

Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce

Fauna i flora



www.mlodzinaukowcy.com

Poznań 2023

Redakcja naukowa

dr Jędrzej Nyćkowiak

dr hab. Jacek Leśny, prof. UPWR

Wydawca

Młodzi Naukowcy

www.mlodzinaukowcy.com

wydawnictwo@mlodzinaukowcy.com

ISBN (całość 978-83-66743-87-8)

ISBN (wydanie online 978-83-66743-92-2)

ISBN (wydanie drukowane 978-83-66743-91-5)

Data wydania: maj 2023

Niniejsza pozycja jest monografią naukową. Jej rozdziały zostały wydrukowane zgodnie z przesłanymi tekstami po ich zaakceptowaniu przez recenzentów. Odpowiedzialność za zgodne z prawem wykorzystanie użytych materiałów ponoszą autorzy poszczególnych rozdziałów.

Spis treści

1. Bezkręgowce jako alternatywne źródło białka w paszach dla drobiu	7
<i>Savelii Ishchenko, Sofiia Danko, Filip Żak, Anastasiya Ramankevich, Kamil Drabik, Justyna Batkowska</i>	
2. Alternatywne wykorzystanie skorup jaj	13
<i>Savelii Ishchenko, Filip Żak, Mateusz Gonciarz, Kinga Janas, Kacper Izdebski, Dominika Krakowiak, Justyna Batkowska, Kamil Drabik</i>	
3. Wpływ mikroflory środowiska hodowlanego na pozyskiwane surowce drobiarskie	19
<i>Sofiia Danko, Paulina Wac, Zuzanna Bąk, Savelii Ishchenko, Dawid Ziobro, Natalia Pietruszka, Justyna Batkowska, Kamil Drabik</i>	
4. Fermy drobiu a zapylenie	25
<i>Sofiia Danko, Paulina Wac, Zuzanna Bąk, Savelii Ishchenko, Dawid Ziobro, Justyna Batkowska, Kamil Drabik</i>	
5. Fizjologiczne wskaźniki stresu u drobiu	31
<i>Melania Brańska, Renata Zdun, Remigiusz Bagrowski, Kinga Rokicka, Ewelina Misiec, Dominika Krakowiak, Kamil Drabik, Justyna Batkowska</i>	
6. Przepierzenie kur niosek	37
<i>Melania Brańska, Renata Zdun, Remigiusz Bagrowski, Kinga Rokicka, Ewelina Misiec, Dominika Krakowiak, Kamil Drabik, Justyna Batkowska</i>	
7. Gąbczasta encefalopatia bydła i jej epidemiologia – praca przeglądowa	43
<i>Maja Hartung</i>	
8. FIP - zapalenie otrzewnej u kotów – praca przeglądowa	48
<i>Maja Hartung</i>	
9. Strach jako czynnik determinujący wyniki badań behawioralnych owiec	53
<i>Kamila Janicka, Aleksandra Miareczka, Jacek Sokołowski</i>	
10. Aktywność fizyczna jako czynnik wzmacniający potencjał zdrowotny psów	58
<i>Kamila Janicka, Aleksandra Miareczka, Jacek Sokołowski</i>	
11. Płochliwość u koni – zachowanie naturalne czy niepożądane ?	64
<i>Janicka Wiktoria, Wnęk Marta, Noskova Daria, Wnuk-Pawlak Elżbieta</i>	
12. Rola L-karnityny w hodowli i użytkowaniu koni	70
<i>Janicka Wiktoria, Noskova Daria, Wnęk Marta, Wnuk-Pawlak Elżbieta</i>	
13. Cukrzyca u zwierząt domowych - praca przeglądowa	76
<i>Adrianna Michniewicz</i>	
14. Zatrucia pokarmowe u zwierząt domowych	82
<i>Adrianna Michniewicz</i>	
15. Hierarchiczny model funkcjonowania klanu hieny cętkowanej (<i>Crocota Crocuta</i>)	88
<i>Wojtas Natalia, Wołoszyn Monika, Zbigniew Bełkot</i>	
16. Najnowsze odkrycia eksperymentalnej bakteriofagoterapii w medycynie weterynaryjnej	94
<i>Wojtas Natalia, Wołoszyn Monika, Zbigniew Bełkot</i>	
17. Prozdrowotne właściwości krzewów ozdobnych	100
<i>Barbara Stadnik, Dagmara Migut</i>	
18. Uprawa i znaczenie gospodarcze owsa zwyczajnego	106
<i>Barbara Stadnik</i>	
19. Metody zwalczania biofilmu bakteryjnego	112
<i>Weronika Brudz, Aleksandra Omelaniuk, Dawid Gniazdo</i>	

- 20. Hydrożele i kompozyty hydrożelowe: właściwości i wielokierunkowy pozytywny wpływ na stan gleby** **119**
Kukowska Sylwia, Siryk Olena, Szewczuk-Karpisz Katarzyna

Przedmowa

Szanowni Państwo, wydawnictwo „Młodzi Naukowcy” oddaje do rąk czytelnika kolekcję monografii naukowych dotyczących szerokiego spektrum nauk. Znajdują się tutaj pozycje dotyczące nauk medycznych i nauk o zdrowiu, nauk przyrodniczych, technicznych i inżynierskich oraz szeroko pojętych nauk humanistycznych i społecznych.

W prezentowanych monografiach poruszany jest bardzo szeroki przekrój zagadnień, jednak każda z osobna składa się z kilkunastu rozdziałów, spójnych tematycznie, dających jednocześnie bardzo dobry przegląd tematyki naukowej jaką zajmują się studenci studiów doktoranckich lub ich najmłodszy absolwenci, którzy uzyskali już stopień doktora.

Czytelnikom życzymy wielu przemyśleń związanych z tematyką zaprezentowanych prac. Uważamy, że doktoranci i młodzi badacze z pasją i bardzo profesjonalnie podchodzą do swojej pracy, a doświadczenie jakie nabierają publikując prace w monografiach wydawnictwa „Młodzi Naukowcy”, pozwoli im udoskonalać swój warsztat pracy. Dzięki temu, z pewnością wielu autorów niniejszych prac, z czasem zaczną publikować prace naukowe w prestiżowych czasopiśmie. Przyczyni się to zarówno do rozwoju nauki, jak i każdego autora, budując jego potencjał naukowy i osobisty.

Redakcja

Fauna i flora

1. Bezkręgowce jako alternatywne źródło białka w paszach dla drobiu

Invertebrates as an alternative source of protein in poultry feeds

Savelii Ishchenko⁽¹⁾, Sofiia Danko⁽¹⁾, Filip Žak⁽¹⁾, Anastasiya Ramankevich⁽¹⁾, Kamil Drabik⁽²⁾, Justyna Batkowska⁽²⁾

⁽¹⁾Studenckie Koło Naukowe Biologii Hodowli i Użytkowania Drobiu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

⁽²⁾Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Savelii Ishchenko: salvio03102001@gmail.com

Opiekunowie SKN: dr hab. Justyna Batkowska prof. UPL, dr inż. Kamil Drabik

Słowa kluczowe: białko zwierzęce, larwy, białko robacze

Streszczenie

Celem pracy była analiza możliwości wykorzystania owadów jako alternatywnego dla śruty sojowej źródła białka w paszach dla drobiu. Scharakteryzowano standardowo wykorzystywane źródła białka w paszach dla drobiu, a także problemy wynikające z niedoborów lub niewłaściwego profilu aminokwasowego tego składnika. Omówiono uwarunkowania poszukiwania alternatywnych źródeł białka w żywieniu zwierząt hodowlanych, jak również przeanalizowano korzyści płynące z wykorzystania w tym celu owadów. Produkcja owadów na skalę przemysłową, może przyczynić się do minimalizacji lub eliminacji generowania odpadów żywnościowych i paszowych poprzez ich biokonwersję na białko zwierzęce.

1. Wstęp

Do 2050 roku spodziewany jest wzrost populacji ludzkiej o 30%, co spowoduje zwiększenie spożycia produktów zwierzęcych o 60-70%. Skok konsumpcji będzie wymagał ogromnych zasobów, z których największym wyzwaniem jest zapewnienie paszy dla zwierząt. Jednym z najważniejszych, oprócz poziomu energii, wskaźników wartości odżywczej dawki pokarmowej dla drobiu jest zawartość białka, jednak koszty konwencjonalnych surowców paszowych, jak mączka sojowa czy rybna, są bardzo wysokie, a ich dostępność w przyszłości będzie się zmniejszała. Konieczne jest znalezienie alternatywnych zrównoważonych źródeł białka, jednym z takich rozwiązań może być hodowla owadów bogatych w białko o dobrze zbilansowanym profilu aminokwasów. Owady (szarańcza, larwy much, mączniki) mogą być wykorzystywane zarówno jako żywność dla ludzi oraz jako komponent paszowy. Jednocześnie produkcja owadów na skalę przemysłową, może przyczynić się do minimalizacji lub eliminacji odpadów żywnościowych i paszowych poprzez ich biokonwersję. Celem pracy była analiza możliwości wykorzystania owadów jako alternatywnego dla śruty sojowej źródła białka w paszach dla drobiu.

2. Przegląd literatury

2.1 Białko w paszach dla drobiu i problemy z nim związane

Rosnąca liczba ludności oraz zwiększenie jakości życia powoduje wzrost popytu na produkty pochodzenia zwierzęcego, co z kolei doprowadza do zwiększonego zapotrzebowania na pasze dla zwierząt (Altmann i in. 2020). W tym kontekście oczekuje się, że w przyszłości światowy popyt na mięso drobiowe i jaja znacznie wzrośnie, ze względu na ich bardzo wysoką wartość odżywczą, stosunkowo niską cenę oraz fakt, że z ich konsumpcją nie wiążą się z całkowitym wykluczeniem z powodów wyznaniowych. Ponadto, w porównaniu z innymi zwierzętami gospodarskimi, produkcja drobiu jest uważana za stosunkowo przyjazną dla środowiska, gdyż charakteryzuje się znacznie niższym śladem węglowym (Józefiak i Engberg 2015). Ten skok konsumpcji będzie wymagał ogromnych nakładów ze względu na ograniczoną dostępność zasobów

naturalnych, postępujące zmiany klimatyczne, niedostępność gruntów, nadmierną eksploatację źródeł morskich oraz konkurencję żywność-pasza-paliwo. W przypadku drobiu, włączenie wysokiej jakości źródła białka do paszy jest ważne dla zapewnienia wydajnej produkcji. Konwencjonalnie w żywieniu drobiu jako główne źródło białka stosowana jest śruta sojowa. Jednakże, obawy dotyczące środowiska i bezpieczeństwa żywności związane z produkcją soi w Ameryce Południowej spowodowały, że europejskie badania i polityka coraz częściej skupiają się na alternatywnych źródłach białka (Altmann i in. 2020). Sprzyja temu także negatywne postrzeganie genetycznie modyfikowanej soi, której genotyp zmieniono celem zapewnienia odporności na herbicydy i owady pasożytnicze (Świątkiewicz i in. 2010).

