

SEMINARIUM DOKTORANCKIE  
WYDZIAŁU MEDYCYNY WETERYNARYJNEJ  
I NAUK O ZWIERZĘTACH

UP Poznań

*19 czerwca 2019 r. Część druga.*

*Część pierwsza odbyła się 29 stycznia 2019*

|                            |    |
|----------------------------|----|
| Antkowiak Michał           | 74 |
| Bryszak Magdalena          | 37 |
| Buzek Anna                 | 2  |
| Bykowska Marta             | 42 |
| Dobrzański Jan             | 14 |
| Dylewski Łukasz            | 4  |
| Filipiak Weronika          | 24 |
| Jasaszwili Mariami         | 10 |
| Kęsy Mateusz               | 69 |
| Krzemińska Paulina         | 63 |
| Kubiś Marta                | 17 |
| Kwiatkowska Patrycja       | 71 |
| Małyszka-Łukomska Natalia  | 59 |
| Matysiak Alicja            | 27 |
| Składanowska-Baryza Joanna | 30 |
| Sypniewski Mateusz         | 53 |
| Szulc Paulina              | 55 |
| Tołkacz-Paszkiewicz Monika | 20 |
| Wiśniewska Zuzanna         | 47 |
| Yanza Yulianri Rizki       | 51 |

# ANALIZA ZMIENNOŚCI BUDOWY ANATOMICZNEJ CZASZKI I OPIS ZMIAN PATOMORFOLOGICZNYCH W OBRĘBIE DRÓG ODDECHOWYCH U PSOWATYCH CANIDAE

**Anna Buzek, I rok SD**

Opiekun naukowy: dr hab. Marcin Komosa

Zakład Anatomii Zwierząt, Instytut Zoologii

## **Wprowadzenie:**

Czaszka psa domowego *Canis familiaris* w porównaniu do czaszek innych gatunków ssaków udomowionych cechuje się największą zmiennością budowy. Wynika to w dużej mierze z konsekwentnie realizowanych celów hodowlanych. Jednak mimo nierzadko długoletniego kształtowania poszczególnych ras, tak wielka „plastyczność” cech kraniologicznych obserwowana w obrębie gatunku jest dużą osobliwością, a nawet swoistym fenomenem. W związku z faktem, że czaszka jako element kośćca osiowego stanowi strukturę ochronną dla mózgowia i niektórych narządów zmysłów oraz ogranicza początkowe odcinki układu oddechowego i pokarmowego, należy się spodziewać, iż jej zmienność wpływa na morfologię szeregu narządów. W przypadku silnych zmian dochodzić może do obniżenia lub nawet utraty ich funkcjonalności. Sytuacje takie zdarzają się najczęściej u psów brachycefalicznych, gdzie drastyczne skrócenie trzewieczaszki wpłynęło na ukształtowanie małżowin nosowych i zachyłka szczękowego, jak również zakresu okolicy węchowej pokrywającej się z obszarem błędniaka sitowego. Nie bez znaczenia jest również ukształtowanie nozdrzy tylnych, jako struktur wynikających z kształtu blaszki poziomej i pionowej kości podniebiennej oraz kości skrzydłowej. Również kość gnykowa, stanowiąca rusztowanie dla gardła i podstawę mocującą język i krtani, ulegać może morfologicznym zmiennościom. Wymienione struktury kostne wchodzą w topograficzne związki z początkowymi drogami oddechowymi, stąd pojawia się szereg pytań dotyczących ich wzajemnych relacji funkcjonalnych. Szczególnie interesujące jest ukształtowanie i długość podniebienia miękkiego (żagielka podniebiennego), cech opisowych gardła oraz chrząstek krtani, z uwzględnieniem unerwienia i unaczynienia. Ciekawym aspektem badawczym jest konfrontacja wyników uzyskanych na psach z

analogicznymi cechami ich protoplasty – wilkiem *Canis lupus*, jak również innych psowatych.

### **Hipoteza badawcza:**

Zmienność kraniologiczna pociąga za sobą zróżnicowanie morfologiczne struktur miękkich w obrębie dróg oddechowych, leżących na obszarze głowy i szyi.

### **Cele badań:**

1. Opis jamy nosowej, gardła i krtani u różnych ras psów oraz u innych gatunków rodziny Canidae.
2. Znalezienie relacji morfofunkcyjnych pomiędzy strukturami kostnymi czaszki a ukształtowaniem dróg oddechowych.
3. Opis zmian patomorfologicznych w obrębie analizowanych struktur kostnych i narządów aparatu oddechowego psów.

### **Przewód doktorski:**

nieotwarty

### **Publikacja w przygotowaniu:**

Buzek A., Komosa M., Gogulski M.: Jama nosowa owczarka niemieckiego i wilka – makroanatomiczna analiza porównawcza. Planowane czasopismo: *Folia Morphologica*

# UDZIAŁ KONSUMENTÓW NASION W REGULOWANIU POPULACJI INWAZYJNEGO GATUNKU – KOLCZURKI KLAPOWANEJ (ECHINOCYSTIS LOBATA)

**Łukasz Dylewski, IV rok**

Promotor: dr hab. Janusz Kloskowski

Promotor pomocniczy: dr hab. Łukasz Myczko

## **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, uwolnienie 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

## **Materiały i Metody**

### **Eksperyment I**

Eksperyment 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 eksperymentu wynosił 24h. W celu sprawdzenia jakie gatunki gryzoni żerują na nasionach kolczurki klapowanej przy każdej tacce rozstawiane zostały pułapki żywołowne.

### **Eksperyment 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

eksperymentu wynosił 5 dni. W celu identyfikacji gatunków ptaków zabierających nasiona z tacki przy dwóch tackach rozstawiono fotopułapki.

## **Wyniki**

Wyniki pierwszych eksperymentów wykazały, że naturalni konsumenci nasion przystosowały się do żerowania na nasionach tej inwazyjnej 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. Gryzonie w przeciwieństwie do ptaków częściej zabierały nasiona z tacki, które następnie były gromadzone w ich skrytkach pokarmowych. Podczas eksperymentu przeprowadzonego w warunkach kontrolnych gryzonie 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 (rezerwaty, 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: otwarty [29.06.2018]

Stan zaawansowania: 90%

Źródło finansowania: Dotacja dla młodych naukowców nr 507.511.56

## **Oryginalne prace twórcze:**

Jagiello ZA., Dylewski Ł., Tobolka M., Aguirre JI (2019) Life in a polluted world: A global review of anthropogenic materials in bird nests. *Environmental Pollution*

Dylewski Ł., Maćkowiak Ł., Banaszak - Cibicka W. (2019) Are all urban green space a favourable habitat for pollinators' community? Bees, butterflies and hoverflies in different urban green areas. *Ecological Entomology*

Jagiello ZA., Dyderski MK, Dylewski Ł. (2019) What can we learn about the behaviour of red and grey squirrels from YouTube? *Ecological Informatics*, 51:52-60.

- Dylewski Ł., Myczko Ł., (2019) Great spotted woodpecker (*Dendrocopos major*) and red squirrel (*Sciurus vulgaris*) prefer different cone features of European larch (*Larix decidua*). *Biologia*. <https://doi.org/10.2478/s11756-018-00181-z>
- Dylewski Ł., Prokop P. (2018) Prostitution. In: *Encyclopedia of Evolutionary Psychological Science* (Eds. Shackelford TK, Weekes-Shackelford V.). Springer
- Kurek P., Dobrowolska D., Wiatrowska B., Dylewski Ł. (2018) What if Eurasian jay *Garrulus glandarius* would larder acorns instead of scatter them? *iForest*, 11:685-689.
- Dylewski Ł., Maćkowiak Ł., Myczko Ł. (2018) Physical defence of the wild cucumber *Echinocystis lobata* in an invasive range changing seed removal by rodents. *Plant Ecology* 219: 863-873. doi:10.1007/s11258-018-0842-2
- Tobolka M., Dylewski Ł., Woźna J.T., Żołnierowicz 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.
- Myczko Ł., Dylewski Ł., Mitrus S., Sparks T.H. (2018) Invasive Northern Red Oaks benefit *Temnothorax crassispinus* (Hymenoptera: Formicidae) ant colonies. *Myrmecological News* 27: 25-31.
- Jagiello Z.A., Dylewski Ł., Winiarska D., Żolnierowicz K.M., Tobolka M. (2018) Factors determining the occurrence of anthropogenic materials in nests of the white stork *Ciconia ciconia*. *Environmental Sciences and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1626-x>
- 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>
- Myczko Ł., Dylewski Ł., Sparks TH, Łochyński M, Tryjanowski P. (2017) Co-occurrence of birds and bats in natural nest-holes. *Ibis* 159: 235–237.
- Kwieciński Z, Rosin ZM, Dylewski Ł, Skórka P. (2017) Sexual differences in food preferences in the white stork: an experimental study. *Science of Nature (Naturwissenschaften)* 104: 39.

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.

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.

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. *Science of Nature* 104: 48.

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.

Dylewski Ł, Przyborowski T, Myczko Ł. (2016) Winter habitat choice by foraging the red squirrel (*Sciurus vulgaris*). *Annales Zoologici Fennici* 53: 194–200.

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 .

Myczko Ł, Skórka P, Dylewski Ł, Sparks T, Tryjanowski P. (2015) Color mimicry of empty seeds influences the probability of predation by birds. *Ecosphere* 6.

Myczko Ł, Dylewski Ł, Zduniak P, Sparks TH, 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: 35–39.

### **Granty:**

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

### **Stypendium wyjazdowe:**



Etiuda: Konsumenci nasion jako ważny element hipotezy biotycznej odporności w ograniczaniu rozprzestrzeniania się obcych i inwazyjnych gatunków roślin.

Nr UMO-2018/28/T/NZ8/00264. Staż: 11.2018 – 05.2019 Division of Biological Sciences  
University of Montana, Missoula MT, USA.

# UDZIAŁ ADROPINY W REGULACJI ADIPOGENEZY ORAZ METABOLIZMU I FUNKCJI ENDOKRYNNYCH ADIPOCYTÓW

**Mariami Jasaszwili, I rok SD**

Promotor: dr hab. Marek Skrzypski

Katedra Fizjologii i Biochemii Zwierząt

## **Wprowadzenie**

Otyłość zaliczana jest do chorób cywilizacyjnych i dotyczy coraz większego odsetka społeczeństwa. Zjawisko otyłości w dużym stopniu powiązane jest z zaburzeniami w funkcjonowaniu białej i brunatnej tkanki tłuszczowej. Przyrost ilości białej tkanki tłuszczowej wynika z nadmiernego gromadzenia lipidów (hipertrofii), a także większej liczby adipocytów (hiperplazji). Z kolei adipocyty brunatnej tkanki tłuszczowej dzięki zdolności do termogenezy sprzyjają wydatkowaniu energii, co przeciwdziała nadmiernej masie ciała. Jednakże liczba brunatnych adipocytów u osób otyłych jest mniejsza niż u osób o prawidłowej masie ciała. Na ilość białych i brunatnych adipocytów w dużej mierze wpływają proliferacja i różnicowanie preadipocytów w dojrzałe komórki tłuszczowe.

Fizjologia tkanki tłuszczowej regulowana jest m.in. poprzez hormony peptydowe. Wśród nich znajduje się adropina – peptyd złożony z 76 aminokwasów, kodowany przez gen Enho. Przeprowadzone badania dowodzą, że adropina obniża insulinooporność oraz poprawia metabolizm lipidowo-węglowodanowy u gryzoni z wyindukowaną otyłością. Ponadto niedobór adropiny wiąże się z występowaniem zaburzonej gospodarki lipidowej, otyłości, a także insulinooporności.

Jak dotąd wpływ adropiny na białe oraz brunatne adipocyty pozostaje niezbadany. Uwzględniając niezwykle istotną rolę białej i brunatnej tkanki tłuszczowej w regulowaniu procesów metabolicznych i homeostazy energetycznej kluczowe wydaje się scharakteryzowanie wpływu adropiny na proces adipogenezy, a także na funkcjonowanie dojrzałych adipocytów. Poznanie tych mechanizmów może wskazać na potencjalny udział adropiny w patogenezie i terapii otyłości.

## **Hipoteza badawcza**

Adropina reguluje adipogenezę oraz metabolizm i funkcje endokrynne adipocytów.

## **Cel pracy**

Celem pracy jest określenie wpływu adropiny na proliferację i różnicowanie komórek linii 3T3-L1 oraz preadipocytów białej i brunatnej tkanki tłuszczowej szczura. Prowadzone badania mają na celu scharakteryzowanie ekspresji adropiny oraz jej domniemanego receptora GPR19 na różnych etapach różnicowania preadipocytów.

Zbadany zostanie również wpływ adropiny na metabolizm lipidowo-węglowodanowy i funkcje endokrynne adipocytów. Scharakteryzowane zostanie oddziaływanie badanego hormonu na proces lipogenezy, a także na ekspresję i sekrecję wybranych adipokin. Ponadto określony zostanie mechanizm wewnątrzkomórkowy odpowiedzialny za efekty wywoływane przez adropinę w badanych komórkach. Przeprowadzone badania i wyciągnięte wnioski powinny pozwolić na lepsze zrozumienie szerokiego spektrum oddziaływań adropiny.

