;  $p=0,024$ ; efekt= $2,514\pm 0,936$ ; ropucha szara:  $F=5,26$ ; d.f.=10,1;  $p=0,044$ ; efekt= $1,772\pm 0,772$ ).

Wyniki eksperymentu z sezonu 2016 zostały opublikowane w czasopiśmie *Oecologia* (Kaczmarek et al. 2018). Wyniki eksperymentu z sezonów 2017 i 2018 są analizowane łącznie. Wstępne analizy potwierdzają zależność przeżywalności kijanek żaby trawnej od ilości paszy alternatywnej dla ryb, a także silną zależność przeżywalności utrzymywanych w obecności drapieznika kijanek ropuchy szarej utrzymywanych w monokulturze od ich zagęszczenia.

Pilotażowe badania terenowe nad współwystępowaniem kijanek różnych gatunków płazów w naturalnych siedliskach Wielkopolski prowadzono w sezonie 2017 i są kontynuowane w roku 2018. Dotychczasowe wyniki pozwoliły poszerzyć wiedzę o występowaniu płazów w Wielkopolsce. Współpraca ze specjalistami od innych grup systematycznych (owady, makrofity) z UPP oraz UAM umożliwi przeprowadzenie szerszych analiz różnych poziomów bioróżnorodności na dużej próbie badanych zbiorników.

## 6. Stan zaawansowania – 75%

Przewód doktorski: *wszczęty 30 czerwca 2017*

Finansowanie: *projekt nr 507.511.60 finansowany z dotacji celowej dla młodych naukowców*



### **Spis publikacji:**

**Kaczmarek J.M.**, Kaczmarowski M., Mazurkiewicz J., Kloskowski J. *A matter of proportion? Associational effects in larval anuran communities under fish predation.* Oecologia (2018). doi: 10.1007/s00442-018-4141-3. MNiSW: 30

**Kaczmarek J.M.**, Piasecka M., Kaczmarowski M. *Winter activity of the smooth newt *Lissotriton vulgaris* (Linnaeus, 1758) in Central Europe.* Herpetological Bulletin in press.

**Kaczmarek J. M.**, Tryjanowski P. 2016. *Second generation energy crops and farmland birds? Central and East European perspective.* Journal of Plant Protection Research 56(3), DOI: 10.1515/jppr-2016-0042, MNiSW: 15

Kaczmarowski M., **Kaczmarek J.M.** 2016. *Heavy traffic, low mortality – tram tracks as terrestrial habitat of newts.* Acta Herpetologica 11(2): 227-231, DOI: 10.13128/Acta\_Herpetol-17922, MNiSW: 15

**Kaczmarek J.M.**, Kaczmarowski M., Pędziwiatr K., Konieczna P. 2014 *Podsumowanie projektu „Atlas Płazów Poznania”.* Przegląd Przyrodniczy XXV (2): 117-123, MNiSW: 3

Kaczmarowski M., **Kaczmarek J.M.** *Changes in the batrachofauna in the city of Poznań over 20 years.* W: URBAN FAUNA Animal, Man, and the City – Interactions and Relationships. Ed.: Indykiewicz P, Böhner J, str.169-177

**Kaczmarek J. M.**, Kaczmarowski M., Pędziwiatr K. *Atlas of amphibian distribution in the city of Poznań - a tool for effective conservation.* W: Scientific, Technological and Legal Background of Creating Integrated Biotic Databases. Ed. Nowak M, str. 67-74. Adam Mickiewicz University Press.

Kaczmarowski M., **Kaczmarek J. M.** *Mortality of the Smooth Newt (*Lissotriton vulgaris*) during spring migration on the protected area 'Traszkki Ratajskie' in the city of Poznan, Poland.* W: The Functioning and Protection of Water Ecosystems. Threats, protection and management of water resources. Ed: Joanna Rosińska, Małgorzata Neumann, str.153-159. Adam Mickiewicz University Press.

### **Publikacje popularnonaukowe:**

Kaczmarowski M., **Kaczmarek J.M.** 2018. *Melodyjny tryl ropuch płynący z fontanny miejskiej.* Przestrzeń Miejska 6: 78-81

**Kaczmarek J. M.** 2017. *Geograficzne systemy informacyjne w badaniach przyrodniczych, czyli praktyczne umiejętności w wersji open-source w Instytucie Zoologii.* Wieści Akademickie 3-4, str. 36-37

**Kaczmarek J. M.**, Kaczmarowski M. 2017. *Elektropołowy na poznańskiej Cytadeli, czyli czynna ochrona płazów „na szybko”.* Bocięk – Biuletyn Klubu Przyrodników 130 (2/2017), str. 14-17.