Białko pełni fundamentalną rolę w procesach biologicznych i jest konieczne do prawidłowego funkcjonowania organizmu oraz jego optymalnego wzrostu. Szczególnie ważne jest ono dla drobiu, ponieważ ptaki cechują się intensywnym przyrostem masy ciała, wczesnym dojrzewaniem płciowym, a także szybkim metabolizmem. Z ekonomicznego punktu widzenia prawidłowa ilość dobrej jakości białka pozwala na realizację potencjału produkcyjnego zwierząt, które mogą wykazywać m.in. obniżoną masę ciała, stłuszczenie wątroby, a także znacząco obniżoną odporność. Dlatego też kluczowe dla osiągnięcia zadowalających wyników produkcyjnych kluczowe jest dostarczenie niezbędnej ilości białka o prawidłowym składzie aminokwasowym (Campana i in. 1975; Khan 2018).

Niezbędne egzogenne aminokwasy definiowane są jako te, których szkielety węglowe nie są syntetyzowane *de Novo* przez komórki zwierzęce, lub które są syntetyzowane w niewystarczającej ilości w stosunku do potrzeb metabolicznych. Do grupy tej dla wszystkich zwierząt, w tym dla drobiu zalicza się histydynę (His), izoleucynę (Ile), leucynę (Leu), lizynę (Lys), metioninę (Met), fenyloalaninę (Phe), treoninę (Thr), tryptofan (Trp), tyrozynę (Tyr) i walinę (Val). Za ich dostarczenie odpowiadają dodatki paszowe dla drobiu, aczkolwiek muszą być one prawidłowo dawkowane ponieważ niektóre z nich pełnią również funkcje limitujące. Niedobór lizyny negatywnie wpływa na wzrost, doprowadza do nadmiernego otluszczenia brojlerów, a także powoduje problemy z rozrodem. Zbyt duże stężenie metioniny w paszy hamuje wzrost, a braki objawiają się chorobami nerek i wątroby, zmniejszeniem jaj i nieśności (Hou i Wu 2018).

Czynniki żywieniowe mogą mieć również wpływ na zachowania ptaków. Wykazano, że nioski żywione dietami zawierającymi głównie roślinne źródła białka w porównaniu z dietami zawierającymi białko pochodzenia zwierzęcego częściej wykazywały zachowania związane z wydziobywaniem piór (Van Krimpen i in. 2005). Wystąpienie tego zachowania patologicznego, określanego jako pterofagia, w przypadku, gdy nie jest ono kontrolowane, prowadzi do pojawienia się kanibalizmu w stadzie. Podobne zachowania są uważane za jeden z poważnych problemów związanych z utrzymaniem drobiu w systemach zamkniętych. Można wyróżnić dwie formy pterofagii: łagodną i ciężką. Ciężka pterofagia powoduje najwięcej problemów związanych z dobrotanem w stadach komercyjnych. Na powstawanie zachowań anormalnych, oprócz czynników genetycznych, warunkujących predyspozycje ptaków do przejawiania danego typu zachowań, duży wpływ mają czynniki środowiskowe między innymi żywienie. Dostępne piśmiennictwo prezentuje odmienne stanowisko w zakresie związku pterofagii z rodzajem stosowanego białka paszowego. Niektóre badania wskazują, że rozwój pterofagii wydaje się być wzmocniony w warunkach, w których ptaki mają trudności z radzeniem sobie ze stresorami środowiskowymi (Rodenburg i in. 2013). Hydrolizowana mączka z piór, mączka rybna, mączka z krwi oraz mączka mięsno-kostna z różnych powodów zostały wykluczone z żywienia drobiu. Brak białka pochodzenia zwierzęcego został uznany za jedną z przyczyn wydziobywania piór i kanibalizmu (Kjaer i Bessei 2013). Wykazano, że kury nioski, które były karmione dietą zawierającą wyłącznie roślinne źródła białka, takie jak ekstrahowana śruta sojowa, groch, bobik i ekstrahowany słonecznik, charakteryzowały się wyższą śmiertelnością z powodu wydziobywania piór w porównaniu z kurami żywionymi mieszanką z 4% udziałem mączki mięsno-kostnej (Richter i Hartung 2003). Jednak w badaniach Hadorn i in. (1998) nie stwierdzono różnic w śmiertelności niosek żywionych paszami sporządzonymi w oparciu o mączkę mięsno-kostną, mączkę rybną lub śrutę sojową. Również badania McKeegan i in. (2001), mimo odnotowanej większej liczby energicznych dziobnięć obserwowanych w grupie żywionej białkiem roślinnym, nie potwierdziły tezy, że włączenie mączki rybnej do diety kur niosek zapobiega

lub łagodzi wydziobywanie piór i kanibalizm. Van Krimpen i in. (2010) nie stwierdzili istotnego wpływu diety na stopień uszkodzenia piór. Jednak dwie z mączek wieprzowych (mączki mięsne i kostne) opóźniły rozwój pterofagii oraz spowodowały większą aktywność motoryczną i eksploracyjną (grzebanie), co mogło być związane z niższym spożyciem niektórych aminokwasów. Z kolei Pfirter and Walser (1998) zaobserwowali, że upierzenie niosek żywionych z 4% udziałem mączki mięsno-kostnej było lepsze niż kur żywionych pasza wyłącznie roślinną oraz mieszankami zawierającymi inne źródła białka.

Głównym składnikiem pasz dla drobiu są ziarna zbóż stanowiące źródło substancji odżywczych, w tym białka, jednak białko roślinne generalnie nie jest zbilansowane pod względem odżywczym. Diety roślinne, o ile nie są uzupełniane białkami zwierzęcymi lub związkami syntetycznymi, mogą nie spełniać wymagań dotyczących niektórych aminokwasów limitujących i witaminy B12 niezbędnych do produkcji jaj i mięsa (Khan 2018). Z tego powodu diety stosuje się mieszanki paszowe oparte ośrutę sojową jako główne źródło białka w tym także w kombinacji z mączką rybną, która pokrywa niedobory aminokwasowe białek roślinnych (Agazzi i in. 2016). Produkcja drobiarska wykorzystuje odpowiednio 10% i ponad 85% całkowitej światowej ilości mączki rybnej i sojowej. W chowie drobiu pasze stanowią 60-80% nakładów w produkcji drobiarskiej, przy czym składnik białkowy stanowi około 70% całkowitego kosztu paszy (Zegeye 2020). Produkcja soi, najczęściej wykorzystywanego źródła białka paszowego, wiąże się z deforestacją, erozją gleby, eutrofizacją, szerokim stosowaniem pestycydów, utratą bioróżnorodności i ogromnym śladem węglowym (Van Huis 2015). W ostatnich latach jej rosnąca cena stała się krytycznym aspektem dla ekonomicznej stabilności przemysłu drobiarskiego, szczególnie w niektórych krajach rozwijających się (Gale i Arnade 2015).

Podstawą mączki rybnej są ryby utrzymywane w akwakulturze lub gatunkimorskie. Ze względu na problemy związane z przełowieniem i zanieczyszczeniem środowiska ryby morskie uznaje się za zasoby ograniczone co znajduje odzwierciedlenie w drastycznym wzroście ceny rynkowej mączek rybnych w ciągu ostatnich dziesięciu lat i potrzebie poszukiwania nowego i bardziej stabilnego źródła białka paszowego (Veldkamp i Bosch 2015).

2.2 Bezkręgowce jako źródło białka paszowego

Problemem w Europie jest brak wysoko białkowych składników w żywieniu zwierząt, zwłaszcza drobiu ekologicznego, ze względu na wykluczenie syntetycznych aminokwasów i makuchów olejowych ekstrahowanych rozpuszczalnikami (Rozporządzenie Rady (WE) nr 834/2007). Obecne (do 31 grudnia 2026 r.) przepisy dopuszczają 5,0% substratów nieekologicznych w dietach młodego drobiu utrzymywanego w systemie organicznym na okres 12 miesięcy (Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) 2021/1165). Powszechnie uważa się, że dieta w 100% ekologiczna nie jest w stanie zaspokoić zapotrzebowania drobiu na niezbędne aminokwasy egzogenne, zwłaszcza te, zawierające siarkę. Ponadto, szerokie wykorzystanie białka pokarmowego, w celu osiągnięcia wymaganej ilości aminokwasów egzogennych, jest powszechną praktyką w ekologicznej produkcji drobiu (Elwinger i in. 2008).

W aspekcie poszukiwań alternatywnych źródeł białka paszowego dla zwierząt gospodarskich, w tym dla drobiu, dużym zainteresowaniem cieszą się organizmy bezkręgowce, a tu owady. W otwartych systemach chowu, w których ptaki mają możliwość swobodnego żerowania na wybiegu, pobierają owady na wszystkich etapach swojego życia i zjadają je dobrowolnie, co wskazuje na ich ewolucyjne przystosowanie do owadów jako naturalnego elementu diety (Bovera i in. 2016). Dlatego zasadne wydaje się rozważenie włączenia białek owadów jako surowca do wykorzystania w komercyjnej produkcji pasz, a także rozwój systemów ich hodowli na skalę przemysłową.