## **Materiał i metody**

Materiał do badań stanowią komórki mysich fibroblastów linii 3T3-L1 (ATCC® CL-173TM) pochodzące z ATCC, LGC Standards oraz pierwotne preadipocyty wyizolowane z białej i brunatnej tkanki tłuszczowej (WAT i BAT) młodych samców szczurów Wistar (ok. 100 g). Adropina pochodzi z firmy Bachem AG.

Do określenia poziomu proliferacji komórek wykorzystany zostanie test BrdU. Aby oszacować stopień zróżnicowania komórek oceniony zostanie poziom ekspresji wybranych genów, które są charakterystyczne dla poszczególnych etapów adipogenezy. W tym celu wykorzystana zostanie metoda PCR w czasie rzeczywistym. Ponadto wykonana zostanie ocena morfologiczna z użyciem ilościowego barwienia czerwienią olejową (Oil Red O) - wraz z dokumentacją fotograficzną. Ocena ekspresji i sekrecji hormonów zostanie wykonana z użyciem technik PCR w czasie rzeczywistym oraz testów RIA i ELISA. Uzyskane wyniki będą również weryfikowane badaniami prowadzonymi na poziomie białka z wykorzystaniem metody Western blot.

## **Wstępne wyniki**

### 1. Ekspresja genów Enho i Gpr19 w komórkach 3T3-L1 oraz szczurzych preadipocytach

W doświadczeniach przeprowadzonych na komórkach 3T3-L1 oraz szczurzych preadipocytach zbadano poziom ekspresji genów dla prekursora adropiny (Enho) oraz jej potencjalnego receptora (Gpr19). Kontrolę pozytywną stanowiło podwzgórze (pobrane odpowiednio od myszy oraz szczura). Uzyskane wyniki świadczą o wysokiej ekspresji genu Gpr19 w podwzgórzu myszy i niższej ekspresji w niezróżnicowanych i zróżnicowanych komórkach 3T3-L1. W przypadku szczurzych preadipocytów Gpr19 ulegał niższej ekspresji niż w podwzgórzu szczura. Poziom ekspresji genu Enho był niższy w komórkach niezróżnicowanych i zróżnicowanych 3T3-L1 w porównaniu do próby z podwzgórza myszy. W badanych niezróżnicowanych i zróżnicowanych preadipocytach ekspresja prekursora adropiny występowała, choć była znacząco niższa niż w próbie kontrolnej.

Reasumując uzyskane wyniki świadczą o występowaniu ekspresji genów Enho i Gpr19 zarówno w komórkach 3T3-L1, jak i szczurzych preadipocytach.

### 2. Rola adropiny w proliferacji komórek 3T3-L1 oraz szczurzych preadipocytów

W celu zbadania proliferacji komórek 3T3-L1 oraz szczurzych preadipocytów inkubowano je przez określony czas (24h i 48h) z adropiną w różnych stężeniach (1, 10 i 100 nmol/l). Wykonane badania świadczą o stymulującym wpływie adropiny w stężeniu 100 nmol/l na proliferację komórek 3T3-L1 zarówno po 24- jak i 48-godzinnej inkubacji z peptydem. Ponadto wykazano stymulację proliferacji preadipocytów pochodzących z białej tkanki tłuszczowej po 48-godzinnej inkubacji z adropiną 100 nmol/l.

Podsumowując uzyskane wyniki świadczą o stymulującym wpływie adropiny na wzrost komórek 3T3-L1.

**Przewód doktorski:** otwarty, 29.03.2019, Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach UP w Poznaniu

**Stan zaawansowania:** 35%

**Źródło finansowania badań:** grant SONATA nr 2016/23/D/NZ4/03557, Narodowe Centrum Nauki (kierownik projektu: dr hab. Marek Skrzypski)

**Spis publikacji:**

Billert M., Wojciechowicz T., Jasaszwili M., Szczepankiewicz D., Waśko J., Kaźmierczak S., Strowski M. Z., Nowak K. W., Skrzypski M. (2018) Phoenixin-14 stimulates differentiation of 3T3-L1 preadipocytes via cAMP/Epac-dependent mechanism. *BBA-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1863(12):1449-1457. (MNiSW 35 pkt.)

# GENETYCZNE UWARUNKOWANIA ZMIENNOŚCI LICZEBNOŚCI MIOTU ŚWIŃ

**Jan Dobrzański, II rok SD**

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

Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt

## **WSTĘP**

Intensywna selekcja ukierunkowana na zwiększanie liczebności miotu świń wpłynęła jednocześnie na zwiększenie zmienności liczby prosiąt w miocie. Różnice pomiędzy lochami rasy wielkiej białej mogą dochodzić nawet do 20 prosiąt. Powoduje to dodatkowe koszty związane z utrzymaniem loch i prosiąt, a także wpływa na dobrostan zwierząt. Jedną z metod badania zmienności w obrębie cechy jest analiza wariancji resztowej. Badania prowadzone u świń jak i innych gatunków zwierząt dowiodły istnienia komponentu genetycznego dla wariancji resztowej. Zwiększa to zainteresowanie badaniami nad zmiennością cech mając w perspektywie doskonalenia genetycznego populacji pod kątem wyrównania miotów. Z tego punktu widzenia ważnym aspektem jest też identyfikacja regionów genomu kontrolujących zmienność tej cechy.

## **HIPOTEZA**

Zmienność wielkości miotu świń ma podłoże genetyczne.

## **CELE PRACY:**

- 1) Utworzenie nowych fenotypów dla zmienności wielkości miotu (TNB) z wykorzystaniem wariancji resztowej.
- 2) Identyfikacja regionów biorących udział w kontroli zmienności wielkości miotu z wykorzystaniem uzyskanych fenotypów.

## **MATERIAŁ I METODY**

- 1) Analizą objęto 246 799 miotów 53 804 loch z ferm Topigs Norsvin .

Do estymacji komponentów zmienności dla TNB niezbędnych do utworzenia nowego fenotypu posłużyły trzy modele statystyczne różniące się efektami stałymi i losowymi. Następnie na podstawie każdego z trzech modeli oszacowano wariancję komponentów resztowych na przestrzeni kolejnych obserwacji dla danego zwierzęcia. Otrzymane wartości

przekształcono logarytmicznie uzyskując trzy fenotypy zmienności. Dla każdego fenotypu oszacowano: współczynnik odziedziczalności ( $h^2$ ), współczynnik genetycznej zmienności na poziomie odchylenia standardowego (GCV) i korelacje genetyczne pomiędzy fenotypami i pomiędzy wielkością TNB i jej zmiennością.

2) Przeprowadzone zostanie badanie asocjacyjne genomu (GWAS) z wykorzystaniem uaktualnionej bazy fenotypów (607 553 obserwacji miotów 121 089 loch). GWAS zostanie przeprowadzony dla ok 18 000 zwierząt zgenotypowanych chipem SNP 50k. Użyta zostanie metoda single-SNP.

## **WSTĘPNE WYNIKI**

Dla utworzonych fenotypów uzyskano identyczne oszacowania  $h^2=0,021$  i korelacji genetycznych pomiędzy komponentami addytywnymi na poziomie 0,98. Otrzymane wyniki wskazują na obecność komponentu genetycznego dla fenotypów co umożliwia ich wykorzystanie do celów hodowlanych jak i również wskazuje na to, iż fenotypy uzyskane z różnych modeli są pod względem genetycznym tą samą cechą.

Oszacowania dla GCV wahały się w granicach 0,81 do 0,83. Oznacza to, że na przestrzeni pięciu pokoleń możemy maksymalnie uzyskać zmniejszenie zmienności miotu o jedno prosię.

Uzyskano również dodatnie korelacje genetyczne dla liczebności miotu i jego zmienności, wskazujące iż przy opracowaniu programów hodowlanych należy uwzględnić obie cechy, aby uniknąć niepożądanego zwiększania się zmienności liczebności miotu wraz z zwiększaniem liczebności miotu.

Stan zawansowania: 50%

Przewód doktorski: otwarty 26.04.2019

Finansowanie: Grant NCN: 2016/23/D/NZ9/00029 (kierownik dr inż. Ewa Sell-Kubiak)

## **SPIS PUBLIKACJI:**

Oryginalne prace twórcze:

Dobrzański J.,<sup>1</sup> Mulder H.A.,<sup>2</sup> Knol E.F.,<sup>3</sup> Szwaczkowski T.,<sup>1</sup> Sell-Kubiak E. (2019) Estimation of litter size variability phenotypes in Large White sows. Journal of Animal Breeding and Genetics (w recenzji MNiSzW 35 pkt)

### **Artykuły przeglądowe**

Dobrzański J., Szwaczkowski T. (2017). Zasoby genetyczne drobiu w dobie globalizacji. *Polskie Drobiarstwo*, 6: 2-7. (MNiSzW 3 pkt)

Dobrzański J., Calik J., Krawczyk J. Szwaczkowski T. Conservation of genetic goose resources in Poland, *World's Poultry Science Journal* (złożony do redakcji po recenzjach, MNiSzW 30 pkt)

### **Doniesienia konferencyjne**

Dobrzański J., Calik J., Krawczyk J. Szwaczkowski T. (2017), Survey on effectiveness of goose genetic conservation programs implementation in Poland, XXIX International Poultry Science Symposium PB WPSA, Tarnowo Podgórne 18-20.09.2017, Conference Proceedings: 26

Dobrzański J., Mulder H.A., Knol E.F., Szwaczkowski T., Sell-Kubiak E. (2018), Applying different models to estimate litter size variability in Large White sows, XXVIII Genetic Days 2018, Czeskie Budziejowice 18-20.09.2018, Book of abstracts: 28

Grzybek P., Przysiecki P., Filistowicz A., Dobrzański J., Szwaczkowski T. (2018), Analiza rodowodowa populacji lisa pospolitego (*Vulpes vulpes*), LXXXII Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego, Lublin 19-21.09.2018, Materiały konferencyjne: 74

Dobrzański J., Mulder H.A., Knol E.F., Szwaczkowski T., Sell-Kubiak E. (2019) Different models for estimation of litter size variability phenotypes, EAAP Annual Meeting 2019, Ghent 26-29. 08.2019



# NIEJONOWY BIOSURFAKTANT ORAZ KARBOHYDRAZA W ŻYWIENIU DROBIU

**Marta Kubiś, III rok SD**

Opiekun: dr hab. Sebastian Kaczmarek prof. nadz., Katedra Żywienia Zwierząt

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej i Nauk o Zwierzętach

Przewód otwarty: 30.10.2018

**Wprowadzenie:** Efektywne trawienie i wchłanianie kwasów tłuszczowych jest możliwe tylko wtedy gdy utworzą one micelle w przewodzie pokarmowym. 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 egzogennych 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 karbohydraz i emulsyfikatorów na strawność składników pokarmowych zauważono ciekawą interakcję pomiędzy tymi dwoma dodatkami. Wykazano, że strawność węglowodanów (NDF) jest większa w paszach z karbohydrazą i emulsyfikatorem niż w przypadku stosowania samego enzymu.

**Hipoteza badawcza:** Karbohydrazy 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, karbohydrazy 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 doświadczenia 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).

Badania finansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki, Polska, grant 2015/19/D/NZ9/03580

### **Publikacje:**

1. S.A. Kaczmarek, M Hejdysz, M. Kubiś, A Rutkowski, 2016, Influence of graded inclusion of white lupin (*Lupinus albus*) meal on performance, nutrient digestibility and intestinal morphology of broiler chickens, *British Poultry Science* 57 (3), 364-374, DOI: 10.1080/00071668.2016.1171295, punkty MNiSW: 30
2. S.A. Kaczmarek, M Hejdysz, M Kubiś, M Kasproicz-Potocka, A Rutkowski, 2016, The nutritional value of yellow lupin (*Lupinus luteus* L.) for broilers, *Animal Feed Science and Technology* 222, 43-53, DOI: j.anifeedsci.2016.10.001, punkty MNiSW: 45

3. M. Kubiś, S.A. Kaczmarek, S. Nowaczewski, M. Adamski, M. Hejdysz, A. Rutkowski, 2018, Influence of graded inclusion of white lupin (*Lupinus albus*) meal on performance, nutrient digestibility and ileal viscosity of laying hens *British Poultry Science*, 59 (4), 477-484, DOI: 10.1080/00071668.2018.1459041, punkty MNiSW: 30
4. M. Hejdysz, S.A. Kaczmarek, M. Kubiś, D. Jamroz, M. Kasprowicz-Potocka, A. Zaworska, A. Rutkowski, 2018, Effect of increasing levels of raw and extruded narrow-leaved lupin seeds in broiler diet on performance parameters, nutrient digestibility and AME N value of diet *Journal of Animal and Feed Sciences* 26 (3), 247-256, DOI: 10.22358/jafs/83015/2018, punkty MNiSW: 20
5. M. Hejdysz, S.A. Kaczmarek, M. Kubiś, M. Admaski, K. Perz, A. Rutkowski, 2019, The effect of faba bean extrusion on the growth performance, nutrient utilization, metabolizable energy, excretion of sialic acids and meat quality of broiler chickens; *Animal* 9: 1-8, DOI: 10.1017/S175173111800366X; punkty MSWiA: 40

# CHARAKTERYSTYKA KOŚĆCA I POKROJU KONI UŻYTKOWANYCH WE WSPÓŁCZESNYM SPORCIE JEŹDZIECKIM

**Monika Tołkacz-Paszkiewicz, IV 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 jeźdźca poprzez wodzę na pysk konia. Objawy jakie koń wykazuje przy problemach z kontaktem to najczęściej: rzucanie głową, niechęć do przyjmowania wędzidla, zgrzytanie zębami, nerwowe gryzienie wędzidla, 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:**

- wskazanie obecności względnie braku asymetrii u koni sportowych
- określenie zmienności budowy kości potylicznej u osobników o prawidłowej budowie kości potylicznej
- 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.