**Kaczmarek J. M.** 2017. *Płazy w ekosystemach.* Przegląd Komunalny 304 [1/2017], str. 52

**Kaczmarek J. M.** 2017. *Jak ograniczać masową śmiertelność?* Przegląd Komunalny 304 [1/2017], str. 55-58

Kaczmarek M., **Kaczmarek J.M.**, Pędziwiatr K., Konieczna P. *Atlas Płazów Poznania*. Przegląd Komunalny 305 [2/2017], str. 55-58

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

Kaczmarek 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

# PASOŻYTY ZEWNĘTRZNE I WEWNĘTRZNE WYBRANYCH GATUNKÓW ZWIERZĄT MIĘSOŻERNYCH (CARNIVORA)

Alicja Matysiak, III rok SD

dr hab. Oskar Wasielewski  
Instytut Zoologii

## Wprowadzenie:

Pasożyty atakujące zarówno domowe, jak i dzikie zwierzęta mięsożerne krążą między populacjami zwierząt sympatrycznych, ułatwiając w ten sposób potencjalne rozprzestrzenianie się zakażeń u ludzi. Szczególnie niebezpieczne jest to dla osób związanych zawodowo z dzikimi i domowymi drapieżnikami, jak lekarze weterynarii, leśnicy oraz myśliwi. Dzikie i domowe drapieżniki są uważane za pierwsze źródło zakażeń u ludzi przez czynniki zoonotyczne, które obejmują wirusy, pierwotniaki, bakterie i grzyby. Przepływ pasożytów z dzikich zwierząt na domowe drapieżniki i odwrotnie zależy głównie od konkretnych wariantów ekologicznych, które charakteryzują dany obszar. Na przykład praktyki łowieckie (a zatem obecność psów myśliwskich), a także ludzkie ingerencje w siedliska przyrodnicze (tj. obiekty turystyki wiejskiej) mogą ułatwić rozprzestrzenianie się infekcji pasożytniczych z domowych psów i kotowatych na dzikie populacje. Podobnie, tworzenie rezerwatów przyrody może determinować późniejszy wyciek tych samych pasożytów do populacji zwierząt domowych, ostatecznie utrwalając cykle życiowe pasożytów.

Do najczęściej występujących u Carnivora endopasożytów z dużym potencjałem zoonotycznym zaliczamy liczne helminty i nicienie takie jak: *Echinococcus multilocularis*, *Taenia spp.*, *Trichinella spp.*, *Toxocara canis*. Z kolei do występujących na nich ektopasożytów zaliczamy między innymi kleszcze (*Ixodes ricinus*, *Haemaphysalis concinna*, *Dermacentor reticulatus*, *Ixodes canisuga*), pchły (*Pulex irritans*, *Clinocottus globiceps*), oraz roztocza (*Sarcoptes scabiei*, *Otodectes cynotis*).

Ciekawym zjawiskiem związanym z ektopasożytami jest występowanie kleszczy w tkance podskórnej zwierząt. Najwięcej przypadków tego zjawiska zanotowano u lisów, pojedyncze natomiast u psa w Szwecji i dziecka w Korei Południowej.

## Hipotezy:

1. Carnivora są nosicielami wielu pasożytów wewnętrznych.
2. Carnivora posiadają bogatą parazytofaunę zewnętrzną.
3. U psów i kotów, podobnie jak u lisów i jenotów występują kleszcze w tkance podskórnej.

## Cel pracy:

1. Zbadanie parazytofauny u wybranych gatunków zwierząt mięsożernych (Carnivora): lisów (*Vulpes vulpes*), jenotów (*Nyctereutes procyonoides*), psów (*Canis lupus familiaris*) oraz kotów (*Felis catus familiaris*). Pierwsza część badań dotyczy endopasożytów, natomiast druga ektopasożytów
2. Zbadanie występowania kleszczy w tkance podskórnej u lisów, jenotów, psów i kotów

## Materiały i metody

Dzikie zwierzęta mięsożerne: lisy i jenoty pozyskane zostaną od myśliwych w drodze polowania. Zwierzęta domowe, towarzyszące człowiekowi, psy i koty pozyskiwane będą

przez Centrum Medycyny Weterynaryjnej. Wałęsające się zwierzęta poddawane są zabiegowi eutanazji na zlecenie urzędu Miasta Poznania.