Owady używane jako pasza mogą być hodowane na odpadach organicznych takich jak obornik czy podroby rybne. Poczwarka muchy domowej lub dorosła mucha domowa hodowana na odchodach kurzych wydaje się być co najmniej tak dobrym źródłem białka jak mączka sojowa w diecie kurcząt. Ponadto larwy muchy domowej są stosowane do przekształcania odchodów drobiu w biomasę (Calvert 1979). Czarną muchę (*Hermetia illucens*) udało się z powodzeniem wyhodować na oborniku krowim, jak i również na odpadach rybnych. Dodatkowo stwierdzono, że poczwarki

czarnej muchy w ten sposób wyhodowane zawierają kwas α -linolenowy, kwas eikozapentaenowy i kwas dokozaheksaenowy.

Badania potwierdzają możliwość całkowitego lub częściowego zastąpienia mączki rybnej mączką owadzią. Nie odnotowano jej negatywnego wpływu na wzrost kurcząt, a większość prac wskazuje na podobne lub nawet lepsze tempo wzrostu ptaków w porównaniu do tych żywionych paszą na bazie śruty sojowej czy mączki rybnej. Wydaje się zatem, że mączka owadzi, która ma porównywalny profil aminokwasów, może zastąpić mączkę rybną w diecie (Okah i Onwujiariri 2012).

Owady mają duży potencjał jako pasza, zwłaszcza biorąc pod uwagę ich wartość odżywczą, małe zapotrzebowanie na miejsce oraz wysoką akceptację ptaków, gdyż owady należą do ich diety w środowisku naturalnym. Dodatek larw muchy domowej (*Muscadomestica*) do paszy dla kurcząt wpłynął na poprawę wyników wzrostu i jakości tuszki kurcząt brojlerów. W mięśniu piersiowym kurcząt zawartość białka pozostała na stałym poziomie, natomiast wzrosła zawartość lizyny i tryptofanu (Hwangbo i in. 2009). Przeprowadzono doświadczenie w celu określenia wydajności piskląt brojlerów na zastąpienie mączki rybnej larwami ćmy *Cirina forda*. Wykazano, że wskaźnik spożycia, średni przyrost masy ciała i tempo wzrostu ptaków żywionych z dodatkiem larw różniły się istotnie w porównaniu z próbą kontrolną, co potwierdza, że ich wykorzystanie może stanowić alternatywę dla mączki rybnej (Oyegoke i in. 2006).

Onsongo i in. (2018) potwierdzili konkurencyjność cenową pasz pochodzących z hodowli owadów. Wykazano, że pasze oparte na mączce z much, tj. czarnej muchy (*Hermetia illucens*) i muchy domowej (*Muscadomestica*), są tańsze niż mączka rybną. Oszacowano, że przejście z tradycyjnych mączek (mączka rybną i sojowa) na mączkę opartą na owadach w sektorze produkcji zwierzęcej może przynieść o 25% wyższy zwrot z inwestycji, ze względu na lepsze wykorzystanie paszy zawierającej mączką owadzią oraz korzystną cenę surowców, cena mączki owadziej wynosi około 71% ceny mączki rybnej.

Owady mogą być zbierane w środowisku naturalnym, uprawiane w pomieszczeniach zamkniętych lub pozyskiwane jako produkty uboczne z innych produkcji (np. *Bombyx mori* z produkcji jedwabiu) (Nongonierma i Fitzgerald 2017). Hodowane są w specyficznych warunkach, głównie przez stosowanie określonej diety, mającej na celu osiągnięcie najwyższego współczynnika konwersji paszy, zmniejszenie śmiertelności, przyspieszenie ich rozwoju oraz poprawę składu odżywczego. Badano wpływ dwóch metod uśmiercania na jakość frakcji białkowej czarnej muchy (*Hermetia illucens*) i wykazano, że uśmiercanie przez zamrażanie indukowało częściową degradację cysteiny i lizyny, czego nie zaobserwowano u owadów blanszowanych parą wodną. Próbkę zabite przez mrożenie wykazywały liczne przemiany energetyczne, w tym hydrolizę glukozy, syntezę kwasu mlekowego, zużycie kwasu cytrynowego i lipolizę. Przemiany te nie były widoczne w próbkach owadów uśmiercanych przez blanszowanie parowe, które spowodowało termiczną inaktywację enzymów biorących udział w czynnościach metabolicznych (Leni i in. 2019). Fakty te wskazują na znaczenie metod zabijania owadów w dalszych etapach produkcji, takich jak ekstrakcja białek oraz ich wbudowanie w produkty paszowe, a także profil składników odżywczych produktu końcowego.

3. Podsumowanie

Wydaje się, że szersza niż badawcza, skala wykorzystania białka zwierzęcego w formie owadów lub pochodzących od nich surowców paszowych (mączki owadzie) może przyczynić się zarówno do uzyskania zadowalających wyników produkcyjnych drobiu, ograniczyć częstotliwość występowania zaburzeń dobrostanu u ptaków (pterofagia, kanibalizm), jak również poszerzyć możliwości utylizacji odpadów organicznych z produkcji zwierzęcej (obornik, odpady rzeźniane). Wykorzystanie białka owadziego może przełożyć się na wyniki ekonomiczne ferm, a także ograniczyć negatywne oddziaływanie intensywnej produkcji drobiarskiej na środowisko naturalne.

4. Literatura

Agazzi A, Invernizzi G, Savoini G (2016) New perspectives for a sustainable nutrition of poultry and pigs. *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research* 3(3): 00079.

- Altmann BA, Wigger R, Ciulu M i in. (2020) The effect of insect or microalga alternative protein feeds on broiler meat quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 100(11): 4292-4302.
- Bovera F, Loponte R, Marono S i in. (2016) Use of *Tenebrio molitor* larvae meal as protein source in broiler diet: Effect on growth performance, nutrient digestibility, and carcass and meat traits. *Journal of Animal Science* 94(2): 639-647.
- Calvert CC (1979) Use of animal excreta for microbial and insect protein synthesis. *Journal of Animal Science* 48: 178-192.
- Campana AO, Burini RC, Outa AY i in. (1975) Experimental protein deficiency in adult rats. *Revista Brasileira de Pesquisas Medicas e Biologicas* 8(3-4): 221-226.
- Elwinger K, Tufvesson M, Lagerkvist G i in. (2008) Feeding layers of different genotypes in organic feed environments. *British Poultry Science* 49(6): 654-665.
- Gale F, Arnade C (2015) Effects of rising feed and labor costs on China's chicken price. *International Food and Agribusiness Management Review* 18(1030-2016-83088): 137-150.
- Hadorn R, Wiedmer H, Gloor A (1998) Effect of the exclusion of animal proteins from layer diets. *Agrarforschung* 5(9): 409-412.
- Hou Y, Wu G (2018) Nutritionally essential amino acids. *Advances in Nutrition* 9(6): 849-851.
- Hwangbo J, Hong EC, Jang A i in. (2009) Utilization of house fly-maggots, a feed supplement in the production of broiler chickens. *Journal of Environmental Biology* 30: 609-614.
- Józefiak D, Engberg RM (2015) Insects as poultry feed. [In:] 20th European Symposium on Poultry Nutrition 24: 73-79.
- Khan SH (2018) Recent advances in role of insects as alternative protein source in poultry nutrition. *Journal of Applied Animal Research* 46(1): 1144-1157.
- Kjaer JB, Bessei W (2013) The interrelationships of nutrition and feather pecking in the domestic fowl. *Archiv für Geflügelkunde* 77: 1-9.
- Leni G, Caligiani A, Sforza S (2019) Killing method affects the browning and the quality of the protein fraction of black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae: a metabolomics and proteomic insight. *Food Research International* 115: 116-125.
- McKeegan DF, Savory CJ, MacLeod MG i in. (2001) Development of pecking damage in layer pullets in relation to dietary protein source. *British Poultry Science* 42(1): 33-42.
- Nongonierma AB, FitzGerald RJ (2017). Unlocking the biological potential of proteins from edible insects through enzymatic hydrolysis: a review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 43: 239-252.
- Okah U, Onwujiariri EB (2012) Performance of finisher broiler chickens fed maggot meal as a replacement for fish meal. *Journal of Agricultural Technology* 8(2): 471-477.
- Onsongo V, Osuga IM, Gachuiiri C i in. (2018) Insects for income generation through animal feed: Effect of dietary replacement of soybean and fish meal with black soldier fly meal on broiler growth and economic performance. *Journal of Economic Entomology* 111: 1966-1973.
- Oyegoke OO, Akintola AJ, Fasoranti JO (2006) Dietary potentials of the edible larvae of *Cirinaforda* (westwood) as a poultry feed. *African Journal of Biotechnology* 5: 1799-1802.
- Pfirter HP, WalserP(1998) Wieviel und welches Protein? *UFA – Revue* 11: 26-28.
- Richter G, Hartung H (2003) Pflanzliche Rationen im Vergleich. *DGS Magazin* 1: 20-24.
- Rodenburg TB, Van Krimpen MM, De Jong IC i in. (2013) The prevention and control of feather pecking in laying hens: identifying the underlying principles. *World's Poultry Science Journal* 69(2): 361-374.
- Rozporządzenie Rady (WE) nr 834/2007 z dnia 28 czerwca 2007 r. w sprawie produkcji ekologicznej i znakowania produktów ekologicznych i uchylające rozporządzenie (EWG) nr 2092/91. *Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej* 189(20.7.2007): 1-23.
- Rozporządzenie Wykonawcze Komisji (UE) 2021/1165 z dnia 15 lipca 2021 r. zezwalające na stosowanie niektórych produktów i substancji w produkcji ekologicznej oraz ustanawiające ich wykazy. *Dziennik Urzędowy Unii Europejskiej* 253(16.7.2021): 13-48.

- Świątkiewicz S, Twardowska M, Markowski J i in. (2010) Fate of transgenic DNA from Bt corn and Roundup Ready soybean meal in broilers fed GMO feed. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 54: 237-42.
- Van Huis A (2015) Edible insects contributing to food security? *Agriculture & Food Security* 4(1): 1-9.
- Van Krimpen MM, Kwakkel RP, Reuvekamp BFJ i in. (2005) Impact of feeding management on feather pecking in laying hens. *World's Poultry Science Journal* 61(4): 663-686.
- Van Krimpen MM, Kwakkel RP, Van der Peet-Schwering CM i in. (2009) Effects of nutrient dilution and nonstarch polysaccharide concentration in rearing and laying diets on eating behavior and feather damage of rearing and laying hens. *Poultry Science* 88(4): 759-773.
- Veldkamp T, Bosch G (2015) Insects: a protein-rich feed ingredient in pig and poultry diets. *Animal Frontiers* 5(2): 45-50.
- Zegeye DM (2020) Nutritional evaluation of insect's pupae-larvae and its utilization in poultry compound feed. *The Open Agriculture Journal* 14(1).