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

#### **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 powróżka karkowego tzw. entazopatii. 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: 70 % 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.

Przewód doktorski: otwarty czerwiec 2018, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, Zakład Anatomii Zwierząt, Instytut Zoologii

### **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

M. Tołkacz-Paszkiewicz, M. Komosa. M. Dzierżęcka, K. Dudek “Degenerative changes and anomalies in occipital bone of the horse”

Animal Welfare IF 1.462 (wysłana)

# ROLA METANOGENÓW W PRODUKCJI METANU U KONI ORAZ KUCÓW W ZALEŻNOŚCI OD SKARMIANEJ DAWKI POKARMOWEJ

**Weronika Filipiak, I rok SD**

Opiekun: prof. dr hab. Małgorzata Szumacher

UPP Katedra Żywienia Zwierząt

**Wprowadzenie:** Podczas odbywającego się w minionym roku szczytu klimatycznego zwrócono uwagę, że hodowla zwierząt ma ogromny wpływ na zmiany klimatyczne w kontekście emisji gazów cieplarnianych. Produkcja zwierzęca odpowiada za 18 % emisji gazów cieplarnianych, więcej niż cały sektor transportu (14%). Większość z tych 18% stanowi emisja podtlenku azotu i metanu pochodzących z nawozu zwierzęcego, emisji metanu z procesów trawiennych zwierząt oraz podtlenku azotu z nawozów mineralnych stosowanych w uprawach paszowych. Zwierzęta przeżuwające, hodowane w celu pozyskania surowców pochodzenia zwierzęcego, takich jak mleko czy mięso, są drugim co do wielkości producentem metanu (Wuebbles i Hayhoe, 2002). W puli gazów produkowanych przez przeżuwacze metan stanowi od 30 do 40%.

Należy jednak pamiętać, że hodowla zwierząt to nie tylko zwierzęta przeznaczone na cele żywieniowe, ale również zwierzęta utrzymywane w celach rekreacyjnych, sportowych, pociągowych czy nawet terapeutycznych. Przykładem takich zwierząt są konie i kuce.

W dostępnej literaturze światowej istnieje wiele badań dotyczących różnorodności mikroorganizmów zamieszkujących przewód pokarmowy zwierząt, ale niewiele z tych opracowań dotyczy populacji metanogenów jelita grubego koniowatych (Lwin i Matsui, 2014) oraz poziomu emisji metanu.

Hipoteza badawcza zakłada bezpośredni udział metanogenów w produkcji metanu a także wyższą produkcję metanu u koni żywionych dawką pokarmową z wyższym udziałem włókna surowego.



**Cele badawcze:** (i) określenie wpływu rodzaju skarmianej dawki pokarmowej na rozmiar produkcji metanu u koni i kuców utrzymywanych w stajniach, (ii) porównanie populacji metanogenów występujących w przewodzie pokarmowym koni i kuców, oraz (iii) określenie mechanizmu powstawania metanu.

**Materiał i metody:** Materiał badawczy stanowią dwie grupy zwierząt: konie rasy polski koń szlachetny półkrwi oraz kuce. Konie pochodzą z ośrodka jeździeckiego Jakubus w Jakubowicach, natomiast kuce z z Ośrodka Jeździeckiego Podkowa Gruszczyń.

Wobec braku danych literaturowych na temat ilości emitowanego metanu od koni i kuców w różnych warunkach środowiskowych, w I etapie badań wykonywane są pomiary emisji gazów od zwierząt utrzymywanych w stajni. Pomiary wykonywane są za pomocą przenośnego urządzenia NIDR (nondispersive infrared analyzer) służącego do pomiaru stężenia CH<sub>4</sub> oraz CO<sub>2</sub>. Produkcja metanu i dwutlenku węgla jest określana za pomocą analizatora bliskiej podczerwieni (Servomex 4000 Series, Servomex Ltd., UK, 1210 Gfx model) w zakresie 0 -5000 ppm dla dwutlenku węgla i 0 - 1000 ppm dla metanu. Powietrze pobierane jest przez pompę w czasie ciągłym (15 L/min) z pomieszczenia stajni, za pomocą polietylenowej rurki (średnica 8 mm), a następnie doprowadzane do analizatora (0,6 L/min). Analiza stężenia metanu i dwutlenku węgla w doprowadzanym powietrzu jest zapisywana co 2 sekundy z wykorzystaniem RS 232, oprogramowania i bazy danych (AnaGaz, Wrocław, Polska). Przed rozpoczęciem doświadczenia analizatory zostały skalibrowane przy użyciu definiowanych gazów: azot N 5,0 i 1210 ppm CH<sub>4</sub> w azocie (Multax, Zielonki-Parcela, Polska).

W II etapie planowane jest przeprowadzenie pomiarów w komorach respiracyjnych. Ponadto pobrane zostaną próby krwi, w celu oznaczenia podstawowych parametrów biochemicznych oraz kału, w celu oznaczenia populacji metanogenów.

**Przewód doktorski:** nieotwarty

Publikacje przygotowane do druku:

1. Filipiak W., Cieślak A., Filistowicz A., Szumacher-Strabel M.,

Effect of the system of maintenance on the occurrence of atypical behaviors in horses.

2. Filipiak W., Misiukiewicz A., Min G., Cieślak A., Szumacher-Strabel M.,

Overview, characteristics and control capabilities of methanogens inhabiting monogastric animals digestive systems.

## Alicja Matysiak, IV rok

dr hab. Oskar Wasielewski, Instytut Zoologii

### **Wprowadzenie:**

Pasożyty atakujące zarówno domowe, jak i dzikie zwierzęta drapieżne 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 (drapieżne) 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*).

### **Hipotezy:**

1. Carnivora są nosicielami wielu pasożytów wewnętrznych.
2. Carnivora posiadają bogatą parazytofaunę zewnętrzną.

3. U lisów i jenotów licznie występują kleszcze w tkance podskórnej.

### **Cel pracy:**

1. Zbadanie parazytfauny u wybranych gatunków Carnivora: lisów (*Vulpes vulpes*), jenotów (*Nyctereutes procyonoides*) oraz wilków (*Canis lupus*). Pierwsza część badań dotyczy endopasożytów, natomiast druga ektopasożytów
2. Zbadanie występowania kleszczy w tkance podskórnej u lisów i jenotów.

### **Materiały i metody:**

Lisy i jenoty pozyskane zostaną od myśliwych w drodze polowania. W celu zbadania endopasożytów u wilków, zostaną wykorzystane preparaty znajdujące się w Instytucie Zoologii.

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. Ponadto pobierane zostaną płuca zwierząt w celu wykrycia larw *Crenosoma vulpis*. 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 *Veterinari Medicina*. Również możemy stwierdzić że około 20% lisów jest zainfekowanych pasożytem płucnym – *Crenosoma vulpis*.

Stan zaawansowania: 60 %

Przewód doktorski: 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. *Veterinari 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*. *Veterinari Medicina*, 63: 571-574; IF=0,434; pkt MNiSW=25

Frączak M, Tryjanowski P, Matysiak A, Petrová E, Ondřejková A (2018) Coronaviruses – the potential of interspecies transmission. *Slovenský veterinársky časopis* 2/2018: 134-137.

**Joanna Składanowska-Baryza III rok SD**

Opiekun: dr hab. Marek Stanisław

Katedra Hodowli Zwierząt i Oceny Surowców

### **Wprowadzenie i motywacja:**

W wielu częściach Unii Europejskiej produkcja królików jest stale na niezmiennym niskim poziomie, jednak jej ogólny wzrost spowodował zainteresowanie praktykami dotyczącymi dobrostanu tych zwierząt. Według raportu Unii Europejskiej hodowanych jest 180 milionów królików na cele konsumpcyjne, a króliki znajdują się na szóstej pozycji pod względem liczby zwierząt hodowanych na mięso. Według danych literaturowych spożycie mięsa króliczego w UE wynosi 0,5 kg na osobę rocznie. Mięso królicze jest coraz bardziej cenionym surowcem, o czym świadczy wzrost pogłowia królików na świecie. Przy obecnym nacisku społecznym na zrównoważoną dietę, mięso królicze charakteryzujące się wysoką wartością odżywczą i dietetyczną (niska zawartość cholesterolu, wysoka zawartość i przyswajalność białka, mała zawartość tłuszczu ekstrakcyjnego, wysoka zawartość aminokwasów egzogennych, wysoka zawartość makroelementów i witamin) przez co zyskuje wielu zwolenników. 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. Dotychczasowe badania 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, Cullere i in. 2018, Szendro i in. 2019).

**Hipoteza badawcza:**

Hipoteza badawcza zakłada występowanie zależności pomiędzy postępowaniem ze zwierzętami przed ubojem (transport, metoda ogłuszania), a przemianami poubojowymi w mięsie, które mają wpływ na jakość mięsa hybryd króliczych.

**Cel badań:**

Celem badań jest wykazanie wpływu postępowania ze zwierzętami przed ubojem na cechy jakościowe mięsa hybryd króliczych.

**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 mikroplątek 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)
8. Stanisław M., Skorupski M., Ślósarz P., Bykowska-Maciejewska M., Składanowska-Baryza J., Stańczak Ł., Krokowska-Paluszak M., Ludwiczak A. (2019). The seasonal variation in the quality of venison from wild fallow deer (*Dama dama*)—A pilot study. *Meat science*, 150, 56-64. (IF =3.313, MNiSW=40 pkt)
9. Stanisław M., Ludwiczak A., Składanowska-Baryza J., & Bykowska-Maciejewska M. (2018). The effect of age and ultimate pH value on selected quality traits of meat from wild boar. *Canadian Journal of Animal Science*, doi: 10.1139/CJAS-2018-0090. (IF= 0,657, MNiSW= 30 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 "7th 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 7th 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 7th 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 7th 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. 62nd 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

9. Składanowska-Baryza J. (2018). Ocena podstawowych cech jakości mięsa królików pochodzących z krzyżowania hybryd króliczych. Wyzwania zootechniki w warunkach rolnictwa zrównoważonego: LXXXIII Zjazd Naukowy Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego. Lublin, 19-21 września 2018, Materiały konferencyjne Lublin: 2018 s. 104

### 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-odzywcz-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>

7. Składanowska-Baryza J. (2018). Wpływ stresu na jakość mięsa zwierząt. Ceny Rolnicze. Dostępne online: <https://www.cenyrolnicze.pl/wiadomosci/produkcja-zwierzeca/mieso/14042-wplyw-stresu-na-jakosc-miesa-zwierzat>

8. Składanowska-Baryza J. (2018). Rasa Popielniańska Biała- jedna z nielicznych ras wyhodowanych w Polsce. Dostępne online:

<https://www.cenyrolnicze.pl/wiadomosci/produkcja-zwierzeca/pozostale-zwierzeta-hodowlane/12948-rasa-popelianska-biala-jedna-z-nielicznych-ras-wyhodowanych-w-polsce>

# AKTYWNE BIOLOGICZNIE SUBSTANCJE NASION OWOCÓW JAGODOWYCH ORAZ ŁUBINU WĄSKOLISTNEGO A PROCES METANOGENEZY I BIOUWODOROWANIA U KRÓW MLECZNYCH

**Magdalena Bryszak, II rok SD**

Opiekun pracy: Prof. dr hab. Adam Cieślak, Katedra Żywienia Zwierząt

**Wstęp:** Biologicznie aktywne substancje (fitocynniki) zawarte w materiale roślinnym, ze względu na ich aktywność antymikrobiologiczną, można rozważać jako potencjalne modulatory procesów fermentacyjnych zachodzących w żwaczu. Wykazują one bowiem selektywne oddziaływanie na wzrost niektórych grup mikroorganizmów zasiedlających ten ekosystem (Calabrò, 2015; Kholif i wsp., 2018; Yanza i wsp., 2018). Obecnie w wielu ośrodkach naukowych wzrasta zainteresowanie wykorzystaniem biologicznie aktywnych substancji roślinnych jako modulatorów procesu metanogenezy i biouwodorowania w żwaczu (Correddu i wsp., 2016; Szczechowiak i wsp., 2016; Yanza i wsp., 2018). Złożoność budowy oraz różnorodność występujących w przyrodzie fitocynników jest często czynnikiem ograniczającym postęp w badaniach nad nimi (Bodas i wsp., 2012). Klasyfikacja wtórnych metabolitów roślinnych potencjalnie regulujących procesy fermentacji żwaczowej, a tym samym wpływających na produktywność przeżuwaczy jest bardzo trudna.

