
Uwarunkowania utrzymania **DOBROSTANU** zwierząt w Polsce

pod redakcją
Wojciecha Truskowskiego



Uwarunkowania utrzymania dobrostanu zwierząt w Polsce

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Uwarunkowania utrzymania dobrostanu zwierząt w Polsce

pod red. Wojciecha Truskowskiego

Olsztyn 2019

Uwarunkowania utrzymania dobrostanu zwierząt w Polsce

Monografia naukowa pod redakcją
dr Wojciecha Truszkowskiego

Recenzenci:

dr hab. inż. Marzena Mogielnicka-Brzozowska

dr hab. Zenon Pidsudko, prof. UWM

Korekta

Irmina Sitkowska

Nakład: 30 egz.

12 ark. wyd.

ISBN 978-83-943385-6-5

© Katedra Agrotechnologii, Zarządzania Produkcją Rolniczą i Agrobiznesu,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Druk: Zakład Poligraficzny Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie

Olsztyn 2019

Monografia zawiera teksty artykułów nadesłane przez uczestników 48 MSKN „Międzynarodowe Seminarium Kół Naukowych. Kół naukowe szkołą twórczego działania” i to autorzy ponoszą odpowiedzialność za przedstawione treści.

SPIS TREŚCI

WPROWADZENIE	7
ROZDZIAŁ I DETERMINANTY EFEKTYWNEJ HODOWLI RYB	
KLAUDIA LENHARDT Ocena skuteczności czyszczenia linii technologicznej do produkcji pasz z pozostałości białka modyfikowanej genetycznie soi i kukurydzy	11
OLGA FILIPKOWSKA Ocena parametrów stresu oksydacyjnego w wątrobotrzustce w powiązaniu z żywieniem karpia	20
RADOSŁAW MAREK ŁOBKO Ocena wpływu żywienia karpia na stan odpowiedzi immunologicznej w wątrobotrzustce	29
DAGMARA OBREMSKA Wpływ żywienia karpia na parametry stresu oksydacyjnego w jelicie	36
MARTA GWIZDON Wpływ żywienia karpia na kształtowanie się parametrów immunologicznych jelita	44
ADRIANNA MYSZKOWSKA Ocena parametrów stresu oksydacyjnego w śledzionie w powiązaniu z żywieniem karpia	54
BERNARD KORDAS, MACIEJ BARTOSZ ZAGANIACZ Wpływ różnych stężeń chlorku sodu na przeżywalność <i>in vitro</i> wybranych szczepów <i>Yersinia ruckeri</i> izolowanych od pstrąga tęczowego	62
MACIEJ BARTOSZ ZAGANIACZ, BERNARD KORDAS Praktyczne i ekonomiczne aspekty szczepień ryb w wybranych gospodarstwach hodowlanych północnej Polski w świetle dostępnych danych	71
ROZDZIAŁ II ROZWIĄZYWANIE PROBLEMÓW W ŻYWIENIU DROBIU	
ZUZANNA ROBACZEWSKA Ocena występowania pierwotniaków z rodzaju <i>Eimeria sp.</i> u brojlerów kurzych w cyklu produkcyjnym	83
KORNELIA NOWICKA Ocena stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego w tchawicy kur niosek po zastosowaniu biopreparatu dezodorującego	94
MONIKA KRYSZYNA PAJDOWSKA Ocena parametrów histologicznych tchawicy u kur niosek hodowanych w środowisku z dodatkiem preparatu dezodorującego	103
ROZDZIAŁ III POPRAWA EFEKTYWNOŚCI ODCHOWU TRZODY	
ARKADIUSZ MAREK HUZAREK, NICOLETTA MAGDALENA NEUMAN Wyniki tuczu tuczników żywionych mieszanką pełnoporcjową z udziałem fermentowanej poekstrakcyjnej śruty rzepakowej	115

RADOSŁAW BONIECKI	
Ocena efektywności żywienia tuczników mieszankami z udziałem surowych lub ekstrudowanych nasion łubinu wąskolistnego	124
ARKADIUSZ MAREK HUZAREK, NICOLETTA MAGDALENA NEUMAN	
Wyniki odchowu warchlaków żywionych mieszanką pełnoporcjową z udziałem fermentowanej poekstrakcyjnej śruty sojowej.....	136
PATRYCJA MARIA KAMIŃSKA	
Wyniki odchowu prosiąt ssących i odsadzonych żywionych prestarterami o zróżnicowanym poziomie białka ogólnego	145
ROZDZIAŁ IV WARUNKI ŻYWIENIA I UTRZYMANIA BYDŁA	
OLGA MIERZEJEWSKA, PRZEMYSŁAW ŻUKOWSKI	
Wartość pokarmowa kiszzonek z różnych odmian <i>Festulolium</i>	155
MARZHAN A. TAIZHANOVA, BARTOSZ MICIŃSKI	
Poziom żywienia i wzrostu buhajów wybranych ras mięsnych utrzymywanych w południowo-wschodnim Kazachstanie	163
GULZHAN K. MUSSAYEVA, BARTOSZ MICIŃSKI	
Długość użytkowania i produktywność krów czarno-białych oraz holsztyńsko-fryzyjskich hodowanych na północy Kazachstanu	173
ROZDZIAŁ V DOSKONALENIE METOD DIAGNOSTYKI I TERAPII KONI	
ANNA KUZBORSKA	
Analiza zależności pomiędzy stopniem ruchliwości a poziomem ekspresji białek plemników ogiera po rozmrożeniu	183
JANINA SIECZKA, WERONIKA SZUSTKIEWICZ, MAŁGORZATA JURCZAK	
Wykorzystanie kamery termowizyjnej w diagnostyce chorób koni	192
WERONIKA SZUSTKIEWICZ, MAŁGORZATA JURCZAK, JANINA SIECZKA	
Derka magnetyczna jako nowoczesna forma terapii koni	202
MAŁGORZATA JURCZAK, WERONIKA SZUSTKIEWICZ, JANINA SIECZKA	
Wpływ ruchomości stawu ramiennego na obszerność ruchu u koni	211
ROZDZIAŁ VI HODOWLA I TERAPIA PSÓW	
KAROLINA KAPTURSKA	
Analiza efektów ubocznych terapii przeciwnowotworowej u psów ze szczególnym uwzględnieniem kardiotoksyczności doksorubicyny	225
MONIKA KARWAN	
Nauka psa z pomocą rozproszeń: respektowania komendy na przywołanie	235
MATEUSZ PAWEŁ KASZUBSKI, MAŁGORZATA KAROLINA SAKOWICZ	
Zróżnicowanie populacji kundli (<i>Canis lupus familiaris</i> L.) w Trójmieście	248

Wprowadzenie

Na przestrzeni ostatnich lat zmienia się stosunek do zwierząt. Zwierzęta domowe nie mogą być już traktowane jak jeden ze składników majątku właściciela, od którego woli zależy traktowanie czy życie zwierzęcia. Także wobec zwierząt gospodarczych istnieje oczekiwanie społeczne, by nie były one tylko źródłem żywności i innych pożytków. Obok postulatu tworzenia warunków rozwoju terenów wiejskich, formułowane jest żądanie, by produkcja żywności odbywała się z poszanowaniem środowiska naturalnego i właśnie praw zwierząt.

Światowa Organizacja Zdrowia Zwierząt definiuje dobrostan jako sytuację, w której zwierzę jest zdrowe, dobrze odżywione, trzymane w odpowiednich warunkach, a przede wszystkim nie cierpi z powodu bólu lub stresu. Aby warunki te spełnić, należy łączyć osiągnięcia nauki i doświadczenie praktyczne w zakresie tworzenia odpowiednich warunków higienicznych, odpowiedniego żywienia, hodowli oraz leczenia chorób zwierząt.

Celem monografii jest wskazanie możliwości wykorzystania osiągnięć nauk rolniczych z dyscypliny zootechniki i rybactwo oraz weterynaria dla efektywnej ekonomicznie i zgodnej z zasadami dobrostanu produkcji zwierzęcej.

Monografia obejmuje zakresem wybrane grupy zwierząt, mające znaczenie gospodarcze. W rozdziale pierwszym przedstawiono zagadnienia związane z hodowlą i chowem ryb, w tym zagadnienia związane z żywieniem. Rozważania przedstawiono głównie na przykładzie produkcji karpia.

W rozdziale drugim zaprezentowano problemy zdrowotne w cyklu produkcyjnym drobiu wraz z metodami ich przewycięzania. W rozdziale trzecim przeanalizowano sposoby efektywnego żywienia prosiąt i tuczników w gospodarstwach rolnych. W rozdziale czwartym przeanalizowano metody utrzymania i użytkowania bydła.

Metody diagnozowania i terapii koni znalazły się w rozdziale piątym. Rozdział szósty, ostatni prezentuje rozważania związane z hodowlą i leczeniem psów.

Monografia została zredagowana na podstawie prac przygotowanych i przedstawionych przez uczestników 48 MSKN „Międzynarodowego Seminarium Kół Naukowych. Koła naukowe szkołą twórczego działania”, które odbyło się na Uniwersytecie Warmińsko-Mazurskim w Olsztynie w dniach 11-12 kwietnia 2019r. Opracowanie zawiera referaty z zakresu nauk zootechnicznych i weterynaryjnych. Autorami rozdziałów są studenci i doktoranci realizujący badania w ramach pracy kół naukowych. Każdy rozdział został zrecenzowany przez dwóch pracowników naukowych.

Za powstanie niniejszego opracowania podziękowania należą się przede wszystkim uczestnikom 48 MSKN – autorom prac, recenzentom, osobom zaangażowanym w sprawną organizację poszczególnych sekcji jak i Konferencji jako całości oraz władzom Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego oraz Wydziału Kształowania Środowiska i Rolnictwa.

Wojciech Truszkowski

Rozdział I

Determinanty efektywnej hodowli ryb

Ocena skuteczności czyszczenia linii technologicznej do produkcji pasz z pozostałości białka modyfikowanych genetycznie soi i kukurydzy

Evaluation of the cleaning efficiency of a technological line for the production of feed from residues of genetically modified soy and maize

Klaudia Lenhardt

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Koło Naukowe „Żywnienie Zwierząt”
Opiekun: dr hab. Kazimierz Obremski

Abstract

Evaluation of the cleaning efficiency of a technological line for the production of feed from residues of genetically modified soy and maize.

Using the same technological line for GMO and ECO products may result in contamination of the ECO product with trace amounts of GMO protein. This may lead to exceeding the acceptable limit for GMO protein in organic feed. The aim of the research was to assess the effectiveness of cleaning methods for the production line for the production of organic carp feed, in the context of the presence of GMO soy and maize protein in the final product. Various methods of cleaning the production lines of powdered and granulated fodder were applied. ELISA assays were used to analyze the presence of soy transgenic proteins (CP4 EPSPS) and maize (Cry 1 ab). The content of Cry 1Ab protein in maize GMO and CP4 EPSPS protein in soya was demonstrated, and the lack of these proteins in powdery and granulated EKO fodder. Their residues were found in cleaning mixtures. The proposed method of cleaning the processing line can be effective in removing residues of maize and GMO soy material and is a proper way to prevent cross contamination of feed.

Keywords: feed, cross contamination, testing

Wstęp

Dynamicznie wzrastająca liczba ludności, pociąga za sobą konieczność pozyskiwania większej ilości pożywienia, co skutkuje poszukiwaniem efektywniejszych rozwiązań w zakresie rozwoju rolnictwa. Przełomem okazała się możliwość ingerencji w materiał genetyczny roślin, tak aby uzyskać produkt końcowy o pożądanym cechach. Według Raportu ISAAA, globalna powierzchnia upraw roślin modyfikowanych genetycznie (GMO), zwiększyła się z 1,7 mln ha w 1996 r. do 189,8 mln ha w 2017 r. Dane te obrazują, jak istotne znaczenie odgrywa rozwój genetyki w poszczególnych sektorach światowej gospodarki. Produkcja jaj, mleka, wołowiny, wieprzowiny czy drobiu, wiąże się z wykorzystaniem ogromnych ilości materiałów paszowych. Białko jest elementem decydującym o wynikach

produkcyjnych w hodowli, dlatego też powinno cechować się wysoką strawnością i zawartością aminokwasów egzogennych (Dzwonkowski 2016).

Wyróżnia się wiele sposobów jego pozyskiwania, przy czym obecnie najtańszym źródłem, jest transgeniczna śruta sojowa, której dodatkową zaletą może być brak ograniczeń procentowego udziału w diecie zwierząt (Wielkopolska Izba Rolnicza 2016). Wyniki analiz przeprowadzonych przez Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy w Puławach dowodzą, że prawie cała ilość poekstrakcyjnej śruty sojowej, dostępnej na krajowym rynku paszowym, została wyprodukowana z organizmów GMO (Sieradzki i in. 2009). W dobie powszechnego rozwoju przemysłu, opartego na wykorzystywaniu produktów modyfikowanych genetycznie, szczególnie istotnego znaczenia nabiera zjawisko współistnienia produktów zmienionych oraz niezmienionych genetycznie (Maciejczak 2008). Wraz ze wzrostem skali przemysłu, wzrosło również zainteresowanie opinii publicznej, co w wielu przypadkach zrodziło liczne kontrowersje. Obecnie, chcąc wprowadzić na rynek produkt, producenci są zobowiązani sprostać wymaganiom UE, które niejednokrotnie są podyktowane potrzebami samych konsumentów. Ze względu na wzrastający niepokój, związany z bezpieczeństwem i długofalowymi skutkami stosowania takiej żywności, popularne i reklamowane w mediach są produkty pozyskiwane bez udziału pasz GMO. Z uwagi na to, prawo Europejskie gwarantuje społeczeństwu możliwość wyboru, a realizacja tego prawa zobowiązuje do odpowiedniego oznakowania produktu. Rozporządzenie (WE) nr 1830/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. określa m.in. możliwości śledzenia żywności i produktów paszowych wyprodukowanych z organizmów zmodyfikowanych genetycznie oraz ustala limit ilości śladowych zatwierdzonych GMO na poziomie 0,9%. Produkt nie musi zostać opatrzone znakiem NON GMO, o ile obecność zmodyfikowanego DNA lub białka jest niezamierzona lub technicznie nieunikniona (Sowa i in. 2007). Ciężar takiego dowodu spoczywa po stronie podmiotów gospodarczych, które zobowiązane są udowodnić właściwym organom, że podjęły odpowiednie kroki, mające na celu zapobieżenie występowaniu genetycznie zmodyfikowanej żywności lub paszy (Rozporządzenie 1829/2003). W przypadku, gdy w wytworzonym produkcie obecnych jest więcej niż jedna odmiana genetycznie zmodyfikowanej rośliny, jak również więcej niż jeden składnik pochodzący z tego samego gatunku, ilości są sumowane (Linkiewicz i in. 2006). W związku z powyższym, wspomniane współistnienie produktów, pociąga za sobą konieczność utrzymania czystości i integralności linii produkcyjnych, a to z kolei, wymusza opracowanie wiarygodnych metod diagnostycznych. Istotę tego problemu doskonale rozumieją wytwórcy pasz ekologicznych,

gdyż aby zapobiec zanieczyszczeniu krzyżowemu, zmuszeni są oni wprowadzić przestrzenne oddzielenie linii lub stosować sekwencję produkcji. Każdy etap pozyskiwania produktu finalnego, musi podlegać certyfikacji i kontroli, w trakcie której mogą być pobierane próbki surowców i produktów do analiz chemicznych, w celu sprawdzenia, czy są wolne od zanieczyszczeń i pozostałości niedozwolonych środków. Z uwagi na powyższe, w 2002 r. została uformowana Europejska Sieć Laboratoriów GMO (ENGL, ang. European Network of GMO Laboratories), skupiająca ponad 70 placówek naukowych z krajów Unii oraz Norwegii i Szwajcarii. Zadaniem ich członków jest opracowanie jednolitych analitycznie i statystycznie metod oceny, wykrywania i identyfikowania GMO oraz ich produktów (Linkiewicz i in. 2006). Niestety, pomimo poczynionych dotychczas starań, wyniki badań prowadzonych przez poszczególne laboratoria, ciągle jeszcze różnią się między sobą nawet dziesięciokrotnie, co w efekcie może utrudniać podjęcie właściwej decyzji o wycofaniu z obrotu danej partii. Przedstawione powody są dowodem na to, jak istotne jest wykazanie skutecznych metod przeciwdziałania zanieczyszczeniu produktów zarówno na etapie produkcji surowca, jego transportu, jak i wytwarzania produktu finalnego.

Cel i metoda

Celem pracy była ocena skuteczności czyszczenia linii technologicznej do produkcji ekologicznej paszy dla karpia z pozostałości białka modyfikowanych genetycznie soi i kukurydzy.

Tabela 1. Receptura użyta w doświadczeniu do produkcji paszy z GMO dla karpia (1500 kg)

Surowiec	Udział wagowy [kg]
Premiks 5% Karp	25,00
Śruta sojowa 46%	260,00
Śruta rzepakowa 34%	120,00
Susz z lucerny 17%	60,00
Pszenżyto	205,00
Pszenica	150,00
Olej sojowy	20,00
Kukurydza	100,00
Lepiszczce ligninowe	10,00
Monobent	25,00

Źródło: Opracowanie własne.

Doświadczenie przeprowadzono w wytwórni pasz SBP Pasze Sp. z o.o. w Suszu, w dwóch eksperymentach.

Eksperyment 1. Śruta pszenna, grubo mielona w ilości 200 kg, została użyta do czyszczenia (Czyściwo I) linii produkcyjnej paszy sypkiej (łącznie z workownicą). Mieszaninę śruty pszennej, drobno mielonej oraz ekstrudowanych nasion soi EKO w ilości 200 kg, użyto do oczyszczenia linii technologicznej paszy granulowanej (Czyściwo II).

Eksperyment 2. Mieszaninę śruty pszennej grubo mielonej (50%) i grysu wapiennego (50%) frakcji 2 - 4 mm w ilości 200 kg na czyszczenie (Czyściwo III), wykorzystano do oczyszczenia linii produkcyjnej paszy sypkiej, łącznie z workownicą. Mieszaninę śruty pszennej drobno mielonej i ekstrudowanych nasion soi NON – GMO - w ilości 200 kg, wykorzystano do czyszczenia linii produkcyjnej paszy granulowanej (Czyściwo IV).

Etapy przebiegu doświadczenia:

Etap I. Analiza procesu produkcyjnego pod względem możliwości wystąpienia zanieczyszczenia krzyżowego białkiem soi i kukurydzy GMI.

Etap II. Produkcja paszy GMO dla karpia, z wykorzystaniem soi i kukurydzy, 1500 kg (Tab. 1).

Etap III. Czyszczenie linii produkcyjnej paszy sypkiej.

Etap IV. Czyszczenie linii produkcyjnej paszy granulowanej.

Etap V. Produkcja paszy NON-GMO dla karpia, 1500 kg (Tab. 2).

Etap VI. Analiza laboratoryjna.

Tabela 2. Receptura użyta w doświadczeniu do produkcji paszy z NON-GMO dla karpia (1500 kg)

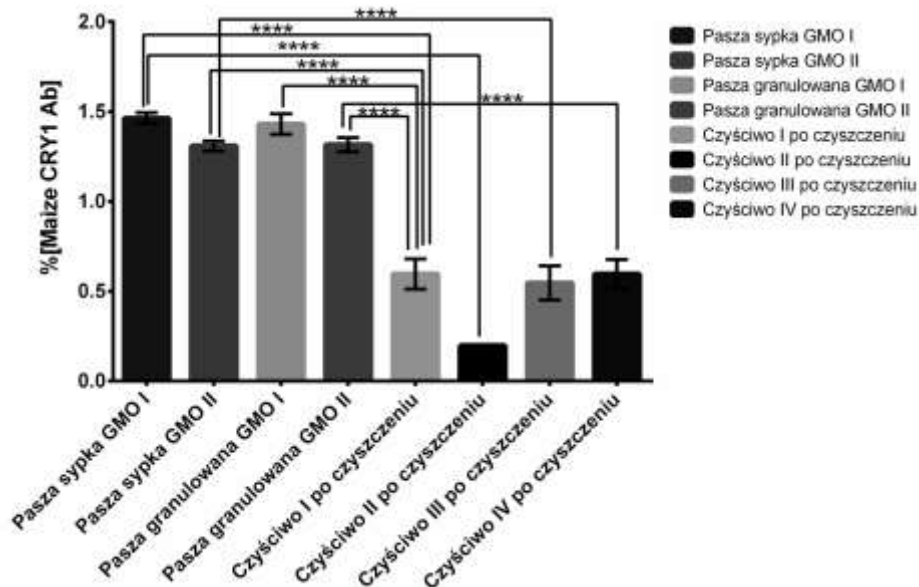
Surowiec	Udział wagowy [kg]
Premiks 5% Karp	25,00
Susz z lucerny 17%	25,00
Pszenica	197,50
Kukurydza	100,00
Lepiszczce ligninowe	10,00
Monobent	25,00
Soja nasiona testowane	110,00
Łubin wąskolistny	75,00

Źródło: Opracowanie własne.

W celu oznaczenia zawartości materiału GMO, wykorzystano komercyjne testy ELISA firmy Romer Labs: Agra Quant Cry 1 Ab Plate, nr kat. 7110000, do oznaczania białka w kukurydzy Cry 1Ab (odmian kukurydzy, Monsanto - MON 810 oraz Syngenta Bt 11), Agra Quant RUR Soya Grain Plate, nr kat. 7100000, do oznaczenia białka CP4 EPSPS modyfikowanej soi w produktach nie potraktowanych wysoką temperaturą. Do oznaczeń zastosowano standard: Soya full-fat fluor (FFF) Standards (nr kat. 7100001), AgraQuant Toasted Meal Plate (nr kat. 7099999), do wykrywania białka CP4 EPSPS w produktach potraktowanych temperaturą i w izolatach białkowych. Zastosowanym standardem było Soya Defatted Flour (DF) Standards (nr kat. 7100002).

Próby czyściw, pasz granulowanych oraz sypkich, pobierano z linii technologicznej do pasz, natomiast surowców – przed linią produkcyjną. Wszystkie próby miały masę 1-2 kg i umieszczone zostały w sterylnych workach polietylenowych. Następnym etapem było dwukrotne mielenie w młynku (FoSS, Cemotec 1090) przez 5 minut. Uzyskaną próbkę przesiewano przez sito o ziarnistości 40 oraz 100 mesh i przenoszono do polipropylenowych naczyń zbiorczych.

Rysunek 1. Pozostałość materiału kukurydzy GMO w próbkach mieszanek czyszczących w porównaniu do zawartości materiału kukurydzy GMO w paszy konwencjonalnej dla karpia (**** $p < 0,0001$).



Źródło: Opracowanie własne.

Wyniki

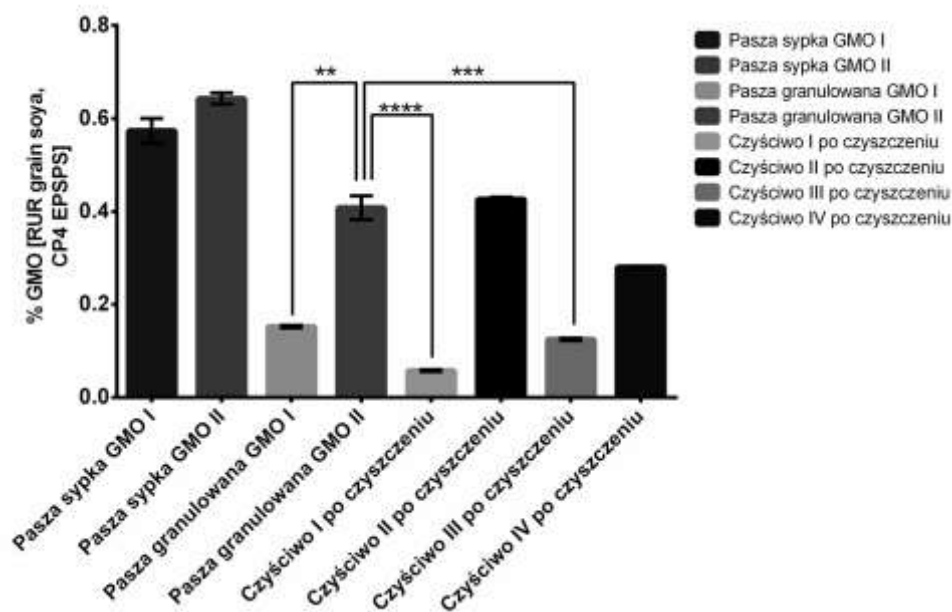
Uzyskane wyniki badań zamieszczono na Rysunkach 1-3. Analiza surowców dowiodła, że procentowy udział białka Cry 1Ab, produktu genu uzyskanego z *Bacillus thuringensis*

w kukurydzy GMO wynosił 3,56 %, a w kukurydzy NON-GMO 0 %. Zawartość materiału GMO soi CP4 EPSPS, produktu genu pochodzenia bakteryjnego z *Agrobacterium tumefaciens* wyniosło 2,12 % i 0,52 %. W paszy sypkiej, pobranej przed granulatorem wykryto 1,46 % i 1,31 % białka Cry 1Ab oraz 0,57 % i 0,64 % białka CP4 EPSPS oraz 0,15 % i 0,16 % białka CP4 EPSPS. W paszy granulowanej w eksperymencie 1 i 2, białko CP4 EPSPS kukurydzy stwierdzono na poziomie odpowiednio 1,43 % i 1,32 %.

W wyprodukowanej paszy granulowanej wykazano obecność białka CP4 EPSPS w stężeniu odpowiednio 0,15 % i 0,37 % w eksperymencie 1 oraz 0,41 % i 0,97 % w eksperymencie 2.

Analiza próbek pobranych z etapu 1 czyszczenia linii technologicznej do produkcji pasz, wykazała w eksperymencie 1 obecność białka kukurydzy Cry 1Ab w czyściwie I II w stężeniu odpowiednio 0,60 % i 0,20 %, a w eksperymencie 2 w czyściwie III i IV, odpowiednio 0,55 % i 0,60 % w eksperymencie 2. Jednocześnie, badanie w zakresie metody, nie wykazało obecności białka kukurydzy Cry 1Ab w wyprodukowanej w ostatnim etapie paszy granulowanej EKO.

Rysunek 2. Pozostałość materiału soi natywnej GMO w próbkach mieszanek czyszczących w porównaniu do zawartości materiału soi natywnej GMO w paszy konwencjonalnej dla karpia (**p< 0,01; ***p< 0,001; ****p< 0,0001)

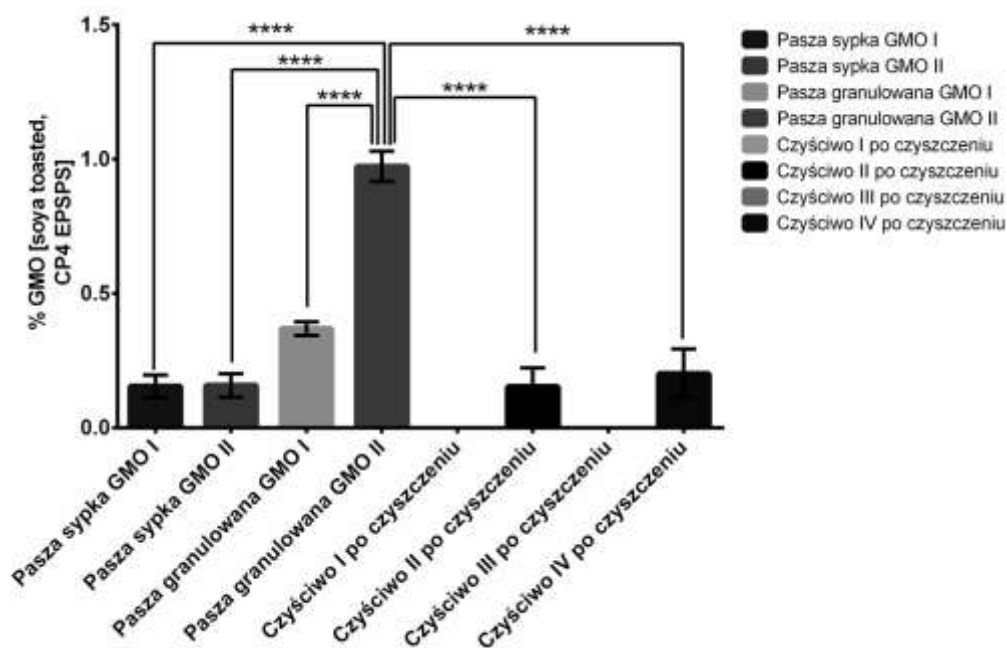


Źródło: Opracowanie własne.

Oznaczenia procentowej obecności białka CP4 EPSPS soi, w pobranych z linii produkcyjnej czyściw, wykazała jego obecność na poziomie 0,06 % i 0,43 % w eksperymencie

1 i 0,13 % i 0,28 % w eksperymencie 2. Dla oznaczeń wykonanych testem Agra Quant Toasted Meal Plate, procentowa zawartość białka CP4 EPSPS soi czyściwie I, wyniosła 0,00 % i czyściwie II 0,15 % (eksperyment 1) oraz 0,00 % w czyściwie III i 0,20 % w czyściwie IV (eksperyment 2). Jednocześnie, badanie w zakresie metody, nie wykazało obecności białka soi CP4 EPSPS w wyprodukowanej w ostatnim etapie paszy granulowanej EKO.

Rysunek 3. Pozostałość materiału soi GMO po obróbce termicznej w próbkach mieszanek czyszczących w porównaniu do zawartości materiału soi GMO po obróbce termicznej w paszy konwencjonalnej ($p < 0,0001$)



Źródło: Opracowanie własne.

Dyskusja i wnioski

Wykorzystywanie linii produkcyjnych do wytwarzania różnego typu pasz, może skutkować krzyżowym zanieczyszczeniem produktu (Dorne i in. 2013). Przedsiębiorstwa, w których odbywa się zarówno produkcja pasz konwencjonalnych, jak i w standardzie EKO, są szczególnie narażone na wystąpienie tzw. efektu przeniesienia. Uzyskane wyniki analiz stanowią podstawę do stwierdzenia, że wykorzystana w badaniu metoda czyszczenia linii technologicznych, jest skutecznym sposobem zapobiegania kontaminacji pasz NON-GMO, które są wytwarzane na konwencjonalnych liniach produkcyjnych. Procesy czyszczenia i dezynfekcji, są operacjami o kluczowym znaczeniu dla jakości i bezpieczeństwa produkowanych pasz. Dobrze zaprojektowane czyszczenie i dezynfekcja linii produkcyjnej, zmniejszają ryzyko wystąpienia skażenia paszy w przypadku produkcji równoległej i zmieszania produktów ekologicznych z konwencjonalnymi (Maciejczak 2008). Punktem

wyjścia wszelkich działań jest przygotowanie projektu procedury. Dzięki zastosowaniu „mieszanek czyszczących”, takich jak otręby pszenne czy śruty zbożowe, utrzymanie odpowiedniej higieny linii produkcyjnej, stało się dla producentów osiągalnym celem. Mieszanek przemieszcza się przez drogi technologiczne tak, aby usunąć z nich śladowe pozostałości, niejednokrotnie będące przyczyną niekorzystnych wyników analiz laboratoryjnych. W naszym doświadczeniu wykazaliśmy, że śruta pszenna grubo mielona i w połączeniu z grysem wapiennym, jest właściwym czyszcivem dla paszy sypkiej (łącznie z workownicą), natomiast śruta pszenna drobno mielona i w połączeniu z ekstrudowanymi nasionami soi NON-GMO, jest wystarczającym czyszcivem dla linii produkcyjnej paszy granulowanej. Według danych literaturowych, testy ELISA są wysoce specyficzne i umożliwiają wykrywanie konkretnych białek, ale nie pozwalają na oznaczenie danego zdarzenia transformacyjnego. Dodatkowo, ze względu na niską stabilność białek, mają one ograniczone zastosowanie dla silnie przetworzonych produktów (Sowa i in. 2007). Niższa cena jest kolejnym czynnikiem gwarantującym, że zaprezentowana metoda jest korzystniejsza dla ponoszącego koszty producenta. Przedstawione w niniejszej publikacji wyniki badań dowodzą, że testy ELISA są skuteczną i precyzyjną metodą wykrywania i ilościowego oznaczania poziomu zawartości materiału GMO soi i kukurydzy w produkowanych paszach i mieszankach paszowych.

Podsumowanie

W zależności od przyjętych w danym zakładzie rozwiązań, czyszczenie może odbywać się w obrębie linii technologicznych, jak również może pojawić się konieczność oczyszczania środków transportowych, w celu zapobiegania kontaminacji produktów w standardzie EKO. Na każdym z tych etapów, niezwykle istotna jest właściwa organizacja i dobór odpowiednich materiałów, które warunkują powodzenie procesu. Wytwórcie praktykujące produkcję mieszaną (pasze GMO i NON-GMO), są również zobowiązane do wdrożenia izolacji czasowej, przestrzennej lub czasoprzestrzennej, co przekłada się na analizę kosztów uwzględniających przestoje technologiczne (Maciejczak 2008).

Uzyskane w doświadczeniu wyniki wskazują, że zaproponowana metoda czyszczenia linii technologicznej, używanej do produkcji pasz konwencjonalnych, może być skuteczna w usuwaniu pozostałości materiału kukurydzy i soi GMO. Metoda może być proponowana jako prawidłowy sposób zapobiegania zanieczyszczeniu pasz ekologicznych produkowanych na konwencjonalnych liniach technologicznych. Zaproponowane rodzaje testowanych czyszciv,

zastosowane na liniach technologicznych do produkcji pasz, w 100% spełniły swoją rolę. Należy jednak wziąć pod uwagę, że w innym zakładzie, na innego typu linii produkcyjnej, czy podczas różnych warunków klimatycznych, efekt może nie być aż tak dobry. Podstawowym czynnikiem warunkującym wysoką skuteczność czyściw, jest staranność wykonania procedur czyszczenia linii technologicznej.

Literatura

- Dorne J.L., Fernández-Cruz M.L., Bertelsen U., Renshaw D.W., Peltonen K., Anadon A., Feil A., Sanders P., Wester P., Fink-Gremmels J. 2013. *Risk assessment of coccidostatics during feed cross-contamination: animal and human health aspects*. Toxicol. Appl. Pharmacol. 270(3): 196-208.
- Dzwonkowski W. 2016. *Analiza sytuacji na krajowym rynku pasz białkowych w kontekście ewentualnego zakazu stosowania materiałów paszowych GMO*. Roczniki Naukowe Stowarzyszenia Ekonomistów Rolnictwa i Agrobiznesu, XVIII, (2): 47–52.
- Linkiewicz A., Wiśniewska I., Sowa S. 2006, *Molekularne metody wykrywania i identyfikacji organizmów genetycznie zmodyfikowanych (GMO)*, 3 (74) 44–5: 49-51.
- Maciejczak M. 2008. *Koszty współlistnienia produktów modyfikowanych genetycznie i niezmienionych w łańcuchu dystrybucji pasz treściwych zawierających soję*, Roczniki Nauk Rolniczych, seria g., t. 94, z. 2.
- Raport ISAAA 2017. *Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2017*. Biotech Crop Adoption Surges as Economic Benefits Accumulate in 22 Years. Pobrane z <https://www.isaaa.org/resources/publications/briefs/53/download/isaaa-brief-53-2017.pdf> (dostęp: 26 lutego 2019 r.).
- Rozporządzenie (WE) nr 1829/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. w sprawie *genetycznie zmodyfikowanej żywności i paszy*. Pobrane z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PL/TXT/?uri=CELEX%3A32003R1829> (dostęp 2 marca 2019 r.).
- Rozporządzenie (WE) nr 1830/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003 r. dotyczące *możliwości śledzenia i etykietowania organizmów zmodyfikowanych genetycznie oraz możliwości śledzenia żywności i produktów paszowych wyprodukowanych z organizmów zmodyfikowanych genetycznie i zmieniające dyrektywę 2001/18/WE*. Pobrano z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PL/TXT/?uri=celexA32003R1830> (dostęp 7 marca 2019 r.).
- Sieradzki Z., Mazur M., Kwiatek K. 2009. *Wyniki badań pasz w kierunku obecności GMO. Mat. konferencyjne XXXVIII Sesji nauk. Komisji Żywnienia Zwierząt KNZ PAN: Pasze zmodyfikowane genetycznie w żywieniu zwierząt*, Balice: 83.
- Sowa S., Linkiewicz A., Żurawska M., Grelewska K. 2007. *Możliwości analiz GMO w świetle obowiązującego prawa oraz rola Laboratoriów referencyjnych ds. GMO w Polsce*, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin Radzików Zakład Biotechnologii i Cytogenetyki Roślin Laboratorium Kontroli GMO, 56: 237-245.
- Wielkopolska Izba Rolnicza 2016. *Zakaz stosowania białka GMO w żywieniu zwierząt w Polsce bez alternatywy dla śrutu sojowej?* Pobrano z: http://www.wir.org.pl/aktualnosci/2016/2016_03_04_gmo/ (dostęp 26 lutego 2019 r.).

Ocena parametrów stresu oksydacyjnego w wątrobotrzustce w powiązaniu z żywieniem karpia

Evaluation of oxidative stress parameters in hepatopancreas in connection with carps feeding

Olga Filipkowska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Koło Naukowe „Żywnienie Zwierząt”
Opiekun: dr hab. Kazimierz Obremski

Abstract

Karp is one of the most commonly bred and consumed fish in Poland. Vegetable feed has the widest application in carp farms. One of the characteristics that distinguish conventional farms from organic ones is nutrition. The rules of ecological nutrition prohibit the use of feed containing genetically modified organisms. The hepatopancreas is a key organ that has many functions in fish physiology. It also has melano-macrophage centers. Their number and size increase under conditions of environmental stress.

The purpose of research was a comparative analysis regarding the activity of antioxidant enzymes in the hepatopancreas of carp from conventional and organic breeding. The material for the tests was obtained directly from conventional and organic breeding carp. Selected indicators were determined by spectrophotometric method. The research showed statistically higher POD activity, lower KAT activity, higher concentration of -SH groups, proline, negligible difference in MDA and fructose concentration in hepatopancreas carps maintained in the conventional system.

The obtained results indicate a significant stimulation of markers of oxidative stress in conventionally treated fish, excluding catalase activity. This suggests that breeding under normative conditions is more repressive compared to organic.

Keywords: carp feeding, oxidative stress, hepatopancreas

Wstęp

Jedną z najczęściej hodowanych i spożywanych ryb w Polsce jest karp (*Cyprinus carpio*). Już w średniowieczu hodowano go w ziemnych stawach w dorzeczu górnej Wisły i Odry. Obecnie karpie utrzymuje się w sztucznie utworzonych zbiornikach wodnych na płaskich gruntach, znajdujących się niedaleko źródeł bieżącej wody. Karp jest rybą słodkowodną, chętnie wybieraną przez polskich hodowców, co plasuje nasz kraj w czołówce producentów tego gatunku w Europie. W 2016 roku Polska wyprodukowała około 18,5 Mg karpia (Lirski i Myszkowski 2016). Produkcja karpia odbywa się w cyklu dwu- lub trzyletnim (Lirski i in. 2007). Mięso karpia stanowi ważne źródło wysokowartościowego białka, wielonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz licznych związków mineralnych. Karp cieszy się popularnością wśród hodowców Europy Środkowej, nie tylko ze względu na dobre

wykorzystanie paszy, ale także dzięki łatwej adaptacji do nowych warunków środowiska i szybkiej regeneracji (Szarek i in. 2007). Do swego wzrostu, oprócz pokarmu naturalnego, bardzo dobrze wykorzystuje zadawaną paszę pochodzenia roślinnego. Gospodarstwa karpiove mogą być prowadzone według zasad chowu normatywnego (konwencjonalnego) albo ekologicznego. Wśród kryteriów środowiskowych i produkcyjnych, jakie muszą spełniać ekologiczne gospodarstwa stawowe, z całą pewnością wyróżniamy zagęszczenie ryb, które ma umożliwiać dostęp do naturalnego pokarmu, rodzaj zadawanej paszy, dbanie o odpowiednią jakość wody, ograniczanie leczenia do minimum, na rzecz szeroko rozumianej profilaktyki oraz zapewnianie bioróżnorodności w stawie (Barszczewski i in. 2010). W chowie ekologicznym dąży się, aby środowisko naturalne ryb, w pełni zaspakajało ich potrzeby żywieniowe. Jeżeli pokarm naturalny występuje w za małych ilościach, można dawkę pokarmową uzupełnić o certyfikowane pasze pochodzenia roślinnego. W warunkach naturalnych, dorosły karp żywi się larwami ochotkowatych *Chironomidae* i innych owadów, np. *Ephemeroptera*, jak również skąposzczetami, *Oligochaeta*, ślimakami, *Gastropoda*, pijawkami, *Hirudinea*, wodopójkami, Hydracarina (Obremski 2018). Natomiast do surowców wykorzystywanych w produkcji pasz zaliczamy zboża takie jak: pszenicę, pszenżyto, jęczmień, owies nagi i kukurydzę (Cieśla 2016). Konwencjonalnie prowadzone hodowle, nie przywiązują aż tak dużej uwagi do jakości środowiska ryb, obsada ryb w takim stawie jest zdecydowanie większa, a źródłem pożywienia w przeważającej ilości, jest pasza przemysłowa, niepochodząca z gospodarstw ekologicznych. Mimo tego, źródła podają, że najlepsze efekty produkcyjne uzyskuje się przy minimalnym, (40%) udziale pożywienia naturalnego (Lirski i in. 2007). Jedną z ważniejszych cech, odróżniających żywienie ekologiczne od konwencjonalnego, jest zawartość GMO, ponieważ zasady żywienia ekologicznego ryb zakazują stosowania pasz, które zawierają organizmy genetycznie modyfikowane, co również wiąże się z aprobatą konsumenta, który jako ostatnie ogniwo łańcucha pokarmowego, oczekuje w pełni bezpiecznego i wartościowego produktu. GMO – ten na co dzień używany skrót, kryje w sobie organizmy, których materiał genetyczny na drodze nowoczesnej biotechnologii, zmienia się w celu uzyskania wymaganych cech. Przepisy Unii Europejskiej dopuszczają w normatywnej paszy lub żywności do 0,9%, natomiast żywienie ekologiczne ryb zakłada całkowite wyeliminowanie pasz zawierających organizmy genetycznie modyfikowane. Przypuszcza się, że spożywanie produktów GMO, może zaburzać równowagę wewnętrzną organizmu, co może być przyczyną powstawania stresu oksydacyjnego. Stresem oksydacyjnym nazywamy zaburzenie równowagi pomiędzy powstawaniem reaktywnych form tlenu w procesach oksydacyjnych, a reakcjami

przeciwstawnymi, antyoksydacyjnymi, które mają charakter obronny dla organizmu. Do najistotniejszych wskaźników, utrzymujących ten stan równowagi w komórkach, zaliczamy katalazę (KAT), która katalizuje w dwóch etapach powstawanie tlenu cząsteczkowego i wody z nadtlenu wodoru, będącego wolnym rodnikiem, peroksydazę (POD) - enzym reakcji utleniania/redukcji (redox), poziom peroksydacji lipidów, malonylodialdehydu (MDA) i wskaźników metabolicznych –SH, glukozy i fruktozy.

Wpływ na powstawanie stresu oksydacyjnego u karpia ma wątrobotrzustka, jako kluczowy narząd i największy gruczoł, który pełni wiele funkcji i odgrywa ważną rolę w fizjologii ryb tak zarówno w anabolizmie, jak i w katabolizmie. U ryb karpiowatych jest dwubądź wielopłatowa (Demska-Zakęś i in. 2014). Posiada również centra melanomakrofagowe (MMC), czyli skupiska makrofagów, mogących różnić się wielkością, których cytoplazma może zawierać różnego rodzaju barwniki, np. melaninę, lipofuscynę (zwaną także ceroidem) i hemosyderynę. Dlatego makrofagi mogą przybierać brunatne zabarwienie. Jednakże ich zasadniczą zdolnością, jest możliwość przemieszczania się do ogniska zmienionego zapalnie i wchłaniania niepożądanych przez organizm substancji. MMC, które wchłonęły i fagocytują taki materiał, otacza kilka warstw komórek epitelialnych (Antychowicz 2014). Jest to pierwsza linia obronna organizmu przed niesprzyjającymi warunkami i patogenami, które przekroczyły bariery ochronne. Stąd, liczba i wielkość MMC wzrasta wraz z pogarszającym się stanem zdrowia ryb, ale także w odpowiedzi na niewłaściwe warunki środowiskowe, które mogą wywoływać stres środowiskowy (Antychowicz 2014).

Warto również zwrócić uwagę na fakt, że żywnościowy rynek ekologiczny od dłuższego czasu cieszy się rosnącym popytem, który wykazuje najszybszy wzrost wśród innych sektorów żywnościowych (Kazimierczak i Rembiałkowska 2007). W ostatnim czasie, odnotowano również znaczący wzrost zainteresowania produkcją żywności, pochodzącej z akwakultury. Tak kształtujące się zapotrzebowania konsumenta, niosą za sobą potrzebę porównania produktów rybnych pochodzących z akwakultury utrzymywanej w warunkach konwencjonalnych (normatywnych) i niekonwencjonalnych (ekologicznych).

Cel i metoda

Celem badań była analiza porównawcza dotycząca aktywności enzymów antyoksydacyjnych peroksydazy (POD), katalazy (KAT), poziomu peroksydacji lipidów, malonylodialdehydu (MDA) i wskaźników metabolicznych –SH, proliny i fruktozy w wątrobotrzustce karpia pochodzących z hodowli konwencjonalnej i ekologicznej.

Doświadczenie przeprowadzono w Gospodarstwie Rybackim Iława Spółka z o.o. w woj. warmińsko-mazurskim, które prowadzi konwencjonalną produkcję oraz w Gospodarstwie Rolniczym JACHNA w woj. wielkopolskim, które prowadzi ekologiczną produkcję karpia. Badania przeprowadzono w okresie od maja do listopada 2018 r. Informacje dotyczące zawartości składników pokarmowych oraz składu chemicznego paszy dla karpia, zamieszczono w tabeli 1. Badania na rybach nie wymagały uzyskania stosownej zgody Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach, ponieważ jelito środkowe od ryb, pozyskano po ich dekapitacji po uprzednim ich ogłuszeniu podczas patroszenia w zakładzie przetwórczym. Doświadczenie przeprowadzono na grupie 20 ryb, która stanowiły osobniki z hodowli konwencjonalnej (Grupa K, n=10) i hodowli ekologicznej (Grupa E, n=10).

Tabela 1. Zawartość składników pokarmowych skład chemiczny paszy

Pasza konwencjonalna		Pasza ekologiczna	
Składniki pokarmowe	[%]	Składniki pokarmowe	[%]
Premiks (5%) Karp	5,00	Premiks (5%) Karp	5,00
Śruta sojowa (46%)	26,00	Susz z lucerny (17%)	5,00
Śruta rzepakowa (34%)	12,00	Pszenica	39,50
Susz z lucerny (17%)	6,00	Kukurydza	10,00
Pszenżyto	20,50	Lepiszczce ligninowe	1,00
Pszenica	15,00	Monobent	2,50
Olej sojowy	2,00	Soja nasiona testowane	22,00
Kukurydza	10,00	Łubin wąskolistny	15,00
Lepiszczce ligninowe	1,00		
Monobent	2,50		
Skład chemiczny	[%]	Skład chemiczny	[%]
Sucha masa	12,17	Sucha masa	11,12
Białko ogólne	21,69	Białko ogólne	22,00
Tłuszcz surowy	4,94	Tłuszcz surowy	6,78
Włókno surowe	4,58	Włókno surowe	4,36
Popiół surowy	7,38	Popiół surowy	5,55
Węglowodany	30,53	Węglowodany	31,58

Źródło: Opracowanie własne.

Aby zmierzyć parametry określające stres oksydacyjny, zastosowano metodę spektrofotometryczną. W tym celu, pobrano próbki tkanek pochodzących od ryb „konwencjonalnych” i „ekologicznych”. 0,5 g tkanki homogenizowano w buforze do ekstrakcji o składzie: PBS (137mM NaCl, 2,7 mM KCl, 8,1mM Na₂HPO₄, 1,5 mM KH₂PO₄), 0,5 % cytrynian sodu; (POCH, Poland), 0,05% Tween 20 (Sigma Aldrich, USA), inhibitory proteaz (Ref 11 697 498 001, Roche), za pomocą homogenizatora (Omni-Tips™ Disposable, Omni International). Uzyskany homogenat wirowano (8600g) przez 1 godzinę (wirówka Eppendorf 5804R), a uzyskane próbki supernatantów przechowywano w temperaturze -80°C do czasu wykonania oznaczeń.

Wybrane wskaźniki oznaczono metodą spektrofotometryczną, a uzyskane wyniki przeliczono na 1 mg białka oznaczonego wg metody Bradford. Porównania statystyczne wykonano testem t-Studenta (P<0,05).

Wyniki

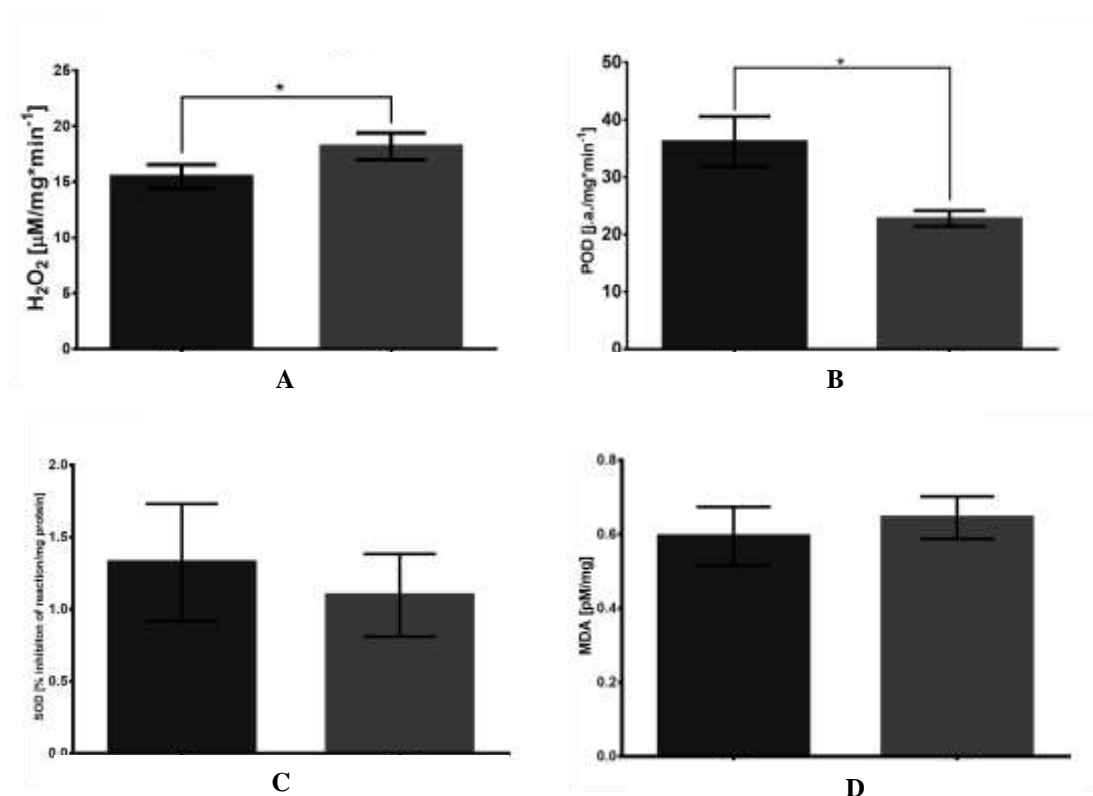
Wyniki oznaczeń zamieszczono na rysunkach od 1 do 3. Analiza uzyskanych wyników w statystyce wykazała istotny spadek aktywności POD (P<0,5), w porównaniu do grupy karpia utrzymywanych w systemie konwencjonalnym i wynosił 22,78 j/mg. Natomiast aktywność KAT wzrosła w grupie karpia ekologicznych i wyniosła 56,62 μM/mg. Stężenie fruktozy w grupie ryb ekologicznych, w porównaniu do grupy GMO wzrosło, ale nie wykazywało zmian istotnych statystycznie i wyniosło odpowiednio 3,09 μg/mg i 3,45 μg/mg. W grupie parametrów nieenzymatycznych stresu oksydacyjnego, odnotowano statystycznie nieistotny spadek MDA w grupie karpia konwencjonalnych MDA, który wyniósł 0,45pM/mg. W przypadku proliny i grup –SH w grupie karpia hodowanych w warunkach konwencjonalnych, zaobserwowano statystycznie wyższe wartości w porównaniu do karpia, utrzymywanych w warunkach ekologicznych i wyniósł odpowiednio 46,74 nM/mg (P<0,001) oraz 208,40 nM/mg.

Dyskusja

Wątrobotrzustka ryb jest kluczowym organem, który kontroluje wiele funkcji i odgrywa ważną rolę w fizjologii ryb, zarówno w zakresie anabolizmu, jak i katabolizmu (Faccioli i in. 2014). Wielkość, kształt i objętość wątroby, są dostosowane do dostępnej przestrzeni między innymi narządami trzewnymi ogólnej jamy (Bertolucci i in. 2008). W przypadku proliny i grup –SH w grupie karpia hodowanych w warunkach konwencjonalnych zaobserwowano

statystycznie wyższe wartości w porównaniu do karpia utrzymywanych w warunkach ekologicznych i wyniósł odpowiednio 46,74 nM/mg ($P < 0,001$) oraz 208,40 nM/mg.

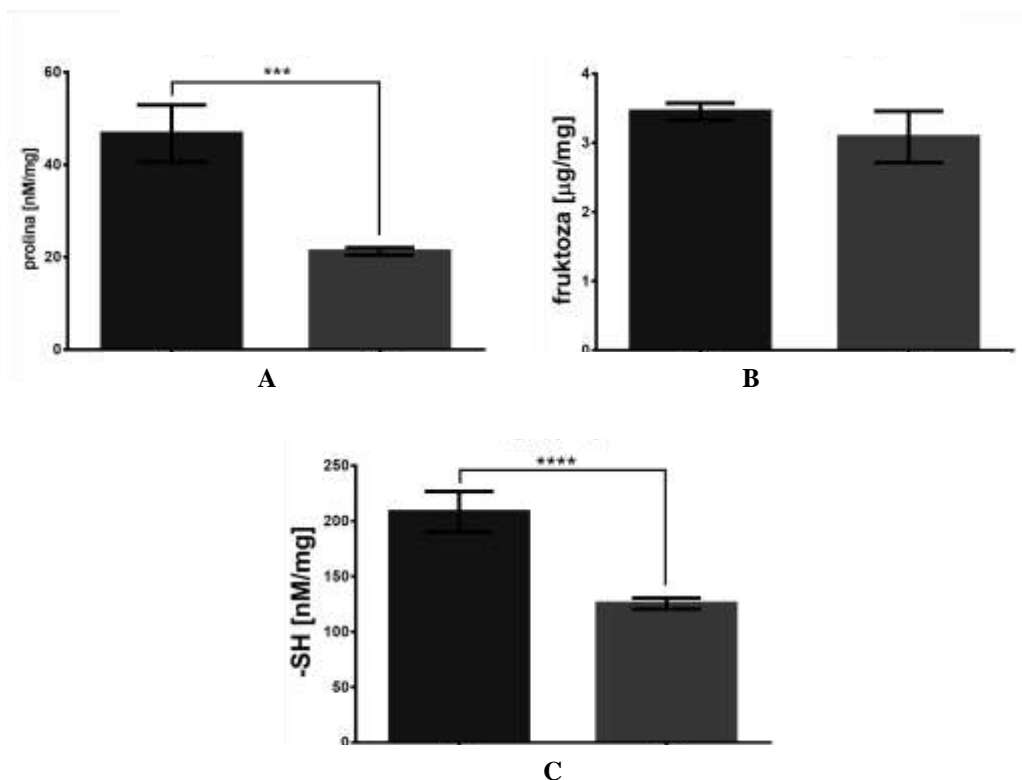
Rysunek 1. Enzymatyczne i nieenzymatyczne wskaźniki równowagi oksydo-redukcyjnej w wątrobotrzustce karpia z hodowli konwencjonalnej (Grupa K, kolor niebieski) i hodowli ekologicznej (Grupa E, kolor czerwony); katalaza (A), peroksydaza (B), dysmutaza ponadtlenkowa (C), malonyldialdehyd (D). * $P < 0,5$



Źródło: Opracowanie własne.

Karpie podobnie jak inne ryby i wszystkie organizmy tlenowe, są również wrażliwe na ataki reaktywnych form tlenu i azotu. Prawidłowo funkcjonujący system obrony antyoksydacyjnej, pozwala na walkę z szeregiem czynników indukujących wzrost peroksydacji makromolekuł. Skutkiem tego są uszkodzenia membran lipidowych oraz białek (Liu i in. 2016). Reaktywne formy tlenu w procesie peroksydacji lipidów, powodują powstawanie m. in. malonyldwualdehydu (MDA) oraz trans 4 – hydroksy-2-nonenalu (4-HNE), a także propanalu i heksanal (Alicani i Kubek 1996). Obserwowany w grupie karpia utrzymywanych w systemie konwencjonalnym wzrost stężenia MDA, może sugerować rozpoczęcie takich zmian. Uszkodzenia oksydacyjne tkanek u ryb, są ściśle związane z nieenzymatycznymi przeciwutleniaczami, takimi jak grupy -SH i enzymy antyoksydacyjne, takie jak KAT, czy POD (Jayaseelan i in. 2014).

Rysunek 2. Wskaźniki metaboliczne w wątrobotrzustce karpi z hodowli konwencjonalnej (Grupa K) i hodowli ekologicznej (Grupa E); prolina (A), fruktoza (B), grupy -SH (C). *** $P < 0,001$; **** $P < 0,0001$



Źródło: Opracowanie własne.

Głównym dostarczycielem metabolicznych grup sulfhydrylowych w komórkach są reszty cysteinowe białek oraz glutation. Statystyczny wzrost stężenia metabolicznych grup sulfhydrylowych w wątrobotrzustce karpi konwencjonalnych (-SH), może sugerować rozwijający się stan zapalny, ponieważ jest to powiązane z cyklem pentozofosforanowym oraz z glikolizą, co jest elementem przeprogramowania metabolicznego komórki podczas stanu zapalnego (Bovaird i in. 1982). Aktywowane mitogenem komórki układu immunologicznego, zwiększają zużycie energii nawet dwadzieścia razy. Podwyższona w wątrobotrzustce karpi konwencjonalnych zawartość fruktozy, może być powiązana ze zwiększoną aktywnością glikolizy (Kominsky i in. 2010).

Podsumowanie

Uzyskane wyniki świadczą o znacznym pobudzeniu markerów stresu oksydacyjnego u ryb hodowanych konwencjonalnie, z wyłączeniem aktywności katalazy. Hodowla w warunkach normatywnych jest bardziej represyjna, w porównaniu do ekologicznej, o czym świadczy nie tylko wzrost poziomu parametrów stresu oksydacyjnego, ale również

w przypadku markerów metabolicznych, gdzie intensywność glikolizy (mierzona poziomem fruktozy) w warunkach normoksji, wykazuje tendencję do wzrostu u karpia pochodzących z warunków konwencjonalnych.

Literatura

- Alican I., Kubes P. 1996. *A critical role for nitric oxide in intestinal barrier function and dysfunction*. Am. J. Physiol. 270: G225–G237.
- Antychowicz J., Pękała A., Kramer I. 2017. *Przyczyny strat w hodowli karpia i ich leczenie*. Życie Wet. 92(3): 190-200.
- Barszczewski J., Kaca E., Wojda R. 2010. *Warunki środowiskowe oraz wyniki produkcyjne w ekologicznym oraz konwencjonalnym chowie karpia*. 55 (3): 14-19.
- Bertolucci B., Vicentini C.A., Franceschini-Vicentini I B., Bombonato M.T.S. 2008. *Light microscopy and ultrastructure of the liver of Astyanax altiparanae Garutti and Britski, 2000 (Teleostei, Characidae)*. Acta Sci. Biol. Sci. 30(1): 73-76.
- Bovaird J.H., Ngo T.T., Lenhoff H.M. 1982. *Optimizing the o-phenylenediamine assay for horseradish peroxidase: effects of phosphate and pH, substrate and enzyme concentrations, and stopping reagents*. Clin. Chem. 28(12): 2423-2426.
- Cieśla M. 2016. *Produkcja zwierzęca metodami ekologicznymi. Praktyczne aspekty ekologicznego chowu ryb, ze szczególnym uwzględnieniem zapobiegania i zwalczania chorób karpia i pstrągów*". http://pir.sggw.pl/ZDROWIE_2016.pdf (dostęp 15 lutego 2019 rok).
- Demśka-Zakęś K., Hoffman A., Kuczyński M., Lirski A., Szczepański Z., Walczak M., Warda A., Żelazny J. 2014. *Dobra praktyka nadzoru weterynaryjnego w zakresie dobrostanu ryb*. http://www.piw-pabianice.pl/pobierz/dobrostan_ryb.pdf (dostęp 15 lutego 2019 rok).
- Faccioli C.K., Chedid R.A. Bombonato M.T., Vicentini C.A. Vicentini I.B.S. 2014. *Morphology and Histochemistry of the Liver of Carnivorous Fish Hemisorubim latyrhynchus*. Int. J. Morphol. 32(2): 715-720.
- Jayaseelan C., Rahuman A.A., Ramkumar R., Perumal P., Rajakumar G., Kirthi A.V. 2014. *Effect of sub-acute exposure to nickel nanoparticles on oxidative stress and histopathological changes in Mozambique tilapia, Oreochromis mossambicus*. Ecotoxicol. Environ. Saf. 107: 220-228.
- Kazimierczak R., Rembiałkowska E. 2007. *Żywność ekologiczna – postęp w żywieniu*. Post. Tech. Przetw. Spoż. 1: 70-73.
- Kominsky D, Campbell E, Colgan S. 2010. *Metabolic shifts in immunity and inflammation*. J. Immunol. 184(8): 4062-4068.
- Lirski A, Myszowski L. 2016. *Obraz polskiej akwakultury w 2016 roku na podstawie badań statystycznych przy zastosowaniu kwestionariuszy RRW-22*. <http://www.sprl.pl/userfiles/files/Andrzej%20Lirski.pdf> (dostęp 14 lutego 2019).
- Lirski A., Siwicki A.K., Wolnicki J. 2007. *Wybrane zagadnienia dobrostanu karpia*. <http://www.pankarp.pl/dobrostan2007.pdf>. <http://www.pankarp.pl/dobrostan2007.pdf>.
- Liu F., Cottrell J.J., Furness J.B., Rivera L.R., Kelly F.W., Wijesiriwardana U., Pustovit R.V., Fothergill L.J., Bravo D.M., Celi P., Leury B.J., Gabler N.K., Dunshea F.R. 2016. *Selenium*

and vitamin E together improve intestinal epithelial barrier function and alleviate oxidative stress in heat-stressed pigs. Exp Physiol. 101(7): 801-810.

Obremski K. 2018. *Badania nad źródłem zanieczyszczenia pasz przez GMO z uwzględnieniem problematyki dróg zanieczyszczeń możliwych i niemożliwych do uniknięcia.* <http://wet.uwm.edu.pl/aktualnosci/sprawozdanie-z-przeprowadzonych-w-2018-r-badan-podstawowych/>. (dostęp 14 lutego 2019).

Szarek J, Skibniewska K., A., Guziur J. 2008. *Technologia produkcji rybackiej a jakość karpia wpływ rodzaju technologii produkcji rybackiej i jakości środowiska wodnego na wybrane wskaźniki hodowlane i patomorfologiczne karpia konsumpcyjnego (Cyprinus carpio L.).* Pracownia Wydawnicza ElSet Olsztyn.

Ocena wpływu żywienia karpia na stan odpowiedzi immunologicznej w wątrobotrzustce

Evaluation of the carp feeding impact on the immune response in a hepatopancreas

Radosław Marek Łobko

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Koło Naukowe „Żywienie Zwierząt”
Opiekun: dr hab. Kazimierz Obremski

Abstract

Research is trying to evaluate how a different feeding concept, conventional and organic, affects immune system in carp. To quantify that the levels of interleukin 1 β (IL-1 β), interferon gamma (IFN- γ) and interleukin 8 (IL-8) were measured in hepatopancreas using sandwich ELISA test. Results were calculated for 1 mg of protein measured using Bradford method. Statistical analysis was performed on the results using t-Student test ($P < 0.05$). The research shows statistically significantly higher level of IL-1 β in group which was feed using conventional method, compared to organic. Moreover statistically insignificant differences were spotted in level of IFN- γ and IL-8, respectively lower and higher in “conventional” carp. The results confirm that in the carp hepatopancreas, as a result of physiological processes, the “cytokine environment” is formed. However, the recorded increase in IL-1 β in conventional carp may be considered as a result of a complex organ response to maintain organ homeostasis that may have been interfered type of feed.

Keywords: carp, carp feeding, hepatopancreas, interleukin,

Wstęp

Hodowla zwierząt w akwakulturze jest znanym od wieków sposobem na zapewnienie różnorodności pokarmowej oraz źródła cennych składników odżywczych. Dotyczy to między innymi wysokowartościowego białka, witamin czy nienasyconych kwasów tłuszczowych z grupy omega. Jest to jednocześnie sposób bardzo atrakcyjny, gdyż nie wymaga, poza przygotowaniem stawów, nakładów pracy do osiągnięcia zadowalających wyników (Antychowicz 2011). Dzięki temu spożycie ryb i produktów przetwórstwa rybnego stanowi istotny element diety niemal każdego mieszkańca Polski. W szczególności hodowla karpia cieszy się w Polsce dużym powodzeniem ze względu na możliwości hodowlane.

W miarę wzrastania stopnia zamożności społeczeństwa, konsumenci w większym stopniu zwracają uwagę nie tylko na cechy samego produktu, ale również na jego pochodzenie (Hermaniuk 2018). Szczególną wartość mają dla nabywców produkty pochodzące z gospodarstw ekologicznych, cechujących się mniejszym zagęszczeniem hodowanych

zwierząt, stosowaniem odpowiednich pasz, ograniczoną aplikacją leków oraz podwyższonym dobrostanem (Barczewski i Kaca 2010). Ryby z takich hodowli powinny cechować się przede wszystkim wyższym wskaźnikiem bezpieczeństwa. Niepożądane są szczególnie pozostałości antybiotyków czy innych środków leczniczych. Dla wielu konsumentów istotne są także kwestie etyczne. Wybierają oni produkty dostarczane z hodowli ekologicznych.

Hodowla stawowa ryb karpiowatych cechuje się istotnym udziałem w żywieniu pokarmu naturalnego, czyli występujących w wodzie mikroorganizmów. Opieranie jednak hodowli jedynie na tym typie pokarmu, pozwala osiągnąć produkcję na poziomie 100-400 kg z ha hodowli karpia. Dla porównania: w chowie intensywnym, z żywieniem opartym na paszy konwencjonalnej, przyrosty mogą dochodzić do 1000-1500 kg z ha hodowli karpia. Dlatego w hodowli ekologicznej również często stosuje się dokarmianie, jednak nie jest ono tak intensywne, przez co przyrosty są odpowiednio mniejsze (Szarek i in. 2008).

Zarówno hodowla intensywna, jak i ekologiczna, staje przed problemem zdrowotności ryb. Do oceny zdrowia karpia stosuje się szereg wskaźników dotyczących zarówno środowiska ich życia, jak i samych ryb. Jednym z ważniejszych wskaźników jest ocena stanu wątrobotrzustki. To do niej dostarczane są stale składniki pokarmowe, produkty bakteryjne i związki o charakterze zapalnym. Pełni ona także ważne funkcje metaboliczne oraz detoksykacyjne. Jest także miejscem produkcji białek ostrej fazy, składników dopełniacza, cytokin i chemokin, które łącznie tworzą „środowisko cytokinowe”. Z uwagi na powyższe, można śmiało powiedzieć, że ocena jej stanu wiele mówi o stanie całego organizmu. Ponieważ zmiany w wydzielaniu cytokin w narządach związanych z odpornością, dostarczają dowodów na immunomodulujący wpływ wielu czynników, badanie postanowiono oprzeć o pomiar stężeń interleukiny 1 β (IL-1 β), interferonu gamma (IFN- γ) oraz interleukiny 8 (IL-8). Chów karpia prowadzony konwencjonalnie lub ekologicznie poza różnicami w sposobie utrzymania ryb, może modulować układ immunologiczny, gdzie żywienie odgrywa bardzo ważną rolę.

Cel i metoda

Celem badań było porównanie stanu odpowiedzi immunologicznej w wątrobotrzustce u karpia pochodzących z hodowli konwencjonalnej i ekologicznej, które oparto o pomiar stężenia interleukiny 1 β (IL-1 β), interferonu gamma (IFN- γ) oraz interleukiny 8 (IL-8).

Doświadczenie przeprowadzono w Gospodarstwie Rybackim Iława Spółka z o.o. w woj. warmińsko-mazurskim, które prowadzi konwencjonalną produkcję karpia oraz w Gospodarstwie Rolniczym JACHNA w woj. wielkopolskim, które prowadzi ekologiczną

produkcję karpia w czasie od maja do listopada 2018 r. Skład podawanej rybom paszy zamieszczono w tabeli 1 i tabeli 2. Pasza w chowie ekologicznym spełnia wszelkie normy Unii Europejskiej, dotyczące zasad hodowli ekologicznej ryb. Badania na rybach nie wymagały uzyskania stosownej zgody Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach, ponieważ wątrobotrzustkę od ryb pozyskano po ich dekapitacji po uprzednim ich ożuszeniu podczas patroszenia w zakładzie przetwórczym.

Tabela 1. Zawartość składników pokarmowych i skład chemiczny paszy dla karpia w hodowli konwencjonalnej

Udział surowców [%]		Skład chemiczny [%]	
Premiks 5% Karp	5,00	Sucha masa	12,17
Śruta sojowa 46%	26,00	Białko ogólne	21,69
Śruta rzepakowa 34%	12,00	Tłuszcz surowy	4,94
Susz z lucerny 17%	6,00	Włókno surowe	4,58
Pszenżyto	20,50	Popiół surowy	7,38
Pszenica	15,00	Węglowodany	30,53
Olej sojowy	2,00		
Kukurydza	10,00		
Lepiszczce ligninowe	1,00		
Monobent	2,50		

Źródło: Opracowanie własne.

Z hodowli konwencjonalnej (grupa K) i ekologicznej ryb (Grupa E) do badania wybrano losowo po 10 sztuk karpia. Aby zmierzyć zawartość cytokin: interleukiny 1 β (IL-1 β), interferonu γ (IFN- γ) i interleukiny 8 (IL-8), zastosowano kanapkowy test ELISA. Próby tkanek o masie 0,5 g homogenizowano w buforze do ekstrakcji o składzie: PBS (137mM NaCl, 2,7 mM KCl, 8,1mM Na₂HPO₄, 1,5 mM KH₂PO₄), 0,5 % cytrynian sodu; (POCH, Poland), 0,05% Tween 20 (Sigma Aldrich, USA), inhibitory proteaz (Ref 11 697 498 001, Roche), za pomocą homogenizatora (Omni-TipsTM Disposable, Omni International). Uzyskany homogenat (8600g) wirowano przez 1 godzinę (wirówka Eppendorf 5804R), a uzyskane próbki supernatantów przechowywano w temperaturze -80°C do czasu wykonania oznaczeń. Oznaczenie stężenia cytokin wykonano metodą ELISA stosując instrukcję producentów a uzyskane wyniki przeliczono na 1 mg białka oznaczonego wg metody Bradford (Bradford 1976). Porównanie statystyczne uzyskanych wyników wykonano testem t-Studenta (P<0,05).

Tabela 2. Zawartość składników pokarmowych i skład chemiczny paszy dla karpia w hodowli ekologicznej

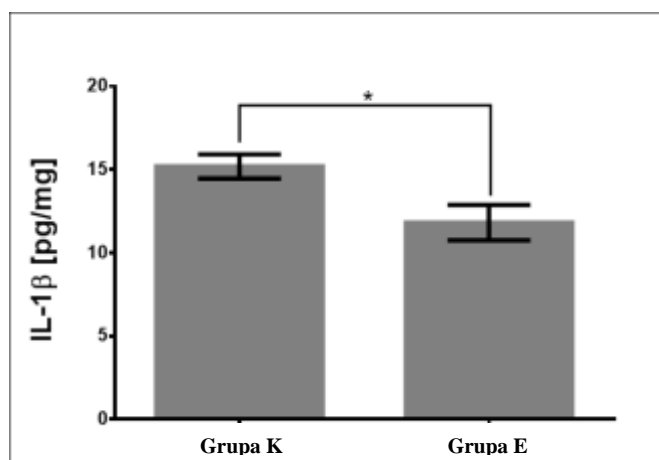
Udział surowców [%]		Skład chemiczny [%]	
Premiks 5% Karp	5,00	Sucha masa	11,12
Susz z lucerny 17%	5,00	Białko ogólne	22,00
Pszenica	39,50	Tłuszcz surowy	6,78
Kukurydza	10,00	Włókno surowe	4,36
Lepiszczce ligninowe	1,00	Popiół surowy	5,55
Monobent	2,50	Węglowodany	31,58
Soja nasiona tostowane	22,00		
Łubin wąskolistny	15,00		

Źródło: Opracowanie własne.

Wyniki badań

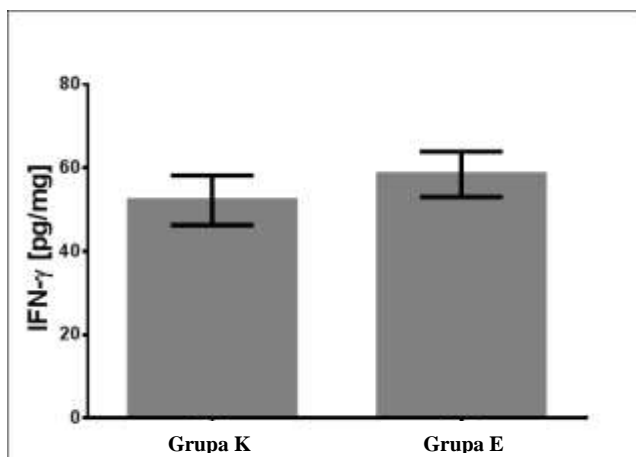
Uzyskane wyniki badań wykazały, że średnie stężenie IL-1 β w wątrobotrzustce karpia karmionych paszą konwencjonalną, wynoszące 15,19 pg/mg, było statystycznie wyższe ($P < 0,05$) w porównaniu do wartości oznaczonej w narządzie ryb żywionych w sposób konwencjonalny (Rys. 1). Stężenie IFN- γ w homogenatach wątrobotrzustki karpia z hodowli konwencjonalnej, było nieznacznie niższe od tego, które oznaczono w hodowli ekologicznej i wynosiło odpowiednio 52,25 ng/mg i 58,50 ng/mg (Rys. 2). Z kolei wykazano nieznacznie niższą wartość stężenia IL-8 w grupie karpia „konwencjonalnych” w porównaniu do karpia „ekologicznych”, które wyniosły odpowiednio 118,30 pg/mg i 119,20 pg/mg.

Rysunek 1. Stężenie IL-1 β w wątrobotrzustce karpia z hodowli konwencjonalnej (Grupa K) i ekologicznej (Grupa E) * $P < 0,5$.



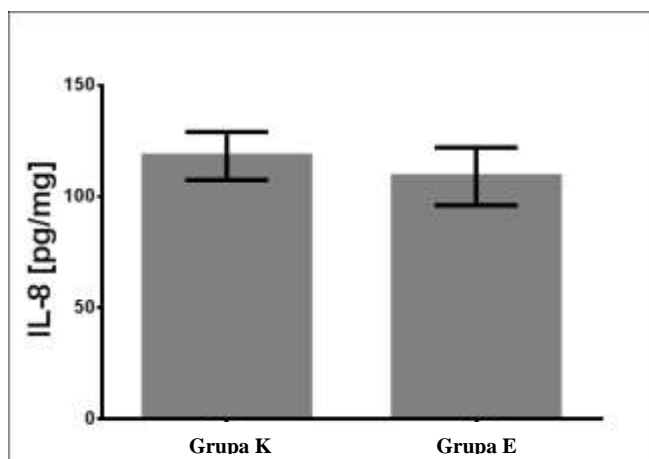
Źródło: Opracowanie własne.

Rysunek 2. Stężenie IFN- γ w wątrobrzustce karpia z hodowli konwencjonalnej (Grupa K) i ekologicznej (Grupa E)



Źródło: Opracowanie własne.

Rysunek 3. Stężenie IL-8 w wątrobrzustce karpia z hodowli konwencjonalnej (Grupa K) i ekologicznej (Grupa E)



Źródło: Opracowanie własne.

Dyskusja

Wskazano, że IL-1 β , IFN- γ i IL-8 u karpia, mogą być wykorzystywane, jako wskaźniki oceny zdrowia ryb oraz porównania sposobu żywienia i utrzymania karpia. Na układ odpornościowy, a tym samym na odpowiedź immunologiczną u ryb, mogą wpływać różne czynniki zewnętrzne, takie jak: temperatura, światło, jakość wody, zasolenie i różne czynniki indukujące stres, w tym również składniki dawki żywieniowej (Magnadottir 2010). Zmiany środowiska cytokinowego narządów ryb, mogą wpływać pośrednio na zaostrzenie stanów chorobowych poprzez obniżanie odporności bądź prowadzenie do stanów zapalnych (Zelikoff 1998). Aktywacja układu odpornościowego powoduje uwolnienie różnorodnych

rozpuszczalnych mediatorów z wielu narządów (w tym i hepatocytów). Do tych mediatorów możemy zaliczyć: immunoglobuliny, białka dopełniacza i cytokiny. Klasyczne prozapalne cytokiny to IL-1 β , TNF- α IL-6 są obecne u ryb. Takie cytokiny, jak IL-4, IL-12, IL-17 i IFN- γ uważa się za decydujące o adaptacyjnej odporności ryb (Wang i Secombes 2013). Podobnie, cytokiny związane z odpornością adaptacyjną, w tym IL-2, IFN- γ , czy IL-4/13 (Kominsky i in. 2010.).

W badaniach wykazano, że poziom interleukiny IL-1 β był wyższy w wątrobotrzustce karpia z hodowli konwencjonalnej. Występuje dodatnia korelacja pomiędzy wzrostem IL-8, a IL-1 β . Trudno określić bezpośrednią przyczynę tego zjawiska. Jak podaje Dinarello (2002), interleukina-1 β jest kluczowym mediatorem zapalnym a jej obecność potwierdzono u 13 gatunków ryb kostnoszkieletowych (Mathew i in. 2002). IL-8 znana również jako chemokina CXCL8, wytwarzana przez wiele różnych typów komórek, w tym komórki nieimmunologiczne, takie jak fibroblasty i komórki śródbłonka (Larsen i in. 1989), stanowi czynnik chemotaktyczny dla leukocytów, ale jej wydzielanie hamuje IFN- γ , co można zaobserwować w wątrobotrzustce karpia z hodowli ekologicznej. W przeprowadzonym doświadczeniu, wzrost IL-8 w wątrobotrzustce karpia z hodowli konwencjonalnej, zbiega się z wzrostem wydzielania IL-1 β i spadkiem ekspresji IFN- γ , cytokinami prozapalnymi odgrywającymi znaczącą rolę w odpowiedzi immunologicznej (Corripio-Miyar i in. 2007).

Podsumowanie

Różny sposób hodowli i żywienia karpia skutkuje prawdopodobnie zmianami w statusie immunologicznym wątrobotrzustki. Uzyskane wyniki w doświadczeniu potwierdzają, że w wątrobotrzustce karpia, w wyniku przebiegu procesów fizjologicznych, kształtuje się „środowisko cytokinowe”. Jednak odnotowany wzrost stężenia prozapalnej IL-1 β w wątrobotrzustce karpia utrzymywanych w warunkach konwencjonalnych, w porównaniu do warunków hodowli ekologicznej, można uznać za wynik złożonej odpowiedzi narządowej, mającej na celu utrzymanie homeostazy narządu, która mogła być zakłócona między innymi rodzajem skarmianej paszy.

Literatura

Antychowicz J. 2011. *Hodowla karpia w Polsce oraz profilaktyka zakażeń herpeswirusem koi*. Życie Weter. 86(12): 971-973.

- Barczewski J., Kaca E. 2010. *Warunki Środowiskowe oraz wyniki produkcyjne w ekologicznym oraz konwencjonalnym chowie karpia*. Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering, 55(3): 14-19.
- Bradford M.M. 1976. *A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding*. Anal. Biochem. 72: 248-254.
- Corripio-Miyar Y., Bird S., Tsamopoulos K., Secombes C. 2007. *Cloning and expression analysis of two pro-inflammatory cytokines, IL-1b and IL-8, in haddock (Melanogrammus aeglefinus)*. Mol. Immunol. 44: 1361–1373.
- Dinarello C.A. 2002. *The IL-1 family and inflammatory diseases*. Clin. Exp. Rheumatol. 20: 1–13.
- Hermaniuk T. 2018. *Postawy i zachowania konsumentów na rynku ekologicznych*. Handel Wewnętrzny 373: 189-199.
- Kominsky D, Campbell E, Colgan S. 2010. *Metabolic shifts in immunity and inflammation*. J. Immunol. 184(8): 4062-4068.
- Larsen C.G., Anderson A.O., Oppenheim J.J., Matsushima K. 1989. *Production of interleukin-8 by human dermal fibroblasts and keratinocytes in response to interleukin-1 or tumour necrosis factor*. Immunology. 68(1): 31-36.
- Magnadottir, B. 2010. *Immunological control of fish diseases*. Journal of Marine Biotechnology, 12, 361–379.
- Mathew J.A., Guo Y.X., Goh K.P., Chan J., Verburg-van Kemenade B.M., Kwang, J. 2002. *Characterisation of a monoclonal antibody to carp IL-1beta and the development of a sensitive capture ELISA*. Fish Shellfish Immunol.13: 85–95.
- Szarek J, Skibniewska K., A., Guziur J. 2008. *Technologia produkcji rybackiej a jakość karpia wpływ rodzaju technologii produkcji rybackiej i jakości środowiska wodnego na wybrane wskaźniki hodowlane i patomorfologiczne karpia konsumpcyjnego (Cyprinus carpio L.)*. Pracownia Wydawnicza ElSet Olsztyn
- Wang T, Secombes C.J. 2013. *The cytokine networks of adaptive immunity in fish*. Fish Shellfish Immunol. 35(6): 1703-1718.
- Zelikoff, J.T. 1998. *Biomarkers of immunotoxicity in fish and other nonmammalian sentinel species: predictive value for mammals?* Toxicology, 129: 63–71.