2. Alternatywne wykorzystanie skorup jaj

Alternative uses of eggshells

Savelii Ishchenko⁽¹⁾, Filip Żak⁽¹⁾, Mateusz Gonciarz⁽¹⁾, Kinga Janas⁽¹⁾, Kacper Izdebski⁽¹⁾, Dominika Krakowiak⁽²⁾, Justyna Batkowska⁽³⁾, Kamil Drabik⁽³⁾

⁽¹⁾Studenckie Koło Naukowe Biologii Hodowli i Użytkowania Drobiu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

⁽²⁾Katedra Biofizyki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

⁽³⁾Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Savelii Ishchenko: salvio03102001@gmail.com

Opiekunowie SKN: dr hab. Justyna Batkowska prof. UPL, dr inż. Kamil Drabik

Słowa kluczowe: biomateriały, osteoporoza, immobilizacja, sorbcja

Streszczenie

Przemysł drobiarski jest jednym z najszybciej rozwijających się przemysłów związanych z produkcją żywności na świecie. Niemniej jednak, jak każdy przemysł, wytwarza ogromne ilości odpadów poprodukcyjnych. Duży udział w ich puli mają skorupy jaj. Szacuje się, że stanowią około 1.6 miliona ton odpadu rocznie. Większość tych odpadów trafia na otwarte wysypiska śmieci tym samym wpływając na środowisko naturalne i zamieszkujących w jego pobliżu ludzi. W związku z tym wzrasta zainteresowanie znalezieniem sposobu na możliwie jak najszersze wykorzystanie skorup. Przemawia za tym również fakt, że skorupy ptasich jaj w głównej mierze składają się z wapnia (Ca), który stanowi ważny element w wielu sektorach produkcji. Dlatego też poszukuje się nowych sektorów nauki i przemysłu, które z powodzeniem mogą wykorzystać skorupy jaj jako element składowy swoich procesów.

Celem pracy było przedstawienie alternatywnych sposobów wykorzystania odpadu poprodukcyjnego jakim są skorupy jaj ptasich.

1. Wstęp

Ptasie jajo swoje funkcje ochronne dla zarodka zawdzięcza w głównej mierze skorupie. Skorupa nie tylko chroni pisklę przed środowiskiem zewnętrznym, bierze również udział w rozwoju układu kostnego ptaka ze względu na wysoką zawartość wapnia. Niestety, w momencie wyklucia pisklęcia, skorupa jaja stanowi odpad poprodukcyjny. Biorąc pod uwagę fakt, że przemysł drobiarski ciągle dynamicznie się rozwija, to takiego rodzaju odpady powstają w ogromnej ilości w skali roku. Naturalną kolejną rzeczą jest, że zbędne skorupy trafiają na wysypiska śmieci, gdzie oddziałują na środowisko naturalne. Jednak z uwagi na znaczący udział naturalnego i dobrze przyswajalnego wapnia (Ca) coraz więcej naukowców bierze pod uwagę możliwość wykorzystania ich w różnych dziedzinach, tym samym ograniczając napływ skorup jaj na wysypiska śmieci. Istotne jest zatem zaznajomienie się z możliwościami alternatywnego zastosowania skorup jaj ptasich.

2. Przegląd literatury

2.1 Budowa i funkcje skorupy

Skorupa jaja zbudowana jest w głównej mierze z wapnia i jest przykładem ewolucyjnej adaptacji do warunków panujących w obrębie środowiska lądowego. Wszechstronność jej funkcji pozwalana równoczesne wspomaganie rozwijającego się zarodka (źródło materiałów budulcowych) nie zaniebując przy tym funkcji ochronnych (Hincke i in. 2012).

Skorupa jaja kurzego należy do złożonych struktur. Zbudowana jest z warstwy mucynowej, tak zwanej kutykuli, zbudowanej głównie z białek i węglowodanów. Natomiast błony pergaminowe stanowią miejsce rozdzielające płynną część jaja i skorupę.

W warstwie wewnętrznej skorupy, przylegającej do błony podskorupowej, substancja organiczna tworzy warstwę brodawkową. W centralnym punkcie każdej brodawki znajduje się stożkowy rdzeń, od którego koncentrycznie wokół włókienek białkowych odkładające się kryształy kalcytu (węglanu wapnia, CaCO_3 , i magnezu, MgCO_3), tworzą krystaliczne stożki brodawek. Wzrost kryształów nad stożkiem powoduje powstanie warstwy palisadowej skorupy. Warstwa substancji organicznej czyli włókna, na których następuje krystalizacja nosi nazwę warstwy gąbczastej (palisadowej), w skład której wchodzi głównie CaCO_3 w postaci kryształów ułożonych prostopadle i tworzących ścisłą zwartą warstwę.

W warstwach znajdują się liczne pory, dzięki którym umożliwiona jest wymiana gazowa na powierzchni całej skorupy jaja (Tsai i in. 2006). Skorupa chroni wnętrze jaja przed bodźcami mechanicznymi pochodzącymi ze środowiska zewnętrznego, co umożliwiające jest przez zewnętrzną część warstwy palisadowej. Zbudowana z kryształków konstrukcja skorupy absorbuje uderzenia przez cienkie międzykrystaliczne i wewnątrzkrystaliczne warstwy organiczne, które utrudniają propagację pęknięć wewnątrzkrystalicznych (Hincke i in. 2012). Pory obecne w skorupie oprócz wymiany gazowej (para wodna, dwutlenek węgla) umożliwiają również wydalanie substancji chemicznych od rozwijającego się wewnątrz jaja zarodka do środowiska zewnętrznego.

Elementy budulcowe skorupy to w ok. 5% związki organiczne (w tym blisko 1% to białka a 2-4% to kwasy tłuszczowe) i 95% to związki nieorganiczne (głównie kalcyt). Dzięki temu składowi przypomina ona naturalny surowiec ceramiczny, również dlatego, że mimo swojej wytrzymałości jest bardzo krucha (Aditya i in. 2021). Wapń jest pierwiastkiem występującym w organizmie w dużych ilościach. Najwięcej, bo około 99% znajduje się w szkielecie w postaci hydroksyapatytu (Proszkowiec-Węglarz i Angel 2013). W przypadku jaja skorupa jaja kurzego, stanowi najważniejsze źródło Ca do budowy szkieletu rozwijającego się zarodka. Około 80% Ca znajdującego się w układzie kostnym wyklutego pisklęcia bierze swój początek w otaczającej jajo skorupie, jest to ok. 25% tego pierwiastka pozostałego w skorupie w momencie wylęgu pisklęcia (Coleman i Terepka 1972).

Formowanie skorupy odbywa się codziennie w części macicznej jajowodu kury. Jest to jeden z najszybszych poznanych w naturze procesów mineralizacji i wymaga ogromnych ilości CaCO_3 , kura bowiem codziennie wykorzystuje 10% swoich użytkowych zapasów wapnia z organizmu (2 g) w celu stworzenia skorupy (Nys i Le Roy 2018).

2.2 Suplementacja z wykorzystaniem skorup jaj

Na świecie powstaje ogromna ilość odpadów ze skorup jaj, których najważniejszym składnikiem jest Ca. Odgrywa on kluczową rolę w utrzymaniu homeostazy organizmu zarówno w przypadku zwierząt, jak i ludzi (Waheed i in. 2019) oraz jest pierwiastkiem niezbędnym w wielu procesach fizjologicznych, m.in. w utrzymaniu integralności tkanki kostnej (Morotti i in. 2016). Jako składnik strukturalny, Ca wraz z fosforem (P) składa się na mineralną część kości, a także pełni funkcję składnika metabolicznego w procesach biochemicznych i fizjologicznych (Ray i in. 2017).

Niedobór Ca jest w dzisiejszych czasach problemem społecznym, a jednym z jego poważnych skutków jest osteoporoza. Osteoporoza jest zaburzeniem, które wpływa na skład kości, obniżając zarówno ich gęstość, jak i stopień mineralizacji. W konsekwencji stopniowa utrata tkanki kostnej może prowadzić do kruchości kości i zwiększonej podatności na złamania. Z roku na rok obserwowany jest nasilający się wzrost osób chorujących na schorzenia kostne oraz osób dotkniętych złamaniami spowodowanymi osteoporozą. Spożywanie wapnia od dzieciństwa do wczesnej dorosłości pomaga pacjentom osiągnąć szczytową masę kostną i opóźnić poważną utratę kości w trakcie starzenia się (Lorentzon i in. 2022). Ok. 80 % przypadków osteoporozy u starszych kobiet stanowi osteoporoza postmenopauzalna, co tłumaczy się niedoborem estrogenów na początku menopauzy i syntezą cytokin zapalnych, co z kolei powoduje powstanie ujemnego bilansu Ca w organizmie (Waheed i in. 2019).

Spożycie Ca z produktów mlecznych jest jednym z prostszych sposobów pokrycia zapotrzebowania na ten pierwiastek. Jednakże ludzie nie spożywają Ca z dietetycznych źródeł w wystarczających ilościach. Ponadto, w regionach takich jak Azja, gdzie duża liczba osób cierpi na nietolerancję laktozy tym bardziej jest to utrudnione (Flammini i in. 2019). Suplementy Ca są drogie, dlatego też osoby o niskim statusie społeczno-ekonomicznym mogą mieć trudności z przestrzeganiem

spożywania odpowiedniej ilości tego pierwiastka. Z wyżej wymienionych powodów, aby zwiększyć spożycie Ca w diecie, w handlu dostępna jest żywność wzbogacona w Ca (Jia i in. 2016). Szeroko stosowanym źródłem tego pierwiastka jest oczyszczony CaCO_3 o wysokiej (ok. 40%) zawartości Ca. Skorupy jaj są uważane za najlepsze naturalne źródło Ca, dodatkowo jest w ok. 90% przyswajalny (Ray i in. 2017). Wykazano pozytywny wpływ nanosproszkowanych skorup jaj (NPES) na strukturę tkanki kostnej oraz biomarkery formowania kości u wysterylizowanych samic szczurów, co wskazuje na większą biodostępnością Ca w porównaniu do CaCO_3 . Grupa traktowana NPES wykazała prawie całkowity powrót do zdrowia z zachowaniem cech zdrowej tkanki kostnej i całkowitym tworzeniem struktur kostnych (Salama i in. 2022). Istotny jest również fakt, że przy występowaniu osteoporozy, szczególnie wśród osób starszych, chorobą towarzyszącą bywa nadciśnienie tętnicze. Wapń w tym przypadku wpływa na problemy sercowo-naczyniowe. U osób wśród, których schorzenie to występuje obserwowano niedobory właśnie tego pierwiastka (Waheed i in. 2019). W związku z tym uzupełnienie diety w suplementy produkowane z wysoko przyswajalnego wapnia pochodzącego ze skorup jaj może korzystnie wpływać na układ krążenia.