Ze względu na podobne szlaki metaboliczne, posiadane właściwości oraz mechanizm ich działania substancje te dzieli się na trzy główne grupy: saponiny, taniny i olejki eteryczne (Cieślak i wsp., 2013). Zarówno łubin wąskolistny, jak i nasiona owoców jagodowych są nie tylko dobrym źródłem białka ogólnego, ale również biologicznie aktywnych substancji, np. polisacharydów nieskrobiowych, tanin, flawonoidów, antocjanów).

Dotychczas przeprowadzono niewiele badań z wykorzystaniem łubinu wąskolistnego oraz owoców jagodowych w żywieniu zwierząt przeżuwających w aspekcie oddziaływania na mikroorganizmy żwacza (proces metanogenezy i biouwodorowania) oraz na skład jakościowy mleka, tym samym czyniąc to zagadnienie bardzo aktualnym i interesującym nie tylko z punktu widzenia praktycznego, ale przede wszystkim poznawczego i naukowego.

**Hipoteza badawcza:** Hipoteza badawcza zakłada, że nasiona łubinu wąskolistnego odmiany Tango oraz nasiona truskawek, czarnej porzeczki i malin będące nośnikiem białka ogólnego, a także biologicznie aktywne substancje (polisacharydów nieskrobiowych, tanin, flawonoidów, antocjanów), modulują przebieg procesów zachodzących w żwaczu (metanogenezy oraz biouwodorowania), zwiększając zawartość niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych w mleku krów.

**Cele badawcze:** Celem badań była ocena możliwości zastosowania nasion łubinu wąskolistnego odmiany Tango oraz ekstrahowanych metodą nadkrytyczną nasion owoców truskawek, czarnej porzeczki, malin, jako komponentów dawki pokarmowej stosowanej w żywieniu wysoko wydajnych krów mlecznych w aspekcie modulowania procesu metanogenezy oraz biouwodorowania nienasyconych kwasów tłuszczowych w żwaczu.

**Materiał i metody:** Materiał do badań stanowi płyn żwacza oraz mleko.

Czynnikiem doświadczalnym wykorzystanym w cyklu doświadczeń były biologicznie aktywne substancje znajdujące się w ekstrahowanych metodą nadkrytyczną nasionach owoców truskawek, czarnej porzeczki, malin, a także nasionach łubinu wąskolistnego odmiany Tango.

Badania obejmowały doświadczenia w warunkach *in vitro* i *in vivo* w których określono podstawowe parametry płynu żwacza: pH, koncentrację amoniaku (metoda Nesslera), strawności suchej masy (AOAC), profil długołańcuchowych kwasów tłuszczowych oraz lotnych kwasów tłuszczowych (chromatografia gazowa). Określono populację mikroorganizmów bytujących w żwaczu takich jak: pierwotniaki (mikroskop świetlny), metanogeny (FISH) oraz bakterie (Real time PCR). Wykonano izolację RNA z mleka w celu określenia względnego poziomu transkryptów odpowiedzialnych za przemiany metaboliczne lipidów (Real time PCR).

Wyniki: Na podstawie doświadczeń przeprowadzonych w ramach eksperymentu pierwszego w doświadczeniu *in vitro* wykazano, że dodatek zastosowanych nasion owoców jagodowych zwiększył koncentrację kwasów octowego, propionowego i masłowego jedynie w grupie z dodatkiem nasion porzeczki czarnej. Tym samym do dalszych doświadczeń w warunkach *in vivo* zakwalifikowano dodatek nasion porzeczki czarnej w ilości 2 kg/dzień na sztukę. W doświadczeniu przeprowadzonym w warunkach *in vivo* z wykorzystaniem krów przetokowanych nie stwierdzono wpływu zastosowanego dodatku na poziom podstawowych wskaźników biochemicznych żwacza, jak również nie odnotowano oddziaływania na proces

metanogenezy. Dodatek nasion porzeczki czarnej do dawek pokarmowych dla krów mlecznych w warunkach produkcyjnych spowodował statystycznie istotny wzrost zawartości kwasów tłuszczowych C18:1 trans-11, C18:2 cis-9 trans-11, n-3, n-6 oraz sumy wielonienasyconych kwasów tłuszczowych bez negatywnego wpływu na wyniki produkcyjne. Tym samym w przeprowadzonych badaniach potwierdzono zakładaną hipotezę jedynie w aspekcie modulowania procesu biouwodorowania kwasów tłuszczowych. Nasiona czarnej porzeczki jako substrat dla przemian mikrobiologicznych w żwaczu, z uwagi na zawartość substancji biologicznie aktywnych, wpłynął w istotny sposób na szlaki przemian węglowodanów niestrukturalnych w żwaczu, i tym samym spowodował ilościowe i jakościowe zmiany mikroorganizmów uczestniczących w procesie biouwodorowania.

W drugim eksperymencie badania przeprowadzone w warunkach *in vitro* jak i *in vivo* wykazały, że biologicznie aktywne substancje znajdujące się w łubinie wąskolistnym odmiany Tango nie oddziałują negatywnie na podstawowe wskaźniki biochemiczne płynu żwacza. W badaniach *in vivo* zaobserwowano zredukowanie względnej ilości DNA bakterii bytujących w żwaczu: *Anaerovibrio lipolytica* (o 46 %), *Fibrobacter succinogenes* (o 76 %) oraz na *Ruminococcus albus* (o 48%) po zastosowaniu łubinu wąskolistnego. Nie stwierdzono różnic dla względnej ilości DNA bakterii *Butyrivibrio fibrisolvens* oraz *Fibrobacter succinogenes*. Ponadto, stwierdzono, że dodatek 2 kg nasion łubinu wąskolistnego odmiany Tango do dawki pokarmowej dla krów mlecznych przyczynił się do statystycznie istotnego obniżenia populacji trzech badanych grup metanogenów (całkowitej liczebności metanogenów, *Methanobacteriales*, *Methanomicrobiales*). Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że dodatek łubinu odmiany „Tango” wpływa na populację wybranych metanogenów, a tym samym przyczynia się do zmniejszenia emisji metanu od wysoko wydajnych krów. Stwierdzono statystycznie istotne zwiększenie zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych w tym: jednonienasyconych, n3 PUFA, n6 PUFA przy jednoczesnym statystycznie istotnym obniżeniu zawartość nasyconych kwasów tłuszczowych. Z sześciu analizowanych genów zaobserwowano zmniejszenie względnego poziomu transkryptów dla genu LPL ( $P < 0.05$ ) oraz zwiększenie w przypadku genu ELOVL5 ( $P < 0.05$ ). Łubin wąskolistny odmiany Tango wykazuje potencjał do modulowania procesu metanogenezy i biouwodorowania, a tym samym profilu FA w mleku.

**Przewód doktorski:** otwarty 30.11.2018

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

### **Spis publikacji :**

1. M. Bryszak, M. Szumacher-Strabel, M. El-Sherbiny, A. Stochmal, W. Oleszek , E. Roj, A. K. Patra, A. Cieslak. (2018). Effects of berry seed residues on ruminal fermentation, methane concentration, milk production and fatty acid proportions in the rumen and milk of dairy cows. *Journal of Dairy Science*; JDS-18-15322.R2.
2. Yanza, Y. R., Szumacher-Strabel, M., Bryszak, M., Gao, M., Kolodziejcki, P., Stochmal, A., Slusarczyk S., K Patra A., Cieslak, A. (2018), *Coleus amboinicus* (Lour.) leaves as a modulator of ruminal methanogenesis and biohydrogenation in vitro. *Journal of Animal Science*, 14(1), 78. DOI: 10.1093/jas/sky321, IF 1.711, liczba punktów MNiSW - 40.
3. Váradyová Z., Mravčáková D., Babják M., Bryszak M., Grešáková L., Čobanová K., Kišidayová S., Plachá I., Königová A., Cieslak A., Slusarczyk S., Pecio L., Kowalczyk M., Várady M. (2018), Effects of herbal nutraceuticals and/or zinc against *Haemonchus contortus* in lambs experimentally infected. *BMC Veterinary Research*, 14(1), 78. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1405-4>, IF 1.750 liczba punktów MNiSW - 40.
4. R. Steppa, A. Cieślak, M. Szumacher-Strabel, S. Bielińska-Nowak, M. Bryszak, M. Stanis, K. Szkudelska, (2017), Blood serum metabolic profile and fatty acid composition in sheep fed concentrates with *Camelina sativa* cake and distillers dried grains with solubles. *Small Ruminant Research*, 156, 20-26, <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2017.08.010>, IF 0.947, liczba punktów MNiSW - 30.
5. Szkudelska K., Szumacher-Strabel M., Szczechowiak J., Bryszak M., Pers-Kamczyc E., Stochmal A., Cieslak A. (2016), The effect of triterpenoid saponins from *Saponaria officinalis* on some blood hormones, metabolic parameters and fatty acid composition in dairy



cows, *Journal of Agricultural Science*, 154 (03), 532-541, DOI: 10.1017/S0021859615001070, IF = 1.157, liczba punktów MNiSW - 35.

6. Cieslak A., Zmora P., Matkowski A., Nawrot-Hadzik I., Pers-Kamczyc E., El-Sherbiny M., Bryszak M., Szumacher-Strabel M., (2016), Tannins from *Sanguisorba officinalis* affect in vitro rumen methane production and fermentation. *Journal of Animal and Plant Sciences* 26 (1): 54-62, IF = 0.448, liczba punktów MNiSW - 20.

7. Szczechowiak J., Szumacher-Strabel M., El-Sherbiny M., Bryszak M., Stochmal A., Cieślak A. (2016), Effect of dietary supplementation with *Saponaria officinalis* root on rumen and milk fatty acid proportion in dairy cattle. *Animal Science Papers and Reports*, 33 (3) 221-232, IF 0.725, liczba punktów MNiSW - 25.

8. 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*, 33(4), 357-372, IF 0.623, liczba punktów MNiSW – 25

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

**Marta Bykowska, IV 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.

#### **A. Analiza fizykochemiczna:**

- Pomiar pH szklano-kalomelową elektrodą (ERH-11X1, SCHOTT, Germany) podłączoną do przenośnego pH-metru (Handylab 2, SCHOTT);

- Pomiar barwy wykonany spektrofotometrem Minolta CR-200b. Analiza barwy obejmowała jasność ( $L^*$ ), index żółci ( $a^*$ ) i index czerwieni ( $b^*$ ), odcień (hue-angle,  $h^\circ$ ), nasycenie (chroma,  $C^*$ ).

- Zdolność utrzymania wody i frakcje wody: wyciek termiczny i naturalny (metoda Honikela (1998)), wyciek po przechowywaniu próżniowym, zawartość wody wolnej (%) (metoda Grau&Hamm'a (1953) w modyfikacji Pohja i Niinivaara (1957)), plastyczność ( $cm^2$ ) (metoda Grau&Hamm (1953)).

#### **B. Analiza chemiczna:**

- Zawartość białka ogólnego (metoda Kjeldahla), suchej masy (temp.  $105^\circ C$  przez 24 godz.) i tłuszczu (metoda Soxhleta).

Analizę statystyczną dotychczasowych pomiarów wykonano jest przy pomocy pakietu statystycznego SAS wersja 9.1 (SAS, 2012).

## **Wyniki:**

Kwasowość (pH) mięsa daniela. Mięsień supraspinatus zwierząt ubitych w rzeźni (pH24godz.=5,9–6,32; pH15dni=5,93) oraz ubitych na pastwisku metodą odstrzału (pH24godz.=5,68; pH8dni=5,71; pH15dni=5,73) charakteryzował się najwyższym pH spośród analizowanych mięśni zarówno tuż po uboju jak i po dojrzewaniu. Mięsień longissimus miał najniższe pH (pH24 godz.=5,51-5,69; pH8dni=5,54 i pH15dni=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 danieli ubitych metodą odstrzału charakteryzował się najmniejszym wyciekami naturalnymi (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 3,98cm<sup>2</sup>) 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 100%.