Wpływ żywienia karpia na parametry stresu oksydacyjnego w jelicie

Effect of carp feeding on parameters of oxidative stress in the intestine

Dagmara Obremska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Koło Naukowe „Żywność Zwierząt”
Opiekun: dr hab. Kazimierz Obremski

Abstract

A comparative analysis was performed on the activity of antioxidant enzymes, peroxidase (POD), catalase (CAT), lipid peroxidation, malonyl dialdehyde (MDA) and metabolic parameters, -SH groups, glucose, fructose and proline in the midgut of carp from conventional breeding (K = 10) and organic (E = 10). Selected indicators were determined by spectrophotometric method, and the obtained results were converted into 1 mg of protein determined according to the Bradford method. Statistical comparisons were made with the Student's t test ($P < 0.5$). The study showed statistically higher POD activity ($P < 0.0001$), lower CAT activity ($P < 0.5$), higher concentration of -SH groups ($P < 0.5$) and proline ($P < 0.5$), non-significant difference in MDA concentration, lower glucose concentration ($P < 0.01$) and higher fructose concentration ($P < 0.0001$) in the midgut of carps maintained in the conventional system

Keywords: carp, intestine, oxidative stress

Wstęp

Z roku na rok, rolnictwo ekologiczne zyskuje coraz większą popularność, co związane jest ze wzrostem zainteresowania zdrowym trybem życia, racjonalnym żywieniem oraz dbałością o środowisko naturalne. Znaczącym obszarem, który stwarza możliwości poszerzenia oferty produktów ekologicznych, jest akwakultura. Dąży się do tego, by zbilansowane pod względem zapotrzebowania żywnością żywność ryb, zapewniało im zaspokojenie potrzeb gatunkowych i wymogów w zakresie zdrowia. Podstawą żywienia organizmów akwakultury jest środowisko naturalne, a więc plankton, bentos dostępne w stawach i jeziorach. Jeśli naturalne źródła paszy nie są dostępne w wystarczających ilościach, stosuje się dokarmianie ryb paszami pełnoporcjowymi. Najczęściej stosowanymi surowcami roślinnymi w żywieniu karpia są łubiny, kukurydza, jęczmień, żyto, pszenica, otręby, soja i groch. W żywieniu normatywnym dopuszcza się stosowanie modyfikowanej genetycznie kukurydzy i soi, ale do 0,9% ich udziału. Określa to Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1829/2003 z dnia 22 września 2003 r. w sprawie genetycznie zmodyfikowanej żywności. Natomiast w przypadku ekologicznej produkcji karpia, kategorycznie wyklucza się stosowanie materiałów GMO.

Na rozwój i stopień nasilenia stresu u ryb wpływają: temperatura wody, stopień jej natlenienia, obecność zanieczyszczeń, drobnoustrojów, pasożytów, gęstość obsady oraz składniki pokarmowe. Dlatego niezmiernie ważna jest u nich równowaga oksydoredukcyjna. Jej zachwianie może spowodować wiele zaburzeń ogólnoustrojowych, powodowanych wystąpieniem tak zwanego „stresu oksydacyjnego”. Pojęcie to oznacza brak równowagi między procesem tworzenia reaktywnych form tlenu w komórkach, a zdolnością organizmu do ich neutralizacji. Zakłócenie równowagi oksydacyjno-antyoksydacyjnej, polega na niekontrolowanym wzroście reaktywnych form tlenu (RFT) oraz zmianach aktywności enzymów obrony antyoksydacyjnej np. dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (KAT), czy peroksydazy (POD). KAT, jako enzym obrony antyoksydacyjnej, zapobiega gromadzeniu się nadtlenu wodoru katalizując reakcję rozkładu tego związku do wody i tlenu cząsteczkowego. Jest to istotne ze względu na fakt, iż toksyczna forma tlenu, jakim jest nadtlenek wodoru, stanowi substrat reakcji Fentona, która prowadzi do wytworzenia najbardziej reaktywnej formy tlenu – rodnika hydroksylowego. Jednak głównym enzymem o działaniu antyoksydacyjnym jest SOD, który w reakcji dysmutacji, eliminuje ze środowiska komórki anionorodniki ponadtlenkowe, z których powstaje nadtlenek wodoru. Z kolei POD odpowiada za katabolizm większości nadtlenu wodoru powstającego w komórkach. Ma ona większe, niż katalaza powinowactwo do H_2O_2 , co wskazuje na szczególną jej rolę w detoksykacji tego związku, gdy jego stężenie w komórce jest małe. Przy dużym stężeniu H_2O_2 , rolę tę przejmuje KAT. Działanie obu enzymów zapewnia usuwanie nadmiaru H_2O_2 , dzięki czemu nie dochodzi do powstawania innych wolnych rodników i reaktywnych pochodnych tlenu.

U ryb odporność błony śluzowej jelita zależy głównie od tkanki limfoidalnej związanej z jelitami (GALT), której cechy zależą od znajdujących się tam granulocytów, limfocytów i makrofagów oraz wydzielanych przez nie cytokin (Rombout i in. 2011). Naruszenie struktury komórek budujących przewód pokarmowy, powoduje pogorszenie wchłaniania substancji odżywczych zawartych w pokarmie, obserwujemy gorsze wykorzystanie paszy. W obrębie jelita karpia (nabłonek i blaszka właściwa) znajdują się zbiory limfoidalne jelit - GALT. Uszkodzenie lokalno-śluzówkowego systemu immunologicznego, powoduje zaburzenie homeostazy organizmu. Odporność organizmu zostaje osłabiona, przez co ryby narażone są na częstsze zakażenia oraz zatrucia. Konsekwencją tego mogą być gorsze przyrosty, mniej wartościowe mięso a także wyższe upadki wśród hodowanych w stawach ryb. W jelicie rybitim,

analogicznie jak u ssaków, układ antyoksydacyjny składa się z nieenzymatycznych substancji przeciwutleniających i enzymów antyoksydacyjnych (Jiang i in. 2010).

Cel i metoda

Celem doświadczeniu była analiza porównawcza, dotycząca aktywności enzymów antyoksydacyjnych: peroksydazy (POD), dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (KAT), stężenia wolnych grup sulfhydrylowych (-SH), poziomu peroksydacji lipidów i wskaźników metabolicznych glukozy, fruktozy i proliny w jelicie środkowym karpia pochodzących z hodowli konwencjonalnej i ekologicznej.

Doświadczenie przeprowadzono w Gospodarstwie Rybackim Iława Spółka z o.o. w woj. warmińsko-mazurskim, które prowadzi konwencjonalną produkcję karpia oraz w Gospodarstwie Rolniczym JACHNA w woj. wielkopolskim, które prowadzi ekologiczną produkcję karpia w czasie od maja do listopada 2018 r. Informacje dotyczące zawartości składników pokarmowych oraz składu chemicznego paszy dla karpia zamieszczono w tabelach 1 oraz 2. Badania na rybach nie wymagały uzyskania stosownej zgody Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach, ponieważ jelito środkowe od ryb pozyskano po ich dekapitacji, po uprzednim ich ogłuszeniu podczas patroszenia w zakładzie przetwórczym. Doświadczenie przeprowadzono na grupie 20 ryb, która stanowiły osobniki z hodowli konwencjonalnej (Grupa K, n=10) i hodowli ekologicznej (Grupa E, n=10).

Tabela 1. Zawartość surowców i skład chemiczny paszy dla karpia w hodowli konwencjonalnej

Surowce	[%]	Skład chemiczny	[%]
Premiks (5%) Karp	5,00	Sucha masa	12,17
Śruta sojowa (46%)	26,00	Białko ogólne	21,69
Śruta rzepakowa (34%)	12,00	Tłuszcz surowy	4,94
Susz z lucerny (17%)	6,00	Włókno surowe	4,58
Pszenżyto	20,50	Popiół surowy	7,38
Pszenica	15,00	Węglowodany	30,53
Olej sojowy	2,00		
Kukurydza	10,00		
Lepiszczce ligninowe	1,00		
Monobent	2,50		

Źródło: Opracowanie własne.

Aby zmierzyć parametry określające stres oksydacyjny, zastosowano metodę spektrofotometryczną. W tym celu pobrano próby tkanek pochodzących od ryb „konwencjonalnych” i „ekologicznych” 0,5 g tkanki homogenizowano w buforze do ekstrakcji o składzie: PBS (137mM NaCl, 2,7 mM KCl, 8,1mM Na₂HPO₄, 1,5 mM KH₂PO₄), 0,5 % cytrynian sodu; (POCH, Poland), 0,05% Tween 20 (SigmaAldrich, USA), inhibitory proteaz (Ref 11 697 498 001, Roche), za pomocą homogenizatora (Omni-Tips™ Disposable, Omni International). Uzyskany homogenat wirowano (8600g) przez 1 godzinę (wirówka Eppendorf 5804R), a uzyskane próbki supernatantów przechowywano w temperaturze -80°C do czasu wykonania oznaczeń.

Wybrane wskaźniki oznaczono metodą spektrofotometryczną, a uzyskane wyniki przeliczono na 1 mg białka oznaczonego wg metody Bradford. Porównania statystyczne wykonano testem t-Studenta (P<0,05).

Tabela 2. Zawartość surowców i skład chemiczny paszy dla karpia w hodowli ekologicznej

Surowce	[%]	Skład chemiczny	[%]
Premiks (5%) Karp	5,00	Sucha masa	11,12
Susz z lucerny (17%)	5,00	Białko ogólne	22,00
Pszenica	39,50	Tłuszcz surowy	6,78
Kukurydza	10,00	Włókno surowe	4,36
Lepiszczce ligninowe	1,00	Popiół surowy	5,55
Monobent	2,50	Węglowodany	31,58
Soja nasiona tostowane	22,00	Sucha masa	11,12
Łubin wąskolistny	15,00	Białko ogólne	22,00

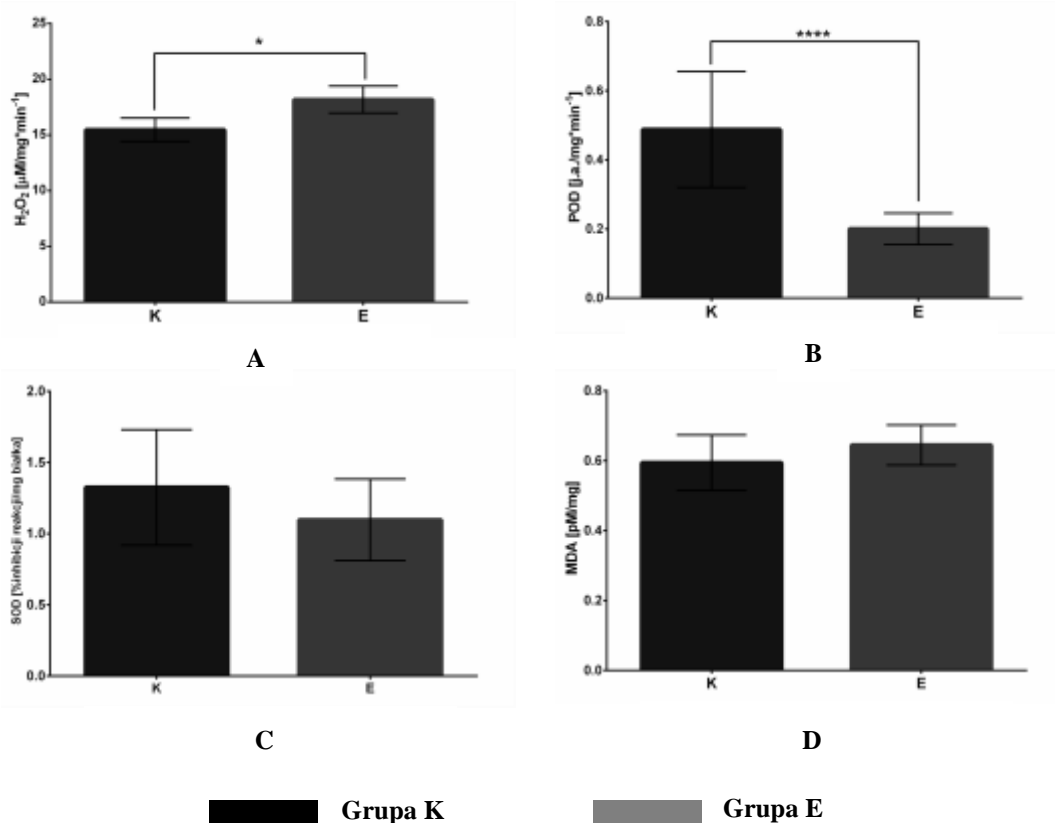
Źródło: Opracowanie własne.

Wyniki

Analiza wyników, uzyskanych z powyższych badań, wykazała wpływ żywienia karpia na modulację enzymatycznych i nieenzymatycznych wskaźników stresu oksydacyjnego w jelicie. Zaobserwowano nieznaczną różnicę aktywności malonyldialdehydu pomiędzy dwiema badanymi grupami. Wynosiły odpowiednio 0,64 pM/mg i 0,59 pM/mg odpowiednio w grupie ryb pochodzących z chowu ekologicznego i tradycyjnego. Zanotowano wyższe

stężenie grup SH wynoszące 7,54 nM/mg i 6,25 nM/mg oraz wyższe stężenie fruktozy wynoszące 2,51 µg/ml i 1,37µg/ml u ryb utrzymywanych konwencjonalnie. Stężenie glukozy było istotnie wyższe w grupie żywionej ekologicznie w porównaniu do grupy żywionej konwencjonalnie i wyniosło 24,57 µg/mg i 12,5 µg/mg. Aktywność SOD oraz aktywność peroksydazy były wyższe w jelitach ryb z chowu tradycyjnego niż ekologicznego. Wynosiły 1,33 j.a./mg i 1,1 j.a./mg (SOD) oraz 0,49j.a./mg i 0,2j.a./mg(POD). Aktywność katalazy wynosiła 18,18 µM/ mg w próbkach jelita środkowego zwierząt utrzymywanych na fermie ekologicznej i 15,47 µM/ mg pochodzących z fermy konwencjonalnej.

Rysunek1. Enzymatyczne i nieenzymatyczne wskaźniki równowagi oksydo-reakcyjnej w jelicie środkowym karpi z hodowli konwencjonalnej (Grupa K) i hodowli ekologicznej (Grupa E); katalaza (A), peroksydaza (B), dysmutaza ponadtlenkowa (C), malonyldialdehyd (D).* P<0,5; **** P<0,0001



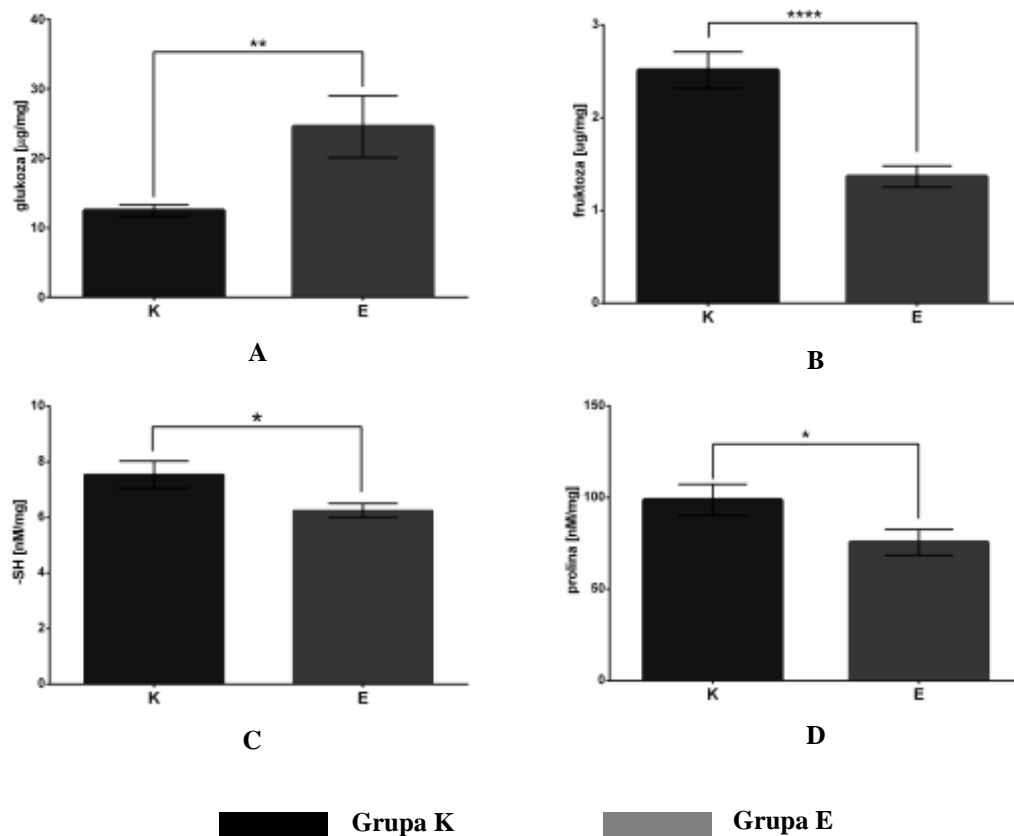
Źródło: Opracowanie własne.

Dyskusja

Prawidłowo funkcjonujące jelito środkowe, odgrywa podstawową rolę w trawieniu i wchłanianiu składników odżywczych oraz w rozwoju ryb (Luo i in. 2014), co ściśle zależy od statusu immunologicznego i integralności strukturalnej błony śluzowej (Zhao i in. 2014). Jak

wskazują badania pasza i jej niektóre składniki odżywcze mogą wpływać na zmiany homeostazy w jelitach ryb.

Rysunek 2. Wskaźniki metaboliczne w jelicie środkowym karpia z hodowli konwencjonalnej (Grupa K) i hodowli ekologicznej (Grupa E); glukoza (A), fruktoza (B), grupy -SH (C), prolina(D). * P<0,5; ** P<0,01; **** P<0,0001



Źródło: Opracowanie własne.

Ryby podobnie jak wszystkie organizmy tlenowe, są również wrażliwe na ataki reaktywnych form tlenu i w konsekwencji, mają system obrony antyoksydacyjnej. Stres oksydacyjny, indukowany przez szereg czynników, powoduje wzrost peroksydacji makromolekuł, czego efektem są uszkodzenia membran lipidowych oraz białek, co również wpływa na zmniejszenie własności barierowych nabłonka jelitowego (Liu i in. 2016). Reaktywne formy tlenu, w procesie peroksydacji lipidów, powodują powstawanie m. in. malonylodwualdehydu (MDA) oraz trans 4 – hydroksy-2-nonenalu (4-HNE), a także propanalu i heksanal (Alicanii Kubes1996). Obserwowany w grupie karpia utrzymywanych w systemie konwencjonalnym, wzrost stężenia MDA, może sugerować początek takich przemian. Uszkodzenia oksydacyjne tkanek u ryb są ściśle związane z nieenzymatycznymi przeciwutleniaczami, takimi jak grupy -SH i enzymy antyoksydacyjne, takie jak KAT, czy POD

(Jayaseelan i in. 2014). Głównym donorem grup sulfhydrylowych w komórkach, są reszty cysteinowe białek oraz glutationu GSH). Statystyczny wzrost stężenia metabolicznych grup sulfhydrylowych w jelicie karpi konwencjonalnych (-SH), może sugerować rozwijający się stan zapalny, ponieważ jest to powiązane z cyklem pentozofosforanowym oraz z glikolizą, co jest elementem przeprogramowania metabolicznego komórki podczas stanu zapalnego (Bovaird i in. 1982). Aktywowane mitogenem komórki układu immunologicznego zwiększają zużycie energii nawet dwadzieścia razy. Stan ten wiąże się z podwyższoną ekspresją genu dla transportera glukozy GLUT 1. Wyższa w grupie karpi konwencjonalnych zawartość fruktozy, może być powiązana ze zwiększoną aktywnością glikolizy (Kominsky i in. 2010).

Podsumowanie

Uzyskane wyniki świadczą o znacznym pobudzeniu markerów stresu oksydacyjnego u ryb hodowanych konwencjonalnie (poza aktywnością katalazy). Wyniki wskazują na to, że warunki hodowli konwencjonalnej są bardziej represyjne, w porównaniu do systemu ekologicznego nawet w przypadku markerów metabolicznych, gdyż intensywność glikolizy (fruktoza) w warunkach normoksji, jest wyższa u karpi hodowli konwencjonalnej.

Literatura

- Alican I., Kubes P. 1996. *A critical role for nitric oxide in intestinal barrier function and dysfunction.* Am. J. Physiol. 270: G225–G237.
- Bovaird J.H., Ngo T.T., Lenhoff H.M. 1982. *Optimizing the o-phenylenediamine assay for horseradish peroxidase: effects of phosphate and pH, substrate and enzyme concentrations, and stopping reagents.* Clin. Chem. 28(12): 2423-2426.
- Jayaseelan C., Rahuman A., Ramkumar R., Perumal P., Rajakumar G., Kirthi A.V. 2014. *Effect of sub-acute exposure to nickel nanoparticles on oxidative stress and histopathological changes in Mozambique tilapia, Oreochromis mossambicus.* Ecotoxicol. Environ. Saf. 107: 220-228.
- Jiang W.D., Feng L., Liu Y., Jiang J., Hu K., Li S. H., Xiao Qiu Z. 2010. *Lipid peroxidation, protein oxidant and antioxidant status of muscle, intestine and hepatopancreas for juvenile Jian carp (Cyprinus carpio var. Jian) fed graded levels of myoinositol.* Food Chem. 120: 692-697.
- Kominsky D, Campbell E, Colgan S. 2010. *Metabolic shifts in immunity and inflammation.* J. Immunol. 184(8): 4062-4068.
- Liu F., Cottrell J.J., Furness J.B., Rivera L.R., Kelly F.W, Wijesiriwardana U., Pustovit R.V., Fothergill L.J., Bravo D.M., Celi P., Leury B.J., Gabler N.K., Dunshea F.R. 2016. *Selenium and vitamin E together improve intestinal epithelial barrier function and alleviate oxidative stress in heat-stressed pigs.* Exp Physiol. 101(7): 801-810.
- Luo J.B., Feng L., Jiang W.D., Liu Y., Wu P., Jiang J., Kuang S.Y., Tang L., Zhang Y.A., Zhou X.Q. 2014. *The impaired intestinal mucosal immune system by valine deficiency for young*

grass carp (Ctenopharyngodonidella) is associated with decreasing immune status and regulating tight junction proteins transcript abundance in the intestine. Fish Shellfish Immunol. 40(1): 197-207.

Rombout J.H., Abelli L., Picchiatti S., Scapigliati G., Kiron V. 2011. *Teleost intestinal immunology.* Fish Shellfish Immun. 31: 616-626.

Zhao J., Feng L., Liu Y., Jiang W., Wu P., Jiang J., Zhang Y., Zhou X. 2014. *Effect of dietary isoleucine on the immunity, antioxidant status, tight junctions and microflora in the intestine of juvenile Jian carp (Cyprinus carpio var. Jian).* Fish Shellfish Immunol. 41(2): 663-673.

Wpływ żywienia karpia na kształtowanie się parametrów immunologicznych jelita

The effect of carp's feeding on changes in immunological parameters of intestine

Marta Gwizdon

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Koło Naukowe „Żywienie Zwierząt”
Opiekun: dr hab. Kazimierz Obremski

Abstract

In the breeding of carp, with conventional systems or according to organic principles fish nutrition plays a very important role.

The aim of the study was to compare the immune response of the intestine in carps based on the analysis of IL-1 β , IFN- γ , IL-8, IL-10 and TNF- α secretion. Statistical analysis was performed using the t- Student test at $P < 0.05$. In the samples of the middle intestine of carp, obtained from conventional production (n=10) and organic production (n=10), cytokine determinations were made by ELISA method using commercial tests. The study showed statistically significantly higher concentrations of all cytokines tested, namely IL-1 β ($P < 0.5$), IFN- γ ($P < 0.5$), IL-8 ($P < 0.05$), IL-10 ($P < 0.01$) and TNF- α ($P < 0.001$) in carp bred in a conventional system compared to fish from organic farm.

Obtained results suggest that there is probability that conventional methods of carp maintenance and feeding lead to increased dysfunctions in the intestinal physiology, which manifests itself in the form of an increase in inflammatory cytokines.

Keywords: carps, conventional, organic production, immune response, cytokines

Wstęp

Żywienie stanowi główny koszt ponoszony przez hodowcę, dlatego opracowuje się receptury pasz, które pozwalają w pełni wykorzystać potencjał wzrostowy ryb. W Polsce są prowadzone dwie odmiany chowu karpia: ekstensywny i intensywny (Kłoskowski 2011). Chów ekstensywny (naturalny) polega na odżywianiu ryb wyłącznie pokarmem naturalnym, do którego zalicza się plankton, bentos (Sivakumar i Solaimalai 2003). Chów intensywny opiera się na wprowadzeniu w hodowli karpia, różnych czynników intensyfikujących zasoby pokarmowe stawu, jak: nawożenie, prace pielęgnacyjne i agrotechniczne oraz żywienie polegające na dokarmianiu ryb paszami pełnoporcjowymi. Ze względu na sposób żywienia, w chowie intensywnym wyróżniamy żywienie ekologiczne lub konwencjonalne. W ekologicznym chowie karpia, warunkiem uzyskania wysokiej wydajności i zdrowotności zwierząt, jest m.in. zapewnienie wysokiej jakości pasz o certyfikacie ekologicznym (Devaraj

i in. 1986). Wymogi prawne stanowią, by dla ryb podstawą żywienia było środowisko naturalne, a więc to, co jest dostępne w stawach. Niemniej jednak, jeśli naturalne źródła paszy nie są dostępne w wystarczających ilościach, można stosować ekologiczne pasze pochodzenia roślinnego, najlepiej z danego gospodarstwa. Surowce do produkcji pasz są głównie pochodzenia roślinnego, rzadziej zwierzęcego. Najczęściej wykorzystuje się łubiny, kukurydzę, jęczmień, żyto, pszenicę, otręby, soję i groch. W żywieniu konwencjonalnym może być stosowana genetycznie modyfikowana kukurydza i soja, natomiast ekologiczny chów ryb wyklucza stosowanie materiałów GMO. Dopuszczalną zawartości GMO w paszach określa Rozporządzenie Komisji (WE) nr 1829/2003 z dnia 22 września 2003 r. w sprawie genetycznie zmodyfikowanej żywności i wynosi ono 0,9%. W paszach o standardzie ekologicznym, wykluczona jest całkowicie obecność białka modyfikowanego genetycznie.

Tkanekę limfoidalną u ryb stanowią grasicca, nerka głowowa, pełniąca rolę szpiku kostnego - miejsce hematopoezy, śledziona oraz tzw. zbiory limfoidalne (GALT – gut associated lymphoid tissue), występujące w ścianie jelit (Salinas 2015). Komórki tworzące te zbiory, umiejscowione są w nabłonku oraz w blaszce właściwej jelit (Stosik i Deptuła 1993). Główne skupiska tkanki limfatycznej występującej w obrębie przewodu pokarmowego GALT, są u ryb zgromadzone w środkowym odcinku jelit. Rombout i van den Berg sugerują podobieństwo tego odcinka jelit z grudkami Peyera u saków. GALT jest miejscem centrów melano-makrofagowych (MMCs - melano-macrophage centres), mających zdolność długotrwałego przechowywania antygeny w postaci kompleksów immunologicznych i co ważne, zawierają zarówno miejsca efektorowe, jak i induktorowe. MMC mogą być zbudowane z różnej liczby komórek, które po pochłonięciu przez nie materiału ulegającego fagocytozie, zostają otoczone kilkoma warstwami komórek nabłonkowych.

Cel i metoda

Celem badań było porównanie stanu odpowiedzi immunologicznej w jelicie środkowym u karpia hodowanych w systemie konwencjonalnym i ekologicznym, na podstawie analizy wydzielania interleukiny 1 β (IL-1 β), interferonu gamma (IFN- γ), interleukiny 8 (IL-8), interleukiny 10 (IL-10) i czynnika martwicy nowotworu (TNF- α).

Doświadczenie przeprowadzono w Gospodarstwie Rybackim Iława Spółka z o.o. w woj. warmińsko-mazurskim, które prowadzi konwencjonalną produkcję karpia oraz w Gospodarstwie Rolniczym JACHNA w woj. wielkopolskim, które prowadzi ekologiczną produkcję karpia w czasie od maja do listopada 2018 r.

Tabela 1. Zawartość składników pokarmowych w paszy dla karpia w hodowli konwencjonalnej

Składnik	[%]
Premiks (5%) Karp	5,00
Śruta sojowa (46%)	26,00
Śruta rzepakowa (34%)	12,00
Susz z lucerny (17%)	6,00
Pszenżyto	20,50
Pszenica	15,00
Olej sojowy	2,00
Kukurydza	10,00
Lepiszczce ligninowe	1,00
Monobent	2,50

Źródło: Opracowanie własne.

Informacje dotyczące zawartości składników pokarmowych oraz składu chemicznego paszy dla karpia, zamieszczono w tabelach 1-4. Badania na rybach nie wymagały uzyskania stosownej zgody Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach, ponieważ jelito środkowe od ryb pozyskano po ich dekapitacji, po uprzednim ich ogłuszeniu podczas patroszenia w zakładzie przetwórczym.

Tabela 2. Skład chemiczny paszy dla karpia w hodowli konwencjonalnej

Składnik	[%]
Sucha masa	12,17
Białko ogólne	21,69
Tłuszcz surowy	4,94
Włókno surowe	4,58
Popiół surowy	7,38
Węglowodany	30,53

Źródło: Opracowanie własne.

Doświadczenie przeprowadzono na grupie 20 ryb, która stanowiły osobniki z hodowli konwencjonalnej (Grupa K, n=10) i hodowli ekologicznej (Grupa E, n=10).

Tabela 3. Zawartość składników pokarmowych w paszy dla karpia w hodowli ekologicznej

Składnik	[%]
Premiks (5%) Karp	5,00
Susz z lucerny (17%)	5,00
Pszenica	39,50
Kukurydza	10,00
Lepiszczce ligninowe	1,00
Monobent	2,50
Soja nasiona tostowane	22,00
Łubin wąskolistny	15,00

Źródło: Opracowanie własne.

Tabela 4. Skład chemiczny paszy dla karpia w hodowli ekologicznej

Składnik	[%]
Sucha masa	11,12
Białko ogólne	22,00
Tłuszcz surowy	6,78
Włókno surowe	4,36
Popiół surowy	5,55
Węglowodany	31,58

Źródło: Opracowanie własne.

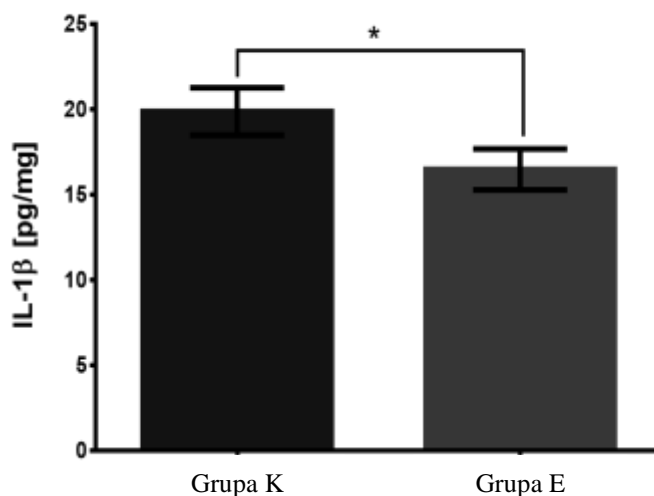
Próbki tkanek pochodzących od ryb „konwencjonalnych” i „ekologicznych” (0,5 g), homogenizowano w buforze do ekstrakcji o składzie: PBS (137mM NaCl, 2,7 mM KCl, 8,1mM Na₂HPO₄, 1,5 mM KH₂PO₄), 0,5 % cytrynian sodu; (POCH, Poland), 0,05% Tween 20 (Sigma Aldrich, USA), inhibitory proteaz (Ref 11 697 498 001, Roche), za pomocą homogenizatora (Omni-Tips™ Disposable, Omni International). Uzyskany homogenat wirowano (8600g) przez 1 godzinę (wirówka Eppendorf 5804R), a uzyskane próbki supernatantów, przechowywano

w temperaturze -80°C do czasu wykonania oznaczeń. Oznaczenia stężeń cytokin wykonano metodą ELISA wg zaleceń producenta testów, a uzyskane wyniki przeliczono na 1 mg białka oznaczonego wg metody Bradford. Porównania uzyskanych wyników wykonano testem jednoczynnikowym ANOVA, a różnice międzygrupowe testowano testem t-Studenta ($P < 0,05$).

Wyniki badań

Wpływ diety na wybrane parametry immunologiczne w jelicie środkowym u karpia, przedstawiono na rysunkach 1-5. Uzyskane wyniki badań wykazały, że średnie stężenie IL-1 β w jelicie środkowym karpia z hodowli konwencjonalnej wynosiło 19,88 pg/mg i było statystycznie wyższe od wykazanego w grupie ryb pozyskanych z hodowli ekologicznej ($P < 0,5$) (Rys.1).

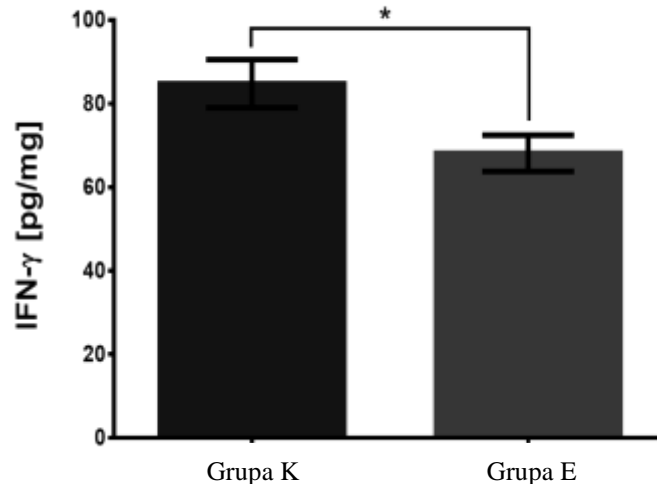
Rysunek 1. Stężenie IL-1 β w jelicie środkowym karpia z hodowli konwencjonalnej (Grupa K) i hodowli ekologicznej (Grupa E), * $P < 0,5$



Źródło: Opracowanie własne.

Badanie poziomu IFN- γ wykazało, że średnie stężenie stężenia IFN- γ u ryb z hodowli konwencjonalnej wynosiło 84,77 pg/mg i było statystycznie wyższe od wykazanego w grupie ryb z hodowli ekologicznej ($P < 0,5$) (Rys. 2).

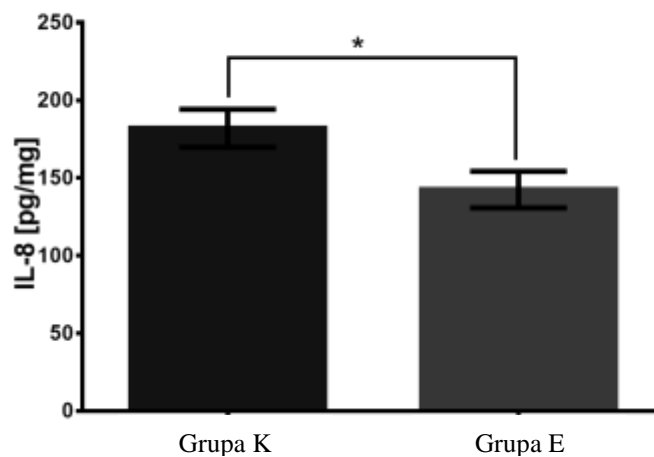
Rysunek 2. Stężenie IFN- γ w jelicie środkowym u karpia z hodowli konwencjonalnej (Grupa K) i hodowli ekologicznej (Grupa E), * $P < 0,5$



Źródło: Opracowanie własne.

Analizując uzyskane wyniki, można zaobserwować, że średnie stężenie stężenia IL-8 u ryb z hodowli konwencjonalnej, wynosiło 182,00 pg/mg i było statystycznie wyższe od wykazanego w grupie ryb z hodowli ekologicznej ($P < 0,5$) (Rys. 3).

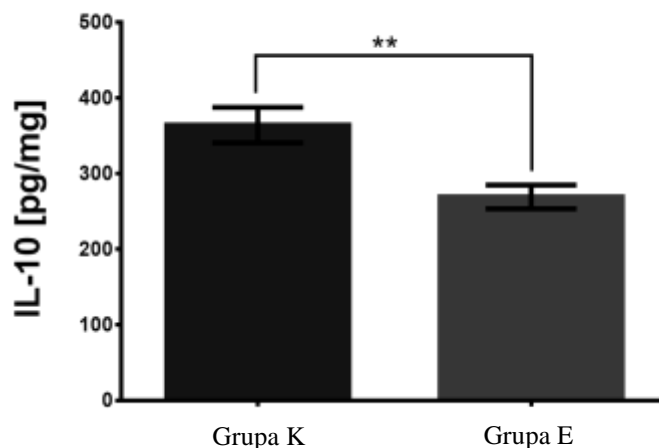
Rysunek 3. Stężenie IL-8 w jelicie środkowym u karpia z hodowli konwencjonalnej (Grupa K) i hodowli ekologicznej (Grupa E), * $P < 0,5$



Źródło: Opracowanie własne.

W przypadku IL-10, uzyskane wyniki badań wykazały, że jej średnie stężenie w jelicie śródkowym wyniosło 364 pg/mg i było statystycznie wyższe od wykazanego w grupie ryb z hodowli ekologicznej ($P < 0,01$) (Rys. 4).

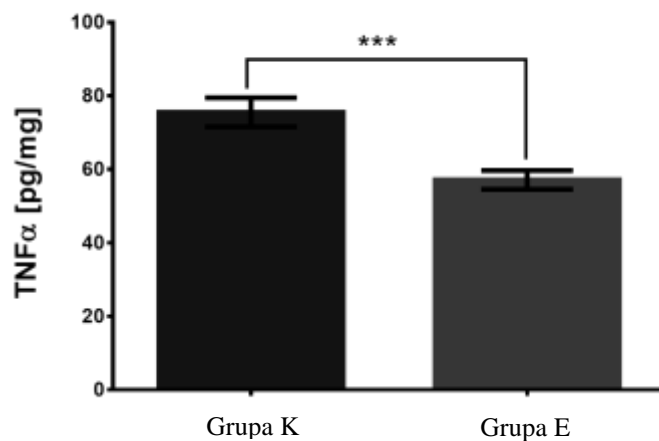
Rysunek 4. Stężenie IL-10 w jelicie śródkowym karpi z hodowli konwencjonalnej (Grupa K) i hodowli ekologicznej (Grupa E), * $P < 0,01$



Źródło: Opracowanie własne.

Poddając analizie wyniki badań widzimy, że średnie stężenie TNF- α u ryb z hodowli konwencjonalnej wynosiło 75,54 pg/mg i było statystycznie wyższe od wykazanego w grupie ryb z hodowli ekologicznej ($P < 0,001$) (Rys. 5).

Rysunek 5. Stężenie TNF- α w jelicie śródkowym karpi z hodowli konwencjonalnej (Grupa K) i hodowli ekologicznej (Grupa E), *** $P < 0,001$



Źródło: Opracowanie własne.

Dyskusja

W większości prowadzonych badań porównujących ekologiczny i konwencjonalny sposób chowu karpia, ocenia się takie parametry, jak zróżnicowana obsada czy warunki środowiskowe (Ötles i in. 2010). W naszym doświadczeniu, kryterium porównawczym była odpowiedź immunologiczna. Ryby należą do najstarszej grupy kręgowców, a ich układ odpornościowy funkcjonuje podobnie do układu odpornościowego ptaków i ssaków. Ocena odpowiedzi immunologicznej, na podstawie wydzielanych cytokin, może służyć do oceny zdrowotności ryb, ponieważ zmiany w wydzielaniu cytokin w narządach związanych z odpornością, dostarczają dowodów na oddziaływanie immunomodulujące/hamujące wielu czynników.

Podobnie, jak u ssaków, tak i u ryb cytokiny klasyfikuje się, jako prozapalne (IL-1 β , IL-8 i TNF- α) i cytokiny przeciwzapalne (IL-6, IL-10 i TGF- β 1) (Wang i Husain 2014). W przeprowadzonych badaniach za wskaźnik odpowiedzi immunologicznej wybrano wydzielane w GALT interleukiny 1 β (IL-1 β), interferonu gamma (INF- γ), interleukiny 8 (IL-8), interleukiny 10 (IL-10) i czynnika martwicy nowotworu (TNF- α). U ssaków występują dwie izoformy prozapalnej interleukiny 1: IL-1 α i IL-1 β , ale tylko IL-1 β została dobrze scharakteryzowana u ryb. Głównym jej źródłem są polimorfojądrowe leukocyty, które na skutek wielu czynników, mogą ulegać stymulacji i ją wydzielać. Jak podają Rui i in. (Riu i in. 2012), ryby narażone na czterochlorek węgla, wykazywały podwyższoną ekspresję IL-1 β . Jednak, jak podają inni autorzy, wysoki poziom białka w paszach może hamować jej ekspresję, jak również IL-8. TNF- α jest cytokiną prozapalną i wydzielaną we wczesnej fazie infekcji u ryb (Uribe i in. 2011), ponadto odgrywa rolę w regulacji stanu zapalnego i jego funkcja pokrywa się z działaniem IL-1 β . IL-1 β uwolniona w większej ilości w jelicie karpia konwencjonalnych, aktywuje monocyty, dlatego może wywoływać u tych ryb immunologiczną odpowiedź zapalną. Można się tu spodziewać reakcji zapalnej poprzez przyciąganie neutrofilów i monocytów. Ponadto, jak podają Zou i Secombes, wzmacniać się może uwalnianie histaminy przez bazofile, degranulacja eozynofików i wytwarzanie prostaglandyn pobudzających syntezę fosfolipazy A₂ uwalniającej kwas arachidonowy z fosfolipidów błony komórkowej i wzmożenia przylegania limfocytów i neutrofilów do komórek śródbłonna (Zou i Secombes 2004)

Z kolei wzrost aktywności IL-8, może skutkować chemotaktyczne przyciąganiem do miejsca reakcji zapalnej komórek i pobudzać ich właściwości bakteriobójcze (Zou i Secombes 2004). Obserwowany wzrost syntezy INF- γ przez limfocyty T, może u tych ryb wpływać na

układ odpornościowy, nasilając cytotoxycytność limfocytów T_c, komórek K, komórek NK, aktywację makrofagów oraz indukując ekspresję innych cytokin np. IL-1, IL-6, czy TNF- α .

Interleukina 10 (IL-10), wytwarzana głównie przez pobudzone limfocyty Th, spełnia wiele funkcji, które w efekcie hamują odpowiedź immunologiczną typu komórkowego i odpowiedź zapalną i pomimo statystycznie wyższego jej stężenia w grupie ryb z hodowli konwencjonalnej, nie wywarła efektu hamującego.

Podsumowanie

Produkcja karpia metodami ekologicznymi jest obwarowana wieloma ograniczeniami m.in. zakazem stosowania pasz modyfikowanych genetycznie. Wprowadzenie do żywienia zwierząt pasz, zawierających modyfikowane genetycznie białka, może wiązać się z pojawianiem się licznych pytań dotyczących bezpieczeństwa takiej paszy i jej wpływu na organizm zwierzęcia. Uzyskane wyniki sugerują, że prawdopodobnie konwencjonalne metody utrzymania i żywienia karpia zwiększają dysfunkcje w fizjologii jelita, co manifestuje się w postaci wzrostu stężenia cytokin zapalnych. Stan zapalny w jelicie może zmieniać stan immunologiczny w całym organizmie i może być przyczyną obniżenia odporności.

Literatura

- Antychowicz J., Pękała A., Kramer I. 2017. *Przyczyny strat w hodowli karpia i ich leczenie*. Życie Wet. 92(3): 190-200.
- Devaraj, K.V., Manissery, J.K. and Keshavappa, G.Y. 1986. *On the growth of grass carp (Ctenopharyngodon idella) fed with Lucerne (Medicago sativa) and Hydrilla (Hydrilla verticillata) and libitium in cement cisterns*. Mysore J. of Agricult. Science, 19: 275-278.
- Jia R., Cao L., Xu P., Jeney G., Yin G. 2012. *In vitro and in vivo hepatoprotective and antioxidant effects of Astragalus polysaccharides against carbon tetrachloride-induced hepatocyte damage in common carp (Cyprinus carpio)*. Fish Physiol. Biochem. 38(3): 871-881.
- Kloskowski J. 2011. *Impact of common carp Cyprinus carpio on aquatic communities: direct trophic effects versus habitat deterioration*. Fundam Appl Limnol. 178: 245–255.
- Lucińska M, Grajeta H. 2015 *Wpływ modyfikacji genetycznych na jakość i bezpieczeństwo żywności*. Probl. Hig. Epidemiol. 96(4): 705-712.
- Ötles Y., Ozden O., Ötles S. 2010. *Organic fish production and the standards*. Acta Sci. Pol., Technol. Aliment. 9(2): 125-131.
- Rozporządzenie (WE) nr 1829/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 22 września 2003r. w sprawie genetycznie zmodyfikowanej żywności i paszy (Dz. Urz. WE L 268 z 18.10.2003 z późn. zm.).
- Salinas I. 2015. *The Mucosal Immune System of Teleost Fish Biology*, 4: 525-539.

- Sivakumar C., Solaimalai A. 2003. *Weed management in rice-fish-azolla farming system-A Review*. Agricultural Review, 24(3): 190-196.
- Stosik M., Deptuła W. 1993. *Narządy limfoidalne ryb*. Med. Weter. 49 (1): 22-23.
- Uribe C., Folch H., Enriquez R, Moran G. 2011. *Innate and adaptive immunity in teleost fish: a review*, Vet. Med. 56: 486–503.
- Zou J., Secombes C.J. 2016. *The Function of Fish Cytokines*. Biology (Basel). 5(2): 23.
- Wang T., Husain M. 2014. *The expanding repertoire of the IL-12 cytokine family in teleost fish: identification of three paralogues each of the p35 and p40 genes in salmonids, and comparative analysis of their expression and modulation in Atlantic salmon *Salmo salar**. Dev. Comp. Immunol. 46: 194-207.

Ocena parametrów stresu oksydacyjnego w śledzionie w powiązaniu z żywieniem karpia

Evaluation of oxidative stress parameters in the spleen in connection with carps feeding

Adrianna Myszkowska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Koło Naukowe „Żywienie Zwierząt”
Opiekun: dr hab. Kazimierz Obremski

Abstract

Nutrition and maintenance are factors that directly and indirectly affect cell metabolism. Spleen is the main lymphoid organ in the body of carp, which is responsible for production of antibodies and ensuring immunity. Parameters of the oxidoreductive balance are indicators of the physiological and biochemical status of the spleen. The aim of this study was to determine the association between the type of nutrition and oxidative stress in spleen of carp. The study was conducted on spleen of carp and the enzymatic and nonenzymatic oxidative stress indicators were investigated using spectrophotometrical method. The study showed differences in parameters of oxidative stress of fish from normative breeding compared to fish from organic breeding. Conventional carp maintenance and feeding may stress them and lower their immunity.

Keywords: carp, oxidative stress, spleen of carp

Wstęp

Historia chowu i hodowli karpia (*Cyprinus carpio*) w stawach ziemnych na ziemiach polskich, liczy już kilkadziesiąt lat. Jest to dominująca ryba hodowlana w krajowej produkcji. Zmienność cech umożliwia wyodrębnienie kilku podgatunków karpia, między innymi śródkowoazjatyckiego, dalekowschodniego, północnowietnamskiego i europejskiego. W hodowli stawowej dominuje udomowiona forma karpia (Lirski 2007). Do najważniejszych cech gatunkowych należą: zdolności wzrostowe, brak drapieżności, odporność na niesprzyjające warunki środowiska, podatność na manipulacje w trakcie procesu produkcji, zdolność szybkiej adaptacji oraz regeneracji w przypadku zmiany środowiska a także możliwość przyswajania pasz zadawanych do stawu (Białowas 2008). Aktualnie w produkcji karpia wykorzystuje się dwa główne systemy, różniące się sposobem żywienia oraz technologią utrzymania ryb. Akwakultura ekologiczna polega na chowie mało intensywnym, przy mniejszej obsadzie, w oparciu o pasze z gospodarstw ekologicznych, w stawach z dużą różnorodnością biologiczną, zasilanych czystą wodą (Barszczewski i in. 2010). Utrzymanie konwencjonalne

charakteryzuje się intensyfikacją czynników, tj. żywienie, nawożenie, prace pielęgnacyjne i agrotechniczne. Największe znaczenie ma tu dokarmianie ryb (także paszami opartymi na surowcach modyfikowanych genetycznie). Organizmy żyjące w środowisku podlegają wpływom czynników stresogennych. W zależności od siły oraz czasu oddziaływania, mogą one modyfikować procesy fizjologiczne oraz zmniejszają szanse przeżycia. Do elementów stresogennych zalicza się czynniki naturalne oraz substancje chemiczne, które przedostają się do środowiska, przy udziale człowieka (Wilczek 2008).

Istotnym elementem w hodowli ryb jest żywienie, które wpływa na organizm w sposób bezpośredni na poziomie komórkowym oraz pośredni na wyższych poziomach organizacji biologicznej.

U większości kręgowców odpowiedź immunologiczna obejmuje zarówno odporność wrodzoną, jak i nabytą. U ryb kostnoszkieletowych nerka głowowa i śledziona są największymi narządami limfoidalnymi i immunokompetentnymi (Zapata i in. 2006). Homeostaza organizmu i jej odpowiednie funkcjonowanie determinowana jest przez równowagę oksydacyjno-antyoksydacyjną. Jej zaburzenie związane jest najczęściej z nadprodukcją reaktywnych form tlenu, które powodują stres oksydacyjny (Jopkiewicz 2018). Wolne rodniki utleniają składniki komórkowe, co w konsekwencji doprowadza do ich uszkodzeń. Proces utleniania nienasyconych kwasów tłuszczowych i innych lipidów, w których powstają nadtlenki tych związków, zaburza funkcje komórek (Halliwell i in. 1992). Do najgroźniejszych toksycznych produktów peroksydacji lipidów należy dialdehyd malonowy (MDA), który blokuje grupy -SH białek, powoduje inhibicję enzymów komórkowych oraz uszkodzenia DNA. W wyniku peroksydacji lipidów, dochodzi do zmniejszenia płynności błon komórkowych, zwiększenia ich przepuszczalności dla wielu jonów i związków oraz uszkodzenia enzymów błonowych. Dialdehyd malonowy zmienia właściwości antygenowe białek, hamuje aktywność niektórych enzymów, hamuje replikację i transkrypcję DNA oraz powoduje pęknięcia nici DNA (Sakharov i in. 2005). Obok lipidów bardzo podatne na działanie wolnych rodników są białka. Utlenianie grup -SH do kwasów sulfinowych i sulfonowych jest procesem nieodwracalnym, prowadzi do różnego rodzaju uszkodzeń, takich jak fragmentacja, modyfikacja reszt aminokwasowych, przyczyniając się do utraty funkcji biologicznej białka (Dalle-Donne i in. 2003). Głównym enzymem, o działaniu antyoksydacyjnym, jest dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), która w reakcji dysmutacji eliminuje ze środowiska komórki anionorodniki ponadtlenkowe, z których powstaje nadtlenek wodoru. Jest on rozkładany do wody i tlenu z udziałem katalazy (KAT) oraz peroksydazy (POD) (Boon i in. 1997). Zmiany na poziomie molekularnym są mierzalne

i mogą służyć jako wskaźnik poziomu stresu spowodowanego przez dowolny czynnik środowiskowy (Laskowski i Migula 2004).

U karpia narządem o wysokim metabolizmie komórkowym, jest śledziona, która wchodzi w skład tkanki limfoidalnej u ryb. Narząd ten zbudowany jest z miazgi czerwonej oraz białej, otoczony cienką powłoką tkanki łącznej. Funkcje tkanki limfoidalnej śledziony, pozostają ciągle kontrowersyjne. U dojrzałych immunologicznie ryb jest drugorzędny narządem limfoidalnym (Chiller 1969). Wśród limfocytów śledziony występują komórki T oraz B. Śledziona bierze udział w pierwotnej i wtórnej odpowiedzi immunologicznej oraz spełnia funkcje w produkcji czerwonych krwinek w organizmie karpia (Stosik i Deptuła 1993).

Cel i metoda

Celem pracy była ocena stanu równowagi oksydoredukcyjnej w śledzionie karpia pozyskanych z hodowli konwencjonalnej i ekologicznej poprzez oznaczenie enzymatycznych i nieenzymatycznych wskaźników stresu oksydacyjnego.

Z Gospodarstwa Rybackiego Iława Spółka z o.o. w woj. warmińsko-mazurskim, prowadzącego normatywny chów karpia i z Gospodarstwa Rolniczego JACHNA w woj. wielkopolskim, które zajmuje się ekologiczną produkcją ryb, pozyskano do badań próbki śledziony. Badania na rybach nie wymagały uzyskania stosownej zgody Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach, ponieważ narządy od ryb pozyskano po ich dekapitacji po uprzednim ich ogłuszeniu podczas patroszenia w zakładzie przetwórczym. Od maja do listopada 2018 r. ryby żywiono paszami, których skład procentowy zamieszczono w tabeli wartości składników pokarmowych oraz składu chemicznego paszy (Tab. 1). Grupę doświadczalną stanowiło 20 ryb (osobniki z hodowli normatywnej, Grupa K, n=10 i z hodowli ekologicznej, Grupa E, n=10). Śledzionę od karpia pozyskano po dekapitacji po uprzednim ich ogłuszeniu podczas patroszenia ryb i przygotowania tuszek do dalszej obróbki technologicznej.

Próbki tkanek o masie 0,5 g homogenizowano w buforze do ekstrakcji o składzie: PBS (137mM NaCl, 2,7 mM KCl, 8,1mM Na₂HPO₄, 1,5 mM KH₂PO₄), 0,5 % cytrynian sodu; (POCH, Poland), 0,05% Tween 20 (Sigma Aldrich, USA), inhibitory proteaz (Ref 11 697 498 001, Roche), za pomocą homogenizatora (Omni-TipsTM Disposable, Omni International). Uzyskany homogenat (8600g) wirowano przez 1 godzinę (wirówka Eppendorf 5804R), a uzyskane próbki supernatantów, przechowywano w temperaturze -80°C do czasu wykonania oznaczeń. Metodą spektrofotometryczną zmierzono aktywność katalazy (KAT), peroksydazy (POD), stężenie malonyldialdehydu (MDA), grup -SH i fruktozy, a uzyskane wyniki

przeliczono na 1 mg białka oznaczonego wg metody Bradford. Porównania uzyskanych wyników wykonano testem jednoczynnikowym ANOVA, a różnice międzygrupowe testowano testem t-Studenta ($P < 0,05$).

Wyniki

Karpie w poszczególnych gospodarstwach rybackich były karmione granulowaną pełnoporcjową paszą, której skład surowcowy i chemiczny zamieszczono w tabeli 1.

Tabela 1 Zawartość surowców i skład chemiczny paszy dla karpia

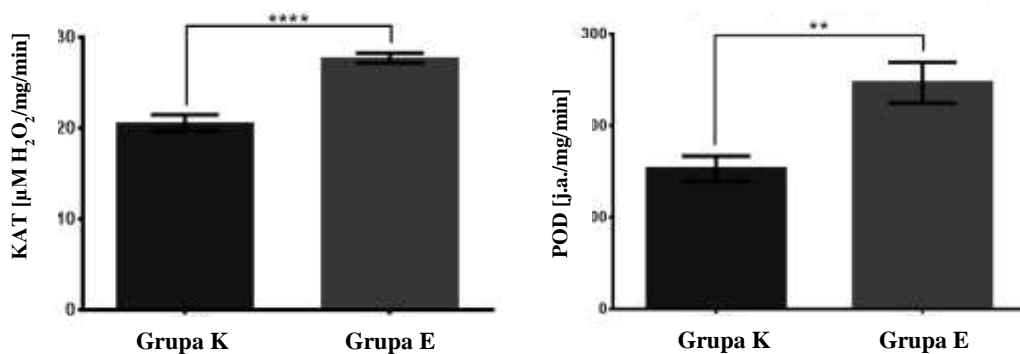
Pasza dla karpia w hodowli normalatywnej			
Surowiec	[%]	Skład chemiczny	[%]
Premiks (5%) Karp	5,00	Sucha masa	12,17
Śruta sojowa (46%)	26,00	Białko ogólne	21,69
Śruta rzepakowa (34%)	12,00	Tłuszcz surowy	4,94
Susz z lucerny (17%)	6,00	Włókno surowe	4,58
Pszenżyto	20,50	Popiół surowy	7,38
Pszenica	15,00	Węglowodany	30,53
Olej sojowy	2,00		
Kukurydza	10,00		
Lepiszczce ligninowe	1,00		
Monobent	2,50		
Pasza dla karpia w hodowli ekologicznej			
Surowiec	[%]	Skład chemiczny	[%]
Premiks (5%) Karp	5,00	Sucha masa	11,12
Susz z lucerny (17%)	5,00	Białko ogólne	22,00
Pszenica	39,50	Tłuszcz surowy	6,78
Kukurydza	10,00	Włókno surowe	4,36
Lepiszczce ligninowe	1,00	Popiół surowy	5,55
Monobent	2,50	Węglowodany	31,58
Soja nasiona tostowane	22,00	Sucha masa	11,12
Łubin wąskolistny	15,00	Białko ogólne	22,00

Źródło: Opracowanie własne

Badanie wykazało statystycznie niższą aktywność katalazy ($P < 0,0001$), peroksydazy ($P < 0,01$) i dialdehydu malonowego w homogenatach śledziony karpia pozyskanych z hodowli normalatywnej, w porównaniu z karpiami ze stawów o produkcji ekologicznej, wynoszące odpowiednio KAT 20,5 μM [H_2O_2]/mg/min i 27,70 μM [H_2O_2]/mg/min., POD 153,30 247,20 j.a./mg/min. i 247,20 j.a./mg/min. oraz MDA 0,37 pM/mg i 0,46 pM/mg. Stężenie metabolicznych grup -SH i fruktozy w śledzionie karpia, utrzymywanych w grupie

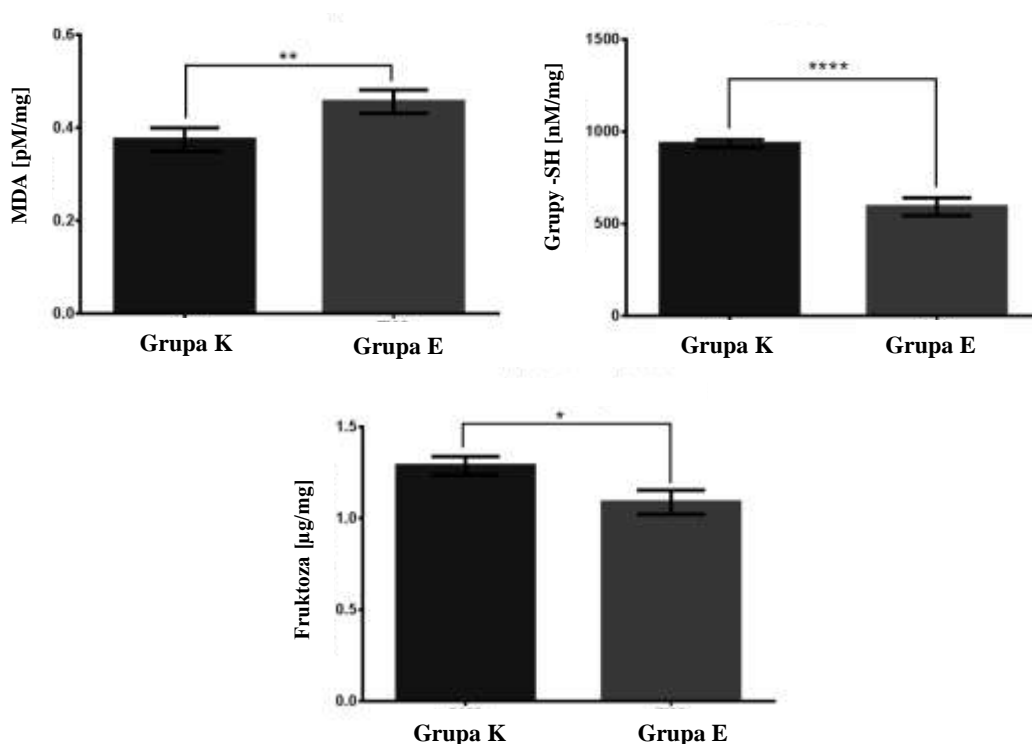
konwencjonalnej w porównaniu do ekologicznych, okazało się statystycznie wyższe i wynosiło odpowiednio, grupy -SH 936,50 nM/mg i 593,70 nM/mg i fruktoza, 1,29 $\mu\text{g}/\text{mg}$ i 1,09 $\mu\text{g}/\text{mg}$.

Rysunek 1. Enzymatyczne wskaźniki równowagi oksydo-redukcyjnej w śledziona karpia z hodowli normatywnej (Grupa K) i hodowli ekologicznej (Grupa E); katalaza (KAT) i peroksydaza (POD), ** $P < 0,01$; **** $P < 0,0001$



Źródło: Opracowanie własne

Rysunek 2. Nieenzymatyczne wskaźniki równowagi oksydo-redukcyjnej w śledziona karpia z hodowli normatywnej (Grupa K) i hodowli ekologicznej (Grupa E); dialdehyd malonowy (MDA), metaboliczne grupy -SH i fruktoza; * $P < 0,5$ ** $P < 0,01$; **** $P < 0,0001$



Źródło: Opracowanie własne

Dyskusja

Organizmy tlenowe, w sytuacjach fizjologicznych, trwale wytwarzają reaktywne formy tlenu (ROS), jako produkty metabolizmu oksydacyjnego. Zachowanie równowagi pomiędzy wytwarzaniem i usuwaniem ROS, jest konieczne do utrzymania prawidłowego stanu redoks. W tym celu komórki są wyposażone w enzymatyczne i nieenzymatyczne mechanizmy antyoksydacyjne (przeciwutleniające). Przeważnie wysokie współczynniki ROS uszkadzają komórki i powodują uszkodzenie DNA, denaturację enzymów i zmiany strukturalne białek, jak również peroksydację wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA), prowadząc do patologii i zmian rozwojowych (Duran i Talas 2009). Najważniejsze enzymy biorące udział w obronie komórki przed skutkami nadmiernej produkcji ROS, to dysmutaza ponadtlenkowa (SOD), katalaza (KAT), czy peroksydaza glutationowa (GPx). Innym wskaźnikiem zaburzenia stanu redoks jest peroksydacja lipidów, polegająca na przyłączeniu tlenu do cząsteczki nienasyconego kwasu tłuszczowego, a podstawowym produktem utleniania lipidów jest dialdehyd malonowy (MDA) czy pomiar stężenia metabolicznych grup –SH.

U ryb kostnoszkieletowych, śledziona jest jednym z największych narządów limfoidalnych i immunokompetentnych (Fishelson 2006). Obecna tam tkanka erytropoetyczna bierze udział w syntezie nowych erytrocytów. Ponadto śledziona jest unikalnym narządem u ryb, który wychwytuje antygeny (Balamurugan i in. 2012).

Ryby są bardzo wrażliwe na zmiany w ich otoczeniu. Jakość wody w stawach charakteryzowana jest stężeniem tlenu rozpuszczonego w wodzie, BZT₅, zawiesiną i mineralnymi związkami azotu i fosforu czy wartością pH. Hodowla ekologiczna ryb obwarowana jest szeregiem ograniczeń, dotyczących m.in. intensywności chowu, obsady stawu czy w końcu rodzajem skarmianych pasz. Zmniejszona aktywność enzymów antyoksydacyjnych w śledzionie karpia, pochodzących z hodowli konwencjonalnej, świadczyć może o spadku zdolności antyoksydacyjnych i występowaniu stresu oksydacyjnego.

Uszkodzenia oksydacyjne tkanek u ryb są ściśle związane z nieenzymatycznymi przeciwutleniaczami, takimi jak metaboliczne grupy -SH i enzymatycznym, takimi jak KAT, czy POD (Jayaseelan i in. 2014). Głównym donorem grup sulfhydrylowych w komórkach są reszty cysteinowe białek oraz glutationu (GSH). Statystyczny wzrost stężenia metabolicznych grup sulfhydrylowych w jelicie karpia konwencjonalnych (-SH) może sugerować rozwijający się stan zapalny, ponieważ jest to powiązane z cyklem pentozofosforanowym oraz z glikolizą, co jest elementem przeprogramowania metabolicznego komórki podczas stanu zapalnego (Bovaird i in. 1982). Aktywowane mitogenem komórki układu immunologicznego zwiększają

zużycie energii nawet dwadzieścia razy, co jest związane z podwyższoną ekspresją genu dla transportera glukozy. Wyższa w grupie karpki konwencjonalnych zawartość fruktozy może być powiązana ze zwiększoną aktywnością glikolizy (Kominsky i in. 2010), która z kolei może być efektem stresu środowiskowego, związanego ze sposobem utrzymania i żywienia ryb.

Podsumowanie

Uzyskane wyniki sugerują, że prawdopodobnie konwencjonalne metody utrzymania i żywienia karpki, mogą u nich wyzwać sytuacje stresowe. Wysoce prawdopodobny wysoki poziom kortyzolu u karpki hodowanych, normatywnie mógł wpłynąć na obniżoną aktywność katalazy i peroksydazy (markery stresu oksydacyjnego) w porównaniu do karpki hodowanych w systemie ekologicznym.

Literatura

- Balamurugan S., Deivasigamani B., Kumaran S., Sakthivel M., Rajsekar T., Priyadharsini P. 2012. *Melanomacrophage centers aggregation in P. lineatus spleen as bioindicator of environmental change*. Asian Pac. J. Trop. Med. 2: 635–638.
- Barszczewski J., Kaca E., Wojda R. 2010. *Warunki środowiskowe oraz wyniki produkcyjne w ekologicznym oraz konwencjonalnym chowie karpki*. Res. Appl. Agric. Engng, 55(3): 14-19.
- Białowąs H. 2008. *Karp jako ryba hodowlana [w:] Technologia produkcji rybkiej a jakość karpki*. Olsztyn: 32.
- Boon E.M., Downs A., Marcey D. 1997. *Catalase. Oxidoreductase. Reviews on structure and function od catalases*. Biomolecules at Kenyon. 267 (1): 57.
- Bovaird J.H., Ngo T.T., Lenhoff H.M. 1982. *Optimizing the o-phenylenediamine assay for horseradish peroxidase: effects of phosphate and pH, substrate and enzyme concentrations, and stopping reagents*. Clin. Chem. 28(12): 2423-2426.
- Chiller J.M., Hodgins H.O. 1969. *Antibody Response in Rainbow Trout (Salmo Gairdneri)*. J. Immun. 102: 1193.
- Dalle-Donne I., Rossi R., Giustarini D., Milzani A., Colombo R. 2003. *Protein carbonyl groups as a biomarker of oxidative stress*. Clin. Chim. Acta, 329(1-2): 23-38.
- Duran A., Talas Z.S. 2009. *Biochemical changes sensory assessment on tissues of carp (Cyprinus carpio Linnaeus 1758) during sale conditions*. Fish Physiol. Biochem. 35: 709-714.
- Fishelson L. 2006. *Cytomorphological alterations of the thymus, spleen, head-kidney, and liver in cardinal fish (Apogonidae, Teleostei) as bioindicators of stress*. J. Morphol. 267(1): 57-69.
- Halliwell B., Gutteridge J.M., Cross C.E. 1992. *Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now?* J. Lab. Clin. Med. 119(6): 598-620.

- Jayaseelan C., Rahuman A., Ramkumar R., Perumal P., Rajakumar G., Kirthi A.V. 2014. *Effect of sub-acute exposure to nickel nanoparticles on oxidative stress and histopathological changes in Mozambique tilapia, Oreochromis mossambicus*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 107: 220-228.
- Jopkiewicz S. 2018. *Stres Oksydacyjny jako czynnik rozwoju chorób cywilizacyjnych*. *Med. Środow.* 21(2): 48-52.
- Kominsky D., Campbell E., Colgan S. 2010. *Metabolic shifts in immunity and inflammation*. *J. Immunol.* 184(8): 4062-4068.
- Laskowski R., Migula P. 2004. *Ekotoksykologia – od komórki do ekosystemu*. PWRiL, Warszawa.
- Lirski A. 2007. *Wybrane informacje o karpniu i historii jego chowu na ziemiach polskich* [w:] *Wybrane zagadnienia dobrostanu karpia*. Olsztyn: 11.
- Sakharov D.V., Elstak E.D., Chernyak B., Wirtz K.W. 2005. *Prolonged lipid oxidation after photodynamic treatment. Study with oxidation-sensitive probe*. *FEBS Lett.* 579(5): 1255-1260.
- Stosik M., Deptuła W. 1993. *Narządy limfoidalne ryb*. *Med. Wet.*, 49(1): 22-23.
- Wilczek G. 2008. *Komórkowe strategie reakcji pajaków na stres środowiskowy*. *Pr. Nauk. Uniw. Śl.* 2638: 117.
- Zapata A., Diez B., Cejalvo T., Gutiérrezde F.C., Cortés A. 2006. *Ontogeny of the immune system of fish*. *Fish Shellfish Immunol.* 20 (2): 126–136.
- Zolderdo A. J., Algera D.A., Lawrence M.J., Gilmour K.M., Fast M.D., Thuswaldner J., Willmore W.G., Cooke S.J. 2016. *Stress, nutrition and parental care in a teleost fish: exploring mechanisms with supplemental feeding and cortisol manipulation*. *J. Exp. Biol.* 219: 1237-1248.

Wpływ różnych stężeń chlorku sodu na przeżywalność *in vitro* wybranych szczepów *Yersinia ruckeri* izolowanych od pstrąga tęczowego

Effect of various sodium chloride concentrations on *in vitro* survival of selected *Yersinia ruckeri* strains isolated from rainbow trout

Bernard Kordas
Maciej Bartosz Zaganiacz

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Studenckie Koło Naukowe Ichtiopatologów
Opiekun: dr n. wet. Elżbieta Terech-Majewska

Abstract

Due to the growing problem of antibiotic resistance of bacteria, an increasing emphasis is placed on the development of alternative means of dealing with bacterial diseases. *Yersiniosis* of salmonids, caused by the bacterium *Yersinia ruckeri* (*Y. ruckeri*) is one of the major diseases affecting rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). The aim of the conducted research was to evaluate the sensitivity of selected *Y. ruckeri* strains (isolated from disease cases) to various concentrations of sodium chloride solution. Sodium chloride is widely and multi-directionally used in aquaculture. We investigated the effect of various, used in aquaculture practice, concentrations of sodium chloride solution on the *in vitro* survival of selected *Y. ruckeri* strains.

The results of the experiments carried out and gathered literature data indicate possible differences in survival rate between *Y. ruckeri* strains and therefore the necessity for further research on this topic.

Keywords: *Yersinia ruckeri*, sodium chloride, aquaculture

Wstęp

Yersinia ruckeri (*Y. ruckeri*) jest Gram-ujemną, oksydazo-ujemną pałeczką, mogącą posiadać wici (O’Leary i in. 1979). Na płytkach wzrostowych tworzy bezbarwne, gładkie, lekko wzniesione kolonie o gładkich brzegach (Ross i in. 1966). Wywoływana przez nią choroba – jersinioza, może dotyczyć wielu gatunków ryb, jednak za szczególnie wrażliwe uznaje się ryby łososiowate, w tym pstrąga tęczowego (*Oncorhynchus mykiss*). Ze względu na często występujący u tego gatunku zaczerwienienia w okolicy otworu gębowego, choroba ta nazywana jest „chorobą czerwonej gęby” (ang. Enteric redmouth disease, ERM). Śnięcia, w przebiegu jersiniozy, przyczyniają się do znaczących strat ekonomicznych (Furones i in. 1993; Kumar i in. 2015). Badania wskazują, że bakteria ta bytuje w środowisku przewodu pokarmowego zdrowych ryb, w ich narządach wewnętrznych, potencjalnie w organizmach bezkręgowców

wodnych (Willumsen 1989), jak również posiada zdolność przeżycia przez długi czas w środowisku wodnym, w tym do kilku miesięcy w osadach dennych w zbiornikach hodowlanych i na ich ścianach, tworząc biofilm, który podobnie jak w przypadku innych bakterii, może być źródłem nawracających infekcji (Pratt i Kolter 1998; Coquet i in. 2002). Bakteria ta potrafi przeżyć dłuższy czas nie tylko w wodzie słodkiej, ale również w słonawej. Stwierdzono zahamowanie jej wzrostu przy zasoleniu 5 %, jednak niektóre szczepy są zdolne do wzrostu nawet w stężeniu równym 7,0 % (Gudmundsdottir i in. 2014; Thorsen i in. 1992). Wysoce rozwinięta oporność *Y. ruckeri* na różne warunki środowiska, w tym warunki panujące w organizmach ryb, umożliwiając jej przetrwanie w postaci bezobjawowego nosicielstwa. Szacuje się, że do 25% populacji ryb może być nosicielami *Y. ruckeri* (Busch i Lingg 1975). Stosowane w praktyce leczenie antybiotykami, takimi jak enrofloksacyna, neomycyna, oksytetracyklina, amoksycylina czy sulfadiazyna w kombinacji z trimetoprimem przy wybuchu choroby jest zwykle skuteczne. Nie przynosi jednak zazwyczaj rezultatów w postaci eradykacji choroby w zbiornikach hodowlanych, co skutkuje jej cyklicznymi nawrotami. *Y. ruckeri* wykazuje ponadto silną zdolność do wykształcania oporności na stosowane antybiotyki (Defoirdt i in. 2007; Terech-Majewska i in. 2017).

Wyróżniono dotąd dwa biotypy, różniące się aktywnością lipazy oraz zdolnością ruchu. Biotyp 1 wykazuje pozytywną reakcję w obu tych cechach, podczas gdy biotyp 2 nie posiada tych cech. W oparciu o antygen otoczkowy – O, można wyróżnić pięć serotypów: O1, O2, O5, O6 oraz O7. Serotyp O1 uznawany jest za najbardziej patogenny (Calvez i in. 2014). W ostatnich latach opisano również serotyp O8 (Ormsby i in. 2016).

Czynniki stresogenne działają immunosupresyjnie oraz wyzwalająco na jersiniozę wywoływaną przez *Y. ruckeri* oraz jej transmisję (Hunter i in. 1980). Można podzielić je na: a) manipulacje rybami w czasie czynności związanych z ich odłowem, transportem i sprzedażą, zwłaszcza jeżeli zbiorniki, między którymi ryby są transportowane, zasilane są wodą o innych właściwościach biochemicznych; b) fizykochemiczne zmiany, o dużej amplitudzie parametrów wody; c) skażenie zbiornika substancjami toksycznymi – ksenobiotykami różnego pochodzenia. Utrata łusek czy uszkodzenia skrzelii, jako przerwanie naturalnych barier ochronnych organizmu ryby, sprzyjają wtórnym miejscowym zakażeniom bakteryjnym, które mogą ulegać uogólnieniu. Oprócz czynników mechanicznych, podobnie destrukcyjne działanie na mechanizmy obronne układu powłokowego ryby, wywierają toksyczne związki chemiczne. Działają bezpośrednio stresogennie, a wprowadzane z pokarmem, mogą wywierać wpływ na funkcję przewodu pokarmowego. Przy założeniu, że stres jest nieznaczny i krótkotrwały,

a odpowiednie parametry fizykochemiczne wody (w tym w szczególności koncentracja tlenu w wodzie) i dostęp do dobrej jakości paszy są zachowane, rekonwalescencja u ryb przebiega szybko. Przyspiesza ją wykonanie tzw. płuczki (umieszczenie ryb w dobrze natlenionej wodzie o najlepszym przepływie) oraz dodatek chlorku sodu (NaCl) w odpowiednim stężeniu, zmniejszającym stres oksydacyjny (Antychowicz i Pękala 2015). W podchowach ryb hodowlanych oraz w akwarystyce związek ten jest stosowany jako środek przeciw pasożytniczy, w profilaktyce i terapii inwazji *Ichthyophthirius multifiliis*, *Ichtybodo sp.*, *Chilodonella sp.*, *Trichodina sp.* Najczęściej są stosowane jako kąpiel krótkotrwała, trwająca 10-30min, w roztworach soli o stężeniach 1-3%, co odpowiada 10-30 g/dm³ wody (Grudniewska i Terech-Majewska 2015).

Ze względów ekonomicznych, hodowcy decydują się na wykorzystanie szczepionek przeciw jersiniozie. Ten sposób zabezpieczania hodowli przed *Y. ruckeri* zyskuje na popularności (Toback i in. 2007). Producenci szczepionek nie zawsze podają dokładną charakterystykę szczepu wykorzystanego do przygotowania szczepionki. Informacja ta ma kluczowe znaczenie ze względu na fakt, że szczepy terenowe należące do biotypu 2, są w stanie przełamywać odporność poszczepienną, jeżeli szczepionka została oparta tylko na szczepie należącym do biotypu 1 (Pajdak i in. 2017). Nie mniej istotny jest wskaźnik MRL (maximum residue limit), służący określaniu okresu karencji (czasu, przez który w badaniu poubojowym ryb, można wykryć w nim pozostałości danej substancji) (Passantino i Russo 2008). Chlorek sodu jest związkiem chemicznym o wielokierunkowym pozytywnym działaniu, niskiej, potencjalnej szkodliwości dla akwakultury w stosowanych w praktyce stężeniach i niewymagającą zachowania okresu karencji.

Cel i metoda

Celem doświadczenia było ustalenie, czy wykorzystywanie roztworów chlorku sodu w hodowli ryb, ma wpływ na przeżywalność *Y. ruckeri* oraz czy znacząco wpływa na przeżywalność bakterii w środowisku wodnym.

Do badań wybrano cztery szczepy *Y. ruckeri*. Identyfikacja została potwierdzona zarówno przy pomocy testu API 20E (BioMerieux), jak i z zastosowaniem metody PCR.

W doświadczeniu użyto jednego szczepu należącego do serotypu O5 (szczep I) oraz trzech szczepów należących do serotypu O1. Dwa pochodzące z przypadków chorobowych z różnych gospodarstw rybackich (szczep II, III) oraz szczep referencyjny (IV). Przygotowano

zawiesiny bakteryjne o gęstości 0,5McF przy użyciu densymetru Densilameter II (Erba Lachema).

Do sporządzenia roztworów wykorzystano chlorek sodu (NaCl) cz.d.a. (Eurochem BGD Sp. z o.o.) oraz wodę destylowaną. Po analizie danych literaturowych oraz badaniach wstępnych, zdecydowano się na sporządzenie roztworów NaCl o następujących stężeniach: 3%, 5%, 10%, 15%. Do 5 ml roztworu NaCl dodawano 1 ml zawiesiny bakteryjnej tak, aby otrzymać pożądane stężenie końcowe. Próbę kontrolną ujemną stanowiła czysta woda destylowana, a próbę kontrolną dodatnią – 5 ml wody destylowanej z dodatkiem 1 ml zawiesiny bakteryjnej.

Zawiesiny bakterii w roztworze NaCl posiewano na podłoża agarowe tryptozowo-sojowe TSA (Merck) po upływie: 20 min, 40 min, 60 min, 90 min, 120 min i 24h od sporządzenia. Między kolejnymi posiewami, próbówki z próbkami były stale mieszane i inkubowane w temperaturze 28°C w cieplarni z wytrząsarką firmy STUART. Za każdym razem wykonywano posiewy każdego ze szczepów poddawanych działaniu określonych wcześniej stężeń.

Dodatkowo wykonano test antybiotykooporności na wybranych pięć substancji, oparty o ocenę pól zahamowania wzrostu kolonii wybranych wcześniej szczepów, używając zawiesin bakteryjnych o gęstości 0,5McF. Działanie antybiotyków oparte jest o ich dyfuzję z krążka do podłoża Mueller-Hintona (Oxoid). Do doświadczenia wybrano: chloramfenikol (C), enrofloksacynę (ENR), oksytetracyklinę (OT), norfloksacynę (NOR), gentamycynę (CN). Gentamycyna i chloramfenikol zostały wyprodukowane przez firmę Biomerieux. Enrofloksacyna, oksytetracyklina oraz norfloksacyna zostały wyprodukowane przez firmę Oxoid. Gotowe krążki z antybiotykami umieszczono na płytkach wzrostowych i poddano 24 h inkubacji w temperaturze 28°C.

Wyniki badań

W przeprowadzonych badaniach, nie zaobserwowano hamującego wpływu wybranych stężeń chlorku sodu na wzrost *Y. ruckeri* w przypadku wszystkich z czterech badanych szczepów posiewanych po: 20 min, 40 min, 60 min, 90 min, 120 min inkubacji w roztworach chlorku sodu we wszystkich z wybranych stężeń. Bakterie obecne w próbie kontrolnej (K⁺) zachowały porównywalną zdolność wzrostu w posiewach po: 20 min, 40 min, 60 min, 90 min,

120 min i 24 h. Próby kontrolne ujemne (-), nie wykazywały wzrostu kolonii bakteryjnych w posiewach po: 20 min, 40 min, 60 min, 90 min, 120 min i 24 h.

Próby posiewowe, po 24 h inkubacji w temperaturze 28°C, wykazały pierwsze obserwowane wyniki hamującego działania sporządzonych roztworów na rozwój kultur bakteryjnych na podłożu (Tabela 1.). Wzrost szczepu II został zahamowany już przez roztwór NaCl o stężeniu 3%, pozostałe szczepy wykazywały wzrost w tym stężeniu. W stężeniu 5%, wzrost został zahamowany w przypadku szczepów II i III. Zdolność do wzrostu po 24-godzinnej inkubacji w roztworze 5% zachowały szczepy I oraz IV (referencyjny). W roztworze o stężeniu NaCl 10% i 15%, obserwowano zahamowanie wzrostu wszystkich wybranych szczepów *Y. ruckeri*.

Tabela 1. Opracowanie własne. Przedstawia przeżywalność *Y. ruckeri* po 24-godzinnej inkubacji w roztworach chlorku sodu. Poziomo przedstawiono stężenia chlorku sodu w roztworach. K+ oznacza próbę dodatnią, K- oznacza próbę ujemną

Lp/%	3	5	10	15	K+	K-
I	+	+	-	-	+	-
II	-	-	-	-	+	-
III	+	-	-	-	+	-
IV	+	+	-	-	+	-

Źródło: Opracowanie własne.

Wszystkie z użytych krążków z antybiotykami, wykazały działanie hamujące na wzrost wybranych szczepów *Y. ruckeri*. Szczepy I, II, III wykazywały największą strefę zahamowania dla norfloksacyny, enrofloksacyny oraz chloramfenikolu. W przypadku szczepu IV strefy, zahamowania dla norfloksacyny i enrofloksacyny były mniejsze, niż w przypadku pozostałych szczepów.