2.3 Biomateriały

Biomateriał, czy materiał biomedyczny, to materiał przeznaczony do wyrobu elementów, które mogą być umieszczone wewnątrz organizmu, stale lub czasowo zastępować chore tkanki i narządy, bądź ich części. Materiałem bazowym w syntezie biomateriałów najczęściej jest fosforan wapnia - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, który występuje w postaci hydroksyapatytu - $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, lub fosforanu beta-trójwapiowego - $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Hydroksyapatyt może być syntetyzowany z materiałów zawierających dużą ilość Ca, takich właśnie jak skorupa jaja ptaków (Abdulrahman i in. 2014).

Skorupa jaja jest rodzajem naturalnego biomateriału. W wyniku kalcynacji skorup jaj kurzych w temp. $750\text{ }^\circ\text{C}$ CaCO_3 zamienia się w tlenek wapnia (CaO) z wydzieleniem dwutlenku węgla (CO_2). Proszek ze skorup jaj po wymieszaniu z odpowiednimi związkami chemicznymi (kwasem solnym i amoniakiem oraz dodatkiem $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) przekształca się w materiał hydroksyapatytowy (Abdulrahman i in. 2014). Podjęto również próbę wytwarzania hydroksyapatytu ze skorup jaj kaczyc, jednakże w temperaturze kalcynacji $900\text{ }^\circ\text{C}$ (Sabir i in. 2021). Tak otrzymane ze skorup ptasich związki z powodzeniem mogą służyć jako baza do szeroko wykorzystywanych biomateriałów medycznych.

Opracowano trójwymiarowe drukowane rusztowania, wykorzystując $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.. pochodzący ze skorup jaj. Prowadzono na nich hodowle tkankowe na bazie ludzkich komórek macierzystych. Rusztowania z naturalnie występującym związkiem wykazały zwiększoną proliferację, rozwój komórek nerwowych, aktywność metaboliczną i różnicowanie w kierunku linii komórek kościotwórczych (Dadhich i in. 2016). Wytworzono także hydrożele na bazie żelatyny wzmocnione mikrocząsteczkami skorup jaj. Uzyskano stabilne mechanicznie i aktywne biologicznie trójwymiarowe konstrukcje, które mogą różnicować niedojrzałe komórki w osteoblasty. Kompozytowe hydrożele były następnie implantowane podskórną w modelu szczurzym w celu określenia ich biokompatybilności i degradacji (Wu i in. 2019). Wykazały one wyjątkową zmienność właściwości fizycznych i biologicznych, które są obiecujące w inżynierii tkanek zmineralizowanych (np. kości, chrząstek, zębów i ścięgien). Huang i in. (2020) zsyntetyzowali pokryte nanocząstkami tlenku magnezu (MgO) skorupy jaj (określane jako nanokompozyty CaCO_3/MgO), a następnie wytworzyli biomimetyczne aktywne rusztowanie poprzez chemiczne usieciowanie tego nanokompozytu oraz karboksymetylowego chitozanu i białka morfogenetycznego kości. Rusztowanie kompozytowe wykazywało znaczną zdolność do mineralizacji i silny potencjał różnicowania osteogenicznego. Analiza mechanizmu różnicowania osteogenicznego wyraźnie pokazała, że jony Mg^{2+} i BMP2 (*bone morphogenetic - protein - białko morfogenetyczne kości*) uwolnione z rusztowania kompozytowego mogą aktywować fosforylację szlaków odpowiedzialnych za przekazywanie sygnałów międzykomórkowych oraz promować osteogenezę. Dodatkowo skorupę jaja można wykorzystać do syntezy pianek bioceramicznych 3D przy minimalnym wpływie na środowisko. Dzięki ich właściwościom fizykochemicznym mają zastosowanie jako rusztowania do regeneracji kości (Sanchez-Salcedo i in. 2017).

2.4 Budownictwo

Beton jako materiał stworzony przez człowieka na potrzeby budownictwa, składa się z cementu, kruszywa i wody. Szacuje się, że 0.8 miliarda ton cementu jest wytwarzane przez przemysł budowniczy każdego roku, co niesie za sobą negatywne skutki środowiskowe, jako że produkcja cementu odpowiedzialna jest w ok. 7% za globalną emisję CO₂. Ponadto, do wytworzenia 0,8 miliarda ton cementu, potrzebne jest około 1,6 miliarda materiałów takich jak wapień i glina (Jhatial i in., 2022). Corocznie produkcja jaj wytwarza odpady w postaci skorup w ilości ok. 1.61 miliona ton, co wpływa negatywnie na środowisko i jest problemem względem utylizacji tych pozostałości. Wprowadzenie do użytku sproszkowanej skorupy jaja jako zamiennika wapnia może obniżyć globalną emisję CO₂, oraz tym samym pomóc, przynajmniej częściowo, rozwiązać problemy związane z utylizacją odpadów.

CaCO₃ ze skorup jaj przyczynia się do zwiększenia aktywności pucolanowej, czyli reakcji drobnoziarnistych materiałów krzemionkowo–glinowych z wodorotlenkiem wapnia (Ca(OH)₂) pod wpływem wilgoci w mieszankach cementowych (Tironi i in. 2013; Nandhini i in. 2022). Właściwości cementu zależą od udziału sproszkowanych skorup jaj. Beton z cementu z 5% dodatkiem sproszkowanych skorup jaj wykazuje większą odporność na nacisk. Próby, które miały zawartość wyższą niż 10% wykazywały natomiast zmniejszoną odporność. Dodanie popiołu lotnego (powstaje w procesie spalania węgla podczas elektrostatycznego lub mechanicznego wytrącania pylistych cząsteczek z gazów odlotowych) wpłynęło pozytywnie na siłę wiązania cementu z dodatkiem pokruszonych skorup jaj. Próby z zawartością większą niż 15% skruszonych skorup, wykazywały niższą odporność na rozciąganie. Sorpcja prób betonu przy cemencie kontrolnym, była niemalże identyczna z betonem cementu z 10% dodatkiem pokruszonych skorup jaj, a sorbcja betonu z 15% udziałem pokruszonych skorup i 15% dodatkiem popiołu lotnego była wyższa niż betonu kontrolnego (Yerramala 2014). Potwierdzono zatem, że pokruszone skorupy jaj mogą być wykorzystane jako dodatek do mieszanek cementowych. Stopień rozdrobnienia proszku ze skorup miał wpływ na odporność betonu na ściskanie. Najwyższą odpornością cechuje się mieszanka cementowa z dodatkiem sproszkowanych skorup, których fragmenty osiągają wielkość 50 μm. Nie biorąc pod uwagę stopnia rozdrobnienia, adekwatną wartością zastąpienia w cemencie było 10% (Jhatial i in. 2022).

Pozyskiwanie materiałów nieodnawialnych przez przemysł budowniczy, m.in. do produkcji cementu, powoduje znaczące problemy. Zatem wykorzystanie odpadów w postaci skorup jaj może być kluczowe. Wytrzymałość mieszanki cementowej na ściskanie poprawia się w znacznym stopniu po dodaniu sproszkowanych skorup, co przemawia na korzyść stosowania ich jako dodatku do materiałów budulcowych. Dalsze dodawanie proszku ze skorup, sprawiło spadek wytrzymałości betonu na ściskanie. Cement z dodatkiem pokruszonych skorup jaj wykazuje świetne cechy fizyczne i odpowiedni skład chemiczny, aby być używanym w przemyśle budowniczym, chociaż istnieje potrzeba dalszych badań skupionych szczególnie na wytrzymałości betonu (Nandhini i in. 2022).

2.5 Sorpcja glebowa

Produkcja jaj kurzych na świecie wynosi współcześnie do 65 mln ton na rok, więc przy założeniu, iż przeciętny udział procentowy skorupy w masie jaja to około 11% możemy stwierdzić, że co roku generowanych jest około 7.15 mln ton skorup jaja kurzego (Quina i in. 2017), co pozostawia dużą ilość niewykorzystanego materiału. Koniecznością jest więc znalezienie sposobu na wykorzystanie tak dużej ilości dostępnego surowca np. jako czynnika wpływającego na właściwości sorpcyjne gleby, co możliwe jest głównie dzięki porowatej strukturze skorupy. Istotna jest także obecność błon, podskorupowej oraz obiałkowej, które zawierają nierozpuszczalne w wodzie włókna białkowe oraz charakteryzują się porowatą strukturą, przez co wykazują dobre zdolności sorpcyjne (Mitali in. 2016). Z uwagi na skład chemiczny skorupy jaja można przypuszczać, że będzie się ona zachowywać jak sorbent oparty na działaniu Ca, który można dodać do gleby w postaci sproszkowanej, zwapnionej, wysuszonej lub jako oddzielone warstwy. Dotychczas wykazano, iż skorupa jaja kurzego zdolna jest do wiązania związków takich jak: fluorki, fosforany, jony metali oraz przemysłowe barwniki (Guru i Dash 2017; Quina i in. 2017).