**Przewód doktorski :** otwarty 29.06.2019

## **1.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* 89(4) 713-721. (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)
9. Bykowska M., Ludwiczak A., Składanowska-Baryza J., Stanisław M. (2018) The effect of high ultimate pH on the quality of three muscles from farm-raised fallow deer (*Dama dama*). *Animal Production Science* 59(6), 1176-1182. (IF=1,371; MNiSW=35 pkt)
10. Składanowska-Baryza J., Ludwiczak A., Sikora Ł., Bykowska M., Stanisław M. (2018) Influence of transport on selected quality factors of rabbit meat. *Annals of Warsaw University of Life Sciences SGGW* 57(3), 289-297. (MNiSW=12 pkt)
11. Stanisław M., Ludwiczak A., Składanowska-Baryza J., Bykowska-Maciejewska M. (2019) The effect of age and ultimate pH value on selected quality traits of meat from wild boar. *Canadian Journal of Animal Science* 99(2), 336-342. (IF= 0,827; MNiSW= 30 pkt)
12. Ludwiczak A., Bykowska-Maciejewska M., Składanowska-Baryza J., Stanisław M. (2019) Influence of the method of storage on the quality of venison from wild fallow deer (*Dama dama*). *Meat Science* 156, 98-104. (IF=3,126; MNiSW=40 pkt)
13. Stanisław M., Skorupski M., Ślósarz P., Bykowska-Maciejewska M., Składanowska-Baryza J., Stańczak Ł., Krokowska-Paluszak M., Ludwiczak A. (2019) The seasonal variation in the quality of venison from wild fallow deer (*Dama dama*) – A pilot study. *Meat Science* 150, 56-64. (IF=3,126; MNiSW=40 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*. 98(3): 405-415. (IF= 0,827; MNiSW= 30 pkt)

# OCENA PRZYDATNOŚCI I WARTOŚCI POKARMOWEJ SUROWYCH ORAZ PRZETWORZONYCH NASION KRAJOWYCH ODMIAN SOI W ŻYWIENIU TRZODY CHLEWNEJ

**Zuzanna Wiśniewska, I rok SD**

Opiekun pracy: dr hab. Małgorzata Kasproicz-Potocka

Katedra Żywienia Zwierząt

Głównym produktem sojowym stosowanym w żywieniu zwierząt jest importowana z zachodu, wyprodukowana w większości z nasion modyfikowanych genetycznie, poekstrakcyjna śruta sojowa. W związku z polityką europejską sprzeciwiającą się wprowadzaniu GMO do obrotu handlowego w państwach członkowskich, od kilku lat trwają intensywne poszukiwania alternatywnych źródeł białka krajowego, w tym wśród nasion roślin bobowatych.

Soja *Glycine max* (L.) Merr. to roślina oleista z rodziny Fabaceae zajmująca jedno z czołowych miejsc w światowej uprawie roślin jadalnych. Ceniona jest głównie ze względu na skład chemiczny nasion tj. wysoką zawartość białka ogólnego (33-45%) oraz wysoką zawartość oleju (18-22%) o znacznej koncentracji nienasyconych kwasów tłuszczowych oraz innych znaczących substancji aktywnych. Soja jest rośliną ciepłolubną, jednakże dzięki pracom hodowlanym coraz częściej wprowadzana jest do uprawy w Polsce. Rokrocznie rejestrowane są nowe, wzbogacone odmiany. Monitoring nasion soi dostępnych na rynku pozwala na określenie zmienności między odmianami w składzie chemicznym oraz profilu mikologicznym.

Nasiona soi, mimo wielu zalet, zawierają jednakże negatywne z żywieniowego punktu widzenia czynniki antyżywniowe jak inhibitory tripsyny. Inaktywacja niepożądanych substancji jest możliwa podczas stosowania zabiegów termo-barycznych, np. ekstruzji, umożliwiając zwiększenie udziału komponentu w dietach dla zwierząt monogastrycznych, w tym trzody chlewnej.

## **Cele badawcze**

- analiza składu chemicznego krajowych odmian nasion soi

- ocena wartości pokarmowej surowych oraz przetworzonych nasion krajowych odmian soi w żywieniu wybranych grup technologicznych trzody chlewnej
- efekt wybranych poziomów substytucji PŚS ekstrudowanymi nasionami krajowych odmian soi w żywieniu wybranych grup technologicznych trzody chlewnej

### **Materialy i metody**

Badania monitoringowe zostaną przeprowadzone na nasionach krajowych odmian soi zebranych w latach 2015-2019. Zaplanowano podstawową analizę składu chemicznego: procentową zawartość białka surowego, tłuszczu surowego, popiołu surowego, węglowodanów, w tym procentową zawartość oligosacharydów z rodziny rafinozy, ADF, NDF. Rozszerzone analizy składu chemicznego będą dotyczyły zawartości substancji antyodżywczych, tj. poziomu inhibitorów trypsyny, fosforu fitynowego oraz mikotoksyn.

Badania wzrostowe dotyczące maksymalnego poziomu substytucji PŚS surowymi nasionami soi zostały przeprowadzone na 48 wieprzkach podzielonych na 6 grup żywieniowych (od 0 do 25% udziału surowych nasion soi). Podczas trwania doświadczenia monitorowano przyrosty całkowite zwierząt, spożycie oraz wykorzystanie paszy.

Badania strawnościowe zostały przeprowadzone metodą różnicowo-wskaźnikową (TiO<sub>2</sub>) na 32 wieprzkach podzielonych na 4 grupy żywieniowe. Diety eksperymentalne zawierały przetworzone nasiona soi, tj. makuch sojowy, oraz 2 warianty soi ekspandowanej. Zastosowano 100% substytucję PŚS. Podczas trwania eksperymentu analizowano pobranie paszy oraz dzienne przyrosty, a na ich podstawie obliczono współczynnik wykorzystania paszy. Pobrano kał w celu określenia pozornej strawności całkowitej suchej masy i białka. Post mortem pobrano treść jelita cienkiego oraz ślepego w celu wyznaczenia współczynnika pozornej strawności jelitowej białka i aminokwasów, parametrów fermentacji (amoniak, lepkość, pH) oraz określenia aktywności enzymatycznej. Dodatkowo pobrano fragmenty tkanek jelita cienkiego do badań histomorfologicznych.

### **Wyniki**

Badania monitoringowe ukazują zmienność w składzie chemicznym zarówno pomiędzy odmianami nasion jak i pomiędzy latami zbiorów.



Doświadczenie wzrostowe wskazało na 5% substytucję PŚS jako maksymalny poziom zastąpienia surowymi nasionami soi nie wpływający negatywnie na wyniki odchowu warchlaków.

Doświadczenie strawnościowe w toku.

### **Przewód doktorski:** nieotwarty

Źródło finansowania: Program Wieloletni pt; „Zwiększenie wykorzystania krajowego białka paszowego dla produkcji wysokiej jakości produktów zwierzęcych w warunkach zrównoważonego rozwoju”, obszar 4: „Zwiększenie wykorzystania krajowego białka paszowego dla drobiu i świń poprzez właściwe skarmianie i uzyskanie produktów zwierzęcych wysokiej jakości”.

### **Spis publikacji:**

Oryginalne prace twórcze:

- 1) A. Zaworska, M. Kasproicz-Potocka, Z. Wiśniewska, A. Rutkowski, A. Zmudzińska-Pietrzak, M. Banaszak. The effect of feeding pigs with raw non-gmo soybean seeds on the performance and quality of pork. (po pierwszej recenzji)
- 2) M. Kubiś, S. Kaczmarek, M. Hejdysz, R. Mikuła, M. Kasproicz-Potocka, A. Zaworska-Zakrzewska, E. Pruszyńska-Oszmałek, P. Kołodziejcki, M. Sassek, Z. Wiśniewska, A. Rutkowski. Microbial phytase improves performance and bone traits in broilers fed diets based on soybean meal and containing white lupin meal (w przygotowaniu do druku)

Artykuły popularno-naukowe:

- 1) Wiśniewska Z., Zaworska A., 2018, „Czym się różni soja krajowa od importowanej?”, Hodowca Drobiu 3/2018

2) Zaworska A., Kasproicz-Potocka M., Rutkowski A., Wiśniewska Z., 2018, „Rodzime białko vs soja z importu”, Top Agrar Polska, 5, s. 20-23

Doniesienia konferencyjne:

1) Wiśniewska Z., Zaworska-Zakrzewska A., Kasproicz-Potocka M., Ciołek K., Tan Qui Le, Fuqi Lai, Iwaniuk J., Rutkowski A., 2019, „The effect of processed soya seeds on performances and some physiological parameters of growing pigs”, XLVIII Sesja Naukowa Sekcji Żywienia Zwierząt KNZiA PAN, Poznań

2) Wiśniewska Z., Zaworska A., Kasproicz-Potocka M., Rutkowski A., Żmudzińska-Pietrzak A., Banaszak M., 2018, „The effect of feeding pigs with raw non-GMO soybean seeds on the performance and quality of pork”, 5th International Donau Soja Congress 2018, Schwabish hall

3) Wiśniewska Z., Kasproicz-Potocka M., Zaworska A., Kołata T., Rutkowski A., 2018, “Monitoring of variation of the chemical composition of domestic soybean seeds varieties over the 2015-2016 yeas”, 5th International Donau Soja Congress 2018, Schwabish hall

4) Wiśniewska Z., Zaworska A., Kasproicz-Potocka M., Rutkowski A., Żmudzińska-Pietrzak A., Banaszak M., 2018, „Wpływ stosowania krajowych nasion soi bez GMO na wyniki produkcyjne i jakość mięsa wieprzowego”, XLVII Sesja Naukowa Sekcji Żywienia Zwierząt KNZiA PAN, Kraków

# THE EFFECT OF DIETARY POLYPHENOLS ON METHANOGENESIS AND BIOHYDROGENATION IN RUMINANTS

**Yulianri Rizki Yanza, IIIrd year**

Supervisor: Prof. dr hab. Adam Cieślak, Department of Animal Nutrition

**Introduction:** Polyphenols have been noticed as a promising plant metabolic compounds which are classified as condensed polyphenols and hydrolysable polyphenols grouped as several fractions. Some of polyphenols fractions are considered having antibacterial and antimethanogenic potential that may modulate rumen methanogenesis and biohydrogenation. Based on the previous study, we presume that the polyphenols content in selective plants can affect rumen microbial population, consequently inhibit methane production, ruminal biohydrogenation as well as affect ruminant production.

**Hypothesis:** The working hypothesis states that the polyphenols affect the population of microbials responsible for hydrogen utilization (bacteria, protozoa, methanogens) and mitigate rumen methane production without negative impact on basic rumen parameters and ruminant production.

**Aim:** The aim of the study is to investigate the mode of action of plants polyphenols on rumen methanogenesis as well as basic rumen parameters and ruminant production.

**Material and methods:** The main study material is the rumen fluid for in vitro experiments and lambs for the in vivo study. The polyphenols from selective plant sources have been used at different doses supplemented as the main feed additive components. The Hohenheim gas test technique was arranged to study the effect of polyphenols in a short-term incubation and it will be continued with the long-term incubation system using rumen simulation technique (RUSITEC). pH, in vitro dry matter digestibility, volatile fatty acids (VFA), fatty acids (FA), ammonia concentration, total gas production, methane production, protozoa, bacteria as well as methanogens counts will be considered as parameters. Furthermore, the in vivo experiments will be arranged to determine the effects of polyphenols on rumen fermentation and ruminant production. Cannulated lambs will be used. Parameters such as feces, urine, rumen, and blood will be collected during the sampling days and the methane production will be measured using respiratory chambers. At the end of the experiment, the muscle samples will be collected to determine their quality including fatty acid profile. The collected samples

will be analysed for the rumen fermentation parameters, fatty acids profile (gas chromatography), pH (pH-meter), ammonia (Nessler method), dry matter digestibility (AOAC) and the volatile fatty acid profile (gas chromatography). The rumen microorganisms (protozoa, methanogens, total bacteria, and bacteria involved in ruminal BH process) will be also counted.

**PhD thesis opening:** November 30, 2018

The project was supported by funds from National Science Center, Poland grant 2016/23/B/NZ9/03427 and the grant 507.533.09 of the Young Researcher Program of the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science Poznan University of Life Sciences,

Poland financed by the Polish Ministry of Science and Higher Education for the in vitro Hohenheim gas test research. The RUSITEC and in vivo experiments is financed by the National Science Centre awarded on the basis of a decision of Preludium 16 research program (UMO-2018/31/N/NZ9/01589), Polish Ministry of Science and Higher Education, Poland.

#### **List of publications:**

1. Yanza, Y. R., Szumacher-Strabel, M., Bryszak, M., Gao, M., Kolodziejcki, P., Stochmal, A., Slusarczyk S., K Patra A., Cieslak, A. (2018), *Coleus amboinicus* (Lour.) leaves as a modulator of ruminal methanogenesis and biohydrogenation in vitro. *Journal of Animal Science*, 19(11), 4868-4881. DOI: 10.1093/jas/sky321, IF 1.711, liczba punktów MNiSW - 40.
2. Marrez, D.A., Cieślak, A., Gawad, R., Ebeid, H.M., Chrenková, M., Gao, M., Yanza, Y. R., El-Sherbiny, M., Szumacher-Strabel, M. 2017. Effect of freshwater microalgae *Nannochloropsis limnetica* on the rumen fermentation in vitro. *Journal of Animal and Feed Science*, 26(4):359-364, DOI: <https://doi.org/10.22358/jafs/81275/2017>, IF 1.711, liczba punktów MNiSW - 20.