Dyskusja

Chlorek sodu jest prostą i powszechnie dostępną substancją chemiczną stosowaną w hodowli ryb oraz w akwarystyce. W praktyce wykonuje się kąpiele ryb, w których wykorzystywana jest sól niejodowana. Wskazaniem do użycia jest zwłaszcza krótkotrwały transport zwierząt (Antychowicz i in. 2017). Niewielkie stężenia chlorku sodu mają również pozytywny wpływ na osmoregulację i redukcję stresu oksydacyjnego. Stwierdzono, że przy zakażeniu eksperymentalnym *Y. ruckeri* pstrąga tęczowego utrzymywanego w wodzie

o różnym stopniu zasolenia (0,11; 0,3; 0,9%), wraz ze wzrostem stężenia soli śmiertelność w grupie statystycznie maleje. Może to wynikać ze stwierdzonej przez autorów, mniejszej zdolności do przylegania *Y. ruckeri* w wodzie o wyższym zasoleniu. Kolejna teoria zakłada, że przy wyższym zasoleniu, potrzebny jest mniejszy wydatek energetycznego ze strony ryb na potrzebę osmoregulacji (Altionk i Grizzle 2001). Uzyskane przez nas wyniki wskazują, że roztwory NaCl mogą mieć również wpływ na przeżywalność *Y. ruckeri* w środowisku wodnym. Nie uzyskano hamującego działania na wzrost *Y. ruckeri* po inkubacji w roztworze o stężeniu chlorku sodu 3% nawet po 24 h inkubacji w tym roztworze. Potwierdzają to wyniki uzyskane przez Altinok i Grizle (2001), którzy zastosowali stężenia 1,8% oraz 3,3%. W tych stężeniach, wzrost bakterii po upływie 24 h, był znacząco zahamowany w stosunku do niższych stężeń. Wciąż jednak wzrost bakterii był obserwowany. Zastosowane przez nas stężenia równe 5% w przypadku dwóch badanych szczepów (II i III), spowodowały całkowity brak wzrostu bakterii. Różnice w przeżywalności pomiędzy różnymi szczepami *Y. ruckeri* zaobserwował również Gudmundsdottir i in. (2014). Testowany w tym badaniu szczep wykazywał wzrost, nawet po zastosowaniu 7% roztworu soli. Na uwagę zasługuje fakt, że przebadany przez nas I szczep, należący do serotypu 5, uznawanego za mniej patogenny, wykazywał zdolność wzrostu po 24-godzinnej inkubacji w 5% roztworze chlorku sodu, podczas gdy szczepy wyizolowane z przypadków chorobowych (II i III), nie wykazały tej zdolności. Może to sugerować brak korelacji pomiędzy patogennością szczepu a jego opornością na stężenie chlorku sodu w roztworach wodnych. Nie stwierdzono również korelacji pomiędzy antybiotykowrażliwością a wrażliwością na stężenia chlorku sodu.

Stosowane procedury, wykorzystujące sól niejodowaną w świetle przedstawionych wyników, byłyby nieskuteczne wobec wybranych szczepów bakteryjnych, ze względu na zbyt krótki czas trwania wykonywanych kąpiei ryb i zbyt niskie stężenia w tym celu wykorzystywane. Stosowanie chlorku sodu w celu dezynfekcji zbiorników, w których wystąpiła jersinioza, jest więc racjonalne jedynie przy założeniu, że zapewniony zostanie odpowiednio długi czas działania roztworu chlorku sodu oraz stosunkowo wysokie jego stężenie w zbiorniku.

Podsumowanie

Trudności, jak i ograniczenia związane z rozwojem lekooporności patogenów, w tym także patogenów ryb (Alderman i Hastings 1998; Rogers 2001), prowadzą do intensywnego rozwoju alternatywnych metod zwalczania chorób. Obiecujące wydaje się stosowanie

probiotyków, takich jak probiotyczne bakterie i drożdże (Irianto i Austin 2002; Brunt i in. 2007) oraz wykonywanie szczepień (Ispir i Dorucu 2010; Ispir i Dorucu 2014; Tinsley i in. 2011; Deshmukh i in. 2012). W świetle prezentowanych wyników badań, w warunkach „*in vitro*”, chlorek sodu wykazuje wysoki potencjał ograniczający wzrost różnych szczepów *Y. ruckeri*. Może to stanowić alternatywę dla środków biobójczych stosowanych w bioasekuracji.

Zastosowanie roztworów niejodowanej soli umożliwia hodowcom wykonywanie stosunkowo prostej profilaktyki terapii antystresowej u ryb. W przeciwieństwie do iniekcji, nie wymaga od podającego dużego doświadczenia, może być przeprowadzane bez znieczulenia ogólnego i zasadniczo nie powoduje dodatkowego stresu u ryb. Wiąże się jednak z koniecznością uwzględnienia licznych ograniczeń technologicznych hodowli i wykonywania tego typu zabiegów po odpowiednim przygotowaniu zbiorników i obsługujących je urządzeń. Stosowanie i przygotowanie roztworów chlorku sodu powinno przebiegać, tak jak wszystkie zabiegi lecznicze, pod okiem ichtiopatologa (Antychowicz i Pękala 2015).

Literatura

- Alderman D.J., Hastings T.S. 1998. *Antibiotic use in aquaculture: development of antibiotic resistance – potential for consumer health risks*. Int. J. Food Sci. Technol. 33: 139–155.
- Altinok I., Grizzle J.M. 2001. *Effects of salinity on Yersinia ruckeri infection of rainbow trout and brown trout*. J. Aquat. Anim. Health. 13: 334–339.
- Antychowicz J., Pękala A. 2015. *Stres i zależne od stresu bakteryjne choroby ryb*. Życie Wet. 90 (7): 450–460.
- Antychowicz J., Pękala A., Kramer I. 2017. *Pasożytnicze choroby ryb akwariowych*. Życie Wet. 92 (7): 497–508.
- Brunt J., Newaj-Fyzul A., Austin B. 2007. *The development of probiotics for the control of multiple bacterial diseases of rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum)*. J. Fish. Dis, 30: 573–579.
- Busch R.A., Lingg A.J. 1975. *Establishment of an asymptomatic carrier state infection of enteric redmouth disease in rainbow trout (Salmo gairdneri)*. J. Fish Res. Board Can. 32: 2429–2432.
- Calvez S., Gantelet H., Blanc G., Douet D.G., Daniel P. 2014. *Yersinia ruckeri Biotypes 1 and 2 in France: presence and antibiotic susceptibility*. Dis.Aquat. Organ. 109: 117–126.
- Coquet L., Cosette P., Junter G.A., Beucher E., Saiter J.M., Jouenne T. 2002. *Adhesion of Yersinia ruckeri to fish farm materials: influence of cell and material surface properties*. Colloids Surf B: Biointerfaces 26: 373–378.
- Defoirdt T., Boon N., Sorgeloos P., Verstraete W., Bossier P. 2007. *Alternatives to antibiotics to control bacterial infections: luminescent vibriosis in aquaculture as an example*. Trends Biotechnol. 25: 472–479.
- Deshmukh S., Raida M.K., Dalsgaard I., Chettri J.K., Kania P.W., Buchmann K. 2012. *Comparative protection of two different commercial vaccines against Yersinia ruckeri*

- serotype O1 and biotype 2 in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Vet. Immunol. Immunopathol.* 145: 379–385.
- Furones M.D., Rodgers C.J. & Munn C.B. 1993. *Yersinia ruckeri*, the causal agent of enteric redmouth disease (ERM) in fish. *Annu. Rev. Fish Dis.* 3: 105–125.
- Grudniewska J., Terech-Majewska E. 2015. *Metody dezynfekcji w hodowli ryb. Zwalczenie ektopasożytów ryb.* [w:] *Ochrona zdrowia ryb w aspekcie jakości i bezpieczeństwa żywności.* Hliwa P., Woźniak M., Król J., Gomułka P. (red.) TRAF00N, Olsztyn: 72-88.
- Gudmundsdottir B.K., Gudmundsdottir S., Magnadottir B. 2014. *Yersiniosis in Atlantic cod, Gadus morhua (L.), characterization of the infective strain and host reactions.* *J. Fish. Dis.* 37: 511-519.
- Hunter V.A., Knittel M.D., Fryer J.L. 1980. *Stress-induced transmission of Yersinia ruckeri infection from carriers to recipient steelhead trout, Salmo gairdneri Richardson.* *J. Fish. Dis.* 3: 467–472.
- Irianto A., Austin B. 2002. *Probiotics in aquaculture.* *J. Fish. Dis.* 25: 633–642.
- Ispir U, Dorucu M. 2010. *Effect of immersion booster vaccination with Yersinia ruckeri extracellular products (ECP) on rainbow trout Oncorhynchus mykiss.* *Int. Aquat. Res.* 2: 127–130.
- Ispir U, Dorucu M. 2014. *Efficacy of lipopolysaccharide antigen of Yersinia ruckeri in rainbow trout by intraperitoneal and bath immersion administration.* *Res. Vet. Sci.* 97: 271–273.
- Kumar G., Menanteau-Ledouble S., Saleh M., El-Matbouli M. 2015. *Yersinia ruckeri*, the causative agent of enteric redmouth disease in fish. *Vet. Res.* 46: 103.
- O'Leary P. J., Rohovec J. S., Fryer J. L. 1979. *A further Characterization of Yersinia ruckeri (Enteric Redmouth Bacterium)* *Fish Pathol.* 14 (2): 71-78.
- Ormsby M.J., Caws T., Burchmore R., Wallis T., Verner-Jeffreys D.W., Davies R.L. 2016. *Yersinia ruckeri isolates recovered from diseased Atlantic Salmon (Salmo salar) in Scotland are more diverse than those from rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) and represent distinct subpopulations.* *Appl. Environ. Microbiol.* 82 (19): 5785-5794.
- Pajdak J., Terech-Majewska E., Platt-Samoraj A., Schulz P., Siwicki A.K., Szweda W. 2017. *Charakterystyka szczepów chorobotwórczych Yersiniaruckeri i ich znaczenie w immunoprofilaktyce pstrąga tęczowego.* *Med. Weter.,* 73 (9): 579-584.
- Passantino A., Russo C. 2008. *Maximum Residue Levels of Veterinary Medicines in Relation to Food Safety: European Community Legislation and Ethical Aspects.* *J. Verbr. Lebensm.* 3: 351 – 358.
- Pratt L.A., Kolter R. 1998. *Genetic analysis of Escherichia coli biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili.* *Mol. Microbiol.* 30: 285–293.
- Rodgers C.J., 2001. *Resistance of Yersinia ruckeri to antimicrobial agents in vitro.* *Aquaculture* 196: 325–345.
- Ross A. J., Rucker R. R., Ewing W.H. 1966. *Description of a bacterium associated with redmouth disease of rainbow trout (Salmo gairdneri).* *Can. J. Microbiol.* (12): 763-770.
- Terech-Majewska E., Bernad A., Pajdak-Czaus J., Schulz P., Siwicki A. K. 2017. *Przyczyny zaburzeń stanu zdrowia u pstrąga tęczowego – ograniczenia w diagnostyce, profilaktyce i terapii.* *Kom.Ryb.* (5): 1-5.

- Thorsen B. K., Enger O., Norland S., Hoff K. A. 1992. *Long-Term Starvation Survival of Yersinia ruckeri at Different Salinities Studied by Microscopical and Flow Cytometric Methods*. *App. Environ. Microbiol.* 58 (5): 1624-1628.
- Tinsley J.W., Lyndon A.R., Austin B. 2011. *Antigenic and cross-protection studies of biotype 1 and biotype 2 isolates of Yersinia ruckeri in rainbow trout, Oncorhynchus mykiss (Walbaum)*. *J. Appl. Microbiol.* 111: 8-16.
- Tobback E., Decostere A., Hermans K., Haesebrouck F., Chiers K. 2007. *Yersinia ruckeri infections in salmonid fish*. *J. Fish Dis.*, 30: 257-268.
- Willumsen B. 1989. *Birds and wild fish as potential vectors of Yersinia ruckeri*. *J. Fish. Dis.* 12: 275-277.

Praktyczne i ekonomiczne aspekty szczepień ryb w wybranych gospodarstwach hodowlanych północnej Polski w świetle dostępnych danych

Practical and economical aspects of fishes' vaccination in the selected breeding farms of the northern Poland in the eyes of accessible data

Maciej Bartosz Zaganiacz
Bernard Kordas

Uniwersytet Warmińsko – Mazurski w Olsztynie
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Studenckie Koło Naukowe Ichtiopatologów
Opiekun: dr n.wet. Elżbieta Terech-Majewska

Abstract

The aim of the study was to assess the knowledge of breeders from selected farms about practical and economic benefits of applying fishes' vaccination. This study also attempts to calculate potential financial benefits of such action. In the research, a survey was used, which had been prepared based on accessible literature relevant to the subject as well as data gathered from other studies about increased fish survivability after implementing immunoprophylaxis. From the collected data, it appears that the breeders applying immunoprophylaxis as a form of fishes' vaccination had noticed significant decrease of illnesses' prevalence in fishes and consequently increased survivability and mass gain. The results indicate, that vaccinating could drastically increase incomes, though not all breeders realise it.

Keywords: vaccinations, fish, prophylaxis, proceeds, immunostimulation

Wstęp

Rosnąca intensywność produkcji ryb w akwakulturze, związana z jej dynamicznym rozwojem, pojawianiem się nowych technologii i metod chowu, wiąże się z nowymi wyzwaniem dla hodowców. Intensywna hodowla ryb wiąże się ze zwiększonym zagęszczeniem osobników w zbiornikach i koniecznością ich przenoszenia. Dodatkowe pojawienie się niepożądanych parametrów wody, jak np. częste wahania temperatury lub nadmierne stężenie związków azotowych, pogłębia problem stresu i negatywnie wpływa na ich układ odpornościowy. Brak możliwości skutecznej obrony przez organizm, skutkuje wzrostem podatności na infekcje bakteryjne. Zwiększony odsetek upadków, przekłada się na obniżenie opłacalności prowadzonej działalności.

Według badań przeprowadzonych w 2009 roku przez The National Agricultural Statistics Service (NASS), na świecie 90% strat w produkcji pstrąga tęczowego zostało spowodowanych chorobami. Najbardziej występują grzybice z odsetkiem stanowiącym poniżej

5% ogółu przyczyn chorób. Około 20% stanowią osobno inwazje pasożytów i infekcje wirusowe. Ich zwalczanie jest szczególnie trudne ze względu na brak odpowiednich środków przeciwko wirusom, jak również skutecznych szczepionek. Najczęstszą przyczyną zachorowań ryb w hodowli, są infekcje bakteryjne, wynoszące ponad 50% wszystkich przyczyn chorób (Shefat 2018). Wyniki badań uzyskane na terenie Pomorza Środkowego w latach 2013-2016 wskazują, że najczęstszymi patogenami u ryb łososiowatych i karpowatych są: *Yersinia ruckeri*, *Aeromonas* sp. oraz *Pseudomonas* sp. (Lewandowska i in. 2017).

Y. ruckeri to Gram-ujemna (G-), oksydazo-ujemna pałeczka wywołująca chorobę zwaną jersiniozą lub „chorobą czerwonej gęby”. Najbardziej wrażliwym gatunkiem ryb jest pstrąg tęczowy (*Oncorhynchus mykiss*). Przebieg choroby jest najostrzejszy u osobników młodych, natomiast u starszych najczęściej występuje przebieg przewlekły, bądź bezobjawowe nosicielstwo. Wśród objawów należy wyróżnić apatyczne zachowanie, brak apetytu, pływanie przy powierzchni wody, wybroczyny wewnątrz jamy ustnej i otworu gębowego, pociemnienie skóry, wytrzeszcz gałek ocznych. Sekcyjnie u ryb stwierdza się zapalenie jelit, wybroczyny na powierzchni wątroby, trzustki, wyrostków pylorycznych, pęcherza pławnego oraz w mięśniach. *Y. ruckeri* może przez długi czas utrzymywać się w osadach dennych zbiornika a także tworzyć na jego powierzchni biofilm. W połączeniu z częstym nosicielstwem u ryb po przebytej chorobie, znacznie utrudnia to całkowite wyeliminowanie bakterii z hodowli. Szerzenie się choroby zwiększa odsetek przypadków śmiertelnych i w przypadku pstrąga tęczowego może on wynieść 70%. W chwili obecnej szczepy *Y. ruckeri* można podzielić na dwa biotypy: biotyp 1 – lipazo-dodatni wykazujący zdolność ruchu oraz biotyp 2 – lipazo-ujemny, nie posiadający zdolności do ruchu. Ma to szczególne znaczenie w kontekście oceny potencjalnej patogenności a także doboru preparatów profilaktycznych tak, by nie dochodziło do przełamania odporności poszczepiennej przez odmienne biotypy. Bakterie jednego biotypu mogą eliminować inny zajmując jego niszę. Może to zmieniać sytuację epidemiologiczną w gospodarstwie (Pajdak i in. 2017).

Furunkuloza zwana wrzodzienicą ryb łososiowatych, wywoływana jest przez psychrofilne bakterie *Aeromonas salmonicida subsp. salmonicida*. Choroba może przebiegać w formie ostrej, podostrej, przewlekłej i utajonej a sam patogen może występować w formie szorstkiej i gładkiej. Większość przypadków występowania furunkulozy została odnotowana w rejonie Polski północnej i przyczyniła się do znacznych strat w hodowli ryb łososiowatych. Najczęściej odnotowywana jest przewlekła i podostra forma zakażenia. Charakteryzuje się ona występowaniem wrzodów na skórze. Liczba upadków jest niewielka, jednak u ozdrowieńców

widoczne są liczne blizny. Postać ostra choroby przebiega z reguły wśród niespecyficznym objawów i masowych śnięć ryb. Upadki w tym przypadku mogą wystąpić nagle, również bez objawów i zmian patologicznych (Pękała i in. 2015).

Intensywna hodowla ryb łososiowatych i zagrożenie ze strony często występujących czynników patogennych, skutkuje powszechnym stosowaniem antybiotyków oraz leków przeciw pasożytniczym. Niesie to ze sobą takie zagrożenia jak zwiększenie oporności bakterii na antybiotyki i ryzyko przedostania się do środowiska pozostałości po zastosowanych lekach. Nie bez znaczenia jest znacznie wyższy stopień kumulacji substancji leczniczych w organizmie ryby w porównaniu do ssaków i ptaków (Żelazny 2015). Spowodowało to wzrost znaczenia szczepień. Stają się one coraz częściej podstawowym narzędziem w profilaktyce i zwalczaniu chorób zakaźnych u ryb (Shefat 2018). Dodatkowo, zastosowanie immunostymulatorów, obok szczepień, znacznie podnosi efektywność prowadzonego programu profilaktyki (Pękała 2015). Zainteresowanie szczepionkami zgłaszane przez hodowców prowadzących duże gospodarstwa, jest ważnym czynnikiem wskazującym na konieczność i opłacalność prowadzenia badań w tym kierunku. Jest to alternatywa do stosowania antybiotyków (Kościńska 2000; Grudniewska i in. 2010).

Podając odpowiednie szczepionki, pobudza się swoistą odpowiedź komórkową i humoralną skierowaną przeciwko konkretnemu antygenowi. co także prowadzi do wytworzenia pamięci immunologicznej. Jako szczepionki rozumie się preparaty biologiczne, w składzie których znajduje się określony antygen (szczepionki monowalentne) lub grupa antygenów (szczepionki poliwalentne), pozyskanych z patogennych mikroorganizmów, takich jak bakterie, wirusy, grzyby i pasożyty (Grudniewska i in. 2010). Szczepionki muszą być bezpieczne dla organizmu i odpowiednio immunogenne, aby wywołać wystarczająco wysoki poziom odporności u ryby. W akwakulturze możliwe jest także stosowanie autoszczepionek, które przygotowuje się ze szczepów bakterii izolowanych od ryb z gospodarstwa lub z całego dorzecza. Wysoka skuteczność autoszczepionek jest odnotowywana w szczególności w odniesieniu do drobnoustrojów warunkowo chorobotwórczych, tj. *Y. ruckeri*, *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp. W gospodarstwach, gdzie stosowane są autoszczepionki, odnotowuje się wycofywanie się chorób i utratę patogenności zwalczanego czynnika (Terech-Majewska i in. 2015).

Szczepionka może zostać podana metodą iniekcji, drogą pokarmową lub przy wykorzystaniu immersji. Podanie szczepionki drogą iniekcji jest mało opłacalne, uciążliwe i stresujące dla ryb, jednakże wiąże się z najdłuższym możliwym okresem ochrony

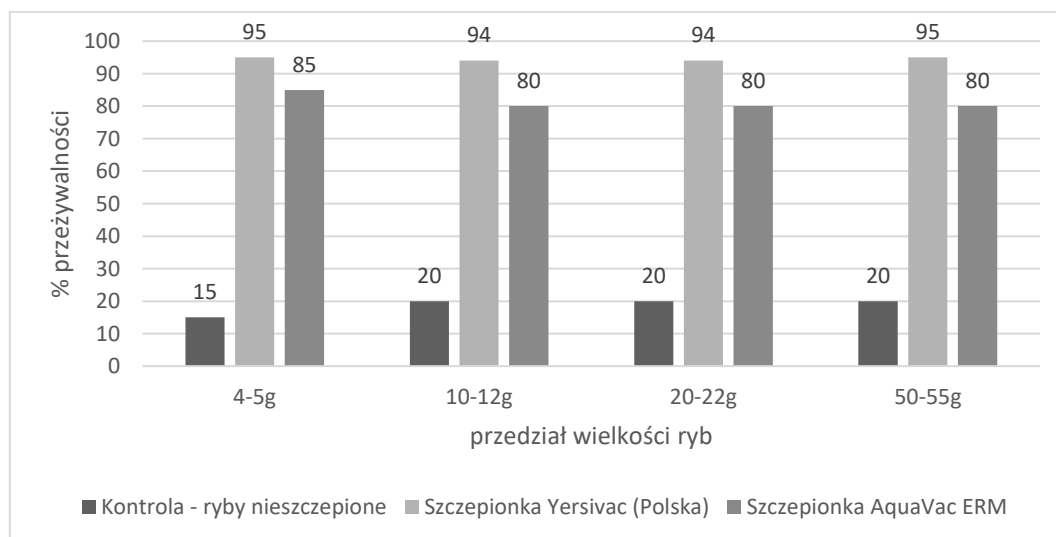
utrzymującym się do 12 miesięcy od podania. Droga „per os” niesie ze sobą konieczność uprzedniego przygotowania granulatu z antygenem szczepionkowym, ale jest również najmniej stresogennym sposobem podania szczepionki. Metoda immersji i kąpiel ryb w szczepionce jest obecnie najczęściej wykorzystywana w profilaktyce chorób bakteryjnych. Efektywność immersji jest największa w przypadku szczepienia ryb małych o masie ciała 4-10g/szt. i temperaturze wody przekraczającej 10°C (Gould 2005). Jeden dm³ prawidłowo przygotowanej szczepionki, powinien wystarczyć do kąpieli 100 kg ryb i zawiera atenuowane komórki bakterii w liczbie 1-5x10⁹/ml. Szczepionkę rozpuszcza się w stosunku 1:10 w wodzie z wylęgarni lub basenów podchowowych i przy dodatkowym natlenianiu. Odpowiednie porcje ryb zanurza się na 30-60 sekund. Dla wykształcenia prawidłowego poziomu odporności przez minimum 10 dni od szczepienia ryb, trzeba je chronić przed bodźcami stresowymi. Prawidłowo wykonane szczepienie, w żaden sposób nie oddziałuje negatywnie na zdrowie i zachowanie ryb a przyczynia się do poprawy ich zdrowia i ma istotne znaczenie ekonomiczne (Grudniewska i in. 2010). Szczególnie ważne jest objęcie programem szczepień wszystkich ryb w gospodarstwie ze względu na możliwość utrwalenia zagrożenia i uzjadliwienia się drobnoustrojów (w przypadku obecności ryb niezaszczepionych). W tym celu program i terminy szczepień należy dopasować indywidualnie do gospodarstwa. Zaszczepienie ryb po raz pierwszy, w późniejszym okresie skutkuje dłuższą protekcją. Szczepienie ryb małych o masie 1,0-2,5g, 5-10g, może z kolei wymagać późniejszego doszczepiania. Możliwe jest również zastosowanie szczepień podczas transportu ryb (Terech-Majewska i in. 2015). Dostosowanie odpowiedniej procedury może być wykonane w oparciu o wiedzę współpracującego lekarza weterynarii.

Liczba autoszczepionek ograniczających śmiertelność w akwakulturze dostępnych na świecie ciągle rośnie, pomimo poważnego ograniczenia w wytworzeniu szczepionki, jakim jest koszt wyprodukowania i opatentowania. Ponadto sporym wyzwaniem jest wytworzenie odpowiedniej mieszanki, wywołującej odpowiednią odpowiedź immunologiczną przeciwko większej ilości patogenów. Przykładowo, monowalentne szczepionki przeciwko biotypowi 1 *Y. ruckeri* ,nie zabezpieczają ryb przed biotypem 2, co prowadzi do występowania choroby pomimo zastosowania szczepienia. Opracowanie szczepionki biwalentnej z wykorzystaniem inaktywowanych obu biotypów *Y.ruckeri*, zaowocowało możliwością skutecznej ochrony zarówno przed biotypem 1, jak i przed biotypem 2. Jest to metoda skutecznej eliminacji choroby ze stada (Kumar i in. 2015). Znaczna część badań nad autoszczepionkami jest prowadzona przez koncerny farmaceutyczne. Dlatego dostępność do uzyskiwanych wyników jest mocno

ograniczona (Shefat 2018). Największa liczba preparatów dostępnych komercyjnie wprowadzono w USA (30 zarejestrowanych preparatów), Kanadzie (19), oraz Japonii (13). Najczęściej stosowane są szczepionki przeciwko jersiniozie i wibriozie. Oferuje je dziewiętnaście firm farmaceutycznych (Terech-Majewska i in. 2015). Popularną szczepionką dostępną komercyjnie jest *Yersinia Ruckeri Bacterin*, wykorzystywana w profilaktyce jersiniozy. Przeciwno wibriozie dostępne są takie preparaty, jak: *Vibrio Anguillarum-Ordalii*, *Vibrio anguillarum-salmonicida Bacterin* oraz *Listonella anguillarum Vaccine* (Shefat 2018). W Polsce szczególnym zainteresowaniem cieszy się sprowadzana z zagranicy szczepionka przeciwko jersiniozie *AquaVac ERM* (MSD Animal Health).

Badania nad skutecznością autoszczepionek w Polsce potwierdzały możliwość wykonania dobrze tolerowanego i wysoce immunogennego produktu, skutecznego w ochronie narybku pstrąga tęczowego przed jersiniozą (Siwicki i in. 2010; Kozińska 2000). Skuteczność autoszczepionek została dowiedziona przez Siwickiego i in. (2010), podczas badania autoszczepionki *Yersivac* opartej na polskich szczepach *Y. ruckeri*. Uzyskane procentowe wyniki przeżywalności ryb po podaniu różnych szczepionek w porównaniu do ryb nieszczepionych, przedstawiono na rysunku 1.

Rysunek 1. Przeżywalność narybku pstrąga tęczowego o zróżnicowanej masie ciała, szczepionego w immersji szczepionkami *Yersivac* oraz *AquaVac ERM* po eksperymentalnym zakażeniu patogenną bakterią *Yersinia ruckeri*



Źródło: Siwicki i in. 2010.

Cel i metoda

Celem pracy jest przedstawienie opinii osób prowadzących gospodarstwa hodowlane na temat skuteczności i ekonomicznej opłacalności stosowania szczepień. Jednocześnie w pracy poddano analizie dostępną literaturę krajową z tego zakresu. W świetle dostępnych danych, podjęto próbę oszacowania korzyści ekonomicznych, wynikających ze stosowania immunoprofilaktyki w oparciu o doradztwo lekarza weterynarii, na przykładzie walki z jersiniozą.

Wyniki zgromadzono dzięki ankiecie adresowanej do osób zarządzających gospodarstwami hodowlanymi ryb łososiowatych z rejonu Polski północnej (pięć obiektów o produkcji rocznej od 30 tys. kg do 100 tys. kg). Uzyskane informacje przedstawiono w sposób zbiorczy, nie wymieniając przy tym konkretnych hodowli biorących udział w badaniu.

W pracy posłużono się również metodyką z pracy Grudniewskiej i in. (2010). Przedstawiono tam symulację osiągniętego zysku ekonomicznego podczas produkcji narybku pstrąga tęczowego do masy 20 g, przy zakupie 100 tys. sztuk ikry zaoczkowanej. Porównywano wyniki wzrostu i przeżywalności ryb nieszczepionych i zaszczepionych przeciwko furunkulozie i jersiniozie. Wyniki przedstawione w tabeli 1, pozwoliły na oszacowanie efektów produkcyjnych i ekonomicznych, które można osiągać w warunkach gospodarstw hodowlanych.

W obliczeniach zastosowanych w opracowaniu przyjęto następujące dane:

- obliczenia wykonano dla tysiąca sztuk narybku o wadze 1g (o wartości 266 zł/kg) ;
- współczynnik pokarmowy określono na 0,8 (za Grudniewska i in. 2010);
- ilość skarmionej paszy, w wodzie o temperaturze 15°C, przyjęto jako 5% masy obsady (Szczerbowski 2008);
- cenę paszy przyjęto na 9zł/kg (Grudniewska i in. 2010);
- koszt szczepienia w immersji oszacowano na 230 zł na każde 100kg ryb (Grudniewska 2010);
- cena zbytu narybku o masie 5g przyjęto na 50 gr/szt (informacja Wylęgarnia Dąbie);
- wartość ryby towarowej przyjęto na 20 zł/kg wg notowań ze stycznia 2019.

W obliczeniach ograniczono się do danych na temat przeżywalności ryb w przypadku szczepień przeciwko jersiniozie, ponieważ jest to aktualnie najczęściej występujący patogen w hodowli (Lewandowska i in.2017). Jest to także najczęściej obecnie wykonywane przez hodowców szczepienie. Przyjęto, że przeżywalności dla uzyskanej wielkości produkcji ryb

o masie 4-5g, nie będą niższe, niż te uzyskane w doświadczeniu Siwickiego i in. (2010) i na tej podstawie założono potrzebną ilość materiału zarybieniowego niezbędnego do osiągnięcia produkcji na poziomie 1 kg. Następnie, przy założonych zmianach w przeżywalności, uzyskanych po zastosowaniu szczepień przeciwko jersiniozie przez Siwickiego i in. 2010, obliczono możliwe zmiany w wielkości uzyskanej produkcji z tej samej ilości materiału zarybieniowego. Uzyskany wynik pomnożono przez cenę zbytu narybku o masie 5g i zestawiono z wartościami uzyskanymi bez stosowania szczepień.

Wyniki badań

Immunoprofilaktykę stosuje 60% badanych gospodarstw. Okres stosowanie tych zabiegów to 10 lat. Najczęściej używane są autoszczepionki: Yersivac (Puławy Piwet-PIB) i Yersi-Fishvax (Fastro Sp.SIA). Wśród ankietowanych, 40% stosuje immersję a 20% immersję w transporcie. Głównym źródłem wiedzy na temat immunoprofilaktyki są konferencje dla hodowców ryb łososiowatych, komunikaty rybackie i doświadczenia innych hodowców. Wszyscy ankietowani przyznają że immunoprofilaktyka to przydatne narzędzie poprawiające zdrowotność ryb.

Tabela 1 Symulacja osiągniętego zysku ekonomicznego podczas produkcji narybku pstrąga tęczowego do masy 5g na podstawie zebranych danych i wyników wzrostu przeżywalności ryb zaszczepionych przeciwko jersiniozie (J) w porównaniu do ryb nieszczepionych (K)

DANE	J	K
Wartość zakupu narybku o masie 1g (zł)	266	266
Współczynnik pokarmowy	0,8	0,8
Przeżywalność (%)	95	15
Ilość skarmionej paszy (kg)	0,24	0,038
Masa wyprodukowanego narybku 5g (kg)	4,75	0,75
Wartość skarmionej paszy przy cenie 9zł/kg	2,14	0,34
Wartość wyprodukowanego narybku 5g	475	75
Koszt szczepienia ryb w immersji (zł)	2,3	0
Zysk/strata (zł)	204,56	-191,34

Źródło: Opracowanie własne.

Chociaż wśród stosujących te zabiegi, dwie trzecie osiągnęło całkowitą eliminację choroby ze stada a pozostali stosujący, osiągnęli nieznaczną poprawę przeżywalności. Jedna trzecia hodowców stosujących immunoprofilaktykę, nie ocenia ekonomicznej opłacalności tych zabiegów.

Dyskusja

Wynik symulacji wskazuje na potencjalnie znaczny wzrost zysków z hodowli po zastosowaniu szczepień. Brak immunoprofilaktyki, w połączeniu z zachorowaniem całej obsady, może skutkować brakiem rentowności hodowli. Potencjalne różnice w zyskach nabierają szczególnego znaczenia, gdy hodowca odniesie je do wprowadzonej wielkości produkcji i własnego wyniku finansowego z hodowli. Większa przeżywalność ryb w hodowli, wiąże się z koniecznością zakupienia większej ilości paszy i poniesienia większego kosztu związanego z wyżywieniem ryb. Wartość wyprodukowanej ryby ukazuje, że poniesione koszty na paszę i szczepienia pozwalają osiągnąć zysk znacznie wyższy, niż osiągnięty bez stosowania szczepień. Część hodowców zdaje sobie sprawę z zalet immunoprofilaktyki i powiązania nakładów na szczepienia z osiąganymi efektami ekonomicznymi.

Podsumowanie

Praktyczny i ekonomiczny aspekt szczepień jest nadal niedoceniany przez hodowców. Zebrane dane, jak również przeprowadzone symulacje wskazują, że powszechne występowanie bakterii, powinno wymuszać stosowanie immunoprofilaktyki w hodowli ryb łososiowatych. Zapobieganie chorobom ryb w hodowli jest tym bardziej istotne, gdyż do obrotu w handlu mogą być przeznaczone jedynie ryby zdrowe.

Obliczenia ekonomiczne zastosowane w artykule powinny być przez hodowców dostosowane do indywidualnych warunków prowadzonego gospodarstwa.

Stosowanie szczepień powinno się odbywać we współpracy z wyspecjalizowanym w tej dziedzinie lekarzem weterynarii. Można stosować preparaty dostępne na rynku lub autoszczepionki mogą zostać wykonane na zlecenie hodowcy bez potrzeby rejestracji preparatu. Taką działalnością zajmują się m. in. jednostki Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie lub Zakład Chorób Ryb PIWet-PIB w Puławach.

Niewielka ilość informacji na temat stosowania i kosztów immunoprofilaktyki w hodowli motywuje do prowadzenia badań w tym zakresie.

Literatura

- Gould Ch. 2005. *Profilaktyka w hodowli pstrąga*. Materiały szkoleniowe Schering-Plough Animal Health. Puławy.
- Grudniewska J., Dobosz S., Terech-Majewska E., Zalewski T., Siwicki A.K. 2010. *Ekonomiczny i zdrowotny wymiar stosowania szczepień przeciwko furunkulozie i jersiniozie w podchowiu pstrąga tęczowego*. Komun.Ryb. 1: 18-21.
- Kozińska A. 2000. *Szczepienia ryb przeciwko bakteryjnej posocznicy MAS*. Medycyna Wet. 56 (12).
- Kumar G., Menanteau-Ledouble S., Saleh M., El-Matbouli M. 2015. *Yersinia ruckeri, the causative agent of enteric redmouth disease in fish*. Veterinary Research. 46: 103.
- Lirski A., Myszkowski L. 2018. *Obraz polskiej akwakultury w 2017 roku na podstawie badań statystycznych przy zastosowaniu kwestionariusza RRW-22*.
- Lewandowska A., Bogurska A., Chorąży R., Nyk J., Mazur W. 2017. *Patogeny infekcyjne i inwazyjne diagnozowane u ryb pochodzących z ośrodków hodowlanych na terenie Pomorza Środkowego w latach 2013-2016*. Komun.Ryb. 4: 19-27.
- Pajdak J., Terech-Majewska E., Platt-Samoraj A., Schulz P., Siwicki A.K., Szweda W. 2017. *Charakterystyka szczepów chorobotwórczych Yersinia ruckeri i ich znaczenie w immunoprofilaktyce pstrąga tęczowego*. Med. Weter. 73 (9): 579-584.
- Pękała A., Paździor E., Kozińska A. 2015. *Choroby bakteryjne ryb hodowlanych notowane w Polsce. Efektywność i bezpieczeństwo stosowania antybiotykoterapii u ryb [w:] Ochrona zdrowia ryb w aspekcie jakości i bezpieczeństwa żywności* (red.) Hliwa P., Woźniak M., Król J., Gomułka P., Olsztyn: 40-60.
- Shefat SHT. 2018. *Vaccines for infectious bacterial and viral diseases of fish*. J Bacteriol Infect Dis. 2(2): 1-5.
- Siwicki A.K., Terech-Majewska E., Grudniewska J., Kazuń K., Głąbski E., Kazuń B., Majewicz-Zbikowska M., Szczucińska E. 2010. *Ocena skuteczności szczepionek w immersji przeciwko jersiniozie u narybku pstrąga tęczowego (Oncorhynchus mykiss)*. Komun.Ryb. 5: 13-15.
- Szczerbowski J., Kruger A., Goryczko K., Zdanowski B., Lossow K., Szczerbowski A., Bartel R., Dembiński W., Zamojski J., Studnicka M., Terech-Majewska E. 2008. *Rybacko śródlądowe*. IRS, Olsztyn.
- Terech-Majewska E., Grudniewska J., Bernard A., Pajdak J., Schulz P., Kaczorek E., Szczucińska E., Grabowska K., Szweda W., Siwicki A.K. 2015. *Immunostymulacja i szczepienia w profilaktyce chorób ryb [w:] Ochrona zdrowia ryb w aspekcie jakości i bezpieczeństwa żywności* (red.) Hliwa P., Woźniak M., Król J., Gomułka P., Olsztyn: 61-71.
- Żelazny J., Gomułka P. 2015. *Specyfika i zasady stosowania leków u ryb w UE i w Polsce. Dozwolone i zakazane substancje lecznicze w akwakulturze [w:] Ochrona zdrowia ryb w aspekcie jakości i bezpieczeństwa żywności* (red.) Hliwa P., Woźniak M., Król J., Gomułka P., Olsztyn: 12-39.

Rozdział II

Rozwiązywanie problemów w żywieniu drobiu

Ocena występowania pierwotniaków z rodzaju *Eimeria* sp. u brojlerów kurzych w cyklu produkcyjnym

Assessment of occurrence of protozoa from the genus *Eimeria* in chicken broilers in the production cycle

Zuzanna Robaczewska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Naukowe Koło Parazytologów
Opiekun: dr hab. Rajmund Sokół, prof. UWM

Abstract

Eimeria cause in chickens a parasitic disease called coccidiosis, which causes large economic losses, especially in broiler breeding. The aim of the study was to analyze the occurrence of coccidial oocysts in the production cycle of chicken broilers in industrial breeding. Of 2 sheds (A and B), 100-gram samples of collective stool were acquired from 10 designated sites in the 6-th, 11-th, 17-th, 24-th, 33-rd and 41-st days of age. The samples were tested with the use of the Fulleborn flotation method with Darling solution and the number of oocysts in 1 gram of excrement (OPG) was calculated according to the McMaster method. The highest number of oocysts was found in hen house A in the 33-rd days of age of birds (OPG 100000), and in hen house B in the 24-th (OPG 80000). Birds were discovered to have diarrhea with an admixture of blood, there was also a decrease in body weight gains. After the introduced treatment, the number of oocysts decreased to 0.

Keywords: *Eimeria*, chicken broilers, coccidiosis

Wstęp:

Pierwotniaki rodzaju *Eimeria* sp., wywołują u kur chorobę pasożytniczą nazywaną kokcydiozą, powodującą duże straty ekonomiczne, szczególnie w chowie brojlerów. Do najczęściej stwierdzanych gatunków kokcydii u kur należą: *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. praecox*, *E. tenella*.

Każda z nich posiada swoiste umiejscowienie w organizmie żywiciela. W przednim odcinku jelita cienkiego występują: *E. acervulina*, *E. mitis* i *E. praecox*. W środkowym odcinku *E. maxima*, *E. necatrix*. *E. tenella* lokalizuje się w jelicie ślepym i prostym, a w steuku *E. brunetti*. W przebiegu zarażenia, najczęściej występuje inwazja mieszana różnych gatunków *Eimeria* sp.: *E. acervulina*, *E. mitis* i *E. maxima* (Doner, Szeleszczuk 2014), jednak nierzadko obserwuje się monoinwazję *E. tenella*, jak również *E. acervulina* (Gaweł i in. 2015).

Niewykluczone jest także współistnienie patogenów towarzyszących, które wikłają obraz kliniczny kokcydiozy, a co za tym idzie, skuteczną diagnostykę i prawidłowe postępowanie terapeutyczne.

Postacią inwazyjną kokcydii są wysporulowane oocysty, z których każda zawiera cztery sporocysty, a w nich występują po dwa haploidalne sporozoity. W cyklu życiowym tego pasożyta wyróżniamy fazę rozmnażania bezpłciowego (schizogonia) i płciowego (gametogonia). Po pobraniu przez ptaka wysporulowanej oocysty, z jej wnętrza wydostają się w przewodzie pokarmowym sporozoity, które wnikają do komórek nabłonka gruczołowego w charakterystycznych miejscach występowania dla danego gatunku kokcydii. Sporozoity w enterocytach przechodzą w trofozoity, które rosną i przekształcają się, tworząc schizonty pierwszej generacji. Następuje ich wielokrotny podział, w wyniku którego, powstają liczne merozoity pierwszej generacji, które niszczą komórki i wydostają się na zewnątrz, zarażając kolejne enterocyty, w których tworzą schizonty drugiej generacji. Analogicznie powstają merozoity drugiej generacji, z których mogą powstać schizonty trzeciej generacji, a one w wyniku rozmnażania płciowego przekształcają się w gamonty. Rozmnażanie płciowe ma miejsce także w enterocytach. W wyniku połączenia mikrogamontu z makrogamontem (powstałych z ostatniego pokolenia merozoitów), tworzy się zygota, która otacza się osłonką z hialinowych ziarnistości i powstaje oocysta. Wydalana jest następnie z kałem do środowiska zewnętrznego.

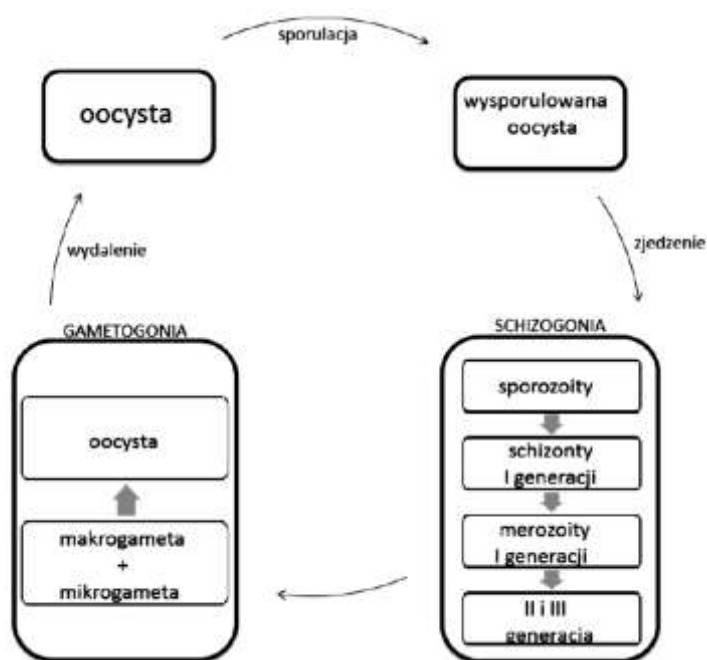
W warunkach odpowiedniej wilgotności temperatury, przy wystarczającym dostępie tlenu, oocysta przechodzi w formę inwazyjną. Proces ten nazywamy sporulacją i trwa on od kilkudziesięciu godzin do kilku dni, w zależności od warunków środowiska.

Zarażone ptaki wydalają oocysty przez długi czas i w dużych ilościach (od 9 do 670 milionów oocyst dziennie przez jedno kurczę (Szeleszczuk 2005)). Oocysty wykazują oporność na niesprzyjające czynniki klimatyczne, są także odporne na niektóre czynniki chemiczne, przez to dezynfekcja okazuje się być nieskuteczna. W rozprzestrzenianiu oocyst może brać udział obsługa ferm, przenosząca mechanicznie oocysty między obiektami, a także gryzonie, dzikie ptactwo oraz sprzęt do obsługi kurników.

W trakcie swego rozwoju, pierwotniaki rodzaju *Eimeria sp.*, niszczą komórki nabłonka przewodu pokarmowego, zależnie od gatunku i charakterystycznej lokalizacji. Może dojść także do uszkodzenia naczyń krwionośnych włosowatych w ścianie jelita. Skutkuje to różnymi objawami, do których zaliczamy biegunkę z dodatkiem krwi. Poprzez zniszczenie nabłonka jelitowego, u ptaków występują zaburzenia w funkcjonowaniu układu pokarmowego,

utrudnione jest wchłanianie substancji pokarmowych. Obserwuje się obniżenie przyrostów masy ciała, dochodzi również do niedokrwienia organizmu, co objawia się blednością błon śluzowych i grzebienia.

Rysunek. 1. Cykl życiowy kokcydii

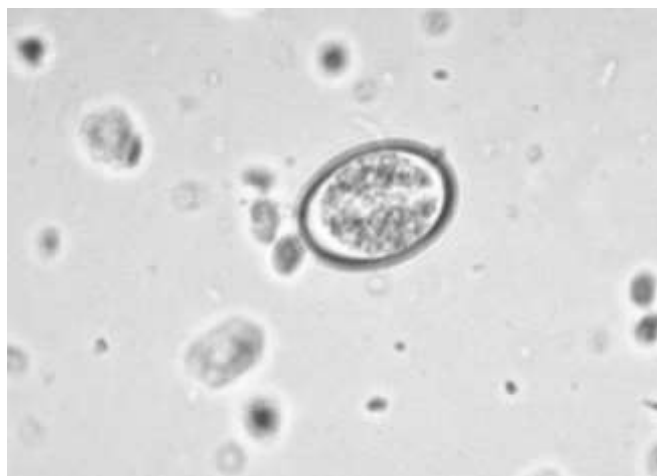


Źródło: Opracowanie własne.

Objawy zależą głównie od gatunku kokcydii, kondycji i wieku ptaków, a także współistnienia wtórnych infekcji. Przebieg choroby dzielimy na ostry, przewlekły i subkliniczny. Postać ostra manifestuje się intensywną biegunką, w której może występować domieszka krwi. Następuje odwodnienie ptaków, obniżenie kondycji, spada ilość pobranej paszy oraz przyrostu masy ciała. Występuje również wysoka śmiertelność.

Postać przewlekła charakteryzuje się gorszym wykorzystaniem paszy i słabszymi przyrostami masy ciała. Może występować biegunka, upadki ptaków są rzadsze. Postać subkliniczna objawia się obniżeniem ilości przyjmowanego pokarmu, zwiększoną liczbą wybrakowań, spowodowaną zróżnicowanym wzrostem ptaków.

Rysunek 2. Oocysta *Eimeria* sp.



Źródło: Katedra Parazytologii i Chorób Inwazyjnych, WMW, UWM.

Celem badań była analiza występowania oocyst kokcydii w cyklu produkcyjnym brojlerów kurzych w chowie przemysłowym.

Cykl produkcyjny w systemie intensywnym trwa sześć tygodni. Głównym założeniem chowu jest uzyskanie jak najlepszej jakości tuszek mięsnych, przy maksymalnym wykorzystaniu paszy i najmniejszej liczbie upadków, w możliwie najkrótszym czasie. Na uzyskanie celu mają wpływ genotyp, warunki odchowu, żywienie i profilaktyka. Warunki środowiskowe, takie jak temperatura, wilgotność, oświetlenie, dostęp do karmideł i poideł, muszą być dostosowane do wieku zwierząt.

Chów szybko rosnących ptaków zakłada odpowiednią profilaktykę, minimalizującą ryzyko wystąpienia chorób. Wśród wielu czynników chorobotwórczych, zapobiega się również pasożytom, między innymi kokcydiozie.

Do profilaktyki zaliczamy: dezynfekcję, bioasekurację, chemioprophilaktykę, immunoprofilaktykę i monitoring weterynaryjny. Odkażanie pomieszczeń, sprzętu, ściółki jest podstawowym elementem zapobiegania pierwotniakom. Dobry preparat powinien odznaczać się dostateczną siłą bójczą w stosunku do drobnoustrojów, w przypadku kokcydiozy skuteczna jest m.in. metoda amonowa (Mazurkiewicz 2011). Ważnym elementem jest również przestrzeganie zasad bioasekuracji, co ograniczy przenoszenie oocyst między fermami (zabezpieczenie budynków przed dzikim ptactwem, nieposiadanie własnego drobiu przez obsługę ferm).

Chemioprofilaktyka zakłada podawanie kokcydiostatyków przez cały cykl produkcyjny uwzględniając okres karencji. *Eimeria sp.* wykazuje się wysoką lekoopornością, dlatego uznane jest stosowanie kokcydiostatyków w programie rotacyjnym (wymiana środka co 2-3 cykle) lub programie wymiennym (użycie dwóch środków w jednym cyklu). Wśród dostępnych kokcydiostatyków, wyróżniamy antybiotyki jonoforowe oraz preparaty chemiczne. Z racji, że każdy z dostępnych kokcydiostatyków chemicznych posiada odrębny mechanizm działania, nie dochodzi do zjawiska oporności krzyżowej, czego nie można powiedzieć o kokcydiostatykach jonoforowych (Stanev 2013). Skuteczną alternatywą okazała się mieszanina wyciągów z czosnku pospolitego (*Allium sativum*), szałwii lekarskiej (*Salvia officinalis*), jeżówki purpurowej (*Echinacea purpurea*), tymianku właściwego (*Thymus vulgaris*) oraz lebiodki pospolitej (*Origanum vulgare*) (Arczewska-Włosek, Świątkiewicz 2012).

Dostępna jest także immunoprofilaktyka (Bobusia i in. 2014). Istnieje szczepionka zawierająca w pełni zjadliwe kokcydia. Jest to szczepionka atenuowana z kokcydiami o zmniejszonej patogenności i skróconym cyklu rozwojowym. Szczepionka oporna na kokcydiostatyki jonoforowe, umożliwiającą podawanie preparatów jonoforowych przy równoczesnym wzroście odporności. Szczepionka żywa do podawania *in ovo*-jeszcze przed zakończeniem inkubacji oraz szczepionka podjednostkowa, zawierająca białka gametocytów *E. maxima*. Ostatnia przeznaczona jest dla niosek stad reprodukcyjnych, które przekażą przeciwciała potomstwu. Wdrażając szczepienia, należy uwzględnić lokalną sytuację epidemiologiczną, ponieważ *Eimeria sp.* nie wykazują odporności krzyżowej. Rozpylanie leku na pisklęta lub na paszę, jest jednym ze sposobów podania szczepionki. Innym sposobem jest podanie w wodzie pitnej. Z uwagi na krótki okres cyklu produkcyjnego, brojlerom należy podać szczepionkę jak najszybciej. Czynne uodpornienie nie chroni drobiu przed zarażeniem kokcydiozą, ale zmniejsza jego intensywność, co wyraża się w postaci zredukowanej ilości wydalanych oocyst oraz zmniejszonym uszkodzeniem enterocytów.

Cały okres odchowu jest otoczony monitoringiem weterynaryjnym, uwzględniającym badanie kliniczne i anatomopatologiczne, zlecenie dodatkowych badań, interpretację i wykorzystywanie wyników do dalszej opieki nad ptakami.

Leczenie kokcydiozy oparte jest na sulfonamidach i toltrazurilu. Środki te podawane są doustnie w wodzie pitnej. Oznacza to, że leczeniu są poddane wszystkie ptaki w obiekcie, nawet, jeśli nie wszystkie wykazują oznaki choroby. Udowodniono, że wysoką aktywność przeciw kokcydiozie, ma nowy związek triazynowy -ethanemizuril (EZL) (Cheng, Wang

2018). Wykazuje większą skuteczność wobec kokcydii niż toltrazulir (Anticoccidal activity of novel triazine compounds in broiler chickens 2019). Modyfikacja struktur chemicznych leków pozwala na zmniejszenie problemu narastającej lekooporności.

Material i metody:

W przemysłowej fermie brojlerów (chów ściółkowy), składającej się z sześciu obiektów o powierzchni ok. 2000 m² każdy, utrzymywano po 40000 kurcząt rasy ROSS 308 (21 ptaków/m²).

Do badań parazytologicznych z 2 kurników (A i B) pobrano w 6, 11, 17, 24, 33 i 41 dniu życia (d.ż.) ptaków, 100 gramowe zbiorcze próbki kału z 10 wyznaczonych, stałych miejsc. Próbki badano metodą flotacji wg Fulleborna z płynem Darlinga (NaCl/glicerol, 1:1). Wykorzystuje ona zjawisko wypływania oocyst *Eimeria sp.* na powierzchnię płynu, co umożliwia niższy ciężar właściwy postaci rozwojowych pasożytów od ciężaru płynu Darlinga. Liczbę oocyst w 1 gramie kału (OPG -oocysts per gram) obliczano wg metody McMastera.

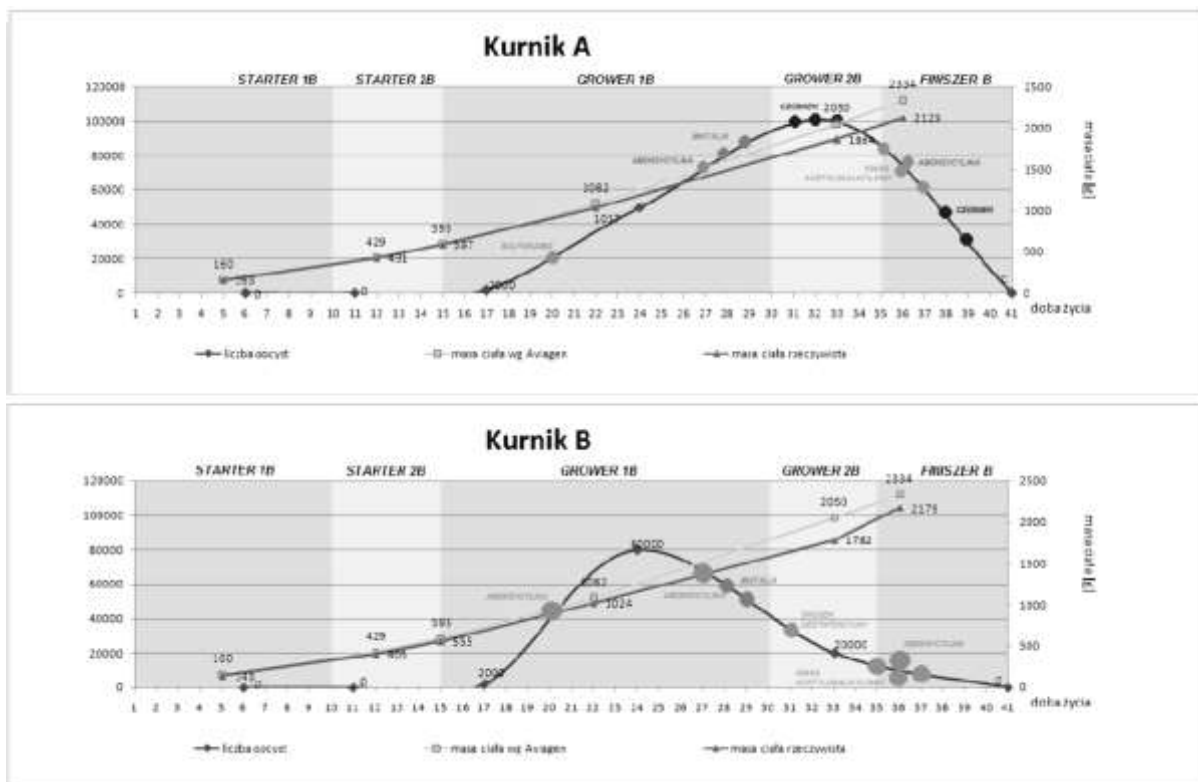
W trakcie cyklu hodowlanego ptaki otrzymywały wodę i paszę „*ad libitum*” oraz 4-krotnie wykonano szczepienie -2x przeciwko zakaźnemu zapaleniu oskrzeli oraz 2x przeciwko chorobie Gumboro. W 31 oraz 35 d.ż. ptaków przeprowadzono tzw. “ubiórkę” (sprzedaż części stada), pozostawiając 15 ptaków na m². W żywieniu stosowano pasze pełnoporcjowe przemysłowe dla kurcząt rzeźnych. Do 7 d.ż. mieszankę paszową Brojler Starter 1B, od 8 do 14 dnia Starter 2B, od 15 do 30 dnia Grower 1B, od 31 do 35 dnia Grower 2B, a od 36 d.ż. do końca chowu Finiszer B.

Wyniki badań:

Najwyższą liczbę oocyst stwierdzono w kurniku A, w 33 d.ż. ptaków (OPG 100000, SD 37976,6), a w kurniku B w 24 d.ż. (OPG 80000, SD 29068,88). U ptaków stwierdzono biegunkę z domieszką krwi, odnotowano zmniejszenie ilości pobieranej paszy oraz obniżenie przyrostów masy ciała. W związku z tym zastosowano (w obu obiektach) 2 różne schematy leczenia i suplementacji ptaków. (Kurnik A: W 20 d.ż. ptaków podano sulfonamid, w 27 i 36 d.ż. amoksycylinę, w 35, 36, 37 d.ż. kwas acetylosalicylowy. W ciągu trwania cyklu produkcyjnego zastosowano suplementację miętą oraz czosnkiem. Kurnik B: W 20 d.ż. zastosowano amoksycylinę oraz powtórnie w 27 i 36 d.ż. Kwas acetylosalicylowy podano w 35, 36, 37 d.ż.

Suplementacja miętą odbyła się w 27, 28 i 29 dobie. W 31 d.ż. zastosowano środek dezynfekcyjny na bazie chloru.)

Rysunek 3. Przedstawia liczbę oocyst, średnią masę ciała rzeczywistą oraz standardową, zastosowane środki oraz pasze w 41 dobach życia ptaków w kurniku A i B.



Źródło: Opracowanie własne.

Po leczeniu, liczba oocyst zmniejszyła się do 0. W 36 d.ż. średnia masa ciała ptaków w kurniku A wynosiła 2129 g, a w kurniku B 2179 g i była to masa niższa (średnio o 200 g), niż zakłada to standard dla tej rasy (2334 g).

Ptaki w obiekcie B przechorowały kliniczną postać kokcydiozy w młodszym wieku, co po zwalczeniu inwazji, pozwoliło na regenerację nabłonka jelitowego i przywrócenie tempa wzrostu w ostatniej fazie tuczu. Natomiast ptaki w kurniku A, mimo skutecznej eradykacji kokcydii z przewodu pokarmowego, nie wykazały przyspieszenia wzrostu masy ciała.

Dyskusja:

Ptaki kurnika B, już w pierwszej dobie życia, wykazywały znacznie niższą średnią masę ciała (58 g), niż zakłada to standard dla rasy Ross 308 (73 g) (Broiler Ross 308 2015). Dla

porównania, średnia masa kurcząt w kurniku A wyniosła 70 g. Pierwsze badanie obecności oocyst wykonano w szóstej dobie życia ptaków. W obu kurnikach nie wykryto oocyst. Stosowana pasza „Brojler starter 1B” zawierała kokcydiostatyk. Drugie badanie, w 11 dobie, także nie wykazało obecności *Eimeria sp.*, stwierdzono natomiast pojedyncze roztocza oraz jaja ptaszyńca kurzego *Dermanyssus gallinae*. Jego obecność była widoczna przez cały okres cyklu produkcyjnego. Roztocze to może być wektorem, przenoszącym wiele patogenów, w tym wirusy oraz bakterie (Valiante-Moro i in. 2005). Do 15 doby życia kurczęta A osiągały zakładaną masę ciała, a nawet przewyższały ją o kilka gramów, za to kurczęta B były lżejsze średnio o 25 g.

W 15 dobie życia ptaków zmieniono paszę z Brojler Starter 2B na Brojler Grower 1B, obie zawierały kokcydiostatyk (firma produkująca pasze nie opublikowała danych na temat rodzaju kokcydiostatyku). W 17 dobie życia ptaków, badanie w kierunku *Eimeria sp.* wykazało liczne oocysty kokcydii, a OPG wynosiło 2000 oocyst/g kału w obu kurnikach. Prawdopodobnie jest to wynikiem zmiany paszy (a w niej kokcydiostatyku), a także obniżenia odporności w odpowiedzi na szczepionkę przeciwko chorobie Gumboro, podanej w 14 d.ż. Charakterystyka leku sugeruje możliwość wystąpienia immunosupresji jako działania niepożądanego. Również w obu obiektach stwierdza się niższą, niż zakładana, średnią masę ciała (kurnik A o 20 g, kurnik B o 40 g). Do tej pory średnia m.c. w kurniku A była wyższa niż zakładana, mimo to wystąpiła większa liczba upadków i wybrakowań, łącznie 1778 ptaków, zaś w kurniku B 1671 ptaków. Szczepionkę powtórzono w 18 d.ż.

Sulfonamid podano w kurniku A w 20 d.ż. Prawdopodobnie zahamowało to wystąpienie pełnoobjawowej kokcydiozy, ponieważ w 24 d.ż. OPG wynosiło 50000 oocyst, w porównaniu do kurnika B, gdzie OPG wynosiło 80000 oocyst (tu sulfonamidu nie zastosowano). Wzrost liczby oocyst obserwowano na podstawie objawów klinicznych: u ptaków wystąpiła biegunka z domieszką krwi. W kurniku A liczba upadków i wybrakowań wciąż była większa, niż w kurniku B – łącznie wyniosła odpowiednio 2012 oraz 1852. Przez kolejne dni podawano witaminy z grupy B oraz preparat zawierający olejki: eukaliptusowy i miętowy, razem z witaminą A. W kurniku A, dodatkowo wprowadzono suplementację czosnkiem. W 26 dobie życia ptaków wykazano znaczne obniżenie pobrania paszy wynoszące ok. 10 g w odniesieniu do zakładanego, wynoszącego 140 g. Średnia masa ciała powinna wynosić 1414 g, w kurniku A wynosiła 1331 g, a w kurniku B zaledwie 1243 g.

Badanie kału w 33 dobie życia wykazuje spadek liczby oocyst w kurniku B. OPG kształtowało się na poziomie 20000 oocyst. Można przypuszczać, że kokcydioza została zwalczona, jednak w okresie od 20 do 33 doby życia wykazano łącznie 376 sztuk ptaków wybrakowanych i padłych. Nagły wzrost liczby upadków (łącznie 2219), przewyższył liczbę upadków w kurniku A (2198) – (w 24 d.ż. różnica wynosiła 160). Średnia m.c. ptaków w obiekcie B wynosiła 1782 g i była o 268 g niższa, niż zakłada standard. W kurniku A, w 33 d.ż. OPG wynosi 100000 oocyst na g kału, a średnia m.c. wynosiła 1864 g. Różnica od standardu pogłębia się, co wskazuje na kliniczną postać kokcydiozy. W 36 d.ż. różnica ta wynosi 205 g w kurniku A, a w kurniku B 155 g. Dotychczas lżejsze ptaki z kurnika B, wykazały się większą masą w porównaniu do kurnika A, co wskazuje na skuteczną eradykację kokcydiozy. Dodatkowo zastosowano 3-dniową kurację kwasem acetylosalicylowym w obu kurnikach, co pozwoliło zwalczyć stan zapalny jelit.

Ostatnie badanie liczby oocyst wykonano w 41 d.ż. W obu kurnikach OPG wynosiło 0. Wpływ na taki wynik miała zastosowana suplementacja oraz nabycie przez ptaki odporności. Amoksylicyna, podana w 27 d.ż. oraz w 36 d.ż., pozwoliła uniknąć wtórnych infekcji bakteryjnych. W całym cyklu produkcyjnym kurnik B wykazał większą liczbę upadków i wybrakowań, było to 2408 ptaków, zaś kurnik A 2370 ptaków. Ostatecznie masa ubojowa wynosiła średnio 2049 g. Ptaki w okresie cyklu produkcyjnego, nie zostały zaszczepione przeciwko kokcydiozie.

Najwyższa ilość oocyst wystąpiła w 24 dobie życia w kurniku B oraz w kurniku A w 33 dobie życia. W 2005 roku zakładano 4-5 tydzień życia (Szeleszczuk 2005). Dwuletnie badania brojlerów kurzych, w latach 2016-2017, wykazały najczęstszą i najsilniejszą aktywność kokcydii w 28 dobie życia ptaków (Kwiatkowski 2018).

Kokcydioza drobiu niesie ze sobą straty ekonomiczne. W Polsce zostały oszacowane na 120 mln PLN (Szeleszczuk 2005). Uznaje się, że na świecie straty produkcyjne, w połączeniu z kosztami zapobiegania i leczenia, przekraczają 3 miliardy USD rocznie (Blake, Tomley 2014). Kokcydioza, jeśli nie jest kontrolowana, jest jedną z chorób w cyklu produkcyjnym brojlerów kurzych, która wywołuje największe straty ekonomiczne (Stanev 2013).

Podsumowanie:

Skuteczne monitorowanie pojawienia się oocyst kokcydii z rodzaju *Eimeria* sp. w krótkim chowie ptaków – brojlerów rzeźnych, jest niezbędne, aby szybko ocenić sytuację ewentualnego wystąpienia kokcydiozy, która ma niewątpliwy wpływ na ekonomiczny aspekt hodowli.

Literatura:

- Arczewska-Włosek A., Świątkiewicz S. 2015. *The efficacy of selected feed additives in the prevention of broiler chicken coccidiosis under natural exposure to Eimeria spp.* Ann. Anim. Sci., Vol. 15, No. 3: 725-735.
- Aviagen EPI. 2015 Ross 308. Broiler.
- Blake D., Tomley F. 2014. *Securing poultry production from the ever-present Eimeria challenge.* Trends in Parasitology. 30: 12–19.
- Bobusia K., Bobrek K., Gaweł A. 2014. *Wybrane zagadnienia immunoprofilaktyki kokcydiozy kur i kurcząt brojlerów.* Życie weterynaryjne. 89 (09): 759-763.
- Bowman D.D. 2002. *Kokcydia* [w:] *Parazytologia weterynaryjna.* Georgis. Elsevier Urban & Partner, Wrocław: 96-98.
- Charakterystyka produktu leczniczego weterynaryjnego. 2011. *Poulvac Bursine 2 liofilizat dla kur.*
- Cheng P., Wang C. 2018. *Pharmacokinetics of a novel triazine ethanamizuril in rats and broiler chickens.* Veterinary Science. 117: 99-103.
- Doner S., Szeleszczuk P. 2014. *Prevalence of Eimeria spp. In broiler chicken flocks in Poland.* XI International Coccidiosis Conference 2014, Germany: 26-30.
- Gaweł A., Bobusia K., Bobrek K. 2015. *Identyfikacja gatunków Eimeria spp. występujących u kur i kurcząt brojlerów na terenie Polski.* Med. Weter. 71 (6): 382-385.
- Gundlach J.L., Sadzikowski A.B. 2004. *Eimerioza kur* [w:] *Parazytologia i parazytozy zwierząt.* Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa: 354-361.
- Jankowski J. 2012. *Hodowla i użytkowanie drobiu.* Powszechne Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa.
- Kwiatkowski T. 2018. *Presja kokcydiozy w Polsce w latach 2016-2017.* II Międzynarodowa Konferencja Techniczna Eimeriana Avia, Józefów: 59-75.
- Mazanowski A. 2011. *Nowoczesna produkcja kurcząt brojlerów.* Pro Agricola Sp. z. o.o., Gietrzwałd.
- Mazurkiewicz M. 2011. *Choroby drobiu.* Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Wrocław.
- Stanev V. 2013. *Kokcydioza u drobiu oraz jej zapobieganie –wrażliwość i oporność.* Aktualne problemy w patologii drobiu ze szczególnym uwzględnieniem lekooporności drobnoustrojów, Wrocław: 30-33.
- Szeleszczuk P. 2005. *Chemioprofilaktyka kokcydiozy drobiu,* Magazyn Wet., Suppl., 5: 59-64.

- Valiante Moro C., Chauve C., Zenner L. 2005. *Vectorial role of some dermanyssoid mites (Acari, Mesostigmata, Dermanyssoidea)*. Parasite, 12(2): 99–109.
- Zhang M., Li. X. 2019. *Anticoccidal activity of novel triazine compounds in broiler chickens*. Vet. Parasitol. 267: 4-8.

Ocena stanu zapalnego i stresu oksydacyjnego w tchawicy kur niosek po zastosowaniu biopreparatu dezodorującego

The evaluation of inflammation and oxidative stress in the hens tracheal after a deodorising biopreparation application

Kornelia Nowicka

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Koło Naukowe „Żywność Zwierząt”
Opiekun: dr hab. Kazimierz Obremski

Abstract

The aim of the study was to assessment of the immunological response (IL-1 β , IL-6) and enzymatic (catalase, peroxidase) and non-enzymatic (MDA, -SH) oxidative stress indicators in trachea of hens staying in a room after using biopreparation Deodoric®.

Determination of cytokine concentration was performed by ELISA and oxidative stress indicators by spectrophotometric method. The obtained results were converted into 1 mg of protein determined according to the Bradford method. The statistical analysis was performed using the Student's t-test, including the analysis of basic descriptive statistics at the significance level of $P < 0.05$.

The majority of inflammatory markers and oxidative stress in the case of the control group showed statistically significant (T test, $P < 0.05$) higher values (IL-1 β , IL-6, catalase activity, -SH groups), which may be due to exposure of control group chickens for higher ammonia emissions. It can also be an indication of the effective effect of Deodoric® biopreparation applied to the mulch and reduction of unfavorable gaseous factors (ammonia, hydrogen sulfide) in the experimental group.

Keywords: poultry, ammonia, biopreparation, inflammation, oxidative stress

Wstęp

Rolnictwo jest jednym z istotnych źródeł emisji zanieczyszczeń gazowych. Z emitowanego w Polsce amoniaku, 99% pochodzi z rolnictwa, w tym 70% z produkcji zwierzęcej (Sapek 2013). Powstające w hodowli wielkotowarowej zwierząt związki odorowe, mają negatywny wpływ zarówno na inwentarz, obsługę, okolicznych mieszkańców jak i na środowisko naturalne. Pogorszenie dobrostanu zwierząt, znacząco obniża rentowność produkcji: poprzez zmniejszenie przyrostów, gorsze wykorzystanie paszy oraz spadek płodności i plenności, a w przypadku drobiu nieśności (Ferket i in. 2002).

W kurniku szczególnie groźne są amoniak, siarkowodór i dwutlenek węgla. Najczęstsze zagrożenie stanowi amoniak - gaz o duszącej, ostrej woni drażniący błony śluzowe i trujący w dużym stężeniu. Jest bardzo dobrze rozpuszczalny w wodzie, bo w 1 dm³ wody

w temperaturze pokojowej można rozpuścić 700 dm³ amoniaku (Gacka 2011). Jego emisja w kurniku jest skutkiem źle zbilansowanej dawki żywieniowej, zbyt dużej podaży białka lub braku równowagi pomiędzy poszczególnymi aminokwasami w paszy. Prowadzi to do wzrostu ilości kwasu moczowego wydalanego przez ptaki, z którego w wyniku rozkładu bakteryjnego powstaje amoniak. Jest to gaz lżejszy od powietrza, dlatego najpierw zajmuje górne przestrzenie pomieszczeń (Gacka 2011). Przy wzroście wilgotności powietrza, łączy się z cząsteczkami wody i jako amoniak gazowy (NH₄), rozchodzi się w całej jego objętości, szczególnie, gdy wilgotność w pomieszczeniu przekracza 85%. Kondensacja pary wodnej z powietrza w ściółce, sprzyja intensywniejszej fermentacji mikrobiologicznej, co prowadzi do wzrostu jej pH z 5 do 8,5, a w konsekwencji, do wzmożonego bakteryjnego rozkładu kwasu moczowego. Zjawisko nasila się w miesiącach zimowych, kiedy to pomieszczenia są ogrzewane i źle wentylowane. Łatwość wiązania się amoniaku z wodą jest podstawą jego patogennego działania na powierzchni błon śluzowych układu oddechowego, spojówek, gałek ocznych i skóry oraz przenikania w głąb tkanek. Stężenie amoniaku powyżej 30 ppm, prowadzi do uszkodzenia płuc, a powyżej 50 ppm ptaki potrząsają głowami, stają się zaniepokojone i może dochodzić do upadków. Gaz zwiększa podatność zwierząt na choroby zakaźne i sprzyja obniżeniu produktywności ptaków (Gacka 2011; Beker i in. 2004). Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi Dz. U. nr 56 poz. 344 z dn.15.02.2010 oraz zalecenia Inspekcji Weterynaryjnej z dn. 11 lutego 2015 r., określają jego dopuszczalne stężenie w pomieszczeniach na 20 ppm. Praktyka pokazuje, że zwierzęta często narażone są na wyższe poziomy tego związku.

Następnym gazem, którego podwyższony poziom może nieść za sobą negatywne skutki dla zdrowia zwierząt, jest dwutlenek węgla, którego głównym źródłem jest powietrze wydychane przez ptaki. Dopuszczalne jego stężenie wynosi 3000 ppm, czyli 0,3% masowych (Gacka 2011). Przekroczenie tej granicy wskazuje na złe warunki bytowania ptaków i niedostateczną wentylację w budynku. Jego emisja jest także efektem rozkładu kurzego pomiotu, fermentującej ściółki i pozostałości wysokobiałkowej paszy. Stężenie CO₂, wyższe niż 1%, powoduje zaburzenia w procesie wymiany gazowej u kur, a dłuższa ekspozycja ptaków na wysoki poziom tego związku, może prowadzić do demineralizacji kości.

Istotnym, bo wysoce trującym gazem jest też siarkowodór, który powstaje w wyniku rozkładu gnilnego resztek paszy, której białka w swojej budowie zawierają siarkę. Jego dopuszczalny poziom określono na 5 ppm. Jest gazem cięższym od powietrza, dlatego wyższe stężenie występuje nad podłogą. Siarkowodór poraża centralny układ nerwowy, a wchłaniany

poprzez płuca do krwi, zmienia się w toksyczny dwusiarczek węgla. Działa silnie drażniąco, wywołuje stany zapalne błon śluzowych, trwałe nieżyty dróg oddechowych, zaburzenia w trawieniu, niedokrwistość, porażenia układu nerwowego i naczynioruchowego i obniżenie ogólnej odporności u drobiu (Gacka 2011). Ponadto, w skład powietrza kurników wchodzi tzw. odory, do których należą lotne kwasy organiczne, amoniak i fenole (Kołodziejczyk, 2011).

Reakcją obronną organizmu na czynniki uszkodzające, m.in. gazy szkodliwe, jest stan zapalny. Stopień jego nasilenia można ocenić na podstawie wydzielania prozapalnych cytokin. Kluczową z nich jest IL-1 β , której jednym z efektów działania jest indukowanie wydzielania IL-6 (Asif i in. 2006), najbardziej wielokierunkowo działającej interleukiny. Inną możliwą miarą oceny szkodliwości gazów, jest ocena równowagi oksydoredukcyjnej. Wśród wskaźników stresu oksydacyjnego, możemy wyróżnić enzymy: peroksydazę, której zadaniem jest ochrona komórek przed utleniającym działaniem nadtlenków powstających w trakcie procesów biochemicznych i katalazę, która katalizuje proces rozkładu nadtlenku wodoru do tlenu i wody. Inną grupą wskaźników stresu oksydacyjnego, są wskaźniki nieenzymatyczne, do których zalicza się malondialdehyd (MDA) i metaboliczne grupy tiolowe (-SH) Skulachev 1998).

Aktualnie poszukuje się metod służących zmniejszeniu emisji gazów w pomieszczeniach. Jednym z dobrych rozwiązań, wydaje się być biologizacja środowiska bytowania zwierząt, czyli zasiedlenie budynków, wyposażenia, paszy, wody oraz ściółki pożytecznymi drobnoustrojami, które stanowią konkurencję dla mikroflory urykolitycznej, co pozytywnie wpływa na zmniejszenie emisji gazów i zdrowie zwierząt.

Cel i metoda

Celem pracy była ocena odpowiedzi immunologicznej (IL-1 β , IL-6) oraz enzymatycznych (katalaza, peroksydaza) i nieenzymatycznych (MDA, grupy -SH) wskaźników stresu oksydacyjnego w tchawicy kur niosek, przebywających w pomieszczeniu po zastosowaniu biopreparatu Deodoric®.

Trwające 53 dni doświadczenie, przeprowadzono na 17-tygodniowych kurach nioskach rasy ROSS-308 w bloku doświadczalnym Katedry Chorób Ptaków Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie. Pomieszczenia o powierzchni 12 m² były wyposażone w standardowy sprzęt do obsługi zwierząt, zbliżony do stosowanego na fermie pochodzenia ptaków z automatyczną regulacją temperatury i wentylacji. Kury karmiono reglamentowaną dawką paszy, określoną w „Instrukcji utrzymania stada rodzicielskiego ROSS zalecenia

karmienia kur niosek rasy ROSS-308” dwukrotnie w ciągu dnia, ze stałym dostępem do wody. Próbkę tchawicy pobrano po uboju kur w ubojni doświadczalnej Katedry Towaroznawstwa Ogólnego i Doświadczalnictwa Wydziału Bioinżynierii Zwierząt UWM Olsztynie.

Ptaki podzielono na dwie grupy po 60 kur i 6 kogutów w każdej (kontrolną – K i doświadczalną – D). Obsada zwierząt na 1 m² była taka sama, jak na fermie macierzystej i wynosiła 5,5 szt/m². Ptaki utrzymywano na słomie z pszenicy, dościelanej raz w tygodniu do już wyłożonej. W pomieszczeniach grupy D, co tydzień rozsypywano ręcznie preparat dezodorujący Deodoric® w ilości 2 kg, który składał się z 2 części: pierwszej, tzw. "suszu" - mieszanki drobnoustrojów: *Pseudomonas fluorescens* (ŁOCK 0961), *Enterococcus faecium* (ŁOCK 0965), *Bacillus subtilis* (ŁOCK 0962), *Bacillus megaterium* (ŁOCK 0963), *Leuconostoc mesenteroides* (ŁOCK 0964), *Lactobacillus plantarum* (ŁOCK 0996) wysuszonych rozpyłowo z trehalozą (5% w/v) i maltodekstryną (Maltodextrin N 15% w/v; DE = 7 – 13, HORTIMEX Sp. z o. o.) i drugiej, stanowiącej nośnik mineralny (perlit i bentonit w proporcji 15% perlitu do 85% bentonitu- wagowo, natomiast objętościowo 1:1). Skuteczność działania biopreparatu dezodorującego oceniano przez pomiar stężenia amoniaku detektorem gazowym Dräger X-am® 5000 codziennie o godz. 8:00 i 17:00.

Do oceny oddziaływania gazów na drogi oddechowe kur, w dniu uboju pobrano od 10 sztuk z każdej z grup próbkę tchawicy i oznaczono stężenia cytokin prozapalnych (IL-1 β , IL-6) metodą ELISA, wykorzystując komercyjne testy oraz wskaźniki stresu oksydacyjnego: enzymatyczne (katalaza, peroksydaza) i nieenzymatyczne (MDA, grupy –SH), przy zastosowaniu metody spektrofotometrycznej

Uzyskane wyniki przeliczono na 1 mg białka oznaczonego wg metody Bradforda. Analizę statystyczną wykonano za pomocą testu t-Studenta, obejmującą analizę podstawowych statystyk opisowych na poziomie istotności P<0,05.

Wyniki badań

Wyniki prowadzonych pomiarów stężenia amoniaku, zamieszczono w tabeli 1. Obserwując wyniki pomiarów poziomu amoniaku w pomieszczeniach, można zauważyć, że grupa kontrolna była ekspozycja na działanie wyższych średnich stężeń niż grupa badana. Należy nadmienić, że średnie z pomiaru zawartości amoniaku o godz. 17:00, były wyższe w obu grupach od tych wykonywanych o godz. 8:00 i wyniosły odpowiednio dla grupy D 9,0 ppm i 8,4 ppm oraz dla grupy K 14,1 ppm i 11,3 ppm.

Tabela 1. Wyniki pomiarów stężenia amoniaku [ppm] w pomieszczeniach, gdzie utrzymywano ptaki

Dzień pomiaru	Godzina pomiaru		Średni pomiar dzienny	Godzina pomiaru		Średni pomiar dzienny
	8:00	17:00		8:00	17:00	
	Grupa D			Grupa K		
1	*	4	4,0	0	5	5,0
2	*	*	*	*	*	*
3	*	0	0,0	*	8	8,0
4	0	8	4,0	21,0	23	22,0
5	*	7	7,0	*	16	16,0
6	5	4	4,5	7	12	9,5
7	0	3	3,0	0	10	10,0
8	2	2	2,0	13	16	14,5
9	2	4	3,0	11	16	13,5
10	3	2	2,5	12	12	12,0
11	12	16	14,0	17	23	20,0
12	8	6	7,0	14	12	13,0
13	6	5	5,5	13	14	13,5
14	4	4	4,0	12	14	13,0
15	*	5	5,0	*	12	12,0
16	6	5	5,5	17	16	16,5
17	6	*	6,0	7	*	7,0
18	8	*	8,0	11	*	11,0
19	6	10	8,0	14	16	15,0
20	17	31	24,0	16	15	15,5
21	12	6	9,0	11	12	11,5
22	8	*	8,0	12	6	9,0
23	10	24	17,0	20	19	19,5
24	16	12	14,0	6	8	7,0
25	12	12	12,0	9	9	9,0
26	35	16	25,5	6	20	13,0
27	13	23	18,0	22	13	17,5
28	10	14	12,0	11	30	20,5
29	0	*	0,0	10	*	10,0
30	5	5	5,0	10	20	15,0
31	20	8	14,0	17	12	14,5
32	15	15	15,0	10	12	11,0
33	6	31	18,5	18	22	20,0
34	13	4	8,5	10	13	11,5
35	12	20	16,0	15	17	16,0
36	17	6	11,5	0	6	3,0
37	36	26	31,0	10	11	10,5
38	27	20	23,5	15	22	18,5
39	20	17	18,5	13	20	16,5

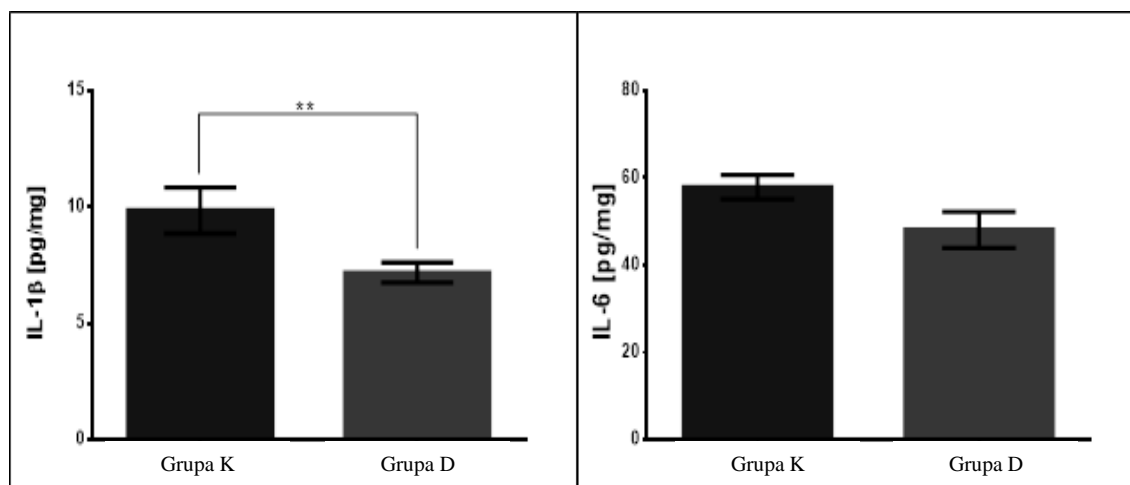
40	10	0	5,0	0	20	10,0
41	0	0	0,0	11	20	15,5
42	0	0	0,0	10	20	15,0
43	0	0	0,0	7	8	7,5
44	0	4	2,0	12	6	9,0
45	6	*	6,0	14	*	14,0
46	5	11	8,0	20	24	22,0
47	0	0	0,0	0	7	3,5
48	4	4	4,0	10	8	9,0
49	0	6	3,0	13	25	19,0
50	0	0	0,0	6	7	6,5
51	0	12	6,0	4	10	7,0
52	0	2	1,0	6	4	5,0
53	0	9	4,5	9	8	8,5
Średnia pomiarów	8,4	9,0	8,3	11,3	14,1	12,5

* Wartość poniżej progu detekcji aparatu pomiarowego

Źródło: Opracowanie własne.