Dzięki swoim właściwościom skorupa jaja jest także w stanie wiązać przemysłowe barwniki używane do masowego barwienia tekstyliów. Należy zauważyć, że barwniki wykazują często działanie uczulające czy rakotwórcze a przy tym zanieczyszczają silnie środowisko naturalne szczególnie metalami ciężkimi. Ilość używanych w przemyśle barwników wynosi ponad 700 000 ton, a ich ilość z każdym rokiem wzrasta. Jeden z najpopularniejszych barwników, Levafix Brilliant Red E-4BA, może z powodzeniem być adsorbowanych przez skorupy jaj. Badania wykazały, że skorupa jaja kurzego jest zdolna do wtrącenia barwnika z roztworu wodnego (Guru i Dash 2017). Zdolność skorup do absorpcji kancerogennych barwników może być zależna od pH, jak i od temperatury, ale występuje niezależnie od formy w jakiej występuje skorupa jaja (zwapniona, sproszkowana, naturalna).

Skorupa jaja kurzego zdolna jest również do absorpcji nie biodegradowalnych jonów metali, które mogą być toksyczne dla człowieka. W celu ich usunięcia można stosować różne metody, jednak te opierające się na biologicznej sorpcji nie stwarzają problemów z zanieczyszczeniem wtórnym oraz są łatwe w wykorzystaniu (Guru i Dash 2017). Oceniając właściwości wiązania tych jonów przez skorupy, najczęściej w postaci proszku oraz przez ich błony, ważnym czynnikiem było pH podłoża (Yeddou i Bensmaili 2006; Wenming i in. 2001). Doskonale widać to na przykładnie jonów cynku (Zn). Ich przyłączanie do skorupy odbywało się w przedziale od 2 do 6 pH, przy czym zjawisko to nasilało się wraz ze wzrostem pH. Spowodowane może być to tym, iż przy niższym pH jony metalu musiały konkurować z jonami wodorowymi, natomiast przy wzroście pH w skorupie jaja odsłonięte zostają naładowane ujemnie cząsteczki, które zwiększają powinowactwo dodatnio naładowanych jonów metali. Skorupa która uległa zwapnieniu zdolna jest do wiązania fosforanów czy fluorków przy skuteczności absorpcji większej niż 99%, co czyni z niej dobry selektywny absorbent. Ponadto właściwości z jakimi skorupa jaja kurzego absorbuje jony metali pozwala na selektywne odseparowywanie danych jonów z gleby przy odpowiedniej manipulacji pH (Guru i Dash 2017).

3. Podsumowanie

Alternatywne wykorzystanie skorup jaj ptasich może zachodzić w wielu dziedzinach. Wyniki wielu prac naukowych potwierdzają, że skorupy stanowią doskonałe naturalne źródło Ca, który następnie może być z powodzeniem wykorzystywany wszechstronnie. Znajduje on bowiem zastosowanie zarówno w medycynie, jak i budownictwie czy szeroko rozumianej ochronie środowiska. Ca pochodzący ze skorup jaj może być stosowany w suplementacji diety i walce z chorobami kostnymi, takimi jak osteoporoza. Jednocześnie można go używać przy produkcji materiałów budulcowych ale także w celu pochłaniania niebezpiecznych związków z gleby. Wiele alternatywnych sposobów wykorzystania skorup jaj pomaga w zmniejszeniu ilości tegoż odpadu trafiającego na wysypiska śmieci. Powyższa praca udowadnia, że odpad poprodukcyjny w postaci skorup jaj ma wysoki potencjał, który skłania do prowadzenia dalszych badań.

4. Literatura

- Abdulrahman I, Tijani HI, Mohammed BA i in. (2014) From garbage to biomaterials: an overview on egg shell based hydroxyapatite. *Journal of Materials* 802467.
- Aditya S, Stephen J, Radhakrishnan M (2021). Utilization of eggshell waste in calcium-fortified foods and other industrial applications: A review. *Trends in Food Science & Technology* 115: 422-432.
- Coleman JR, Terepka AR (1972) Fine structural changes associated with the onset of calcium, sodium and water transport by the chick chorioallantoic membrane. *The Journal of Membrane Biology*, 7(1), 111-127.
- Dadhich P, Das B, Pal P i in. Dutta (2016) A simple approach for an eggshell-based 3D-printed osteoinductive multiphasic calcium phosphate scaffold. *ACS applied materials & interfaces* 8(19): 11910-11924.
- Lorentzon M, Johansson H, Harvey NC i in. (2022). Osteoporosis and fractures in women: the burden of disease. *Climacteric*, 25(1), 4-10.

- Flammini L, Martuzzi F, Vivo V i in. (2016) Hake fish bone as a calcium source for efficient bone mineralization. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 67(3): 265-273.
- Guru PS, Dash S (2014) Sorption on eggshell waste – A review on ultrastructure, biomineralization and other applications. *Advances in Colloid and Interface Science* 209: 49-76.
- Hincke MT, Nys Y, Gautron J i in. (2012) The eggshell: structure, composition and mineralization. *Frontiers in Bioscience-Landmark* 17(4): 1266-1280.
- Huang Y, Ji Y, Kang Z i in. (2020) Integrating eggshell-derived CaCO₃/MgO nanocomposites and chitosan into a biomimetic scaffold for bone regeneration. *Chemical Engineering Journal* 395 (125098): 1-12.
- Jhatial AA, Kumar A, Bheel N i in. (2022) Assessing the sustainability and cost-effectiveness of concrete incorporating various fineness of eggshell powder as supplementary cementitious material. *Environmental Science and Pollution Research* 29(56): 84814-84826.
- Jhatial AA, Sohu S, Memon MJ i in. (2019) Eggshell powder as partial cement replacement and its effect on the workability and compressive strength of concrete. *International Journal of Advanced and Applied Sciences* 6(9): 71-75.
- Jia HX, Han JH, Li HZ i in. (2016) Mineral intake in urban pregnant women from base diet, fortified foods, and food supplements: focus on calcium, iron, and zinc. *Biomedical and Environmental Sciences* 29(12): 898-901.
- Mittal A, Teotia M, Soni RK i in. (2016) Applications of egg shell and egg shell membrane as adsorbents: A review. *Journal of Molecular Liquids* 223: 376-387.
- Morotti A, Charidimou A, Phuah CL i in. (2016) Association between serum calcium level and extent of bleeding in patients with intracerebral hemorrhage. *JAMA Neurology* 73(11): 1285-1290.
- Nandhini K, Karthikeyan J (2022) Effective utilization of waste eggshell powder in cement mortar. *Materials Today: Proceedings* 61: 428-432.
- Nys Y, Le Roy N (2018) Calcium homeostasis and eggshell biomineralization in female chicken. In *Vitamin D*. Academic Press: 361-382.
- Proszkowiec-Weglarz M, Angel R (2013) Calcium and phosphorus metabolism in broilers: Effect of homeostatic mechanism on calcium and phosphorus digestibility. *Journal of Applied Poultry Research* 22(3): 609-627.
- Quina MJ, Soares MAR, Quinta-Ferreira R (2017) Application of industrial eggshell as a valuable antropogenic resource. *Resources, Conservation and Recycling* 123: 176-186.
- Ray S, Barman AK, Roy PK i in. (2017) Chicken eggshell powder as dietary calcium source in chocolate cakes. *The Pharma Innovation* 6(9, Part A), 1-4.
- Sabir A, Abbas H, Amini AY i in. (2021) Characterization of duck egg shells and bioceramic materials in making denture applications. [In:] *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 1088(1): 012116).
- Salama RH, Ali SS, Salama THM i in. (2022) Dietary effects of nanopowder eggshells on mineral contents, bone turnover biomarkers, and regulators of bone resorption in healthy rats and ovariectomy-induced osteoporosis rat model. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1-19.
- Sánchez-Salcedo S, Vila M, Diaz A i in. (2016) Synthesis of HA/ β -TCP bioceramic foams from natural products. *Journal of Sol-Gel Science and Technology* 79(1): 160-166.
- Tironi A, Trezza MA, Scian AN (2013) Assessment of pozzolanic activity of different calcined clays. *Cement and Concrete Composites*, 37: 319-327.
- Tsai WT, Yang JM, Lai CW i in. (2006) Characterization and adsorption properties of eggshells and eggshell membrane. *Bioresource Technology* 97(3): 488-493.
- Waheed M, Butt MS, Shehza A (2019) Eggshell calcium: A cheap alternative to expensive supplements. *Trends in Food Science & Technology* 91: 219-230.
- Wu X, Stroll SI, Lantigua D i in. (2019) Eggshell particle-reinforced hydrogels for bone tissue engineering: An orthogonal approach. *Biomaterials Science* 7(7): 2675-2685.
- Yerramala A (2014) Properties of concrete with eggshell powder as cement replacement. *The Indian Concrete Journal* 88(10): 94-105.

3. Wpływ mikroflory środowiska hodowlanego na pozyskiwane surowce drobiarskie

Effect of the rearing environment microflora on obtained poultry raw materials

Sofiia Danko⁽¹⁾, Paulina Wac⁽¹⁾, Zuzanna Bąk⁽¹⁾, Savelii Ishchenko⁽¹⁾, Dawid Ziobro⁽¹⁾, Natalia Pietruszka⁽¹⁾, Justyna Batkowska⁽²⁾, Kamil Drabik⁽²⁾

⁽¹⁾ Studenckie Koło Naukowe Biologii, Hodowli i Użytkowania Drobiu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

⁽²⁾ Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Sofiia Danko: sofiiia.danko@gmail.com

Opiekunowie SKN: dr hab. Justyna Batkowska prof. UP, dr. inż. Kamil Drabik

Słowa kluczowe: mikrobiom, *Campylobacter spp.*, *Salmonella spp.*, choroby, drób

Streszczenie:

Mikroflora definiowana jest jako zbiór mikroorganizmów: bakterii, grzybów lub wirusów żyjących w danym środowisku. Dostępna literatura wskazuje, że wpływa ona znacząco na jakość jaj wylęgowych i piskląt, jaj konsumpcyjnych oraz mięsa drobiowego. Warto zauważyć, że bakterie takie jak *Salmonella* oraz *Campylobacter* mogą wywoływać choroby u drobiu. Należy zaznaczyć, że bakterie te mogą przenosić się na pozyskiwane jaja oraz mięso drobiowe stwarzając tym samym ryzyko bezpieczeństwa zdrowotnego konsumentów. A tym samym narażając producentów na straty finansowe, ponieważ takie surowce nie mogą trafić na rynek. Dlatego też, na fermach drobiu należy stosować się do zasad bioasekuracji minimalizując tym samym możliwość ryzyko wystąpienia szkodliwej mikroflory w stadach drobiu.