Ektopasożyty będą pobierane z powierzchni ciała zwierząt i utrwalane w etanolu do czasu rozpoznawania. Oznaczanie kleszczy i pcheł odbywać się będzie pod mikroskopem stereoskopowym przy użyciu kluczy do oznaczania pasożytniczych stawonogów. Badanie obecności endopasożytów będzie realizowane przy wykorzystaniu materiału biologicznego jakim jest kał, pobranym od zwierząt podczas sekcji z ostatniego odcinka odbytnicy. Do badania zostanie wykorzystana metoda flotacji i dekantacji pozwalające na wyselekcjonowanie stadiów dyspersyjnych pasożytów czyli jaj. Sporządzone preparaty poddane zostaną ocenie pod mikroskopem i przeprowadzona zostanie analiza gatunkowa. Część kału zostanie użyta do badań mikrobiologicznych w celu sporządzenia mikrobiomu jelitowego. Podczas sekcji zwierząt dodatkowo zostanie przeprowadzona analiza makroskopowa pozwalająca na stwierdzenie dorosłych postaci helmintów i nicieni. Następnie martwe zwierzęta będą skórowane w celu potwierdzenia obecności kleszczy podskórnych. Każdy znaleziony kleszcz będzie umieszczany w probówkach typu eppendorf z etanolem i oznaczany do poziomu gatunku.

#### *Wstępne wyniki*

Na podstawie wstępnie otrzymanych wyników możemy stwierdzić, że u dzikich Carnivora (lisów i jenotów) występują licznie ektopasożyty: u 35% lisów oraz u 67% jenotów stwierdzono kleszcze. Z naszych obserwacji wynika, że u lisów występowanie kleszczy podskórnych jest bardzo częste – 80%, natomiast u jenotów 67%. Dzięki wstępnym badaniom odkryliśmy pierwszy przypadek występowania kleszczy podskórnych u jenota, co zaowocowało Case study w Veterinarni Medicina (artykuł po recenzjach).

Stan zaawansowania: 40 %

Przewód doktorski: Nie otwarty

#### Spis publikacji:

**Matysiak A**, Dudko P, Dudek K, Dudek M, Junkuszew A, Tryjanowski P (2016) The occurrence of pathogens in *Rhipicephalus microplus* ticks from cattle in Madagascar. Veterinarni Medicina 61: 516–523; IF=0,921; pkt MNiSW=25

**Matysiak A**, Malecha AW, Jakubowski H, Sadowska ET, Koteja P, Tryjanowski P (2017) Sexual dimorphism, asymmetry, and the effect of reproduction on pelvis bone in the bank vole, *Myodes glareolus*. Mammal Research, 62(3), 297-306; IF=0,944; pkt MNiSW=25

**Matysiak A**, Tryjanowski P (2017) Drobiarstwo, a dzikie ptaki – korzyści czy zagrożenia. Polskie Drobiarstwo, 3/2017; pkt MNiSW=3

**Matysiak A**, Wasielewski O, Włodarek J, Tryjanowski P (2018) First report of ticks in the subcutaneous tissue of raccoon dog *Nyctereutes procyonoides*. Veterinarni Medicina, (po recenzji); pkt MNiSW=25

# GENETYCZNE PODŁOŻE WNĘTROSTWA U PSÓW

**Paulina Krzemińska, I rok SD**

Opiekun: prof. dr hab. Marek Świński

Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt

## **Wstęp**

Wnętrostwo to najczęstsza wada rozwojowa układu rozrodczego, polegająca na obecności jąder (wnętrostwo obustronne) lub jądra (wnętrostwo jednostronne) w jamie brzusznej lub kanale pachwinowym, przez który jądra przemieszczają się podczas prawidłowego zstępowania do moszny. Podłoże tej wady jest złożone i zależy od czynników środowiskowych, w tym hormonalnych, jak i genetycznych, a jej odziedziczalność ( $h^2$ ) zazwyczaj szacuje się na poziomie ok. 0,3. Obecność jąder w jamie brzusznej i/lub kanale pachwinowym zwiększa ryzyko wystąpienia zmian nowotworowych w gonadach oraz obniża płodność (jądra niezstąpione wykazują cechy atrofii, brak spermatogenezy).