Należy również podkreślić, że w grupie z zastosowanym biopreparatem dezodorującym, narażenie na amoniak również było wyższe niż dopuszczalna norma. Najwyższą emisję 36 ppm odnotowano tam w 37 dniu doświadczenia. W grupie K, najwyższe stężenie amoniaku wystąpiło w 28 dniu doświadczenia i wynosiło ono 30 ppm. Obserwując zmiany zawartości amoniaku w powietrzu, można zauważyć, że wzrost skuteczności biopreparatu odnotowano w ostatnich 2 tygodniach badań.

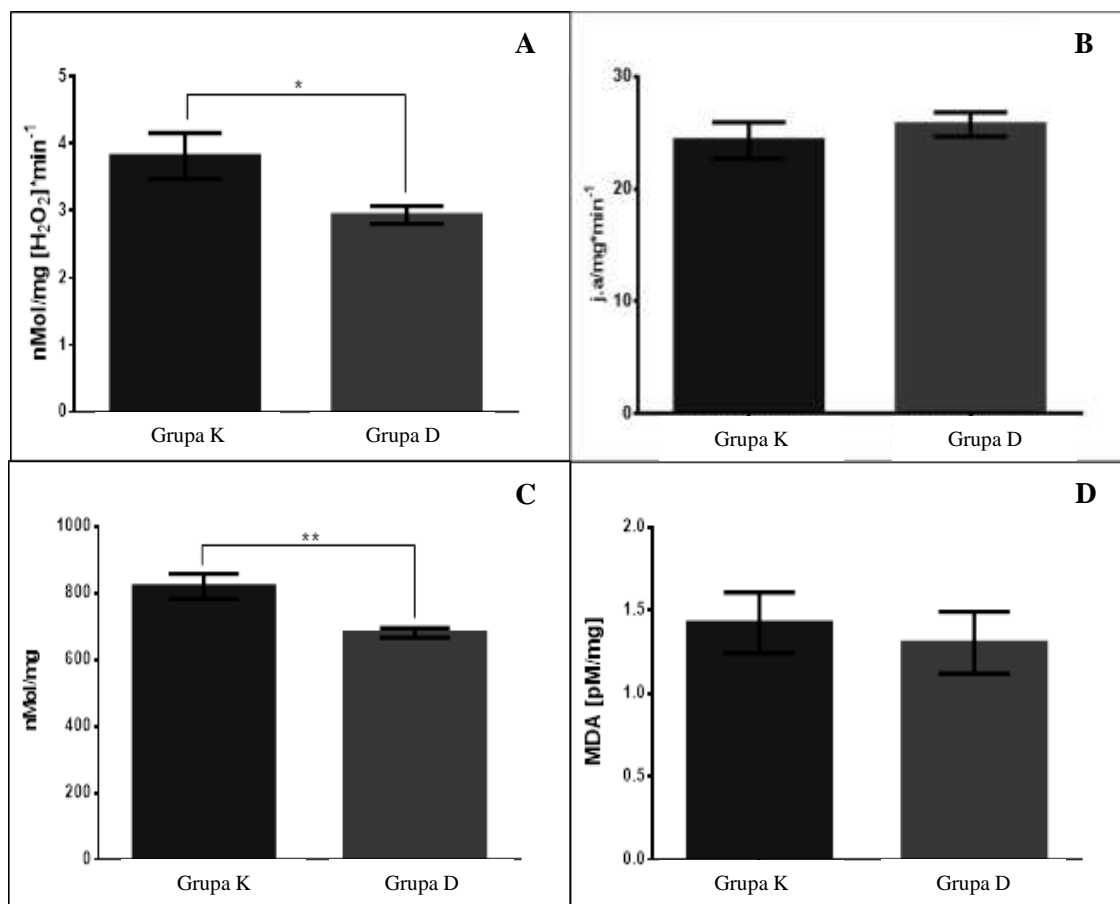
Rysunek 1. PoziomuIL-1 β , IL-6 w tchawicy kur,** P<0,01



Źródło: Opracowanie własne

Z przeprowadzonych badań oceny wydzielania cytokin wynika, że poziom IL-1 β był statystycznie wyższy ($P < 0,01$) w grupie kontrolnej i wynosił 6,56 pg/mg. W przypadku IL-6 odnotowano również wyższe jej stężenie niż w grupie doświadczalnej (57,91 pg/mg), ale ten wzrost nie wykazywał istotności statystycznej (Rys. 1). Aktywność katalazy i stężenie metabolicznych grup-SH było statystycznie wyższe w grupie K (odpowiednio $P < 0,5$ i $P < 0,01$) (Rys. 2).

Rysunek 2. Poziomu katalazy (A), peroksydazy (B), grup -SH (C) i MDA (D) w tchawicy kur, * $P < 0,5$; ** $P < 0,01$



Źródło: Opracowanie własne

Dyskusja

Podstawowym i najbardziej popularnym sposobem poprawy jakości powietrza w pomieszczeniach dla zwierząt, jest właściwie dobrana, zarówno do wymagań inwentarza, jak i do kubatury budynku, wentylacja. Jednak przy dużym zagęszczeniu ptaków, może to nie wystarczyć. Ponadto usunięcie gazów z budynku, to połowiczne rozwiązanie problemu. Jest to jedynie przesunięcie go do środowiska zewnętrznego, co również nie pozostaje bez konsekwencji. Odory, w tym związki azotu, przyczyniają się do powstawania kwaśnych

deszczy, zmian chemizmu wód i gleb, ale również zakłócają równowagę biologiczną biocenozy (Górska i Świdorska-Bróz 1996). Do substancji ograniczających emisję odorów w hodowlach, należą substancje maskujące (mieszaniny olejków aromatycznych, posiadające silny zapach, „przykrywający” odór odchodów), substancje przeciwdziałające (mieszaniny olejków aromatycznych neutralizujące odór odchodów), odwaniacze trawienne (bakterie lub enzymy eliminujące odór poprzez biochemiczne procesy trawienne), pochłaniacze (wytwarzane z różnych substancji pochłaniają odór zanim zostanie uwolniony do środowiska), dodatki paszowe (związki dodawane do paszy), by poprawić strawność pobieranej paszy i w rezultacie obniżyć emisję odoru, oraz te odwaniacze chemiczne, które spowalniają mikrobiologiczny rozkład kwasu moczowego oraz te, które wchodzi w reakcję chemiczną z amoniakiem neutralizując go. W naszym doświadczeniu zastosowaliśmy mieszaninę różnych szczepów drobnoustrojów oraz nośnik mineralny (perlit i bentonit w proporcji 15% perlitu do 85% bentonitu) i uzyskaliśmy efekt obniżenia emisji. Zaobserwowane zmienne stężenia w ciągu dnia mogą wystąpić naturalnie, bo obserwacje pokazują, że godzinach wieczornych i nocnych odnotowuje się wyższe stężenia amoniaku w pomieszczeniach, gdzie bytują ptaki, niż w godzinach porannych. Jak pokazują badania, amoniak może wpływać na zaburzenia równowagi oksydoredukcyjnej i odpowiedź immunologiczną (Cheng 2015). Wykazano, że narażenie brojlerów na amoniak, wzmacnia stan zapalny i zmiany morfologiczne w tchawicy i innych częściach układu oddechowego (Liu i in. 2008).

Podsumowanie

Zastosowanie różnych preparatów na ściółkę w kurniku, jest jednym z wielu sposobów ograniczenia emisji gazów do powietrza. Wykazano, że Deodoric®, zaaplikowany do ściółki, obniżył emisję amoniaku i prawdopodobnie również zmniejszył emisję odorów. O skuteczność zastosowanej metody świadczą niższe stężenia IL-1 β i IL-6 oraz korzystniejsze parametry stresu oksydacyjnego w tchawicy kur grupy doświadczalnej. Podsumowując należy stwierdzić, że stosowanie tego typu preparatów w kurniku, podnosi dobrostan zwierząt i korzystnie wpływa na jakość emitowanego powietrza z budynku inwentarskiego.

Literatura

Asif M., Lowenthal J.W., Ford M.E., Schat K.A., Kimpton W.G., Bean A.G. 2006. *Interleukin-6 expression after infectious bronchitis virus infection in chickens*. *Viral. Immunol.* 20(3): 479-486.

- Beker A., Vanhooser S., Swartzlander J., Teeter R. 2004. *Atmospheric Ammonia Concentration Effects on Broiler Growth and Performance*. J. Appl. Poultry Res. 13 (1): 5-9.
- Beker A., Vanhooser S.L., Swartzlander J.H., Teeter R.G. 2004. *Atmospheric ammonia concentration effects on broiler growth and performance*. J. Appl. Poultry Res. 13: 5-9.
- Cheng C.H., Yang F.F., Ling R.Z., Liao S.A., Miao Y.T., Ye C.X., Wang A.L. 2015. *Effects of ammonia exposure on apoptosis, oxidative stress and immune response in pufferfish (Takifugu obscurus)*. Aquat. Toxicol. 164: 61-71.
- Ferket P.R., van Heugten E., van Kempen T.G., Angel R. 2002. Nutritional strategies to reduce environmental emissions from non-ruminants. J. Anim. Sci. 80 (E. Suppl. 2): E168-E182.
- Gacka S. 2011. *Biologizacja kurnika. Nowe rozwiązania w hodowli drobiu eliminujące szkodliwe gazy i ograniczające rozwój chorobotwórczej mikroflory* Polskie Drobiarstwo (12): 66-68.
- Gołąb J., Jakóbisiak M., Lasek W., Stokłosa T. 2017 *Immunologia* Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- Górska E., Świdzka Bróz M. 1996. *Kwaśne opady atmosferyczne i ich wpływ na gleby i wody powierzchniowe* Zeszyty naukowe. Inżynieria środowiska/Politechnika Zielonogórska. 111 (5): 61-74.
- Instrukcja Głównego Lekarza Weterynarii Nr GIWpr. 02010-1/2015 z dnia 11 lutego 2015 r. w sprawie postępowania powiatowych lekarzy weterynarii przy przeprowadzaniu kontroli gospodarstw utrzymujących zwierzęta pod względem dobrostanu zwierząt oraz raportowania o przeprowadzonych kontrolach gospodarstw utrzymujących zwierzęta pod względem dobrostanu zwierząt z elementami zwalczania chorób zakaźnych.
- Kołodziejczyk T., Jugowar J., Piotrkowski M. 2011. *Emisja Odorów z kurników* Problemy Inżynierii Rolniczej (1) : 135-141.
- Labier M., Leclercq B. 1995. *Żywnienie drobiu* Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa s. 62: 97-123.
- Liu X., Yao M., Li N., Wang C., Zheng Y., Cao X. 2008. *CaMKII promotes TLR-triggered proinflammatory cytokine and type I interferon production by directly binding and activating TAK1 and IRF3 in macrophages*. Blood 112: 4961-4970.
- Ritz C., Fairchild B., and Lacy M. 2004 *Implications of Ammonia Production and Emissions from Commercial Poultry Facilities: A Review*. J. Appl. Poultry Res, 13(4): 684-692.
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 15 lutego 2010 r. Dz. U. nr 56 poz. 344 z dn.15.02.2010 w sprawie wymagań i sposobu postępowania przy utrzymywaniu gatunków zwierząt gospodarskich, dla których normy ochrony zostały określone w przepisach Unii Europejskiej
- Sapek A. 2013. *Emisja amoniaku z rolnictwa w Polsce, Zagadnienia Ekonomiki Rolnej*, 335 (2): 114-123.
- Skulachev V.P. 1998. *Possible role of reactive oxygen species in antiviral*. Biochemistry, 63(12): 1438-1440.

Ocena parametrów histologicznych tchawicy u kur niosek hodowanych w środowisku z dodatkiem preparatu dezodorującego

Evaluation of histological parameters of the trachea in laying hens bred in environment with the addition of a deodorant

Monika Krystyna Pajdowska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Koło Naukowe „Żywnienie Zwierząt”
Opiekun: dr hab. Kazimierz Obremski

Abstract

The aim of the study was to evaluate the effects of laying hens in a room after bedding using Deodoric® biopreparation for the histological structure of the trachea. The test material consisted of tracheas of control hens (no application to the biopreparation bedding) and experimental hens (application for biopreparation bedding), which were subjected to hematoxylinandeosin (HE) staining. Histological analysis showed no significant differences in both groups and concerned the assessment of the degree of mucosalepithelial damage, apoptosis of mucosalepithelial cells, degenerative changes in mucouscellsordisturbances in their distribution, or changes in the structure of the tracheacartilage. The most pronounced difference was related to a smaller degree of metaplasia of the mucousepithelium, increased epithelial infiltration with immune cells, or an increase in the number of mucous cells in tracheal hens of the experimental group compared to chickens in the control group that were not applied to the biopreparation bedding.

Keywords: deodorization, poultrymanure, biopreparation, histology

Wstęp

Chów zwierząt gospodarskich stanowi, zaraz obok uprawy roślin, podstawową działalność rolniczą. Głównym jego celem jest pozyskanie mięsa oraz produktów pochodzenia zwierzęcego. Na przestrzeni wielu lat można zaobserwować stale rosnący wzrost zapotrzebowania na produkty drobiarskie, co prowadzi do intensyfikacji hodowli drobiu, skutkującej zwiększeniem zagrożenia środowiska szkodliwymi substancjami powstającymi podczas odchowu ptaków (Matusiak i in. 2017). Zagrożenie to dotyczy wielkotowarowych ferm drobiu i drobnych producentów i wynika z emisji z budynków pyłów, gazów i substancji odorowych (Kupiec 2014). Wykazano, że powietrze pochodzące z obiektów inwentarskich, zawiera 164 różne związki chemiczne, z czego substancje odpowiedzialne za nieprzyjemny zapach to w głównej mierze kwasy organiczne, amoniak, siarkowodór i fenole. Ich źródłem są elementy środowiska kurnika, charakteryzowane przez ściółkę i paszę, produkty reakcji

zachodzących w kurniku, metabolizm ptaków oraz mikroorganizmów, a także skład mikroflory kurnika. Specyficzny mikroklimat pomieszczeń inwentarskich dla drobiu tworzy: wysoka temperatura, wysoka wilgotność oraz obniżony stopień wymiany powietrza (Stuper-Szablewska i in. 2018).

Uciążliwość środowiskowa, wynikająca z odchowu drobiu, dotyczy ludzi mieszkających w ich zasięgu. Substancje o charakterze odorantów, powodują nieprzyjemne doznania węchowe, jak również są powodem chorób. Występowanie wielu różnych substancji zapachowych w powietrzu, może powodować synergizm, maskowanie lub neutralizację bodźców zapachowych. Intensywność wydobywających się zapachów, w żaden sposób nie jest związana ze stężeniem poszczególnych substancji, wobec czego nie stosuje się urządzeń służących do pomiaru wybranych domieszek gazowych (Kołodziejczyk i in. 2011). Możliwe jednak jest oszacowanie całościowej emisji odorów z budynków inwentarskich poprzez wyznaczenie wskaźników emisji odorów w odniesieniu do 1kg masy ptaków (Stuper-Szablewska i in. 2018).

Wykazano także szkodliwość lotnych związków organicznych oraz nadmiernego zapylenia, co wywołuje u ludzi odczyny alergiczne, bóle głowy i mięśni, duszności, świszczący oddech oraz ucisk w klatce piersiowej. Pracownicy ferm drobiu, często po 5 latach ekspozycji na panujące tam warunki środowiskowe, wykazują przewlekłe objawy ze strony układu oddechowego, zaburzenia czynności płuc, nieżyt nosa oraz egzemę (Stuper-Szablewska i in. 2018).

Lotne substancje odorowe są powodem spadku wydajności produkcji ferm drobiu na skutek zwiększonej zapadalności ptaków na choroby. Najczęściej stwierdzanym zagrożeniem na tym polu, jest nadmierna emisja amoniaku. Jego głównym źródłem jest produkcja zwierzęca, stanowiąca 66,9% całkowitej emisji amoniaku do atmosfery (Kupiec 2014). Amoniak powstaje na skutek amonifikacji produktów organicznych zawierających białko. Należą do nich odchody ptaków składające się ze związków azotowych, kwasu moczowego, mocznika i białka oraz pasza. Amoniak to bezbarwny gaz, o silnym działaniu drażniącym na błony śluzowe, który w dużym stężeniu powoduje zatrucia. W rezultacie, niskie stężenia, powodują podrażnienie oraz stany zapalne dróg oddechowych i spojówek, natomiast wyższe odpowiadają za obrzęk płuc oraz wylewy krwawe do tchawicy i oskrzeli (Kupiec 2014). Narażenie ptaków na zwiększone stężenie amoniaku, powoduje zwiększone zużycie paszy, większą wrażliwość na stres, mniejsze przyrosty oraz opóźnione dojrzewanie płciowe czy zmniejszenie nieśności (Gacka 2011). Wykazano, że problem dotyczy zarówno kur niosek, jak i kurzych brojlerów,

jednak stopnie zmian w tchawicy i płucach wzrastały wraz z wiekiem (Beker 2004). Kolejnym istotnym zagrożeniem zasługującym na uwagę, jest wysoki poziom siarkowodoru w kurniku, pochodzący z gnilnego rozpadu resztek białka zawierającego siarkę. Siarkowodor jest gazem o silnym działaniu trującym, porażającym centralny układ nerwowy i powodującym stany zapalne błon śluzowych. Jest powodem zaburzeń w trawieniu, niedokrwistości, porażenia układu nerwowego i naczynioruchowego, trwałego nieżytu dróg oddechowych, a w konsekwencji, prowadzi do obniżenia odporności drobiu. Gaz ten jest szczególnie niebezpieczny ze względu na możliwość wchłaniania się zarówno przez płuca, jak i przez skórę.

W związku z istniejącym realnym zagrożeniem od strony zarówno mikrobiologicznej, jak i chemicznej, podczas hodowli drobiu, należy podejmować wszelkie działania w kierunku poprawy czystości powietrza. W pierwszej kolejności należy zapewnić poprawną wentylację w pomieszczeniach inwentarskich. Pamiętać trzeba, że rozwiązanie takie może stanowić znaczące obciążenie środowiska naturalnego. Jest to bowiem metoda polegająca na transferze szkodliwych substancji na zewnątrz budynku, bez jakiegokolwiek oczyszczenia. Coraz częściej ucieka się do metod likwidujących przyczynę zanieczyszczenia powietrza, jaką jest biologizacja kurnika. Polega ona na zasiedleniu środowiska kurnika zespołami pożytecznych mikroorganizmów, które działają dwutorowo: z jednej strony ograniczają rozwój patogennej mikroflory na drodze konkurencji, a z drugiej, sprzyjają prawidłowemu rozwojowi zwierząt, poprzez zabezpieczenie określonych funkcji życiowych i wytwarzanie substancji sprzyjających zdrowiu. Biopreparaty cechują się bezpieczeństwem i łatwością użycia, ponieważ nie wymagają zastosowania specjalistycznej aparatury czy instalacji. Ponadto nie powodują korozji metali i nie niszczą ceramiki oraz tworzyw sztucznych (Gacka 2011). Ze względu na swoje cechy, stanowią przyszłościowy kierunek w walce ze skutkami zanieczyszczenia powietrza, pochodzącym z odchowu drobiu.

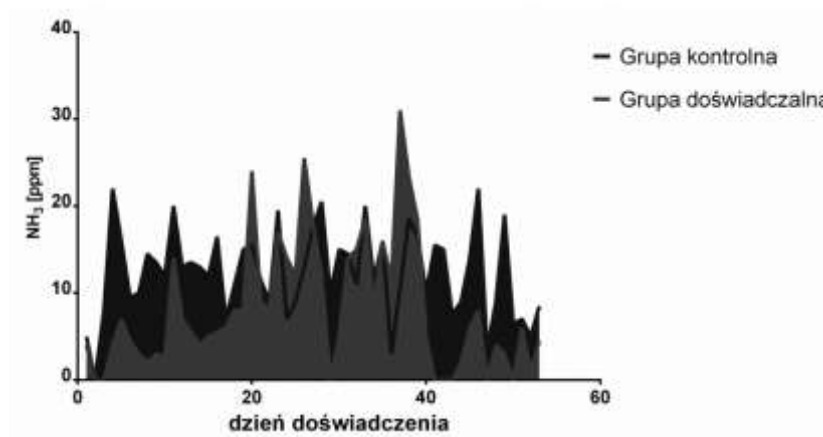
Cel i metoda

Celem badań była ocena skutków przebywania kur niosek w pomieszczeniu po dościółkowym zastosowaniu biopreparatu Deodoric® na budowę histologiczną tchawicy. Trwające 53 dni, doświadczenie przeprowadzono na 17-tyg. kurach nioskach rasy ROSS-308 w bloku doświadczalnym Katedry Chorób Ptaków Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM w Olsztynie utrzymywanych systemem ściółkowym. Ptaki podzielono na dwie grupy po 60 kur i 6 kogutów w każdej (Grupa kontrolna i Grupa doświadczalna). Obsada zwierząt na 1 m² była taka sama, jak na fermie macierzystej i wynosiła 5,5szt/1 m². Ptaki utrzymywano na słomie

z pszenicy, dościelanej raz w tygodniu do już wyłożonej. Preparat dezodorujący Deodoric® był aplikowany do ściółki raz w tygodniu. Na dwa tygodnie przed końcem doświadczenia została zwiększona częstotliwość na co 3 dzień. Biopreparat składał się z dwóch części, z czego pierwszą stanowiła mieszanka drobnoustrojów: *Pseudomonas fluorescens* (ŁOCK 0961), *Enterococcus faecium* (ŁOCK 0965), *Bacillus subtilis* (ŁOCK 0962), *Bacillus megaterium* (ŁOCK 0963), *Leuconostoc mesenteroides* (ŁOCK 0964) *Lactobacillus plantarum* (ŁOCK 0996) wysuszonych rozpyłowo z trehalozą (5% w/v) i maltodekstryną (Maltodextrin N 15% w/v; DE = 7 – 13, HORTIMEX Sp. z o. o.), a drugą część nośnik mineralny - perlit i bentonit. Proporcje wagowe perlitu do bentonitu przedstawiały się jako 15% do 85%, natomiast objętościowe jako 1:1. Zaobserwowano dwutorowe działanie preparatu, polegające na konkurencyjnym do bakterii, działaniu mikroflory oraz zastosowanie glinki o właściwościach sorpcyjnych. Pomiar stężenia amoniaku wykonywano detektorem gazowym Dräger X-am® 5000 codziennie o godz. 8:00 i 17:00.

Jako materiał do badań histologicznych, posłużyły wycinki tchawic pobrane bezpośrednio po uboju w ubojni doświadczalnej Katedry Towaroznawstwa Ogólnego i Doświadczalnictwa Wydziału Bioinżynierii Zwierząt UWM Olsztynie (n=9 z każdej z grup). Próbki narządów utrwalano w 4 % formalinie przez 72 godziny, a następnie odwodniano w ciągu alkoholi (procesor TP1020, Leica, Niemcy) i zatapiano w parafinie (stacja TP1020, Leica, Niemcy). Skrawki o grubości 4 µm, przygotowane za pomocą mikrotomu HM 340E (Microm, Hiszpania), barwiono hematoksyliną i eozyną za pomocą automatu ST 5020 (Leica, Niemcy). Preparaty analizowano i fotografowano w mikroskopie świetlnym Axioimager wyposażonym w kamerę AxioCam MRc5 (Carl Zeiss, Niemcy). Preparaty były oznakowane za pomocą kodu uniemożliwiającego osobom dokonujących ich oceny i opisu zidentyfikowanie, od której grupy zwierząt należy badany materiał. Analizowane cechy budowy histologicznej dotyczyły oceny uszkodzenia nabłonka błony śluzowej, metaplazji komórek nabłonka, apoptozy błony śluzowej, infiltracji komórek odpornościowych w nabłonku, ilości komórek śluzowych błony śluzowej, zmian degeneracyjnych komórek śluzowych lub zaburzenia ich rozmieszczenia, obecności komórek odpornościowych w błonie śluzowej i zmian w ogólnej budowie ściany tchawicy. W analizie badanego materiału zastosowano skalę punktową dotyczącą ilości badanych obiektów lub nasilenia zmian: 0 – brak, 1 – sporadyczne, 2- nieliczne, 3- średnio liczne, 4 – liczne, 5 – bardzo liczne. Wyniki badań opracowano za pomocą testu Manna-Whitney’a.

Rysunek 1. Emisja amoniaku w poszczególnych dniach doświadczenia

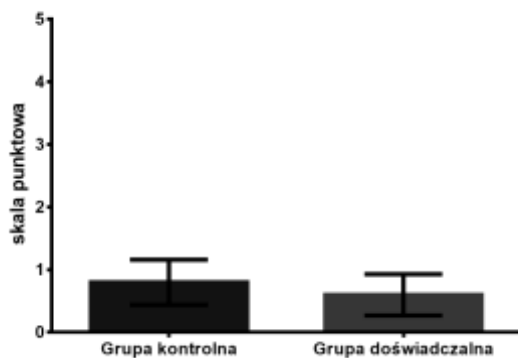


Źródło: Opracowanie własne.

Wyniki

Dzienne stężenie amoniaku w pomieszczeniach dla kur dowodzi, że użyty w doświadczeniu biopreparat Deodoric[®], zmniejszył emisję amoniaku (Rys. 1).

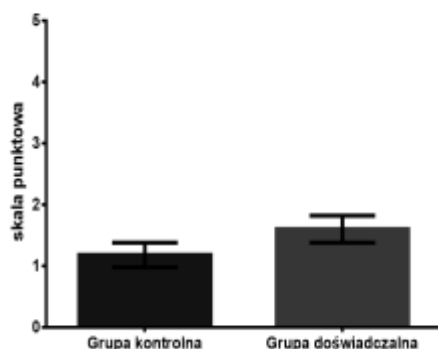
Rysunek 2. Metaplazja komórek nabłonka błony śluzowej tchawicy kur (średnia \pm SEM)



Źródło: Opracowanie własne.

Mimo braku występowania różnic istotnych statystycznie w obrębie ocenianych parametrów histologicznych, można zaobserwować ich korzystniejsze wartości w tchawicy kur grupy doświadczalnej.

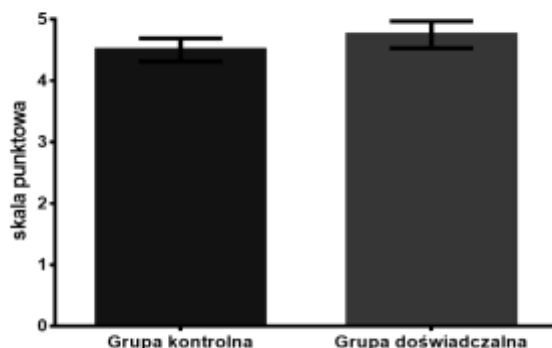
Rysunek 3. Infiltracja komórek odpornościowych w nabłonku tchawicy kur(średnia \pm SEM)



Źródło: Opracowanie własne.

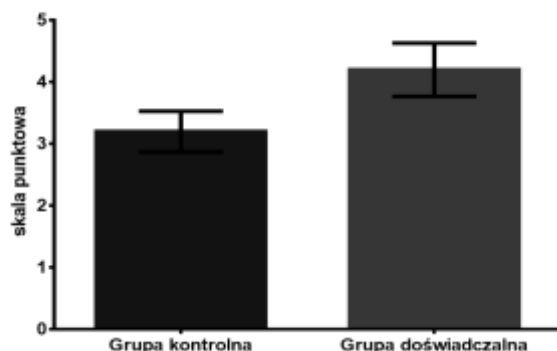
W badaniach histologicznych stwierdzono brak zmian w obu grupach na poziomie stopnia uszkodzenia nabłonka błony śluzowej, apoptozy komórek nabłonka błony śluzowej, zmian degeneracyjnych komórek śluzowych lub zaburzeń ich rozmieszczenia oraz zmian w budowie chrząstki tchawicy.

Rysunek 4. Ilość komórek śluzowych nabłonka błony śluzowej tchawicy kur(średnia \pm SEM)



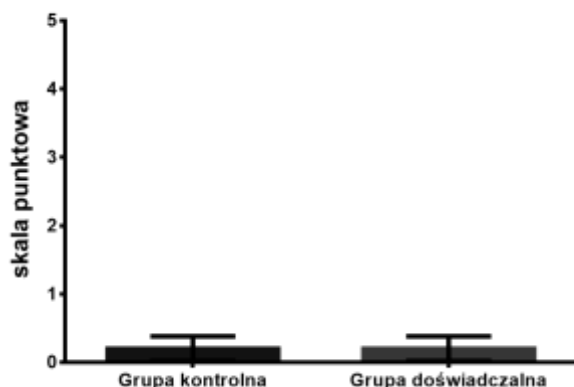
Źródło: Opracowanie własne.

Wykazano, że zmiany w ogólnej budowie ściany tchawicy, pozostały na równomiernym poziomie w obu badanych grupach (Rys. 6) i wynosiły odpowiednio po $0,20 \pm 0,18$ jednostki. Najbardziej wyraźna różnica została zaobserwowana w odniesieniu do obecności komórek odpornościowych w błonie śluzowej sięgającej wzrostu o $1 \pm 0,1$ jednostki (Rys. 5). W grupie doświadczalnej, infiltracja komórek odpornościowych w nabłonku wzrosła o $0,42 \pm 0,02$ (Rys. 3), a ilość komórek śluzowych nabłonka błony śluzowej o $0,25 \pm 0,03$ jednostki (Rys. 4), w porównaniu do grupy kontrolnej.

Rysunek 5. Obecność komórek odpornościowych w błonie śluzowej tchawicy kur(średnia \pm SEM)

Źródło: Opracowanie własne.

Odmienne do pozostałych wyników, metaplazja komórek nabłonka błony śluzowej, charakteryzowała się spadkiem występowania u kurs niosek grupy doświadczalnej o $0,2 \pm 0,03$ jednostki (Rys. 1), w porównaniu do kur grupy kontrolnej, którym nie aplikowano do ściółki biopreparatu.

Rysunek 6. Zmiany w ogólnej budowie tchawicy kur(średnia \pm SEM)

Źródło: Opracowanie własne.

Dyskusja

Amoniak jest uwalniany na fermach drobiu ze względu na wysoką zawartość białka w paszach. Ptaki nie są w stanie wykorzystywać nadmiaru dostarczanych im aminokwasów, dlatego ulegają one deaminacji, a azot jest wydalany w formie kwasu moczowego, amoniaku i mocznika (Skóra i in. 2016). Duży odsetek kwasu moczowego podlega konwersji przez enzymy urykazę i ureazę, które naturalnie występują w oborniku i ich aktywność, w dużej mierze, zależy od pH obornika i temperatury.

Narażenie drobiu przez dłuższy czas na emisję 20 ppm, może powodować szereg niekorzystnych objawów. Główne konsekwencje działania NH_3 , dotyczą hamowania wydzielania śluzu przez komórki kubkowe w tchawicy, hamowania nabłonka rzęskowego, ale wykazano także uszkodzenia błony śluzowej (Al-Mashhadani i Beck 1985).

W przeprowadzonym doświadczeniu zastosowaliśmy biopreparat, będący mieszaniną różnych szczepów drobnoustrojów oraz nośnika mineralnego (perlit i bentonit) w celu zmniejszenia emisji amoniaku w powietrzu pomieszczenia. Są to na chwilę obecną najnowsze trendy deodoryzacji pomieszczeń dla zwierząt, ponieważ w widoczny sposób zmniejszają liczbę bakterii tlenowych i beztlenowych czynnych w produkcji amoniaku. Podczas badania patomorfologicznego, zmiany morfologiczne obserwowano zarówno u kur kontrolnych, jak i tych trzymany na ściółce poddanej działaniu biopreparatu. Narażenie na zwiększone stężenia amoniaku, jak stwierdzili Gamble i Clough (1976), jest powodem zmian histopatologicznych w nabłonku tchawicy szczurów. Nagaraja i in. zaobserwowali, że spadek emisji amoniaku w pomieszczeniach dla indyków z 40 ppm do 10ppm (1983), skutkował mniejszym nasileniem zmian w aparacie śluzowo-rzęskowym. Jak zauważają Fidanci i in (2010), u podłoża powstawiania zmian histopatologicznych w tchawicy, są zaburzenia równowagi oksydoredukcyjnej powodowane przez amoniak.

Podsumowanie

Odchów ptaków na fermie nierozzerwalnie wiąże się z wydzielaniem do powietrza wielu odorantów, mających szkodliwy wpływ na zdrowie ptaków. Badanie wykazało, że skutkiem dościółkowej aplikacji biopreparatu Deodoric®, było zmniejszenie emisji odorantów, pochodzących w głównej mierze z pomiotu ptasiego. Miało to korzystny wpływ na oceniane parametry histologiczne związane z barierą ochronną błony śluzowej tchawicy kur. W związku z przeprowadzonymi badaniami oraz uzyskanymi wynikami, nasuwa się wniosek, że użyty biopreparat, może być skutecznym sposobem ograniczenia negatywnych skutków działania związków odorowych na ptaki hodowlane.

Literatura

- Al-Mashhadani E., Beck. 1985. *Effect of atmospheric ammonia on the surface ultra structure of the lung and trachea of broiler chicks*. Poultry. Sci. 64: 2056–2061.
- Beker A., Vanhooser S., Swartzlander J., Teeter R. 2004. *Atmospheric Ammonia Concentration Effects on Broiler Growth and Performance* J.Aapp.Poultry. Res. 13 (1): 5-9.

- Fidanci U.R., Yavuz H., Kum C. Kiral F., Ozdemir M., Sekkin S., Filazi, A. 2010. *Effects of ammonia and nitrite-nitrate concentration on thyroid hormones and variables parameters of broilers in poorly ventilated poultry houses*. J. Animal. Veterinary. Adv. 9: 346–353.
- Gacka S. 2011. *Biologizacja kurnika. Nowe rozwiązania w hodowli drobiu eliminujące szkodliwe gazy i ograniczające rozwój chorobotwórczej mikroflory*, Polskie Drobiarstwo (12): 66-68.
- Gamble M.R, Clough G. 1976. *Ammonia build-up in animal boxes and its effect on rat tracheal epithelium*. Lab. Anim. 10(2): 93-104.
- Kołodziejczyk T., Jugowar J., Piotrkowski M. 2011. *Emisja Odorów z kurników* Problemy Inżynierii Rolniczej (1): 135-141.
- Kupiec J. 2014. *Emisja amoniaku w chowie drobiu i sposoby jego ograniczania* Wiadomości Drobiarskie (1): 17-23.
- Matusiak K., Skóra J., Borowski S., Pielech-Przybylska K, Nowak A., Wojewódzki P., Herman J., Okrasa M., Gutarowska B. 2017. *Mikrobiologiczne, pyłowe i odorowe zagrożenia na fermach drobiu oraz biologiczna metoda eliminacji* Inżynieria Ekologiczna 18 (3): 184-193.
- Nagaraja K.V., Emery D.A., Jordan K.A., Newman J.A., Pomeroy B.S. 1983. *Scanning electron microscopic studies of adverse effects of ammonia on tracheal tissues of turkeys*. Am J. Vet. Res. 44(8): 1530-1536.
- Skóra J., Matusiak K., Wojewódzki P., Nowak A., Sulyok M., Ligocka A., Okrasa M., Hermann J., Gutarowska B. 2016. *Evaluation of microbiological and chemical contaminants in poultry farms*. Int. J. Environ. Res. Public Health. 13(2): 192.
- Stuper-Szablewska K., Szablewski T., Nowaczewski S., Gornowicz E. 2018. *Zagrożenia chemiczne i mikrobiologiczne związane z hodowlą drobiu*, Med. Środow. 21 (4): 53-63.

Rozdział III

Poprawa efektywności odchowu trzody

Wyniki tuczu tuczników żywionych mieszanką pełnoporcjową z udziałem fermentowanej poekstrakcyjnej śruty rzepakowej

The results of feeding growing-finishing pigs with a complete mixture with fermented rapeseed meal

Arkadiusz Marek Huzarek
Nicoletta Magdalena Neuman

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Bioinżynierii Zwierząt
Naukowe Koło Hodowców Trzody Chlewnej
Opiekun: dr inż. Dorota Bugnacka

Abstract

In the era of searching for valuable equivalents of soybean meal in mixtures for growing-finishing pigs, the use domestic sources of protein may prove to be a good alternative. One of the high protein feeds which can be used for this purpose is rapeseed meal. In turn submitting it to the fermentation process can be treated as a method of improving the nutritional value. The purpose of the study was to compare the effects of growing-finishing pigs fed a standard cereal-soy-rapeseed mixture or a complete mixture with fermented rapeseed meal.

There were created two experimental groups, 12 growing-finishing pigs per group: (1) control group fed a mixture based on standard soybean meal (10,0%) with rapeseed meal (8,0%) and barley as the only one cereal (80,0%); (2) experimental group in which growing-finishing pigs were fed a balanced mixture based on fermented rapeseed meal as the only one high-protein component (19,0%) and barley (81,0%). It was used to two-phase fattening and in both phases of fattening the proportion of these components in mixtures were the same. There were analyzed such production characteristics of growing-finishing pigs as: weight, daily gains, feed intake and feed/gain ratio, carcass weight and meatiness.

Average daily gains of investigated growing-finishing pigs during the whole experimental period varied significantly and were higher in the control group (1200g), compared to group 2 (1110g). It was found that during the whole fattening period, the average daily feed intake of the diets with fermented rapeseed meal (group 2) was significantly higher (3,12 kg), compared to diet 1 (2,85 kg). However, the feed/gain ratio of diets 2 was significantly worse (2,81 kg/kg), compared to the control diets (2,39 kg / kg). The meatiness of the growing-finishing pigs was not diverse between the studied groups (respectively: 56,36 and 55,13%). To sum up, feeding the pigs the mixtures with fermented rapeseed meal as the only one high-protein component caused a decrease in the effectiveness of rearing.

Keywords: pigs, rapeseed meal, fermented rapeseed meal, growing-finishing pigs.

Wstęp

W żywieniu trzody chlewnej wycofanie mączek mięsnych i mięsno-kostnych, stosowanych jako pasze białkowe pochodzenia zwierzęcego, spowodowało zwiększenie

zapotrzebowania na pasze wysokobiałkowe pochodzenia roślinnego, w szczególności na poekstrakcyjną śrutę sojową oraz poekstrakcyjną śrutę rzepakową. Wartość pokarmowa tych pasz zależy głównie od składu nasion, czyli zawartości białka, włókna, a także zawartości związków antyżywniowych. W przypadku śruty rzepakowej czynnikami decydującymi o jej jakości jest czas i temperatura tostowania, które wpływają na strawność białka i aminokwasów (Pastuszewska i Raj 2003). Olej jest głównym produktem tłoczenia i ekstrakcji nasion rzepaku, a ubocznymi produktami są makuch rzepakowy i przede wszystkim poekstrakcyjna śruta rzepakowa, które wykorzystuje się jako materiały paszowe (Brzóska i in. 2010).

Poekstrakcyjna śruta rzepakowa ma wysoką zawartość białka ogólnego, od 35% do 38%, korzystną wartość odżywczą oraz bardzo dobry skład aminokwasowy (lizyna 19g/kg paszy; metionina 7,4g/kg paszy; metionina+ cystyna 15,8g/kg paszy; treonina 15,4g/kg paszy; tryptofan 4,6g/kg paszy). Zawartość i wzajemne proporcje aminokwasów w poekstrakcyjnej śrucie rzepakowej spełniają zapotrzebowanie tuczników na te aminokwasy. Najważniejszym aminokwasem w żywieniu trzody chlewnej jest lizyna, która decyduje o wartości białkowej paszy, stąd przyjmuje się, iż 1,4 kg poekstrakcyjnej śruty rzepakowej odpowiada 1 kg poekstrakcyjnej śruty sojowej. Poekstrakcyjna śruta rzepakowa ma stosunkowo wysoką zawartość witamin i minerałów (Michalik i in. 2008), tj. witamina B₁- 3,6mg; B₂-3,3mg; B₆- 6mg; B₅-8,6mg; PP- 149mg; biotyny- 0,81mg; kwasu foliowego- 2,04mg. Z kolei wartość składników mineralnych to: Ca- 6,6g; P- 11,2g; Na- 0,4g; Fe- 146g. Zawartość witamin w poekstrakcyjnej śrucie rzepakowej spełnia zapotrzebowanie tuczników na te składniki (Grela i in. 2014).

W poekstrakcyjnej śrucie rzepakowej jest mniej białka ogólnego (35,1%), niż w poekstrakcyjnej śrucie sojowej (46,2%), zaś więcej, niż w nasionach polskich odmian roślin strączkowych (bobik - 26,8%, groch - 22,7%), ale mniej niż w nasionach łubinu żółtego (38,3%). Jak podają Grela i in. (2014), poekstrakcyjną śrutę rzepakową cechuje bardziej wyrównana zawartość białka ogólnego (od 35,1% do 38,1%), niż poekstrakcyjną śrutę sojową (od 43% do 47,4%).

Zawartość włókna surowego w paszach rzepakowych (około 12% w poekstrakcyjnej śrucie rzepakowej) stosowanych w żywieniu zwierząt monogastycznych jest bardzo niekorzystną cechą. W poekstrakcyjnej śrucie rzepakowej zawartość włókna surowego jest 2-3 krotnie większa, niż w poekstrakcyjnej śrucie sojowej (3,8%) oraz większa niż w nasionach roślin strączkowych (średnio 6,5 %) oprócz nasion łubinu żółtego (14,4%) (Grela i in. 2014).

Duża zawartość włókna surowego w śrucie rzepakowej przyczynia się do pogorszenia jej wartości energetycznej, w porównaniu z innymi paszami wysokobiałkowymi.

Fermentacja polega na zakiszeniu paszy mokrej lub suchej, która w swoim składzie zawiera cukry, niezbędne do zakiszenia (Podkówka 1978). Podczas fermentacji powstają kwasy takie jak: mlekowy, octowy, propionowy, masłowy oraz etanol. Ilość powstających kwasów wyrażamy w gramach na kilogram świeżej masy. Kiszonki z dodatkami do zakiszania charakteryzują się większą zawartością białka surowego. Wyższa strawność oraz większa koncentracja białka nie zawsze przekładają się na lepsze wykorzystanie azotu. Podczas procesu fermentacji niewielka ilość węgla nie wydziela się w postaci CO₂, lecz jest włączana w cykl przemian skutkujący tworzeniem kwasów octowego, mlekowego, masłowego (i innych) oraz alkoholu. Przy powstawaniu produktów fermentacji niezbędna jest glukoza, główne ogniwo przemian pośrednich. Cukier ze skrobi częściowo pokrywa dużą wydajność tego procesu (Podkówka 1978).

Fermentacja poekstrakcyjnej śruty rzepakowej może efektywnie obniżyć poziom zawartych w niej związków antyżywniowych oraz zwiększyć dostępność składników pokarmowych dla zwierząt. W badaniach prowadzonych na drobiu zauważono, że żywienie paszą z udziałem fermentowanej poekstrakcyjnej śruty rzepakowej może poprawić jakość mięsa brojlerów (Ashayerizadeh i in. 2018). W literaturze zagranicznej obecne są wyniki badań stwierdzających, że fermentowana poekstrakcyjna śruta sojowa wpływa pozytywnie na rozwój morfologiczny jelit u trzody chlewnej oraz wspomaga ich pracę. Wpływa to z kolei na efektywność procesów trawiennych oraz przyswajalność składników pokarmowych (Feng i in. 2007). Mieszanki z udziałem fermentowanej poekstrakcyjnej śruty sojowej wpływają także na mikroflorę układu pokarmowego. Poprawiają jej skład oraz zapobiegają rozwojowi szkodliwej mikroflory przez zakwaszanie środowiska tego układu (Yuan i in. 2017). Nawet u prosiąt ssących stosowano żywienie mieszanką z udziałem fermentowanej poekstrakcyjnej śruty sojowej. Tu również stwierdzono, że badany produkt fermentowany poprawił rozwój układu pokarmowego u tak młodych zwierząt (Kim i in. 2014). Są to zależności bardzo istotne z produkcyjnego punktu widzenia, jako że wysoka zdrowotność układu pokarmowego prosiąt ssących i odsadzonych jest podstawą sukcesu w ich dalszym odchowie. W innych badaniach, prowadzonych na zwierzętach starszych, warchlakach, stwierdzono, że stosowanie mieszanek z udziałem fermentowanej poekstrakcyjnej śruty sojowej poprawiło sprawność układu pokarmowego u tych zwierząt. Zauważono, że stosowanie właśnie takiej mieszanki zapobiega

występowaniu biegunek u warchlaków, które to schorzenia są niestety dużym zagrożeniem dla ich zdrowotności (Song i in. 2010).

W związku z brakiem analiz poświęconych efektywności żywienia świń z użyciem fermentowanej poekstrakcyjnej śruty rzepakowej, zarówno w literaturze zagranicznej, jak też polskiej, celem pracy było określenie efektywności żywienia tuczników mieszanką z udziałem fermentowanej poekstrakcyjnej śruty rzepakowej, w porównaniu do żywienia mieszanką zbożowo-sojowo-rzepakową.

Metodyka

Badania przeprowadzono w Gospodarstwie Rolnym Mirosława Huzarka, które jest położone w miejscowości Skoczkowo, w województwie pomorskim, w powiecie kościerskim, w gminie Lipusz. W gospodarstwie prowadzony jest chów trzody chlewnej w cyklu zamkniętym. Cała powierzchnia gospodarstwa wynosi 49,56 ha. Grunty uprawne to 21,56 ha, w tym 16,32 ha stanowią grunty orne, a 5,24 ha to łąki i pastwiska. Struktura zasiewów jest prowadzona z uwzględnieniem potrzeb paszowych utrzymywanej trzody chlewnej.

Tuczarnia podzielona jest na 12 kopców mogących pomieścić łącznie 250 tuczników. W budynku zastosowano wentylację grawitacyjną. Spełniane są wszystkie wymagania zoohigieniczne dla zwierząt. Wszystkie klatki wyposażone są w autokarmniki oraz poidła smoczkowe i miskowe.

Doświadczenie przeprowadzono na 24 tucznikach. Badania trwały od 14.09.2018r. do 18.11.2018r. Tuczniaki mieszańce [♀ pbz x ♂ (duroc x pietrain)] podzielono na 2 grupy żywieniowe. Zwierzęta do grup przydzielono stosując metodę analogów, a więc biorąc pod uwagę ich pochodzenie, płeć, wiek i masę ciała.

Tuczniaki żywiono zgodnie z normami żywienia świń z roku 2014 (*Zalecenia żywieniowe i wartość pokarmowa pasz dla świń. Normy żywienia świń*. 2014). Skład komponentowy mieszanek przedstawiono w tabeli 1. Zwierzęta z grupy 1 (kontrolnej) były żywione mieszanką zbożowo-sojowo-rzepakową, w której komponentami wysokobiałkowymi były poekstrakcyjna śruta sojowa i poekstrakcyjna śruta rzepakowa. Tuczniaki z grupy 2 (doświadczalnej) były żywione mieszankami, w których jako jedyny komponent wysokobiałkowy zastosowano fermentowaną poekstrakcyjną śrutę rzepakową.

Tuczniaki były żywione *ad libitum*. Prowadzono tucz dwufazowy:

- I. faza - od masy ciała 46 kg do 90 kg (mieszanka PT 1);
- II. faza - od masy ciała 90 kg do 130kg (mieszanka PT 2).

Tuczniki były utrzymywane w tych samych warunkach zoohigienicznych, a każde ze zwierząt miało stały dostęp do poidła i karmnika. Zwierzęta obu grup były utrzymywane w oddzielnych klatkach. Stale kontrolowano ilość spożywanej przez zwierzęta mieszanki pełnoporcjowej. Pasza w autokarmnikach była uzupełniana 3 razy dziennie, w tych samych godzinach: 7:00, 13:00, 20:00.

Tabela 1. Skład komponentowy (%) mieszanek pełnoporcjowych stosowanych w doświadczeniu

Komponent paszowy	Grupa kontrolna (1)		Grupa doświadczalna (2)	
	PT 1	PT 2	PT 1	PT 2
Śruta jęczmienna	80	80	81	81
Poekstrakcyjna śruta sojowa	10	10	0	0
Poekstrakcyjna śruta rzepakowa	8	8	0	0
Fermentowana poekstrakcyjna śruta rzepakowa	0	0	19	19
Premiks PT 1	2	0	2	0
Premiks PT 2	0	2	0	2

Źródło: Opracowanie własne.

W próbach poekstrakcyjnej śruty rzepakowej i sojowej oraz fermentowanej poekstrakcyjnej śruty rzepakowej oznaczono zawartość podstawowych składników pokarmowych (%) (Tab. 2). Oznaczenia wykonano w laboratorium Katedry Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa Wydziału Bioinżynierii Zwierząt UWM.

Tabela 2. Podstawowy skład chemiczny poekstrakcyjnej śruty rzepakowej, sojowej oraz fermentowanej poekstrakcyjnej śruty rzepakowej

Wyszczególnienie		Poekstrakcyjna śruta rzepakowa	Poekstrakcyjna śruta sojowa	Fermentowana poekstrakcyjna śruta rzepakowa
Skład chemiczny	Sucha masa (g/kg)	891,2	905,5	687,1
	Białko ogólne (g/kg s.m.)	403,4	510,2	406,6
	Tłuszcz surowy (g/kg s.m.)	12,5	13,1	8,9
	Włókno surowe (g/kg s.m.)	134,1	45,1	128,8
	Popiół surowy (g/kg s.m.)	64,0	65,9	67,2

Źródło: Opracowanie własne.

Otrzymane dane zostały opracowane statystycznie za pomocą programu STATISTICA 13.3. Wykonano jednoczynnikową analizę wariancji w układzie ortogonalnym. Istotność różnic pomiędzy badanymi grupami określono za pomocą testu Duncana.

Wyniki i dyskusja

Fermentowana poekstrakcyjna śruta rzepakowa stanowiąca komponent mieszanek dla świń grupy doświadczalnej charakteryzowała się mniejszą o około 23% zawartością suchej masy, porównywalną białka ogólnego, mniejszą zawartością tłuszczu surowego i włókna surowego (odpowiednio o około 29% i 4%) oraz większą zawartością popiołu surowego (o 5%), w porównaniu do poekstrakcyjnej śruty rzepakowej, wchodzącej w skład mieszanek pełnoporcjowych dla zwierząt grupy kontrolnej (Tab. 2). Zawartość podstawowych składników pokarmowych w poekstrakcyjnej śrucie rzepakowej (Tab. 2) była porównywalna z wartościami cytowanymi w „Tabelach składu chemicznego i wartości pokarmowej pasz krajowych” (2010).

Tabela 3. Wyniki produkcyjne badanych tuczników

Wyszczególnienie	Grupa kontrolna (1)	Grupa doświadczalna (2)
Początkowa masa ciała (kg)	45,83	46,08
Masa ciała na zakończenie I fazy tuczu (kg)	89,75	87,42
Końcowa masa ciała (kg)	123,80	118,25
Przyrosty dzienne w I okresie tuczu (g)	1190	1120
Przyrosty dzienne w II okresie tuczu (g)	1210	1110
Przyrosty dzienne w całym okresie tuczu (g)	1200 ^a	1110 ^b
Średnie dzienne spożycie paszy w całym okresie tuczu (kg/kg)	2,85 ^B	3,12 ^A
Średnie dzienne wykorzystanie paszy w całym okresie tuczu (kg/ kg)	2,39 ^A	2,81 ^B
Poubojowa masa tuszy (kg)	99,69	94,68
Wydajność rzeźna (%)	81,00	80,00
Mięsność (%)	56,36	55,13

Wartości w wierszach, oznaczone literami A, B różnią się wysokoistotnie $P < 0.01$

Wartości w wierszach, oznaczone literami a, b różnią się istotnie $P < 0.05$

Źródło: Opracowanie własne.

Początkowa masa ciała badanych tuczników była wyrównana w grupach. Średnia masa ciała zwierząt w dniu zakończenia I. fazy tuczu oraz końcowa masa ciała tuczników otrzymujących fermentowaną poekstrakcyjną śrutę rzepakową były niższe (odpowiednio

o około 2,6 oraz 4,3 i 5%) w porównaniu do wartości tego parametru w przypadku tuczników grupy kontrolnej. Jednakże, różnic tych nie potwierdzono statystycznie.

Zwierzęta z grupy doświadczalnej charakteryzowały się niższymi średnimi dziennymi przyrostami masy ciała zarówno w I., jak też w II. okresie tuczu, jednakże na poziomie istotnym statystycznie różnice te potwierdzono w odniesieniu do II. fazy tuczu. Statystycznie potwierdzone zależności w zakresie omawianej cechy zanotowano również w okresie całego tuczu. Przyrostyienne tuczników żywionych mieszankami z udziałem fermentowanej poekstrakcyjnej śruty rzepakowej były o około 90 g niższe ($P < 0.05$), w porównaniu do zwierząt otrzymujących w mieszankach poekstrakcyjną śrutę rzepakową (Tab. 3).

Stwierdzono, że w okresie całego tuczu średnie dzienne spożycie mieszanki z udziałem fermentowanej poekstrakcyjnej śruty rzepakowej (grupa 2) było wysoko istotnie wyższe (3,12kg), w porównaniu do spożycia mieszanki 1 (2,85kg). Jednak jej wykorzystanie było wysoko istotnie gorsze (2,81kg/kg), w porównaniu do wykorzystania mieszanki kontrolnej (2,39kg/kg). Może to świadczyć o lepszym składzie aminokwasowym mieszanki zbożowo-sojowo-rzepakowej (grupa 1), w porównaniu do mieszanki z udziałem poekstrakcyjnej śruty rzepakowej jako jedyne go komponentu wysokobiałkowego. Poświadcza to znaną zależność, że większa liczba źródeł białka w paszy powoduje jego lepszą przyswajalność i poprawę wykorzystania paszy.

W zakresie poubojowej masy ciała, wydajności rzeźnej i mięsności nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie pomiędzy badanymi grupami zwierząt. Poziom mięsności tusz pozyskanych z badanych zwierząt kształtował się nieco poniżej średniej wartości tej cechy oszacowanej dla populacji masowej w 2018r. (57,9%, *Zintegrowany system rolniczej informacji rynkowej*, 10/2019), jednakże należy to łączyć z bardzo wysokimi przyrostami dziennymi badanych zwierząt.

Jak podają Purwin i in. (1996), zastosowanie w żywieniu świń kiszonek z CCM i kiszonego bobiku nie przyczyniło się do poprawy uzyskanych wyników produkcyjnych, w porównaniu z efektami produkcyjnymi tuczników żywionych paszą z udziałem surowych nasion bobiku. Z kolei zastosowanie w żywieniu świń kiszonego ziarna kukurydzy (Purwin i in. 2011) wpłynęło istotnie na poprawę strawności składników pokarmowych dawki, w porównaniu ze strawnością składników pokarmowych mieszanek z suszonym ziarnem kukurydzy. Uzyskane przez ww. autorów wyniki oraz wyniki badań własnych wskazują na potrzebę kontynuacji badań nad wykorzystaniem różnych źródeł składników pokarmowych, w tym białka, w żywieniu trzody chlewnej.

Wnioski

Tuczniaki żywione mieszanką doświadczalną, w której jedynym źródłem białka była fermentowana poekstrakcyjna śruta rzepakowa (1120g, grupa 2), osiągnęły w całym okresie tuczu istotnie niższe tempo wzrostu, w porównaniu do zwierząt żywionych mieszanką kontrolną, zbożowo-sojowo-rzepakową (1200g, grupa 1).

Średnie dzienne spożycie mieszanek doświadczalnych (grupa 2) w całym tuczu było istotnie wyższe (3,12 kg), w porównaniu do spożycia mieszanek kontrolnych (2,85 kg, grupa 1), jednakże ich wykorzystanie kształtowało się na poziomie wysoko istotnie gorszym (2,39 vs. 2,81kg/kg).

Żywienie tuczniaków mieszankami pełnoporcjowymi z udziałem fermentowanej poekstrakcyjnej śruty rzepakowej jako jedynym komponentem wysokobiałkowym spowodowało obniżenie efektywności tuczu.

Literatura

- Ashayerizadeh A., Dastar B., Shargh Shams M., Sadeghi Mahoonak A.R., Zerehdaran S. 2018. *Effects of feeding fermented rapeseed meal on growth performance, gastrointestinal microflora population, blood metabolites, meat quality, and lipid metabolism in broiler chickens*. *Livestock Science* 216 (2018): 183-190.
- Brzóska F., Śliwiński B., Michalik-Rutkowska O. 2010. *Pasze rzepakowe – miejsce w bilansie białkowym kraju oraz wartość pokarmowa*. Cz. I. *Wiadomości Zootechniczne*, R. XLVIII (2010), 2–3: 11–18.
- Feng J., Liu X., Xu Z.R., Lu Y.P., Liu Y.Y. 2007. *Effect of Fermented Soybean Meal on Intestinal Morphology and Digestive Enzyme Activities in Weaned Piglets*. *Dig Dis Sci*, 52: 1845-1850.
- Kim S.W., van Heugten E., Ji F., Lee C.H., Mateo R.D. 2010. *Fermented soybean meal as a vegetable protein source for nursery pigs: I. Effects on growth performance of nursery pigs*. *Journal of Animal Science*, 88: 214-224.
- Michalik B., Lubowicki R., Kotlarz A. 2008. *Śruta poekstrakcyjna rzepakowa „00” jako zamiennik śruty poekstrakcyjnej sojowej w żywieniu zwierząt*. *Przegląd hodowlany*, 2: 16-19.
- Pastuszewska B., Raj S. 2003. *Śruta rzepakowa jako pasza białkowa i energetyczna – ograniczenia i perspektywy*. *Rośliny Oleiste*. Tom XXIV: 525-536.
- Podkówka W. 1978. *Nowoczesne metody kiszenia pasz*. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne.
- Purwin C., Florek S., Stanek M., Rydzik W. 1996. *Zastosowanie w tuczu swin kiszonki sporządzonej z CCM i nasion bobiku*. *Acta Academiae ac Technicae Olstenensis*. *Zootechnica*, 1996. 45: 191-198.

- Purwin C., Stanek M., Antoszkiewicz Z., Lipiński K. 2011. *Porównanie efektywności stosowania w żywieniu tuczników suszonego i kiszonego ziarna kukurydzy*. Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu. 580: 383-392.
- Song Y.S., Perez V.G., Pettigrew J.E., Martinez-Villaluenga C., Gonzalez de Mejia E. 2010. *Fermentation of soybean meal and its inclusion in diets for newly weaned pigs reduced diarrhea and measures of immunoreactivity in the plasma*. Animal Feed Science and Technology, 159: 41-49.
- Yuan L., Chang J., Yin Q., Lu M., Di Y., Wang P., Wang Z., Wang E., Lu F. 2017. *Fermented soybean meal improves the growth performance, nutrient digestibility, and microbial flora in piglets*. Animal Nutrition, 3: 19-24.
- Zalecenia żywieniowe i wartość pokarmowa pasz dla świń. Normy żywienia świń*. 2014. Red. Grela E., Skomiał J. Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego PAN.
- Zintegrowany system rolniczej informacji rynkowej. Rynek mięsa wieprzowego*. 2019. MRiRW, nr. 10.

Ocena efektywności żywienia tuczników mieszankami z udziałem surowych lub ekstrudowanych nasion łubinu wąskolistnego

Evaluation the influence of using of narrow-leaved lupine seeds crude or extruded, on the efficiency of fattening of pigs

Radosław Boniecki

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Bioinżynierii Zwierząt
Naukowe Koło Hodowców Trzody Chlewnej
Opiekun: dr inż. Dorota Bugnacka

Abstract

The aim of this study was to evaluation the influence of using of sweet narrow-leaved lupine seeds cv. wars, crude or extruded, on the efficiency of fattening of pigs.

The experiment was carried out on the 78 growing-fattening pigs, divided to experimental groups on the analogue method. The 2-phase fattening was used. The animals were divided into 3 groups, per 26 pigs in group: 1 control (K) and 2 experimental groups (D1 and D2). The control group was fed with standard cereal-soybean mixture. In diets for D1 and D2 groups, part of the soybean meal protein replaced with narrow-leaved lupine seeds, i.e. crude seeds in D1 group and extruded seeds in D2 group. Lupine seeds level in these mixtures it was 15% in both D1 and D2 groups. Average daily gains, daily feed intake and feed/gain ratio were measured.

The use of crude seeds (D1 group) or extruded (D2 group) seeds resulted in statistically significant differences in the range of the production traits of experimental pigs. The final body weight of animals from groups D1 and D2 was significantly higher compared to the K group (respectively: 112.90, 113.40, 110.03kg). A similar relationship was found with respect to average daily weight gains, and the animals from D1 and D2 groups grew significantly faster on the high statistical level (980 and 986g respectively) in comparison to animals of K group (946g). The average daily feed intake during the entire fattening period was not statistically different between the animals of the studied groups, however, such differences were found in relation to the average feed/gain ratio. The animals from D2 group, fed with a mixture containing extruded lupine seeds, used it better on statistically significant level compared to animals from the control group, as well as D1 group, which were fed with a mixture containing crude lupine seeds. The cost of production of 1 growing-finishing pig was lower in groups D1 and D2 (PLN 294.99 and PLN 301.76 respectively) in comparison to the K group (PLN 313.09). In conclusion, it should be emphasized that the partial replacement of soybean meal with narrow-leaved lupine seeds has had a positive effect on the efficiency of fattening.

Keywords: growing-finishing pigs, blue lupine seeds, extruded lupine seeds, *Lupinus Angustifolius*, feeding

Wstęp

W 2005 r. wprowadzono całkowity zakaz skarmiania mączek mięsnych i mięsno-kostnych u wszystkich zwierząt gospodarskich, co znacząco zwiększyło zapotrzebowanie na

roślinne pasze wysokobiałkowe. Głównym surowcem, który miał pokryć powstały w ten sposób deficyt białkowy, była poekstrakcyjna śruta sojowa, a więc pasza o wysokiej zawartości białka i stosunkowo niewielkiej zawartości składników antyodżywczych oraz pożądanym składzie aminokwasowym dla zwierząt monogastrycznych. Dlatego też, w ostatnich latach, poekstrakcyjna śruta sojowa z upraw GMO, stała się najpowszechniejszym źródłem białka na świecie o niepodważalnej pozycji (Purwin i Stanek 2011). W Polsce rocznie do produkcji pasz, zużywane jest ogólnie około $1 \cdot 10^6$ Mg białka rocznie. Tylko niewielka jego część, ok 30%, pochodzi ze źródeł krajowych (nasiona bobowatych, poekstrakcyjna śruta i makuch rzepakowy, mączka rybna), natomiast większość (ok 70%), pochodzi z poekstrakcyjnej śruty sojowej (Jerzak i in. 2012). Jednakże trzeba brać pod uwagę, że w niedługiej przyszłości, może być wprowadzony zakaz stosowania pasz GMO w żywieniu zwierząt. Biorąc pod uwagę powyższe, stale poszukuje się rozwiązań, które mogłyby zaspokoić obecne zapotrzebowanie na białko paszowe, bez nagłego wzrostu jego cen. Z tych powodów, realnym źródłem białka w żywieniu zwierząt monogastrycznych, mogą stać się nasze rodzime rośliny bobowate, a zwłaszcza te, które są przystosowane do naszych warunków glebowych czyli łubiny (a zwłaszcza żółty i wąskolistny) (Hanczakowska i Księżak 2012).

Pomimo wysokiej wartości pokarmowej, przede wszystkim zawartości białka ogólnego, wykorzystanie nasion roślin bobowatych, jest ograniczone przez obecność w nich substancji obniżających smakowitość paszy, jej wykorzystanie oraz mogących wpływać negatywnie na zdrowotność zwierząt. Są to tak zwane związki antyżywniowe. W nasionach łubiny są nimi przede wszystkim alkaloidy. Świnie są na te związki bardzo wrażliwe. Już niewielkie stężenie alkaloidów, może wywoływać wymioty i nagłe zmniejszenie spożycia paszy, a większe ich stężenie może spowodować paraliż układu nerwowego, konwulsje i porażenie układu oddechowego. Są to związki termostabilne, przez co obróbka termiczna i hydrotermiczna jest nieskuteczna. Odmiany łubinów gorzkich mogą zawierać nawet aż 1% tych związków i z tego powodu, nie można ich stosować w żywieniu świń. Nowoczesne odmiany, słodkie, nie powinny zawierać więcej niż 0,03% alkaloidów, przy czym niektóre z nich zawierają ich mniej, niż 0,015%, co w znacznym stopniu ogranicza ich negatywne oddziaływanie na organizm zwierzęcia, a tym samym umożliwia stosowanie słodkich odmian łubinów w żywieniu świń (Jamroz i in. 2001).

Aby zwiększyć przydatność nasion roślin bobowatych w żywieniu świń, można stosować różne zabiegi technologiczne, z jednej strony poprawiające ich wartość pokarmową, a z drugiej, eliminujące związki antyżywniowe. Są to zabiegi mechaniczne (obłuskiwanie

oraz rozdrabnianie-śrutowanie, gniecenie, mielenie i kruszenie), obróbka termiczna i hydrotermiczna. Obłuskiwanie powoduje obniżenie zawartości włókna surowego w łubinach o 60-70%. Sprzyja to wyższej strawności składników pokarmowych, zwłaszcza energii o 16-30% i białka o 6-9% (Mieszkalski 2004). Rozdrabnianie ma z kolei na celu zwiększenie powierzchni cząstek paszy, a tym samym ułatwienie enzymom trawiennym dostępu do nich i przyspieszeniu procesów trawiennych (Jamroz i in. 2001).

Obróbka termiczna i hydrotermiczna ma na celu dezaktywację związków antyżywniowych, skleikowanie (żelatynizację) skrobi (co poprawia jej strawność), zmianę struktury aminokwasów (co wiąże się z poprawą ich strawności), poprawę strawności włókna surowego, a także redukcję liczby bakterii i grzybów. Jednym z takich zabiegów jest ekstrudowanie czyli proces, w którym materiał poddawany jest działaniu jednocześnie wysokiej temperatury i wysokiego ciśnienia. Powoduje to szybkie i gwałtowne zwiększenie objętości nasion, co prowadzi do ich rozerwania i rozděcia (Jamroz 2001).

Celem pracy była ocena efektywności żywienia tuczników mieszankami pełnoporcjowymi zawierającymi surowe lub ekstrudowane nasiona łubinu wąskolistnego na podstawie parametrów zootechnicznych tuczu: przyrostów dziennych, spożycia i wykorzystania paszy oraz kosztów produkcji tuczników.

Metodyka

Doświadczenie przeprowadzono w rodzinnym gospodarstwie rolnym Państwa Iwony i Roberta Bonieckich, położonym w województwie kujawsko-pomorskim, w powiecie golubsko-dobrzyńsko, w gminie Ciechocin, we wsi Małszyce. Badania prowadzono w okresie od 18.10.2018r. do 09.01.2019r.

W gospodarstwie, głównym kierunkiem produkcji od 30 lat, jest hodowla zarodowa trzody chlewnej i produkcja tuczników w cyklu zamkniętym oraz produkcja roślinna prowadzona na 149,50 ha. Stado podstawowe trzody chlewnej składa się ze 175 loch oraz 5 knurów. Największą grupę stanowią lochy pbz (100sztuk), ponadto w stadzie jest 40 loch wbp, 18 loch pietrain i 17 loch duroc. Część loch tj. 100 sztuk to lochy hodowlane, będące pod oceną użytkowości rozplodowej ZHiPTCh Polsus. Rytm produkcji trwa 21 dni. Średnia płodność rzeczywista loch wynosi 13 prosiąt, a liczba prosiąt odchowanych z miotu - 11. W stadzie hodowlanym rocznie produkuje się 500 loszek czystorasowych pbz i wbp oraz 200 knurów hodowlanych czystorasowych i mieszańcowych - pietrain x duroc. Ponadto. rocznie produkowanych jest około 3100 tuczników w systemie jakości PQS (Polish Pork Quality System).

Materiał zwierzęcy do badań stanowiło łącznie 78 warchlaków czystorasowych rasy pbz. Zostały one podzielone na 3 grupy: kontrolną (K) i dwie doświadczalne (D1, D2), po 26 zwierząt w każdej grupie (w tym 13 loszek i 13 wieprzów). Zwierzęta do badań dobrano metodą analogów, biorąc pod uwagę ich pochodzenie, wiek, masę ciała i płeć. W każdej grupie potomstwo loch pierwiastek i wieloródek było równie liczne.

Trzy badane grupy zwierząt, przyporządkowano do trzech grup żywieniowych: kontrolnej (K), doświadczalnej 1 (D1), doświadczalnej 2 (D2). W dniu formowania grup, każdy osobnik otrzymał kolczyk z numerem identyfikacyjnym. Przez cały okres doświadczenia, zwierzęta znajdowały się w jednym pomieszczeniu, w sześciu kojcach grupowych (po dwa kojce na grupę), z podłogą rusztową betonową. W każdym kojcu znajdował się autokarmnik na paszę sypką, z poidłem smoczkowym oraz dodatkowym poidłem, umieszczonym przy przegrodzie. Pomieszczenie było wyposażone w wentylację mechaniczną podciśnieniową, a temperaturę sterował sterownik komputerowy poprzez regulację szybkości wymiany powietrza. Temperatura w trakcie doświadczenia wahała się w granicach 15–17 stopni Celsjusza i była wyrównana w całym pomieszczeniu.

Prowadzono tucz dwufazowy:

- I. faza tuczu – od początkowej masy ciała 30 kg do osiągnięcia średniej masy ciała 70 kg;
- II. faza tuczu – od średniej masy ciała 70 kg, do uzyskania masy ubojowej.

Zwierzęta przez cały okres tuczu były żywione *ad libitum*. Mieszanki pełnoporcjowe przygotowano w gospodarstwie. Do ich wyprodukowania użyto pszenicy ozimej pochodzącej z produkcji własnej, a pozostałe komponenty mieszanek pochodziły z zakupu. Mieszanki bilansowano zgodnie z zaleceniami zawartymi w *Normach Żywienia Świń* (1993). Przed przystąpieniem do ustalania składu komponentowego mieszanek, pobrano próby pszenicy ozimej, poekstrakcyjnej śruty sojowej, łubinu wąskolistnego i łubinu wąskolistnego ekstradowanego i określono w nich zawartość białka ogólnego w laboratorium Katedry Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa Wydziału Bioinżynierii Zwierząt Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

Zastosowano następujący schemat żywienia (Tab. 1):

- grupa kontrolna (K) - żywienie mieszanką pełnoporcjową, w której jedynym komponentem wysokobiałkowym była poekstrakcyjna śruta sojowa;
- grupa doświadczalna (D1) – żywienie mieszanką z 15% zawartością surowych, śrutowanych nasion łubinu wąskolistnego słodkiej, niskoalkaloidowej odmiany Wars, zarówno w mieszance na I., jak i na II. okres tuczu;

- grupa doświadczalna (D2), żywienie mieszanką z 15% udziałem ekstrudowanych nasion łubinu wąskolistnego słodkiej niskoalkaloidowej odmiany Wars, zarówno w mieszance na I., jak też na II. okres tuczu.

Tabela 1. Skład komponentowy mieszanek doświadczalnych

Wyszczególnienie	Mieszanki – I. faza tuczu			Mieszanki – II. faza tuczu		
	K	D1	D2	K	D1	D2
Śruta poekstrakcyjna sojowa	19,00	10,50	9,50	13,50	5,50	5,00
Łubin wąskolistny	-	15,00	-	-	15,00	-
Łubin wąsk. ekstrudowany	-	-	15,00	-	-	15,00
Pszenica	78,00	71,50	72,50	84,00	77,00	77,50
Premix	3,00	3,00	3,00	2,50	2,50	2,50
Razem	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00	100,00
Wartość pokarmowa 1kg mieszanki (kalkulowana):						
- energia metaboliczna (MJ)	13,29	13,08	13,09	13,41	13,20	13,20
- białko ogólne (g)	179	178	177	162	161	162
- lizyna (g)	10,68	10,34	10,11	8,95	8,73	8,61

Źródło: Opracowanie własne.

Ważenia kontrolne tuczników przeprowadzono w 1 dniu badań, w dniu przejścia z I na II okres tuczu oraz w ostatnim dniu badań. Stale kontrolowano ilość spożytej paszy, którą zadawano do autokarmników co 2 dni, po uprzednim usunięciu z nich niewyjadów, pozostałych po poprzednim zadawaniu paszy. Stale kontrolowano też stan zdrowia zwierząt. Na podstawie zgromadzonych danych wyznaczono: średnie przyrosty dzienne, spożycie oraz wykorzystanie paszy w obu okresach oraz w całym tuczu. Po zakończeniu tuczu doświadczalnego, zmierzono miąższość tuczników za pomocą aparatu ultradźwiękowego Piglog 105. Pomiaru dokonywano w punkcie P4 oceny przyżyciowej, tzn. 3 cm od linii środkowej grzbietu, za ostatnim zębem.

Otrzymane dane opracowano statystycznie. Wykonano jednoczynnikową analizę wariancji w układzie ortogonalnym. Do określenia wartości różnic pomiędzy grupami użyto testu Duncana. Do opracowania statystycznego wykorzystano program statystyczny STATISTICA 13.1. PL.

Wyniki

W tabeli 2. przedstawiono średnie masy ciała zwierząt w grupach w kolejnych okresach badań. Początkowa masa ciała zwierząt we wszystkich grupach, była wyrównana i wynosiła od 31,54kg w grupie D1 do 31,56kg w grupie D2. Po zakończeniu I okresu tuczu, średnia masa ciała tuczników w grupach D1 i D2 była wysoko istotnie statystycznie wyższa (odpowiednio 69,53kg i 69,84kg), w stosunku do masy ciała świń grupy kontrolnej, która wynosiła 68,12kg. Końcowa masa ciała tuczników z grup D1 i D2 była również wysoko statystycznie wyższa (odpowiednio 112,9kg i 113,4kg), w porównaniu do masy ciała tuczników z grupy kontrolnej(110,3kg). Różnice pomiędzy średnią masą ciała zwierząt z grupy D1 i D2 nie były istotnie statystycznie zróżnicowane. Cały okres tuczu trwał 84 dni, przy czym I faza trwała 41 dni, a II 43dni.

Zależności uzyskane w zakresie masy ciała tuczników w kolejnych etapach tuczu, były odzwierciedleniem wyższych przyrostów dziennych tuczników w grupach doświadczalnych D1 i D2 (Tab. 2).

Tabela 2. Wyniki tuczu doświadczalnego

Wyszczególnienie	Grupa doświadczalna		
	K	D1	D2
Średnia początkowa masa ciała tuczniaka (kg)	31,55	31,54	31,56
Masa ciała 1. tuczniaka przy przejściu z I. na II.okres tuczu(kg)	68,12B	69,53A	69,84A
Końcowa masa ciała 1. tuczniaka (kg)	110,03B	112,90A	113,40A
Średnie przyrosty dzienne w I. okresie tuczu (g)	914B	950A	957A
Średnie przyrosty dzienne w II. okresie tuczu (g)	975B	1009A	1013A
Średnie przyrosty dzienne w całym tuczu (g)	946B	980A	986A
Średnie dzienne spożycie paszy przez 1. Tuczniaka w I. okresie tuczu(kg)	2,13b	2,26a	2,25a
Średnie dzienne spożycie paszy przez 1. Tuczniaka w II. okresie tuczu(kg)	3,04	2,97	2,98
Średnie dzienne spożycie paszy przez 1. Tuczniaka w całym tuczu(kg)	2,61	2,63	2,63
Średnie wykorzystanie paszy na 1 kg przyrostu masy ciała tuczniaka w I. okresie tuczu(kg/kg)	2,21A	2,38Bb	2,35Ba
Średnie wykorzystanie paszy na 1 kg przyrostu masy ciała tuczniaka w II. okresie tuczu(kg/kg)	3,12B	2,94A	2,90A
Średnie wykorzystanie paszy na 1 kg przyrostu masy ciała tuczniaka w całym okresie tuczu(kg/kg)	2,68B	2,67D	2,63AC
Mięsność (%)	56,26B	57,18A	57,35A

Źródło: Opracowanie własne.

Zastosowanie nasion łubinu wąskolistnego, zarówno surowych, jak i ekstrudowanych, spowodowało wysoko istotny statystycznie wzrost przyrostów dziennych tuczników zarówno w I, jak i też w II okresie tuczu, a także w całym okresie badań. Nie odnotowano natomiast istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami D1 i D2. W I okresie tuczu, średnie dzienne przyrosty w grupach D1 i D2, były wysoko istotnie statystycznie wyższe, i wynosiły odpowiednio 950 g w grupie D1 oraz 957 g w grupie D2, w stosunku do 914 g w grupie kontrolnej. Podobnie w II okresie tuczu, przyrosty dzienne były w grupach D1 i D2 wysoko istotnie statystycznie wyższe i wynosiły odpowiednio 1009 g w grupie D1 i 1013 g w grupie D2, w stosunku do 975g w grupie kontrolnej. Również w całym okresie tuczu, zwierzęta z grup D1 i D2, przyrastały wysoko istotnie statystycznie szybciej, odpowiednio 980 g w grupie D1 i 986 g w grupie D2, w porównaniu do tuczników z grupy kontrolnej – 946 g. Tak więc średnie dzienne przyrosty tuczników z grupy D1 były wyższe o 3,6%, zaś w grupie D2, o 4,2% wyższe w stosunku do uzyskanych w grupie kontrolnej.

W badaniach Gdali i in. (1996), u świń żywionych mieszankami pełnoporcjowymi, w których część poekstrakcyjnej śruty sojowej zastąpiono nasionami łubinu żółtego lub wąskolistnego, nie stwierdzono pogorszenia tempa wzrostu tuczników w stosunku do grupy kontrolnej. W badaniach przeprowadzanych przez Sońtę i in. (2015), analizowano wpływ 5% dodatku nasion łubinu wąskolistnego na efektywność tuczu. Stwierdzono, że ten dodatek łubinu nie wpłynął na pogorszenie cech tucznych pomimo, że nasiona zawierały wysoką zawartość alkaloidów – ok. 0,06%, a w odmianach słodkich zawartość alkaloidów powinna wynosić poniżej 0,03 %. W I okresie tuczu, zwierzęta z grupy kontrolnej przyrastały szybciej (959 g), w porównaniu do świń z grupy doświadczalnej – 866 g. Odwrotną zależność zanotowano w II okresie tuczu, kiedy to u tuczników z grupy kontrolnej, zanotowano niższe dzienne przyrosty 842g, w porównaniu do grupy doświadczalnej (901 g). Z kolei w całym okresie tuczu, różnice pomiędzy grupami nie były istotne statystycznie. W doświadczeniu tym, w przeciwieństwie do zależności zanotowanych w badaniach własnych, przyrosty dzienne w I okresie tuczu były większe niż w II okresie, co mogło być spowodowane innymi predyspozycjami genetycznymi tuczonych świń. Zanotowane w badaniach własnych, średnie dzienne przyrosty były więc wyższe od przedstawionych w badaniach Sońty i in. (2015).

W australijskich badaniach Kima i in. (2011), analizowano wpływ udziału surowych nasion słodkiego łubinu wąskolistnego na wyniki tuczu świń mieszańców ras matecznych (Large White x Landrace). Udział tych nasion w mieszankach doświadczalnych wynosił: 20, 25,30 lub 35 %. Analizowano tu masę ciała i przyrosty dzienne badanych zwierząt oraz ich

spożycie i wykorzystanie paszy na 1 kg przyrostu masy ciała. W doświadczeniu tym prowadzono tucz trójfazowy. Początkowa masa ciała zwierząt była wyrównana i wynosiła średnio 27,2 kg. W wyniku przeprowadzonych badań, nie wykazano wpływu stosowania różnego udziału nasion łubinu wąskolistnego na wyniki tuczu świń doświadczalnych. Nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie pomiędzy badanymi grupami. Średnie przyrosty dzienne tuczników były tu bardzo wyrównane i kształtowały się na poziomie 1000, 1010, 1010 i 1030 g, odpowiednio u zwierząt żywionych mieszankami z udziałem 20, 25, 30 lub 35 % nasion łubinu. Tak więc, w badaniach własnych, uzyskano podobne tempo wzrostu świń doświadczalnych.

Zastosowany czynnik doświadczalny, wpłynął statystycznie istotnie na wartość średniego dziennego pobrania paszy przez zwierzęta w I okresie tuczu. Tuczniaki z grup D1 i D2, pobierały średnio więcej paszy z udziałem łubinu (odpowiednio 2,26 w grupie D1 i 2,25 kg w grupie D2) i było ono o 5,7% wyższe, w porównaniu do pobrania mieszanki z poekstrakcyjną śrutą sojową, jako jedynym komponentem wysokobiałkowym w grupie kontrolnej, które wynosiło 2,13 kg. Z kolei w II. okresie tuczu, jak i w całym okresie jego trwania różnice pomiędzy grupami były nieistotne statystycznie. W II. okresie tuczu, średnie dzienne pobranie paszy wynosiło: 3,04 kg w grupie kontrolnej, 2,97 kg w grupie D1, zaś w grupie - D2 2,98 kg. W całym okresie trwania tuczu średnie dzienne pobranie paszy u tuczników w grupie kontrolnej wynosiło 2,61 kg, u tuczników z grupy D1, żywionych mieszanką z udziałem surowych nasion łubinu wąskolistnego, wynosiło 2,63, w grupie D2, u tuczników żywionych mieszanką z udziałem ekstrudowanych nasion łubinu wąskolistnego, również wyniosło 2,63 kg.