1. Wstęp

W skład mikroflory wchodzi bakterie, grzyby, niższe i wyższe eukarionty oraz wirusy. Mikroflora towarzyszy ptakom na każdym etapie ich życia. Pierwszy kontakt z nią następuje już podczas rozwoju zarodka. Wraz z wiekiem zarodków profil mikroflory staje się bardziej zróżnicowany zaś bakterie potencjalnie chorobotwórcze, w tym beztlenowe, mogą być izolowane już podczas wylęgu (Kizerwetter-Świda i Binek 2008). Fakt obecności bakterii potencjalnie chorobotwórczych u piskląt po wylęgu, może wynikać z zakażeń transowarialnych czyli takich, które są przenoszone drogą pionową (kura-jajo-pisklę) (Woronowa i in. 2020). Mikroflora może być przyczyną chorób u drobiu, które mogą wpływać na pozyskiwane surowce drobiarskie, takie jak mięso oraz jaja. Z punktu bezpieczeństwa mikrobiologicznego surowców pozyskiwanych od drobiu (mięso oraz jaja konsumpcyjne) do jednych z najgroźniejszych patogenów dla ludzi można zaliczyć bakterie z rodzaju *Salmonella spp.* oraz *Campylobacter spp.* Należy zauważyć, że mogą one zostać wprowadzone na każdym etapie procesu produkcyjnego i spowodować skażenie produktu końcowego (Chlebicz i Śliżewska 2018) Dlatego też warto przyjrzeć się bliżej wpływowi mikroflory środowiska hodowlanego na pozyskiwane surowce drobiarskie.

2. Przegląd literatury

2.1 Wpływ mikroflory na jakość jaj wylęgowych i piskląt jednodniowych

Niezależnie od kierunku produkcji drobiarskiej ważna jest jakość pozyskiwanych piskląt, która jest kluczowa dla ich późniejszej efektywności. Pisklę dobrej jakości określa się jako dobrze rozwinięte, bez deformacji i zwyrodnień, o suchej pokrywie puchowej, bez pozostałości błon, o błyszczących oczach i wchłoniętym woreczku żółtkowym. Jako, że jajo stanowi układ zamknięty, wszystkie substancje niezbędne do rozwoju zarodka muszą być w nim zgromadzone już na etapie jego zniesienia, ponieważ na etapie inkubacji nie ma już możliwości zmiany tego potencjału. Można jednak zapewnić optymalną jakość środowiska zewnętrznego i warunków inkubacji, które również

przyczyniają się do jakości pozyskiwanych piskląt. Mikroflora ma istotny wpływ na wylęgowość i zdrowie piskląt.

Pomimo faktu, iż skorupa jaja w znacznym stopniu chroni zarodek przed wnikaniem do niego jak i jego środowiska życia drobnoustrojów chorobotwórczych. Zdarzają się jednak przypadki, kiedy ta naturalna bariera zawodzi. Przykładem może być ludzki patogen *Salmonellae*, który potrafi z łatwością przeniknąć przez skorupę i błony nienaruszonego jaja wylęgowego. Stanowi on zagrożenie nie tylko dla rozwijającego się zarodka, ale także dla innych piskląt podczas wylęgu w komercyjnej wylęgarni. Przy zanieczyszczeniu jaj *Salmonellą* z łatwością dochodzi do krzyżowego zakażenia się piskląt. Głównymi obawami dotyczącymi problemu *Salmonelli* w wylęgarniach jest obniżenie wylęgowości i ogólne aspekty bezpieczeństwa (Berrang i in. 1999).

Ważnym elementem prawidłowo prowadzonych lęgów jest dezynfekcja jaj wylęgowych. Jest to związane z występowaniem na ich powierzchni naturalnej mikroflory specyficznej dla kurnika i zależnej od systemu utrzymania (De Reu i in. 2006). Wykazano obecność na skorupie takich rodzajów bakterii jak: *Micrococcus*, *Achromobacter*, *Aerobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Cytophaga*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Aeromonas*, *Proteus*, *Sarcina*, *Serratia*, *Streptococcus*, *Yersinia* (Mayes i Takeballi 1983; Jones i in. 2004; Węsierska 2006; Musgrove i in. 2008). Nieuszkodzona skorupa wraz z mechanizmami obronnymi jaja zabezpiecza, co prawda rozwijający się zarodek przed patogenami, jednak w warunkach podwyższonej temperatury i wilgotności, charakterystycznych dla procesu inkubacji, rozwój drobnoustrojów przebiega znacznie intensywniej, co stanowi realne zagrożenie dla wyników lęgu. Dezynfekcja jaj wylęgowych stanowi zatem niezwykle istotny element w utrzymaniu wysokiej jakości produkcji piskląt. Rekomenduje się dwukrotne odkażenie jaj, tj. bezpośrednio po zbiorze, a potem przed samym umieszczeniem jaj w inkubatorze. Używane metody to zamglawianie, naświetlanie UV lub opryski preparatem dezynfekującym. Olsen i in. (2017) stwierdzili, że jaja brudne wstępnie umyte (w chlorze), po czym poddane dwukrotnej fumigacji i finalnie dezynfekcji natryskowej cechują się bardzo podobną mikroflorą do jaj czystych. Wskazuje to, że opisana procedura dezynfekcji skutecznie redukuje ilość bakterii niezależnie od pierwotnego stanu zanieczyszczenia skorupy. Komercyjna metoda polegająca na dezynfekcji parami formaliny niesie ze sobą zagrożenie pracowników wylęgarni z uwagi na właściwości kancerogenne formaldehydu (Ledoux, 2002). Fakt ten skutkuje poszukiwaniem alternatywnych substancji wykazujących działanie biobójcze w odniesieniu do patogennych mikroorganizmów przy jednoczesnym braku negatywnego wpływu wyników lęgu. Można tu wymienić promieniowanie UV (Al-Shammari i in. 2015), reaktywne formy tlenu (Wlazło i in. 2020), propolis (Aygün i in. 2012), wyciągi roślinne (Al-Shammari i in. 2022) czy sok z czerwonego z grapefruita (Batkowska i in. 2018). Prawidłowo prowadzona dezynfekcja z zastosowaniem odpowiednich, bezpiecznych dla zarodków substancji przyczynia się do zmniejszenia strat wynikających z zamierania rozwijających się zarodków na skutek infekcji przez patogeny.

Zakażenia transowarialne i choroby kurcząt są poważną kwestią w ogólnym temacie hodowli drobiu. Przykładowo zakaźne zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego, Avian Encephalomyelitis (AE), jest groźną chorobą wywoływaną przez wirus z rodzaju Pi-coronavirus i rozprzestrzenia się on drogą wertykalną. Nioski zakażone wirusem przekazują go do jaj, po czym pisklęta po wykluciu rozsiewają wirus do środowiska i przenoszą go na zdrowe osobniki. Infekcja na drodze pionowej daje objawy po pierwszych 5-14 dniach od wyklucia, a ta po wykluciu- po 10 dniach. Najczęściej na AE zapadają kurczęta w 1-3 tygodniu życia. Objawami są niska ruchliwość, siadanie na skokach, leżenie na boku oraz charakterystyczne drżenie szyi i głowy. Śmiertelność przy tej chorobie sięga nawet 75%, a skuteczną metodą profilaktyki jest szczepienie żywą szczepionką stad rodzicielskich przed okresem nieśności (Dymacz i in. 2007). Innym przykładem może być zapalenie woreczka żółtkowego spowodowane zakażeniem bakteryjnym w okresie okołolęgowym piskląt. Wywoływane jest głównie przez *Enterococcus faecalis*, *E. coli*, *Proteus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus spp.* Bakterie te mają negatywny wpływ na resorpcję przeciwciał, często zachodzi jedynie uogólniony proces, co skutkuje podwyższoną śmiertelnością, głównie w pierwszych dniach życia kurcząt. Sposobem przeciwdziałania zakażeniom bakteryjnym w produkcji drobiarskiej jest stosowanie chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych podawanych już od 1-2. dnia życia ptaków (Chrzastek

i Wieliczko 2015). Po wylęgu, przy niedokończonym rozwoju zarodka może dojść również do zapalenia pępka. Zalegająca krew utrudnia wyschnięcie naczyń pępowinowego i prawidłowe jego odcięcie przez powłoki brzuszne, co może skutkować infekcją bakteryjną. Najczęstszą przyczyną tej choroby są błędy technologiczne inkubacji, niewystarczająca higiena w aparatach lęgowych i klujnikach i niewłaściwie wykonane szczepienie *in ovo* (Pijarska i Malec 2005).