# ANALIZY GENETYCZNE KONCENTRACJI METANU MIERZONEGO W POWIETRZU WYDYCHANYM PRZEZ KROWY MLECZNE

**Mateusz Sypniewski, I rok SD**

Opiekun naukowy: dr hab. Tomasz Strabel

Opiekun pomocniczy: dr inż. Marcin Pszczoła

## **Wstęp**

Hodowla zwierząt gospodarczych przyczynia się do pogłębiania problemu globalnego ocieplenia. Produkując ponad 80 milionów ton metanu rocznie, przeżuwacze są jednym z najważniejszych źródeł emisji metanu pochodzącego z działalności człowieka. Metan jest produkowany podczas procesów trawiennych, a około 90% jest uwalniane do atmosfery przez drogi oddechowe zwierzęcia. Emisja metanu przyczynia się nie negatywnie oddziałuje na środowisko, ale także obniża opłacalność produkcji. Oznacza to, że ograniczenie ilości metanu wytwarzanego przez przeżuwacze przyczyni się nie tylko do zmniejszenia negatywnego wpływu człowieka na środowisko, ale także poprawi ekonomikę produkcji zwierzęcej. Aktualne rozwiązania ograniczające emisję metanu opierają się na modyfikacjach diety lub usprawnieniu zarządzania hodowlą. Inną możliwością jest zmniejszenie emisji poprzez hodowlę krów o niższym potencjale genetycznym w zakresie poziomu wytwarzanego metanu. Ostatnie badania wykazały, że geny zwierząt kontrolują pomiędzy 20 - 30% zmienności w poziomie emisji metanu. Jak dotąd, jednakże, wiedza na temat podłoża genetycznego emisji metanu jest uboga. Nie wiadomo, na przykład, które geny są odpowiedzialne za ilość wytwarzanego gazu.

## **Hipoteza**

Hipoteza badawcza zakłada istnienie czynników genetycznych wpływających na poziom koncentracji metanu w powietrzu wydychanym przez bydło mleczne

## **Cel pracy**

Zbadanie zmienności koncentracji CH<sub>4</sub> wydychanego przez bydło mleczne oraz przeprowadzenie badań asocjacyjnych genomu w celu identyfikacji genów kandydujących,

które mogą być powiązane z koncentracją CH<sub>4</sub> w powietrzu wydychanym przez bydło mleczne.

### **Material i Metody**

Na materiał badawczy składa 495 krów rasy polskiej Holsztyńsko – fryzyjskiej pochodzących z dwóch obór. Pomiary koncentracji metanu w powietrzu wydychanym przez krowy zostały wykonane za pomocą urządzeń pomiarowych zainstalowanych w automatycznym robocie udojowym. Spośród 495 dostępnych zwierząt, 335 zostało poddanych procedurze genotypowania za pomocą chipu Illumina 50k SNP. Komponenty wariacji zostały oszacowane metodą REML z wykorzystaniem liniowego modelu mieszanego, natomiast wartości hodowlane osobników zostały oszacowane przy użyciu single step GBLUP

**Przewód doktorski:** nieotwarty

### **Doniesienia konferencyjne:**

Sypniewski M., Pszczola M., Strabel T., Cieślak A. and Schumacher-Strabel M., (2018), Validation of methane measurements in dairy cows obtained from two non-invasive infrared analysers, 69th Annual Meeting of the European Federation of Animal Science, Dubrovnik, Croatia, 27 - 31 Aug, Book of Abstracts: 453

Sypniewski M., Strabel T., Cieślak A., Szumacher-Strabel M., Pszczola M., (2017), Agreement between methane measurements in dairy cows obtained from two non-invasive infrared methods, METHAGENE Annual Meeting, Caserta, Italy, 11-13 October 2017,

Publikacja:

Sypniewski M., Pszczola M., Strabel T., Cieślak A. and Schumacher-Strabel M., (2019 - accepted), Technical note: Interchangeability and comparison of methane measurements in dairy cows with two noninvasive infrared systems (IF`2017= 2.749)

# ROLA ZWIĄZKÓW BIOLOGICZNIE AKTYWNYCH PAULOWNI CLON IN VITRO 112® W PROCESIE METANOGENEZY U PRZEŻUWACZY

**Paulina Szulc, II rok SD**

Opiekun: prof. dr hab. Adam Cieślak

UPP Katedra Żywienia Zwierząt

## **Wprowadzenie:**

Zmiana klimatu jest obecnie jednym z największych zagrożeń dla naszej planety. Nieodwracalne zmiany w środowisku mogą przyczynić się do poważnego kryzysu gospodarczego wpływając na takie sektory jak rolnictwo, rybołówstwo, leśnictwo. Jedną z przyczyn ocieplania się klimatu jest hodowla zwierząt. Aż 14,5% emisji gazów cieplarnianych pochodzenia antropogenicznego stanowi żywy inwentarz (Bekuma et al., 2019).

W skali globalnej istnieje pilna potrzeba ograniczenia emisji gazów cieplarnianych. W związku z tym, w ostatnich latach poszukiwane są metody efektywnego ograniczenia metanogenezy u przeżuwaczy (Stocker, 2013).

Wprowadzony w styczniu 2006 roku na terenie Unii Europejskiej zakaz stosowania dodatków chemicznych w żywieniu zwierząt stał się przyczyną intensyfikacji badań nad substancjami pochodzenia naturalnego, o właściwościach antymikrobiologicznych, które mogą zastąpić wycofane antybiotykowe stymulatory wzrostu.

Zakłada się, że zawarte w Paulowni Clon In Vitro 112® związki biologicznie aktywne, między innymi flawonoidy, mogą ograniczać liczebność pierwotniaków, bakterii i metanogenów w żwacu, a także modyfikować proces zachodzącej tam fermentacji. Związki te, mogą przyczynić się tym samym do ograniczenia produkcji metanu w żwacu, a w konsekwencji ograniczenia emisji tego gazu do środowiska naturalnego. Badania realizowane są w ramach projektu badawczego pt.: „Rola biologicznie aktywnych substancji Paulownia CLON IN VITRO 112 w regulacji procesu metanogenezy i biouwodorowania u zwierząt przeżuwających” finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.

Hipoteza badawcza zakłada, że biologicznie aktywne substancje, zawarte w liściach Paulowni CLON IN VITRO 112®, oddziałując na populacje mikroorganizmów żwacza, ograniczą intensywność procesu metanogenezy w ekosystemie żwacza oraz monokulturach pierwotniaków. Konsekwencją działań będzie poznanie mechanizmów modulujących kierunek wykorzystania wodoru w żwaczu (czynnik determinujący przebieg omawianego procesu), a także zwiększenie wykorzystania energii dawki pokarmowej oraz ograniczenie produkcji i emisji metanu.

Celem naukowym jest określenie roli i mechanizmu działania biologicznie aktywnych substancji (m.in. flawonoidów) pochodzących z Paulownia CLON IN VITRO 112® w regulacji procesów metanogenezy zachodzących w ekosystemie żwacza. Celem nadrzędnym jest ograniczenie intensywności procesu produkcji metanu. Powstający w żwaczu metan zmniejsza wykorzystanie energii dawki pokarmowej oraz stanowi źródło zanieczyszczeń środowiska naturalnego.

**Materiały i metody:** Wstępne badania podzielono na dwa etapy: badania in vitro - Batch Culture oraz in vivo - w komorach respiracyjnych.

Batch culture

W badaniach in vitro wyodrębniono 4 grupy eksperymentalne: (I) liofilizowana kiszonka z Paulowni CLON IN VITRO 112® (25% udział w suchej masie dawki pokarmowej), (II) liofilizowana kiszonka z Paulowni CLON IN VITRO 112® (50% udział w suchej masie dawki pokarmowej), (III) liofilizowana kiszonka z Paulowni CLON IN VITRO 112® (75% udział w suchej masie dawki pokarmowej), (IV) liofilizowana kiszonka z Paulowni CLON IN VITRO 112® (100% udział w suchej masie dawki pokarmowej) oraz grupę kontrolną (V) kiszonka z lucerny (100% udział w suchej masie dawki pokarmowej). Po 24 godzinnej inkubacji zmierzono produkcję metanu, kinetykę gazów, stężenie amoniaku, pH, a także określono strawność składników pokarmowych.

Wstępne wyniki: Badania sugerują, że uzupełnienie dawki dla jagniąt mięsnych kiszoną PAULOWNIA CLON IN VITRO 112® obniża produkcję metanu mierzoną w warunkach in vitro, a także zwiększa strawność suchej masy i stężenie amoniaku w płynie żwacza. Kiszonkę otrzymaną z Paulowni można uznać za komponent dawki pokarmowej, który



redukuje produkcję metanu. Wyniki uzyskane w tym doświadczeniu wykorzystano do ustalenia ilości zastosowanej Paulowni w badaniach na zwierzętach (jagnięta mięsne).

#### Badania in vivo

Badania in vivo przeprowadzono na sześciu jagniętach w wieku 2 miesięcy o masie ciała  $17 \text{ kg} \pm 1,5 \text{ kg}$ . Jagnięta z założonymi kaniulami dozwaczowymi podzielono losowo na dwie grupy: kontrolną i eksperymentalną.

Na podstawie uzyskanych wyników z doświadczenia in vitro do tego etapu badań zakwalifikowano dawkę pokarmową z najwyższym udziałem kiszonki PAULOWNI CLON IN VITRO 112®. Tym samym grupę kontrolną żywiono paszą treściwą CJ w ilości 520 g SM/dzień, sianem w ilości 176 g SM/dzień i kiszonką z lucerny w ilości 520 g SM/dzień, w dwóch równych porcjach, rano i wieczorem. W grupie doświadczalnej kiszonkę z lucerny zastąpiono całkowicie kiszonką z Paulowni CLON IN VITRO 112®. Jagnięta miały swobodny dostęp do wody pitnej.

Doświadczenie trwało przez 27 dni. W ostatnich 5 dniach trwania doświadczenia pobierano płyn żwacza przed karmieniem, 3 i 6 godzin po karmieniu. W trakcie doświadczenia przeanalizowano określona przy pomocy komór respiracyjnych produkcję metanu (Servomex 4000 Series, UK). Wszystkie uzyskane wyniki poddano weryfikacji statystycznej przy użyciu testu T-Studenta i jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA. Wyniki uznano za istotne statystycznie przy  $P < 0,05$ .

Wstępne wyniki: Badania wykazały znaczny wzrost wartości pH oraz obniżenie liczebności pierwotniaków i bakterii w żwaczu. Najniższą produkcję metanu zaobserwowano w grupie żywionej kiszonką z Paulowni (10,27 g CH<sub>4</sub>/dzień). Poziom produkcji metanu w tej grupie był o około 14% niższy, w porównaniu do jagnięt żywionych kiszonką z lucerny.

Podsumowując dotychczasowe wyniki badań można stwierdzić, że Paulownia CLON IN VITRO 112® wykazując potencjał antymikrobiologiczny w stosunku do mikroorganizmów żwacza ogranicza produkcję metanu w żwaczu, a tym samym jego emisję do środowiska naturalnego.

**Przewód doktorski:** nieotwarty

**Zaawansowanie pracy:** 30%

### **Spis publikacji:**

1. El-Sherbiny M., Cieślak A., Szczechowiak J., Kołodziejski 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., Jóźwik 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)

# UDZIAŁ KWASU ARACHIDONOWEGO W KSZTAŁTOWANIU JAKOŚCI OOCYTÓW ŚWINI DOMOWEJ

**Natalia Małyszka-Łukomska, IV 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% u świń). Na efektywność procedury IVF istotny wpływ ma potencjał rozwojowy (jakość) oocytu. Należy podkreślić, że procedura IVM oocytów świni domowej jest dobrze opracowana (>90% oocytów w stadium metafazy drugiej). Jednak czynnikiem istotnie ograniczającym efektywność IVF jest polispermia osiągająca 10-40% w zależności od dojrzałości płciowej dawczyni oocytu. Może to mieć związek z niedoskonałą procedurą przygotowywania plemników do IVF. Dlatego w badaniach często wykorzystuje się model zarodków partenogenetycznych, który pozwala na uzyskanie ok 30-40% blastocyst.

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, gdyż są prekursorami hormonów płciowych (np. prostaglandyn). 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 obserwowany u bydła spadek stężenia AA w oocytach przed czy po IVM? poddanych mrożeniu. Pomimo istotnego zaangażowania lipidów w procesy wzrostu i dojrzewania oocytów, stan wiedzy na temat ich metabolizmu w gametach świni jest ograniczony.

Motywacją podjęcia niniejszych badań jest chęć wyjaśnienia roli kwasów tłuszczowych (szczególnie kwasu arachidonowego) w kształtowaniu jakości oocytów świni domowej poddanych procedurze IVM poprzez analizę wybranych parametrów związanych z gospodarką lipidową. W celu wykazania znaczenia kwasu AA w procesie dojrzewania oocytów świni, w niniejszym projekcie zastosowane będą 2 inhibitory ścieżek metabolicznych tego kwasu: 1) PACOFC3, który uniemożliwia uwolnienie AA z warstwy fosfolipidów po przez zablokowanie aktywności enzymu fosfolipazy A2 oraz 2) indometacyna (niesteroidowy lek przeciwzapalny) blokująca przemianę AA w prostaglandyny.

### **Hipoteza**

I. 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.

II. Uzupełnianie pożywki IVM płynem pęcherzykowym o skrajnej zawartości kwasów tłuszczowych (niska i wysoka koncentracja FA) wpływa na potencjał rozwojowy (jakość) dojrzewających oocytów świni.