W badaniach Sońty i in. (2015) w zakresie dziennego spożycia paszy, podobnie jak w doświadczeniu własnym, nie zanotowano istotnych statystycznie różnic pomiędzy badanymi grupami świń. Podobnie, w badaniach Kima i in. (2011), nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic w odniesieniu do tej cechy pomiędzy grupami zwierząt żywionych mieszankami z różnym udziałem nasion łubinu wąskolistnego. I tak: tuczniaki żywione mieszanką z 20 % udziałem nasion łubinu, pobierały średnio dziennie 2,72 kg paszy, zwierzęta żywione mieszanką z 25 % udziałem nasion łubinu - 2,74 kg, tuczniaki żywione mieszanką z 30% udziałem nasion łubinu - 2,76 kg paszy, natomiast żywione mieszanką z najwyższym udziałem łubinu na poziomie 35%, pobierały średnio dziennie 2,68 kg paszy. Wyniki w zakresie omawianej cechy były tu na poziomie stwierdzonym w zakresie tej cechy w badaniach własnych. Z kolei w doświadczeniu Roth – Maier i in. (2004), w zakresie

średniego dziennego pobrania paszy w całym okresie tuczu, odnotowano różnice istotne statystycznie. Tuczniaki z grupy kontrolnej, pobierały średnio dziennie mniej paszy - 2,40 kg, w porównaniu do zwierząt z grup doświadczalnych (odpowiednio 2,43, 2,41, 2,44 i 2,42 kg).

Z analizy danych przedstawionych w Tabeli 11, można wywnioskować, że zastosowanie dodatku nasion łubinu wąskolistnego, miało wysoko istotny statystycznie wpływ na poziom wykorzystania paszy na 1 kg przyrostów tuczniaków. W I okresie tuczu, najniższym a przez to najlepszym wykorzystaniem paszy na 1 kg przyrostu masy ciała, charakteryzowały się tuczniaki żywione standardową mieszanką zbożowo-sojową - 2,21 kg/kg. Tuczniaki z grup D1 i D2, zużywały statystycznie wysoko istotnie więcej paszy, na 1 kg przyrostu masy ciała (o około 6 %), w stosunku do świń z grupy K. Przy tym zwierzęta otrzymujące paszę z surowymi nasionami łubinu zużywały statystycznie istotnie więcej paszy na 1 kg przyrostu masy ciała (2,38kg/kg), w porównaniu do tuczniaków żywionych mieszanką z udziałem ekstrudowanych nasion łubinu – 2,35 kg/kg. W II okresie tuczu, stwierdzono odwrotną zależność, tzn. tuczniaki z grupy kontrolnej wykorzystywały na 1 kg przyrostu masy ciała, statystycznie wysoko istotnie więcej paszy (o ok. 7 %), w porównaniu do zwierząt z grupy D1- 2,94 kg/kg i D2 - 2,90 kg/kg. W całym okresie badań stwierdzono, że zwierzęta żywione dietą z ekstrudowanymi nasionami łubinu, charakteryzowały się najlepszym wykorzystaniem paszy (2,63 kg/kg), a różnice były wysoko istotne statycznie, zarówno w stosunku do grupy żywionej mieszanką z udziałem surowych nasion łubinu (2,67 kg/kg), jak i też w porównaniu do grupy żywionej standardową mieszanką zbożowo – sojową (2,68 kg/kg), i wynosiły one odpowiednio 1,5 % oraz 1,7 %.

W doświadczeniu Sońty i in. (2015) w zakresie wykorzystania paszy, zostały zanotowane podobne zależności podobne, jak w badaniach własnych. W I okresie tuczu, podobnie jak w badaniach własnych, lepszym (o ok. 2,5%) wykorzystaniem paszy na poziomie 2,31 kg/kg, charakteryzowały się tuczniaki z grupy kontrolnej, w porównaniu do zwierząt z grupy doświadczalnej 2,37 kg/kg. W II okresie tuczu, lepszymi wartościami tej cechy (o ok. 2,5 %) charakteryzowały się tuczniaki z grupy doświadczalnej, żywione mieszanką z udziałem nasion łubinu wąskolistnego - 2,94 kg/kg, w porównaniu do zwierząt grupy kontrolnej - 3,13 kg/kg. W całym okresie tuczu, lepszym wykorzystaniem paszy, charakteryzowały się tuczniaki z grupy doświadczalnej, lecz nie były to różnice statystycznie istotne. Podobną zależność zanotowano w badaniach własnych, aczkolwiek zanotowane różnice były istotne statystycznie.

Roth-Maier i in. (2004), w swoim doświadczeniu nad wykorzystaniem łubinu w żywieniu tuczników w zakresie wykorzystania paszy, w przeciwieństwie do wyników badań własnych, odnotowali odmienne tendencje. W I okresie tuczu odnotowano tu istotnie statystycznie gorsze wykorzystanie paszy w grupie kontrolnej (o ok. 4,7%), które wynosiło 2,13 kg/kg w stosunku do grup, w których stosowano mieszankę w udziale łubinu wąskolistnego i wynosiło ono odpowiednio 2,06 kg/kg i 2,03 kg/kg w grupie żywionej mieszanką z łubinem oraz z preparatem enzymatycznym, natomiast w grupie żywionej dietą z nasionami łubinu żółtego - 2,07 kg. W II okresie tuczu, wykorzystanie paszy poprawiło się w grupie kontrolnej, względem doświadczalnych i ostatecznie za cały okres tuczu, różnice pomiędzy grupami były nieistotne statystycznie. Wartość tej cechy w grupie kontrolnej wynosiła 2,57 kg/kg, a w grupach doświadczalnych odpowiednio: 2,55; 2,52; 2,60 i 2,54 kg/kg. Należy zauważyć, że wyniki te były lepsze od zanotowanych w badaniach własnych, co mogło być spowodowane uwarunkowaniami genetycznymi zwierząt jako, że użyto tu mieszańców towarowych, a nie zwierząt czystorasowych.

W badaniach Kima i in (2011) odnotowano również bardzo dobry poziom wykorzystania paszy u tuczników żywionych mieszankami z różnym udzialem nasion słodkiego łubinu wąskolistnego. Nie stwierdzono tu różnic istotnych statystycznie pomiędzy poszczególnymi grupami zwierząt. Wartość tej cechy wynosiła średnio: 2,73; 2,71; 2,74 i 2,62 kg/kg, odpowiednio w grupach żywionych mieszankami z udziałem 20, 25, 30 lub 35% nasion łubinu. Uzyskane w cytowanych badaniach wartości wskaźnika wykorzystania paszy, są adekwatne do odnotowanych w badaniach własnych. Świadczą też o tym, że mieszanki pełnoporcjowe, nawet z bardzo wysokim udziałem nasion łubinu, mogą być bardzo dobrze wykorzystywane przez rosnące świnie.

Tuczniki żywione mieszanką z udziałem nasion łubinu, odłożyły wysoko istotnie statystycznie więcej tkanki mięśniowej w tuszy (Tabela 2), średnio o 1,8 % w stosunku do zwierząt żywionych standardową mieszanką zbożowo-sojową, u których średnia mięsność oceniona przyżyciowo, wynosiła 56,26% w grupie K i była niższa, w porównaniu do tuczników z grupy D1, żywiona mieszanką z udziałem surowych nasion łubinu – 57,18% oraz grupy D2, żywionej mieszanką z udziałem ekstrudowanych nasion łubinu – 57,35%. Uzyskane wyniki były nieznacznie niższe od średniej mięsności tuczników, która w 2018r. wyniosła 57,9 % - dane statystyczne Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi Rynek mięsa wieprzowego (2018). Do doświadczenia wykorzystano zwierzęta czystej rasy pbz. Jest to rasa mateczna, której zdolności do odkładania mięsa w tuszy, nie są tak wysokie jak u ras ojcowskich oraz

u mieszańców towarowych. Punkt maksymalnej mięsności u tej rasy występuje przy masie ciała ok. 90kg, następnie mięsność tych świń zaczyna spadać. Pomiaru mięsności przyżyciowej dokonywano przy wyższej masie ciała. W tuczu odnotowano również bardzo wysokie dzienne przyrosty tych zwierząt na poziomie ok. 1000 g, co wpłynęło na większe otluszczenie badanych tuczników, a tym samym na ich niższą mięsność.

Wnioski

Tuczniaki żywione mieszankami z udziałem 15% surowych (D1) lub ekstrudowanych (D2) nasion łubinu wąskolistnego, osiągnęły wysoko istotnie wyższe przyrosty masy ciała, w porównaniu do tuczników z grupy kontrolnej, a w konsekwencji także wysoko istotnie wyższą masę ciała.

W całym okresie badań nie stwierdzono różnicowania istotnie statystycznego w zakresie średniego dziennego spożycia mieszanek doświadczalnych przez badane zwierzęta.

Stwierdzono, że w okresie całego tuczu wysoko istotnie lepszym wykorzystaniem paszy, charakteryzowały się tuczniaki żywione mieszanką z 15% udziałem ekstrudowanych nasion łubinu wąskolistnego (D2), w porównaniu do obu pozostałych badanych grup (K i D1).

Wykazano, że tuczniaki żywione mieszankami pełnoporejowymi, w których zastosowano 15 % udział surowych (D1) lub ekstrudowanych (D2) nasion łubinu, osiągnęły wysoko istotnie wyższą mięsność, w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej (K).

Biorąc pod uwagę powyższe, należy stwierdzić, że zastosowanie 15 % udziału nasion surowych lub ekstrudowanych łubinu wąskolistnego Wars w mieszankach dla tuczników w obu okresach tuczu, przyczyniło się do poprawy efektywności tuczu, przy czym korzyści te były większe przy zastosowaniu nasion surowych, w porównaniu do ekstrudowanych.

Literatura

- Gdala J., Jansman A.J.M., Van Leeuwen P., Huisman J., Verstegen M.W.A. 1996. *Lupins (L. luteus, L. albus, L. angustifolius) as protein source for young pigs*. Animal Feed Science and Technology 62: 239-249.
- Hanczakowska E., Książak J. 2012. *Krajowe źródła białkowych pasz roślinnych jako zamienniki śruty sojowej GMO w żywieniu świń*. Roczniki Naukowe Zootechniki 2: 171-187.
- Jamroz J., Podkówa W., Chachułowa J., 2001. *Żywienie zwierząt I paszoznawstwo. T.3 Paszoznawstwo*. Red Wyd. Naukowe PWN, Warszawa. 233-241: 52-58.

- Jerzak M.A., Czerwińska-Kayzer D., Florek J., Śmiglak-Krajewska M. 2012. *Determinanty produkcji roślin strączkowych jako alternatywnego źródła białka – w ramach nowego obszaru polityki rolnej w Polsce*. Roczniki nauk rolniczych, seria G, T.99, 1: 113-120.
- Kim, J.C., Mullan, B.P., Nicholls, R.R. and Pluske, J.R. 2011. *Effect of Australian sweet lupin (*Lupinus angustifolius* L.) inclusion levels and enzyme supplementation on the performance, carcass composition and meat quality of grower/finisher pigs*. Animal Production Science, 51 (1): 37-43
- Mieszkalski L. 2004. *Stan i kierunki badań nad obłuskiwaniem nasion w Polsce*. Wydawnictwo Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie 1: 31-47.
- Normy Żywienia Świń*. 1993. IF i ŻZ Jabłonna, wyd. Omnitech Press Warszawa.
- Purwin C., Stanek M. 2011. *Nutrient digestibility and nitrogen balance in growing-finishing pigs fed legume-based diets*. Annales Univesitatis Mariae Curie-Skłodowska Lublin-Polonia 29: 52-61.
- Roth-Maier D.A., Böhme B.M., Roth F.X. 2004. *Effects of feeding canola meal and sweet lupin (*L. luteus*, *L. angustifolius*) in amino acid balanced diets on growth performance and carcass characteristics of growing-finishing pigs*. Animal Research 53: 21-34.
- Sońta M., Rekiel A., Więcek J. 2015. *Efektywność stosowania mieszanek z udziałem lubinu wąskolistnego w żywieniu rosnących świń*. Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego, 11, nr 1: 35-46.

Wyniki odchowu warchlaków żywionych mieszanką pełnoporcjową z udziałem fermentowanej poekstrakcyjnej śruty sojowej

The results of rearing weaners fed a mixture with the fermented soybean meal

Arkadiusz Marek Huzarek
Nicoletta Magdalena Neuman

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Bioinżynierii Zwierząt
Naukowe Koło Hodowców Trzody Chlewnej
Opiekun: dr inż. Dorota Bugnacka

Abstract

Nutrition of younger groups of pigs (weaned piglets and weaners) is relatively difficult due to their high nutritional requirements and at the same time not fully developed digestive system in these animals. This requires using of feeds with high digestibility and not containing substances that reduce the productivity and health of these animals (anti-nutritional factors). Special attention is required to care of the health of young pigs as all disease processes significantly extend the later stages of their rearing. Additives such as probiotics, prebiotics or acidifiers are normally used as dietary ingredients for piglets and weaners. In turn the fermentation process which components of such mixtures are subjected can be regarded on the one hand as a process improving the digestibility of nutrients of the diet and the other hand, by acidifying it, as a process improving the health of animals.

The purpose of this study was to determine the effects of using the mixture with fermented soybean meal in nutrition of weaners.

There were created two groups (12 animals per group) control (K) and experimental (D). The weaners of the control group were fed a standard cereal-soybean mixture, while the animals from the experimental group got a mixture which was balanced using fermented soybean meal. The study lasted 28 days. Body weight of animals (weighing on the 1st, 14th and 28th day of studying) and feed intake were examined. The average daily weight gains and the feed intake were calculated. It was found that mixture with fermented soybean meal was more readily consumed by the piglets from group D, probably due to its taste and smell compared to the consumption of the mixture by animals from the control group. However, the feeding regimen applied in the final effect did not improve the results of rearing animals.

Keywords: fermented soybean meal, weaned piglets, weaners.

Wstęp

Żywienie najmłodszych grup produkcyjnych trzody chlewnej, czyli prosiąt odsadzonych i warchlaków, jest stosunkowo trudne ze względu na ich duże wymagania pokarmowe, a jednocześnie nie w pełni jeszcze rozwinięty układ pokarmowy. Układ

pokarmowy u tego gatunku rozwija się przez około 4 do 5 miesięcy. Dopiero po tym czasie jest on w pełni gotowy do prawidłowego trawienia pasz, a co za tym idzie optymalnego przyswajania oraz wykorzystywania składników pokarmowych. Z tego względu wymagane jest w tym okresie wzrostu stosowanie pasz o wysokiej strawności, i nie zawierających substancji obniżających produktywność i zdrowotność tych zwierząt (związki antyżywniowe). Szczegółnej uwagi wymaga dbałość o zdrowie młodych świń, jako że wszelkie procesy chorobowe znacząco wydłużają późniejsze etapy ich odchowu.

Dodatki paszowe, takie jak probiotyki, prebiotyki, czy też zakwaszacze są standardowo stosowane jako składniki diet dla prosiąt i warchlaków. Także proces fermentacji, któremu mogą być poddane komponenty mieszanek dla tych grup produkcyjnych, może być uznany z jednej strony za proces poprawiający strawność składników pokarmowych diety, zaś z drugiej strony, poprzez jej zakwaszenie, jako proces poprawiający zdrowotność zwierząt.

Proces fermentacji polega na zakiszaniu pasz mokrych lub suchych, które zawierają w swoim składzie cukry. Do procesu tego niezbędna jest glukoza, która jest głównym substratem przemian pośrednich. W trakcie procesu fermentacji wydzielana jest niewielka ilość CO₂,

a pozostała ilość węgla włączana jest w cykl przemian, z których powstaną kwasy: octowy, mlekowy, masłowy, propionowy i inne (Podkówka 1978).

Proces fermentacji odbywa się przy udziale drobnoustrojów lub dzięki enzymom, które są wytworzone przez te drobnoustroje. Podczas procesu zakiszania wytwarzana jest energia, którą drobnoustroje wykorzystują do życia (www.ekologia.pl).

Głównym rodzajem fermentacji przebiegającej w procesie zakiszania jest fermentacja mlekowa. Dąży się do wytworzenia kwasu mlekowego. W zależności od tego jaki rodzaj bakterii bierze udział w procesie fermentacji mogą także powstawać produkty uboczne takie jak dwutlenek węgla, kwas octowy (www.ekologia.pl).

Bakterie właściwej fermentacji mlekowej możemy podzielić ze względu na ich metabolizm na:

- homofermentatywne – wytwarzające kwas mlekowy;
- fakultatywnie heterofermentatywne – wytwarzające kwas mlekowy albo dodatkowo kwas octowy, etanol i dwutlenek węgla;
- heterofermentatywne – wytwarzające kwas mlekowy i produkty uboczne (www.e-biotechnologia.pl).

Soja to roślina strączkowa. Jej nasiona, a przede wszystkim uzyskiwana z nich jako produkt uboczny w procesie produkcji oleju śruta poekstrakcyjna, jest jedną z pasz wysokobiałkowych powszechnie stosowanych w żywieniu wielu gatunków zwierząt gospodarskich. Jest to cenna roślina paszowa ze względu na wysoką zawartość białka ogólnego oraz wysoką jakość tego białka, czyli jego dobrego składu aminokwasowego. Strawność białka soi, i jednocześnie jego aminokwasów, w nieprzetworzonych nasionach soi jest dużo niższa, w porównaniu do strawności tych składników w poekstrakcyjnej śrucie sojowej. Dużym problem stosowania nieprzetworzonych nasion soi są także zawarte w nich składniki antyżywniowe takie jak: lektyny, inhibitory tripsyny i chymotripsyny, czy też glicynina. Większość tych substancji antyżywniowych w procesach takich jak ekstruzja, ulega denaturacji. Proces ten prowadzi do unieczynnienia tych związków (Kamyczek 2017) i poprawienia jakości pokarmowej tej paszy. W zależności od przebiegu ekstrakcji tłuszczu z nasion soi zawartość białka ogólnego w poekstrakcyjnej śrucie sojowej waha się od 45% do nawet 55%. Białko to charakteryzuje się wysoką zawartością aminokwasów egzogennych takich jak lizyna, czy tryptofan (Głuchowski 2016).

Poekstrakcyjna śruta sojowa stosowana w żywieniu zwierząt w Polsce w całości pochodzi z importu. Rocznie do Polski sprowadzane jest około 2-3 10^6 Mg poekstrakcyjnej śruty sojowej, co odpowiada około 1-1,5 10^6 Mg czystego (100%) białka (Hejdysz i Rutkowski, 2015).

Fermentowana poekstrakcyjna śruta sojowa w żywieniu trzody chlewnej budzi coraz większe zainteresowanie. W zagranicznych badaniach stwierdzono, że mieszanki z udziałem tego składnika wpływają pozytywnie na rozwój morfologiczny jelit u trzody chlewnej. Wpływa to na poprawę procesów trawiennych zachodzących w tym odcinku układu pokarmowego oraz na lepsze wchłanianie składników pokarmowych (Feng i in. 2007). W badaniach Songa i in. (2010) stwierdzono, że stosowanie takich pasz zapobiega występowaniu biegunek. Jest to bardzo poważny problem w odchowieniu tych zwierząt, dlatego tak ważne jest dbanie o nawet takie aspekty ich odchowu. W doświadczeniu Yuana i in. (2017) potwierdzono wnioski z poprzednio przytoczonych wyników badań Songa i in. (2010). Jednakże, zauważono tu również, że podstawą poprawy badanych parametrów był rozwój prawidłowej mikroflory układu pokarmowego. Poprzez obniżanie pH środowiska układu pokarmowego następuje poprawa funkcjonowania naturalnej bariery, czyli obrona przed rozwojem niekorzystnej mikroflory, która wywołuje wiele chorób tego układu. Kim i in. (2010) przeprowadzili badania na grupie prosiąt ssących, które żywiono paszą z udziałem fermentowanej poekstrakcyjnej śruty

sojowej. Stosowanie takiego modelu żywienia bardzo młodych zwierząt wpłynęło na lepszy rozwój ich układu pokarmowego. Stosowanie takich pasz może przynosić korzyści w dalszym odchowie tych zwierząt, przez wzgląd na to, że układ pokarmowy trzody chlewnej rozwija się stosunkowo długo (do wieku 4-5 miesięcy), i dzięki wspomagananiu jego prawidłowego rozwoju od początku, znacznie lepiej będzie spełniał swoje funkcje w późniejszym odchowie.

Celem pracy było określenie efektów stosowania mieszanki z udziałem fermentowanej poekstrakcyjnej śruty sojowej w żywieniu warchlaków, w porównaniu ze stosowaniem mieszanki standardowej, tj. zawierającej poekstrakcyjną śrutę sojową.

Metodyka

Badania przeprowadzono w Gospodarstwie Rolnym Mirosława Huzarka, położonym w miejscowości Skoczkowo, w województwie pomorskim, w powiecie kościerskim, w gminie Lipusz. W gospodarstwie utrzymuje się trzodę chlewną w cyklu zamkniętym. Cała powierzchnia gospodarstwa wynosi 49,56 ha. Uprawiane są grunty o powierzchni 21,56 ha, w tym 16,32 ha stanowią grunty orne, a 5,24 ha to łąki i pastwiska. Struktura zasiewów uwzględnienia potrzeby wynikające z produkcji pasz dla trzody chlewnej.

Utworzono dwie grupy warchlaków: kontrolną (K) i doświadczalną (D). W każdej z grup utrzymywano po 12 warchlaków. Zwierzęta do badań dobierano według metody analogów, tzn. biorąc pod uwagę ich pochodzenie, płeć, wiek i masę ciała. Warchlaki były utrzymywane w jednym pomieszczeniu, które spełniało wszystkie warunki zoohigieniczne dla tej grupy produkcyjnej trzody chlewnej. Każda grupa zwierząt przebywała w oddzielnym kojcu wyposażonym w autokarmniki i poidła.

Zwierzęta z grupy kontrolnej (K) były żywione standardową mieszanką zbożowo-sojową, w której jedynym komponentem wysokobiałkowym była poekstrakcyjna śruta sojowa. Warchlaki z grupy doświadczalnej (D) żywione były mieszanką, w której standardową śrutę poekstrakcyjną sojową zastąpiono fermentowaną poekstrakcyjną śrutą sojową (Tab. 1).

Mieszanki paszowe stosowane w doświadczeniu sporządzane były w gospodarstwie. Zostały one zbilansowane według zaleceń norm żywienia świń z roku 2014 (*Zalecenia żywieniowe i wartość pokarmowa pasz dla świń. Normy żywienia świń*. 2014). Do ich wyprodukowania wykorzystano zboża z własnych zasobów gospodarstwa oraz pochodzącą z zakupu poekstrakcyjną śrutę sojową oraz dodatki paszowe. Potrzebna do wyprodukowania mieszanki doświadczalnej fermentowana poekstrakcyjna śruta sojowa została przygotowana w gospodarstwie. Zakupioną poekstrakcyjną śrutą sojową poddano w tym celu procesowi

kiszenia. Do tego procesu wykorzystano preparat EmFarma, który jest naturalnym środkiem mikrobiologicznym, wyprodukowanym przez Regionalne Centrum Mikroorganizmów Brunka Natural Brunka Marek. Naturalny środek mikrobiologiczny EmFarma zawiera: drożdże, grzyby fermentujące, bakterie kwasu mlekowego, bakterie fotosyntezujące, ekologiczną trzcinową melasę, sól, kompleks minerałów, rewitalizowaną wodę (dane według producenta).

Tabela 1. Skład komponentowy mieszanek pełnoporcjowych stosowanych w doświadczeniu

Wyszczególnienie	Mieszanka	
	Kontrolna (K)	Doświadczalna (D)
Śruta poekstrakcyjna sojowa (kg)	22,00	-
Śruta p. sojowa fermentowana (kg)	-	20,00
Śruta pszenna (kg)	45,00	45,00
Śruta jęczmienna (kg)	29,00	31,00
Premix Specialmix starter 4% (kg)	4,00	4,00
Razem (kg):	100,00	100,00
Wartość pokarmowa 1 kg mieszanki (kalkulowana):		
Energia metaboliczna (MJ)	13,00	13,00
Białko ogólne (g)	186,00	186,00
Lizyna (g)	12,36	11,88

Źródło: Opracowanie własne.

Doświadczenie trwało 28 dni. W trakcie badań kontrolowano masę ciała zwierząt (ważenia kontrolne w 1., 14. i 28. dniu badań). Stałe kontrolowano też spożycie paszy. Warchlaki były żywione *ad libitum*.

Wszystkie dane zostały opracowane statystycznie za pomocą programu STATISTICA 13.3. Wykonano jednoczynnikową analizę wariancji w układzie ortogonalnym. Istotność różnic pomiędzy badanymi grupami określono za pomocą testu Duncana.

W zakresie masy ciała warchlaków w żadnym z badanych okresów nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie pomiędzy badanymi grupami zwierząt. Średnia końcowa masa ciała warchlaków wynosiła 25,59kg i 27,57kg, odpowiednio w grupach K i D. Należy podkreślić, że przy wyrównanej początkowej masie ciała warchlaków, końcowa masa ciała zwierząt w grupie D była wyższa o 2kg. Pomimo braku różnicy istotnej statystycznie w stosunku do grupy K, stanowi to ważną wskazówkę dla praktyki produkcyjnej. Był to prawdopodobnie skutek pozytywnego wpływu fermentowanej paszy na procesy trawienne

i skład mikroflory jelit warchlaków z grupy D. Zwierzęta cięższe na tym etapie odchowu stanowią z kolei lepszy materiał do tuczu, jako że ich przyrosty prawdopodobnie będą wyższe, a okres tuczu krótszy. Są czynniki wpływające na poprawę efektywności i ekonomiki produkcji.

Średnie przyrosty dzienne warchlaków w drugim okresie odchowu, czyli od 14 do 28 dnia jego trwania, były istotnie wyższe w grupie doświadczalnej (859 g), w porównaniu do warchlaków z grupy kontrolnej (721 g). W pierwszym okresie odchowu oraz w całym okresie badań nie wykazano istotnych statystycznie różnic w zakresie tej cechy. Tak więc, zależności stwierdzone w drugim okresie badań nie wpłynęły na istotność różnic w całym okresie odchowu.

Tabela 2. Parametry odchowu badanych warchlaków

Wyszczególnienie	Miary statystyczne	Grupa	
		Kontrolna (K)	Doświadczalna (D)
Masa ciała 1 warchlaka (kg):			
1. dzień badań	\bar{x}	9,66	9,36
	s	1,580	2,021
14. dzień badań	\bar{x}	15,50	15,54
	s	2,118	1,924
28. dzień badań	\bar{x}	25,59	27,57
	s	4,223	3,022
Średnie dzienne przyrosty masy ciała w okresach odchowu (g):			
1 - 14 dzień badań	\bar{x}	417	422
	s	154,4	77,8
15 – 28 dzień badań	\bar{x}	721 ^b	859 ^a
	s	199,0	114,2
1 – 28 dzień badań	\bar{x}	569	650
	s	153,9	70,0
Średnie dzienne spożycie paszy w okresach odchowu (kg):			
1 – 14 dzień badań	\bar{x}	0,640 ^b	0,818 ^a
	s	0,1361	0,2164
15 – 28 dzień badań	\bar{x}	0,728 ^B	0,916 ^A
	s	0,1143	0,1273
1 – 28 dzień badań	\bar{x}	0,684 ^B	0,867 ^A
	s	0,1312	0,1812

Źródło: Opracowanie własne.

Wyniki i dyskusja

Wyniki odchowu badanych warchlaków przedstawiono w tabeli 2. Średnie dzienne spożycie paszy w pierwszym okresie odchowu warchlaków było zróżnicowane istotnie statystycznie, i wyższe w grupie doświadczalnej (0,818 kg), w porównaniu do grupy kontrolnej (0,640 kg). Z kolei wartość tego parametru w drugim okresie odchowu oraz w całym okresie badań wykazywała wysoko istotne zróżnicowanie pomiędzy grupą kontrolną, a grupą doświadczalną. W drugim okresie badań warchlaki z grupy kontrolnej spożywały wysoko istotnie mniej (0,728 kg) paszy, w porównaniu do warchlaków z grupy doświadczalnej (0,916 kg). Podobne zależności zanotowano odnośnie całego okresu odchowu, jako że w grupie kontrolnej spożycie paszy było wysoko istotnie niższe (0,684 kg), w porównaniu do spożycia paszy przez warchlaki z grupy doświadczalnej (0,867 kg). Mieszanka z udziałem fermentowanej poekstrakcyjnej śruty sojowej była chętniej spożywana przez warchlaki z grupy D prawdopodobnie ze względu na jej zapach i smak. Świnie są zwierzętami o bardzo dobrym węchu i chętniej spożywają pasze o odpowiednim dla nich aromacie i smaku.

W badaniach cytowanych przez Hejdysza i Rutkowskiego (2015), a przeprowadzonych na warchlakach w dwóch niskotowarowych gospodarstwach, nie stwierdzono żadnych istotnych różnic w zakresie przyrostów masy ciała czy wykorzystania paszy przez te zwierzęta żywione mieszankami zawierającymi różne komponenty wysokobiałkowe. Zastosowanie poekstrakcyjnej śruty sojowej w tych badaniach nie wpłynęło na parametry odchowu badanych zwierząt.

W badaniach Kiersa i in. (2003), przeprowadzonych na prosiętach odsadzonych i warchlakach, w których, podobnie jak w badaniach własnych, jednym z komponentów mieszanek paszowych była fermentowana poekstrakcyjna śruta sojowa wykazano, że średnie przyrosty dzienne zwierząt w pierwszych 14 dniach badań wynosiły od 158g do 196g. W II. okresie odchowu, czyli w dniach od 15. do 28. przyrosty dzienne badanych zwierząt wynosiły od 511g do 611g. W całym okresie odchowu wartość tego parametru wahała się tu od 334g do 404g. Porównując te dane z uzyskanymi w badaniach własnych można stwierdzić, że w niniejszej pracy w każdym z analizowanych okresów zwierzęta uzyskały lepsze wartości tego parametru. W cytowanej pracy Kiersa i in. (2003) oceniano także średnie dzienne spożycie paszy. Również w zakresie tego parametru wartości zanotowane w badaniach własnych były wyższe. I tak, w I. okresie odchowu w cytowanych badaniach spożycie paszy wynosiło 0,237kg do 0,262kg i było niższe od stwierdzonego w badaniach własnych: 0,640kg i 0,818kg

w badanych grupach. Uwzględniając cały okres odchowu warchlaków w badaniach Kiersa i in. (2003) stwierdzono, że średnie dzienne spożycie paszy wynosiło od 0,463kg do 0,523kg, czyli było niższe, w porównaniu z wartościami tej cechy w niniejszych badaniach (0,648kg i 0,867 kg). Podsumowując, w badaniach własnych uzyskano lepsze wyniki odchowu warchlaków, określone ich średnimi dziennymi przyrostami masy ciała i średnim dziennym spożyciu paszy, w porównaniu do stwierdzonych w badaniach przeprowadzonych na porównywalnej (wiek i masa ciała) grupie zwierząt przez Kiersa i in. (2003).

Wnioski

Stwierdzono istotnie statystycznie wyższe spożycie paszy z udziałem fermentowanej poekstrakcyjnej śruty sojowej przez warchlaki z grupy doświadczalnej, w porównaniu do spożycia standardowej mieszanki zbożowo-sojowej przez warchlaki z grupy kontrolnej.

Warchlaki żywione mieszanką doświadczalną w II. okresie odchowu charakteryzowały się istotnie statystycznie lepszym tempem wzrostu, w porównaniu do zwierząt z grupy kontrolnej.

Zastosowany schemat żywienia w efekcie końcowym nie wpłynął na poprawę wyników w całym okresie odchowu, jednakże zależności uzyskane w zakresie analizowanych cech w II. okresie doświadczenia sugerują konieczność kontynuowania badań w tym zakresie.

Literatura

- Feng J., Liu X., Xu Z.R., Lu Y.P., Liu Y.Y. 2007. *Effect of Fermented Soybean Meal on Intestinal Morphology and Digestive Enzyme Activities in Weaned Piglets*. Dig Dis Sci, 52: 1845-1850.
- Głuchowski Ł. 2016. *Poekstrakcyjna śruta sojowa - najlepsza pasza białkowa?* www.farmer.pl
- Hejdysz M., Rutkowski A. 2015. *Aktualne problemy żywienia zwierząt monogastycznych-podaż pasz wysokobiałkowych i białkowe bezpieczeństwo kraju*. Przegląd hodowlany. Nr 1/2015: 17-20.
- Kamyczek M. 2017. *Wykorzystanie soi w żywieniu trzody chlewnej*. www.farmer.pl
- Kiers J.L., Meijer J.C., Nout M.J.R., Rombouts F.M., Nabuurs M.J.A., van der Meulen J. 2003. *Effect of fermented soya beans on diarrhea and feed efficiency in weaned piglets*. Journal of Applied Microbiology 2003, 95: 545-552.
- Kim S.W., van Heugten E., Ji F., Lee C.H., Mateo R.D. 2010. *Fermented soybean meal as a vegetable protein source for nursery pigs: I. Effects on growth performance of nursery pigs*. Journal of Animal Science, 88: 214-224.
- Podkówka W. 1978. *Nowoczesne metody kiszzenia pasz*. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne.

Song Y.S., Perez V.G., Pettigrew J.E., Martinez-Villaluenga C., Gonzalez de Mejia E. 2010. *Fermentation of soybean meal and its inclusion in diets for newly weaned pigs reduced diarrhea and measures of immunoreactivity in the plasma*. *Animal Feed Science and Technology*, 159: 41-49.

www.e-biotechnologia.pl/artykuly/fermentacja-mlekowa (data dostępu: 13.03.2019r.).

www.ekologia.pl/wiedza/slowniki/leksykon-ekologii-i-ochrony-srodowiska/fermentacja (data dostępu: 13.03.2019r.).

Yuan L., Chang J., Yin Q., Lu M., Di Y., Wang P., Wang Z., Wang E., Lu F. 2017. *Fermented soybean meal improves the growth performance, nutrient digestibility, and microbial flora in piglets*. *Animal Nutrition*, 3: 19-24.

Zalecenia żywieniowe i wartość pokarmowa pasz dla świń. Normy żywienia świń. 2014. Red. Grela E., Skomiał J. Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. Jana Kielanowskiego PAN.

Wyniki odchowu prosiąt ssących i odsadzonych żywionych prestarterami o zróżnicowanym poziomie białka ogólnego

Parameters in the rearing of suckling and weaned piglets with different protein content

Patrycja Maria Kamińska

Uniwersytet Warmińsko - Mazurski w Olsztynie
Wydział Bioinżynierii Zwierząt
Naukowe Koło Hodowców Trzody Chlewnej
Opiekun: dr inż. Dorota Bugnacka

Abstract

The aim of this study was to analyze basic zootechnical parameters in the rearing of suckling and weaned piglets, i.e. body weight, daily gains, feed intake, as well as the use of feed for animal nutrition with a prestarter with different protein content.

Keywords: piglets, protein content, body weight, daily increases, feed intake

Wstęp

Najtrudniejszym etapem w produkcji świń jest odchów prosiąt, czyli okres od urodzenia do około 2 tygodni po odsadzeniu. Od momentu urodzenia, prosięta wymagają szczególnej opieki, ponieważ ich organizm nie jest w pełni dojrzały fizjologicznie. Dlatego też zaspokojenie najważniejszych potrzeb tych młodych zwierząt, jest kluczem do sukcesu producenta. W tym okresie powinno się zadbać o ciepłe, czyste oraz suche legowiska, a także obfitość pożywienia i poczucie bezpieczeństwa dla prosiąt. Przyjście na świat, wiążące się ze zmianą warunków środowiska, jest dla prosięcia szokiem. W okresie odchowu można wyróżnić 3 okresy krytyczne. Pierwszy to narodziny prosiąt i pierwsze dni życia. Drugi okres następuje, gdy prosięta zaczynają stopniowo pobierać inne pasze niż mleko matki. Ostatni okres krytyczny to odłączenie prosiąt od lochy.

Prosięta w momencie przyjścia na świat, nie mają w swoim organizmie ciał odpornościowych i z tego powodu są uzależnione od przeciwciał zawartych w siarze. Dopiero po pobraniu siary nabywają odporności biernej naturalnej. Pierwszy pokarm prosiąt, jakim jest siara, zawiera immunoglobuliny, które są ciałami odpornościowymi. Dopiero około trzeciego tygodnia życia formuje się u nich własny mechanizm odporności. Dlatego też, tuż po narodzinach, niezbędne jest umożliwienie oseskom szybkiego pobrania siary.

Większość upadków prosiąt przebywających przy losze przypada na okres pierwszych dni ich życia. Przyczynami mogą być m.in. biegunki czy też przygniecenia. Masa urodzeniowa prosiąt jest uważana za jeden z ważniejszych czynników, które wpływają na ich przeżywalność w początkowym okresie życia. Prosięta o niskiej masie urodzeniowej są w szczególności narażone na choroby i przedwczesną śmierć. Nowo narodzone prosięta podatne są na przeziębienia, a także muszą konkurować o pokarm matki przy wymieniu z większymi prosiętami (Leenhouders i in., 2001; Lay i in., 2002).

Jedną z najważniejszych zasad w dokarmianiu, a następnie żywieniu prosiąt, jest dostosowanie odpowiedniego rodzaju paszy i poziomu składników odżywczych do wieku, i możliwości trawiennych. Oseski, w chwili przyjścia na świat, mają zdolność do wytwarzania tylko takich enzymów w swoim układzie pokarmowym, które służą do trawienia białka, cukru mlecznego i tłuszczu zawartych w mleku lochy. Dokarmiając prosięta paszami pochodzenia roślinnego, wprowadzamy do ich układu pokarmowego całkowicie inne składniki pokarmowe, niż te zawarte w mleku. Z uwagi na to, że białko i węglowodany, które zawarte są w paszach roślinnych, mają inny skład niż te obecne w mleku matki, do ich trawienia prosięta muszą się sukcesywnie przystosowywać i wytwarzać odpowiednie enzymy. Dlatego też należy dobierać dla nich właściwe pasze z wysokimi współczynnikami strawności i podawać je w odpowiedniej formie i wzajemnym stosunku (Grudniewska 1997). Trzeba jednak wspomnieć, że często prosięta z miotów, w których locha produkuje dużą ilość mleka, nie interesują się pobieraniem paszy stałej. Jednakże, już we wczesnym okresie laktacji, powinno się stopniowo zacząć podawać mieszankę pełnoporcjową typu prestarter, aby przyuczyć prosięta do kontaktu z paszą stałą.

Celem niniejszej pracy była analiza podstawowych parametrów zootechnicznych w odchowcie prosiąt ssących i odsadzonych, tj. masy ciała, przyrostów dobowych, spożycia paszy, a także jej wykorzystania przy żywieniu zwierząt prestarterami o różnej zawartości białka ogólnego.

Material i metody

Doświadczenie zostało wykonane w rodzinnym gospodarstwie rolnym, utrzymującym trzodę chlewną w cyklu zamkniętym. Gospodarstwo to usytuowane jest w województwie kujawsko-pomorskim, w powiecie grudziądzkim. Zwierzęta utrzymywane są w systemie płytkiej ściółki, a materiałem ściółkowym jest słoma pozyskiwana z własnych upraw. Najczęściej stosowana jest słoma pszenna, pszenżytnia, a także jęczmienna.

Stado podstawowe trzody chlewnej w gospodarstwie składa się z 30 loch i 1 knura. Użytkowane są lochy dwóch ras: wielka biała polska i polska biała zwisłoucha. Kryte są one knurem rasy duroc. Materiał remontowy mateczny i ojcowski, pochodzi z zakupu z chlewni hodowlanych. Średnia płodność rzeczywista loch to 13 prosiąt w miocie, a średnia masa ciała nowo narodzonego prosięcia wynosi 1,47 kg. Laktacja trwa 28 dni. Rocznie do Zakładów Mięśnych „Warmia” w Biskupcu sprzedawanych jest około 450 tuczników.

Tabela 1. Skład komponentowy i wartość pokarmowa prestarterów stosowanych w doświadczeniu

Próba	Sucha masa [%]	Popiół surowy [%]	Białko ogólne [%]	Tłuszcz surowy [%]	Włókno surowe [%]
PRESTARTER [A]	90,21	4,48	17,62	4,30	3,30
PRESTARTER [B]	89,05	4,22	19,61	5,24	3,10

Źródło: Pracownia Analizy Podstawowego Składu Chemicznego Pasz Katedry Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

Badania przeprowadzono na 75 prosiątach mieszańcach, pochodzących od loch utrzymywanych w gospodarstwie i po knurze duroc. Prosięta pochodziły z 9 miotów, które podzielono na dwie grupy:

- grupa A - 3 mioty (łącznie 23 prosięta), dokarmianie mieszanką pełnoporcjową typu prestarter o obniżonej zawartości białka ogólnego;
- grupa B - 6 miotów (łącznie 52 prosięta), dokarmianie mieszanką pełnoporcjową typu prestarter z wyższą zawartością białka ogólnego.

Skład komponentowy i wartość pokarmowa prestarterów badanych w tym doświadczeniu, zostały przedstawione w Tabeli 1. Z mieszanek pobrano próby, które następnie zostały poddane analizie i oznaczono skład podstawowy w Pracowni Analizy Podstawowego Składu Chemicznego Pasz Katedry Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie.

Prosięta do 28 dnia życia przebywały w kojcach razem z lochą. Do 21 dnia odchowu, prosięta ssące, pobierały wyłącznie mleko matki. Od 21 dnia rozpoczęto ich dokarmianie prestarterem. W 28 dniu odchowu lochy odsadzano od prosiąt. Badania kontynuowano przez kolejny tydzień, a więc do wieku 35 dnia życia prosiąt. Prosięta odsadzone z grupy

A przebywały razem w jednym kojcu, zaś prosięta z grupy B umieszczono w dwóch kojcach (odpowiednio 28 i 24 prosięta w każdym kojcu).

W trakcie badań notowano: indywidualną masę ciała prosiąt przy urodzeniu oraz w 21, 28 i 35 dniu życia. Ponadto badano spożycie paszy od 21 do 28 dnia laktacji (dokarmianie przy lochach) i od 28 do 35 dnia życia prosiąt odsadzonych. Wyliczono także średnie dzienne przyrosty masy ciała oraz wykorzystanie paszy.

Wyniki i dyskusja

W Tabeli 1 przedstawiono wyniki analiz składu podstawowego badanych prestarterów, czyli mieszanek pełnoporcjowych przeznaczonych do dokarmiania prosiąt ssących i odsadzonych. Zawartość białka ogólnego w prestarterze A wynosił 17,62%, natomiast w prestarterze B – 19,61%. Oba prestartery spełniają zalecenia dotyczące jednego z dwóch stosowanych obecnie modeli żywienia prosiąt w okresie okołoodsadzeniowym. Jeden z nich zaleca stosowanie w tym czasie mieszanki o obniżonej zawartości białka (A), co ma zapobiegać występowaniu chorób w tym okresie (głównie biegunkowych i choroby obrzękowej). Jednocześnie istnieje tu jednak zagrożenie, że prosięta pobiorą zbyt mało białka, zwłaszcza w okresie po odsadzeniu, co może zahamować ich wzrost. Drugi schemat żywienia zakłada stosowanie pasz o wyższym poziomie białka, spełniającym zapotrzebowanie pokarmowe prosiąt i nie powodującym depresji wzrostu w okresie poodsadzeniowym (B).

Tabela 2. Masa ciała badanych prosiąt w kolejnych etapach doświadczenia

Wyszczególnienie	Grupa			
	A		B	
	\bar{x}	min.-max.	\bar{x}	min.-max.
Masa ciała prosiąt w dniu urodzenia [kg]	1,60	1,40-2,00	1,68	1,30-1,90
Masa ciała w wieku 21 dni [kg]	4,57	3,80-5,20	4,80	3,90-5,60
Masa ciała w wieku 28 dni [kg]	6,70	5,80-7,50	6,93	5,50-8,90
Masa ciała w wieku 35 dni [kg]	7,80	6,30-9,20	8,07	6,70-10,00

Źródło: Opracowanie własne.

Z danych przedstawionych w Tabeli 2 wynika, że średnia masa ciała prosiąt przy urodzeniu była wyrównana i wynosiła odpowiednio w badanych grupach A i B – 1,68 kg i 1,60

kg. W badaniach Milewskiej i in. (2016), średnia masa ciała prosiąt przy urodzeniu była niższa i wynosiła w przypadku mieszańców [$\text{♀ pbz} \times \text{♂ P76}$] - 1,65 kg; zaś mieszańców [$\text{♀ (wbp} \times \text{pbz)} \times \text{♂ wbp}$] - 1,47. W badaniach Jarczyka i in. (2011), wartość tego parametru w dniu urodzenia także była niższa i wynosiła 1,53 kg. W kolejnych etapach badań własnych, tj. w 21, 28 i 35 dniu życia prosiąt, zanotowano tendencję do uzyskiwania wyższej masy ciała przez prosięta z grupy B. Różnica w zakresie masy ciała w grupach wzrastała wraz z wiekiem prosiąt. Jest to informacja ważna z punktu widzenia praktyki zootechnicznej, ponieważ nawet stosunkowo niewielkie różnice masy ciała na tym etapie odchowu, przekładają się na uzyskiwanie wyższej masy ciała przez zwierzęta w kolejnych etapach produkcji.

Biorąc pod uwagę masę ciała prosiąt w wieku 21 dni, wartość tego parametru wynosiła w grupie A - 4,57 kg, natomiast w grupie B - 4,57 kg. W doświadczeniu Škorjanc i in. (2007), prosięta rasy Landrace były cięższe i ważyły w 21 dniu życia średnio 6,04 kg. Masa ciała prosiąt w wieku 28 dni w grupie A wynosiła średnio 6,70 kg, zaś w grupie B - 6,93 kg. W badaniach Škorjanc i in. (2007), średnia masa ciała prosiąt w tym wieku była również wyższa - 7,67 kg. Wyższa masa ciała prosiąt w cytowanych badaniach w kolejnych etapach odchowu była zapewne uwarunkowana tym, że prowadzono tu wczesne dokarmianie prosiąt, dzięki czemu ich tempo wzrostu mogło być wyższe. W badaniach własnych, masa ciała prosiąt do 21 dnia odchowu wynikała wyłącznie z mleczności loch. Z kolei w wieku 35 dni, średnia masa ciała prosiąt w badaniach własnych wynosiła odpowiednio w grupie A i B: 7,80 kg i 8,07 kg. W badaniach Milewskiej i in. (2016), wartość tego parametru wynosiła w przypadku mieszańców [$\text{♀ pbz} \times \text{♂ P76}$] - 9,43 kg, a dla mieszańców [$\text{♀ (wbp} \times \text{pbz)} \times \text{♂ wbp}$] - 7,85 kg.

Tabela 3. Przyrosty dzienne w kolejnych etapach badań

Wyszczególnienie	Grupa			
	A		B	
	\bar{x}	min.-max.	\bar{x}	min.-max.
Średni dzienny przyrost masy ciała prosięcia od 1. do 21. dnia laktacji [g]	141	55-260	148	48-281
Średni dzienny przyrost masy ciała prosięcia od 21. do 28. dnia laktacji [g]	299	121 - 493	306	43 - 650
Średni dzienny przyrost masy ciała prosięcia od 28. do 35. dnia odchowu [g]	161	50 - 329	160	-257 - 429

Źródło: Opracowanie własne.

W Tabeli 3 przedstawiono średnie dzienne tempo wzrostu badanych zwierząt. Średnie dzienne przyrosty masy ciała prosięcia od urodzenia do 21 dnia laktacji wynosiły 141 g (grupa A) i 148 g (grupa B). W badaniach Milewskiej (2016) przyrosty dzienne do 21 dnia życia prosiąt mieszańców [♀ pbz x ♂ P76] kształtowały się w granicach od 169 do 240 g; zaś w przypadku mieszańców [♀ (wbp x pbz) x ♂ wbp], wahały się w granicach od 159 do 197 g. Średnie dzienne przyrosty masy ciała 1 prosięcia, w okresie od 21 do 28 dnia laktacji, w grupie A wynosiły 299 g, natomiast w grupie B - 306 g. Z kolei od 28 do 35 dnia odchowu, średnie dzienne przyrosty wynosiły u prosiąt z grupy A – 161 g, zaś w przypadku prosiąt z grupy B - 160 g i były one niższe, w porównaniu do zanotowanych w okresie od 21 do 28 dnia laktacji. Przyczyną była reakcja prosiąt na proces odsadzenia ich od lochy i przestawienie ich na żywienie wyłącznie paszą stałą. W tym okresie przyrosty dzienne prosiąt z grupy A były wyższe, w porównaniu do prosiąt z grupy B.

Tabela 4. Spożycie i wykorzystanie paszy przez badane prosięta

Wyszczególnienie	Grupa			
	A		B	
	\bar{x}	min.-max.	\bar{x}	min.-max.
Łączne spożycie paszy przez miot w okresie od 21. do 28. dnia laktacji [g]	159	71-316	1183	163-2829
Średnie dzienne spożycie paszy przez miot w okresie od 21. do 28. dnia laktacji [g]	23	10-45	169	23-404
Średnie dzienne spożycie paszy przez 1 prosię ssące w okresie od 21. do 28. dnia laktacji [g]	3	1-6	18	3-40
Łączne spożycie paszy przez prosięta odsadzone z grupy w okresie od 28. do 35. dnia odchowu [kg]	44	-	99	-
Średnie dzienne spożycie paszy przez prosięta odsadzone z grupy w okresie od 28. do 35. dnia odchowu [kg]	6	-	7	-
Średnie dzienne spożycie paszy przez 1 prosię w okresie od 28. do 35. dnia odchowu [g]	274	44-337	267	92-486
Średnie dzienne wykorzystanie paszy przez 1 prosię w okresie od 28. do 35. dnia odchowu	1,70	-	1,66	-

Źródło: Opracowanie własne.

Łączne (uśrednione na 1 miot) tygodniowe spożycie paszy w okresie od 21 do 28 dnia laktacji w grupie A wynosiło 159 g i było niższe, w porównaniu do grupy B – 1182 g (Tabela 4). Łączne tygodniowe spożycie paszy przez wszystkie prosięta z grupy A w okresie od 28 do 35 dnia odchowu wynosiło 44,139 kg (na 23 prosięta). Z kolei w grupie B, wartość tej cechy wynosiła odpowiednio 66,239 kg i 32,870 kg w podgrupach. A zatem, średnie dzienne spożycie paszy przez 1 prosię w tym okresie, wynosiło 274 g w grupie A i 267 g w grupie B. W rezultacie, średnie dzienne spożycie paszy przez prosięta z badanych grup było stosunkowo niewielkie i wynosiło odpowiednio 3 i 18 g. Jednakże należy podkreślić, że w tym okresie życia, prosięta nie pobierają dużych ilości paszy stałej, a jej spożycie ma przede wszystkim kształtować procesy trawienne i przystosowywać układ pokarmowy prosięcia do trawienia składników innych, niż obecne w mleku matki.

Analizując wartości przedstawione w zakresie spożycia paszy, należy podkreślić znaczne ich zróżnicowanie zarówno pomiędzy badanymi grupami, jak też i w obrębie grup. Świadczą o tym szerokie zakresy rozstępu danych (wartości minimalne – maksymalne). Jest to związane w tym okresie odchowu, że spożycie paszy jest zwykle bardzo zróżnicowane pomiędzy miotami, a zależność ta jest znana z praktyki produkcyjnej. Wartość tego parametru jest uzależniona od liczby prosiąt w miocie i mleczości lochy. Prosięta z mało licznych miotów i od mlecznych matek, są w znikomym stopniu zainteresowane paszą dodatkową stosowaną do ich dokarmiania przy losze. Z kolei prosięta urodzone w licznych miotach, ze względu na niewystarczającą podaż składników pokarmowych z mleka matki wcześniej, w większym wymiarze korzystają z paszy dodatkowej.

W oparciu o dane dotyczące średniego dziennego spożycia paszy przez jedno prosię oraz średni dzienny przyrost masy ciała jednego prosięcia, obliczono wartość wykorzystania paszy w tym okresie. Z przedstawionych wyliczeń wynika, że nieznacznie lepszym wykorzystaniem paszy charakteryzowały się prosięta z grupy B (1,66 kg/kg), w porównaniu do prosiąt z grupy A (1,70 kg/kg) (Tab. 4.).

Podsumowanie

W podsumowaniu uzyskanych wyników badań można stwierdzić, że zaobserwowano tendencję do szybszego wzrostu u prosiąt z grupy B., żywionych prestarterem o zawartości białka na poziomie 19,61 %, w porównaniu do prosiąt z grupy A., żywionych prestarterem o niższym poziomie białka – 17,62 %. Pomimo, że nie stwierdzono depresji wzrostu prosiąt z grupy A w okresie poodsadzeniowym, to uzyskane zależności dotyczące masy ciała i przyrostów

dziennych prosiąt, pozwalają na sformułowanie zalecenia, że prosięta w okresie okołoodsadzeniowym należy dokarmiać mieszką pełnoporcjową o wyższym poziomie białka.

Literatura

- Grudniewska B. 1997. *Lochy i prosięta*. Oficyna Wydawnicza „Hoża”. Warszawa.
- Jarczyk A., Milewska W., Drągowski D. 2011. *Najważniejsze czynniki hodowlane wpływające na rodzenie się prosiąt martwych*. Med. Weter., 67: 555-559.
- Leenhouders J.I., deAlmeida C.A., Knol E.F., van der Lende T. 2001. *Progress of farrowing and early postnatal pig behavior in relation to genetic merit for pig survival*. J. Anim. Sci. 79: 1416–1422.
- Milewska W., Falkowski J., Kozera W., Bugnacka D., Karpiesiuk K. 2016. *Wpływ masy ciała prosiąt przy urodzeniu na tempo ich wzrostu do odsadzenia w wieku 5 lub 7 tygodni*. Wiadomości Zootechniczne 54(1): 19-26.
- Škorjanc D., Brus M., Potokar M.C. 2007. *Effect of birth weight and sex on pre-weaning growth rate of piglets*. Arch. Tierz. Dummerstorf, 50, 5: 476-486.

Rozdział IV

Warunki żywienia i utrzymania bydła

Wartość pokarmowa kiszzonek z różnych odmian *Festulolium*

Nutritional value of silage from various *Festulolium* cultivars

Olga Mierzejewska
Przemysław Żukowski

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Bioinżynierii Zwierząt
Naukowe Koło Żywienia Zwierząt
Opiekun naukowy: prof. dr hab. Cezary Purwin

Abstract

Grass and silage from *Festulolium* is an important component of feed doses for ruminants. *L. multiflorum* and *L. perenne* are two of the most dominant species used for forage production. They are characterized by high yield and good digestibility but are sensitive to abiotic and biotic stress. *Fescue* is known for its good palatability and digestibility and tolerance to stressful conditions. *F. arundinacea* is characterized by a deep root system and excellent tolerance to drought. A new type of interspecies crossbreeding in the case of *Lolium x Festuca* allowed to obtain very desirable practical effects that combine high yield of ryegrass and tolerance for stress abiotic fescue.

The aim of this study was comparison the nutritional value of silage ruminants from various *Festulolium* cultivars.

The content of basic nutrients in the samples of silages from Becva, Paulita and Felopa cultivars was determined using standard AOAC methods, whereas NDF, ADF and lignin content were determined using the Van Soest method. In silage samples were also measured pH value . The volatile fatty acid content was determined using gas chromatography. Lactic acid was determined by high-performance liquid chromatography (HPLC). The content of ammonia nitrogen was determined using the Conway method. The WSC was marked with the anthrone method. The gross energy value measurement was made in a calorimeter.

The highest content of dry matter and fat was recorded in silage from the Paulita cultivar. The Becva silage was characterized by the highest content of total protein and sugars among the analyzed silages.

The pH value in all silages was at a similar level and was in the range corresponding to good quality silage (pH 3.9-4.2). The high content of lactic and acetic acid indicates the intensity of fermentation of the *Festulolium* var. Felopa silage. Silage from Felopa from the analyzed silage contained the highest amount of butyric acid and ammonia nitrogen, which proves about the incorrect course of fermentation.

In summary, the type of *Festulolium* used has an impact on the food value of the silage. The Paulita silage is characterized by the highest food value for ruminants due to the high content of dry matter and low crude fiber content. The high content of lactic acid also proves the high quality of this silage.

Keywords: *Festulolium*, silage, nutritional value, ruminant

Wstęp

Trawy i kiszonki z różnych odmian *Festulolium*, są ważnym komponentem dawek paszowych dla przeżuwaczy. Trawy z rodziny wiechlinowatych: życica (*Lolium* L.) i kostrzewa (*Festuca* L.) są ważne agronomicznie w umiarkowanej strefie klimatycznej. Hybryda tych rodzajów traw określana jako „*Festulolium*”, odzwierciedla agronomiczne korzyści roślin rodzicielskich (Malepszy 2000).

Życica, a mianowicie życica wielokwiatowa (*Lolium multiXorum*) i życica trwała (*L. perenne* L.), to dwa najbardziej dominujące gatunki wykorzystywane do produkcji pasz i rozwoju darni. Charakteryzują się wysoką wydajnością, dobrą smakowitością i strawnością, lecz są wrażliwe na stres abiotyczny i biotyczny.

Nowy rodzaj krzyżowania międzyrodzajowego w przypadku *Lolium* x *Festuca*, umożliwił uzyskanie bardzo pożądaných efektów praktycznych (Malepszy 2000), które łączą wysokie plonowanie życicy (*Lolium multiXorum* i *L. perenne*) i tolerancję na stres abiotyczny kostrzewy (*Festuca pratensis*, *F. arundinacea* i *F. arundinacea* var. *glaucescens*) (Kopecky i in. 2006).

Lolium i *Festuca* krzyżują się w środowisku naturalnym, lecz ich hybrydy są nieplodne. Możliwość uzyskania płodnych hybryd w kontrolowanych warunkach, otworzyły drogę do rozmnażania ulepszonych odmian traw i ponad 40 lat temu uzyskano pierwsze odmiany *Festulolium* „Prior” i „Elmet”. Od tego czasu programy hodowlane na całym świecie uzyskały szereg odmian, które odniosły komercyjny sukces. „Becva” i „Lofa” są obecnie uważane za najbardziej stabilne i wysoce produkcyjne odmiany *Festulolium* w Europie i Nowej Zelandii, uzyskując przeciętnie około 10 dt / ha. (Ghesquière i in. 2010)

Festulolium ma szeroki zakres wykorzystania od paszy po produkcję biogazu. Może być uprawiane na terenach mniej korzystnych do uprawy kukurydzy. Wykorzystanie go na terenach podgórskich oraz pochyłych, zapobiega erozji gleby, a jego uprawa na tych obszarach jest możliwa ze względu na jego odporność na niskie temperatury. Hybrydy *Festulolium* mogą być również siane na krótkotrwałe użytki zielone bez koniczyny lub mogą być łączone z innymi gatunkami traw, mieszankami życicy i kostrzewy - w zależności od czasu zbioru. *Festulolium* charakteryzuje się wysoką wydajnością. Potrafi przetrwać lata suche, by w kolejnych, o standardowej sumie opadów, plonować na wysokim poziomie. Analiza próbek trawy wykazuje jej dobrą jakość oraz zdolność do zakiszania (Houdek 2010).

Szczególnym zainteresowaniem hodowców cieszy się hybryda *Festuca pratensis* x *Lolium multiflorum*, z której otrzymano już kilka odmian (np. „Elmel”, „Paulita i „Perun”) (Ghesquière i in. 2010).

W Polsce hybrydę *F.pratensis* x *L. multiflorum* otrzymano po raz pierwszy w 1981 roku w Instytucie Genetyki Roślin w Poznaniu (Zwierzykowski i in. 1994). Na świecie zarejestrowano 60 odmian x *Festulolium*, z których 38 zostało umieszczonych na liście OECD, a 34 Unia Europejska zamieściła we wspólnym katalogu (Rzeźnik i Goliński. 2013).

W 1986 roku w Niemczech wyhodowano amfiploidalną odmianę „Paulitę” w wyniku skrzyżowania *F.pratensis* x *L. multiflorum*. W wyniku podobnego krzyżowania w 1998 roku w Polsce, otrzymano nową odmianę „Felopę”. Zaś w Czechach w 1989 roku skrzyżowano *L.multiflorum* x *F.arundinacea* i w wyniku introgresji, wyhodowano „Becwę”(Yamada in. 2005).

Ze względu na różnorodność krzyżowań wykorzystywanych w hodowli odmian *Festulolium* ,mogą one różnić się między sobą zawartością składem chemicznym zielonek oraz otrzymanych z nich kiszonek.

Material i metody

Celem badania była ocena i porównanie wartości pokarmowej dla przeżuwaczy kiszonek z różnych odmian *Festulolium*.

Kiszonki z *Festulolium* odmian: Paulita, Becva i Felopa oraz kiszonki porównawczej z życicy odmiany Bakus, przygotowano w szczelnych plastikowych beczkach. Z każdej beczki pobrano po 4 próbki. Próbki przechowywano w temperaturze -25°C. Po rozmrożeniu wysuszono je w suszarce w temperaturze 60°C, a następnie zmielono na cząstki wielkości 1mm. Zawartość podstawowych składników pokarmowych w próbkach paszy określono przy użyciu standardowych metod AOAC (2005), natomiast NDF, ADF oraz zawartość ligniny (ADL) oznaczono metodą Van Soesta i in. (1991). Próbki kiszonki badano również pod kątem wartości pH – za pomocą pH-metru CP-411. Zawartości lotnych kwasów tłuszczowych oznaczono z wykorzystaniem chromatografii gazowej przy użyciu chromatografu gazowego Varian 450-GC z użyciem autosamplera Varian CP-8410 oraz detektora płomieniowo-jonizacyjnego (FID). Kwas mlekowy oznaczono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) na chromatografii firmy Shimadzu. Zawartość azotu amoniakalnego określono metodą Conveya z użyciem Kjeltex System 1026 Distilling Unit, natomiast rozpuszczalne w wodzie węglowodany (WSC), oznaczono metodą antronową z wykorzystaniem spektrofotometru EPoll 20. Pomiar wartości energii brutto wykonano w kalorymetrze IKA C2000 firmy IKA Werke GmbH. Dokonano również oceny wartości pokarmowej dla przeżuwaczy według systemu INRA. Wyniki opracowano statystycznie w programie Statistica 13.3.

Tabela 1: Skład chemiczny kiszzonek (g/100g ŚM), energia brutto oraz wartość JPM, BTJE i BTJN.

Wyszczególnienie	Kiszonki:				S.E.M
	<i>Bakus</i>	<i>Paulita</i>	<i>Felopa</i>	<i>Becva</i>	
Sucha masa (g/100g ŚM)	19,37 ^A	18,53 ^a	17,01 ^{Bb}	17,17 ^{Bb}	0,29
Popiół	9,29	8,46 ^b	10,33 ^a	9,57	0,28
Cukry	6,92 ^{Aa}	3,35 ^b	2,04 ^B	7,36 ^{Aa}	0,72
Białko ogólne	13,70 ^{Aa}	11,03 ^B	11,42 ^{BCb}	12,66 ^{ACb}	0,30
Tłuszcz surowy	2,66 ^{Ba}	3,25 ^A	3,03 ^b	3,07 ^b	0,07
Włókno surowe	22,66 ^C	27,34 ^B	29,52 ^A	26,52 ^B	0,65
NDF	45,91 ^{Cb}	53,18 ^B	56,39 ^A	48,45 ^{Ca}	1,10
ADF	29,82 ^C	33,46 ^B	35,84 ^A	31,24 ^C	0,63
ADL	1,58 ^{ab}	1,48 ^b	1,84 ^a	1,39 ^b	0,06
Energia brutto (MJ/kg)	16,71	16,98	17,19	16,65	0,08
JPM	0,97	0,98	0,95	0,94	0,009
BTJN	74	59	61	68	3,42
BTJE	62	60	59	61	0,64

A,B,C - różnice wysoko statystycznie istotne ($p \leq 0,01$); a,b- różnice statystycznie istotne ($p \leq 0,05$)

Źródło: Opracowanie własne;

Wyniki i dyskusja

W tabeli 1 zamieszczono wyniki analizy składu kiszzonek oraz zawartość energii brutto. Wyniki przedstawione w tabeli 1 i 2 wskazują, że badane kiszonki różniły się pod względem analizowanych składników chemicznych oraz produktów fermentacji. Największą zawartością suchej masy charakteryzowała się kiszonka z życicy odmiany Bakus. Wśród kiszzonek z *Festulolium*, najwyższą zawartość odnotowano w kiszonce z odmiany Paulita, która była statystycznie istotnie wyższa ($p \leq 0,05$) od pozostałych dwóch kiszzonek. Według Purwina (2007), zawartość suchej masy powinna wynosić 350-400 g/kg suchej masy w zakiszczonym surowcu pochodzącym z roślinności łąkowej. Różnice statystycznie istotne ($p \leq 0,05$)

odnotowano w zawartości popiołu między kiszonkami z odmiany Paulita i Felopa. Popiół surowy zawiera mikroelementy oraz pożądane minerały tj. wapń, fosfor, magnez czy sód, lecz jego zawartość nie powinna przekraczać 100g/kg SM, gdyż wyższe zawartości wskazywać mogą na zanieczyszczenie kiszonki glebą (Radkowski i Radkowska 2014). Tylko w kiszonce z Felopy zawartość popiołu była niewiele większa niż podana powyżej.

Tabela 2: Charakterystyka fermentacji: zawartość lotnych kwasów tłuszczowych oraz wartość pH i azotu amoniakalnego (g/kg SM)

Wyszczególnienie	Kiszonka				S.E.M
	Bakus	Paulita	Felopa	Becva	
pH	3,88	3,97	4,22	4,27	0,07
N-NH ₃ (g/kg azotu ogólnego)	5,56 ^B	6,64 ^b	8,08 ^{Aa}	7,76 ^C	0,31
Kwas mlekowy	117,96	146,94	76,28	110,36	13,74
Kwas octowy	5,43	5,52	4,32	6,74	0,47
Kwas propionowy	0,02 ^B	0,07 ^B	0,22 ^A	0,04 ^B	0,02
Etanol	15,61 ^A	0,00 ^B	0,00 ^B	0,00 ^B	2,14
Kwas izomasłowy	0,01	0,02	0,21	0,02	0,03
Kwas masłowy	0,36 ^B	3,18	5,42 ^A	3,06	0,67
Kwas izowalerianowy	0,07	0,14	0,08	0,07	0,02
Kwas walerianowy	0,03 ^B	0,03 ^B	0,02 ^B	0,08 ^A	0,01

A,B,C -różnice wysoko statystycznie istotne ($p \leq 0,01$); a,b- różnice statystycznie istotne ($p \leq 0,05$)

Źródło: Opracowanie własne.

Różnice statystycznie istotne wystąpiły w ilości cukrów ($p \leq 0,01$), gdzie kiszonki z Becvy charakteryzowały się najwyższą zawartością, zaś w Felopie najniższą. Według Falkowskiego i in. (2000), zawartość białka w paszach objętościowych z użytków zielonych, powinna kształtować się na poziomie 140-160 g/kg suchej masy. Zawartość białka zbliżoną do średniej cechuje się kiszonka z zycicy, natomiast kiszonki z *Festulolium* zawierają mniej tego składnika. Najniższą zawartość białka oznaczono w kiszonkach z Paulity. Zawartość włókna surowego kształtowała się na poziomie 26,52-29,52 g/100g SM. Według Podkówki i Potkańskiego (1993), kiszonki z traw powinny zawierać od 200 do 250 g/kg SM włókna

surowego. Tylko ilość włókna oznaczonego w kiszonce z życicy mieści się w podanym zakresie.

Wartość JPM była najwyższa dla kiszonki z odmiany Paulita. Była ona niewiele wyższa od wartości dla kiszonki z życicy. Najwyższą wartością BTJN i BTJE charakteryzuje się kiszonka z życicy, co jest związane z wysoką zawartością białka ogólnego. Natomiast wśród kiszonek z *Festulolium*, kiszonka z Becvy cechowała się najwyższymi wartościami białek trawionych jelitowo (BTJE i BTJN).

Podawanie niestabilnej tlenowo kiszonki, powoduje wzrost pH płynu żwaczowego, hamowanie fermentacji w żwaczu, obniżenie ogólnej ilości lotnych kwasów tłuszczowych oraz wzrost zawartości kwasu masłowego i amoniaku. Spada również synteza białka mikrobiologicznego w żwaczu oraz wykorzystanie białka z paszy. Wtórna fermentacja kiszonki pogarsza jej smakowitość oraz obniża pobieranie paszy. Kiszonki złej jakości powodują zmniejszenie ilości pierwotniaków w żwaczu oraz wpływają na zmianę koloru i zapachu płynu żwaczowego (Kukier i in. 2014).

Wartość pH we wszystkich kiszonkach kształtowała się na podobnym poziomie i mieściła w zakresie odpowiadającym kiszonkom dobrej jakości, czyli 3,9-4,2. Natomiast pH w wysokości 5.0 i więcej, świadczy o wysokim poziomie kwasu masłowego. Kwas masłowy obniża jakość kiszonki, a jego zawartość powyżej 10g/kg suchej masy, dyskwalifikuje kiszonkę jako paszę (Nowak i Šařec 2001). W żadnej z prób, zawartość tego kwasu nie przewyższała wartości dyskwalifikującej jej z żywienia zwierząt. Różnice w zawartość kwasu masłowego w kiszonkach z Felopy oraz z życicy różniły się wysoko statystycznie istotnie ($p \leq 0,01$).

Kwas octowy jest dominującym kwasem w zbyt mokrych kiszonkach. Często też pojawia się wtedy amoniak, który jest wskaźnikiem rozkładu białka (Ostrowski i Osieglowski 2001). W badanych próbach proces degradacji białek miał ograniczony przebieg. Kiszonki różniły się również zawartością azotu amoniakalnego, którego największa ilość znajdowała się w kiszonce z odmiany Felopa, zaś najmniejsza w kiszonce z życicy. Wysoka zawartość kwasu mlekowego oraz octowego, świadczyła o intensywności fermentacji kiszonki z *Festulolium* odmiany Paulita. Wszystkie kiszonki były badane na obecność etanolu, ale tylko w kiszonce z życicy stwierdzono występowanie tego alkoholu. Kiszonka z odmiany Felopa cechowała się najmniejszą zawartością kwasu mlekowego i octowego. Rodzaj zakiszane surowca, podsuszenie czy odpowiednie zabezpieczenie przed dostępem tlenu, to tylko nieliczne z wielu czynników, od których zależy jakość kiszonek (Nowak i Šařec, 2001).

Podsumowanie

Podsumowując, zastosowanie nowych odmian roślin w produkcji pasz dla zwierząt, pozwala na produkcję pasz wysokiej jakości oraz obniżenie strat spowodowanych niekorzystnymi warunkami atmosferycznymi. Uzyskane wyniki wskazują, iż wszystkie kiszonki przygotowane z trzech odmian *Festulolium*: Becva, Paulita i Felopa, mogą być wykorzystane w żywieniu przeżuwaczy. Kiszonki z *Festulolium* charakteryzowały się wyższą zawartością wszystkich frakcji węglowodanów strukturalnych oraz niższą zawartością białka ogólnego, w porównaniu z kiszoną z życicy wielokwiatowej. Wartość energetyczna kiszonek wszystkich odmian *Festulolium*, była bardzo wysoka i zbliżona do wartości energetycznej kiszonki z życicy wielokwiatowej. Kiszonki różniły się również zawartością azotu amoniakalnego, którego największa ilość znajdowała się w kiszonce z odmiany Felopa, zaś najmniejsza w kiszonce z życicy. Najwyższą użyteczność paszową wykazano w odniesieniu do *Festulolium* odmiany Paulita oraz życicy wielokwiatowej.

Literatura

- AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis*, 18th edn. Association of Official Analytical Chemists, Washington, D.C.: 69-80.
- Falkowski M., Kukułka I, Kozłowski S. 2000. *Właściwości chemiczne roślin łąkowych*. Wydawnictwo Akademii Rolniczej im. Augusta Cieszkowskiego, Poznań.
- Ghesquiere M., Humphreys M., Zwierzykowski Z. 2010. *Festulolium hybrids: results, limits and prospects. Sustainable use of genetic diversity in forage and turf breeding*. Springer. Dordecht: 495-507.
- Houdek I. 2010. *Forage Production and Quality of Short-term and Premanent Grassland with Festulolium Hybrids*. Forage Conservation: 125-127.
- Kopecky D., Loureiro J., Zwierzykowski Z., Ghesquiere M., Dolezel J. 2006. *Genome constitution and evolution in Lolium x Festuca hybrid cultivars (Festulolium)*. Theoretical and Applied Genetics. 113: 731-742.
- Kukier E., Kwiatek K., Grenda T., Goldsztejn M. 2014. *Mikroflora kiszonek*. Życie Weterynaryjne 89(12): 1031-1036.
- Malepszy S. 2000. *Wpływ biologii na hodowlę roślin*. Kosmos, 49, 3: 421-427.
- Podkówka W., Potkański A. 1993. *Wpływ czynników chemicznych i fizycznych na przydatność pasz do zakiszania*. Postępy Nauk Rolniczych. 40(2): 29-42.
- Nowak J., Šařec P. 2001. *Wybrane czynniki decydujące o jakości kiszonek w belach cylindrycznych*. Postępy Nauk Rolniczych. 5(48): 95-110.
- Ostrowski R. Osieglowski S. 2001 *Produkcja i wartość pokarmowa kiszonek z kukurydzy i z całych roślin zbóż w żywieniu bydła*. Przegląd hodowlany. 8(69): 8-10.

- Purwin C. 2007. *Jakość kiszonek z traw i mieszanek traw z roślinami motylkowatymi produkowanych prasami zwijającymi*. Rozprawy i Monografie. Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie. 127: 1-125.
- Radkowski A., Radkowska I. 2014. *Ocena jakości i wartości pokarmowej kiszonek z runi łąkowej wybranych gospodarstw Polski południowo-wschodniej*. Wiadomości Zootechniczne. 51(2): 32-37.
- Rzeźnik A., Goliński P. 2013. *Osiągnięcia w hodowli mieszańców xFestulolium*. Łąkarstwo w Polsce. 16: 79-98.
- Van Soest P.J., Robertson J.B., Lewis B.A. 1991. *Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relations to animal nutrition*. Journal of Dairy Science. 74(10): 3583-3597.
- Yamada T., Forster J.W., Humphreys M.W., Takamizo T. 2005. *Genetics and molecular breeding in Lolium/Festuca grass species complex*. Grassland Science. 51.2: 89-106.
- Zwierzykowski Z., Jokś W., Naganowska B. 1994. *Potential of tetraploid xFestulolium (Festuca Pratensis x Lolium Multiflorum)*. Breeding Fodder Crops for Marginal Conditions, Dordrecht: 299-300.

Poziom żywienia i wzrostu buhajów wybranych ras mięsnych utrzymywanych w południowo-wschodnim Kazachstanie

The level of feeding and growth of bulls of meat breeds of auliekol, limousine and their hybrids used in the pulpontal zone in the southeast of Kazakhstan

Marzhan A. Taizhanova
Bartosz Miciński

Kazachski Narodowy Rolniczy Uniwersytet w Almaty
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Medycyny Weterynaryjnej

Abstract

Corn silage and green fodder accounted for the largest share of feed during feeding from weaning to 16.5 months. In group I, this was respectively: 35.20% (2063 kg) and 35.19% (1296 kg). However, in group II it was 43.44% (2137 kg) and 27.46% (1351 kg), respectively. However, during the period from 16.5 months to 20.5 months, corn silage, transported grass and concentrates occupied the largest share in the diet. Group II bulls used more feed than those from Group I. Group II bulls had a higher body weight than Group I bulls during weaning at the age of 8 months, reaching 242.6 kg, at the age of 16.5 months = 465.8 kg and at the age of 20.5 months = 582.6 kg ($p \leq 0.05$ and $p \leq 0.01$). The largest difference between experimental groups occurred at the end of fattening ($p \leq 0.01$). The highest daily weight gain was observed in bulls of group II. The largest increase occurred in the period from weaning to 16.5 months. In group II, they amounted to 1310 g ($p \leq 0.01$). Over the entire period of feeding from birth to 20.5 months, daily gains in group I amounted to 770 g, and in group II - 880 g. The absolute value of the coefficient is greatly influenced by the calf's mass at birth. Its value in all age periods was greatest for the bulls of group I. By the end of the experiment, the live weight in group I increased to 19.78 in II 18.09.

Keywords: bulls, limousine, Auliekol, feed, body weight, daily gains

Wstęp

Wartość rzeźną bydła szacuje się na podstawie końcowej masy ubojowej, masy tuszy oraz wydajności rzeźnej (Azarow 1971; Cherkashchenko 1980; Levantin 1980; Dorotjuk 1981). Nie bez znaczenia jest także mleczność matek, karmiących cielęta podczas ich wychowu (Sokolov 1961; Sokolov 1973), a także wiek krów (Arzumanyan i Erofeev 1979). Po odsadzeniu cieląt, duże znaczenie mają czynniki środowiskowe (w największym stopniu żywienia) oraz płęć (w tym kastracja osobników męskich).

Duży wpływ na wzrost poziomu produkcji mięsa wołowego wywierają czyste rasy mięsne, np. Limousine z masą tuszy wynoszącą 265-280 kg i rasy Auliekol z masą tuszy

wynoszącą 245-250 kg), wyhodowane na obszarach intensywnego rolnictwa (Nedava i Makarenko 1981).

Rasa Limousine została wyhodowana we Francji w początkach XIV wieku w krainie naturalnych łąk, piaszczystych równin i lasów, gdzie paprocie i torfowiska rosły obficie, z dużymi różnicami temperatur: od -15°C (zimą) do $+30^{\circ}\text{C}$ (latem). Występują tam częste przymrozki, a pokrywa śnieżna zalega tam przez kilka miesięcy.

Cechy charakterystyczne tej rasy to: dobre zdolności aklimatyzacyjne, doskonałe wykorzystanie pastwisk, wytrzymałość w różnych warunkach klimatycznych Francji i świata. Rasa została oficjalnie uznana w 1850 r. (Dudin 1973; Levantin 1976; Levantin 1989; Dmitriev 1978). Produkcja mleka krów Limousine jest zadowalająca i w laktacji może dochodzić nawet do 4000 kg mleka o zawartości tłuszczu 5,21% (Levantin i Smirnov 1971; Leushin i in. 1977). Krowy rasy Limousine są uważane za bardzo płodne. We Francji udział krów cielnych w stadach wynosi 95%. U młodych krów (trzyletnich) wskaźnik ten jest bliski 100%. Stąd w większości, średni okres międzywycieleniowy jest krótszy niż 380 dni. Rzadkością u tej rasy są ciężkie porody (ok. 2%), a martwe urodzenia wynoszą 3%. Dobrze ukształtowany kanał rodny sprzyja prawidłowym porodom. W przeważającej większości przypadków, cielęta rodzą się bez pomocy. Krowy są użytkowane przeciętnie przez 9 lat (Dmitriev 1978; Dmitriev 1979; Dmitriev 1981; Testova 1982; Gaiko 1983).

Przeciętna masa ciała krów we Francji wynosi 610 kg, natomiast byki ważą 1100 kg. Buhajki, w okresie odsadzenia, osiągają masę ciała wynoszącą 270-290 kg, a cieliczki 230-260 kg. Zazwyczaj opas trwa tam do wieku 18 miesięcy. Wówczas uzyskują one średnią masę ciała wynoszącą 460 kg (byki) i 377 kg (jałówki). Rasa Limousine jest wcześniej dojrzewającą. Już młode zwierzęta produkują dużą ilość doskonałej jakości mięsa (Dmitriev 1978), można także przeznaczyć je do opasania intensywnego. Wówczas, w wieku 10 miesięcy, osiągają masę ciała wynoszącą 400 kg, a w wieku 12 miesięcy osiągają od 470 do 500 kg. Można także w oparciu o tę rasę, produkować doskonałej jakości cielęcinę (ok. 100 kg) oraz młode bydło rzeźne (450 kg).

Rasa Auliekolska została wytworzona w warunkach stepowych i półpustynnych Kazachstanu oraz południowo-wschodnich regionów Federacji Rosyjskiej. Materiałem wyjściowym były byki Hereford, które służyły do krzyżowania z miejscowym bydłem stepowym kazachskim i kałmuckim. Uznano ją i zatwierdzono w 1950 r. (Galyakberov i in. 1952; Akopyan 1956; Dudin 1965; Cherekayev i Cherekayev 1973; Prakhov 1975). Obecnie rasa Auliekolska jest najliczniejszą i najszerzej rozpowszechnioną rasą mięsną w Kazachstanie.

Liczba tych zwierząt wynosi 1,5 mln sztuk, w tym ok. 1,28 mln szt. jest użytkowanych w Kazachstanie. Zwierzęta te charakteryzują się następującymi wskaźnikami przyżyciowymi: masa ciała krów wynosi od 510 do 530 kg, byków od 850 do 900 kg, młodzież w wieku 1,5 lat (450 kg), w wieku 2 lat (500 kg), wydajność rzeźna ubijanych zwierząt tej rasy wynosi 60% (Lanina 1973). W dobrych warunkach żywieniowych, młode zwierzęta tej rasy, charakteryzują się dobrym tempem wzrostu. Masa ciała jednorocznych buhajków osiąga 350-360 kg, w wieku 15 miesięcy wynosi 430-450 kg. W wieku 18 miesięcy, przy intensywnym żywieniu, byki przed ubojem osiągają masę ciała wynoszącą 500-550 kg.

Mięso charakteryzuje się pożądanym stosunkiem białka do tłuszczu wynoszącym 0,81:1,0. Byki rasy Auliekolskiej są szeroko stosowane w krzyżowaniu towarowym z krowami ras mlecznych zagranicznych oraz rodzimych (Bekbemeyutov 1979; Nasyrov i in. Akkulov 1979; Munkoev i Kostrova 1974; Cherkashchenko i Rudenko 1978). Krzyżując krowy rasy Auliekolskiej z bykami niektórych ras mięsnych, tj. Charolaise, Limousine, Santa-Gertruda i innych, wykorzystując efekt heterozji, można uzyskać większą masę ciała potomstwa, wyższą masę tusz, wyższy udział mięsa w tuszy oraz lepszą jakość mięsa (Cherkashchenko i Rudenko 1978; Kosilov 1982; Drinko 1984).

Cel pracy

Celem badania było wykazanie poziomu żywienia i wzrostu buhajów wybranych ras mięsnych, tj. Auliekolska i mieszańców F₁, powstałych w wyniku krzyżowania rasy Auliekolskiej z Limousine i utrzymywanych w strefie podgórskiej w południowo-wschodniej części Kazachstanu.

Material i metody

Badania przeprowadzono na 2 grupach zwierząt. Pierwsza grupa składała się z byków rasy Auliekolskiej, natomiast druga grupa składała się z mieszańców F₁, tj. Auliekolska x Limousine. Do krzyżowania użyto krowy Auliekolskiej i buhaja rasy Limousine. Buhaje rasy Limousine, były potomkami bydła francuskiego, sprowadzonego na fermę w 2012 r. w liczbie 89 sztuk z Irlandii. Najpierw sprowadzono 35 byków w wieku 20 - 22 miesięcy, o średniej masie ciała 580 - 650 kg, a następnie 54 sztuki w wieku 3 - 5 lat, o masie ciała 750 - 800 kg.