Zaburzone zstępowania jąder jest najczęściej występującą wadą rozwoju płci u psów. Częstość jej występowania mieści się w przedziale 3-7% i wykazuje rasowo-specyficzne różnice. Do najbardziej predysponowanych ras zalicza się: chihuahua, shih-tzu, sznaucer miniaturowy, bokser and owczarek niemiecki.

Proces zstępowania można podzielić na trzy główne fazy, przy czym pierwsza faza – polegająca na translokacji jąder z okolicy nerek do wewnętrznego pierścienia kanału pachwinowego – zależy przede wszystkim od wzrostu *gubernaculum* (jądrowód), a proces ten wymaga prawidłowej ekspresji genu *INSL3*. Dalszy etap przemieszczania gonad zależy od wielu czynników, wśród których najczęściej wymienia się hormonalną równowagę pomiędzy testosteronem i estrogenami.

Analiza skanowania genomu (GWAS, *genome-wide asociation study*) grupy psów z wnętrstwem i kontrolnej (psy zdrowe) umożliwiła wskazanie sześciu regionów kandydujących, w obrębie których zlokalizowane są trzy geny funkcjonalnie powiązane z rozwojem *gubernaculum*. Związek polimorfizmu/mutacji wyżej wymienionych genów z wnętrstwem nie został jednak potwierdzony.

## **Hipoteza badawcza**

Współczynnik odziedziczalności na poziomie 0,3 oraz zróżnicowana predyspozycja określonych ras do wystąpienia wnętrstwa wskazuje, że czynniki genetyczne i/lub epigenetyczne odgrywają ważną rolę w procesie zstępowania jąder.

## **Cel pracy:**

Analiza polimorfizmu oraz porównawcza ocena poziomu metylacji regionów regulatorowych i ekspresji (poziom transkryptu i białka) wybranych genów kandydujących w jądrach niezstąpionych oraz zstąpionych.

## Material i metody

Materiał do badań stanowią próbki krwi i gonady zstąpione oraz kontrolne pobierane podczas rutynowych zabiegów kastracji wykonywanych przez lekarzy weterynarii.

Wykorzystane będą następujących metody badawcze: sekwencjonowanie metodą Sanger, PCR w czasie rzeczywistym, Western blot, analiza poziomu metylacji, digital droplet PCR (ddPCR).

## Wstępne wyniki

Analiza molekularna sekwencji kodującej dwóch genów kandydujących, *INSL3* i *ESR1*, obejmująca materiał pochodzący od 33 wnętrów i 34 psów kontrolnych wykazała obecność 10 polimorfizmów. W obrębie genu *INSL3* zidentyfikowano 3 polimorfizmy typu SNP, w przypadku *ESR1* sześć polimorfizmów SNP oraz jeden polimorfizm mikrosatelitarny (STR, *short tandem repeats*). Spośród 10 miejsc polimorficznych, tylko 2 skutkowały zmianą sekwencji aminokwasowej. Analiza dystrybucji genotypów dla wszystkich zaobserwowanych polimorfizmów była podobna w grupie badawczej i kontrolnej.

## Oryginalne prace twórcze

- Mankowska M, Krzeminska P, Graczyk M, Switonski M. (2017). Confirmation that a deletion in the POMC gene is associated with body weight of Labrador Retriever dogs. *Research in Veterinary Science* 112:116-118. (5-letni IF=1,446; pkt MNiSW=35)
- Switonski M., Dzimira S., Aleksiewicz R., Szczerbal I., Nowacka-Woszuk J., Krzeminska P., Deska T., Nizanski W. (2018 – przyjęta do druku). Hypospadias is not rare in dogs: Five new cases, a retrospective study, and a review of the literature. *Sexual Development*. (5-letni IF=2,069; pkt MNiSW=15)
- Szczerbal I., Krzeminska P., Dzimira S., Tamminen T., Saari S., Nizanski W., Gogulski M., Nowacka-Woszuk J., Switonski M. (2018 - przyjęta do druku). Disorders of sex development in cats with different complements of sex chromosomes. *Reproduction in Domestic Animals* (5-letni IF= 1,502; pkt.MNiSW=25)

## Przeglądowe artykuły naukowe (recenzowane)

- Krzemińska P., Gogulski M., Aleksiewicz R., Świtoński M. (2018). Markery genetyczne dysplazji stawu biodrowego psów. *Medycyna Weterynaryjna*, 74 (2): 83-87. (5-letni IF=0,167; pkt MNiSW=15).