### **Cele badań**

I. 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.

II. Ocena wpływu ilości kwasów tłuszczowych w płynie pęcherzykowym (wysoka vs niska) na potencjał rozwojowy oocytów świni dojrzewających *in vitro*.

### **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 7 grup COC: 1) przed IVM, 2) po IVM w warunkach standardowych (kontrola), 3) po IVM w obecności inhibitora fosfolipazy A2,4) po

IVM w przy zahamowanej aktywności cyklooksigenazy, 5) po IVM w pożywce uzupełnionej egzogennym kwasem arachidonowym, 6) po IVM w pożywce uzupełnionej FF o niskiej koncentracji FA, 7) po IVM w obecności . 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 fluorescencyjne (liczba i powierzchnia kropli lipidowych, średnica w FC oraz oocytach przed oraz po IVM i stadium mejozy oocytu w oocytach po IVM).

## **Wyniki**

### **Cel I**

Z puli 74 prób płynu pęcherzykowego wyselekcjonowano 13 charakteryzujących się średnią zawartością monitorowanych parametrów (FA i hormony). Po połączeniu tych prób otrzymano 10ml tzw standaryzowanego FF wykorzystywanego w doświadczeniu z inhibitorami ścieżek metabolicznych kwasu AA.

### **Cel II**

Z pozostałych 61 prób FF wybrano 14, które podzielono na 2 kategorie w zależności od zawartości FA: 1) H - wysokiej (5 prób) oraz 2) L - niskiej (9 prób).

Wpływ procesu IVM - stwierdzono istotne zmiany parametrów charakteryzujących krople lipidowe (LD) w oocytach i CC po dojrzewaniu in vitro. Zmiany poziomu fluorescencji LD (odpowiada ilości neutralnych trójglicerydów) przebiegały inaczej w oocytach i CC: istotnie wzrósł w CC, lecz obniżył się w oocytach ( $P < 0,01$ ). Natomiast zarówno liczba LD jak i ich objętość wzrosła jedynie w CC ( $P < 0,01$ ). W oocytach nie stwierdzono zmian w liczbie LD oraz ich objętości.

Wpływ zróżnicowanej zawartości FA w FF – stwierdzono znacznie większe zmiany badanych parametrów w obrębie komórek pęcherzykowych (CC) niż w oocytach. Dodatek płynu z wysoką zawartością FA (H) wiązał się z wzrostem fluorescencji LD w oocytach ( $P < 0,01$ ) i CC oraz jednoczesnym spadkiem objętości kropli w CC w porównaniu z grupą L. W oocytach nie wykazano wpływu FF o skrajnej koncentracji FA na objętość LD, ich liczbę oraz %

powierzchni zajmowanej przez LD. Stwierdzono natomiast zmniejszenie się średnicy wewnętrznej i zewnętrznej oocytów z grupy H w porównaniu do grupy L.

## **Podsumowanie**

Podczas dojrzewania oocytów *in vitro* zachodzą dynamiczne zmiany w transporcie i metabolizmie lipidów wyrażone parametrami kropli lipidowych (liczba, powierzchnia oraz ilość zgromadzonych lipidów). Wyraźne zmiany parametrów LD w komórkach pęcherzykowych po IVM sugerują, że nadmiar lipidów jest magazynowany w CC. Biorąc pod uwagę opisaną funkcję ochronną CC była w ograniczaniu toksycznego wpływu nadmiaru lipidów w oocyte (lipotoksyczność) sugeruje się, że podobne zjawisko może występować w COC świni domowej.

**Przewód doktorski:** otwarty 06.2018

## **Spis publikacji**

1. Pawlak P., Chabowska A., Malyszka N., Lechniak D. (2016) Mitochondria and mitochondrial DNA in porcine oocytes and cumulus cells - A search for developmental competence marker. *Mitochondrion* 27:48-55 (IF2014=3.249 MNiSW=30).
2. Pawlak P., Warzych E., Cieslak A., Malyszka N., Maciejewska E., Madeja Z., Lechniak D. (2018) The consequences of porcine IVM medium supplementation with follicular fluid become reflected in embryo quality, yield and gene expression patterns. *Scientific Reports* 8:15306 (IF2017= 4.609 MNiSW=40)
3. Pokrzywnicka A., Sniadek P., Malyszka N., Lizanets D., Kubicki W., Pawlak P., Walczak R. (2019) MEMS cytometer for porcine oocyte deformation measurement. *Journal of Micromechanics and Microengineering* 13:1-4. (IF2017=1,88 MNiSW=35)

# POLIMORFIZM I EKSPRESJA WYBRANYCH GENÓW KANDYDUJĄCYCH PSÓW Z ZABURZENIAMI ROZWOJU PŁCI

**Paulina Krzemińska, II rok SD**

Promotor: prof. dr hab. Marek Świtoński

Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt

## **Wstęp**

Zaburzenia rozwoju płci (disorder of sex development, DSD) obejmują nieprawidłowy rozwój gonad (obecność np. jajnikojąder), wewnętrznych (macica, jajowody, nasieniowody) oraz zewnętrznych narządów płciowych (niedorozwój prącia, powiększona łechtaczka, wnętrostwo, spodziectwo). Podłoże wymienionych zaburzeń może mieć charakter monogenowy, jak również złożony, wynikający z oddziaływania czynników środowiskowych i genetycznych (np. wnętrostwo, spodziectwo). U ludzi i gatunków modelowych (mysz, szczur) opisano wiele mutacji sprawczych dla zaburzeń monogenowych zarówno w częściach kodujących, jak i regulatorowych genów kluczowych dla prawidłowego rozwoju płci (SRY, SOX9, NR5A1, MAP3K1, WNT4, SOX3, DHH, FOG2 itd.). W przypadku wnętrostwa i spodziectwa także wskazano szereg genów kandydujących, których polimorfizm lub poziom ekspresji (transkryptu i/lub białka) związane są z predyspozycją do wystąpienia tego typu zaburzeń (wnętrostwo: INSL3, GREAT, ESR1, NR5A1, HOXA10, AR; spodziectwo: SRD5A2, MAMLD1) [Gurney i wsp., 2017; Fukami i wsp., 2006; Maimoun i wsp., 2011].

Najczęściej występującą anomalią rozwoju płci psów (w różnych rasach - 1-11%) jest wnętrostwo objawiające się nieprawidłową (brzuszną lub pachwinową) lokalizacją jąder [Amann i Veeramachaneni, 2007]. Współczynnik odziedziczalności dla wnętrostwa, oszacowany dla populacji bokserów, wynosi ok. 0,24 [Nielen i wsp., 2001]. Jak dotąd nie opisano mutacji sprawczej lub polimorfizmu związanego ze zwiększonym ryzykiem wystąpienia niesyndromicznego wnętrostwa u psów.

Spodziectwo, diagnozowane w przypadku nieprawidłowej lokalizacji ujścia cewki moczowej, jest wadą układu moczowo-płciowego. Początkowo sugerowano, że u psów spodziectwo występuje bardzo rzadko. Ostatnie badania wykazały jednak, że zaburzenie to jest częstsze, a populacja owczarków niemieckich wydaje się być rasą ze zwiększonym ryzykiem

występowania tej wady [Świtoński et al., 2018]. Jak dotąd nie opisano ani mutacji sprawczej, ani polimorfizmów związanych z ryzykiem wystąpienia spodziectwa u psów.

### **Hipoteza badawcza**

Badania patogenezy zaburzeń rozwoju płci ludzi i innych ssaków wskazują, że czynniki genetyczne i/lub epigenetyczne (np. metylacja DNA) odgrywają istotną rolę w nieprawidłowym rozwoju układu rozrodczego, również w przypadku wad o złożonym podłożu (wnętrostwo i spodziectwo).

### **Cel pracy:**

Analiza molekularna wytypowanych genów kandydujących dla zaburzeń rozwoju płci (DSD) psów z prawidłowym genem SRY:

- poszukiwanie mutacji sprawczych lub polimorfizmów (SNP, indel, CNV) związanych z rozwojem DSD,
- porównawcza ocena poziomu ekspresji w jądrach niezstąpionych i zstąpionych (dotyczy wnętrstwa),
- analiza metylacji wysp CpG w regionach promotorowych genów kandydujących dla badanych fenotypów DSD.

### **Material i metody:**

Material do badań stanowią:

- próbki krwi psów z zaburzeniami rozwoju płci oraz zdrowych psów kontrolnych – w przypadku wad monogenowych,
- próbki krwi i gonady niezstąpione oraz kontrolne (zstąpione) pobierane podczas rutynowych zabiegów kastracji wykonywanych przez lekarzy weterynarii – w przypadku wnętrstwa.



Wykorzystane będą następujących metody badawcze: sekwencjonowanie DNA metodą Sangera, PCR w czasie rzeczywistym, western blot, analiza poziomu metylacji, digital droplet PCR (ddPCR) oraz analiza bioinformatyczna analizowanych genów .

### **Wstępne wyniki:**

Sekwencjonowanie części kodującej genów wskazywanych jako kandydujące m.in. dla spodziewa (MAMLD1, SRD5A2 i AR) przeprowadzono dla 7 psów z prawidłowym genem SRY, u których opisano niedorozwój prącia oraz spodziewa i/lub wnętrostwo oraz grupy kontrolnej składającej się z 11 zdrowych samców. W genie MAMLD1 zidentyfikowano 4 polimorfizmy SNP, wśród których tylko jeden skutkował zmianą sekwencji aminokwasowej. W sekwencji genu SRD5A2 zidentyfikowano obecność 5 polimorfizmów - tylko jeden zlokalizowany w eksonie 2 zmieniał sekwencję aminokwasową. Analiza molekularna eksonu 1 genu AR wykazała z kolei obecność opisanego wcześniej polimorfizmu STR (powtórzenie motywu CAG). W tym przypadku również nie zaobserwowano związku pomiędzy zidentyfikowanymi polimorfizmami, a zaburzeniami rozwoju płci. Badania zostały przeprowadzone we współpracy z naukowcami Uniwersytetu Neapolitańskiego im. Fryderyka II w Neapolu i ich efektem jest opublikowana praca w czasopiśmie Sexual Development, która wejdzie w skład cyklu prac stanowiących dysertację doktorską.

Odrębnym wątkiem badawczym było poszukiwanie mutacji sprawczej u 5 psów, z męskim zestawem chromosomów płci XY i prawidłowym genem SRY, u których stwierdzono nieprawidłowości w układzie rozrodczym (szczątkowe prącie, obecność powiększonej lechtaczki z kością, czy obecność sromu). Uwzględniono również grupę kontrolną składającą się z 15 zdrowych samców. W analizie uwzględniono geny zaangażowane w syntezę testosteronu (CYP17A1, HSD3B2, HSD17B3, SRD5A2) oraz AR (receptor dla androgenów) i NR5A1 (czynnik transkrypcyjny zaangażowany w regulację ekspresji m.in. genów CYP17A1 i HSD3B2. Łącznie zidentyfikowano 28 polimorfizmów (głównie typu SNP, 2 indele i dwa STR w eksonie 1 genu AR). U jednego psa XY DSD wykryto obecność mutacji w genie HSD17B3, który odpowiedzialny jest za syntezę enzymu przekształcającego androstendion do testosteronu. Wspomniana mutacja wystąpiła w eksonie 2, a jej skutkiem jest powstawanie skróconego peptydu, pozbawionego domeny odpowiedzialnej za aktywność enzymatyczną.

Analiza molekularna sekwencji kodującej dwóch genów kandydujących dla wnętrza, INSL3 i ESR1, obejmująca materiał pochodzący od 33 wnetrów 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.

Kolejny etap badań obejmował wstępną analizę poziomu ekspresji dwóch genów kandydujących dla wnętrza - ESR1 i LHR, które kodują receptory dla hormonów płciowych, odgrywających istotną rolę podczas rozwoju płci. Podczas analizy wykorzystano zamrożony (-80oC) materiał (jądra) pochodzący zarówno od wnetrów (pachwinowych lub brzusznych, w tym prawo- lub lewostronnych) oraz zdrowych psów, z którego wyizolowano RNA oraz białka. Wykorzystano technikę real-time PCR w celu określenia poziomu transkryptu ESR1 i LHR względem dwóch genów referencyjnych (ACTB i GAPDH) w gonadach: mosznowych psów kontrolnych, niezstąpionych oraz mosznowych wnetrów.

Porównawcza analiza poziomu transkryptu wykazała niski poziom ekspresji obu badanych genów (względem genów referencyjnych). Dla genu ESR1 średni względny poziom transkryptu w jądrach niezstąpionych był niższy (0,0038) w porównaniu z ekspresją w jądrach kontrolnych (0,0123), jednak różnica ta nie była istotna statystycznie. W przypadku genu LHR zaobserwowano zbliżony poziom transkryptu w jądrach niezstąpionych (0,009) i zstąpionych (0,0086).

Aktualnie prowadzone są badania poziomu ekspresji genów „ścieżki testosteronowej” w jądrach zstąpionych i niezstąpionych.