W ostatnich latach w gospodarstwie wprowadzono system „krowa-cielę”, celem przygotowania jak najlepszego materiału opasowego, przeznaczonego do uzyskiwania wysokiej masy końcowej. W tym systemie prowadzona jest kontrola wychowu cieląt w postaci

badania tempa przyrostów, ich wzrostu, zużycia paszy, co w efekcie prowadzi do pozyskiwania wołowiny jak najlepszej jakości.

W badaniach, ocenie poddano rzeczywiste spożycie paszy przez byki dwóch grup badawczych w 3 okresach karmienia, tj. od urodzenia do odsadzenia (8 miesięcy), od 8 miesięcy do 16,5 miesiąca i od 16,5 miesiąca do 20,5 miesiąca. Ocenie poddano masę ciała byków po urodzeniu, a następnie w wieku 3, 6, 8, 9, 10, 12, 15, 16,5, 18 i 20,5 miesięcy. Przyrosty dobowe buhajów podano w okresach od urodzenia do odsadzenia, od odsadzenia do 16,5 miesiąca, od 16,5 miesiąca do 20,5 miesiąca oraz od urodzenia do 20,5 miesiąca. Końcowym etapem badań było obliczenie współczynnika wzrostu masy ciała buhajów.

Uzyskane dane poddano analizie statystycznej w programie Statistica ver. 10. Obliczono średnie najmniejszych kwadratów (LSM) i odchylenie standardowe (Sd). Istotność różnic określano za pomocą kryterium Fishera dla liczenia w małych grupach, a wyniki przedstawiono w tabelach.

Wyniki badań

W okresie zimowym po wycieleniu, krowy wraz z cielętami trzymano w systemie wolnego utrzymania na głębokiej ściółce. Otrzymywały wówczas dawkę pokarmową o następującym składzie: siano z trawy sudańskiej i z lucerny (28% pasz), kiszunka z kukurydzy i sianokiszunka (56% pasz) i pasza treściwa (16%). Wartość odżywcza diety wynosiła 7,5-8,4 jednostek paszowych, a 1 jednostka paszowa zawierała 96-100 g białka ogólnego strawnego. Latem, krowy z cielętami przebywały na pastwisku bez dodatkowego karmienia paszami treściwymi. Wypas prowadzony był przez całą dobę z dostępem wody.

Po odsadzeniu w wieku 8 miesięcy, byki umieszczono w oborze podzielonej na 2 zagrody (w każdej zagrodzie po 100 sztuk), co umożliwiło jednakowe warunki środowiskowe związane z cyklem technologicznym przy karmieniu i utrzymaniu podczas eksperymentu. Karmienie odbywało się na stole paszowym z wydzielaniem 0,3 metra na sztukę. Do pojenia służyły autopojemniki AGK-4 z podgrzewaniem elektrycznym w zimie. Rozdawanie paszy przeprowadzano poprzez dozowniki pasz KTU-10 i KTU-3A. Zagrody były wyposażone w osłony przeciwwiatrowe.

Siano i kiszunkę podawano 3 lub 5 razy dziennie w formie wymieszanej. Wartość odżywcza diety, we wszystkich okresach wiekowych, była zgodna ze standardami VIZH (ВИЖ). Cała pasza była mieszana w wozie paszowym, tj. siano, kiszunki, pasze treściwe,

koncentraty, dodatki mineralne oraz dodatki białkowe i witaminowe, które podawano w ilości 0,3-0,5 kg/zwierzę/dzień.

Średnie zużycie paszy na sztukę w grupach badawczych podano w tabeli 1. W pierwszym miesiącu od urodzeniu, cielęta wypijały od 6,5 do 9,4 kg mleka dziennie, a jesienią zaobserwowano mniejsze spożycie mleka od 5,3 do 7,2 kg. W ciągu ostatnich dwóch miesięcy, cielęta wypijały od 2,8 do 4,1 kg mleka dziennie. Ogólne spożycie mleka przez cielęta grupy I wynosiło 1307 kg, a przez cielęta z grupy II 1386 kg (Tab. 1).

Tabela 1. Średnie zużycie paszy w różnych okresach badawczych byków (na sztukę)

Pasze	Miar y	Okresy karmienia byków w grupach badawczych					
		do 8. miesiąca		od 8 do 16,5 miesięcy		od 16,5 do 20,5 miesięcy	
		I	II	I	II	I	II
Mleko	kg	1307	1386	-	-	-	-
	%	53,64	52,51				
Sianokiszzonka	kg	195	205	576	593	219	231
	%	7,93	7,76	12,06	12,05	6,58	6,57
Kiszzonka z kukurydzy	kg	-	-	2063	2137	1742	1892
	%			35,20	43,44	52,39	53,85
Granulaty	kg	-	-	122	122	194	194
	%			2,56	2,48	5,83	5,52
Trawa dowożona	kg	-	-	1296	1351	560	586
	%			35,19	27,46	16,84	16,68
Trawa pastwiskowa	kg	883	979	-	-	-	-
	%	35,95	37,06				
Pasze treściwe	kg	47	47	691	691	587	587
	%	1,91	1,77	14,47	14,04	17,65	16,70
Witaminy BWMD „BBMД”	kg	24	24	25	25	23	23
	%	0,97	0,90	0,52	0,53	0,71	0,68
Razem jednostek paszowych	kg	793	799	1814	1856	1237	1276
Białko ogólne strawne	kg	77	78	186	190	135	138
Na 1 jedn. pok. białka ogólnego strawnego	g	101	101	105	105	109	108

Źródło: Opracowanie własne.

Okres wypasu zwierząt doświadczalnych trwał od 19 maja do 10 września. Wydajność pastwiska na początku okresu wynosiła 4-8 kwintali/ha. Trawa sudańska dostarczała organizmowi buhajów niezbędnych składników odżywczych w ilości pokrywającej zapotrzebowanie. Byki potrafiły bardzo dobrze wykorzystać pastwiska, o czym świadczy wielkość uzyskiwanych mas ciała i przyrostów dobowych.

Kiszonka z kukurydzy i dowożona zielonka, stanowiły największy udział paszy podczas karmienia od odsadzenia do 16,5 miesiąca. W grupie I wynosił on odpowiednio: 35,20% (2063 kg) i 35,19% (1296 kg). W grupie II było to odpowiednio: 43,44% (2137 kg) i 27,46% (1351 kg). Natomiast w okresie od 16,5 miesiąca do 20,5 miesiąca, kiszonka z kukurydzy, dowożona zielonka i koncentraty, miały największy udział w diecie. Ogółem, byki z grupy II pobrały więcej paszy, niż zwierzęta w grupie I.

Przy urodzeniu byki mieszańce (grupa II) były nieco cięższe niż ich rówieśnicy rasy Auliekolskiej (tab. 2). Dla tych byków, średnia masa ciała dla grup wynosiła 32,2 kg, a u pozostałych z grupy I wynosiła 25,8 kg, czyli o 6,4 kg więcej. Można zauważyć, że na masę ciała cieląt mógł mieć wpływ buhaj-ojciec. Nie zaobserwowano jednak trudnych porodów w żadnej z badanych grup cieląt.

Tabela 2. Masa ciała badanych buhajów w poszczególnych grupach i okresach badawczych [kg] ($\bar{x} \pm \text{sd}$)

Wyszczególnienie	Grupy badawcze buhajów	
	I	II
Przy urodzeniu	25,8 ^b ± 0,35	32,2 ^a ± 1,05
3 miesiące	106,5 ^b ± 2,42	114,3 ^a ± 4,39
6 miesięcy	180,4 ^b ± 6,66	205,6 ^a ± 8,07
8 miesięcy	217,2^b ± 6,52	242,6^a ± 9,46
9 miesięcy	236,6 ^b ± 6,97	265,7 ^a ± 8,17
10 miesięcy	254,2 ^B ± 7,16	287,1 ^A ± 10,21
12 miesięcy	299,1 ^B ± 8,16	333,4 ^A ± 11,58
15 miesięcy	384,1 ^B ± 9,34	421,9 ^A ± 14,00
16,5 miesięcy	420,2^B ± 9,51	465,8^A ± 13,42
18 miesięcy	458,6 ^B ± 9,32	512,3 ^A ± 14,18
20,5 miesiąca	510,3^B ± 8,88	582,6^A ± 14,69

Istotne różnice statystyczne przy: $p \leq 0,01$ - A; $p \leq 0,05$ - a
Źródło: Opracowanie własne.

W badaniach wykazano, że w tych samych warunkach żywieniowych wystąpiła przewaga mieszańców nad czystorasowymi buhajami rasy Auliekolskiej w masie ciała we wszystkich okresach ich żywienia. Potwierdziły to różnice statystycznie istotne przy $p \leq 0,05$ (w wieku 8 miesięcy) i przy $p \leq 0,01$ (w wieku 16,5 i 20,5 miesięcy). Byki z grupy II miały wyższą masę ciała, niż byki z grupy I w okresie odsadzenia (8 miesięcy), osiągając 242,6 kg, w wieku 16,5 miesiąca ich masa ciała wynosiła 465,8 kg, a w wieku 20,5 miesiąca wynosiła 582,6 kg ($p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$). Największa różnica między badanymi grupami wystąpiła na końcu okresu tuczu ($p \leq 0,01$). Wynosiła ona wówczas 72,3 kg. Wskazuje to na wysoki potencjał wzrostu młodych buhajów mieszańców.

Uzyskane masy ciała potwierdzają przyrosty dobowe buhajów, które podano w tabeli 3. Największy przyrost dobowy zaobserwowano u byków z grupy II. Nastąpił on w okresie od odsadzenia do 16,5 miesiąca życia. W grupie II wynosił on 1310 g, a w grupie I–1140 g. Różnice statystyczne wystąpiły przy $p \leq 0,01$. W całym okresie żywienia od urodzenia do 20,5 miesiąca życia, dobowe przyrosty w grupie I wynosiły 770 g, a w grupie II, 880 g (tab. 3).

Tabela 3. Przyrosty dobowe masy ciała badanych buhajów, g ($x \pm sd$)

Wyszczególnienie	Grupy badawcze buhajów	
	I	II
Od urodzenia do odsadzenia	780 ^b ± 10,23	860 ^a ± 9,33
Od odsadzenia do 16,5 miesiąca	1140 ^B ± 11,07	1310 ^A ± 12,56
Od 16,5 miesiąca do 20,5 miesiąca	730 ^B ± 8,14	950 ^A ± 9,88
Od urodzenia do 20,5 miesiąca	770 ^b ± 10,45	880 ^a ± 11,10

Istotne różnice statystyczne przy: $p \leq 0,01$ - A; $p \leq 0,05$ - a

Źródło: Opracowanie własne.

Na bezwzględną wartość współczynnika wzrostu masy ciała buhajków, duży wpływ mogła mieć masa cielęcia w chwili urodzenia. Wartość współczynnika we wszystkich okresach wiekowych, była najwyższa dla buhajów z grupy I. Pod koniec eksperymentu jego wartość w grupie I wzrosła do 19,8, a w grupie II do 18,1. Może to wynikać z niższej masy ciała cieląt rasy Auliekolskiej przy porodzie i stosunkowo wysokiego poziomu masy ciała w późniejszym wieku. U buhajków mieszańców wskaźnik ten wyglądał bardziej stabilnie (Tab. 4).

Tabela 4. Koficjent wzrostu masy ciała buhajków ($x \pm sd$)

Grupy badawcze	Okresy wzrostu (miesiące)						
	3	6	8	12	15	18	20,5
I	4,12 ± 0,13	6,99 ± 0,16	9,17 ± 0,18	11,59 ^a ± 0,67	14,89 ^a ± 1,13	17,78 ^a ± 0,97	19,78 ^a ± 1,33
II	3,55 ± 0,24	6,38 ± 0,22	8,25 ± 1,11	10,35 ^b ± 0,45	13,10 ^b ± 1,02	15,91 ^b ± 0,49	18,09 ^b ± 1,21

Istotne różnice statystyczne przy: $p \leq 0,05$ - a

Źródło: Opracowanie własne.

Dyskusja

Praca stanowi część badań dotyczących wykorzystania rasy Auliekolskiej i Limousine w warunkach podgórszych i górskich (farma Ali, dzielnica Kordai, region Dzhambul) do pozyskania zwierząt mięsnych (cielęta) o masie ciała od 240 do 270 kg w okresie odsadzenia (7-8 miesięcy) i o wadze 530 kg w wieku 18 miesięcy, przy masie tuszy po uboju w tym wieku wynoszącej 270-300 kg tuszy.

Jedną z charakterystycznych cech, zarówno rasy Auliekolskiej, jak i Limousine, jest wysoka zdolność przystosowawcza do żywienia na naturalnych pastwiskach. Świadczą o tym prace Akopyana (1952), Czerekajewa (1975) i innych badaczy. Przegląd literatury na temat rasy Auliekolskiej, wskazuje na duże walory przystosowawcze do pastwisk Kazachstanu i żywienia półintensywnego oraz ekstensywnego. Jednak krowy tej rasy, mogą też dobrze się sprawdzić także w przypadku żywienia intensywnego, ze względu na jej dużą różnorodność przystosowawczą. Jest to wynikiem dobrze ukierunkowanej selekcji kazachskiego bydła, które uwzględniało te umiejętności przystosowawcze oraz zdolności do umiarkowanego otluszczania, jako materiału zapasowego, wykorzystywanego w okresie niskich temperatur zimą i w okresie suszy latem. Ponadto bydło to charakteryzuje się dobrym zdrowiem, wytrzymałością oraz silnymi nogami, dzięki czemu łatwo pokonuje duże odległości.

W badaniach Kazhimuratova (1979) bukaty rasy kazachskiej białogłowej, użytkowanej na naturalnych pastwiskach Kazachstanu (w okresie wypasu trwającym 132 dni), a następnie żywionych w oborze, uzyskują masę ciała wynoszącą 465 kg w wieku 20 miesięcy, a wydajność rzeźna tych zwierząt wynosi 58,7%. W swoich badaniach Żytiński (1982) stwierdził, że byki mieszańce, uzyskane z krzyżowania krów rasy Simmental z bykami rasy Auliekolskiej, w ciągu 18 miesięcy, uzyskały wyższe masy ciała od swoich rówieśników ras czystorasowych użytych do krzyżowania. Bai (1982) podkreśla, że poprawa rasy Auliekolskiej, powinna być ukierunkowana na pozyskiwanie żywotnych i dobrze wyrosniętych cieląt, które mogą intensywnie rosnąć w warunkach półintensywnego żywienia z pełnym wykorzystaniem wypasu na pastwiskach i użyciu pasz pochodzących z własnych upraw (zboża, kukurydza), w celu obniżenia kosztów paszy treściwej.

Podsumowanie i wnioski

Kiszonka z kukurydzy i zielonka dowożona, stanowiły największy udział paszy podczas żywienia buhajków od odsadzenia do 16,5 miesiąca życia. W grupie I było to odpowiednio: 35,20% (2063 kg) i 35,19% (1296 kg). W grupie II było to odpowiednio 43,44% (2137 kg) i 27,46% (1351 kg).

W okresie od 16,5 miesiąca do 20,5 miesiąca życia, kiszonka z kukurydzy, transportowana trawa i koncentraty, zajmowały największy udział w diecie. Byki grupy II zużywały więcej paszy niż z grupy I.

Byki z grupy II charakteryzowały się wyższą masą ciała niż byki z grupy I w okresie odsadzenia (8 miesięcy), osiągając 242,6 kg, w wieku 16,5 miesiąca osiągnęły 465,8 kg,

a w wieku 20,5 miesiąca osiągnęły 582,6 kg ($p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$). Największa różnica między badanymi grupami wystąpiła na końcu okresu odchowu ($p \leq 0,01$).

Największy dobowy przyrost zaobserwowano u byków z grupy II. Natomiast największy przyrost wystąpił w okresie od odsadzenia do 16,5 miesiąca życia. W grupie II przyrost dobowy wynosił 1310 g ($p \leq 0,01$), a w grupie I wynosił 1140 g.

Przez cały okres żywienia, od urodzenia do 20,5 miesiąca życia, przyrosty dobowe wynosiły 770 g w grupie I i 880 g w grupie II.

Wartość współczynnika masy ciała we wszystkich okresach wiekowych była najwyższa u buhajów z grupy I. Pod koniec eksperymentu, wartość ta w grupie I wzrosła do 19,8, a w grupie II do 18,1.

Literatura

- Arzumanyan E. A., Erofeeva A. B. 1979. *The influence of the age of cows on the quality of offspring*. Ural Niva. 2: 8-10.
- Bay V. B. 1982. *The use of modern breeding methods in improving the livestock of the Kazakh white-headed breed and the system of breeding work in commodity farms. (Kazakh SSR). Organization of breeding work in beef cattle breeding*. Alma-Ata: 47-81.
- Bekbembetov S. 1979. *Meat productivity of crossbred gobies, obtained from industrial crossing of Auliekol cows with gobies of Kazakh white-headed, Aberdeen-Angus and Kyan breeds in the conditions of the south of Kazakhstan*: Abstract – Dubrovnik: 23.
- Cherekaev A.V. 1975. *Technology of specialized meat cattle breeding*. M. Kolos: 288.
- Cherkashchenko I. I., Rudenko N. P. 1978. *Interbreeding of cattle*. Rosselkhozizdat: 364.
- Cherkashchenko, I. I., Delyan, A. 1980. *Fattening black-and-white gobies in a closed room and on a semi-open site*. Livestock. 1: 34-35.
- Dmitriev N. G. 1978. *Breed by country*. L. Kolos: 351.
- Drinko V. M. 1984. *Comparative evaluation of the effectiveness of industrial crossing of meat breeds in the conditions of the technology of beef cattle breeding*: Abstract – Dubrovnik: 16.
- Dudin S. Ya. 1973. *Meat cattle breeding. Kaynar*. Alma-Ata: 201.
- Gaiko A. A., Shlyakhtunov V. I., Plyaschenko A. I. 1976. *Changes in meat of young cattle, depending on sex and breed*. Livestock. 1: 73-74.
- International Salon of Agriculture. 1978. *Limousin breed*. Paris, 1978 (translation): 18.
- Kazhimuratov M. 1979. *Zootechnical substantiation of the optimal pre-slaughter condition of the neuter of the Kazakh white-headed breed*: Abstract – Dubrovnik: 25.
- Kosilov, V. I. 1982. *Efficiency of growing and fattening gobies of the red steppe, Kazakh white-headed breeds and their hybrids with kyan on the feeding platform*: Abstract – Zhodino: 22.
- Lanina A.V. 1973. *Meat cattle breeding*. M. Kolos: 280.

- Levantin D. L. 1962. *The growth of the backbone and muscles and changes in the ratio of tissues in the carcass of cattle with age. In the book: Biological wasps improve the meat qualities of animals.* Kiev: 27-35.
- Levantin D. L. 1968. *The method of studying the fattening and meat qualities of cattle.* Dubrovitsy: 20-40.
- Levantin D. L. 1976. *Breed Limousin. In the book: Imported cattle in the USSR.* M. Ear: 63-82.
- Munkoev K. T., Kostrova E. B. 1974. *Meat qualities of young stock of simmentalized livestock and its hybrid with a Kazakh white-headed breed at the age of 21 months. Biological wasps improve the meat qualities of animals.* East Siberia. Irkutsk: 35-39.
- Nasyrov U., Ankulov U. 1979. *Meat productivity of two and three breed hybrids of local cattle with Kazakh and white-headed and Schwyck breeds. In the book: Breeding, technology content of animals, poultry and livestock production.* TR.Uz.NIIZH. 32: 66-69.
- Nedava V. Ye., Makarenko I. 1981. *Meat productivity of the bulls of the Chernigos Dnieper type. Dairy and beef cattle.* 1: 17-18.
- Prakhov, L. P., Chernov, A. A., Danilova, T. A. 1961. *Characteristics of bulls of meat breed producers, estimated by the quality of their offspring.* M. Kolos. 1: 4-15.
- Sokolov V. A. 1973. *The effect of milk production of cows on the growth and development of offspring.* Bulletin science of Kazakhstan. 8: 22-25.
- Testova, A. N. 1982. *Evaluation of bulls of limousine breed by their own productivity and producers by the quality of offspring.* Bulletin of scientific works VNIIZH. 67: 40-42.
- Zhitinsky V. A. 1982. *Increasing the meat productivity of young Kazakh white-headed, Simmental breeds through industrial crossing and intensive cultivation: Abstract – Dubrovnik: 22.*

Długość użytkowania i produktywność krów czarno-białych oraz holsztyńsko-fryzyjskich hodowanych na północy Kazachstanu

Length of use and productivity of black and white and holstein-friesian cows used in northern Kazakhstan

Gulzhan Mussayeva
Bartosz Miciński

Kostanajski Rolniczy Uniwersytet im. Baitursynova
Wydział Weterynarii i Technologii Produkcji Zwierzęcej
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie,
Wydział Medycyny Weterynaryjnej

Abstract

The information base of the study was compiled by data from three farms of the Kostanay region – „Viktorovskoye” and „Zaria” (black-and-white breed) and „Bek+” (Holstein breed). The aim of the study was to analyze the duration of use and productivity of black-and-white and Holstein-Friesian cows raised in northern Kazakhstan. The longest period of use occurred in cows from the farm of "Viktorovskoye" (this is up to 10 lactations). The cows from the farm of “Bek+” are used most briefly - up to 4-5 lactations. The highest milk yield was reached in Holstein-Friesian cows used in the farm of “Bek+”. The productivity of these cows ranged from 12990 kg (2nd lactation) to 9530 kg (4th lactation). The significantly lowest milk yield was obtained from black-and-white cows from the “Zaria” farm (from 2681 kg to 3477 kg). The highest yield of fat and protein was achieved in Holstein-Friesian cows used on the farm of “Bek+”. The significantly lowest yield of fat and protein was obtained from black-and-white cows from the “Zaria” farm. The fat content was highest in black-and-white cows and lowest in the Holstein-Friesian cows. The protein content was slightly different between the cows from the analyzed farms ($p \leq 0.05$).

Keywords: cows, holstein-friesian, fat, protein, milk, length of use, lactation

Wstęp

Produkcja zwierzęca w Kazachstanie. zajmuje 43% całości produkcji pozyskiwanej z gospodarstw rolnych i stanowi główne źródło zatrudnienia, produkcji żywności i dochodów ludności wiejskiej. Rozwój tej gałęzi produkcji, jest jednym z głównych strategicznych celów gospodarczych Republiki Kazachstanu (Wachoniewa 2010). Wiodącą gałęzią w przemyśle rolno-spożywczym Republiki, która stanowi około 20% ilości żywności produkowanej w Kazachstanie, zawsze był i jest przemysł mleczarski. Obecnie, jednym z elementów szybkiego rozwoju hodowli bydła mlecznego na świecie i w Republice Kazachstanu, jest poprawa wartości hodowlanej zwierząt poprzez uelastycznienie programów hodowlanych w odniesieniu do zmieniających się potrzeb rynkowych, co w dużej mierze determinuje wymagany poziom opłacalności produkcji mleka. Główną rolę w tym procesie odgrywa

optymalizacja programów hodowlanych, dotyczących postępu hodowlanego bydła mlecznego oraz opracowanie najbardziej obiektywnych kryteriów oceny wartości hodowlanej byków i krów (Dedov i Sivkin 2004).

W krajach rozwiniętych, prowadzących hodowlę bydła mlecznego na wysokim poziomie zwiększa się liczbę wskaźników selekcyjnych w indeksach selekcyjnych wprowadzonych do programów hodowlanych. Ostatnio główny nacisk położono na następujące cechy funkcjonalne: pokrój, zdrowotność (wymienia, kończyn), reprodukcję (rozmród) oraz długość użytkowania (tzw. długowieczność krów). W indeksie selekcyjnym zmniejsza się udział wagi cech związanych ze wzrostem wydajności mleka, gdyż obecnie jest ona na wysokim poziomie (Annenkova i in. 2009; Roche 2009). Przeniesienie wagi poszczególnych wskaźników w indeksach hodowlanych wynika z faktu, że długoterminowa, intensywna i jednokierunkowa selekcja w celu zwiększenia wydajności mleka doprowadziła do znacznego obniżenia cech funkcjonalnych krów, w tym także odporności zwierząt. Spowodowało to pojawienie się różnych chorób, w tym patogennych i metabolicznych, zwiększenie brakowania krów i obniżenie wskaźnika opłacalności produkcji mleka (Vakhoneva 2010; Sudarev i in. 2009).

Celem pracy była analiza długości użytkowania i produktywności krów czarno-białych i holsztyńsko-fryzyjskich utrzymywanych w różnych gospodarstwach północnego Kazachstanu.

Material i metodyka

Bazę badawczą stanowiły trzy gospodarstwa regionu Kostanay – TOO „Wiktorowskoje”, AO „Zaria” (krowy czarno-białe) oraz TOO „Bek” (krowy holsztyńsko-fryzyjskie). Materiałem badawczym było łącznie 900 krów użytkowanych w tych trzech gospodarstwach. W okresie badawczym, wszystkie krowy utrzymywano w podobnych warunkach środowiskowych, w tym także żywieniowych. Dawki żywieniowe dla krów mlecznych przygotowywano zgodnie ze szczegółowymi normami żywienia zwierząt gospodarskich, uwzględniając ich zapotrzebowanie bytowe i produkcyjne. Każda nowa partia pasz wyprodukowanych w gospodarstwie i wchodzących w skład dawek pokarmowych, została przeanalizowana pod kątem wartości pokarmowej na podstawie jej składu chemicznego.

Dane dotyczące długości użytkowania, pochodzenia oraz wieku krów pozyskano z dokumentacji zootechnicznej gospodarstwa, natomiast dane dotyczące wydajności mleka i składników krów mlecznych, pozyskano z dokumentacji oceny wartości użytkowej krów prowadzonej przez IAS oraz z komputerowego programu zarządzania stadem mlecznym systemu „Dairy Plan” firmy Westfalia. Ocenę użytkowości mlecznej krów prowadzono na

podstawie próbnego udoju, przeprowadzanego raz w miesiącu (gospodarstwa TOO „Wiktorowskoje” i OA „Zaria”) oraz dodatkowo codziennie z aparatów udojowych w gospodarstwie TOO „Bek” (Dairy Plan). Pobieranie próbek mleka i przygotowanie ich do analizy przeprowadzano zgodnie z normą GOST 13928-84 „Mleko surowe i śmietana - metody pobierania próbek do analizy”.

Długość użytkowania krów była określona przez liczbę laktacji. W badaniach uwzględniono wszystkie laktacje krów, przypisując je do laktacji: 1, 2, 3, 4 i 5 oraz kolejnych. Podano także wydajność mleka (w laktacjach 305-dniowych i rzeczywistych - pełnych) oraz tłuszczu i białka. Analizę zawartości tłuszczu i białka przeprowadzono w laboratorium KSU na aparacie Milkoscan.

Zebrany materiał zapisano w bazie programu Microsoft Excel i poddano obliczeniom w jednoczynnikowej analizie wariancji wykorzystując program komputerowy Statistica v10. Wyliczono wartości średnie badanych cech oraz odchylenia standardowego (sd).

Wyniki

Branża rolnicza oczekuje zwiększenia tempa intensyfikacji hodowli zwierząt, stworzenia w krótkim czasie stad, które spełniają wymagania nowoczesnej technologii produkcji. W związku z tym, rola chowu i hodowli, znacznie wzrosła i pojawiła się obiektywna potrzeba podsumowania doświadczeń związanych z hodowlą przy wykorzystaniu potencjału wysoko produktywnych zwierząt. Krowy wysokowydajne, produkujące średnio od 10 do 12 tys. kg mleka za laktację, są już wymiernym osiągnięciem prowadzonych prac hodowlanych.

Tabela 1. Liczba badanych krów w kolejnych laktacjach

Gospodarstwa	Miary	N	Laktacje krów								Średni wzrost
			1		2	3	4-5	6-7	8-9	10 i dalsze	
			razem	laktacje trwaj.							
AO „Zaria” (rasa czarno-biała)	(szt.)	260	141	18	62	19	31	7	-	-	1,96
	(%)	100	54,2	6,9	23,8	7,3	11,9	2,8			x
TOO „Wiktorowskie” (rasa czarno-biała)	(szt.)	1014	557	211	201	92	125	19	19	1	2,06
	(%)	100	54,9	20,8	19,8	9,1	12,3	1,9	1,9	0,1	x
TOO „Bek+” (rasa h-f)	(szt.)	922	346	270	244	225	107	-	-	-	2,15
	(%)	100	37,6	29,3	26,4	24,4	11,6	-			x

Źródło: Opracowanie własne.

Analizując liczebność krów (tab. 1), można zauważyć, że największy udział stanowiły krowy w 1 laktacji (54,2% w gospodarstwie „Zaria”, 54,9% w gospodarstwie „Wiktorowskoje” oraz 37,6% w „Bek+”). W okresie od 2 do 5 laktacji, największy udział (62,4%) stanowiły krowy rasy holsztyńsko-fryzyjskiej, użytkowane w gospodarstwie „Bek+”. Jednak do 5 laktacji

wszystkie krowy zostały wybrakowane. Udział krów od 2 do 5 laktacji w gospodarstwie „Zaria”, wynosił 43%, a w gospodarstwie „Wiktorowskoje” wynosił 41,2%. W dalszych laktacjach, tj. od 6 do 10 laktacji, były użytkowane krowy jedynie czarno-białe. Ich udział w gospodarstwie „Wiktorowskoje” stanowił 3,9%, a w gospodarstwie „Zaria” wynosił 2,8%.

W Kazachstanie, a także w wielu innych krajach, w których rozwinęła się hodowla bydła mlecznego, systematycznie prowadzone są prace nad wykorzystaniem najcenniejszych krów hodowlanych pod względem ich wydajności a także długości użytkowania. Mogą to być krowy o rekordowej wydajności mlecznej o dobrym pochodzeniu. Krowy te są wykorzystywane jako matki buhajów hodowlanych. Dlatego jest całkiem naturalne, że nadal występuje duże zainteresowanie zwierzętami o wybitnej produktywności mleka.

Analizując dane zawarte w tabeli 2, można zauważyć, że w gospodarstwie „Wiktorowskoje” wydajność mleka krów w 1 laktacji pełnej wynosiła 4928 kg, w 2 laktacji 5190 kg, w 3 laktacji 5358 kg, w 4 laktacji 5338 kg i w 5 oraz kolejnych wynosiła 5393 kg. Wydajność krów uzyskana w laktacjach pełnych była wyższa, aniżeli w laktacjach 305-dniowych. Różnice te wynosiły: w 1 laktacji = 65 kg, w 2 laktacji = 28 kg, w 3 laktacji = 52 kg, w 4 = 37 kg i w 5 z dalszymi wynosiła 27 kg. Potwierdziły to statystycznie istotne różnice przy $p \leq 0,01$. Zawartość tłuszczu wynosiła odpowiednio: 3,70%, 3,72%, 3,68%, 3,56% i 3,64%. Natomiast wydajność tłuszczu wynosiła 180 kg (1 laktacja), 191 kg (2 laktacja), 195 kg (3 laktacja), 190 kg (4 laktacja) i 195 kg (5. laktacja i kolejnych). Natomiast zawartość białka wahała się od 3,39% (4 laktacja) do 3,58% (3 laktacja), wydajność białka wahała się od 172 kg (1 laktacja) do 189 kg (5 laktacja z kolejnymi). Między wartościami średnimi wystąpiły różnice statystycznie istotne przy $p \leq 0,01$ i $p \leq 0,05$.

W gospodarstwie „Zaria”, wydajność mleka w laktacjach pełnych wynosiła od 3257 kg (1 laktacja) do 2681 kg (5 laktacja z kolejnymi). Analiza wydajności mlecznej w 305-dniowych laktacjach wykazała, że najwyższa wydajność wystąpiła w 2 laktacji (3266 kg), a najniższa w 5 i kolejnych (2680 kg).

Zawartość tłuszczu w pierwszej, trzeciej i czwartej laktacji wynosiła 3,80%, w drugiej laktacji 3,71%, a najwyższa wartość wystąpiła w piątej i kolejnych i wynosiła 4,08%. W przypadku wydajności tłuszczu, najwyższa wartość wynosiła 121 kg (2 laktacja), co oznacza, że wydajność tłuszczu w pierwszej laktacji była niższa o 3,9 kg, w trzeciej laktacji o 7,03 kg, w czwartej laktacji o 6,4 kg i w piątej laktacji oraz kolejnych o 10,43 kg (różnice przy $p \leq 0,01$).

Zawartość białka wahała się od 3,12% (5 laktacja i kolejne) do 3,55% (2 laktacja). Wydajność białka wahała się od 86 kg (5 i kolejne) do 107 kg (2 laktacja), a różnice statystyczne wystąpiły przy $p \leq 0,01$ i $p \leq 0,05$.

Tabela 2. Wydajność krów w poszczególnych laktacjach

Wyszczególnienie	Laktacje	Gospodarstwa		
		AO «Zaria» (rasa czarno-biała)	TOO «Wiktorowskoje» (rasa czarno-biała)	TOO «Bek+» (rasa holsztyńsko-fryzyjska)
Liczebność (N)	1	89	346	345
	2	62	201	244
	3	19	92	225
	4	21	64	103
	5 i k.	17	98	5
Mleko – laktacje pełne (kg)	1	^A 3257 ^A ± 76,5	^B 4928 ^B ± 56,9	^C 12192 ^C ± 706,25
	2	^A 3477 ^A ± 117,07	^B 5190 ^B ± 37,8	^C 12990 ^C ± 1471,05
	3	^A 2976 ^A ± 173,9	^B 5358 ^B ± 66,9	^C 12508 ^C ± 1332,25
	4	^A 2966 ^A ± 118,2	^B 5338 ^B ± 71,5	^C 9530 ^C ± 299,41
	5 i k.	^A 2681 ^A ± 150,2	^B 5393 ^B ± 53,37	^C 10709 ^C ± 446,50
Mleko - 305 dniowe laktacje (kg)	1	^A 3037 ^A ± 56,4	^B 4863 ^B ± 55,6	^C 7835 ^C ± 323,66
	2	^A 3266 ^A ± 83,8	^B 5163 ^B ± 36,8	^C 7522 ^C ± 134,47
	3	^A 2965 ^A ± 173,9	^B 5306 ^B ± 65,6	^C 8493 ^C ± 917,19
	4	^A 2948 ^A ± 114,9	^B 5303 ^B ± 73,3	^C 7322 ^C ± 140,32
	5 i k.	^A 2680 ^A ± 150,02	^B 5365 ^B ± 52,29	^C 7689 ^C ± 296,51
Tłuszcz (%)	1	^A 3,80 ^a ± 0,04	^A 3,70 ^a ± 0,06	^B 3,17 ^b ± 0,02
	2	^A 3,71 ^a ± 0,05	^A 3,72 ^a ± 0,04	^B 3,11 ^b ± 0,03
	3	^A 3,80 ^a ± 0,11	^A 3,68 ^b ± 0,06	^B 3,18 ^c ± 0,04
	4	^{Aa} 3,80 ^a ± 0,09	^{Ab} 3,56 ^b ± 0,05	^B 3,09 ^c ± 0,05
	5 i k.	^A 4,08 ^a ± 0,10	^B 3,64 ^b ± 0,05	^C 3,01 ^c ± 0,24
Tłuszcz (kg)	1	^A 117 ^A ± 2,40	^B 180 ^B ± 3,30	^C 260 ^C ± 7,83
	2	^A 121 ^A ± 3,47	^{Ba} 191 ^B ± 2,74	^{Bb} 232 ^C ± 4,30
	3	^A 114 ^A ± 7,94	^B 195 ^B ± 4,32	^C 269 ^C ± 28,29
	4	^A 114 ^A ± 4,94	^{Ba} 190 ^{Ba} ± 3,89	^{Bb} 225 ^{Bb} ± 5,76
	5 i d.	^A 110 ^A ± 7,43	^{Ba} 195 ^B ± 3,67	^{Bb} 231 ^C ± 21,42
Białko (%)	1	^a 3,36 ^a ± 0,03	^a 3,52 ^b ± 0,03	^b 3,21 ^a ± 0,04
	2	^a 3,55 ^a ± 0,03	^a 3,54 ^a ± 0,02	^b 3,22 ^b ± 0,03
	3	^a 3,15 ^a ± 0,09	^b 3,58 ^b ± 0,03	^a 3,21 ^a ± 0,02
	4	3,21 ± 0,07	3,39 ± 0,03	3,21 ± 0,02
	5 i d.	^a 3,12 ^a ± 0,02	^b 3,54 ^b ± 0,03	^a 3,16 ^a ± 0,08
Białko (kg)	1	^A 96 ^A ± 1,84	^B 172 ^B ± 2,20	^C 243 ^C ± 6,54
	2	^A 107 ^A ± 4,18	^B 181 ^B ± 1,74	^C 242 ^C ± 4,58
	3	^A 92 ^A ± 5,18	^B 186 ^B ± 3,21	^C 273 ^C ± 9,57
	4	^A 91 ^A ± 3,46	^{Ba} 179 ^B ± 3,14	^{Bb} 235 ^C ± 4,86
	5 i k.	^A 86 ^A ± 4,54	^{Ba} 189 ^{Ba} ± 2,45	^{Bb} 242 ^{Bb} ± 7,52

Statystycznie istotne różnice przy: $p \leq 0,01$ - A,B,C; $p \leq 0,05$ - a,b,c

- litery z lewej strony średniej oznaczają różnice między gospodarstwami;

- litery z prawej strony średniej oznaczają różnice między laktacjami

Źródło: Opracowanie własne.

Najwyższa wydajność mleka, zarówno w laktacji pełnej, jak i 305-dniowej wystąpiła u krów rasy holsztyńskiej użytkowanej w gospodarstwie „Bek +”. Najwyższą wydajność tych krów wynosząca 12990 kg, odnotowano w 2 laktacji pełnej oraz 8493 kg w 3 laktacji 305 dniowej. Najniższe zaś wydajności wystąpiły w 4 laktacjach i wynosiły 9530 kg (laktacja pełna) i 7322 kg (laktacja 305-dniowa). Krowy holsztyńsko-fryzyjskie odznaczyły się najniższą zawartością tłuszczu, pomimo najwyższej wydajności mleka. Zawartość ta kształtowała się od 3,01% (5 laktacja z kolejnymi) do 3,18% (3 laktacja) oraz niską zawartością białka: od 3,16% (5 laktacja z kolejnymi) do 3,22% (2 laktacja). Wydajność białka wahała się od 235 kg (4 laktacja) do 273 kg (3 laktacja), a różnice istotne statystycznie przy $p \leq 0,01$ i $p \leq 0,05$.

Dyskusja

Niniejsza praca jest częścią projektu, którego celem jest opracowanie kompleksowego programu, mającego na celu wydłużenie czasu użytkowania krów mlecznych utrzymywanych w Republice Kazachstańskiej. Badania obejmują wpływ czynników środowiskowych i genetycznych na okres użytkowania krów. W badaniach założono, aby krowy były użytkowane do 5-6 laktacji. W planie rozwoju Kazachstanu, do 2050 roku założono zwiększanie produktywności krów mlecznych oraz wydłużenie czasu ich użytkowania (Nazarbayev 2012).

W warunkach nowoczesnego, szybkiego rozwoju wszystkich gałęzi nauki, ekonomii i produkcji, aby uzyskać zadowalające rezultaty, konieczne jest opracowanie szybkich i skutecznych narzędzi selekcji. Jednym z tych narzędzi jest wykorzystanie markerów do oceny wartości hodowlanej zwierząt na podstawie genomu (Butler 2003; Straten 2008).

Większość badaczy wskazuje, że najwięcej krów wysoko wydajnych, jest brakowanych w okresie okołoporodowym ze względu na negatywne skutki ujemnego bilansu energetycznego, wpływającego na metabolizm i reprodukcję zwierząt (Roche 2009). Selekcja krów, prowadzona w celu zwiększenia wydajności mlecznej, doprowadziła do sytuacji, w której krowa zwiększa tę wydajność w okresie przejściowym, nawet w przypadku ujemnego bilansu energetycznego, gdyż korzysta z rezerw tłuszczowych własnego organizmu. W rezultacie takiego działania, zakłócony zostaje się metabolizm, co doprowadza do różnych konsekwencji (Straten 2008). W okresie rozdajania, krowa może stracić nawet do 60 kg masy ciała. Straten (2008), badając populację 2167 wysoko wydajnych krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej wykazał, że u pierwiastek okres obniżania masy ciała wynosił $37,2 \pm 28,5$ dni, a utrata masy ciała wynosiła 4,9%, podczas gdy u krów w drugiej laktacji okres ten wynosił $59,8 \pm 35,8$ dni, a utrata masy ciała wynosiła (5,5%).

Podsumowanie

Przeprowadzone badania pozwoliły na wyciągnięcie następujących wniosków:

Najdłuższy okres użytkowania, do 10 laktacji, wystąpił u krów czarno-białych z gospodarstwa „Viktorovskoje”. Krowy holsztyńsko-fryzyjskie z gospodarstwa „Bek+” były użytkowane najkrócej (do 4-5 laktacji).

Najwyższą wydajność mleczną charakteryzowały się krowy rasy holsztyńsko-fryzyjskiej z gospodarstwa „Bek+”. Wydajność tych krów wahała się od 12 990 kg (2 laktacja pełna) do 9530 kg (4 laktacja pełna). Najniższą wydajność mleka uzyskano od krów czarno-białych z gospodarstwa „Zaria” (od 2681 kg do 3477 kg). Różnice statystyczne wystąpiły przy $p \leq 0,01$.

Najwyższa wydajność tłuszczu i białka wystąpiła u krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej w gospodarstwie „Bek+”. Natomiast najniższą wydajność tłuszczu i białka uzyskano od krów czarno-białych z gospodarstwa „Zaria”. Różnice statystyczne wystąpiły przy $p \leq 0,01$ i $p \leq 0,05$.

Zawartość tłuszczu i białka była najwyższa u krów czarno-białych i najniższa u krów rasy holsztyńsko-fryzyjskiej ($p \leq 0,01$ i $p \leq 0,05$).

Literatura

- Annenkova N., Galkina L., Baranova I. 2009. *Duration of economic use of cows in connection with some paratypical factors*. Dairy and Beef Cattle Breeding. 6: 12-13.
- Butler W.R. 2003. *The ratio of energy balance with the development of follicles, ovulation and fertility in dairy cows after Parma*. Livestock Production Science. v. 83: 211-218.
- Dedov MD, Sivkin N.V. 2004. *Features of cows with high lifelong productivity*. Zootechny. 10: 2-4.
- Merkurieva E.K. 1970. *Biometrics in breeding and genetics of farm animals*: 310.
- Miller S.A., Dykes D.D., Polesky H.F. 1988. *A procedure for extracting DNA from human nucleated cells*. Nucleic Acids Res. v.16 (3): 1215.
- Nazarbayev N. 2012. *Message of the President of the Republic of Kazakhstan - The Strategy "Kazakhstan-2050" is a new political course of the established state*. "Kazakhstan Truth. No. 437-438: 2-10.
- Plokhinsky N.A. 1969. *Guide biometrics for livestock*. "Ear": 256.
- Rebrikov D.V., Samatov G.A., Trofimov D.Yu., Semenov P.A., Savilova A.M., Kofiadi I.A., Abramov D.D. 2009. *Real-Time PCR*. M.: BINOM. Lab knowledge: 223.
- Roche J.R., Friggens N.C., Kay J.K., Fisher M.W., Stafford K.J., and Berry D.P. 2009. *Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare*. Journal of Dairy Science. v .92(12): 5769-5801.

- Straten M., Shpigel N.Y., Friger M. 2008. *Analysis of daily body weight of high-producing dairy cows in the first one hundred twenty days of lactation and associations with ovarian inactivity*. Journal of Dairy Science. v. 91: 3353-3362.
- Sudarev N.P., Abylkasymov A.A., Vakhoneva A.A. 2009. *Duration of economic use of cows, depending on the various options for selection. Collection of scientific papers; Selection, feeding, maintenance and technology of animal products*. VNIplem. No. 22: 23-29.
- Vakhonev A.A. 2010. *Increasing the productive longevity of black-and-white cows*. Abstract of PhD thesis. Forest Glades: 20.

Rozdział V

Doskonalenie metod diagnostyki i terapii koni

Analiza zależności pomiędzy stopniem ruchliwości, a poziomem ekspresji białek plemników ogiera po rozmrożeniu

Analysis of the relationship between sperm motility and protein expression of stallion sperm after freezing-thawing

Anna Kuzborska

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Bioinżynierii Zwierząt
Naukowe Koło Biochemii i Biotechnologii Zwierząt
Opiekun: dr hab. inż. Marzena Mogielnicka-Brzozowska

Abstract

The aim of the study was to show differences in the stallion sperm proteome long time stored in liquid nitrogen, depending on the quality of sperm motility after freezing-thawing (FT).

The research material constituted of 8 ejaculates of the half-blood stallions divided into two groups: G1, semen of 4 stallions with good spermatozoa motility after FT (TMOT >39%, PMOT >18%) and G2, semen of 4 stallions with poor spermatozoa motility parameters after FT (TMOT <39%, PMOT <18%).

Both G1 and G2 have shown the presence of 19 protein bands (PB) with molecular weight (MW) range 11 to 250 kDa. Within G1 we observed 6 high molecular weight PB and for G2 3 low molecular weight PB showing increased level of protein expression.

Analysis of the electrophoregram revealed differences within sperm proteome of stallion semen with good or poor motility parameters after FT. Among the proteins showing significant changes in their expression are, among others, those involved in the immune processes of sperm and involved in the two oxidative damage reaction. The results obtained in our study indicate the potential use of proteinogram analysis to select semen samples with different usefulness for freezing-thawing.

Keywords: stallion, sperm proteins, freezing

Wstęp

Proteomem nazywamy wszystkie białka występujące w komórce, tkance czy organizmie w określonym czasie. Ich liczba i rodzaj nie są stałe i podlegają zmianom w zależności od stanu fizjologicznego organizmu, jego fazy rozwoju oraz warunków środowiska (Wilkins 2009).

Kriokonserwacja plemników jest coraz chętniej wykorzystywana w przemyśle produkcji zwierzęcej. Jest jedyną dotychczas dostępną metodą, która umożliwia uzyskanie materiału, który można wykorzystać do sztucznej inseminacji nawet po długim czasie przechowywania (Pini i in. 2018). Dotychczas powstały nieliczne prace, które dotyczą proteomu plemników ogiera, w szczególności plemników po rozmrożeniu. Między ogierami

występują różnice pod względem zachowania zdolności zapładniających plemników, po uprzednim poddaniu komórek procesom zamrażania-rozmrażania. Szacuje się, że plemniki dobrze znoszące ten proces, produkowane są jedynie przez 20% płodnych ogierów (Tischner 1979). Proces rozrzedzania i kriokonserwacji zmniejsza integralność błon akrosomu, żywotność oraz ruchliwość plemników, również u ogierów (Bedford i in. 2000). Plemniki tego gatunku mają większą podatność na udar chłodowy niż plemniki samców innych gatunków. Fakt ten może być spowodowany niższym stosunkiem cholesterolu do fosfolipidów w błonach plemników ogiera (Darin-Bennet i White 1977). Oprócz zmniejszenia ruchliwości plemników i integralności ich błon komórkowych, kriokonserwacja może prowadzić do nadprodukcji reaktywnych form tlenu, uszkodzeń materiału genetycznego, zaburzeń procesu kapacytacji oraz rozpadu białek (Wagner i in. 1994).

Cel i metoda

Informacje o proteomie plemników ogiera i zmianach w nim zachodzących w trakcie przechowywania, dają szczególne korzyści, zważywszy, że gatunek ten okazał się odmienny w aspektach fizjologii reprodukcji od innych gatunków zwierząt gospodarskich (Swegen i in. 2015). Z tego względu, celem pracy było wykazanie różnic w proteomie plemników ogiera poddanych długoterminowemu przechowywaniu w ciekłym azocie, w zależności od stopnia ich ruchliwości po rozmrożeniu.

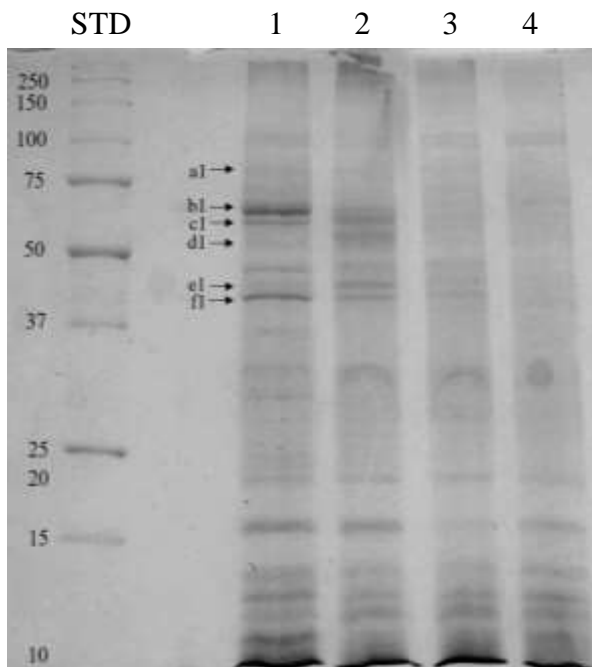
Materiał badawczy stanowiło 8 ejakulatów ogierów rasy szlachetna półkrew, w wieku od 5 do 17 lat. Materiał pobrano z wykorzystaniem sztucznej pochwy w Stadzie Ogierów w Łącku. Wykonano tam również procedurę zamrażania nasienia i przechowywano je w słódkach, w ciekłym azocie, przez okres od 5 do 12 lat. Następnie materiał przekazano do Laboratorium Kriokonserwacji Nasienia należącego do Katedry Biochemii i Biotechnologii Zwierząt w Olsztynie i był on przechowywany w ciekłym azocie przez 4 lata do czasu wykonania analiz. Materiał został podzielony na dwie grupy badawcze: G1, zawierającą nasienie od 4 ogierów o dobrych parametrach ruchliwości plemników po rozmrożeniu (TMOT >39%, PMOT >18%) oraz G2, zawierającą nasienie od 4 ogierów o słabych parametrach ruchliwości plemników po rozmrożeniu (TMOT <39%, PMOT <18%). Do wykonania analizy ruchliwości plemników wykorzystano system CASA (Hamilton-Thorne HRT-IVOS 12.3). W systemie komputerowej analizy ruchliwości plemników CASA, analizowano kilka typów parametrów ruchliwości, biorąc szczególnie pod uwagę dwa z nich: TMOT – odsetek plemników ruchliwych (%) oraz PMOT – odsetek plemników o ruchu postępowym (%). W ekstraktach plemnikowych oznaczono zawartość białka całkowitego metodą Lowry'ego i in.

(1951), natomiast rozdziały elektroforetyczne SDS PAGE przeprowadzano w 12 % żelu poliakryloamidowym według metody Laemmli (1970), w aparacie do elektroforezy Mini Protean II Cell (Bio-Rad, Rockville, MD, USA). Do studzienek w żelach nanoszono standardy mas cząsteczkowych Precision Plus Protein Standards (Bio-Rad). Dla prążków białkowych wykazujących różnice w ekspresji oznaczano masy cząsteczkowe (MW) i wartości gęstości optycznej (OD) przy użyciu programu Multi-Analyst (wersja 1.1, BioRad). Wartości podano jako średnie (\pm SD).

Wyniki badań

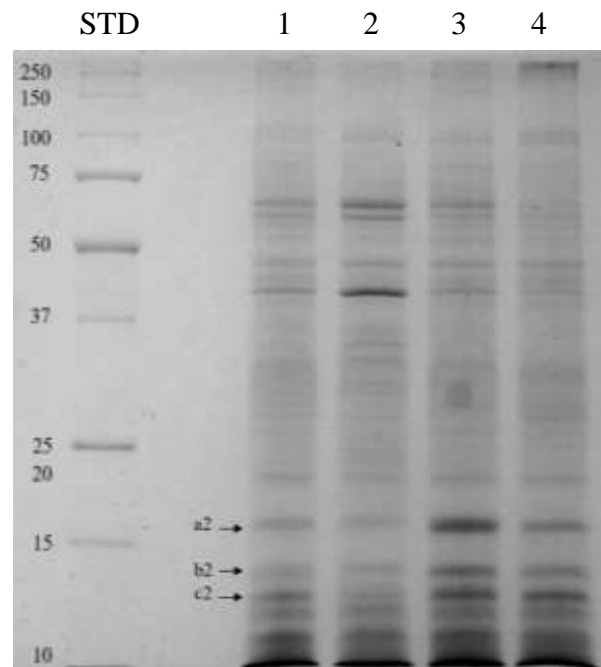
Analiza żeli, wykazała w grupie G1 obecność 19 prążków białkowych w zakresie mas cząsteczkowych od 11 do 250 kDa. W obrębie wyżej wymienionej grupy stwierdzono obecność 6 prążków białkowych wykazujących wzrost ekspresji w porównaniu do grupy G2 (Rys. 1).

Rysunek 1. Elektroforegram białek plemników ogierów grupy G1 (1-4 kolejne osobniki), pochodzących z nasienia o dobrych parametrach ruchliwości plemników po rozmrożeniu. Standardy mas cząsteczkowych (STD). Prążki białkowe wykazujące wzrost ekspresji zaznaczono strzałkami (od a1 do f1).



Źródło: Opracowanie własne.

Rysunek 2. Elektroforegram białek plemników ogierów grupy G2 (1-4 kolejne osobniki), pochodzących z nasienia o słabych parametrach ruchliwości plemników po rozmrożeniu. Standardy mas cząsteczkowych (STD). Prążki białkowe wykazujące wzrost ekspresji zaznaczono strzałkami (od a2 do c2).



Źródło: Opracowanie własne.

Poszczególne białka charakteryzowały się następującymi wartościami: a1 - 77,9 kDa i 0,19 ($\pm 0,028$) OD; b1 - 61,5 kDa i 0,25 ($\pm 0,028$) OD; c1 - 55,6 kDa i 0,22 ($\pm 0,021$) OD; d1 - 51,2 kDa i 0,18 ($\pm 0,028$) OD; e1 - 40,4 kDa i 0,2 ($\pm 0,028$) OD; f1 - 39,1 kDa i 0,23 ($\pm 0,05$) OD. W grupie G2 zaobserwowano obecność 19 prążków białkowych w zakresie mas cząsteczkowych od 11 do 250 kDa. W obrębie wyżej wymienionej grupy stwierdzono obecność 3 prążków białkowych wykazujących wzrost ekspresji w porównaniu do grupy G1 (Rys. 2). Poszczególne białka charakteryzowały się następującymi wartościami: a2 - 17,0 kDa i 0,26 ($\pm 0,021$) OD; b2 - 14,4 kDa i 0,24 ($\pm 0,021$) OD; c2 - 13,7 kDa i 0,30 ($\pm 0,035$) OD.

Dyskusja

Aby plemniki po kriokonserwacji były zdolne do zapłodnienia i mogły zapewnić zdrową ciążę, niektóre ich cechy budowy i właściwości muszą pozostać niezmienione (Gibb i Aitken 2016). Zapłodnienie *in vitro* jest najczęściej wykorzystywaną metodą wspomagającą rozród u wielu gatunków, w tym człowieka, świni i właśnie konia (Gibb i Aitken 2016). W celu dostarczenia dobrej jakości nasienia do biornicy, plemniki są schładzane do temperatur od 4 do 10 °C, aby ograniczyć tempo ich metabolizmu podczas przechowywania, w celu uniknięcia wyczerpania pokładów ATP i wytwarzania szkodliwych produktów ubocznych, takich jak reaktywne formy tlenu (ROS) (Gibb i in. 2014). Prawidłowy metabolizm plemników zależy głównie od glikolitycznej produkcji ATP, produkującej znacznie mniej ROS niż fosforylacja oksydacyjna, z bardziej wydajną ścieżką wykorzystywaną przede wszystkim przez plemniki ogiera (Gibb i Aitken 2016). Proces zamrażania-rozmrażania, zazwyczaj powoduje uszkodzenie stosunkowo wysokiego odsetka plemników, podczas gdy pozostałe plemniki mogą ulec częściowemu uszkodzeniu, co utrudnia lub uniemożliwia zapłodnienie

Zakłócenia w funkcjonowaniu wyżej wymienionych komórek, można przypisać zmianom w błonach białkowo-lipidowych, w elementach cytoszkieletu, komponentach jądrowych lub kombinacji tych uszkodzeń (Watson 2000). Aktualne protokoły mrożenia nasienia ogiera nadal nie zostały ostatecznie zdefiniowane i brakuje ustandaryzowanej techniki zamrażania, która byłaby idealna dla wszystkich osobników. Istnieją znaczące różnice wśród ogierów pod względem wrażliwości plemników na uszkodzenia powstałe podczas kriokonserwacji. Przyczyny dużej zmienności osobniczej pod tym względem, nadal wymagają wyjaśnienia.

Pomiar parametrów ruchliwości plemników jest istotny z punktu widzenia praktyki, ponieważ jest stosunkowo łatwy do wykonania i odzwierciedla kilka ważnych aspektów metabolizmu plemników (Katila 2001). Zwykle, jako podstawowe parametry, oznacza się odsetek plemników wykazujących ruchliwość (TMOT) oraz wykazujących ruch postępowy (PMOT) (Kenney i in. 1893). Interesujący jest fakt, że w badaniach Ferrusola i współautorów (2010) oraz Gibb i współautorów (2014), zostało potwierdzone, iż plemniki pochodzące od ogierów charakteryzujących się wyższą płodnością, szybciej zużywały energię, tak że do czasu testów w laboratorium, komórki te obumierały z powodu nagromadzenia metabolicznych produktów ubocznych, takich jak ROS i cytotoksyczne aldehydy lipidowe. Zaobserwowano również, że większa efektywność wytwarzania ATP za pośrednictwem fosforylacji oksydacyjnej (OXPHOS) przez plemniki ogiera sprzyjała większej szybkości ich ruchu. Ostatecznie, wysoka produkcja ROS przez plemniki ogiera, wydaje się fizjologicznie normalna i prawdopodobnie jest spowodowana przez wydostanie się O z mitochondrialnego łańcucha transportu elektronów podczas OXPHOS. Istnieje dodatnia korelacja między produkcją mitochondrialnego ROS i prędkością ruchu plemników, jednak skutkiem tego jest zwiększony wskaźnik peroksydacji lipidów oraz utrata ruchliwości i witalności plemników po ich dłuższym przechowywaniu. Niewiele prac dotyczy związku pomiędzy ruchliwością plemników, a rodzajem zmian w ekspresji białek lub powstałych uszkodzeń na skutek peroksydacji białek tych komórek. Celem naszych badań było stwierdzenie związku pomiędzy parametrami ruchliwości plemników ogiera a proteomem plemników przechowywanych długookresowo w ciekłym azocie.

Analiza elektorforegramów pozwoliła na obserwację wzrostu ekspresji różnych polipeptydów, w zależności od jakości nasienia. W próbach o dobrej ruchliwości, wzrost ekspresji wykazywały białka wysokocząsteczkowe (od 39 do 79 kDa). W przeciwieństwie do prób o słabej ruchliwości, gdzie wykazano wzrost ekspresji dla białek niskocząsteczkowych (od 13 do 17 kDa). Związek pomiędzy wzrostem ekspresji danego białka a ruchliwością plemników, jest zjawiskiem złożonym i wymaga pogłębionych badań proteomicznych i metabolomicznych. Natomiast obserwowany efekt może być również skutkiem pewnych modyfikacji potranslacyjnych, którym poddawane są białka, co może wpływać na stopień ich podatności na działanie czynników redukujących i denaturujących w trakcie procesu elektroforezy.

Źródłem białek wykazujących związek z parametrami jakości nasienia, mogą być zarówno plazma nasienia jak i plemniki. Białka plazmy nasienia opłaszczają plazmolemę

plemników, często stając się jej integralną częścią (Brandon i in. 1999). Może to wskazywać na udział białek plazmy nasienia w modyfikacji protein plemników i potencjalnym ich wpływie na ruchliwość wyżej wymienionych komórek.

Poszczególne białka plazmy nasienia mogą być zdolne do ochrony plemników podczas zamrażania lub schładzania w specyficzny sposób. Dodatek kilku wybranych białek, zamiast pełnej plazmy nasienia do zamrażanej lub schładzanej próby, stanowi idealną alternatywę i może zapewnić poprawę parametrów jakości plemników po zabiegu konserwacji (Mogielnicka-Brzozowska i in. 2014; Pini i in. 2018). Zakłada się, że składniki plazmy nasienia oddziałują na stabilność błon komórkowych plemników (Jasko i in. 1992). Aurich i współautorzy (1996) badali wpływ inkubacji plemników przed zamrożeniem w medium zawierającym 30% plazmy nasienia. Zaobserwowali, że dodatek plazmy nasienia pochodzącej od ogierów, charakteryzujących się dobrą zamrażalnością nasienia, poprawił jakość nasienia rozmrożonego pochodzącego od ogierów wykazujących słabą zamrażalność. Inne badania wykazały, że oznaczenie ilości białka błonowego plemników BSP-A3, może być przydatne do przewidywania słabej zamrażalności nasienia u buhajów (Roncoletta 1999).

Swegen i współautorzy (2015), sklasyfikowali białka plemników ogierów w odniesieniu do pełnionych przez nie funkcji. Białka zakwalifikowane do pełnienia funkcji w procesach biologicznych, stanowią najliczniejszą grupę (około 372 białek) i są zaangażowane w komórkowe procesy metaboliczne. Kolejne białka są odpowiedzialne za ułatwienie lokalizacji miejsca docelowego (161) oraz transport (158). Białka rozdzielono również między główne szlaki produkcji energii w następujący sposób: fosforylacja oksydacyjna (33 białka), glikoliza (25 białek) i metabolizm kwasów tłuszczowych (25 białek).

Elektroforeza SDS PAGE ekstraktów błon plemnikowych ogiera wykazała 43 prążki białkowe w zakresie mas cząsteczkowych od 3,8 do 227,2 kDa (Zahn i in. 2006). Autorzy zaobserwowali znaczną wariancję prążków, do tego stopnia, że tylko 2 z nich były obecne u wszystkich osobników (B18 44 kDa i B35 16,3 kDa). Prążek B17 (46,4 kDa) różnił się statystycznie istotnie ($P=0,0428$) pomiędzy dobrymi, a przeciętnymi ogierami odnośnie zamrażania nasienia. Prążki: B26 (28,5 kDa) i B31 (21,1 kDa) również różniły się pomiędzy dobrymi i przeciętnymi ogierami ($P=0,0308$ i $P=0,0277$ odpowiednio). Znaczącą statystycznie dodatnią korelację odnotowano pomiędzy zamrażalnością nasienia, a prążkami: B26 (28,5 kDa; $r=0,47043$; $P=0,0271$), B27 (26,3 kDa; $r=0,45888$; $P=0,0317$) i B31 (21,1 kDa; $r=0,43251$; $P=0,0444$).

W naszych badaniach, analiza ekstraktów plemnikowych ogierów o dobrych parametrach ruchliwości po rozmrożeniu, wykazała 6 prążków białkowych wykazujących wzrost ekspresji w stosunku do tych samych prążków białkowych, pochodzących z ekstraktów plemników ogierów o słabych parametrach ruchliwości plemników. Były to prążki w zakresie mas cząsteczkowych od 39,1 do 77,9 kDa. Stwierdzono, iż są to białka o zbliżonej masie cząsteczkowej do protein opisanych przez Swegen i współautorów (2015). Prążek białkowy a1 (77,9 kDa) odpowiada białku związanemu z receptorem czynnika martwicy nowotworu (TRAP1) (77,2 kDa), z kolei PB b1 (61,5 kDa) może być antygenem plemnikowym 16 (SPAG16) (63,9 kDa). Inne białko plemników c1 (55,6 kDa) odpowiada reduktazie tioredoksyny 1 (TXNRD1) (56,3 kDa). Prążek białkowy d1 (51,2 kDa) wykazuje masę cząsteczkową jak dehydrogenaza hydroksyacilo-CoA (HADHB) (51,1 kDa). Wykazane przez nas białko e1 (40,4 kDa) przypomina swoją MW receptor sprzężony z białkiem G (GPRC5A) (39,8 kDa), natomiast PB f1 (39,1 kDa) odpowiada kinazie adenylnowej 8 (AK8) (39,3 kDa). Wymienione białka mogą same być receptorami, bądź wiązać się z ważnymi metabolicznie receptorów plemników. Część z nich zaangażowana jest w procesy immunologiczne wyżej wymienionych komórek. Niektóre biorą udział w reakcji na uszkodzenia oksydacyjne oraz mogą być zaangażowane w β -oksydację kwasów tłuszczowych. Trzy prążki białkowe pochodzące z ekstraktów plemników ogierów o słabych parametrach ruchliwości, zawierały się w zakresie mas niskocząsteczkowych (od 16,99 do 13,65 kDa). Są to białka o zbliżonej masie cząsteczkowej do protein scharakteryzowanych przez Swegen i in. (2015). Białko powierzchniowe plemnika Sp17 (SPA17), odpowiada prążkowi białkowemu a2 (17,0 kDa) i potencjalnie wpływa na połączenie plemnika z osłonką przejrzystą komórki jajowej (Wen i in. 2001).

Podsumowanie

Wiele czynników genetycznych i środowiskowych może mieć wpływ na ekspresję białek plemników. Zarówno cechy osobnicze samca, jak i temperatury przechowywania materiału biologicznego oraz dodatek lub brak rozrzedzalnika, mogą mieć różnicujący wpływ na proteom męskich komórek rozrodczych. Analiza elektroforegramów wykazała różnice w zakresie mas cząsteczkowych frakcji białkowych w obrębie proteomu plemników pochodzących z nasienia o dobrej, bądź słabej ruchliwości po rozmrożeniu. Wśród białek wykazujących znaczące zmiany w ekspresji znajdują się m.in. te, które są zaangażowane w procesy immunologiczne plemników oraz biorą udział w reakcji na uszkodzenia

oksydacyjne. Uzyskane wyniki wskazują na możliwość użycia analizy proteinogramów w celu selekcji nasienia ze względu na różną jego przydatność do zamrażania. W celu uzyskania szczegółowych wyników i praktycznego ich zastosowania, konieczne jest wykonanie analiz w dużo szerszym zakresie.

Literatura

- Aurich J.E., Kühne A., Hoppe H., Aurich C. 1996. *Seminal plasma affects membrane integrity and motility of equine spermatozoa after cryopreservation*. Theriogenology, 46: 791-797.
- Bedford S.J., Varner D.D., Mayers S.A. 2000. *Effects of cryopreservation on the acrosomal status of stallion spermatozoa*. J. Reprod. Fertil., 56: 133-140.
- Brandon C.I., Heusner G.L., Caudle A.B., Fayrer-Hosken R.A. 1999. *Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis of equine seminal plasma proteins and their correlation with fertility*. Theriogenology, 52: 863-873.
- Darin-Bennett A., White I.G. 1997. *Influence of the cholesterol content of mammalian spermatozoa on susceptibility to cold shock*. Cryobiology, 14: 466-470.
- Ferrusola C.O., Fernández L.G., Sandoval C.S., García B.M., Martínez H.R., Tapia J.A., Peña F.J. 2010. *Inhibition of the mitochondrial permeability transition pore reduces 'apoptosis like' changes during cryopreservation of stallion spermatozoa*. Theriogenology, 74: 458-465.
- Gibb Z., Lambourne S.R., Aitken R.J. 2014. *The paradoxical relationship between stallion fertility and oxidative stress*. Biol. Reprod., 91: 77.
- Gibb Z., Aitken R.J. 2016. *The impact of sperm metabolism during in vitro storage: The stallion as a model*. BioMed Res. Int. (2016): 8.
- Jasko D.J., Hathaway J.A., Schaltenbrand V.L., Simper W.D., Squires E.L. 1992. *Effect of seminal plasma and egg yolk on motion characteristics of cooled stallion spermatozoa*. Theriogenology, 37: 1241-1252.
- Katila T. 2001. *In vitro evaluation of frozen-thawed stallion semen: a review*. Acta Vet Scand, 42: 199-217.
- Kenney R.M, Hurtgen J., Pierson R., Witherspoon D., Simons J. 1893. *Theriogenology and the equine, part II: the stallion*. J. Soc. Theriog: 9.
- Laemmli U.K. 1970. *Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4*. Nature, 227: 680-685.
- Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. 1951. *Protein measurement with the Folin phenol reagent*. J. Biol. Chem., 193: 265-275.
- Mogielnicka-Brzozowska M., Dziekońska A., Strzeżek R., Załęcki M., Majewska A., Tołściak K., Kordan W. 2014. *Effect of seminal plasma zinc-binding proteins on motility and membrane integrity of canine spermatozoa stored at 5°C*. Bull. Vet. Inst. Pulawy. 58: 163-168.
- Pini T., Farmer K., Druart X., Teixeira-Gomes A.P., Tsikis G., Labas V., Leahy T., de Graaf S.P. 2018. *Binder of sperm proteins protect ram spermatozoa from freeze-thaw damage*. Cryobiology, 82: 78-87.

- Roncoletta M. 1999. *Perfil eletroforético das proteínas de membrana de esper matozóides e plasma seminal, relacionados com a congelabilidade do sêmen de touros*. MS Thesis. FCAJ-UNESP : 154.
- Swegen A., Curry B.J., Gibb Z., Lambourne S.R., Smith N.D., Aitken R.J. 2015. *Investigation of the stallion sperm proteome by mass spectrometry*. *Reproduction*, 149: 235–244.
- Tischner M. 1979. *Evaluation of deep-frozen semen in stallions*. *J. Reprod. Fertil.*, 27: 53-59.
- Wagner B.A., Buettner G.R., Burns C.P. 1994. *Free radical-mediated lipid peroxidation in cells: oxidizability is a function of cell lipid bis-allylic hydrogen content*. *Biochemistry*, 33: 4449-4453.
- Watson P.F. 2000. *The causes of reduced fertility with cryopreserved semen*. *Anim. Reprod. Sci.*, 60-61: 481-492.
- Wen Y., Richardson R.T., Widgren E.E., O’Rand M.G. 2001. *Characterization of Sp17: a ubiquitous three domain protein that binds heparin*. *Biochem. J.*, 357: 25-31.
- Wilkins M. 2009. *Proteomics data mining*. *Expert Review of Proteomics*, 6: 599-603.

Autorka otrzymuje stypendium z Programu Interdyscyplinarnych Studiów Doktoranckich Biogospodarka (POWR.03.02.00-00-I034/16-00), który jest finansowany przez Europejski Fundusz Społeczny.

Wykorzystanie kamery termowizyjnej w diagnostyce chorób koni

The usage of thermal camera in the diagnostics of horse diseases

Janina Sieczka
Weronika Szustkiewicz
Małgorzata Jurczak

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Bioinżynierii Zwierząt
Naukowe Koło Hodowli Koni i Jeździectwa „Togo”
Opiekun naukowy: dr inż. Magdalena Łuczyńska

Abstract

Most important research involving thermal camera usage in surface body temperature examination have begun between the 1970s and 1980s. In the mid - 60s the infrared camera was used for horse treatment for the first time. It reads the level of emitted infrared radiation from the examined body surface.

Termographic examination detects any lesions causing temperature changes in the horse's body such as inflammations. Termography is highly useful and non-invasive method of detecting any pathological changes. It makes finding the source of a health problem much easier, although the process of getting results may cause some troubles. Nevertheless, the advantages of using infrared camera in diagnosis of horse diseases are worth the price of the device.

The problem may be the different temperature of each part of horse's body as well as the high price of the infrared camera.

Keywords: Thermal camera, horses, thermography, Infrared radiation

Wstęp

Pierwszym człowiekiem, który odkrył promieniowanie podczerwone, był Sir Frederick William Herschel, który w 1800 roku przeprowadzał doświadczenie polegające na rozszczepieniu światła widzialnego i pomiarze temperatury każdego koloru otrzymanego tą drogą. Termografia pozwala nam na wizualizację promieniowania emitowanego z powierzchni badanych obiektów. Zakres długości fal tego promieniowania wynosi od 780 nanometrów do 1 milimetra. Pierwsze praktyczne zastosowanie kamery termowizyjnej było w wojsku, jednak z biegiem lat zaczęto ją wykorzystywać również w budownictwie, medycynie, ochronie środowiska, ratownictwie, energetyce oraz weterynarii. Termografia medyczna umożliwia prowadzenie badań diagnostycznych, pozwalających monitorować wszelkie zmiany jakie zachodzą w organizmie. Prace Górskiego i Koczocik-Przedpełskiej w latach 70. i 80. XX

wieku, wnieśli najwięcej informacji na temat wykorzystania termografii do oceny powierzchniowych temperatur ciała, natomiast na koniach pierwszy raz została użyta przez Delahanty i Georgie w 1965 roku (Minkina i in. 2000).

Wykorzystanie termografii opiera się na wymianie ciepła między organizmem badanym a środowiskiem. Wykorzystuje się takie zjawiska jak konwekcja, kondukcja, radiacja elektromagnetyczna i ewaporacja. (Jodkowska i Soroko 2011). Konwekcja, czyli oddawanie ciepła z organizmu do otoczenia, które polega na tym, że powietrze znajdujące się tuż przy ciele zwierzęcia oraz to spomiędzy włosów, zostaje ogrzane i jako lżejsze od zimniejszego, zostaje uniesione nad organizmem. Ciepłe powietrze zostaje więc zastąpione chłodniejszym, które ma większą gęstość i większą masę właściwą. O tym, w jakim tempie będzie zachodziło to zjawisko, decyduje temperatura powietrza atmosferycznego oraz jego ruch, więc podczas robienia wielu zdjęć kamerą termowizyjną w dużych odstępach czasowych należy zadbać o to, aby warunki w jakich je wykonujemy, były bardzo do siebie zbliżone. Należy zapisywać szczególnie informacje na ich temat, aby w razie konieczności, móc je odtworzyć ponownie. Aby ograniczyć ruch powietrza, zwierzę podczas badań powinno być w miejscu, w którym możemy kontrolować warunki jakie panują wokoło (Krzemowski i Przała 2015).

Innym zjawiskiem, jakie możemy zaobserwować, a również ma wpływ na wyniki, jest kondukcja. Polega na wymianie energii cieplnej między dwoma obiektami o różnych temperaturach. Zachodzi ona tak długo, aż oba nie osiągną takiej samej wartości. Zasada ta odnosi się również do organizmów żywych. (Wikipedia 2019).

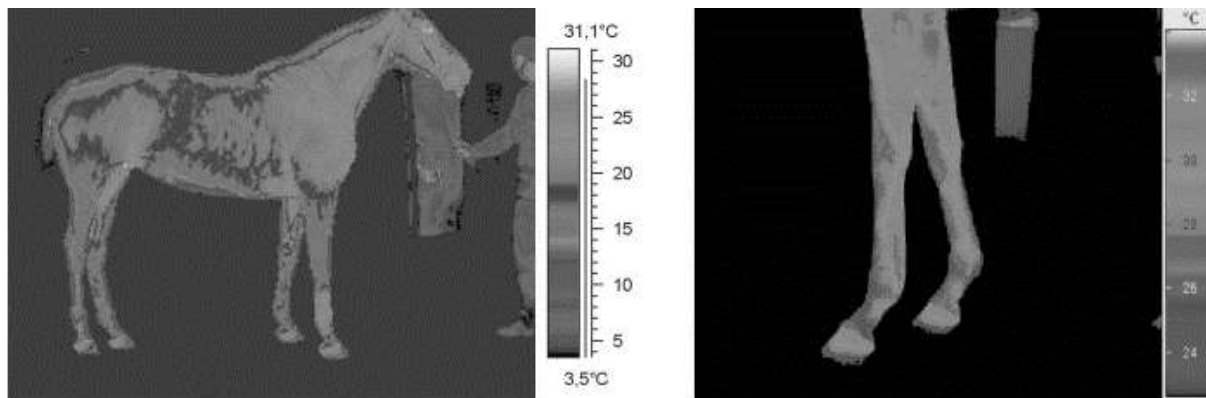
Radiacja elektromagnetyczna jest to promieniowanie cieplne, emitowane przez ciało w postaci fal o długości od 780 nanometrów do 1 milimetra. Wykorzystuje się wysyłane do otoczenia promieniowanie podczerwone, które emituje każde zwierzę. Promieniowanie cieplne zależne jest od temperatury danego ciała, co wykorzystywane jest w aparaturze termowizyjnej. W wyniku pomiaru otrzymujemy kolorowe zdjęcie. Konkretnym kolorom, przypisana jest określona temperatura (Soroko i Jodkowska 2011).

Ewaporacja, czyli parowanie, doprowadza do obniżenia temperatury badanej powierzchni, ponieważ cząsteczki wody, aby zmienić stan skupienia z płynnego w gazowy, muszą pobrać energię z otoczenia, czyli na przykład ze zwierzęcia, które jest wilgotne. Jeżeli parowanie potu lub wody z powierzchni konia jest intensywne, możemy mieć zafałszowane wyniki.

Możliwości wykorzystania termowizji w diagnostyce

Rosnąca liczba doniesień na temat używania termowizji w diagnostyce zwierząt, zachęca do podjęcia w tym kierunku badań. Dlatego celem pracy jest przedstawienie możliwości zastosowania kamery termowizyjnej w monitorowaniu stanu zdrowia koni.

Rysunek 1 Przykłady podwyższonej temperatury powierzchni kończyn piersiowych: A kończyna prawa, B kończyna lewa



A

B

Źródło: Soroko i Jodkowska 2011.

Kamera termowizyjna może zostać użyta do monitorowania stanu zdrowia dowolnego fragmentu ciała konia. Zaskakujące wyniki uzyskano w badaniach (Soroko i Jodkowska 2011) kończyn piersiowych intensywnie użytkowanych koni sportowych. Na 45 osobników, 9 musiało zostać na pewien czas wycofanych z użytkowania, ponieważ jak się okazało po zrobieniu zdjęć kamerą termowizyjną, miały kontuzje stawu nadgarstkowego, pęcಿನowego i naderwane ścięgna. Na zdjęciach można było wyraźnie dostrzec podwyższoną temperaturę w okolicach urazu. Istotne jest to, że kamera wykryła 2 tygodnie wcześniej oznaki podkliniczne kontuzji, przed pojawieniem się oznak klinicznych, co umożliwiło szybką reakcję i rozpoczęcie leczenia. Można łatwo wywnioskować, że przy regularnym monitorowaniu stanu zdrowia kończyn koni, uda się uchronić je przed kulawiznami i wcześniej zareagować na wszelkie zmiany chorobowe, które w późniejszym czasie, na dłuższy okres wykluczyłyby zwierzę z użytkowania. W przypadku koni sportowych, szczególnie tych młodych, jest to niezwykle ważne, ponieważ w przyszłości mogą mieć one predyspozycje do nabywania kontuzji w miejscach po dawnym urazie.

Badania przeprowadzone przez Soroko i in. (2015) również potwierdziły skuteczność kamery termowizyjnej w zakresie wczesnego wykrywania urazów u koni. Wyniki tych badań

wykazały, że młode konie wyścigowe, poddane intensywnemu treningowi, są podatne na częste kontuzje dolnych partii kończyn. Okazało się, że przeciążenia i naciągnięcia kończyn, spowodowane dawnymi kontuzjami i intensywnym treningiem, powodują zwiększone krążenie w badanym obszarze kończyny i narażają zwierzęta na przyszłe kontuzje. Z 28 badanych koni, 4 miało patologiczne zmiany ukrwienia kończyn. Wśród koni, u których wykryto różnego rodzaju anomalie były konie, które miały w przeszłości kontuzje dolnych partii kończyn lub były do nich predysponowane. Zaburzenia w ukrwieniu lub dawne kontuzje, dotyczyły głównie kończyn piersiowych. Są to wyniki zgodne z efektami badań opisywanych w literaturze przedmiotu (Soroko 2011).

Kamera termowizyjna sprawdza się również w diagnostyce kulawizn. Dzięki dokładnej rejestracji zmian temperatury ciała, można szybko wyeliminować potencjalną przyczynę kulawizny u koni. Jak dowodzą badania (Soroko i Jodkowska 2011), schorzenie to nie zawsze jest związane z urazem kończyny. Dzięki właściwie postawionej diagnozie przy pomocy obrazu z kamery termowizyjnej, wyeliminowano stan zapalny kończyny miedniczej jako przyczynę dolegliwości i ustalono, że powodem tego stanu był stan zapalny z okolic moszny po stronie badanej nogi.

Termowizja umożliwia również monitorowanie wpływu leków na leczone zwierzę. Badania prowadzone przez Purohita i McCoya (Soroko i Jodkowska 2011) pozwoliły na monitorowanie procesu leczenia stanu zapalnego w okolicach kości śródreżca. Stwierdzono za pomocą zdjęć termograficznych, że podawanie leku przeciwzapalnego, powoduje spadek temperatury w obrębie iniekcji. Jednak nawet po ustąpieniu zmian klinicznych, można było w dalszym ciągu zaobserwować za pomocą kamery wzmożony przepływ krwi, co dowodziło, że noga nie była w dalszym ciągu zdrowa. Prowadzone do momentu całkowitego wyzdrowienia konia pomiary, wykazały powrót tkanki do stanu fizjologicznego. Adekwatne wyniki badań uzyskano również podczas podawania kortykosterydów, użytych w trakcie leczenia stanów zapalnych w obrębie stawów.

Jednymi z trudniejszych do wykrycia chorób koni, są choroby związane z kręgosłupem. Objawy zmian chorobowych kręgosłupa często są niejednoznaczne, dlatego może upłynąć wiele czasu, zanim zostanie postawiona właściwa diagnoza. Jak wykazali Purohit i Schweinitz (Soroko i Jodkowska 2012), kamera termowizyjna może być wykorzystana w celu lokalizacji stanów chorobowych kręgosłupa. Zidentyfikowano w ten sposób, podczas prowadzonych przez naukowców badań, chorobę nerwowo – mięśniową odcinka piersiowo-lędźwiowego kręgosłupa. Dzięki użyciu termowizji nie tylko szybko zlokalizowano zmiany chorobowe, ale

i ułatwiło postawienie trafnej diagnozy. Również badania Fonseca (Soroko i Jodkowska 2012) potwierdzają skuteczność kamery termowizyjnej w zakresie oceny zmian chorobowych kręgosłupa koni. W swoich badaniach wykazał on, że z dużą precyzją można za pomocą tego urządzenia, zlokalizować zapalenie wyrostków kolczystych, nadgrzebieniowe i międzykolcowe zapalenie więzadła oraz międzykręgowo zapalenie stawów odcinka piersiowo lędźwiowego.