## Komunikaty naukowe

- Mańkowska M., Nowacka-Woszuk J., Graczyk A., Ciężyńska P., Krzemińska P., Stachowiak M., Świtoński M. (2016), Analysis of candidate genes (MC4R, FTO, POMC) for dog obesity, *V Polski Kongres Genetyki, Łódź 19-22.09.2016*, streszczenia: 114
- Świtoński M., Szczerbal I., Nowacka-Woszuk J., Stachowiak M., Salamon S., Mankowska M., Krzemińska P., Rogowski K., Grzemski A., Szydłowski M. (2017), Podłoże genetyczne zaburzeń rozwoju płci zwierząt domowych oraz otyłości psów, *Zjazd Katedr Jednoimiennych Genetyki i Hodowli Zwierząt w Lubinie 3-5 lipca 2017*, materiały konferencyjne str. 22

- Aleksiewicz R., Nowacka-Woszuk J., Szczerbal I., Krzemińska P., Świtoński M. (2017), Spodzieetwo owczarków niemieckich – dwa nowe przypadki i analiza retrospektywna, *XIII Kongres Problemy w rozrodzie małych zwierząt: płodność, ciąża, noworodek, Wrocław 14-15.10.2017*, materiały konferencyjne str. 150
- Krzemińska P., Gogulski M., Nowak T., Sochoń K., Świtoński M. Polymorphisms of *INSL3* and *ESR1* are not associated with cryptorchidism in dogs. (2018), *23rd International Colloquium on Animal Cytogenetics and Genomics, Saint-Petersburg, Russia, 9-12. 06. 2018*, streszczenia: 57.

# OCENA PRZYDATNOŚCI PEŁNOTŁUSTYCH MĄCZEK Z OWADÓW W DIETACH STARTOWYCH DLA TROCI WĘDROWNEJ (*SALMO TRUTTA M. TRUTTA*)

Lilianna Hoffmann, IV rok SD

Opiekun: dr hab. Jan Mazurkiewicz

Zakład Rybactwa Śródlądowego i Akwakultury

**Przewód doktorski:** otwarty (otwarcie 30.VI. 2017 r.).

**Krótkie wprowadzenie:** Troć wędrowna (*Salmo trutta m. trutta*) jest obecnie zagrożona wyginieciem. Od wielu lat odejmowane są próby restytucji tego gatunku (Domagała i in. 2015), a jedną z metod ochrony jest podchów stadiów młodocianych w warunkach kontrolowanych i wprowadzenie ich do środowiska naturalnego (Fraser 2008). Na tym etapie rozwoju występuje wysoka śmiertelność larw po wykluciu (Brown i Day 2002), a próbą zmniejszenia tego zjawiska zwierząt jest podawanie pokarmu naturalnego, który stopniowo zastępuje się zbilansowanym pokarmem stałym. Pomimo zadowalającego udziału składników pokarmowych w diecie ryb żywionych *Artemia salina* (Harzewili i in. 2003) istnieje potrzeba wprowadzenia prawidłowo zbilansowanego pokarmu upostaciowanego. Perspektywicznymi komponentami diet dla ryb w akwakulturze są mączki z owadów, które stanowią alternatywne źródło białka i tłuszczu dla mączki rybnej (Premalatha i in. 2011). Produkcja mączki z owadów nie stanowi zagrożenia dla środowiska naturalnego (Sánchez-Muros i in. 2014), a uzyskany produkt charakteryzuje się wysoką jakością składników odżywczych (Sealey i in. 2011). Zasadność badań nad wykorzystaniem mączki z owadów w żywieniu ryb potwierdza niewielka ilość doniesień nt. żywienia stadiów młodocianych oraz możliwości wykorzystania pasz z jej udziałem w akwakulturze.