**Wszczęcie przewodu doktorskiego:** listopad 2018

#### **Oryginalne prace twórcze wchodzące w skład pracy doktorskiej:**

- Krzeminska P.\*, D’Anza E.\*, Ciotola F., Paciello O., Restucci B, Peretti V., Albarella S., Switonski M. (2019 - przyjęta do druku). Polymorphism of MAMLD1, SRD5A2 and AR candidate genes in seven dogs (78,XY; SRY-positive) affected by hypospadias or

cryptorchidism. *Sexual Development*. (\*contributed equally). (5-letni IF=2,069; pkt MNiSW=15)

#### 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). 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). Disorders of sex development in cats with different complements of sex chromosomes. *Reproduction in Domestic Animals*, 53: 1317-1322 (5-letni IF= 1,502; pkt. MNiSW=25).
- Grzemski A., Stachowiak M., Flisikowski K., Mankowska M., Krzeminska P., Gogulski M., Aleksiewicz R., Szydlowski M., Switonski M., Nowacka-Woszuk J. (2019) 53: 1317-1322. FTO and IRX3 genes are not promising markers for obesity in Labrador retriever dogs. *Annals of Animal Science*. (5-letni IF= 0,959; pkt MNiSW=15).

#### 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, materiały konferencyjne str. 114.

- Świtoński M., Szczerbal I., Nowacka-Woszek 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-Woszek J., Szczerbal I., Krzemińska P., Świtoński M. (2017), Spodziewano 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. (2018), Polymorphisms of INSL3 and ESR1 are not associated with cryptorchidism in dogs, 23rd International Colloquium on Animal Cytogenetics and Genomics, Saint-Petersburg, Russia, 9-12. 06. 2018, materiały konferencyjne str. 57.
- Krzemińska P., Gogulski M., Nowak T., Maślak A., Sochoń K., Świtoński M. (2018). Distribution of INSL3 and ESR1 polymorphisms in cryptorchid and normal male dogs – a pilot study, Animal Genetics and Genomics, Olsztyn 2-4 lipca 2018, materiały konferencyjne str. 36.
- Krzemińska P., Stachowiak M., Nowak T., Maślak A. Świtoński M. (2018), Podłoże genetyczne wnętrza psów - wstępna analiza ekspresji genu receptora estrogenowego (ESR1) i receptora hormonu luteinizującego (LHR) w jądrach zstapionych i niezstapionych, XIV Kongres Problemy w Rozrodzie Małych Zwierząt, Wrocław 13-14 października 2018, materiały konferencyjne str. 111.

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

**mgr inż. Mateusz Kęsy, II rok SD**

promotor: dr hab. Monika Fliszkiewicz

Instytut Zoologii

**Prezentacja odbyła się 29.01.2019 r.**

W związku z dużym zapotrzebowaniem na materiał siewny drzew liściastych w Lasach Państwowych, istotnym jest próba znalezienia sposobu na zwiększenie ich plonowania. Celem prowadzonych badań jest określenie przydatności murarki ogrodowej (*Osmia rufa* L.) w zapylaniu upraw nasiennych wybranych gatunków drzew liściastych. Ponadto ocena możliwości rozmnażania murarki ogrodowej na terenie upraw nasiennych. Dotychczas pszczoła ta 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 są prowadzone na wybranych powierzchniach leśnych należących do nadleśnictw w Pniewach, Łopuchówku, Jastrowiu, Złocieńcu, Świerczynie oraz Tucznie. Miejscem badań są plantacje nasienne drzew liściastych (lipy drobnolistnej, dębu bezszypułkowego oraz czereśni ptasiej). W 2018 roku wytypowano drzewa doświadczalne, przy których umieszczone zostały sztuczne agregacje pszczół samotnic (oprędy z owadami oraz gniazda z trzciny pospolitej do zasiedleń) oraz zbliżone w wielkości i pokroju drzewa kontrolne, przy których nie była umieszczana murarka. Wystawienie owadów było zsynchronizowane z terminem zakwitania danego gatunku drzew. Zarówno na drzewach zapylanych dodatkowo przez murarkę, jak i bez niej, zostały wytypowane gałęzie ze zbliżoną liczbą kwiatów, na których zostały nałożone izolatory z siatki. Określono w ten sposób stopień samozapylenia drzew. W czasie kwitnienia drzew i zasiedlania gniazd przez pszczoły samotnice, zostały pobrane losowo rurki trzciny z gniazd, w celu analizy pyłkowej komór lęgowych. Umożliwi to określenie stopnia wykorzystania pyłku badanych drzew przez murarkę. Z wytypowanych drzew doświadczalnych oraz kontrolnych zebrano nasiona 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)

przeprowadzono kontrolę zasiedlonych gniazd (liczba zasiedlonych rurek, liczba zbudowanych komór lęgowych, liczba spasożytowanych komór oraz liczba w pełni wykształconych oprzędów).

Z przeprowadzonych badań na terenie leśnych plantacji nasiennych wynika, iż przy wykorzystaniu murarki ogrodowej do zapylania lipy drobnolistnej można uzyskać zdecydowanie większą liczbę nasion z drzew doświadczalnych aniżeli kontrolnych. W przypadku niemalże 67% par drzew nasiona miały wyższą masę, a ich większą zdolność kiełkowania wykazano w 75%.

Przy uprawie dębu bezszypułkowego większą liczbę żołędzi odnotowano aż w 9 na 10 (83%) grup doświadczalnych.

Dotychczasowe wyniki dotyczące uprawy czereśni ptasiej wydają się być również bardzo obiecujące, gdyż z drzewa, przy którym usytuowana była murarka ogrodowa zebrano niemalże 10 krotnie więcej czereśni aniżeli z drzewa kontrolnego.

Doświadczenie zostanie powtórzone w kolejnym sezonie badawczym (2019).

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

**Patrycja K. Kwiatkowska, III rok SD**

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

## **WSTĘP**

*Crenosoma striatum* to jajożyworodny nicienie należący do rzędu Strongylida, o złożonym cyklu życiowym. Jego żywicielem pośrednim są ślimaki lądowe, a żywicielem ostatecznym jeże z rodzaju *Erinaceus*. Stadia dojrzałe pasożyta można znaleźć w płucach, gdzie przyżyciowo przyczyniają się do powstawania stanu zapalnego oraz zakażeń wtórnych. Ich obecność związana jest ze znacznym wzrostem śmiertelności, zwłaszcza u osobników młodych przygotowujących się do pierwszej hibernacji. Istotną cechą larw z rodzaju *Crenosoma*, z punktu widzenia badań i epidemiologii, jest ich 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.

Jak pokazują badania, oba gatunki wyodrębniły się na skutek procesów specjacji wywołanych izolacją i rekolonizacją w okresach zlodowaceń i pomiędzy nimi. Obecnie oba badane gatunki jeży występują sympatrycznie w Europie środkowej. Na dzień dzisiejszy znane są tylko pojedyncze przypadki ich hybrydyzacji. Uważa się, że na tych obszarach różnice międzygatunkowe zaznaczają się bardziej – zarówno te fenotypowe, jak i te w ich ekologii. Badania wskazują na to, że zantropogenizowane środowisko bardzo im sprzyja, w związku z czym licznie występują na terenach zabudowanych.

## **HIPOTEZY**

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

H2. Pasożyty obu badanych gatunków jeży posiadają zróżnicowane haplotypy *Crenosoma striatum*.

## **CELE**

1. Zbadanie prewalencji występowania *Crenosoma striatum* u obu gatunków jeży, występujących na różnych szerokościach geograficznych.

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 ich parazytofauny.

2. Zbadanie różnorodności genetycznej pasożytów u obu gatunków jeży – czy mamy do czynienia tylko z jednym haplotypem *C. striatum*.

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

## **MATERIAŁY I METODY**

Materiałem do badań są larwy pozyskane z płuc zwierząt pochodzących z wypadków komunikacyjnych i ośrodków rehabilitacyjnych oraz larwy pozyskane z kału zwierząt żywych. W celu pozyskania larw z materiału, wykonywane jest badanie larwoskopijne zmodyfikowaną metodą Baermanna. Z larw izolowany jest materiał DNA, który po poddaniu reakcji PCR z użyciem kilku par starterów (markery 18s, 28s i COX), jest poddawany elektroforezie. Zamplikowane fragmenty DNA o żądanej długości są oczyszczane i przesyłane do sekwencjonowania. Uzyskane sekwencje zostaną poddane analizie z użyciem oprogramowania komputerowego, a następnie zestawione w celu porównania z dostępnymi sekwencjami zamieszczonymi w GenBanku, a także utworzeniu drzewa filogenetycznego.

## **WSTĘPNE WYNIKI**

Sekwencje uzyskane z larw pochodzących od kilkadziesiątu osobników z terenu Czech, kilkunastu osobników zebranych w Polsce centralno-zachodniej, kilku osobników z Włoch i Rumunii, nie wykazały różnic w sekwencji markera 18s. Wyniki sekwencjonowania pozostałych markerów są w trakcie opracowywania. W trakcie pozyskiwania jest materiał pochodzący z innych terenów, gdzie oba gatunki nie występują sympatrycznie, z populacji zlokalizowanych w pobliżu znanych refugium lodowcowych i populacji izolowanych.



## STOPIEŃ ZAAWANSOWANIA

25%

## SPIS LITERATURY

- Bolfíková, B., & Hulva, P. (2012). Microevolution of sympatry: landscape genetics of hedgehogs *Erinaceus europaeus* and *E. roumanicus* in Central Europe. *Heredity*, 108(3), 248-255.
- Bolfíková, B. Č., Eliášová, K., Loudová, M., Kryštufek, B., Lymberakis, P., Sándor, A. D., & Hulva, P. (2017). Glacial allopatry vs. postglacial parapatry and peripatry: the case of hedgehogs. *PeerJ*, 5, e3163.
- Bryja, J., Ribas, A., Baird, S. J., Piálek, J., & Göuy 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., Bolfíková, 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.
- Seddon, J.M., Santucci, F., Reeve, N.J. & Hewitt, G.M. (2001). DNA footprints of European hedgehogs, *Erinaceus europaeus* and *E. concolor*: Pleistocene refugia, postglacial expansion and colonization routes. *Molecular Ecology*, 10, 2187–2198.

**Przewód doktorski:** nieotwarty.

Badania finansowane częściowo z grantu NCN nr 2016/22/Z/NZ8/00004.

# ZMIENNOŚĆ GENETYCZNA OTYŁOŚCI PSA DOMOWEGO (CANIS FAMILIARIS)

**Michał Antkowiak, I rok SD**

Opiekun naukowy: prof. dr hab. Maciej Szydlowski

Katedra Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt

Otyłość u psa domowego jest ważnym zagadnieniem zdrowotnym, powiązaniem ze schorzeniami takimi jak cukrzyca, zwyrodnienie stawów czy lipidoza wątrobowa, zwłaszcza u ras z potwierdzoną tendencją do otyłości takich jak labrador retriever. Pies domowy jest ważnym gatunkiem modelowym ze względu na dzielenie środowiska z człowiekiem oraz możliwość badania osobników dożywających starości. Jednym z genetycznych czynników badanych pod kątem powiązania z otyłością jest zmienność liczby kopii (ang. Copy-number Variation).

U człowieka wykryto ujemną korelację pomiędzy liczbą kopii genu amylazy ślinowej (AMY1)

a masą ciała. U psa domowego potwierdzono wysoką polimorficzność liczby kopii paraloga AMY1, genu AMY2B, odpowiedzialnego za kodowanie amylazy trzustkowej. Duże zmienności występują zarówno pomiędzy rasami jak i międzyosobniczo w obrębie ras, przy czym u ras pierwotnych występuje statystycznie mniejsza liczba kopii niż u ras współczesnych.

Polimorfizm liczby kopii genu AMY2B jest efektem domestykacji psa i pojawienia się w jego diecie skrobi, co może sugerować powiązanie zmienności liczby kopii genu AMY2B z otyłością, choć badania nie wykazały korelacji pomiędzy ilością kopii omawianego genu a występowaniem u psów cukrzycy.

Ostatnio przeprowadzone badania wykazały również polimorfizm liczby kopii omawianego genu w innych taksonach takich jak naczelnie, gryzonie czy parzystokopytne. Wyniki tych badań sugerują iż zmienność liczby kopii omawianego genu wyewoluowała niezależnie u różnych organizmów, a więc jest to przykład konwergencji.

Hipoteza: W populacji psa domowego istnieje zmienność genetyczna związana z nadwagą oraz otyłością.

Cel pracy: Analiza zmienności genetycznej w powiązaniu z otyłością przy wykorzystaniu technik molekularnych i statystycznych.

Plan pracy:

- a) Opis związku między zimbredowaniem molekularnym a otyłością
- b) Opis śladów selekcji i ich związku z genami gospodarki lipidowej
- c) Zbadanie możliwości oceny ryzyka otyłości na podstawie genotypowania

**Przewód doktorski:** nieotwarty

Źródło finansowania: 16/2017/OPUS, Identyfikacja markerów otyłości psów przy pomocy sekwencjonowania całogenomowego

**Publikacje przyjęte do druku:**

Antkowiak M., Szczerbal I., Nowacka-Woszek J., Świtoński M., Szydłowski M., No association between AMY2B gene copy number and obesity risk in Labrador retriever dogs. *Animal Genetics* (MNiSW = 40 pkt)