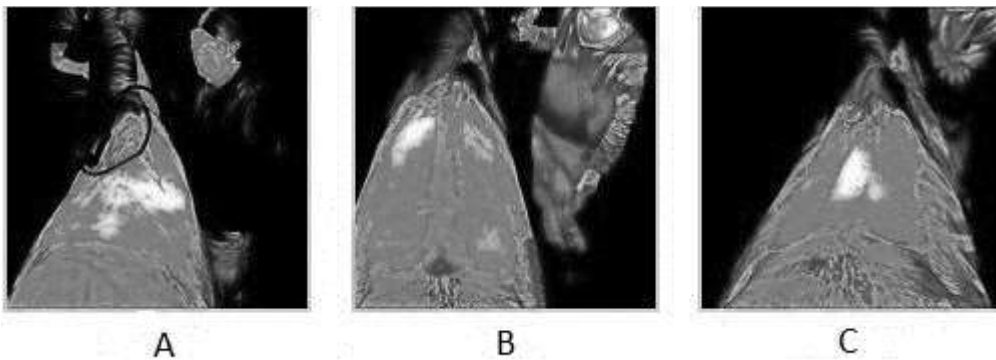
Dzięki swoim niewielkim wymiarom i lekkości, przyrząd ten sprawdza się podczas pracy w terenie, a uzyskane wyniki badań czasem mogą okazać się skuteczniejsze w diagnozowaniu zmian niż tradycyjnie stosowane w weterynarii. W sytuacji, kiedy wykonanie badań ultrasonograficznych i radiologicznych nie pozwala na precyzyjne określenie miejsca stanu zapalnego kręgosłupa, skuteczna w zlokalizowaniu kontuzji może okazać się termografia. Precyzja, z jaką zdjęcie termowizyjne odzwierciedla stan chorobowy, pozwoliła między innymi wskazać miejsce kontuzji, której przyczyną była zmiana lokalizacji trzeciego kręgu odcinka lędźwiowego, mimo iż ani USG ani RTG nie pozwoliło na postawienie diagnozy (Soroko i Jodkowska 2012).

Należy zdawać sobie sprawę z tego, że wszystkie organizmy żywe posiadają powierzchnie o naturalnie fizjologicznie podwyższonej temperaturze. Jodkowska i Soroko (2012), jednoznacznie wykazały, że istnieją statystycznie istotne różnice w zakresie temperatury powierzchni dogrzebietowej pomiędzy najzimniejszym miejscem jakim jest kłęb konia, a odcinkami piersiowym przednim i tylnym, lędźwiowym, oraz krzyżowym kręgosłupa. Najwyższe temperatury zarejestrowano w odcinkach piersiowym tylnym i krzyżowym. Największy przepływ krwi i najlepsze powierzchowne ukrwienie w odcinku piersiowym, mogło wynikać z tego, że właśnie w tym miejscu jest największy zakres ruchu kręgosłupa, jego największa mobilność, czyli zginanie i prostowanie dogrzebietowo-brzuszne. Wywnioskowano również, że wysoka temperatura powierzchni odcinka krzyżowego kręgosłupa wynika z zaangażowania kończyn miednicznych w motorykę ciała konia. Oznacza to, że aby móc właściwie odczytywać zdjęcia termowizyjne, trzeba znać naturalny rozkład temperatur ciała koni.

Znając rozkład temperatur ciała koni, nie tylko można diagnozować stany chorobowe kręgosłupa, ale również rozpoznawać dyskomfort odcinka piersiowego, jak chociażby jego bolesność wynikającą ze źle dobranego siodła (Soroko i Jodkowska 2012). Pozwala to na wykorzystanie termowizji w dobieraniu siodła do konkretnego konia. Temperatura ciała jest zależna od takich czynników, jak lokalny przepływ krwi i procesy metaboliczne tkanek.

Wykonanie zdjęcia grzbietu konia od razu po zdjęciu siodła, powinno pokazać miejsca cieplejsze, w których nacisk był większy lub miejsca nieco chłodniejsze, gdzie nacisk był mniejszy. Pod wpływem zbyt dużego nacisku, dopływ krwi do konkretnej partii ciała może być w znacznej mierze zatrzymany, o czym może świadczyć dużo niższa temperatura ciała w danym miejscu. Jednak doświadczenie przeprowadzone przez Soroko (2010) wykazało, że metoda dobierania odpowiedniego siodła za pomocą kamery termowizyjnej, jest mało wiarygodna, ponieważ istnieje zbyt dużo czynników mających wpływ na temperaturę powierzchni grzbietu (Rys.2). Dokładniejszą i tańszą metodą może być wykorzystanie specjalnych przezroczystych podkładów z kolorowym żelem. Kamera termowizyjna może być zatem używana jako dodatkowa pomoc przy dopasowywaniu siodła (*Siodło i koń...*).

Rysunek 2. Przykładowe obrazy termowizyjne po jeździe: A na oklep B Barefoot Arizona (beztelicowe) C McClellan



Źródło: *Termowizyjne dopasowywanie siodeł...*

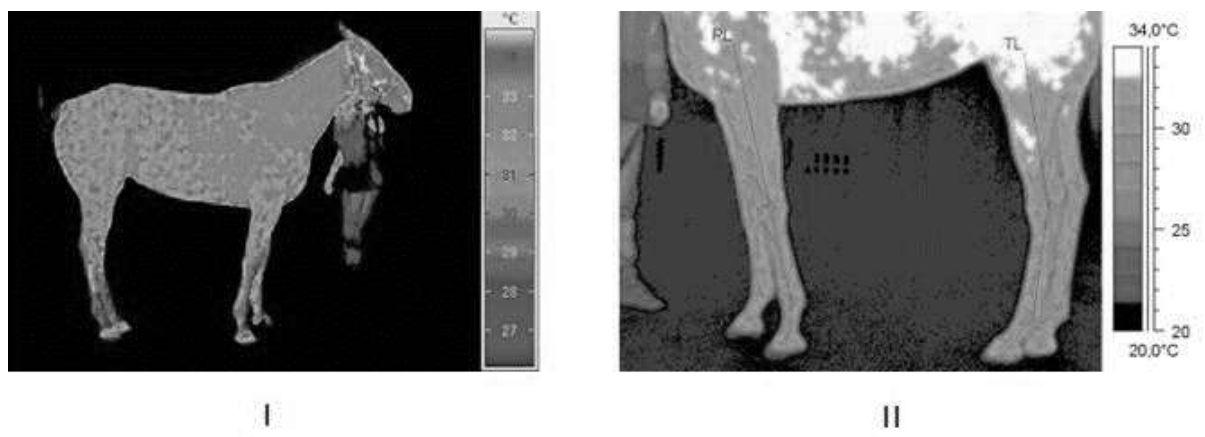
Jak wykazały badania Soroko i Jodkowskiej (2011), termowizja może być również pomocna w trudnych w diagnostyce zmian skórnych. Konie, które spędzają czas na pastwisku, są narażone na ukąszenia owadów, które sprawiają zwierzętom nie mało problemów. Osobniki z rodziny kuczmanów (*Colcoides imicola*) mogą u wrażliwych koni wywołać swoimi ukąszeniami lipcówkę, czyli alergiczne, sezonowe zapalenie skóry. Jest ono bardzo nieprzyjemne, ponieważ pojawiają się zmiany chorobowe w postaci pęcherzyków, grudek, sączących się krost i miejscowych wyłysień, przy których często pojawia się silny świąd. Takie miejsca po ukąszeniu można zaobserwować na kamerze termowizyjnej w postaci cieplejszych fragmentów skóry. Zatem, gdy podejrzewamy wystąpienia u konia tego typu zmian i kamera termowizyjna ujawni chore miejsca, można szybko rozpocząć leczenie, które zapobiegnie

pogłębieniu się choroby i nie doprowadzi do powstania trwałych zmian na skórze w postaci blizn.

Problemy stosowania termowizji w diagnostyce

Mimo, że termografia jest niezwykle pomocna w diagnostyce chorób koni, to może ona sprawiać dużo problemów. Aby odpowiednio zinterpretować wyniki z kamery termowizyjnej, trzeba wiedzieć, jaką temperaturę zwierzę ma na powierzchni badanych fragmentów ciała gdy jest zdrowe, a może ona być różna w zależności od osobnika (Rys 3 i Rys 4). Temperatura konia w stanie spoczynku może wahać się średnio od 24°C do 32,3°C. Najcieplejszymi miejscami na ciele konia są okolice oczu, nozdrzy, ramienia, łokcia, szyi, łopatki, słabizny, ud, podudzi oraz lędźwi. Temperatura w tych okolicach wynosi średnio od 27°C do 32,3°C. Natomiast najchłodniejszymi miejscami, gdzie temperatura wynosi średnio od 24°C do 26°C, są pęciny, stawy pęcinoowe, tylne okolice nadpęcia i nadgarstki.

Rysunek 3. Rozkład temperatury od wartości najniższych (ciemne kolory) do najwyższych (jasne kolory): I) na powierzchni prawej strony ciała konia, II) wzdłuż odcinków pomiarowych kończyny piersiowej i miednicznej

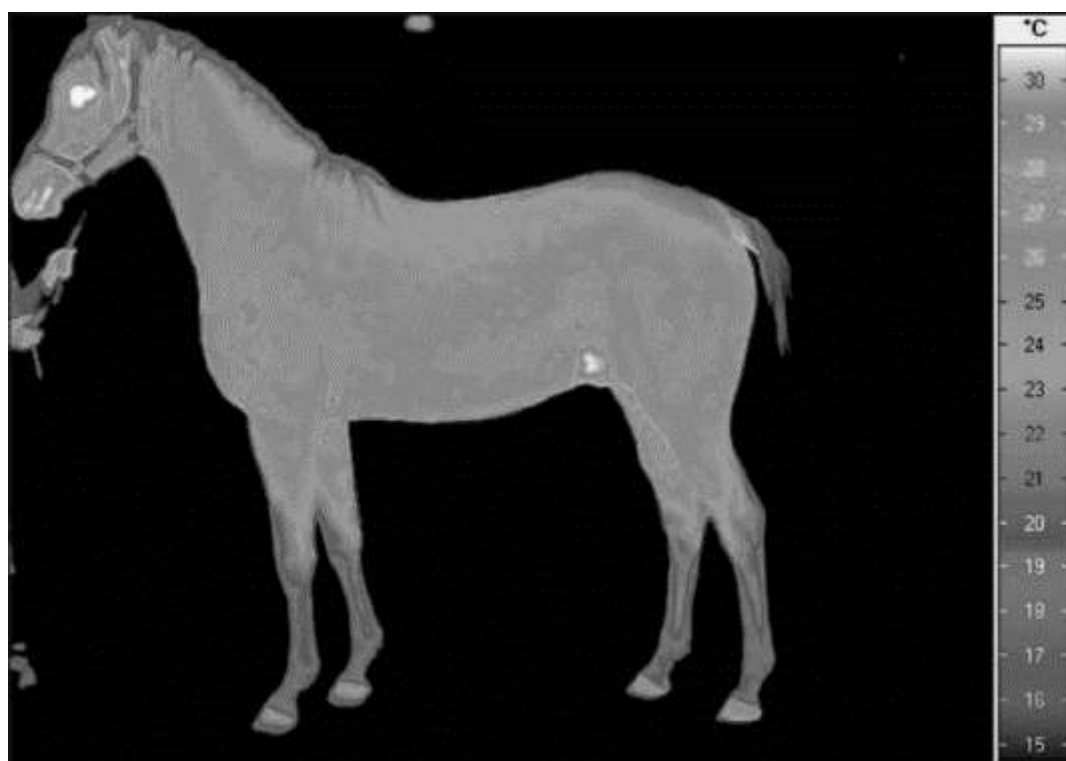


Źródło: Soroko i Jodkowska 2011.

W badaniach, w których prowadzono diagnozę termograficzną w monitorowaniu treningu koni wyścigowych zaobserwowano, że regularny trening powoduje znaczny wzrost temperatury powierzchni ciała koni oraz wzrost temperatury spoczynkowej powierzchni dogrzbietowej ciała i wybranych regionów pomiarowych kończyn piersiowych od strony dłoniowej (Soroko i in. 2015). Można z tego wywnioskować, że temperatura danego osobnika, może być różna w zależności od aktywności fizycznej, jaka jest na niego nakładana w danym czasie. Interpretacja wyników badań termograficznych powinna uwzględniać wszystkie cechy

osobnicze, jak również zabiegi wykonywane na koniu. Na przykład strzyżenie wpływa na temperaturę powierzchni ciała, przez co zjawisko konwekcji następuje intensywniej. Dodatkowo, przy każdym badaniu termograficznym, należy wykonywać pomiar temperatury rektalnej, jako jednego ze wskaźników stanu zdrowia, ponieważ podwyższona temperatura ciała, spowodowana gorączką może również zafałszować wyniki. Koń podczas badań prowadzonych kamerą termowizyjną, powinien stać z dala od przegród konstrukcyjnych oraz urządzeń grzewczych. Istotna jest odległość kamery termowizyjnej, która jest zmienna w zależności od tego, jaka część ciała jest badana. Jeden metr odległości powinien być między kamerą a kończynami i 6-7 m od kamery do całej sylwetki.

Rysunek 4. Termogram sylwetki lewego boku ciała konia



Źródło: Soroko i Jodkowska 2012.

Podczas gromadzenia wyników należy również uważać na to, o jakiej porze dnia przeprowadza się zdjęcia kamerą termowizyjną i kiedy była ostatnia aktywność fizyczna zwierzęcia, ponieważ ma ono inną temperaturę ciała przed i po wysiłku oraz podczas restytucji. Badania prowadzone przez Jodkowską i Soroko (2011) wykazały, że temperatura powierzchniowa ciała, zależna jest od rodzaju wysiłku fizycznego, ruchu oraz od temperatury otoczenia. Ponadto wywnioskowano, że optymalny czas na badania z udziałem kamery

termowizyjnej, to okres przed wysiłkiem lub dzień po wysiłku fizycznym (Soroko i Jodkowska 2012).

Kłopotliwym aspektem używania termowizji może być również cena samego urządzenia, która waha się w granicach od tysiąca do kilkudziesięciu tysięcy złotych. Im wyższa cena, tym rozdzielczość w jakiej pracuje jest zazwyczaj lepsza, uzyskuje się dokładniejszy obraz, większy jest zakres temperatur, jakie kamera może zmierzyć oraz może zawierać szereg dodatkowych, przydatnych funkcji takie jak: wbudowany mikrofon do rejestracji notatek głosowych lub transmisja obrazu w podczerwieni w czasie rzeczywistym na komputer (Rys. 5).

Podczas gromadzenia wyników otrzymanych podczas robienia zdjęć kamerą termowizyjną, należy liczyć się z tym, że nigdy nie będą one w 100% odwzorowaniem stanu rzeczywistego, ze względu na występujące błędy metody, kalibracji i toru elektronicznego.

Rysunek 5. Obraz widziany na wyświetlaczu kamery termowizyjnej



Źródło: http://www.glos.upwr.edu.pl/aktualnosci/47575/maria_soroko_z_upwr_do_usa_na_stypendium_fulbrigtha.html

Podsumowanie

Kamera termowizyjna jest urządzeniem doskonale sprawdzającym się w diagnostyce chorób koni. Umożliwia niezwykle szybkie wykrycie źródła choroby, nawet kilkanaście dni przed pojawieniem się oznak klinicznych w sytuacji, gdy inne metody badań zawodzą. Termowizja umożliwia również monitorowanie postępów w leczeniu zwierząt. Ponadto, może

być ona wykorzystywana w ośrodkach hipicznych przy dobieraniu siodeł. Niemniej jednak trzeba mieć na uwadze, że szereg zmiennych czynników, które mogą wpływać na wyniki badań takie jak: temperatura powietrza atmosferycznego, wilgotność powietrza, intensywny jego ruch, odmienna temperatura na poszczególnych fragmentach ciała zwierzęcia oraz uzyskanie innych wyników w zależności od stanu fizjologicznego konia i prowadzonych przez niego treningów, powoduje znaczne utrudnienia w interpretowaniu zdjęć.

Literatura:

- Krzemowski T., Przała J. 2015. *Fizjologia zwierząt*. Wydawnictwo PWN, Warszawa.
- Minkina W. A., Rutkowski P., Wild W.A. 2000. *Podstawy pomiarów termowizyjnych. Część II – Współczesne rozwiązania systemów termowizyjnych, błędy metody*. PAK. 46: 13-14.
- Minkina W. Rutkowski P. Wild. W. 2000. *Podstawy pomiarów termowizyjnych. Cz. I-Istota termowizji i historia jej rozwoju*. *Pomiary Automatyka Kontrola*, 46(1): 7-10.
- Siodło i koń*. Konie. Szukając doskonałości. <http://konie.rancho-stokrotka.pl/2014/02/06/siodlo-kon-cz-3/> (dostęp 6 lutego 2019).
- Soroko 2011. *Termografia w badaniach kończyn koni sportowych*. *Acta Bio-Optica et Informatica Medica* vol. 17, (2): 104-109.
- Soroko M., Jodkowska E. 2012. *Znaczenie badań termograficznych w użytkowaniu koni i diagnostyce weterynaryjnej*. *Życie Weterynaryjne*. 87(9): 741-752.
- Soroko M., Jodkowska E., Dudek K. 2015. *Diagnoza termograficzna w monitorowaniu rocznego treningu koni wyścigowych*. *Med. Weter.* 71 (1): 51-57.
- Soroko M., Jodkowska E. 2011. *Przydatność badań termograficznych w lecznictwie i użytkowaniu koni*. *Medycyna Wet.* 67 (6) : 397-401.
- Termowizyjne dopasowywanie siodeł*. Konie. Szukając doskonałości. <http://konie.rancho-stokrotka.pl/2010/06/24/termowizyjne-dopasowywanie-siodel/> (dostęp 24 lutego 2019).
- Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu. http://www.glos.upwr.edu.pl/aktualnosci/47575/maria_soroko_z_upwr_do_usa_na_stypendium_fulbrigtha.html (dostęp 18 marca 2018).
- Wikipedia. https://pl.wikipedia.org/wiki/Przewodzenie_ciepła (dostęp 25 stycznia 2019).

Derka magnetyczna jako nowoczesna forma terapii koni **Magnetic rug as a modern form of horse therapy**

Weronika Szustkiewicz
Małgorzata Jurczak
Janina Siczka

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Bioinżynierii Zwierząt
Naukowe Koło Hodowli Koni i Jeździectwa „Togo”
Opiekun naukowy: dr inż. Magdalena Łuczyńska

Abstract

Therapy is a procedure, a series of activities aimed at the patient affected by illness, disability or injury lead to health or to improve the quality of his life. These activities may also have a preventive and completely relaxing and relaxation task. Many methods of therapy are used for a number of different diseases.

Magnetotherapy is a method involving the use of low frequency magnetic field in treatment. It brings effects among others: anti-oedematous, analgesic, healing-regenerating, anti-inflammatory, detoxifying, myorelaxant, metabolism-accelerating and vasodilator (dilating blood vessels).

It can be used for spine pains, injuries caused by workouts or work, i.e. caused by overloads and strains, bone degeneration, inflammation of joints and muscles, but also during postoperative conditions, stress control or for normal relaxation and a form of reward after training in order to raise the animal's efficiency.

One of the forms of magnetotherapy used in horses is the one with the help of a magnetic rug.

Keywords: horse therapy, magnetic rug, magnetotherapy

Wstęp

W obecnych czasach, rola koni w życiu człowieka jest przeważnie zupełnie inna niż jeszcze 50 lat temu. Konie przestały być główną siłą pociągową, używaną w gospodarstwach rolniczych. Ich zadaniem była pomoc człowiekowi przy obrabianiu pól (ciągnięcie pługa), praca przy różnego rodzaju dostawach żywności (np. wozy ciągnięte przez konia jednego lub, w parze rozwożące mleko po wsiach) lub innych towarów oraz szeroko pojętym transporcie (tramwaje konne, bryczki). Obecnie konie użytkowane są głównie wierzchowo (w rekreacji, sporcie). Doskonale sprawdzają się przy rehabilitacji ludzi z niepełnosprawnością (hipoterapia). Biorą udział w pokazach (głównie jako atrakcje lub przy wielkich uroczystościach wymagających obecności szczególnych osobistości, jak Królowa Elżbieta II).

Na całym świecie wykorzystywane są w policji czy wojsku, aktualnie raczej tylko do celów reprezentacyjnych. Rozwój technologii, który tak bardzo zmienia życie współczesnych ludzi, niesie ze sobą dużo dobrego. Postęp, którego nie da się nie zauważyć, pozwala stale odkrywać nowe możliwości terapii i umożliwia wynajdywanie nowych sprzętów do rehabilitacji lub na nowe zastosowanie starych. Cały czas jest zwiększana świadomość i poszerzana wiedza na temat medycyny, form terapii i rehabilitacji, także w rozumieniu bezinwazyjnym i z wykorzystaniem tego, co daje nam natura, lecz należy pamiętać, że fizjoterapia zaczęła być stosowana dla zwierząt w latach 80-tych XX wieku, a w Polsce jeszcze później. (Zdrojewska 2012).

Wzrost zainteresowania różnymi dyscyplinami sportowymi z udziałem koni, np. rajdy, konkurencje skokowe, ujeżdżeniowe, wyścigi czy gra w polo spowodował, że konie zaczęły być intensywniej użytkowane. Trening i zawody są dla nich dużo większym obciążeniem (zarówno fizycznym jak i psychicznym), niż przy dotychczasowych pracach np. w polu, gdzie wysiłek był długotrwały, ale praca była rozłożona bardziej równomiernie, a przez to spokojniejsza i nie tak trudna. W związku z tym wzrosła liczba wszelkich urazów, kontuzji i nadwyrężeń spowodowanych przeciążeniami. Na dodatek często spotkać się można z sytuacją, kiedy to konie użytkowane sportowo oprócz treningu, nie mają zapewnionego innego ruchu w ciągu dnia. Stoi to w sprzeczności z końską naturą, ponieważ w warunkach dla siebie naturalnych, konie stale przemieszczają się za pożywieniem, a z rzadka biegają tak intensywnie jak podczas treningów sportowych. Rzutuje to na sprawność i wydajność koni, a w konsekwencji, powoduje przeciążenia. Można domniemywać, że częstotliwość występowania urazów wynikających z użytkowania koni, jest w przypadku koni sportowych znacznie większa, niż u koni rekreacyjnych. Ponieważ sport jeździecki jest drogi, ale również dochodowy, dobry koń-zawodnik, ma bardzo wysoką wartość rynkową. Właściciele ponoszą duże koszty związane z ich utrzymaniem w dobrej formie. Zapewnieniem odpowiednich pasz i suplementów poprawiających wydolność, a także specyfików pielęgnacyjnych. Nic dziwnego, że przy występowaniu urazów stawiają na wnikliwą, profesjonalną diagnostykę, a w późniejszym etapie na odpowiednią rehabilitację, terapię.

Według Bromiley (2009), za urazami u koni rzadko stoją one same, przeważnie są to wyniki nieoczekiwanych zdarzeń środowiskowych lub błędów człowieka. Wyróżniła ona jako główne przyczyny urazów: brak odpowiednich predyspozycji do uprawiania danej dyscypliny przez konia, niedopasowany a także słabej jakości sprzęt. Konsekwencją nieodpowiedniego

dobrania siodła, jest w pierwszej kolejności bolesność, a następnie usztywnienie grzbietu. Często przyczyną urazów jest źle prowadzony trening i za duże wymagania jeźdźca wobec konia, a także słaba technika jazdy, braki w umiejętnościach, niedostateczna i niewystarczająca wiedza o obchodzeniu się i pielęgnacji koni przez jeźdźców.

Wbrew pozorom, konie sportowe, często ulegają też kontuzjom na wybiegach np. w trakcie zabaw z innymi końmi, kładąc się niefortunnie w boksach czy podczas transportu. Niezależnie od przyczyn i rodzaju kontuzji, trzeba podjąć odpowiednie kroki. Dlatego celem niniejszej pracy było przedstawienie szerokiego spektrum zastosowania derki magnetycznej w terapii u koni, szczególnie w przypadku urazów mechanicznych.

Termiczne metody terapii koni

Wdrożenie odpowiedniej terapii jest kluczowym elementem postępowania w takich przypadkach. Według definicji Bromiley (2009), terapia to szeroko pojęte działania mające na celu przywrócenie sprawności utraconej w wyniku kontuzji, choroby, doprowadzić do zdrowia lub do poprawienia komfortu podczas treningu, pracy czy codziennego funkcjonowania. Zalicza się do tego również rehabilitacja po przebytych zabiegach, operacjach oraz wszystkie działania, mające na celu relaks, profilaktykę i regenerację tkanek. Według Bromiley (2009) celami terapii są: 1) kontrola wczesnych krwotoków i związanych z urazem obrzęków, ograniczając tym samym ich szkodliwe działanie uboczne; 2) zniesienie bólu, by zmniejszyć skurcz mięśni; 3) zwiększenie naturalnych fizjologicznych mechanizmów naprawy tkanek; 4) zapobieganie zrostom i przykurczom.

Jest wiele rodzajów terapii i sposobów leczenia, dobieranych po diagnozie przez lekarzy weterynarii. Możemy do nich zaliczyć między innymi: leczenie objawowe, chemioterapię, leczenie chirurgiczne, ziołolecznictwo, fizjoterapię czy metody alternatywne.

Fizykoterapia to jeden z rodzajów fizjoterapii, gdzie organizm jest poddawany działaniom bodźców fizycznych pobieranych z natury lub wytwarzanych dzięki różnym urządzeniom, które nieustannie są modernizowane, ulepszone i doskonalone na potrzeby fizjoterapeutów oraz ich pacjentów. Do różnych metod fizykoterapii stosowanych u koni można zaliczyć między innymi (Polańska 2016): 1) Hydroterapię – dzięki temu, że ciało jest wypierane przez wodę na powierzchnię, ten rodzaj terapii pozwala na ruch pacjenta przy dość znacznym odciążeniu kości, stawów i mięśni. Dzięki temu jedne ze spodziewanych efektów to:

wzmocnienie mięśni (wybranych grup mięśniowych), zmniejszenie bólu oraz poprawę w ruchomości stawów i rozluźnienie mięśni. Hydroterapia odbywa się np. w basenach lub bieżniach wodnych (Rys.2). 2) Laseroterapia – jest tutaj wykorzystywane promieniowanie laserowe o różnych długościach fali, odmiennych w zależności od kategorii lasera. Długość fali oraz moc lasera dobiera się pod kątem wykonywanego zabiegu (Bromiley 2009). Są dwa rodzaje laserów – zimne oraz gorące, o małej i dużej mocy. Do fizykoterapii wykorzystuje się lasery o mniejszej mocy. Gorące mogą być używane do operacji np. okulistycznych zamiast skalpela. 3) Sonoterapia – czyli terapia ultradźwiękami.

Rysunek.1 Ciepłolecznictwo – solarium dla konia



Źródło: www.equiprojekt.pl.

Głównymi oczekiwanymi efektami tych zabiegów, jest przyspieszone gojenie ran, regeneracja ścięgien i stanów po złamaniach a także zwiększenie rozciągliwości tkanki w bliznach i hamowanie układu współczulnego (Polańska 2016). 4) Ciepłolecznictwo – ciepło działa rozszerzająco na naczynia krwionośne oraz może niwelować napięcia mięśni i sztywność w stawach. Dzięki tym właściwościom, przyspiesza transport krwi i metabolitów przemiany materii. Oczywiście jego działanie jest jeszcze uzależnione od innych czynników takich jak

(Polańska 2016): różnica między temperaturą organizmu a temperaturą bodźca, czyli natężenie bodźca - czas oddziaływania bodźca, powierzchnia, na którą bodziec ma zadziałać, możliwości termoregulacyjnych ustroju, zmian natężenia bodźca w czasie, właściwości fizycznych wchodzących w bezpośredni kontakt ze skórą, tzn. przewodnictwa cieplnego, ciepła właściwego pojemności cieplnej. Wykorzystywane w tej metodzie terapii są wcierki rozgrzewające, solarium (Rys.1) ciepłe okłady lub grube derki rozgrzewające.

Rysunek.2 Hydroterapia – Bieżnia wodna dla konia



Źródło: www.activomed.pl/produkty/bieznie-wodna.

5) Zimnolecznictwo – stosuje się miejscowo na obrzęki. Efekt terapeutyczny uzyskuje się dzięki obkurczeniu naczyń krwionośnych pod wpływem niskiej temperatury. Zimnolecznictwo ma działanie przeciwobrzękowe a także przeciwzapalne. Stosowane jest również po operacjach (w celu zmniejszenia opuchlizny), po złamaniach, naderwaniach ścięgien, mięśni i obrzękach limfatycznych. 6) Magnetoterapia – to wykorzystanie leczniczego działania magnesów oraz urządzeń wytwarzających pole magnetyczne, różniących się charakterystyką fizykalną wpływającą na ustrój (Posłuszny 2015). Ze wszystkich metod terapii u koni, magnetoterapia (Rys.3) obecnie cieszy się największym zainteresowaniem. Jej wszechstronność stanowi zachętę dla właścicieli koni sportowych. Tym bardziej, że jest łatwa w obsłudze. Pole

magnetyczne działa regenerująco na tkanki, gdyż zwiększa ich aktywność poprzez nasilenie krążenia i rozszerzenia naczyń krwionośnych wobec czego, gdy następuje jakiegokolwiek uszkodzenie tkanki, działanie procesów naprawczych jest zwiększone przez rosnącą aktywność transportu błonowego i gospodarki jonowej organizmu, procesów oddychania komórkowego oraz, co bardzo ważne, wzrost syntezy ATP i pobudzenie podziałów mitotycznych. Można powiedzieć, że ma również zastosowanie przeciwbólowe i przeciwobrzękowe. Ten rodzaj terapii jest wskazany właściwie dla każdego problemu z kośćcem, jak np. złamania, stany zwyrodnieniowe, osteoporoza, pęknięcia czy stany zapalne (również stawów i mięśni). Może się dobrze sprawdzić również przy czynnościowych zaburzeniach układu pokarmowego i układu krążenia, trudno gojących się ranach, stanach geriatrycznych i zapaleniu dróg rodnych i jajników. Jest również stosowana jako element zwalczania stresu, formą nagrody, relaksu po treningu, pracy w celu podniesienia efektywności zwierzęcia. Badania przeprowadzone przez Zdrojewską (2012) potwierdziły odprężający wpływ derki magnetycznej na konie, nawet w wieku starym. Najprawdopodobniej ciepło i fale elektromagnetyczne wpływają więc też korzystnie na dolegliwości pojawiające się u koni w podeszłym wieku, takie jak bóle stawów, osłabienie napięcia mięśni.

Efekty terapii z wykorzystaniem derki magnetycznej

Bromiley (2009) wskazuje na znaczenie napięcia elektrycznego, które w naturalny sposób występuje na błonie komórkowej i „pełni specyficzną kontrolę nad zachowaniem komórki, wpływając na wymianę jonową przez jej błonę”. Uważa, że na komórkę i wykorzystanie przez nią energii wpływa wytwarzana przez pole magnetyczne elektrostymulacja, czyli zmiana w jej miejscowym mikrośrodkowisku jonowym. Zastosowanie odpowiedniej dawki i czasu trwania terapii, przywróci sprawność tkanek i skróci okres rehabilitacji. Pamiętać jednak należy, że choć jest to urządzenie o szerokim spektrum działania, ma swoje przeciwwskazania, do których na pewno trzeba zaliczyć ciężę pacjenta, ochwat, nowotwory, choroby nerek oraz zakażenia i wszczepienie elektronicznych rozruszników. Również grzybice skórne, skłonności do krwawień, infekcje bakteryjne i wirusowe, ale także poważne choroby układu krążenia i serca są powodami, dla których warto się zastanowić nad innym rozwiązaniem (Zdrojewska 2012).

Rysunek 3 Derka magnetyczna i ochraniacze do magnetoterapii na poszczególne części nóg konia



Źródło: www.wanthaveit.com/how-to-regenerate-our-horse-after-training.

Urządzenie wykorzystywane przy magnetoterapii koni składa się z elementów, które można zakładać w dowolnych kombinacjach. Są to czapaki, kalosze, ochraniacze zakładane na prawie całą nogę konia, aplikatory płaskie, miejscowe oraz derki magnetyczne. Derki są wyposażone w magnesy neodymowe – czyli magnesy trwałe – które są połączeniem żelaza, boru i neodymu. Jest to produkowane metodami metalurgii proszków, polegającej na prasowaniu sproszkowanych komponentów w polu magnetycznym w podwyższonej temperaturze. (Mają one również zastosowanie w produkcji między innymi głośników i mikrofonów, uchwytów magnetycznych, silników i prądnic, zabawek, magnetyzatorów wody i separatorów magnetycznych, (www.wikipedia.org/wiki/Magnes_neodymowy (dostęp 04.03.2019)). Magnesy te wytwarzają silne pole magnetyczne, jednak derki na pacjenta oddziałują słabym polem magnetycznym. Terapia derką powinna być wykonywana przede wszystkim regularnie, w odstępach nie większych niż dwa dni. Najczęściej można się spotkać z używaniem derki na jeden zabieg przez minimum 30 minut. W zależności od firmy produkującej ten sprzęt i zaleceń lekarza, można wybierać spośród trybów np. natężenia mocy działania derki. Trzeba jednak pamiętać, że nadmierna stymulacja może przynieść odwrotne skutki, a nawet działać szkodliwie na pacjenta, (Bromiley 2009). Magnetoterapię wskazuje się końskim pacjentom praktycznie podczas całego roku, czyli zarówno podczas startów, jak

i w przygotowaniach do nich oraz podczas rekonwalescencji. Coraz częściej widuje się osoby prywatne, zakupujące derki i ochraniacze magnetyczne dla użytku tylko własnego konia (użytkowanie prywatne), które chcą w ten sposób swojego konia relaksować i poprawiać mu komfort życia oraz podnosić efektywność pracy i treningu. Magnetoterapia jako jedna z form fizjoterapii, obecnie jest też postrzegana jako element dodatkowy, wspomagający trening. Rozpowszechniające się pozytywne komentarze właścicieli koni i jeźdźców oraz ich trenerów, przyczyniają się do wzrostu jej popularności. Podczas używania derki konie wydają się być bardzo odprężone i rozluźnione, co pozwala sądzić, że ma ona również działanie relaksacyjne. Na pozytywny efekt, w przypadku poważniejszych kontuzji, przy użyciu derki czy ochraniaczy trzeba poczekać, często prawie do końca wyznaczonego czasu trwania terapii. Oznacza to konieczność kontynuowania zabiegów, mimo iż w pierwszym momencie nie odnotowano wyraźnego zmniejszenia objawów chorobowych. Przy cięższych urazach, zalecany przez lekarza lub fizjoterapeutę okres terapii, zwykle się wydłuża nawet do kilkunastu serii. Istnieje również metoda tzw. skoncentrowanego i kierunkowego pola magnetycznego. W tym przypadku używa się aplikatorów, które nie mają tak rozległego miejsca działania, więc nie oddziałują na sąsiednie tkanki. Chociaż pole zabiegowe może być w tym przypadku duże, możliwe jest także bardzo precyzyjne działanie punktowe. Idzie za tym również bezpieczeństwo terapeuty, który wykonuje zabieg, a także osób towarzyszących, np. właściciela konia (Jastrzębska i in. 2017).

Wszystkie opisane wcześniej aplikatory, mogą być używane w przewlekłym i ostrym stadium kontuzji czy choroby, ponieważ nie mają termicznego działania na organizm, czyli temperatura tkanek zostaje taka sama, ponieważ „energia wytwarzana przez pole magnetyczne jest tysiąc razy mniejsza od energii cieplnej tkanek”(Jastrzębska i in. 2017). W dodatku magnetoterapia jest bezpieczna dla pacjentów, którzy w ciele, jako zespolenia kości mają np. metal. Fale przechodzą przez sierść czy opatrunki, co znacznie ułatwia stosowanie tego urządzenia (Jastrzębska i in. 2017). Badania przeprowadzone przez Zdrojewską (2012) wykazały, że w obrębie zastosowanych ochraniaczy jak i derki magnetycznej, temperatura ciała wzrasta, a zastosowana forma terapii przynosi pozytywny efekt.

W powyższych badaniach wykorzystano kamerę termowizyjną, która zarejestrowała wzrost temperatury ciała w obrębie stosowanej derki i ochraniaczy.

Podsumowując: można stwierdzić, że derka magnetyczna ma szerokie spektrum działania i doskonale sprawdza się w terapii u koni. Można ją stosować przy bólach kręgosłupa,

urazach kończyn, zarówno w stanach ostrych jak i przewlekłych. Wpływa na konie relaksacyjnie i rozluźniająco, co pozwala na stosowanie jej w stanach związanych z przeciążeniem treningiem czy startami w zawodach. Niewielka ilość publikacji naukowych w zakresie stosowania magnetoterapii u zwierząt, skłania do podjęcia w tym kierunku badań.

Literatura

- Bojarczuk D. 2013. *Zastosowanie różnych metod fizjoterapii koni na przykładzie Stadniny Koni Nad Wigrami* (praca inżynierska wykonana w Katedrze Hodowli Koni i Jeździectwa, UWM Olsztyn).
- Bromiley M. 2009. *Urazy u koni, ich leczenie i rehabilitacja* SIMA WLW Warszawa.
- Jastrzębska E., Jóźwowska M., Zdrojewska A. 2017. *Zastosowanie pola magnetycznego w rehabilitacji* Hodowca i Jeździec, 3: 98-101.
- Polańska A. 2016. *Wybrane metody fizjoterapii koni* (praca inżynierska wykonana w Katedrze Hodowli Koni i Jeździectwa, UWM Olsztyn).
- Posłuszny M. 2015. *Magnetoterapia – terapia naturalna wspomóżona osiągnięciami technologii. Wprowadzenie do magnetoterapii*. Praktyczna Fizjoterapia i Rehabilitacja, 63: 16-20.
- www.activomed.pl/produkty/biezniawodna/ (dostęp 04.03.2019).
- www.blackhorse.org.pl/eksperci/fizjoterapeuta-anna-golys/z-fizjoterapia-koni-za-pan-brat/ (dostęp 06.03.2019).
- www.equiprojekt.pl (dostęp 04.03.2019).
- www.equus-sanus.pl/magnetoterapia/ (dostęp 06.03.2019).
- www.equus-sanus.pl/trener-jerzy-krukowski-o-potrzebie-fizjoterapii/ (dostęp 06.03.2019).
- www.wanthaveit.com/how-to-regenerate-our-horse-after-training (dostęp 04.03.2019).
- www.wikipedia.org/wiki/Fizjoterapia (dostęp 04.03.2019).
- www.wikipedia.org/wiki/Fizykoterapia (dostęp 04.03.2019).
- www.wikipedia.org/wiki/Leczenie (dostęp 05.03.2019).
- www.wikipedia.org/wiki/Magnes_neodymowy (dostęp 04.03.2019).
- Zdrojewska A. 2012. *Zastosowanie pola magnetycznego w fizjoterapii koni* (praca magisterska wykonana w Katedrze Hodowli Koni i Jeździectwa, UWM Olsztyn).

Wpływ ruchomości stawu ramiennego na obszerność ruchu u koni.

Influence of shoulder joint mobility on horse movement length

Małgorzata Jurczak
Weronika Szustkiewicz
Janina Sieczka

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Bioinżynierii Zwierząt
Naukowe Koło Hodowli Koni i Jeździectwa „Togo”
Opiekun naukowy: dr inż. Magdalena Łuczyńska

Abstract

The aim of our work is to learn about the impact of the shoulder joint on the movement, which may in the future give the opportunity to create standards. Thus more accurate objective assessment. It may also contribute to a more successful selection in terms of this feature.

The research was carried out on the group of eleven horses. The study included two stages. In the first one, the mobility of the shoulder was examined in the stand-up position. The ability to displace, restore, in and out rotation of the joint was manually checked. The next step was to record the horse in a trot. The shots taken were placed in a computer program and the necessary values were measured.

The results showed a strong significant correlation between the mobility of the shoulder joint and the length of the movement. The exception is the rotation to the inside of the right limb. The interdependence of the left joint's mobility and the movement was greater than of the right one.

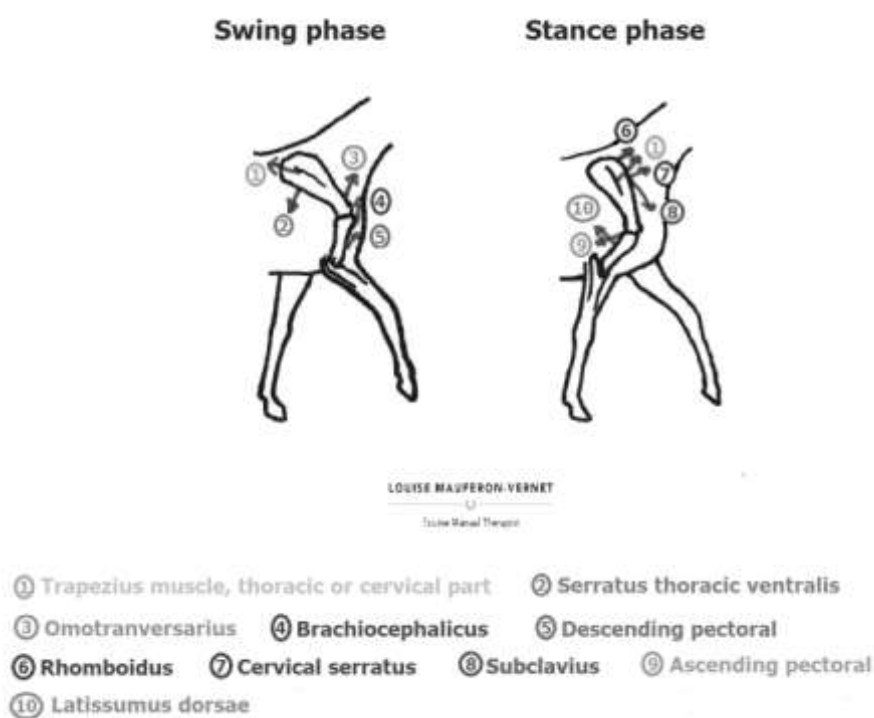
Keywords: shoulder joint, movement, horse

Wstęp

W świecie zachodnim konie są obecnie wykorzystywane głównie w sporcie i rekreacji, co wymaga od nich szybkości i wytrzymałości. Kończyny poddawane są ciągłym przeciążeniom i narażone na liczne urazy. Nawet stosunkowo niewielka niesprawność, może wykluczyć konia z użytkowania (Dyce i in. 2010). Większość ciężaru ciała konia spoczywa na kończynach przednich 60-65 % (Masterson i Reinhold 2011). Pełnią one funkcje podporowe, napędowe a także, amortyzujące. Przymocowane są do tułowia za pomocą grupy mięśni tworzącej tak zwany mięśniozrost. Struktura ta została utworzona na drodze ewolucji, w celu zastąpienia obojczyka. Wiele z tych mięśni ma swój przyczep w okolicy łopatki i kości ramiennej. Część z nich odpowiada za wysuwanie i cofanie kończyny. W momencie przesuwania nogi do przodu, część piersiowa mięśnia czworobocznego ciągnie łopatkę w kierunku górno-tylnym, mięsień zębaty dobrzuszny klatki piersiowej, przesuwa ją w dół, a mięsień łopatkowo-poprzeczny, mięsień ramiennie-główny, oraz mięsień piersiowy

powierzchnowy zstępujący, wysuwają do przodu jej trzon oraz kość ramienną. Zaś przy cofaniu kończyny, udział w tym procesie mają mięśnie: równoległoboczny, część szyjna mięśnia czworobocznego, mięsień zębaty dobrzuszny szyi, które wspólnie przesuwają brzeg dogrzebietowy łopatki do przodu. Ich zadaniem jest ustawienie kończyny w pozycji bardziej pionowej. Natomiast mięsień najszerszy grzbietu i mięsień piersiowy głęboki, cofają kość ramienną (Krysiak i in. 2004). Jak widać, kość ramienna i łopatka, odgrywają dużą rolę w poruszaniu się konia. Ich połączenie stanowi staw ramienny. Jest to staw kulisty, prosty, wieloosiowy, co oznacza, że istnieje możliwość ruchu we wszystkich płaszczyznach (zginanie, prostowanie, odwodzenie, przywodzenie, a także chociaż w przypadku tego połączenia w mniejszym zakresie, odwracania i nawracania części wolnej kończyny). (Akajewski 1994).

Rysunek 1. Mięśnie biorące udział w ruchu łopatki oraz kości ramiennej



Źródło: Louise Mauferon-Vernet Equine Manual Therapist 2018.

Ważną częścią organizmu konia jest układ ustaleniowy. Jest to struktura mięśniowo-ścięgnowa powstała, aby przeciwdziałać nadmiernemu wydatkowi energetycznemu podczas odpoczynku, gdyż mięśnie zdolne do szybkich i intensywnych skurczów, szybko ulegają zmęczeniu. Dlatego układ ustaleniowy pozwala bez zbędnej straty energii odpoczywać koniom na stojąco. Lepiej wykształcony został w kończynach przednich (tzw. pełen układ ustaleniowy).

Bez jego poprawnego działania, nie jest możliwe osiągnięcie poprawnego wykroku. Zapewnia on większą wytrzymałość zwierzęciu, ponieważ przemęczenie mięśni, skutkować mogłoby przejściowym obniżeniem sprawności ruchowej (Soroko 2011). Zatem tylko poprawne współdziałanie wszystkich struktur, może zapewnić obszerny ruch. Ma on duże znaczenie w użytkowaniu koni. „Koń z dobrymi chodami jest wart znacznie więcej aniżeli taki sam pod innymi względami, ale z chodami lichymi, a tym bardziej wadliwymi.” (Pruski 2007). W praktyce mówimy o różnicy nawet w setkach tysięcy euro, gdyż wybitne pod względem ruchu osobniki, osiągają cenę ponad 150,000 euro (German Horse Center). Istnieją różnice w ruchu wyróżniające osobniki wybitne, co może być wynikiem prowadzonej selekcji, a także treningu. Ocena ruchu wykonywana jest przez sędziów, a więc uzależniona jest od sprawności oka ludzkiego oraz subiektywizmu (Holmstrom 1990; Schamhardt 1993), przez co nie zawsze sprawiedliwa. Metod szacowania jego wartości jest bardzo dużo. Można je rozpocząć już od pierwszej chwili zobaczenia konia, poprzez ocenę jego pokroju. Ważnym dla nas czynnikiem, wpływającym na ruch, będzie ustawienie, długość i umięśnienie łopatki oraz kości ramiennej. Obie te kości w stosunku do siebie powinny tworzyć kąt 90 stopni. Dla koni sportowych korzystna jest długa, o pochylonym położeniu łopatka, zapewnia to dużą skalę rozwierania kąta łopatkowo-ramiennego. Daje to możliwość wysokiego unoszenia i dalekiego wyrzutu kończyny w czasie ruchu, co wiąże się z poprawą jego elastyczności. W przypadku koni pociągowych, strome ułożenie łopatki nie jest wadą, ponieważ pozwala na dokładniejsze dopasowanie chomąta, a przez to lepszy rozkład sił. Także mięśnie przyłączone są bardziej prostopadle, a więc siła pociągowa rośnie i ułatwia ciągnięcie. Pożądane jest, aby kość ramienna również była długa. Jednak ważne jest zachowanie odpowiedniego stosunku długości obu kości do siebie, łopatka powinna być dłuższa. Jeżeli sytuacja jest odwrotna, wówczas koń podnosi nogę nisko nad ziemię, co skutkuje częstszym potykaniem się. Nie może ona być również zbyt krótka, gdyż wtedy ruch przedniej nogi jest ograniczony, zwierzę unosi ją tylko wysoko do góry, bez dalekiego wyrzutu na przód. Istotne jest dobre wyrobienie okolicznych mięśni, aby mogły one wykorzystać te możliwości ruchowe (Pruski 2007). Oczywiście staw barkowy nie jest jedynym istotnym elementem na niego wpływającym. Chociażby według badań przeprowadzonych przez Herra i McMahona w 2000 roku, to biodro napędza ruch do przodu, a łopatka go ogranicza (Herr i McMahon 2000). Przykładem oceny biorącej pod uwagę te cechy, jest bonitacja, której wartość maksymalna wynosi 100, nota za ruch stanowi aż 20%, a za kończynę przednią 10%, zaś w przypadku wystaw – wynosi aż 40%. Przy punktowaniu ogierów półkrwi po 100 dniowym treningu wierzchowym, oceniana w kłusie jest jego energia,

długość wykroku, regularność, siła pchająca zad, mocne zginanie i prostowanie stawów, oraz rozluźnienie. Także w przypadku selekcji i doboru hodowlanego ruch ma duże znaczenie. Według PZHK, w pierwszym etapie selekcji źrebiąt oceniane są cechy takie jak: typ, budowa, zdrowie i rozwój oraz ruch (Chrzanowski i in. 2013). Większość z tych ocen polega na obserwacji konia, prowadzonego po linii prostej, z boku (Pruski 2007). Wszystko to potwierdza, że nie istnieją konkretne normy oceny ruchu. Stąd ważne jest holistyczne spojrzenie na konia i zrozumienie działania zależności między budową anatomiczną a wydajnością ruchu konia.

Dlatego celem niniejszej pracy jest poznanie wpływu stawu ramiennego na ruch konia. Badania te mogą w przyszłości przyczynić się do stworzenia bardziej obiektywnej i dokładniejszej metody oceny chodów tych zwierząt. Może to również przyczynić się do przyjęcia nowych wskaźników selekcji pod względem tej cechy

Materialy i metody

Badania zostały przeprowadzone w dwóch niezależnych ośrodkach na grupie jedenastu koni, w gospodarstwie rolniczym o specjalności hodowli i chowu koni w Mycynach i w Ośrodku Jeździeckim Uniwersytetu Warmińsko – Mazurskiego w Olsztynie. Grupa doświadczalna składała się ze zwierząt w różnym wieku (od 5 do 13 lat), o innym stopniu wyszkolenia (począwszy od koni niedawno zajeżdżonych aż do wyszkolonych na poziomie klasy N w ujeżdżeniu czy P w skokach) i odmiennym sposobie użytkowania wierzchowego (6 koni sportowych i 5 koni rekreacyjnych). Konie bezpośrednio przed badaniem nie pracowały, stały w boksie. Każde zwierzę było wyprowadzane z boksu na kantarze i ustawiane w linii prostej, w odległości 3 metrów od osoby trzymającej kamerę na wysokości 143 centymetrów. Osoba przeprowadzająca badanie podnosiła nogę konia do góry (pozycja 0), następnie bez odstawiania nogi na ziemię sprawdzano możliwość odwodzenia (pozycja 1) przez odciągnięcie nogi w tej samej pozycji od ciała konia. Na tej samej zasadzie testowano przywodzenie (pozycja 2) z tym, że noga była przyciskana w kierunku przyśrodkowym. Badano również rotację do wewnątrz i na zewnątrz (pozycja 3 i 4). Wykonanie powyższych czynności zostało przedstawione na rysunku 2.

Każda z tych pozycji jest maksymalnym zakresem ruchu w danej płaszczyźnie, uzyskanej bez wywierania presji na konia. Miało to na celu ocenę swobodnej ruchomości tego stawu. Obie nogi sprawdzono w taki sam sposób. Każda z pozycji koni została sfotografowana, a następnie zbadano konia w ruchu. Zwierzęta w tym celu były kolejno wprowadzane na halę

i nagrywane z odległości 10 metrów od wyznaczonej trasy dla konia w ruchu. Urządzenie, znajdujące się na wysokości 143 centymetrów, skierowane było w jeden punkt. Zwierzę przeprowadzane było klusem, na luźnym uwiązaniu po linii prostej (Rys 5,6,7) w obie strony.

Rysunek 2. Badane pozycje P1, P2, P3, P4 przedstawione na różnych osobnikach



Źródło: Opracowanie własne.

Analizę zdjęć wykonano za pomocą programu graficznego Gimp wersja 2.10.8. Pozycja „0” (rys 3) została wyznaczona poprzez poprowadzenie 2 prostopadłych do siebie linii.

Pionowa została poprowadzona wzdłuż trzonu kości promieniowej, między jej wyrostkiem rylcowatym przyśrodkowym, a bocznym, dalej pomiędzy kością promieniową, a pośrodkową nadgarstka. Pozioma zaś znajduje się na wysokości stawu międzynadgarstkowego.

Rysunek 3 Pozycje „0”.

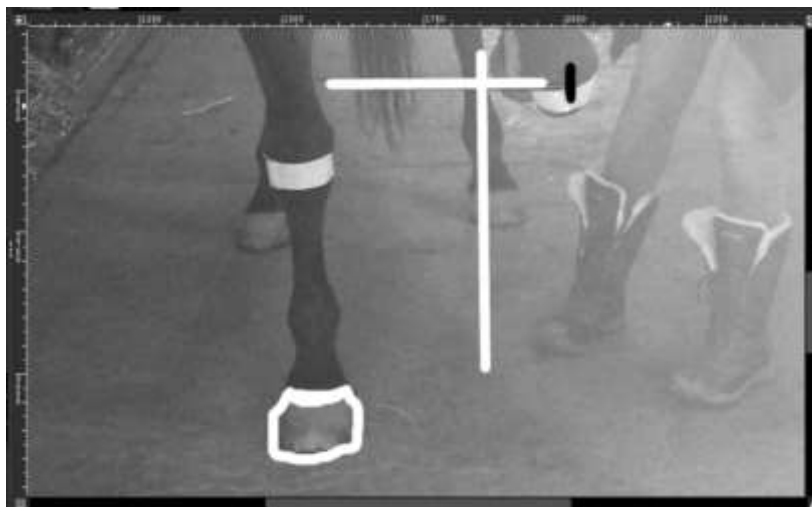


Źródło: Opracowanie własne.

Następnie nakładano na siebie kolejne zdjęcia konia i mierzono odległość w pikselach pomiędzy pozycją „0”, a każdą następną (Rys. 4). Dla ułatwienia nakładania na siebie zdjęć kopyto zostało obrysowane.

Do analizy zakresu ruchu kończyny przedniej konia w trakcie kłusu, wykorzystano wyselekcjonowane 2 ujęcia (klatki) z filmu. Pierwsza przedstawiała moment styku kończyny przedniej z podłożem w chwili jej wybicia (Rys. 5), a kolejna obrazowała moment ponownego kontaktu tej samej kończyny z podłożem (Rys 6).

Rysunek 4. Pomiar różnicy pomiędzy pozycją 0, a 1 (odwodzeniem). Czarną kreską zaznaczono miejsce pomiędzy kością pośrodkową, a promieniową nadgarstka.



Źródło: Opracowanie własne.

Rysunek 5. Moment pierwszego kontaktu prawego kopyta z podłożem.



Źródło: Opracowanie własne.

Zawsze brano pod uwagę nogę znajdującą się od strony aparatu. Klatki umieszczano ponownie w programie komputerowym, zaznaczono miejsce wybicia oraz lądowania kopyta, następnie w pikselach mierzono odległość między nimi (Rys 7).

Rysunek 6 Kolejny kontakt kończyny prawej w podłożem.



Źródło: Opracowanie własne.

Rysunek 7. Zmierzona w programie długość wyroku.



Źródło: Opracowanie własne.

Wyniki wszystkich pomiarów przedstawiono w tabeli 1. Zostały one poddane analizie statystycznej za pomocą programu Statistica. W celu oszacowania zależności między poszczególnymi parametrami ruchomości kończyn, a zakresem ruchu – wykresem konia – obliczono korelację przy użyciu macierzy korelacji.

Wyniki

Wyniki badań wskazują, że staw barkowy wykazuje największą ruchomość w zakresie odwodzenia, następnie przywodzenia, rotacji na zewnątrz i do wewnątrz. Z czego zakres ruchu kończyny lewej jest większy niż prawej. (tabela 1).

Tabela 1. Wyniki pomiarów zakresu ruchomości stawu ramiennego oraz wykroku podane w pikselach opracowane w programie GIMP

Koń	Ol	Op	Pl	Pp	RWl	RWp	RZl	RZp	Wyk l	Wyk p
Denar	186	237	145	138	129	117	135	192	233	213
Murzyn	201	174	150	213	108	168	177	99	225	235
Sierotka	300	201	174	186	135	141	207	144	225	207
Fantyl	222	171	141	189	126	123	177	156	223	222
Ankara	177	210	126	177	105	165	120	117	214	212
Desperados	198	219	135	174	99	105	156	177	201	176
Akcent	150	117	53	109	70	103	119	63	139	143
Figaro	155	116	77	140	45	115	121	78	155	162
Benhur	140	127	112	163	60	145	73	98	143	144
Gniewko	206	211	159	150	91	172	102	124	151	159
Precedens	161	172	118	147	63	164	78	92	140	160
Średnia	190,55	177,73	126,36	162,36	93,73	138,00	133,18	121,82	186,27	184,82

Legenda: O-odwodzenie, P- przywodzenie, R-rotacja, W- do wewnątrz, Z- na zewnątrz, l-kończyna lewa, p-kończyna prawa, Wyk- wykrok

Źródło: Opracowanie własne.

Na podstawie analizy badań przedstawionych w tabeli 2, można stwierdzić, że istnieją zależności między badanymi parametrami ruchomości stawów, a zakresem wykroku koni. Analiza statystyczna wykazała silną zależność pomiędzy ruchomością stawu ramiennego, a zakresem ruchu danej kończyny we wszystkich kierunkach.

Jedyny wyjątek stanowiła rotacja prawej kończyny do wewnątrz. Natomiast w przypadku lewej nogi, korelacja między rotacją do wewnątrz, a wykresem wynosi aż 0,89. Również w stosunku do lewej nogi korelacja pomiędzy rotacją zewnętrzną a wykresem, była bardzo duża (0,79).

Tabela 2. Korelacja między badanymi parametrami ruchomości kończyn, a wykrekiem konia. Za pomocą pogrubienia została zaznaczona silna korelacja

Zmienna	Korelacje. Oznaczone wsp. korelacji są istotne z $p < ,05000$ $N=11$ (Braki danych usuwano przypadkami)											
	Średnia	Odch. std	Ol	Op	Pl	Pp	RWl	RWp	RZl	RZp	Wyk l	Wyk p
Ol	190,55	44,62	1,00	0,52	0,76	0,55	0,78	0,11	0,82	0,52	0,64	0,57
Op	177,73	42,51	0,52	1,00	0,78	0,32	0,74	0,22	0,32	0,82	0,64	0,53
Pl	126,36	35,53	0,76	0,78	1,00	0,68	0,76	0,47	0,49	0,68	0,64	0,62
Pp	162,36	29,18	0,55	0,32	0,68	1,00	0,53	0,42	0,60	0,31	0,65	0,72
RWl	93,73	30,62	0,78	0,74	0,76	0,53	1,00	0,03	0,76	0,76	0,90	0,82
RWp	138,00	26,51	0,11	0,22	0,47	0,42	0,03	1,00	-0,21	-0,22	-0,03	0,18
RZl	133,18	42,40	0,82	0,32	0,49	0,60	0,76	-0,21	1,00	0,46	0,80	0,74
RZp	121,82	41,25	0,52	0,82	0,68	0,31	0,76	-0,22	0,46	1,00	0,71	0,51
Wyk l	186,27	39,99	0,64	0,64	0,64	0,65	0,90	-0,03	0,80	0,71	1,00	0,94
Wyk p	184,82	33,50	0,57	0,53	0,62	0,72	0,82	0,18	0,74	0,51	0,94	1,00

Legenda: O-odwodzenie, P- przywodzenie, R-rotacja, W- do wewnątrz, Z- na zewnątrz, l-kończyna lewa, p-kończyna prawa, Wyk- wykrok, Odch. std- odchylenie standardowe.

Źródło: Opracowanie własne.

Trudno jednoznacznie stwierdzić, dlaczego korelacja między badanymi parametrami w stosunku do lewej nogi, różniła się od prawej. Być może wpływ na to miał sposób prowadzenia treningu (niesymetryczne rozwój mięśni) lub cechy indywidualne. Różnice mogą być też związane z występującą często krzywizną biegnącą po przekątnej prawy przód-lewy tył (Masterson i Reinhold 2011).

Tabela 3. Długości wykroku w pikselach kończyny lewej i prawej koni sportowych

Koń	Wykrok kończyna lewa	Wykrok kończyna prawa	Średnia
Denar	233	213	223
Murzyn	225	235	230
Sierotka	225	207	216
Fantil	223	222	222,5
Ankara	214	212	213
Desperados	201	176	188,5
Średnia	220,2	210,8	215,5

Źródło: Opracowanie własne.

Oznacza to w praktyce, że zwierzę woli dociążyć tę nogę, a więc gromadzi się tam więcej napięć, niż ze strony lewej przedniej. Zatem kończyna lewa będzie charakteryzować się większą swobodą w ruchomości stawu oraz w obszerności wykroku, co potwierdziły wyniki naszych badań.

Tabela 4. Długości wykroku w pikselach kończyny lewej i prawej koni rekreacyjnych

Koń	Wykrok kończyna lewa	Wykrok kończyna prawa	Średnia
Akcent	139	143	141
Figaro	155	162	158,5
Benhur	143	144	143,5
Gniewko	151	159	155
Precedens	140	160	150
Średnia	145,6	153,6	149,6

Źródło: Opracowanie własne.

Szczegółowa analiza wykazała także, że konie sportowe charakteryzują się dłuższym wykrekiem niż konie rekreacyjne (Tab. 3 i 4). Nie zaobserwowano żadnej zależności pomiędzy wzrostem, a długością kroku, co oznacza że parametry te u koni szlachejnych są bezpośrednio związane (Tab. 5).

Tabela 5. Korelacja pomiędzy wzrostem konia, a wykrekiem

Zmienna	Wzrost	Wykrok L	Wykrok P
Wzrost	1	0,035916	0,146957
Wykrok L	0,035916	1	0,942515
Wykrok P	0,146957	0,942515	1

Źródło: Opracowanie własne.

Być może na wyniki te wpłynęły niewielkie różnice pod względem wzrostu w badanej grupie koni. Uzyskane wyniki, uświadamiają nam, jak ważnym elementem dla motoryki koni jest staw ramienny. Jego znaczenie w ruchu na przód, jako ograniczenie impulsu idącego od zadu, pokazuje jak ważne jest jego prawidłowe funkcjonowanie, by umożliwić jak najlepszy wykrok.

Podsumowanie

Przeprowadzone badania wykazały istotny wpływ ruchomości stawu ramiennego na wykrok konia. Korelacja między badanymi parametrami a ruchem koni, została potwierdzona statystycznie. Otwiera to możliwość wykorzystania badanych parametrów do doskonalenia metod oceny ruchu koni.

Wyniki badań zachęcają do ich kontynuacji, a także sprawdzenia wpływu innych partii ciała, mogących mieć istotne znaczenie w poruszaniu się koni, takich jak na przykład poszczególne części kręgosłupa, staw krzyżowo-biodrowy czy biodrowy.

Literatura

- Akrajewski A. 1994 *Anatomia Zwierząt Domowych* Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa.
- Chrzanowski S, Łojek A, Oleksiak S. 2013. *Hodowla i Użytkowanie Koni* Tom 1 Wydawnictwo SGGW: 30-40.
- Clayton M., Flood P., Rosenstein D. 2008 *Atlas Anatomii Klinicznej Konia* Elsevier Urban & Partner, Wrocław.
- Dyce K., Sack W., Wensing C. 2010. *Anatomia Weterynaryjna* Elsevier Urban&Partner, Wrocław.
- German Horse Center Full Service for buying a Horse in Germany https://www.germanhorsecenter.com/horse.html?&no_cache=1&horse=4212&name=Alice-Mare&no_cache=1 (dostęp 3 marca 2019 r.).
- Herr H. i McMahon, June T. 2000. *A Trotting Horse Model* The International Journal Of Robotics Resarch.
- Holmstrom, M., Magnusson, L.E., Philipsson, J. 1990. *Variation in conformation of Swedish Warmblood and conformational characteristics of elite sport horses*. Equine vet. J. 22: 186-193.
- Hopkins S., Pfau T. 2014. *Effect of Side of Handling on Movement Symmetry in Horses*. Equine Veterinary Journal.
- Louise Mauferon-Vernet Equine Manual Therapist <https://www.animal-osteo.com/anatomy-of-the-horse-the-shoulder/> (dostęp 20 lutego 2018r.).
- Masterson J., Reinhold S. 2011. *Metoda Mastersona* Galaktyka, Łódź: 41.
- Prusi W. 2007 *Hodowla Koni* Powszechnie Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa: 238-242.
- Schamhardt, H.C., van Den Bogen. A.J., Hartman. W. 1993. *Measurement techniques in animal locomotion analysis*. Acta Anat. 146: 123-129.
- Soroko M. 2011. *Dlaczego układ ustaleniowy jest charakterystyczny tylko dla konia?* Przegł. Hod. nr 4.

Rozdział V

Aspekty utrzymania i leczenia psów

Analiza efektów ubocznych terapii przeciwnowotworowej u psów ze szczególnym uwzględnieniem kardiotoksyczności doksorubicyny

*Side effects analysis of antineoplastic treatment in dogs, especially
focused on doxorubicin cardiotoxicity*

Karolina Kapturska

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu,
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Studenckie Koło Naukowe Medyków Weterynaryjnych „Chiron”
Opiekun: dr Malwina Słowikowska

Abstract

The aim of this study was to analyse the frequency and clinical significance of chemotherapy adverse events (AE), especially cardiac AE related with anthracyclines administration. Retrospective analysis included 420 treated dogs. Age, breed, body surface, sex, diagnosis, therapy duration, type and dosage of received therapy and AE were compared in each group: DOX, DOX-EPI, EPI and NON. Cardiotoxic doses ($>150 \text{ mg/m}^2$) were administrated to 32 dogs. AE were noted in 53,57% cases with great domination of lethargy (45,47%), anorexia (29,05%), diarrhea (21,90%), vomiting (20,48%) and fever (14,05%). The treatment protocol that included anthracyclines was associated with greater risk of general and gastrointestinal AE.

Cardiac-related AE were rare (2,38%) and no significant differences were noted in terms of cardiac disturbances between dogs treated with or without anthracyclines.

Keywords: cardiotoxicity, doxorubicin, lymphoma, dogs

Wstęp

Doksorubicyna, podobnie jak epirubicyna, należy do grupy antybiotyków antracyklinowych i stanowi element większości schematów terapeutycznych stosowanych w chemioterapii m. in. mięsaków tkanek miękkich i kości oraz chłoniaków (Chun i in. 2007; Frimberger i in. 2016). Protokoły nie zawierające antracyklin cechują się mniejszą skutecznością, prawie dwukrotnie większym ryzykiem wznowy i zgonu oraz krótszym czasem przeżycia (Back i in. 2015; Chun 2009; Lee i in. 2015; Wang i in. 2016). Leki tej grupy mogą wywoływać poważne efekty uboczne takie jak: supresja szpiku, zapalenie żołądka i jelit - gastroenteritis, wyłysienia i uszkodzenie mięśnia sercowego (Falk i in. 2017; Mauldin i in. 1992; Wang i in. 2016). Ze względu na dawkozależną kardiotoksyczność antracyklin, ustalono maksymalną dawkę kumulacyjną doksorubicyny na poziomie 240 mg/m^2 (Chatterjee i in. 2010; Chun i in. 2007; Mauldin i in. 1992). Zmiany echokardiograficzne i zastoinowa niewydolność serca, występują po przyjęciu dawki 150 mg/m^2 , jednak cechy dysfunkcji

mięśnia sercowego mogą pojawić się już poniżej tej dawki ze względu na zmienność osobniczą w reakcji na lek (Mauldin i in. 1992). Dla epirubicyny nie ustalono dawki progowej kardiotoksyczności, jednak może być ona stosowana w wyższych dawkach (Marrington i in. 2012; Minotti i in. 2004).

Przewlekła niewydolność serca, jako powikłanie stosowania doksorubicyny, pojawia się zwykle w ciągu 30 dni od ostatniego podania leku, jednak może występować nawet po 6 - 10 latach u pacjentów otrzymujących wysokie dawki kumulacyjne (Chatterjee i in. 2010). W zależności od zastosowanego schematu leczenia od 25 do blisko 89% pacjentów może doświadczać działań niepożądanych (AE - adverse events) leków cytostatycznych, do których należą głównie neutropenia (CIN – chemotherapy induced neutropenia) i zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego: wymioty (CINV- c. in. nausea and vomiting) i biegunka (CID – c. in. diarrhea). Znaczna większość obserwowanych przypadków, to łagodne zaburzenia i jedynie w 3-24% są to stany zagrażające życiu i/lub wymagające hospitalizacji. Ryzyko śmierci związanej z podjęciem chemioterapii wynosi maksymalnie do 5% (Back i in. 2015; Brown i in. 2018; Frimberger i in. 2016; Harper i Blackwood 2017; Marrington i in. 2012; Vail 2009). Z powodu toksyczności leków cytostatycznych ograniczającej często osiągnięcie pełni możliwości terapeutycznych, dąży się do stosowania form liposomalnych leków.

W porównaniu do tradycyjnej postaci, doksorubicyna liposomalna również często doprowadza do mielosupresji, jednak rzadziej wywołuje objawy gastryczne i nie powoduje zmian strukturalnych w sercu (Børresen i in. 2018; Herman i in. 1983; Kanter i in. 1993; Working i in. 1999).

Cel i Metoda

Celem pracy jest określenie częstości i charakteru powikłań u psów poddanych chemioterapii, ze szczególnym uwzględnieniem kardiotoksycznego działania antracyklin. Nadrzędnym zadaniem przeprowadzonego badania było określenie, czy włączone do schematu terapeutycznego antracykliny zwiększają istotnie ryzyko wystąpienia powikłań z układu sercowo-naczyniowego. Analiza retrospektywna objęła dokumentację medyczną 420 pacjentów przychodni weterynaryjnej „NeoVet” we Wrocławiu, leczonych w latach 2005-2018. Psy w grupie badanej podzielono na cztery podgrupy, w zależności od rodzaju przyjętych leków cytostatycznych: DOX-EPI ($n=17$, w wieku 4-15 lat, 8 samic, 9 samców), DOX ($n=192$, w wieku 1-15 lat, 87 samic, 105 samców), EPI ($n=20$, w wieku 1-12 lat, 7 samic, 13 samców)

i NON ($n=191$, w wieku 0,75-14 lat, 85 samic, 106 samców). Dla każdej grupy utworzono bazy danych zawierające informacje o rasie, wieku, powierzchni ciała i płci pacjentów.

Oceniano czas terapii, zastosowane leki i ich dawki, rodzaj nowotworu oraz odnotowane w trakcie chemioterapii efekty uboczne. Do objawów kardiologicznych zaliczono: zamiany w badaniu echokardiograficznym (obniżenie frakcji skracania i/lub poszerzenie lewej komory serca) oraz nagłe zejścia śmiertelne. Wyniki analiz porównano pomiędzy grupami za pomocą testów statystycznych Kruskal-Wallis'a i Mann Whitney'a, na poziomie istotności $p < 0,05$, przy użyciu oprogramowania GraphPad Prism 5.01 (USA 2007).

Tabela 1. Charakterystyka ogólna grupy badawczej

Parametr		
Wiek (lata)	mediana (zakres)	8 (0,75-15)
Płeć	samce	233 (55,48%)
	samice	187 (44,52%)
Waga (kg)	mediana (zakres)	25,5 (2,5-88)
Rasy	<i>n (%)</i>	
	rasa mieszana	93 (22,14)
	owczarek niemiecki	32 (7,62)
	bokser	23 (5,48)
	golden retriever	22 (5,24)
	american staffordshire	20 (4,76)
	terier	
	inne	230 (54,76)

Źródło: Opracowanie własne.

Wyniki

W grupie badanej znalazło się 420 psów. Szczegółową charakterystykę zawierają tabele 1 i 2. Dominującym rozpoznaniem był chłoniak ($n=351$, 83,57%), w 65 przypadkach rozpoznano różnego typu mięsaki (15,48%), a pozostałe 4 przypadki stanowiły inne typy nowotworów (obłoniak, rak płaskonabłonkowy i gruczolakorak). Pacjenci, poza antracyklinami, przyjmowali lomustynę, karboplatynę, mitoksantron, cyklofosfamid i cisplatynę. Czas trwania terapii wynosił średnio $18,72 \pm 21,63$ tygodnia, z medianą równą 12 tygodni w przedziale od 1 tygodnia (19,05% psów) do 177 tygodni (0,24%). Objawy niepożądane wystąpiły u 53,57% psów ($n=225$). Do najczęstszych należały: apatia (84,88%), brak apetytu (54,22%), biegunka (40,88%), wymioty (38,22%) i gorączka (26,22%).

U piętnastu psów (3,57%) odnotowano niedoczynność tarczycy. Inne działania niepożądane, takie jak ostre zapalenie trzustki, żółtaczkę, poliurię, polidypsja, hematuria, anuria, zmiany skórne, uogólniona wybroczynowość czy utrata sierści, występowały u mniej niż 6% pacjentów. Grupy nie różniły się istotnie pod względem masy ciała, wieku czy płci.

Tabela 2. Charakterystyka poszczególnych grup terapeutycznych

Grupa	DOX-EPI	DOX	EPI	NON
Liczba psów	17	192	20	191
Wiek	(lata)			
Mediana (zakres)	9 (4-15)	8,5 (1-15)	8 (1-12)	8,5 (0,75-14)
Powierzchnia ciała	(m ²)			
Mediana (zakres)	0,77 (0,16-1,36)	0,86 (0,33-1,9)	0,88 (0,33-1,36)	0,94 (0,2-1,88)
Płeć	n (%)			
Samce	9 (52,94)	105 (54,69)	13 (65,00)	106 (55,50)
Samice	8 (47,06)	87 (45,31)	7 (35,00)	85 (44,50)
Czas terapii	tyg.			
Mediana (zakres)	34 (5-177)	19 (1-110)	12,5 (1-49)	3 (1-84)
Dawka kumulacyjna	(mg/m ²)			
Doksorubicyna				
Mediana (zakres)	60 (30-210)	90 (30-320)	-	-
Epirubicyna				
Mediana (zakres)	30 (30-150)	-	30 (30-150)	-
Objawy niepożądane	n (%)			
Apatia	12 (70,59)	113 (58,85)	7 (35,00)	59 (30,89)
Brak apetytu	9 (52,94)	74 (38,54)	1 (5,00)	38 (19,89)
Biegunka	6 (35,29)	56 (29,17)	5 (25,00)	25 (13,09)
Wymioty	7 (41,18)	48 (25,00)	1 (5,00)	30 (15,71)
Gorączka	3 (17,65)	30 (15,62)	3 (15,00)	23 (12,04)
Inne	<2 (<11,76)	<15 (<7,81)	≤1 (5,00)	≤4 (2,09)

legenda: grupa DOX-EPI – pacjenci przyjmujący zarówno doksorubicynę jak i epirubicynę, grupa DOX – pacjenci przyjmujący doksorubicynę bez epirubicyny, grupa EPI – pacjenci przyjmujący epirubicynę bez doksorubicyny oraz grupa NON – pacjenci nie przyjmujący antracyklin

Źródło: Opracowanie własne.

Grupy pacjentów przyjmujące antracykliny, charakteryzował istotnie dłuższy czas terapii w porównaniu do grupy NON. W grupach DOX-EPI i DOX odnotowano wyższy odsetek powikłań (apatia, brak apetytu, biegunka), niż w grupie psów nie przyjmujących antracyklin ($p < 0.0001$), natomiast w grupie EPI odsetek ten był zbliżony. W grupie DOX-EPI wymioty występowały statystycznie istotnie częściej, niż w grupie EPI ($p = 0.0059$). Oprócz istotnie wyższego odsetka powikłań u psów, które przyjęły trzecią dawkę doksorubicyny w porównaniu do tych, u których podano jedną dawkę ($p = 0.0036$), nie odnotowano wpływu

całkowitej przyjętej dawki leku na zwiększenie częstości występowania efektów ubocznych terapii.

Powikłania ze strony układu sercowo-naczyniowego i gorączka występowały ze zbliżoną częstością w każdej z grup. Dawkę progową dla kardiotoxyczności dokсорubicyny ($> 150 \text{ mg/m}^2$) przyjęło 32 pacjentów (7,62% psów), a objawy kardiologiczne odnotowano u 10 pacjentów (2,38%). Wśród nich odnotowano 3 przypadki nagłej śmierci oraz 7 przypadków dysfunkcji skurczowej lewej komory z frakcją skracania poniżej normy fizjologicznej ($\text{FS} < 25\%$). Śmiertelność w całej grupie wynosiła 1,7%.

Dyskusja

Działania niepożądane leków cytostatycznych pojawiły się u 53,57% psów, co stanowi wysoki wynik w porównaniu do wcześniejszych badań (Back i in. 2015; Brown i in. 2018; Frimberger i in. 2016; Harper i Blackwood 2017; Lucas i in. 2015). W ocenie toksyczności epirubicyny, działania niepożądane występowały u 58% pacjentów i znaczną większość stanowiły zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego (Marrington i in. 2012). CINV/CID lub CIN to dwa najczęściej występujące efekty uboczne, przewaga jednego bądź drugiego, zależy od przyjętego protokołu leczenia i rodzaju terapii (Back i in. 2015; Marrington i in. 2012). CIN (22,72% psów) nie wpływa na zwiększone ryzyko występowania objawów z przewodu pokarmowego czy skłonność do krwawień i jako parametr laboratoryjny rzadko manifestujący się klinicznie, nie został poddany ocenie (Back i in. 2015; Finlay i in. 2017).

Najczęściej występującymi klinicznie działaniami niepożądanymi w badanej grupie, była apatia i brak apetytu (odpowiednio 45,47% i 29,05% psów) i jest to wartość zbliżona do wyników Marringtona i in. (2012), opisującego powikłania wśród psów przyjmujących epirubicynę. Również biegunka i wymioty w grupie EPI i DOX-EPI występowały z podobną częstością (29:27% i 21:24%). W badaniu odnotowano nieco wyższy odsetek psów apatycznych oraz anoreksji (odpowiednio 51:29% i 27:19%), jednak jako objawy mało precyzyjne w ocenie, mogły zostać przeszacowane. Marrington i in. (2012) opisuje przypadki reakcji alergicznych – obrzęku w obrębie pyska i świądu oraz uogólnionej pokrzywki, jednak żaden z tych objawów nie występował u psów przyjmujących epirubicynę w grupie badanej.

U 5,4% pacjentów w grupie EPI wystąpiło ostre zapalenie trzustki i był to znacznie wyższy wynik, niż notowany przez poprzednich autorów, jednak mała liczebność grupy zaniża jej wartość statystyczną. Objawy z przewodu pokarmowego są drugim najczęściej notowanym efektem ubocznym chemioterapii (Brown i in. 2018, Vail 2009). Wśród psów poddanych

chemioterapii CID oraz CINV (odpowiednio 21,9% i 20,48%), występowały z częstością zbliżoną lub niższą do notowanej w poprzednich badaniach. Biegunka występowała częściej niż wymioty (tab.3) (Smallwood i in. 2019). Zastosowanie doksorubicyny, lecz nie epirubicyny, w schemacie terapeutycznym, wiąże się z wyższym odsetkiem przypadków anoreksji i biegunki, co zostało także potwierdzone we wcześniejszych badaniach. Udowodniono zbliżoną skuteczność schematu CMOP (cyklofosfamid, mitoksantron, winkrystyna, prednizolon) w leczeniu chłoniaka, w którym doksorubicynę zastąpiono mitoksantronem, przy jego zmniejszonej toksyczności dla przewodu pokarmowego (Wang i in. 2016).

Tabela 3. Porównanie częstości występowania efektów ubocznych dotyczących przewodu pokarmowego podczas chemioterapii z użyciem różnych protokołów terapeutycznych

	Harper, Blackwood 2017	Back i in. 2015	Frimberger i in. 2016	Lucas i in. 2015		Marring- ton i in. 2012
				Terapia komercyjna	Terapia liposo- malna	
n	65	88	38	8	7	139
Nudności	-	-	-	-	-	-
Biegunka	-	-	-	1	3	38
Wymioty	-	-	-	3	5	34
Brak apetytu	-	-	-	7	5	27
Ogółem GI	18,46%	31,8%	26,32% (6)	-	-	-

Źródło: Opracowanie własne na podstawie literatury.

Znacznie niższy odsetek CID/CINV – 18,46% – odnotowano w przypadku zastosowania metronomicznej terapii cyklofosfamidem, a za główną przyczynę uważa się zastosowanie w leczeniu NLPZ (Harper i Blackwood 2017). Mimo, iż znaczna większość objawów z przewodu pokarmowego jest łagodna i krótkotrwała, w najnowszym badaniu nad protokołem DMAC (deksametazon, melfalan, aktynomycyna D, cytarabina), 6% psów musiało zostać poddanych hospitalizacji (Smallwood i in. 2019). Wśród pacjentów przyjmujących winkrystynę CID i CINV notowane były ponad dwukrotnie rzadziej niż w badaniach Back i in. 2015, co może być związane z niską dawką leku lub niedoszacowaniem występowania tego objawu, co zawsze stanowi pewne ograniczenie badań retrospektywnych. Lomustyna cechuje się wysoką hepatotoksycznością, pojawiającą się u ponad 25% psów (Brown i in. 2018). Uszkodzenie wątroby było rzadko notowane (1,43%), w związku ze znikomym odsetkiem psów przyjmujących ten lek na tle całej grupy. Gorączka występowała u 26,22% psów. Brak jest precyzyjnych danych na temat częstości występowania gorączki u psów poddanych

chemioterapii. U tych leczonych karmustyną, winkrystyną i prednizonem występowała w ok. 15% przypadków, natomiast u pacjentów hospitalizowanych, leczonych epirubicyną – u 25%, zawsze z neutropenią (Lucas i in. 2015 i Marrington i in. 2012).

Wśród pacjentów przyjmujących doksorubicynę, wyłysienia były jednym z rzadziej występujących objawów (5,26% psów), mimo to mogą dotyczyć nawet 19% pacjentów przyjmujących ten lek. Szczególnie często objaw ten dotyczy ras szorstkowłosych i z sierścią o skręconym włosie, które stanowiły niewielki odsetek badanej grupy (Falk i in. 2017). Co ciekawe, w badaniu Lucasa i in. (2015), objaw hiperpigmentacji i alopecja występowały u większości pacjentów (86-100%), co zapewne wynika z podawania pacjentom karmustyny, której nie otrzymywały psy w grupie badanej.

Aseptyczne, krwotoczne zapalenie pęcherza moczowego, pojawia się najczęściej w związku z zastosowaniem cyklofosfamidu w schemacie terapeutycznym i w terapii metronomicznej może obejmować nawet 25% pacjentów (Harper i Blackwood 2017). U 7 psów, u których odnotowano krwiomocz (1,67% grupy badanej), stosowano cyklofosamid. Cystitis występuje również w formie podklinicznej (ok. 10% psów), co mogło mieć wpływ na niedoszacowanie częstości występowania tego objawu, ze względu na brak rutynowych badań mikroskopowych osadu moczu.