Brown C., Day R.L. 2002. The future of stock enhancements: lessons for hatchery practice from conservation biology. *Fish and Fisheries* 3: 79-94.  
Domagała J., Czerniawski R., Pilecka-Rapacz, M. 2015. Which parameters – rates of survival or growth – determine the best moment for stocking trout larvae? *Archives of Polish Fisheries* 23: 217-224  
Fraser D.J. 2008. How well can captive breeding programs conserve biodiversity? A review of salmonids. *Evolutionary Applications* 1(4): 535-586.  
Harzewili AS, De Charleroy D, Auverx J, Van Slycken J. 2003. Larval rearing of chub (*Leuciscus cephalus* (L.)), using decapsulated *Artemia* as direct food. *Journal of Applied Ichthyology* 19: 123-125.  
Premalatha, M, Abbasi, T, Abbasi, T, Abbasi, SA. 2011. Energy-efficient food production to reduce global warming and ecodegradation: the use of edible insects. *Renewable & Sustainable Energy Reviews* 15: 4357-4360.  
Sánchez-Muros M-J, Barroso FG, Manzano-Agugliaro F. 2014. Insect meal as renewable source of food for animal feeding: a review. *Journal of Cleaner Production* 65: 16-27.  
Sealey W.M., Gaylord T.G., Barrows F.T., Tomberlin J.K., McGuire M.A., Ross C., Hilaire S., 2011. Sensory analysis of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, fed enriched black soldier fly prepupae, *Hermetia illucens*. *Journal of the World Aquaculture Society* 42: 34-45.

## Hipotezy badawcze

Wyróżniono 3 hipotezy badawcze:

**H1:** Pełnotłuste mączki z owadów stanowią alternatywne źródło białka w dietach startowych dla troci wędrowniej.

**H2:** Częściowe zastąpienie mączki rybnej pełnotłustymi mączkami z owadów w dietach startowych nie wpływa negatywnie na wyniki podchowu troci wędrowniej.

**H3:** Zastosowanie pełnotłustych mączek z owadów w dietach startowych dla troci wędrowniej moduluje rozwój przewodu pokarmowego i jego mikroflorę.

## Cel badań

Celem badań było określenie wpływu podawanych diet startowych na parametry podchowu oraz rozwój i mikrobiom przewodu pokarmowego wylęgu troci wędrowniej. Diety startowe zostały zróżnicowane ze względu na zawartość i pochodzenie komponentów białkowych



(mączka z larw owadów, mączka z imago oraz mączka rybna) oraz ich zmodyfikowanych form (zhydrolizowane i niezhydrolizowane mączki z owadów).

### **Materialy i metody**

Badania z udziałem wylęgu troci wędrownej przeprowadzono dwukrotnie. Po okresie inkubacji ikry i wykluciu się larw, zwierzęta zostały rozdzielone do zbiorników doświadczalnych (200 szt./zbiornik). W pierwszym roku badań ryby podzielono na 4 grupy: otrzymujące pokarm naturalny przez 7 dni i paszę z dodatkiem mączki z larw owadów (LA7) oraz imago (IA7), a także otrzymujące jedynie pokarm ekstrudowany (LA0 i IA0). W drugim roku zwierzęta również podzielono na 4 grupy: otrzymujące paszę kontrolną, bez mączki z owadów (K), paszę z mączką z larw *Tenebrio molitor* (M), paszę M poddaną hydrolizie z zastosowaniem 1% mieszaniny enzymów (M1) oraz po hydrolizie 0,5% (M2). Ze zbiorników codziennie usuwano odchody i martwe osobniki, a pasze były podawane z zastosowaniem automatycznych karmników taśmowych przez okres 12 godzin. Dodatkowo zastosowano fotoperiod, tj. 16 godzin dnia i 8 godzin nocy. Parametry fizykochemiczne wody były jednakowe we wszystkich zbiornikach, ze względu na stały poziom rozpuszczonego tlenu w wodzie (ok. 7 mg O<sub>2</sub> · dm<sup>-3</sup>) oraz wyrównaną temperaturę (15 °C). Zwierzęta po humanitarnym uśmierceniu zostały przekazane do analiz (FISH i/lub histometria), obliczono wskaźniki hodowlane (SR, SGR, RGR) i/lub indeksy (VSI, HSI).