Psy z klinicznymi objawami kardiologicznymi stanowiły niewielki odsetek (2,38%) całej grupy badanej. Objawy te występowały z równą częstością, bez względu na fakt przyjęcia przez pacjentów antracyklin. Zależnie od uznanych kryteriów kardiotoxyczności i przyjętej dawki kumulacyjnej leku, objawy występują u 8 do 64% psów (Mauldin i in. 1992; Ratterree i in. 2012). W grupie DOX i DOX-EPI odsetek ten był jeszcze niższy i wynosił 2,39% psów. Rzadko dochodzi do manifestacji klinicznej, natomiast częściej występują przedwczesne pobudzenia komorowe i nadkomorowe, tachykardia nadkomorowa i blok odnogi pęczka Hisa (Mauldin i in. 1992; Ratterree i in. 2012). Zmiany widoczne są także w badaniu echokardiograficznym w postaci poszerzenia lewej komory serca ($>LVIDd$), zwiększonej odległości przedniego płątka zastawki mitralnej od przegrody międzykomorowej (EPSS) i obniżonej frakcji skracania ($<FS\%$), świadczących o dysfunkcji skurczowej lewej komory (Mauldin i in. 1992). W tej pracy kryteria dla kardiotoxyczności indukowanej doksorubicyną, zawężono do klinicznie istotnych objawów sercowo-naczyniowych, a wyniki badań elektrokardiograficznych nie podlegały ocenie. Stąd, odsetek powikłań kardiologicznych, jest niższy niż u poprzednich autorów, korzystających w swych badaniach z szerszej zarysowanych kryteriów. Wśród pacjentów z objawami kardiologicznymi, 50% psów znajdowało się w grupie

DOX. U tych pacjentów doszło do upośledzenia funkcji skurczowej serca (<FS 25%), natomiast nie odnotowano przypadku śmierci związanego z przyjmowaniem antracyklin, choć śmiertelność wśród psów na tle kardiotoksyczności, plasuje się na poziomie 4% (Mauldin i in. 1992). Nie zaobserwowano również objawów zastoinowej niewydolności serca. Jak podaje literatura objawowa, kardiomiopatia, z nietolerancją wysiłku, kaszlem i utrudnionym oddychaniem, rozwija się u mniej niż 2,5% pacjentów leczonych doksorubicyną (Mauldin i in. 1992; Ratterree i in. 2012). W 2015 roku opisano przypadek wystąpienia kardiomiopatii rozstrzeniowej u psa leczonego epirubicyną, jednak wcześniej przyjął on wysoką dawkę doksorubicyny (Lee i in. 2015). W badaniu większej populacji psów leczonych epirubicyną (n=139), odnotowano 1 przypadek krótkotrwałej tachykardii nadkomorowej, jednak bez objawów klinicznych (Marrington i in. 2012). Nawet psy z graniczną FS%, nie rozwijały objawów klinicznych niewydolności mięśnia sercowego, pomimo przyjęcia dawki 120 mg/m², a więc zbliżonej do kardiotoksycznej. W prezentowanym badaniu jedynie u jednego pacjenta przyjmującego epirubicynę, odnotowano istotny spadek kurczliwości (FS<10%), prawdopodobnie o innej etiologii, z uwagi na niską przyjętą dawkę leku (30 mg/m²).

Wszystkie przypadki nagłej śmierci wśród analizowanych pacjentów wystąpiły w grupie NON i jest mało prawdopodobne, by wynikały z kardiotoksycznego wpływu leków cytostatycznych, choć za takie uważa się również cyklofosfamid, cisplatynę i winkrystynę (Jurczak i Ogórka 2010). Ze względu na krótki czas od podania leku do zgonu, za najbardziej prawdopodobną przyczynę podejrzewa się wstrząs anafilaktyczny. Odsetek przypadków śmiertelnych podczas chemioterapii był niski i zbliżony do prezentowanych we wcześniejszych badaniach (Marrington i in. 2012). Do precyzyjnej oceny toksyczności chemioterapii u psów, stosuje się powszechnie standardowe wytyczne opracowane przez Veterinary Cooperative Oncology Group (2016). W celu ujednocionej i precyzyjnej oceny częstości występowania działań niepożądanych, należy podjąć starania, by onkolodzy weterynaryjni, w codziennej praktyce, posługiwali się ich ewaluacją według międzynarodowych kryteriów (VCOG-CTCAE 2016).

Podsumowanie

Powikłania chemioterapii występują u około połowy pacjentów, jednak są to objawy łagodne i z pełną stanowczością należy zalecać podjęcie chemioterapii w przypadku nowotworów chemiowrażliwych, gdyż korzyści płynące z terapii dominują znacznie nad ryzykiem związanym z występowaniem efektów ubocznych. Pacjenci poddani chemioterapii,

mimo powszechnego stosowania antracyklin w protokołach terapeutycznych, rzadko przyjmują dawki uznane za kardiotoksyczne. Powikłania ze strony układu sercowo-naczyniowego są bardzo rzadkie i występują z równą częstością, zarówno wśród pacjentów przyjmujących antracykliny, jak i tych leczonych schematami bez ich użycia. Leki te odpowiadają natomiast za zwiększone ryzyko objawów z przewodu pokarmowego, co jest głównym problemem klinicznym u pacjentów onkologicznych i stanowi najczęściej manifestowany klinicznie efekt uboczny chemioterapii.

Literatura

- Back A.R., Schleis S.E., Smrkovski O.A., Lee J., Smith A.N., Phillips J.C. 2015. *Mechlorethamine, vincristine, melphalan and prednisone (MOMP) for the treatment of relapsed lymphoma in dogs*. *Vet Comp Oncol.* 13(4): 398-408.
- Børresen B., Hansen A.E., Kjaer A., Andresen T.L., Kristensen A.T. 2018. *Liposome-encapsulated chemotherapy: Current evidence for its use in companion animals*. *Vet Comp Oncol.* 16(1): E1-E15.
- Brown P.M., Tzannes S., Nguyen S., White J., Langova V. 2018. *LOPP chemotherapy as a first-line treatment for dogs with T-cell lymphoma*. *Vet Comp Oncol.* 16(1): 108-113.
- Chatterjee K., Zhang J., Honbo N., Karliner J.S. 2010. *Doxorubicin cardiomyopathy*. *Cardiology.* 115: 155-162.
- Chun R. 2009. *Lymphoma: Which chemotherapy protocol and why?* *Top Companion Anim Med.* 24: 157-162.
- Chun R., Garrett, L.D., Vail, D.M. 2007. *Cancer chemotherapy* [w:] Withrow S.J., Vail D.M. (Eds.) *Small animal clinical oncology 4th Edition*. Saunders Elsevier, St. Louis: 163-192.
- Falk E.F., Lam A.T., Barber L.G., Ferrer L. 2017. *Clinical characteristics of doxorubicin-associated alopecia in 28 dogs*. *Vet Dermatol.* 28(2): 207-248.
- Finlay J., Wyatt K., Black M. 2017. *Evaluation of the risks of chemotherapy in dogs with thrombocytopenia*. *Vet Comp Oncol.* 15(1): 151-162.
- Frimberger AE, Chan CM, Moore AS. 2016. *Canine osteosarcoma treated by post- amputation sequential accelerated doxorubicin and carboplatin chemotherapy: 38 Cases*. *J Am Anim Hosp Assoc.* 52(3): 149-156.
- Harper A., Blackwood L. 2017. *Toxicity of metronomic cyclophosphamide chemotherapy in a UK population of cancer-bearing dogs: a retrospective study*. *J Small Anim Pract.* 58(4): 227-230.
- Herman E.H., Rahman A., Ferrans V.J., Vick J.A., Schein P.S. 1983. *Prevention of chronic doxorubicin cardiotoxicity in beagles by liposomal encapsulation*. *Cancer Res.* 43(11): 5427-5432.
- Jurczak W., Ogórek T. 2010. *Posttreatment cardiotoxicity in patient with lymphoma*. *Onkol. Prak. Klin. Supl. A:* A18-A24.

- Kanter P.M., Bullard G.A., Pilkiewicz F.G., Mayer L.D., Cullis P.R., Pavelic Z.P. 1993. *Preclinical toxicology study of liposome encapsulated doxorubicin (TLC D-99): comparison with doxorubicin and empty liposomes in mice and dogs*. In Vivo. 7(1): 85-95.
- Lee Y.R., Kang M.H., Park H.M. 2015. *Anthracycline-induced cardiomyopathy in a dog treated with epirubicin*. Can Vet J. 56(6): 571-579.
- Lucas S.R., Maranhão R.C., Guerra J.L., Coelho B.M., Barboza R., Pozzi D.H. 2015. *Pilot clinical study of carmustine associated with a lipid nanoemulsion in combination with vincristine and prednisone for the treatment of canine lymphoma*. Vet Comp Oncol. 13(3): 184-193.
- Marrington A.M., Killick D.R., Grant I.A., Blackwood L. 2012. *Toxicity associated with epirubicin treatments in a large case series of dogs*. Vet Comp Oncol. 10(2): 113-123.
- Mauldin G.E., Fox P.R., Patnaik A.K., Bond B.R., Mooney S.C., Matus R.E. 1992. *Doxorubicin-induced cardiotoxicosis. Clinical features in 32 dogs*. J Vet Intern Med. 6(2): 82-88.
- Minotti G., Menna P., Salvatorelli E., Cairo G., Gianni L. 2004. *Anthracyclines: molecular advances and pharmacologic developments in antitumour activity and cardiotoxicity*. Pharmacological Reviews; 56: 185 – 229.
- Ratterree W., Gieger T., Pariaut R., Saelinger C., Strickland K. 2012. *Value of echocardiography and electrocardiography as screening tools prior to Doxorubicin administration*. J Am Anim Hosp Assoc. 48(2): 89-96.
- Smallwood K., Tanis J.B., Grant I.A., Blackwood L., Killick D.R., Amores-Fuster I., Elliott J., Mas A., Harper A., Marrington M., Finotello R. 2019. *Evaluation of a multi-agent chemotherapy protocol combining dexamethasone, melphalan, actinomycin D, and cytarabine for the treatment of resistant canine non-Hodgkin high-grade lymphomas: a single center's experience*. Vet Comp Oncol. 17(2): 165-173.
- Vail D.M. 2009. *Supporting the veterinary cancer patient on chemotherapy: neutropenia and gastrointestinal toxicity*. Top Companion Anim Med. 24(3): 122-129.
- Veterinary cooperative oncology group - common terminology criteria for adverse events (VCOG-CTCAE) following chemotherapy or biological antineoplastic therapy in dogs and cats v1.1*. 2016. Vet Comp Oncol. 14(4): 417-446.
- Wang S.L., Lee J.J., Liao A.T. 2016. *Comparison of efficacy and toxicity of doxorubicin and mitoxantrone in combination chemotherapy for canine lymphoma*. The Canadian veterinary journal. 57(3): 271-276.
- Working P.K., Newman M.S., Sullivan T., Yarrington J. 1999. *Reduction of the cardiotoxicity of doxorubicin in rabbits and dogs by encapsulation in long-circulating, pegylated liposomes*. J Pharmacol Exp Ther. 289(2): 1128-1133.

Nauka psa z pomocą rozproszeń: respektowanie komendy na przywołanie

Teaching a dog with the help of distractions: respecting the summoning command

Monika Karwan

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Wydział Bioinżynierii Zwierząt
Studenckie Koło Naukowe Miłośników Psów Użytkowych
Opiekun: dr inż. Janusz Strychalski

Abstract

The aim was to find out whether using distractions improves a dog's compliance to the summoning command.

The dogs speed was studied as he ran to its owner as well as his ability to ignore distractions. The control method was leaving the dog away from its owner at a distance of 26 meters without any distracting factors. This was followed by six different attempts. Each attempt took place at 11 meters between the dog and the owner and was repeated three times while using a distracting stimulus by the person distracting; three times with toys, and three times with a snack. Each time the dog ran to its owner in response to the command “do mnie”. The person distracting shortened their distance from the dogs running axis with each attempt (2,5 m, 0,5m, and 0 m). During the last attempt the distance between the dog and the owner was expanded to 26 meters. In the end the dogs speed was measured at a distance of 26 meters without any distracting factors.

The results obtained in the experiment indicate that the dog's running speed to the owner in response to the recall command improved from 6.18 m/s to 6.25 m/s, namely 0.07 m/s. At a distance of 26 m, this shortens the time of dog approaching by 1.91 seconds. However, if the distracting person was standing exactly on the dog's running line, his response to the recall did not improve. On the other hand, counting events when the dog was able to disregard distractions or give them away gave ambiguous results.

Keywords: dogs, distractions, recall command

Wstęp

Wielu właścicieli psów chciałoby, aby podczas spacerów ich podopieczni trzymali się blisko nich, bez konieczności zapinania ich na smycz. W takiej sytuacji nieodzowna staje się nauka przywołania psa. U psów chodzących bez smyczy, przywołanie jest prawdopodobnie najważniejszą komendą, którą pies musi respektować, bowiem pies niereagujący właściwie na komendę przywołującą, nie jest odpowiednio przystosowany do bezpiecznego współżycia z ludźmi i innymi psami (Sjösten 2006). Wiele problemów przestaje mieć znaczenie, kiedy nauczymy naszego psa przychodzenia na zawołanie. Niezwykle dogodna jest możliwość

przywołania psa zawsze, w każdej sytuacji, jak chociażby podczas pogoni za rowerem lub podbieganiem do innych ludzi, a nawet obskakiwaniem ich. Ugruntowane przywołanie daje możliwość zapanowania nad zwierzęciem, a także pozwala przeciwdziałać nieprzyjemnym w skutkach incydentom. Życie z psem uwarunkowanym na komendę przywołującą jest bardziej komfortowe, zarówno dla człowieka, jak i zwierzęcia (Gałuszka 2007).

Właściciele psów, którzy bezskutecznie próbują nauczyć psa przybiegania na przywołanie, bardzo często nie zdają sobie sprawy z różnicy między zachętą do wykonania tego zadania, a jego odpowiednim wzmocnieniem. Tacy właściciele nie wiedzą, że - początkowo - każdą lub prawie każdą oczekiwaną reakcję, jaką uda się wywołać, trzeba wzmocnić. Jeśli się to zaniedba, wówczas zachęta do wykonania zadania (np. komenda „do mnie”) przestaje działać. Wtedy właściciele zazwyczaj wymyślają inne zachęty, aby uzyskać oczekiwane zachowanie, ale po jakimś czasie i one przestają działać, ponieważ zachowanie nie jest wzmocniane (np. smakołykiem czy atrakcyjną zabawą) (Woźniak 2008). Zachęta ma służyć tylko za podpowiedź dla psa, aby przybiegł do właściciela, a wtedy należy psa przekonać, że wykonanie zadania skutkuje czymś przyjemnym. Trzeba pamiętać, że psy nie podporządkowują się komendom ani zachętom, tylko prawom rządzącym procesem uczenia (Donaldson 2007). Tymczasem, zdecydowana większość właścicieli, najpierw przywołuje psy, a gdy te przychodzą, nie oferuje im niczego atrakcyjnego, a wręcz przeciwnie, zapina je na smycz, co dla psa oznacza koniec swobody i atrakcji.

Jednak życie z psem, szkolenie go i egzekwowanie przez niego komend, mają miejsce nie w laboratorium, lecz poza nim (Owens 2008). Zasadniczą różnicą między warunkami laboratoryjnymi a rzeczywistymi, realnymi, jest obecność w tym drugim środowisku tzw. rozproszeń, czyli elementów dekoncentrujących psa. Rozproszeniami dla naszego psa są inne psy, inne zwierzęta (np. koty), chodzący lub biegnący ludzie, zapachy, różne odgłosy, rowerzyści, motocykliści, przejeżdżające samochody itd. Naukę komendy przywołującej zaczynamy najczęściej bez rozproszeń. Stosunkowo szybko okazuje się jednak, że w obecności rozproszeń, pies nie reaguje prawidłowo (jeśli w ogóle) na komendę przywołania. Pies w odpowiedni sposób reagujący na przywołanie, może kontynuować naukę w obecności coraz większej ilości i coraz to bardziej dla niego trudnych rozproszeń. Istotne jest, aby zwierzę nie miało możliwości osiągnięcia danego bodźca rozpraszającego, a tym samym osiągnięcia sukcesu. Jeśli rozproszeniem jest dla naszego czworonoga inny pies, nie należy dopuścić do tego, aby nasz podopieczny zlekceważył komendę przywołania, a zamiast tego pobiegł do innego psa i się dobrze bawił (Karpiński i in. 2012). Jednocześnie, dzięki temu że osoba

przywołująca nagradza psa (np. smakołykiem lub zabawą) za przybycie do niej, staje się ona bardziej dla niego atrakcyjna. Jeżeli pies przybiegł do właściciela na wszystkie poprzednie przywołania i został za to odpowiednio wynagrodzony, istnieje bardzo duże prawdopodobieństwo, że przybiegnie na kolejne, co zgodnie jest z powszechnie uznawaną wiedzą, iż „zachowanie nagrodzone zostanie powtórzone przez psa w podobnej sytuacji. Z kolei, jeśli zachowania pożądane nie będą nagradzane, prawdopodobieństwo ich powtórzenia w podobnych okolicznościach bardzo się zmniejsza” (Dennison 2007; Gałuszka 2007).

Donaldson (2007) proponuje, aby naukę przychodzenia psa na przywołanie rozłożyć na etapy. Każdy z nich oznacza rosnący poziom trudności. Autorka poziomy nazywa po kolei: przedszkolem, szkołą podstawową, szkołą średnią i szkołą wyższą. W przedszkolu, szkolenie rozpoczyna się w pomieszczeniu. Dwie lub więcej osób będących członkami rodziny, wołają szczeniaka. Za każdym podejściem psa, należy go przytrzymać za obrozę oraz nagrodzić energiczną zabawą lub smakołykiem, który wcześniej ukryty był w kieszeni. Inną formą tego ćwiczenia jest zabawa w chowanego. Jedna osoba przytrzymuje psa, podczas gdy druga osoba chowa się gdzieś w domu. Pies zostaje zwolniony w momencie, gdy osoba chowająca się zawoła psa jego imieniem oraz wyda komendę przywołującą. Kiedy pies odnajdzie ukrytą osobę, powinna ona powitać psa z wielkim entuzjazmem oraz pobawić się z nim. W tym czasie chowa się druga osoba i powtarza komendę. Pies rozpoczyna poszukiwania. W ten sposób pies przyswaja komendę na przywołanie. Będąc samemu, dobrym wyjściem jest przywoływanie psa bez żadnego powodu, po przyjściu należy go nagradzać smakołykiem lub zabawką. Poprzedzanie wszystkich atrakcji, jakie są do zaoferowania psu przywołaniem go do siebie, powoduje uwarunkowanie psa na komendę przywołującą. Poziom szkoły podstawowej polega na nauczeniu psa przychodzenia na wołanie przy występowaniu kontrolowanych bodźców rozpraszających. Kiedy pies bezbłędnie wykonuje ćwiczenia i przychodzi na zawołanie bez względu na sytuacje rozpraszające, można przejść na poziom szkoły średniej. Na tym etapie pies będzie uczony szybkości, co osiągnie, jeśli zamiast wcześniejszego przychodzenia do przewodnika i siadania przed nim, przybiegnie między jego nogami za rzuconą piłką lub zabawką. W ten sposób ukierunkowuje się typowe zachowanie drapieźnika, by działało na korzyść szkoleniowca. Na poziomie szkoły wyższej, ćwiczenia mają na celu przekonanie czworonoga, że nawet dostęp do konkurencyjnych czynników motywacyjnych, pozostaje pod kontrolą przewodnika. Najczęściej takimi czynnikami jest chęć zabawy z innymi psami, które znajdują się w pobliżu, zapachy na ziemi, uciekająca wiewiórka lub kot. Jeśli pies nie został

dostatecznie uwarunkowany, oznacza to, że poprzednie poziomy nie zostały dokładnie przerobione.

Celem pracy było sprawdzenie czy stosowanie rozproszeń w postaci zabawki lub smakołyka, poprawia respektowanie przez psa komendy na przywołanie.

Materiał i metody badań

Badanie odbyło się z udziałem psa wielorasowego, średniej wielkości, który lubił bawić się zabawką, jak również chętnie pracował za smakołyki. Czynnikiem rozpraszającym była zabawka lub smakołyk. Próby odbywały się z użyciem tego samego rodzaju smakołyków oraz tej samej zabawki. Obserwacja została rozłożona w czasie i miała miejsce podczas trzech spotkań w godzinach porannych, z dwudniowymi przerwami między spotkaniami. Cały eksperyment był rejestrowany na cyfrowej kamerze. Pomiary prędkości psa zostały dokonane na podstawie weryfikacji nagrań. Badanie miało miejsce na placu w parku, na płaskim terenie bez przeszkód (Rys. 1).

Rysunek 1. Miejsce badań



Źródło: Opracowanie własne.

Eksperyment składał się z kilku etapów, a każdy z nich z kilku prób (powtórzeń):

Etap I: Na początku zmierzono szybkość biegu psa do przewodnika, bez rozproszeń w postaci zabawki lub smakołyka trzymanyh przez osobę rozpraszającą. Odbyło się to

w odległości 26 m między psem a przewodnikiem. Przewodnik pozostawiał psa używając komendy „zostań”, następnie odchodził na wyznaczoną odległość, obracał się i przywoływał psa. Zostało to powtórzone trzykrotnie (próba 1, 2 i 3).

Rysunek 2. Odległość etapy II-IV



Źródło: Opracowanie własne.

Etap II: Następnie skrócono odległość do 11 m między psem a przewodnikiem. Psa pozostawiono na komendę „zostań”. Osoba rozpraszająca, wraz z czynnikiem rozpraszającym stała w odległości 2,5 m od linii prostej między psem a przewodnikiem (w połowie drogi między psem a jego właścicielem). Właściciel odchodził na wyznaczoną odległość, obracał się przywoływał psa. Powtórzone to trzykrotnie z użyciem zabawki (próby 1, 2 i 3) oraz trzykrotnie z użyciem smakołyka (próby 4, 5 i 6), jako czynników rozpraszających. Tego dnia pewnym utrudnieniem były opady śniegu, które mogły zakłócić przebieg sesji.

Etap III: Kolejna próba badawcza odbyła się w odległości 11 m między psem a przewodnikiem. Psa pozostawiono na komendę „zostań”. Osoba rozpraszająca wraz z czynnikiem rozpraszającym, stała w odległości 0,5 metra od linii prostej między psem a przewodnikiem. Każda sesja została powtórzona trzykrotnie z użyciem zabawki (próby 1, 2 i 3) oraz trzykrotnie z użyciem smakołyka (próby 4, 5 i 6), jako czynników rozpraszających.

Etap IV: Następna próba badawcza odbyła się w odległości 11 m między psem a przewodnikiem. Psa pozostawiono na komendę „zostań”. Osoba rozpraszająca wraz z czynnikiem rozpraszającym, stała bezpośrednio na linii biegu psa, w połowie drogi do

przewodnika. Czynnikiem rozpraszającym była zabawka (próby 1, 2 i 3) oraz smakołyk (próby 4, 5 i 6).

Etap V: Kolejne próby badawcze prowadzono na odległości 26 m między psem a przewodnikiem. Psa pozostawiano na komendę „zostań”. Osoba rozpraszająca wraz z czynnikiem rozpraszającym, stała w połowie drogi na linii biegu psa. Czynnikiem rozpraszającym była zabawka (próby 1, 2 i 3) oraz smakołyk (próby 4, 5 i 6).

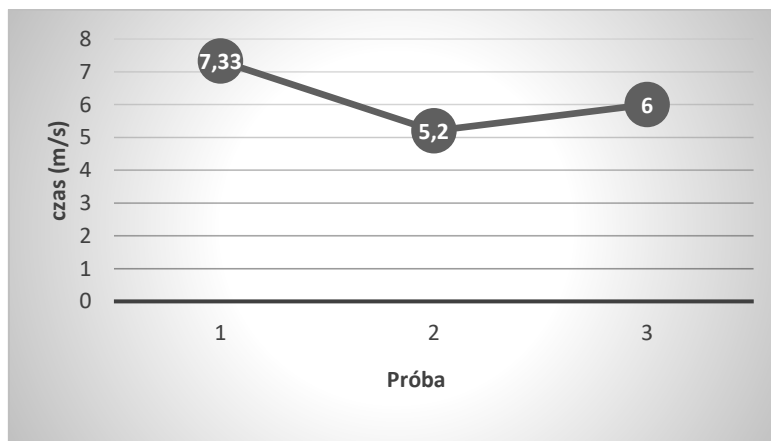
Etap VI: Na tym etapie eksperymentu powtórzono czynności z etapu I: pies miał za zadanie dobiec do przewodnika z odległości 26 m, bez rozproszeń.

Szybkości biegu psa podawane są w m/s. Z każdego trzech prób (powtórzeń) wyliczano średnie arytmetyczne szybkości biegu. Zdolność psa do zlekceważenia rozproszenia opisywana jest jako 1 (sukces), natomiast poddanie się rozproszeniu - jako 0 (porażka).

Wyniki

Etap I. Początkowo psa od właściciela dzieliło 26 m i nie stosowano rozproszeń. W trakcie pierwszej próby pies biegł do właściciela z prędkością 7,33 m/s, w trakcie drugiej próby prędkość wyniosła 5,2 m/s natomiast w trzeciej 6,0 m/s. Pies przybiegał do właściciela ze średnią prędkością 6,18 m/s (Rys. 3).

Rysunek 3. Etap I. Prędkość (m/s) przybiegania psa do właściciela z odległości 26 m, bez rozproszeń

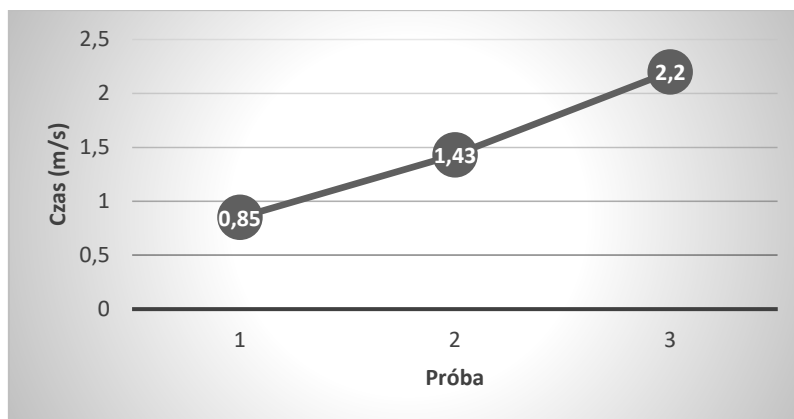


Źródło: Opracowanie własne.

Etap II. Odległość psa od przewodnika wynosiła 11 m. Osoba rozpraszająca trzymała zabawkę lub smakołyk na odległość 2,5 m w połowie linii biegu psa. Z przyczyn technicznych (rozładowana bateria w kamerze), nie udało się zarejestrować prób 1-3 (z zabawką), natomiast

prędkości psa w próbach 4-6 wyniosły odpowiednio 0,85 m/s, 1,43 m/s oraz 2,2 m/s, a więc średnia prędkość wyniosła 1,49 m/s (Rys. 4).

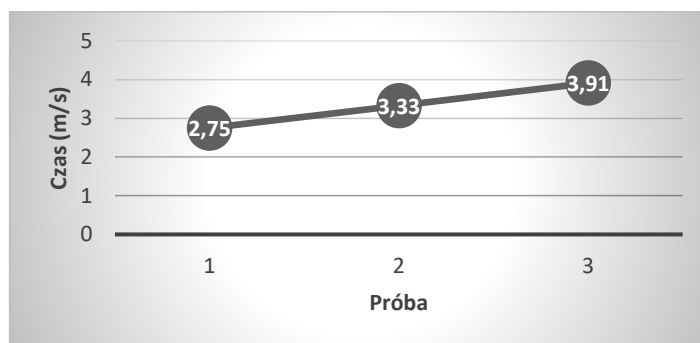
Rysunek 4. Etap II. Prędkość (m/s) przybiegania psa do właściciela z odległości 11 m, rozproszenie smakołyk 2,5m od linii biegu psa



Źródło: Opracowanie własne.

Etap III. Odległość psa od przewodnika wynosiła 11 m. Osoba rozpraszająca trzymała zabawkę lub smakołyk na odległość 0,5 m w połowie linii biegu psa. Prędkość psa w próbach 1-3 (z zabawką) wyniosły odpowiednio 2,75 m/s, 3,33 m/s oraz 3,91 m/s (Rys. 5).

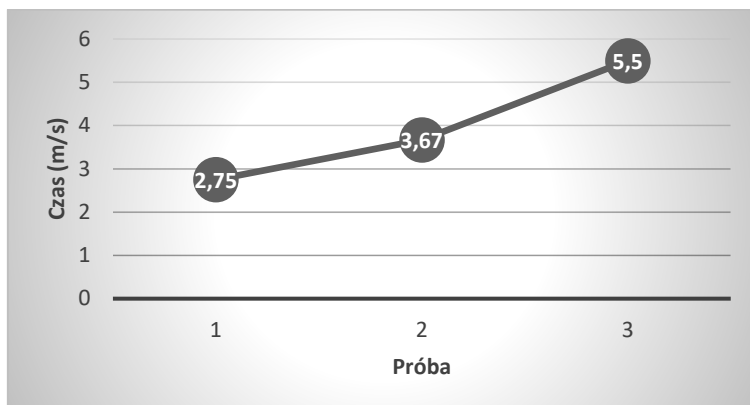
Rysunek 5. Etap III. Prędkość (m/s) przybiegania psa do właściciela z odległości 11 m, rozproszenie zabawką 0,5 m od linii biegu psa



Źródło: Opracowanie własne.

Prędkość psa w próbach 4-6 (ze smakołykiem) wyniosły kolejno 2,75 m/s, 3,67 m/s oraz 5,50 m/s (Rys. 6). Średnia prędkość biegu psa z rozproszeniem zabawką wyniosła 3,33 m/s, natomiast z rozproszeniem smakołykiem – 3,97 m/s.

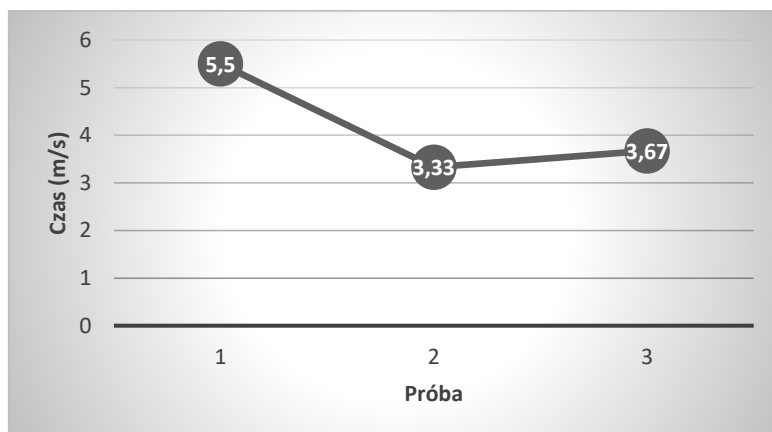
Rysunek 6. Etap III. Prędkość (m/s) przybiegania psa do właściciela z odległości 11 m, rozproszenie smakołyk 0,5 m od linii biegu psa



Źródło: Opracowanie własne.

Etap IV. Odległość psa od przewodnika wynosiła 11 m. Osoba rozpraszająca trzymała zabawkę lub smakołyk na drodze biegu psa w połowie linii biegu psa. Prędkość psa w próbach 1-3 (z zabawką) wynosiły odpowiednio 5,50 m/s, 3,33 m/s oraz 3,67 m/s (Rys. 7).

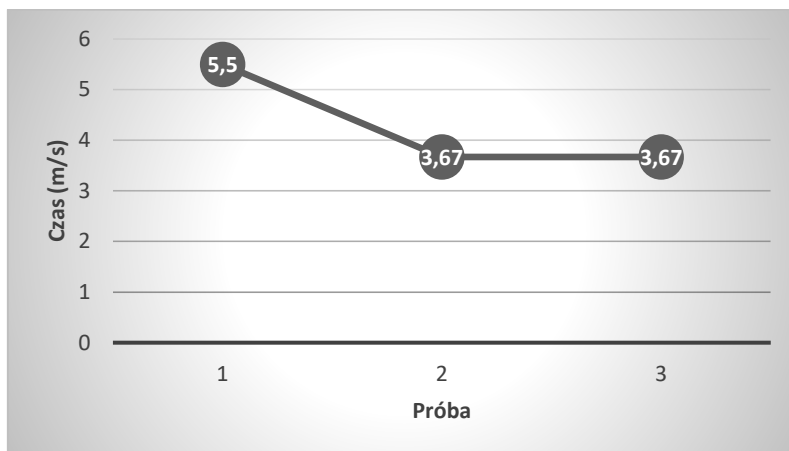
Rysunek 7. Etap IV. Prędkość (m/s) przybiegania psa do właściciela z odległości 11 m, rozproszenie zabawka 0 m od linii biegu psa



Źródło: Opracowanie własne.

Prędkość psa w próbach 4-6 (ze smakołykiem) wynosiły kolejno 5,50 m/s, 3,67 m/s oraz 3,67 m/s (Rys. 8). Średnia prędkość biegu psa z rozproszeniem zabawką wyniosła 4,16 m/s, natomiast z rozproszeniem smakołykiem prędkość wyniosła 4,28 m/s.

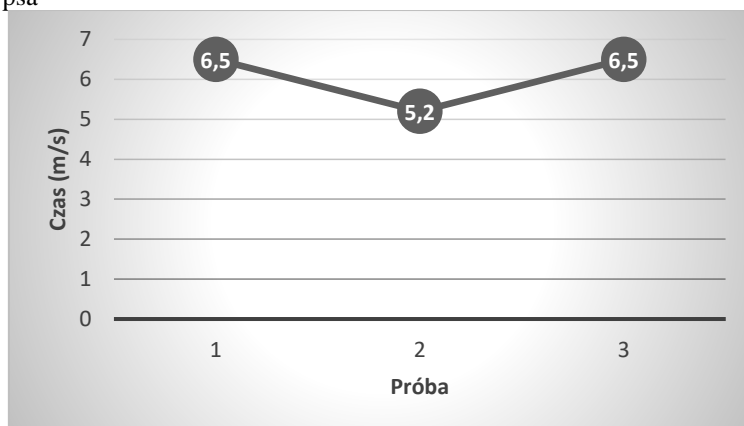
Rysunek 8. Etap IV. Prędkość (m/s) przybiegania psa do właściciela z odległości 11 m, rozproszenie smakołyk 0 m od linii biegu psa



Źródło: Opracowanie własne.

Etap V. Odległość psa od przewodnika wynosiła 26m. Osoba rozpraszająca trzymała zabawkę lub smakołyk na drodze biegu psa w połowie linii biegu psa. Prędkość psa w próbach 1-3 (z zabawką) wynosiły odpowiednio 6,50 m/s, 5,20 m/s oraz 6,50 m/s (Rys. 9).

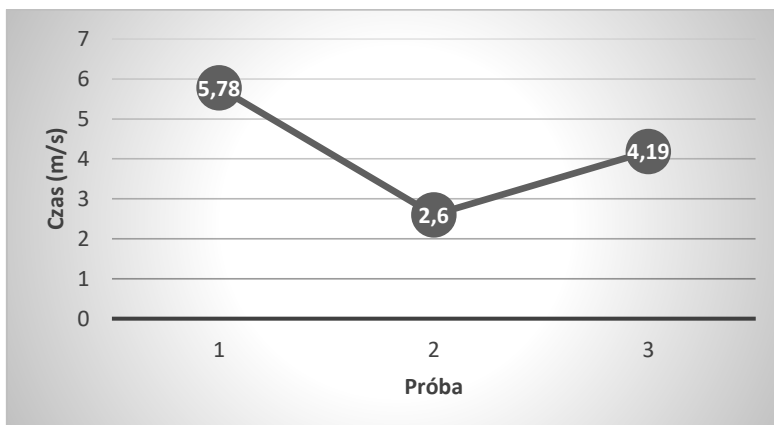
Rysunek 9. Etap V. Prędkość (m/s) przybiegania psa do właściciela z odległości 26 m, rozproszenie zabawka 0 m od linii biegu psa



Źródło: Opracowanie własne.

Prędkość psa w próbach 4-6 (ze smakołykiem) wynosiły kolejno 5,78 m/s, 2,60 m/s oraz 4,19 m/s (Rys. 10). Średnia prędkość biegu psa z rozproszeniem zabawką wyniosła 6,06 m/s, natomiast z rozproszeniem smakołykiem prędkość wyniosła 4,19 m/s.

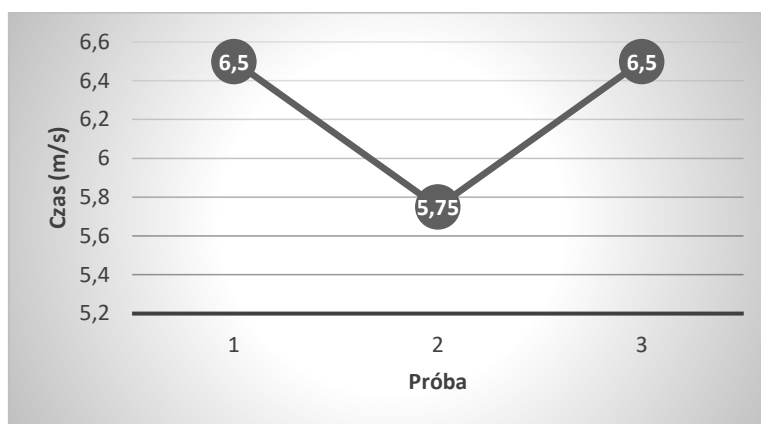
Rysunek 10. Etap V. Prędkość (m/s) przybiegania psa do właściciela z odległości 26 m, rozproszenie smakołyk 0 m od linii biegu psa



Źródło: Opracowanie własne.

Etap VI. W końcowym etapie psa od właściciela dzieliło 26 m i nie stosowano rozproszeń. W trakcie pierwszej próby pies biegł do właściciela z prędkością 6,50 m/s, w trakcie drugiej próby prędkość wyniosła 5,75 m/s, natomiast w trzeciej 6,50 m/s. Pies przybiegał do właściciela ze średnią prędkością 6,25 m/s (Rys. 11).

Rysunek 11. Etap VI. Prędkość (m/s) przybiegania psa do właściciela z odległości 26 m, brak rozproszeń



Źródło: Opracowanie własne.

Poza prędkościami biegu psa, zliczano też jego sukcesy (1) i porażki (0), czyli umiejętność lekceważenia rozproszeń lub poddawanie się im (tab. 1). Początkowo, gdy pies miał przybiec do właścicielki z odległości 26 m, a w środowisku nie było rozproszeń, we wszystkich trzech próbach osiągnął on sukces, (czyli 1;1;1). Jednak smakołyki znajdujące się w odległości 2,5 m od linii biegu psa, trzykrotnie spowodowały, że uległ temu rozproszeniu (0;0;0). Gdy następnie umieszczono rozproszenie w odległości 0,5 m od linii biegu, wynik psa

w reakcji na zabawkę uległ poprawie (0;1;1), a jeszcze lepiej pies poradził sobie ze smakołykami (1;1;1). Gdy rozproszenia znajdowały się bezpośrednio na linii biegu psa, tak że aby dobiec do właścicielki, musiał je omijać, bilans jego sukcesów/porażek przy smakołykach wyniósł 1;0;1, a przy zabawce 1;1;1. Natomiast przy rozproszeniu bezpośrednio na linii biegu psa na odległość 26 metrów, bilans sukcesów przy zabawce wyniósł 1;1;1, gorzej pies poradził sobie z rozproszeniem smakołykiem (1;0;1). Na etapie 6, bez rozproszeń, pies bez wahania przybiegał do właścicielki (1;1;1).

Tabela 1. Umiejętności psa do zlekceważenia rozproszeń opisane jako 1 (sukces) lub jako 0 (porażka).

		Próba 1	Próba 2	Próba 3
START		1	1	1
2,5 m	smakołyk	0	0	0
0,5 m	zabawka	0	1	1
	smakołyk	1	1	1
0 m	zabawka	1	1	1
	smakołyk	1	0	1
26 m	zabawka	1	1	1
	smakołyk	1	0	1
FINAŁ		1	1	1

Źródło: opracowanie własne.

Dyskusja

Badanie miało na celu zweryfikowanie powszechnej wśród szkoleniowców psów opinii, że dodawanie psom rozproszeń, poprawia prędkość ich przybiegania do właściciela w reakcji na komendę przywołania. Należy podkreślić, że dotychczas nikt takich badań nie prowadził. Ponieważ jakość (chęć) biegu psa, może być oceniana przez różnych eksperymentatorów subiektywnie i dlatego jego ocena może się różnić, uznano, że obiektywną miarą może być pomiar czasu lub zliczanie sukcesów/porażek psa. Pies na pierwszym etapie badań przybiegał do właściciela ze średnią prędkością 6,18 m/s, natomiast na ostatnim etapie, który przeprowadzono w tych samych warunkach, jego prędkość wynosiła 6,25 m/s, co na odległości 26 m skróciło czas przybiegania o 1,91 s. W kolejnych próbach etapów pośrednich, w których występowały rozproszenia, prędkość psa się zwiększała. Należy jednak zwrócić uwagę, że jeśli osoba rozpraszająca stała na linii biegu psa, jego reakcje na przywołanie nie poprawiały się - pies opóźniał się z wykonaniem komendy, następnie obiegał łukiem osobę rozpraszającą. Nie wiadomo jednak czy rozproszenie na linii biegu psa ostatecznie spowalnia, czy też przyspiesza prędkość biegu psa, gdy kolejnych prób dokona się bez rozproszenia. Mogą to wyjaśnić kolejne, odpowiednio zaplanowane eksperymenty.

Z prędkością biegu psa korespondują jego sukcesy/porażki w lekceważeniu rozproszeń. Ich zliczanie jest potrzebne, jednak wydaje się być mniej wiarygodną od pomiaru czasu oceną psa, ponieważ nie uwzględniają one czy pies do właściciela biegł galopem, czy też może zwykłym kłusem. Nie zawierają więc one informacji o tzw. chęci psa do respektowania komendy. Uzyskane w badaniu wyniki dotyczące tej metody oceniania psa nie są jednoznaczne i są trudne do interpretacji.

W obecnym eksperymencie osoba rozpraszająca oferowała psu zabawkę lub smakołyk (czyli tzw. nagrody), jednak za każdym razem, gdy pies do nich dobiegał, okazywało się, że są one dla niego niedostępne. Z drugiej strony, pies zawsze otrzymywał ukrytą wcześniej nagrodę od przywołującego go przewodnika: zabawkę z przewodnikiem zabawką lub smakołyki. Widok nagród u osoby rozpraszającej, mógł skłaniać psa (i początkowo często skłaniał) do ulegnięcia rozproszeniu. W takich sytuacjach okazywało się jednak, że nagrody są jedynie środkiem służącym rozproszeniu psa, a jeżeli pies nie mógł ich osiągnąć – przestawały być dla niego celem. W kolejnych powtórzeniach pies mógł jeszcze łudzić się iluzją nagrody uzyskanej od osoby rozpraszającej, lecz założono, że będzie im ulegał coraz rzadziej, gdyż poddanie się rozproszeniu nie było wzmacniane (nie prowadziło do nagrody). Jednocześnie, wzmacniane było przybycie do przewodnika po komendzie przywołującej. W teorii, każda reakcja, jeśli nie będzie wzmacniana, zanika (Donaldson 2005). Zachęcenie iluzoryczną nagrodą (rozproszenie), potrafiło wywołać zachowanie polegające na niesubordynacji wobec przewodnika (nie respektowanie komendy na przywołanie), ale samo zachęcanie na dłuższą metę nie wystarczyło, ponieważ każde zachowanie utrwała się poprzez swoje skutki. Wyniki tego eksperymentu potwierdzają powszechne wśród szkoleniowców przeświadczenie, że szkolenie polega na manipulowaniu konsekwencjami zachowania psa (Kuźniewicz i Kuźniewicz 2005).

Podsumowanie

Uzyskane w eksperymencie wyniki wskazują, że prędkość przybiegania psa do właściciela w reakcji na komendę przywołującą, poprawiła się z 6,18 m/s do 6,25 m/s, czyli o 0,07 m/s. Na odległości 26 m skraca to czas przybiegania psa o 1,91 s. Jeśli jednak osoba rozpraszająca stała dokładnie na linii biegu psa, jego reakcje na przywołanie nie poprawiały się. Natomiast zliczanie zdarzeń, kiedy psu udało się lekceważyć rozproszenia lub im ulec, dało niejednoznaczne wyniki.

Literatura

- Dennison P. 2007. *Pozytywne szkolenie psów dla żółtodziobów czyli wszystko co powinieneś wiedzieć o szkoleniu psów*. Wydawnictwo REBIS, Poznań: 6.
- Donaldson J. 2007. *Pies i człowiek. Jak żyć zgodnie pod jednym dachem*. Wydawnictwo Galaktyka, Warszawa: 271-284.
- Gałuszka J. 2007. *Aria, do mnie!* Wydawnictwo Galaktyka, Warszawa: 7-8, 18-21.
- Karpiński M., Mazurkiewicz T., Czyżowski P., Goleman M. 2012. *Zabawa jako podstawowy czynnik dobrostanu kształtujący prawidłowe zachowanie psychosomatyczne i socjalne psów*. *Życie Weterynaryjne*. 68(04): 218-221.
- Kuźniewicz J., Kuźniewicz G. 2005. *Metody szkolenia i sposoby użytkowania psów*. Wydawnictwo Akademii Rolniczej we Wrocławiu, Wrocław: 48.
- Owens P. 2008. *Zaklinacz psów. Podaj łapę, waruj, siad, czyli szkolenie czworonoga*. Helion, Gliwice: 147.
- Sjösten I. 2006. *Posłuszeństwo na co dzień*. Galaktyka, Łódź: 18, 55-58.
- Woźniak J. 2008. *Szkolenie psów porady praktyczne*. Wydawnictwo Łowiec Polski, Warszawa: 60-61.

Zróżnicowanie populacji kundli (*Canis lupus familiaris* L.) w Trójmieście

Diversity of mongrel's population (*Canis lupus familiaris* L.) in the Tri-City

Mateusz Paweł Kaszubski
Małgorzata Karolina Sakowicz

Uniwersytet Gdański
Wydział Biologii
Studenckie Naukowe Koło Genetyczne
Opiekun: dr Barbara Wojtasik

Abstract

The domestic dog (*Canis lupus familiaris* L.) is considered to be distinct species or subspecies of the wolf. The domestic dog within the species has been divided into many groups, including representatives of the species, characterized by specific traits, which is referred to as dog breeds. Apart from pure-breed dog obtained through planned selection and crossing, there is a group of dogs known as non-pure-breed dogs, including cross-breeds, mixed breeds and mongrels.

The mongrels, as a breed of dogs, do not exhibit the typical features of the described breeds, created by man, moreover they have a characteristic long muzzle and no crowding of teeth is observed. Currently, there are no literature data that treat mongrel as a separate dog breed and describe and analyze mongrel's populations.

The aim of the work was to estimate the population genetic diversity of mongrels (*Canis lupus familiaris* L.) in the Tri-City based on the observation of phenotypes of specimens residing in animal's shelters.

During the study, features such as: size, coat color and fur were analyzed. Analyzing the phenotypic data on the basis of which the genotypes of mongrels staying in shelters were determined, it was shown that the population of mongrels is characterized by a high phenotypic/genotypic biodiversity.

Keywords: domestic dogs, mixed-breed dogs, mongrels, genetic diversity

Wstęp

Pies domowy (*Canis lupus familiaris* L.), uznawany jest za odrębny gatunek lub podgatunek wilka szarego (Wang i Tedford 2008), od którego w dobie ewolucji, odłączył się na obszarze Azji Wschodniej (Pilot i in. 2015). Szacuje się, że udomowienie psa miało miejsce około 12-17 tysięcy lat temu (Fabio i in. 2005). Pies domowy w obrębie gatunku został podzielony na wiele grup obejmujących przedstawicieli gatunku, charakteryzujących się określonymi cechami, co określono mianem rasy (FCI breeds nomenclature, Systematyka ras FCI z uwzględnieniem polskiego nazewnictwa ras). Obok psów rasowych uzyskanych na

drodze planowanego selekcyjonowania i krzyżowania, istnieje grupa psów określana jako psy nierasowe, wśród nich mieszańce i kundle. Psy nierasowe nie posiadają cech charakterystycznych dla rasy, przy czym mieszańce to potomkowie psów różnych ras, a kundle krzyżują się na drodze doboru naturalnego. Mylnie używa się pojęcia kundel i mieszaniec jako synonimów.

Podczas prowadzenia badań nad pochodzeniem ewolucyjnym psów (Pilot i in. 2015) zaobserwowano, że kundle wykazują jednorodność genotypową i są genetycznie odmienne od psów czystorasowych (Pilot i in. 2016), wskutek czego kundle można sklasyfikować jako odrębną rasę psa, posiadającą charakterystyczne cechy, która jest najbliższej spokrewniona z praprzodkiem psa domowego (Pilot i in. 2015; Pilot i in. 2016). Kundle jako rasa psów, nie wykazują wyeksponowania cech typowych dla opisanych ras, ponadto mają charakterystycznie długi pysk i nie obserwuje się u nich stłoczenia zębów. Obserwując kundle można je sklasyfikować według trzech wielkości: małej, średniej i dużej, przy czym ich rozpiętość jest węższa niż w obrębie wszystkich ras.

Obecna światowa populacja psów liczy około 1 miliarda, z czego trzy czwarte stanowią psy określane mianem kudli (Pilot i in. 2015), czyli takie, które rozmnażają się na drodze doboru losowego i selekcji, która eliminuje osobniki słabe i nieprzystosowane do środowiska oraz jego zmian (Pilot i in. 2016). Aktualnie brak jest danych literaturowych, które traktują kundla jako oddzielną rasę psa oraz opisują i analizują populacje kudli, co skłoniło Autorów do zgłębienia zagadnienia. Poznanie zróżnicowania w obrębie tej grupy psów, pozwoli pełniej zrozumieć gatunek i jego status.

Tabela 1. Analizowane cechy fenotypowe i genotypy *Canis lupus familiaris*

Locus	Genotyp	Cecha fenotypowa	Dziedziczenie
K	K^B_-	dominująca czerń (jednolita czerń, brak czerwieni).	allele wielokrotne $K^B > k^{br} > k^y$
	k^{br}_-	pręgowany (czarne pasy dodane do obszarów jasnobrązowych)	
	$k^y k^y$	brak czarnej, dominującej barwy	
A	A^y_-	płowy lub sable	allele wielokrotne $A^y > a^w > a^t > a$
	a^w_-	agouty typu dzikiego - wilczy sable	
	a^t_-	punkt garbowania	

	a ^a	recesywny czarny	
B	B ₋	kolor czarny	dominacja zupełna
	bb	rozjaśnienie koloru czarnego do brązowego	
D	D	kolor nasycony	dominacja zupełna
	dd	kolor rozcieńczony (czarny do niebieskiego; brązowy do lilak)	
E	E ^m ₋	ciemna maska na pysku biegnąca wzdłuż ciała	allele wielokrotne E ^m > E ^g > E > e
	E ^g ₋	grizzle („opalenizna ka karku”), ciemny kark	
	E ₋	rozłożenie pigmentu zależne od innych loci	
	ee	ograniczenie występowania ciemnego pigmentu	
M	MM	Sierść zupełnie biała z niewielkimi pigmentowanymi plamami	dominacja niezupełna
	Mm	umaszczenie marmurkowe	
	mm	normalna pełna pigmentacja	
C	C ₋	pełny kolor	allele wielokrotne C > c ^{ch} > c ^e > c ^b > c ^a
	c ^{ch} ₋	kolor typ „szynszyl”	
	c ^e ₋	ekstremalne rozcieńczenie	
	c ^b ₋	niebieskookie albinosy / Platinum	
	c ^a c ^a	pełny albinos	
S	SS	brak białego koloru	dominacja niezupełna
	Ss	mniej niż 50% białych plam	
	ss	więcej niż 50% białych plam	
L	LL	krótki włos	dominacja niezupełna
	Ll	średni włos	
	ll	długi włos	
R	RR	prosty włos	dominacja niezupełna
	Rr	włos falisty	
	rr	włos kręcony	

Źródło: Opracowanie własne; na podstawie: Baranowska-Körberg i in. 2014; Cadieu i in. 2009; Candille i in. 2007; Cargill i in. 2005; Clark i in. 2006; Dreger i Schmutz 2010; Dreger i in. 2013; Housley i Venta 2006; Kerns i in. 2003; Kerns i in. 2007; Metallinos i Rine 2000; Philipp i in. 2005; Schmutz i in. 2002; Schmutz i in. 2003; Schmutz i Berryere 2007; Schmutz i in. 2009; Schmutz i Dreger 2014; Welle i in. 2009; Wijesena i Schmutz 2015; Winkler i in. 2014; Wong i in. 2013.

Celem pracy było poznanie zróżnicowania genetyczno-populacyjnego kundli (*Canis lupus familiaris* L.) w Trójmieście, bazując na obserwacji fenotypów osobników przebywających w schroniskach.

Metodyka

Obiektem badań była populacja kundli (*Canis lupus familiaris* L.) na terenie Trójmiasta. Badano różnorodność fenotypową i genotypową psów, przebywających w schroniskach dla zwierząt: OTOZ Animals Schronisko dla Bezdomnych Zwierząt „Ciapkowo” w Gdyni, Schronisko dla bezdomnych zwierząt „Promyk” w Gdańsku, Schronisko dla bezdomnych zwierząt „Sopotkowo” w Sopocie oraz fundacji “Pies szuka domu”.

W badaniach wykorzystano zdjęcia umieszczone w witrynach internetowych schronisk dla zwierząt, do analizy wybrano osobniki nieposiadające cech innych ras psów. Zdjęcia obejmowały osobniki przebywające w schroniskach od roku 2016. Na podstawie fenotypów oznaczono genotypy według tabeli 1. Badane osobniki sklasyfikowano pod względem skali wielkości osobnika: mały (odpowiadający wielkości psa rasy mops), średni (odpowiadający wielkości psa rasy cocker spaniel angielski), duży (odpowiadający wielkości psa rasy owczarek niemiecki).

Tabela 2.: Zestawienie obserwowanych fenotypów z odpowiadającymi im genotypami

Genotyp	Fenotyp	Liczba obserwacji
$k^y k^y; a^t _ ; B _ ; D _ ; E _ ; mm; C _ ; Ss; LL; RR$	Średni pies, czarny z plamami brązowymi, z nielicznymi białymi plamami, włos krótki, prosty	6
$k^y k^y; a^t _ ; B _ ; D _ ; E _ ; mm; C _ ; SS; LL; RR$	Mały pies, czarny z plamami brązowymi, włos krótki, prosty	1
$k^y k^y; a^t _ ; B _ ; D _ ; E _ ; mm; C _ ; Ss; Ll; RR$	Średni pies, czarny z plamami brązowymi, z nielicznymi białymi plamami, włos średni, prosty	2
$k^y k^y; a^t _ ; B _ ; D _ ; E _ ; mm; C _ ; Ss; LL; RR$	Duży pies, czarny z plamami brązowymi, z nielicznymi białymi plamami, włos krótki, prosty	1
$k^y k^y; a^t _ ; B _ ; D _ ; E _ ; mm; C _ ; SS; LL; RR$	Średni pies, czarny z plamami brązowymi, włos krótki, prosty	3
$k^y k^y; a^t _ ; B _ ; D _ ; E _ ; mm; C _ ; SS; LL; RR$	Duży pies, czarny z plamami brązowymi, włos krótki, prosty	4
$k^y k^y; A^y _ ; bb; D _ ; E _ ; mm; c^e _ ; Ss; Ll; Rr$	Mały pies, sable, z nielicznymi białymi plamami, włos średni, falowany	1

$k^y k^y; A^y _ ; bb; D_; E_; mm; c^e _ ; Ss; LL; RR$	Średni pies, sable, z nielicznymi białymi plamami, włos krótki, prosty	1
$K^B _ ; B_; D_; E_; mm; C_; Ss; LL; RR$	Średni pies, czarny, z nielicznymi białymi łatami, włos krótki, prosty	5
$k^y k^y; a^t _ ; B_; D_; E_; mm; C_; Ss; LL; RR$	Mały pies, czarny z plamami brązowymi, z nielicznymi białymi plamami, włos krótki, prosty	3
$K^B _ ; B_; D_; E_; mm; C_; SS; LL; RR$	Duży pies, czarny, włos krótki, prosty	1
$k^y k^y; a^w _ ; B_; D_; E_; mm; cch _ ; Ss; LL; RR$	Duży pies, kolor typu „szynszyl”, z nielicznymi białymi plamami, włos krótki, prosty	8
$K^B _ ; B_; D_; E_; mm; C_; Ss; LL; RR$	Mały pies, czarny, z nielicznymi białymi łatami, włos krótki, prosty	2
$k^y k^y; a^w _ ; B_; D_; E_; mm; cch _ ; SS; ll; RR$	Średni pies, kolor typu „szynszyl”, włos długi, prosty	1
$k^y k^y; a^w _ ; B_; D_; E_; mm; cch _ ; Ss; LL; RR$	Średni pies, kolor typu „szynszyl”, z nielicznymi białymi plamami, włos krótki, prosty	2
$k^y k^y; a^w _ ; B_; D_; E_; mm; cch _ ; SS; LL; RR$	Średni pies, kolor typu „szynszyl”, włos krótki, prosty	2
$k^y k^y; a^w _ ; B_; D_; E_; mm; C_; SS; LL; RR$	Duży, agouty wild, włos krótki, prosty	2
$k^y k^y; a^w _ ; B_; D_; E_; mm; C_; SS; LL; RR$	Średni, agouty wild, włos krótki, prosty	2
$K^B _ ; B_; D_; E_; Mm; C_; Ss; LL; RR$	Średni pies, czarny, z nielicznymi białymi łatami, marmurkowy; włos krótki, prosty	1
$K^B _ ; B_; D_; E_; mm; C_; Ss; LL; RR$	Duży pies, czarny, z nielicznymi białymi łatami, włos krótki, prosty	3
$k^y k^y; A^y _ ; B_; D_; Eg _ ; mm; C_; SS; LL; RR$	Średni, sable, czarna „opalenizna” na karku, włos krótki, prosty	2
$k^y k^y; A^y _ ; B_; D_; Eg _ ; mm; C_; SS; Ll; RR$	Duży, sable, czarna „opalenizna” na karku, włos średni, prosty	1
$K^B _ ; B_; D_; E_; Mm; C_; ss; ll; RR$	Średni pies, czarny, z licznymi białymi łatami, marmurkowy; włos długi, prosty	1
$k^y k^y; a^w _ ; B_; D_; E_; mm; C_; Ss; LL; RR$	Średni, agouty wild, z nielicznymi białymi łatami, włos krótki, prosty	2
$K^B _ ; B_; D_; E_; Mm; C_; ss; Ll; RR$	Duży pies, czarny, z licznymi białymi łatami, marmurkowy; włos średni, prosty	1

Źródło: Opracowanie własne.

W celu określenia genotypów wykorzystano następujące materiały: Baranowska-Körberg i in. 2014, Cadieu i in. 2009, Candille i in. 2007, Cargill i in. 2005, Clark i in. 2006, Dreger, Schmutz 2010, Dreger i in. 2013, Housley, Venta 2006, Kerns i in. 2003, Kerns i in. 2007, Metallinos, Rine 2000, Philipp i in. 2005, Schmutz i in. 2002, Schmutz i in. 2003, Schmutz, Berryere 2007, Schmutz i in. 2009, Schmutz, Dreger 2014, Welle i in. 2009, Wijesena, Schmutz 2015, Winkler i in. 2014, Wong i in. 2013.

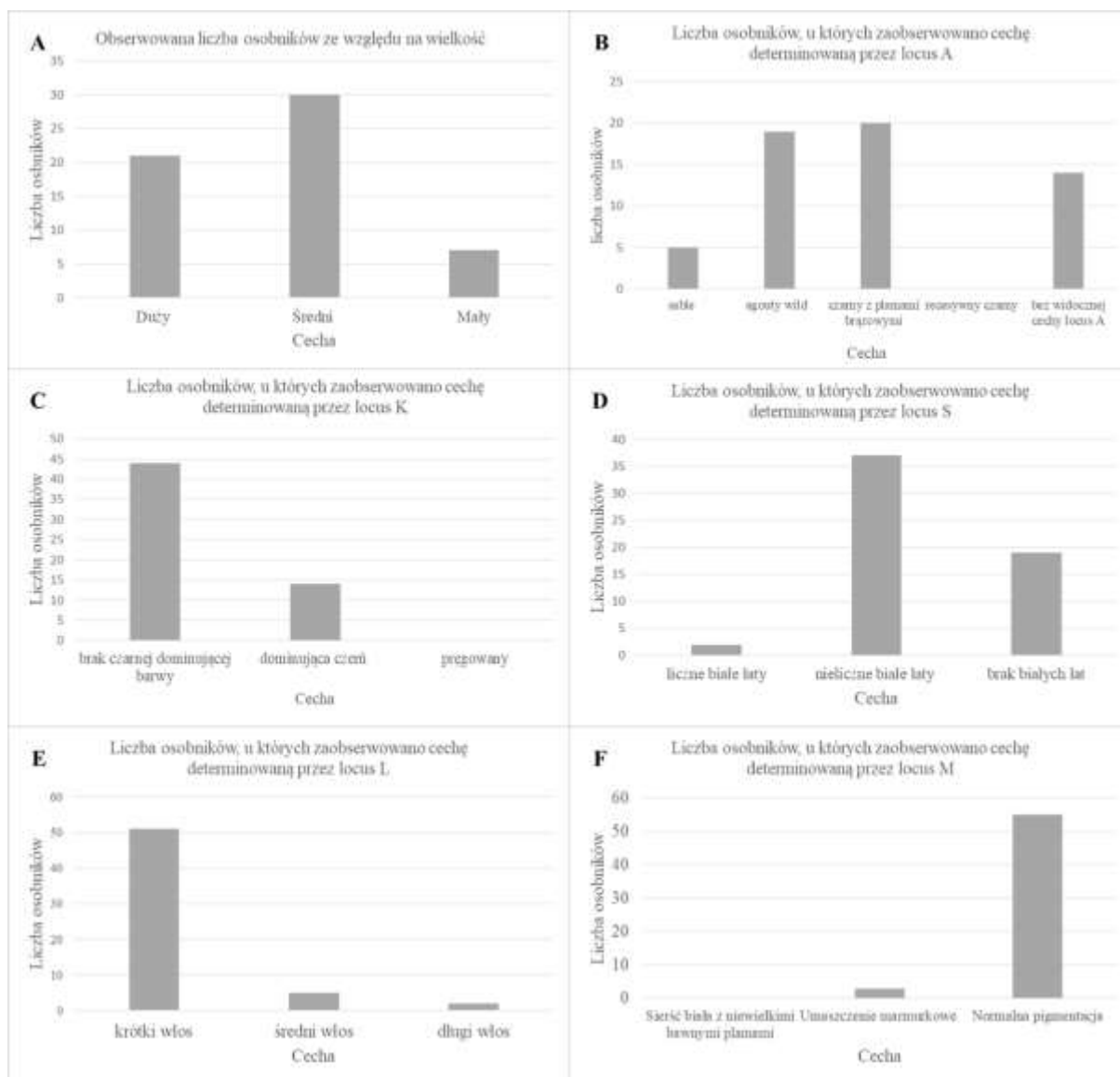
Wyniki

Otrzymane wyniki analizowano na podstawie częstości występowania cech fenotypowych oraz alleli determinujących dane cechy. Otrzymane wyniki zamieszczono w tabeli 2. W analizowanych schroniskach zaobserwowano 58 osobników rasy kundel, które wykazywały dużą różnorodność fenotypową (25 różnych fenotypów). Wśród nich znalazło się 21 dużych osobników, 30 średnich oraz 7 małych (Rys. 1.A). Najliczniej reprezentowane fenotypy to: duży pies, maść szynszylowa, z nielicznymi białymi plamami, włos krótki, prosty (8 osobników) oraz średni pies, czarny z plamami brązowymi, z nielicznymi białymi plamami, włos krótki, prosty (6 osobników), a także średni pies, czarny, z nielicznymi białymi łatami, włos krótki, prosty (5 osobników). W przypadku pozostałych fenotypów obserwowano 1-3 osobników.

Badaną populację tworzyły osobniki zaobserwowane w schroniskach dla zwierząt: OTOZ Animals Schronisko dla Bezdomnych Zwierząt „Ciapkowo” w Gdyni (25 osobników), Schronisko dla bezdomnych zwierząt „Promyk” w Gdańsku (26 osobników), Schronisko dla bezdomnych zwierząt „Sopotkowo” w Sopocie (3 osobniki) oraz fundacji “Pies szuka domu” (4 osobniki).

Mimo wysokiej liczby obserwowanych klas fenotypowych/fenotypów, frekwencja alleli genów determinująca cechy poszczególnych osobników, jest niska. Cech determinowanych przez niektóre allele, nie zaobserwowano - allel k^{br} w locus K, warunkujący pręgowanie (czarne pasy dodane do obszarów jasnobrązowych) oraz allel a w locus A, determinujący recesywną czerń. Nie zaobserwowano także genotypu MM, odpowiadającego za wystąpienie sierści zupełnie białej z niewielkimi pigmentowanymi plamami.

Rysunek 1. Liczba osobników, u których zaobserwowano cechy determinowane przez wybrane loci genowe



Źródło: Opracowanie własne.

W przypadku locus A (Rys. 1.B) najliczniej reprezentowaną cechą było umaszczenie “czarny z brązowymi plamami” (allel a^b), zaobserwowano ją u 20 osobników, w przypadku 14 osobników nie odnotowano cechy determinowanej przez to locus. Zarejestrowano 19 osobników o umaszczeniu “agouty wild” (allel a^w) oraz 5 “sable” (allel A^y). Nie zaobserwowano “recesywnej czerni” determinowanej przez allel a w układzie homozygotycznym recesywnym (aa).

Odnotowano jedynie dwie z trzech cech determinowanych przez locus K (Rys. 1.C). Najliczniej reprezentowana była cecha determinowana przez recesywny allel k^y - 44 osobniki, natomiast 14 osobników zaobserwowano w przypadku allelu dominującej czerni K^B .

Locus S determinuje pokrycie sierści białymi łatami (Rys. 1.D), odnotowano 37 osobników z nielicznymi białymi łatami (heterozygoty - Ss), 19 bez białych łat (homozygoty dominujące SS), natomiast u 2 osobników zaobserwowano liczne białe łaty (homozygoty recesywne ss).

W przypadku locus L (Rys. 1.E), najczęściej obserwowano osobniki o krótkim włosie (homozygoty dominujące - LL) - 51 osobników, odnotowano jedynie 5 osobników o średniej długości włosa (heterozygoty - Ll) i 2 o długim włosie (homozygoty recesywne - ll).

Najczęściej obserwowaną cechą determinowaną przez locus M (Rys. 1.F) była normalna pigmentacja, genotyp mm – 55 osobników, ubarwienie marmurkowe (genotyp Mm) obserwowano jedynie u 3 osobników. Wśród badanych psów nie zaobserwowano sierści zupełnie białej z niewielkimi barwnymi plamami, występującej u homozygot dominujących (MM).

Zaobserwowano 55 osobników z allelem E w locus genowym E, odpowiadającym za „umaszczenie zależnie od innych loci”, natomiast pozostałe 3 osobniki posiadały allel E^g , determinujący wystąpienie „opalenizny na karku”.

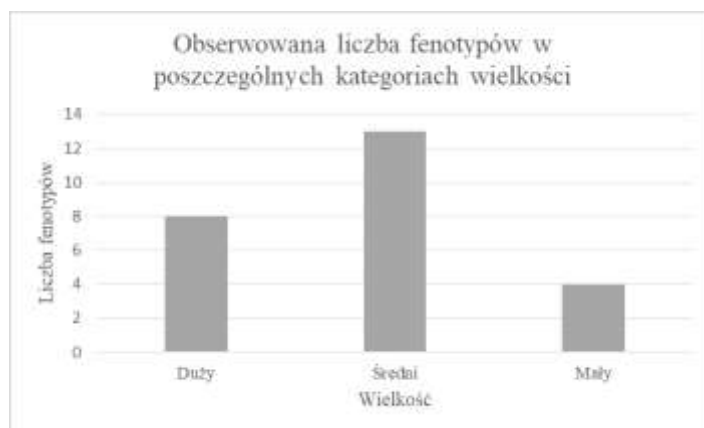
U wszystkich badanych osobników w locus D obserwowano jedynie cechę determinowaną przez dominujący allel D, warunkujący kolor nasycony. Nie zaobserwowano osobników o kolorze rozcieńczonym (czarny do niebieskiego; brązowy do lilak) - homozygoty recesywne (dd).

Wystąpienie pełnego koloru czarnego, determinowanego przez allel dominujący B w locus genowym B, obserwowano u 56 osobników, natomiast rozjaśnienie koloru czarnego do brązowego (homozygoty recesywne - bb) u 2 psów.

Wśród cech determinowanych przez geny w locus C, najczęściej obserwowane było wystąpienie pełnego koloru - u 43 osobników, które jest warunkowane przez najsilniejszy spośród alleli wielokrotnych - allel C. Drugim pod względem liczebności obserwacji było umaszczenie typu „szynszyl”, którego ujawnienie zależne jest od allelu c^{ch} - reprezentowane przez 13 psów. Mało licznie obserwowaną cechą było „ekstremalne rozcieńczenie” barwy sierści, które wystąpiło jedynie u 2 osobników. Cechy determinowane przez allele c^e , c^b oraz układ homozygotyczny $c^a c^a$ nie były obserwowane w badanej grupie zwierząt.

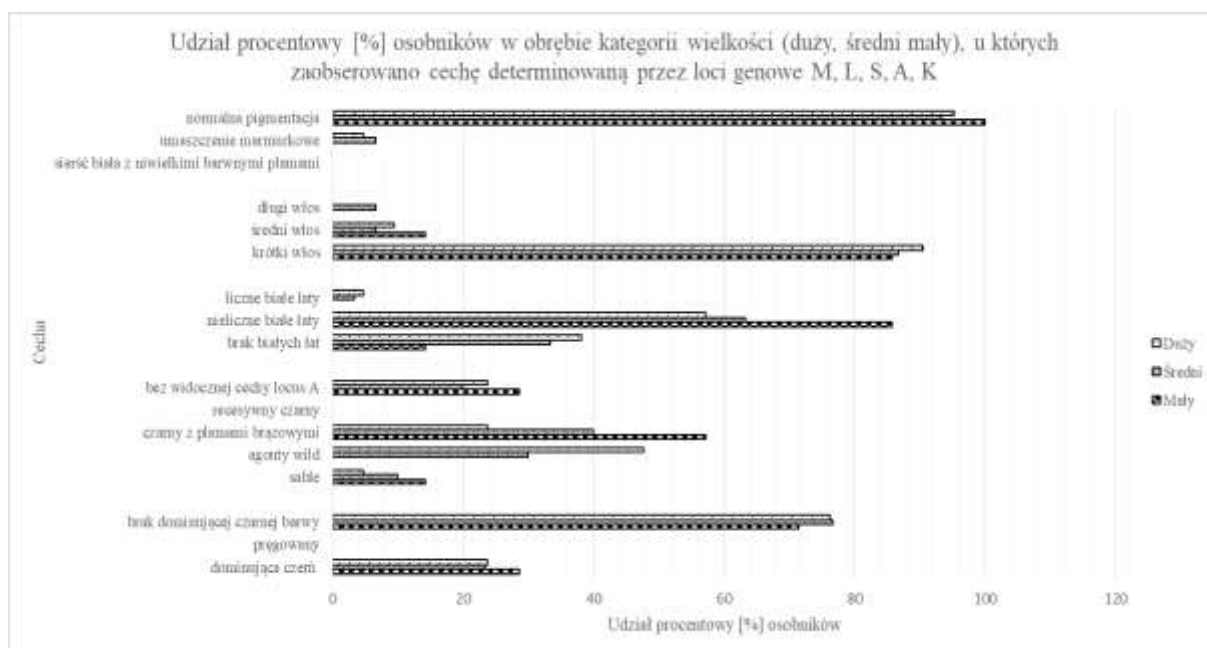
Cechą dominującą, warunkowaną układem homozygotycznym dominującym (RR) w locus genowym R, obserwowaną u badanych kundli, był włos prosty, który wystąpił u 57 osobników. Włos falisty, uwidoczniiony u heterozygot (Rr), pojawił się jedynie u 1 psa. Układ homozygotyczny recesywny (rr), determinujący wystąpienie włosa kręconego, nie był obserwowany.

Rysunek 2. Liczba fenotypów zaobserwowanych w poszczególnych kategoriach wielkości



Źródło: Opracowanie własne.

Rysunek 3. Udział procentowy [%] osobników w obrębie trzech kategorii wielkości, u których zaobserwowano cechy determinowane przez loci genowe M, L, S, A, K



Źródło: Opracowanie własne.

W obrębie poszczególnych kategorii wielkości, zaobserwowano różną liczbę fenotypów (Rys. 2), przy czym największą w grupie psów średnich (13). Porównując cechy determinowane przez loci genowe M, A, K u trzech grup kundli (Rys. 3), zaobserwowano niską różnorodność fenotypową/genotypową między grupami. Pojawienie się cech odstających między grupami odnotowano dla locus L (Rys. 3), gdyż tylko u psów średnich występował długi włos (6,67% obserwacji), pozostałe cechy pojawiały się z podobną częstością oraz locus S (Rys. 3), gdzie zaobserwowano liczne białe łaty jedynie u psów dużych (3,33% obserwacji) i średnich (4,76%), nieliczne białe łaty w umaszczeniu dominowały u psów małych (85,71% obserwacji).

Dyskusja

Przebadano 58 osobników psa rasy kundel, reprezentujących 25 różnych fenotypów. Największe różnice wynikały z wielkości badanych psów, jednak klasy wielkości obserwowane u kundli, nie są tak odległe od siebie jak w przypadku znanych ras psów. Wysoką różnorodność można również zaobserwować w przypadku cech determinowanych genami w locus A, przy czym umaszczenie “sable”, warunkowane przez najsilniejszy allel wśród alleli wielokrotnych plasuje się na niskim poziomie. Z kolei cecha, “recesywna czerń”, determinowana przez układ homozygotyczny aa, najsłabszego allelu wielokrotnego w locus A, nie była w ogóle obserwowana. W loci genowych B oraz D, dominowała jedna cecha determinowana przez allel dominujący, co może świadczyć o wysokiej frekwencji tych alleli dominujących w badanej populacji. W przypadku loci genowych M, L oraz R, dominowała jedna cecha determinowana przez układ homozygotyczny, który dla pierwszego locus był układem recesywnym a dla dwu pozostałych loci, układem dominującym. Takie wyniki sugerują, że w populacji kundli poddanej analizie, wysoką częstością występowania, charakteryzują się allele recesywne w locus M oraz dominujące w loci L i R.

Nie wszystkie allele wielokrotne, które występują u psa domowego, ujawniły się u kundli, m.in. allele z loci K i E.

Na różnorodność genotypową wskazują allele wielokrotne w locus K. Zaobserwowano najsilniejszy z alleli K^B oraz najsłabszy k^y , przy czym jedynie u 14 osobników, odnotowano dominującą cechę. Allel k^y jest częściej występującym w puli genowej badanej populacji w przeciwieństwie do allelu dominującego.

Nie zaobserwowano również wszystkich alleli wielokrotnych występujących w locus E. W przypadku tego locus nie zaobserwowano cech determinowanych przez loci E^m oraz e.

Badana populacja była dość jednorodna pod względem cech warunkowanych tym locus, ponieważ dominowała cecha determinowana przez allel E, czyli umaszczenie zależne od innych loci.

Analizowano 32 allele w 10 loci. Nie odnotowano cech determinowanych przez 9 alleli (w tym dominujących), natomiast cechy determinowane przez 9 alleli, obserwowano u nielicznych kundli, co stanowi ponad połowę analizowanych alleli.

Analizując różnice między trzema grupami w obrębie populacji, zaobserwowano wysoką różnorodność fenotypową/genotypową. Największą liczbę różnych fenotypów zaobserwowano u psów średniej wielkości. Porównując częstość występowania cech determinowanych przez loci genowe M, L, S, A, K, zaobserwowano, że większość spośród nich występuje z podobną częstością, przy pojawieniu się kilku cech odstających.

Wysoka różnorodność fenotypowa/genotypowa w obrębie całej populacji oraz trzech kategorii wielkości, może wynikać z faktu, że kundle rozmnażają się zgodnie z zasadą doboru losowego, co powoduje swobodny przepływ genów, które współdziałając, prowadzą do powstawania różnych kombinacji cech. Z uwagi na ogromną pulę genową, mieszaninę genów, badana populacja kundli cechuje się wysoką bioróżnorodnością.

Dalsze badania populacji kundli, pozwolą pełniej zobrazować charakterystykę gatunku, a tym samym umożliwią ochronę cech tych psów i przedsięwzięcie działań umożliwiających utrzymanie ich w środowisku. Zaniechanie badań może prowadzić do zatarcia wyraźnych cech kundli, tym samym prowadząc do utraty wartościowego elementu świata ożywionego, który jest najbliższej spokrewniony z przodkiem psa domowego.

Podsumowanie

Przeanalizowana populacja kundli w schroniskach w Trójmieście wykazała się bardzo dużym zróżnicowaniem fenotypowym/genotypowym. Można ją było pogrupować w trzech kategoriach wielkości: małe, średnie, duże. Różnorodność fenotypowa/genotypowa w obrębie trzech kategorii wielkości, jest niemal tożsama do różnorodności całej populacji. Najbardziej zróżnicowaną grupą były psy średnie, u których zaobserwowano 13 różnych fenotypów.

Najliczniej reprezentowane fenotypy to: duży pies, maść szynszylowa, z nielicznymi białymi plamami, włos krótki, prosty (8 osobników), średni pies, czarny z plamami brązowymi, z nielicznymi białymi plamami, włos krótki, prosty (6 osobników) i średni pies, czarny, z nielicznymi białymi łatami, włos krótki, prosty (5 osobników). Najwięcej osobników zaobserwowano w grupie psów średnich (30) a najmniej małych (7).

Konkludując, kundle w obrębie całej zbadanej populacji oraz grup wielkości, charakteryzują się dużą bioróżnorodnością.

Literatura

- Baranowska-Körberg, I., et al. 2014. *A simple repeat polymorphism in the MITF-M promoter is a key regulator of white spotting in dogs*. PLoS One, 9(8): e104363.
- Cadiou, E., et al. 2009. *Coat variation in the domestic dog is governed by variants in three genes*. Science, 326(5949): 150-153.
- Candille, S. I., et al. 2007. *A β -defensin mutation causes black coat color in domestic dogs*. Science, 318(5855): 1418-1423.
- Cargill, E. J., et al. 2005. *The color of a Dalmatian's spots: Linkage evidence to support the TYRP1 gene*. BMC Vet. Res., 1(1), 1.
- Clark, L. A., et al. 2006. *Retrotransposon insertion in SILV is responsible for merle patterning of the domestic dog*. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 103(5): 1376-1381.
- Dreger, D. L., and Schmutz, S. M. 2010. *A new mutation in MC1R explains a coat color phenotype in 2 "old" breeds: Saluki and Afghan hound*. J. Hered., 101(5): 644-649.
- Dreger, D. L., et al. 2013. *Identification of a mutation that is associated with the saddle tan and black-and-tan phenotypes in Basset Hounds and Pembroke Welsh Corgis*. J. Hered., 104(3): 399-406.
- Fabio, V., et al., 2005. *Mitochondrial DNA from Prehistoric Canids Highlights Relationships Between Dogs and South-East European Wolves*. Mol. Biol. Evol. 22 (12): 2541–2551.
- Federation Cynologique Internationale. *FCI breeds nomenclature*. <http://www.fci.be/en/Nomenclature/> (dostęp: 12.01.2019r.).
- Fundacja „Pies szuka domu” <http://www.piesszukadomu.pl/> (dostęp: 12.01.2019r.).
- Housley, D. J. E., and Venta, P. J. 2006. *The long and the short of it: evidence that FGF5 is a major determinant of canine 'hair'-itability*. Animal Genet., 37(4): 309-315.
- Kerns, J. A., et al. 2003. *Exclusion of Melanocortin I Receptor (Mc1r) and Agouti as Candidates for Dominant Black in Dogs*. J. Hered., 94(1): 75-80.
- Kerns, J. A., et al. 2007. *Linkage and segregation analysis of black and brindle coat color in domestic dogs*. Genetics, 176(3): 1679-1689.
- Metallinos, D., and Rine, J. 2000. *Exclusion of EDNRB and KIT as the basis for white spotting in Border Collies*. Genome biology, 1(2): research0004-1.
- OTOZ Animals Schronisko dla Bezdomnych Zwierząt „Ciapkowo” w Gdyni <http://www.ciapkowo.pl/> (dostęp: 12.01.2019r.).
- Philipp, U., et al. 2005. *Polymorphisms within the canine MLPH gene are associated with dilute coat color in dogs*. BMC Genetics, 6(1): 34.
- Pilot, M., et al. 2015. *On the origin of mongrels: evolutionary history of free-breeding dogs in Eurasia*. Proc. R. Soc. B, 282: 20152189.

- Pilot, M., et al. 2016. *Diversifying selection between pure-breed and free-breeding dogs inferred from genome-wide SNP analysis*. G3 (Bethesda), 6(8): 2285-2298.
- Schmutz, S. M., et al. 2002. *TYRP1 and MC1R genotypes and their effects on coat color in dogs*. Mamm. Genome, 13(7): 380-387.
- Schmutz, S. M., et al. 2003. *MC1R studies in dogs with melanistic mask or brindle patterns*. J. Hered., 94(1): 69-73.
- Schmutz, S. M., and Berryere, T. G. 2007. *Genes affecting coat colour and pattern in domestic dogs: a review*. Animal Genet., 38(6): 539-549.
- Schmutz, S. M., et al. 2009. *MITF and white spotting in dogs: a population study*. J. Hered. 100(suppl_1): S66-S74.
- Schmutz, S. M., and Dreger, D. L. 2014. *Genetic Interactions Among Three Pigmentation Loci in Domestic Dogs*. Proceedings, 10th World Congress of Genetics Applied to Livestock Production: 278.
- Schronisko dla bezdomnych zwierząt „Promyk” w Gdańsku <https://schroniskopromyk.pl/> (dostęp: 12.01.2019r.).
- Schronisko dla bezdomnych zwierząt „Sopotkowo” w Sopocie <http://schronisko.sopot.toz.pl/> (dostęp: 12.01.2019r.).
- Wang, X., Tedford, R. H. 2008. *Dogs: their fossil relatives and evolutionary history*. Columbia University Press, New York.
- Welle, M., et al. 2009. *MLPH Genotype—Melanin Phenotype Correlation in Dilute Dogs*. J. Hered., 100(suppl_1): S75-S79.
- Wijesena, H. R., and Schmutz, S. M. 2015. *A missense mutation in SLC45A2 is associated with albinism in several small long haired dog breeds*. J. Hered., 106(3): 285-288.
- Winkler, P. A., et al. 2014. *A partial gene deletion of SLC45A2 causes oculocutaneous albinism in Doberman pinscher dogs*. PLoS One, 9(3): e92127.
- Wong, A. K., et al. 2013. *A de novo mutation in KIT causes white spotting in a subpopulation of German Shepherd dogs*. Animal Genet., 44(3): 305-310.
- Związek Kynologiczny w Polsce. *Systematyka ras FCI z uwzględnieniem polskiego nazewnictwa ras*. http://www.zkwp.pl/Systematyka_ras_FCI.pdf (dostęp: 12.01.2019r.).

Podziękowania: Autorzy pracy pragną serdecznie podziękować Pani dr Barbarze Wojtasik z Katedry Genetyki i Biosystematyki Wydziału Biologii Uniwersytetu Gdańskiego za nieocenioną pomoc w przygotowaniu pracy, inspirację oraz wsparcie.