### **Wstępne wyniki**

W pierwszym doświadczeniu (grupy IA0, IA7, LA0, LA7) zastosowanie mączek z larw owadów wpłynęło na zwiększone przyrosty masy, długości ciała oraz wartości wskaźników hodowlanych troci wędrownej. Dodatkowo podawanie pokarmu naturalnego (LA7 i IA7) powodowało poprawę wskaźników podchowu ryb. Całkowita liczba bakterii była największa w treści pokarmowej ryb z grupy IA0, natomiast najniższa w grupie LA7. Bakterie z grupy *Clostridium leptum*, *Eubacterium* i *Lactobacillus* największe miano osiągnęły w grupie IA0 i IA7. Na podstawie wyników z doświadczenia pierwszego, w drugim roku (grupa K, M, M1 i M2) zastosowano pokarmy tylko z mączką z larw owadów (bez mączki z imago). Najwyższe wartości wskaźników hodowlanych otrzymano w grupie żywionej paszą z dodatkiem mączki z mącznika bez dodatku enzymów (M), natomiast najwyższy osobniczy przyrost masy ciała odnotowano w grupie kontrolnej (K). Histometria z doświadczenia obejmującego podawanie artemii wskazała na istotne różnice w wysokości błony mięśniowej i śluzowej pomiędzy dietami. Natomiast na podstawie doświadczenia z dietą opartą o zhydrolizowane i niezhydrolizowane mączki z mącznika młynarka (*Tenebrio molitor*) nie odnotowano różnic istotnych statystycznie dla poszczególnych diet.

**Podziękowania:** Badania nad zastosowaniem pełnotłustych mączek z owadów w żywieniu troci wędrownej zostały zrealizowane ze środków dotacji celowej służącej rozwojowi młodych naukowców oraz uczestników studiów doktoranckich w latach 2015/2016 (nr zad. bad. 507.511.36) oraz 2016/2017 (nr zad. bad. 507.511.59).

#### **Oryginalne prace twórcze:**

Mazurkiewicz J., Andrzejewski W., Żolnierowicz K.M., Przybylska K., Golski J., **Graczyk L.** 2015. Effects of incorporating in diets cold-pressed rapeseed cake on the growth performance, nutrient utilization, and body composition of common carp (*Cyprinus carpio* L.). Archives of Polish Fisheries 23: 113-120. MNiSW = 12.

**Graczyk L.**, Mazurkiewicz J., Florczyk K. 2016. Bass słoneczny (*Lepomis gibbosus*, L.) w Polsce – analiza cech biometrycznych i merystycznych oraz rozprzestrzenianie się gatunku w aspekcie zmian klimatycznych. Komunikaty Rybackie 2(151):5-9. MNiSW = 5.

**Graczyk L.**, Golski J., Trawiński J., Andrzejewski W., Mazurkiewicz J. 2016. Zmiany jakości wody w Strudze Dormowskiej w ciągu kilkudziesięciu lat na podstawie analizy wskaźników o indeksach biologicznych. Woda-Środowisko-Obszary wiejskie, T. 16, Z. 2(54): 37-48. MNiSW = 10.

**Graczyk L.**, Mazurkiewicz J., Kruszyna R., Andrzejewski W., Golski J. 2016. Występowanie i stan populacji cierniczka *Pugitius pungitius*, Linnaeus 1758 w wybranych ciekach środkowo-zachodniej Polski. Przegląd Przyrodniczy, T. XXVII, Z. 1: 59-71. MNiSW = 6.

**Hoffmann L.**, Mazurkiewicz J., Michalewicz K., Golski J., Andrzejewski W. 2016. Porównanie aktualnego składu gatunkowego ichtiofauny dorzecza Warty z danymi uzyskanymi przez prof. Józefa Kaja. Chrońmy Przyrodę Ojczyzną 72 (6): 426-438. MNiSW = 6.

**Hoffmann L.**, Mazurkiewicz J., Florczyk K., Burchardt H. 2017. Zastosowanie probiotycznego dodatku paszowego w chowie karpi. Komunikaty Rybackie 2 (157): 14-21. MNiSW = 5.

Mazurkiewicz J., **Hoffmann L.**, Czyżak-Runowska G., Pietrzak M., Przybylska K., Andrzejewski W., Golski J. 2017. Effect of diet and feeding technique on

growth performance and meat quality of common carp *Cyprinus carpio*. Iranian Journal of Fisheries Sciences 16 (2): 639-653. MNiSW = 15; IF = 0,393.  
**Hoffmann L.**, Grupa D., Andrzejewski W., Mazurkiewicz J. 2017. Analiza parametrów biometrycznych sumika karłowatego *Ameiurus nebulosus* (Lesueur, 1819) na nowym stanowisku w Wielkopolsce. Komunikaty Rybackie 4(159): 1-7. MNiSW = 5.