2.2 Wpływ mikroflory na jakość jaj konsumpcyjnych

Wiele szczepów *Salmonella* izolowanych od drobiu, odpowiedzialnych za zatrucia pokarmowe u ludzi, wykazuje oporność na często stosowane antybiotyki. Z tego powodu dużą uwagę zwraca się na jaja i mięso drobiowe jako źródła bakterii z rodzaju *Salmonella*. Zakażone ptaki są podstawowym źródłem zakażenia *Salmonella spp.* w środowisku produkcyjnym (Chlebicz i Śliżewska 2018). Zapadalność na salmonellozę u ludzi w znacznym stopniu skorelowana jest z obecnością *Salmonella enterica* serotyp Enteritidis u kur niosek (Havelaar i in. 2013). Zanieczyszczenie jaj i skorup jest uznane za jedną z głównych przyczyn salmonellozy przenoszonej przez żywność (Howard i in. 2012). Dwa najczęściej identyfikowane czynniki chorobotwórcze wywołujące salmonellozę przenoszoną drogą pokarmową to *S. enterica* serotypów *Typhimurium* i *Enteritidis*. Oba serotypy mają zdolność kolonizowania narządów rozrodczych kur (jajowodów i jajników) (Galiś i in. 2013). Jednak *S. enteritidis* jest częściej izolowana z białka i żółtka jaj, ze względu na zdolność do lepszego przylegania do błony śluzowej dróg rodnych w porównaniu z *S. typhimurium* (Wales i Davies 2011). Na skażenie mikrobiologiczne jaj składa się wiele czynników, co utrudnia wdrożenie odpowiednich sposobów profilaktyki. Istnieją dwie drogi, którymi *Salmonella* może dostać się do treści jaja. Bezpośrednie skażenie ma miejsce podczas tworzenia się jaja w układzie rozrodczym kur (w tym w jajniku i jajowodzie); natomiast pośrednie, po złożeniu jaja i przedostaniu się bakterii znajdujących się na zewnętrznej powierzchni jaja przez skorupę do treści jaj. Na te drogi może mieć wpływ technologia produkcji jaj i ich przechowywanie (Gast i in. 2014). Skażenie treści jaj bakteriami pochodzącymi ze źródeł środowiskowych po zniesieniu następuje poprzez penetrację skorupy. Najbardziej podatne na zakażenia są jaja w okresie od 15 min do 3 h po zniesieniu i przechowywane w temperaturze 25 °C. Cechy skorupy, takie jak grubość oraz ilość porów, nie mają istotnego wpływu na zarażenie jaja przez *S. enteritidis* (Miyamoto i in. 1998). Kolejnym istotnym czynnikiem wpływającym na tempo przenoszenia zakażenia bakteryjnego może być np. system chowu ptaków. Potwierdzają to wyniki badań Gasta'a i in. (2014), którzy stwierdzili, że tempo przenoszenia zakażenia bakteriami *S. enteritidis* w stadzie zależy od systemu chowu, gęstości obsady oraz aktywności motorycznej ptaków.

2.3 Wpływ mikroflory na jakość mięsa drobiowego

Kampylobakterioza jest najczęściej rozpoznawaną odzwierzęcą chorobą bakteryjną w Unii Europejskiej i Stanach Zjednoczonych (Havelaar i in. 2013). Jest ona najczęściej wywoływana przez *Campylobacter jejuni* i w mniejszym stopniu przez *Campylobacter coli* (Wagenaar i in. 2013). Zakażenia u ludzi przez zwierzęta może odbywać się wieloma drogami, głównie poprzez żywność (w szczególności mięso drobiowe). Należy zauważyć, że powierzchnia tuszek może ulec zanieczyszczeniu florą jelitową, w tym *Campylobacter* podczas procedur ubojowych (Habib i in. 2012). W przeciwieństwie do salmonellozy, jaja w zasadzie nigdy nie są przyczyną kampylobakteriozy u ludzi (Wagenaar i in. 2013). Zakładając, że odpowiednio stosowana jest zasada "all in-all out" każdy cykl brojlerów rozpoczyna się od niezakażonego stada (Cox i in. 2012). Jeśli brojlernie są odpowiednio czyszczone i dezynfekowane przed wstawieniem nowych zwierząt, stada zwykle pozostają wolne od *Campylobacter* w ciągu pierwszych 1-2 tygodni. Po wprowadzeniu do stada, zakażenie tymi bakteriami rozprzestrzenia się szybko. Praktycznie wszystkie zwierzęta ulegają zakażeniu, wydalając do 10⁸ jtk *Campylobacter*/g kału. Liczba ta pozostaje na podobnym poziomie do momentu uboju (Wagenaar i in. 2013). W krajach północnej Europy (Norwegia, Islandia, Finlandia, Szwecja) stwierdza się niższą częstość występowania i krótsze letnie szczyty zachorowalności powodowanej przez *Campylobacter* w porównaniu z krajami południowymi, co przypisuje się warunkom klimatycznym (Nylen i in. 2002). Znalezione zależności pomiędzy wiekiem zwierząt, liczbą budynków inwentarskich w gospodarstwie, obecnością innych zwierząt w gospodarstwie lub bezpośrednim otoczeniu, stadem wcześniej skolonizowanym *Campylobacter* w tym samym kurniku

oraz częściową depopulacją, a poziomem zakażenia kur (Van de Giessen i in. 1998). Nawet wysoki poziom bezpieczeństwa biologicznego nie gwarantuje, że stado będzie wolne od *Campylobacter* w momencie uboju, gdyż bakteria ta jest wszechobecna w brojlerniach i bez względu na spełnienie wszystkich norm związanych z bioasekuracją stada.

Ściółka używana w pomieszczeniach przeznaczonych do chowu, jest środowiskiem pełnym mikroorganizmów. Stanowi ona ważny element w chowie i hodowli, ponieważ ptaki na niej żerują czy dziobią. Jest ona często zmieszana z odchodami, co wiąże się z dużą zawartością drobnoustrojów jelitowych. Wielokrotne używanie tej samej ściółki jest częstą formą oszczędności producentów. Ponowne wykorzystanie ściółki może mieć potencjalny wpływ na mikrobiom jelitowy kurcząt (Pan i Yu 2014). W świeżej ściółce wykryto bakterie z rodziny *Proteobacteria*. Natomiast w ściółce użytej ponownie, wykryto głównie drobnoustroje jelitowe, takie jak *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Jeotgalicococcus*, *Salinicoccus*, *Atopostipes*. Jednak wtórne wykorzystanie ściółki może sprzyjać rozwojowi drobnoustrojów chorobotwórczych i mieć negatywny wpływ na mikrobiom jelit kur. Ponadto, wykorzystanie ściółki z poprzedniego rzutu może wiązać się z przenoszeniem patogenów na kolejne stado (Cressman i in. 2010). Ostateczne ukształtowanie się jelitowego mikrobiomu następuje po ok. 2 tygodniach życia kur (w niektórych źródłach 6-7 tygodniach). Dowodem na to jest stężenie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA), które zanotowano u 15 dniowych ptaków, a które utrzymywało się również na podobnym poziomie przez dalszy okres życia (Binek i in. 2017).

3. Podsumowanie

Mikrobiom kurnika oraz jelit ptaków odgrywa kluczową rolę w ówczesnej produkcji drobiarskiej. Towarzyszy on ptakom od wylęgu aż do pozyskania surowców drobiarskich. Należy tutaj wspomnieć, że niektóre mikroorganizmy mogą wywoływać choroby u drobiu oraz ludzi. Dlatego, też ważne jest stosowanie bioasekuracji na fermach drobiu oraz monitoring zakażeń stad drobiu bakteriami o szczególnym znaczeniu chorobotwórczym (*Campylobacter*, *Salmonella*), zwiększając tym samym bezpieczeństwo mikrobiologiczne surowców drobiarskich (mięsa, jaj konsumpcyjnych oraz jaj wylęgowych).

4. Literatura

- Al-Shammari KI, Batkowska J, Gryzińska M i in. (2022) The use of selected herbal preparations for the disinfection of Japanese quail hatching eggs. *Poultry Science* 101(10): 102066.
- Al-Shammari KIA, Batkowska J, Gryzińska M (2015) Assessment of ultraviolet light effect in hatching eggs disinfection on hatchability traits of two breeds of quails and chickens. *Acta Scientiarum Polonorum. Zootechnica* 14: 33-44.
- Aygun A, Sert D, Copur G (2012) Effects of propolis on eggshell microbial activity, hatchability, and chick performance in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) eggs. *Poultry Science* 91(4): 1018-1025.
- Batkowska J, Wlazlo L, Drabik K i in. (2018) Evaluation of grapefruit juice (*Citrus paradisi*) as an alternative disinfectant for hatching eggs. *Pakistan Journal of Zoology* 50(2): 647-653.
- Berrang ME, Cox NA, Frank JF i in. (1999) Bacterial penetration of the eggshell and shell membranes of the chicken hatching egg: a review. *Journal of Applied Poultry Research* 8(4): 499-504.
- Binek M, Cisek AA., Rzewuska M i in. (2017) Mikrobiom jelitowy kury domowej – rozwój i funkcja. *Medycyna Weterynaryjna* 73(10): 618-625.
- Chlebicz A, Ślizewska K (2018) *Campylobacteriosis*, *salmonellosis*, *yersiniosis*, and *listeriosis* as zoonotic foodborne diseases: a review. *International journal of environmental research and public health* 15(5): 1-29.
- Chrząstek K, Wieliczko A (2015) Wpływ enrofloksacyny, florfenikolu i ceftiofuru na poziom IgY w woreczku żółtkowym oraz surowicy kurcząt. *Medycyna Weterynaryjna*, 71(06): 369-372.
- Cox NA, Richardson LJ, Maurer JJ i in. (2012) Evidence for horizontal and vertical transmission in *Campylobacter* passage from hen to her progeny. *Journal of food protection*, 75(10): 1896-1902.

- Cressman MD, Yu Z, Nelson MC i in. (2010) Interrelations between the microbiotas in the litter and in the intestines of commercial broiler chickens. *Applied and environmental microbiology* 76(19): 6572-6582.
- De Reu K, Grijspeerdt K, Messens W i in. (2006) Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria, including *Salmonella enteritidis*. *International Journal of Food Microbiology* 112: 253-260.
- Dymacz G, Szeleszczuk P, Houszka M (2007) Przypadek zakaźnego zapalenia mózgu i rdzenia kręgowego u kurcząt brojlerów. *Medycyna Weterynaryjna* 11(63): 1485-1489.
- Galiş AM, Marcq C, Marlier D i in. (2013) Control of *Salmonella* contamination of shell eggs—preharvest and postharvest methods: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 12(2): 155-182.
- Gast RK, Guraya R, Jones DR i in. (2014) Contamination of eggs by *Salmonella enteritidis* in experimentally infected laying hens housed in conventional or enriched cages. *Poultry Science* 93(3): 728-733.
- Habib I, Berkvens D, De Zutter L i in. (2012) *Campylobacter* contamination in broiler carcasses and correlation with slaughterhouses operational hygiene inspection. *Food microbiology* 29(1): 105-112.
- Havelaar AH, Ivarsson S, Löfdahl M i in. (2013) Estimating the true incidence of campylobacteriosis and salmonellosis in the European Union, 2009. *Epidemiology & Infection* 141(2): 293-302.
- Howard ZR, O'Bryan CA, Crandall PG i in. (2012) *Salmonella enteritidis* in shell eggs: current issues and prospects for control. *Food Research International* 45(2): 755-764.
- Jones DR, Musgrove MT, Northcutt JK (2004) Variations in external and internal microbial populations in shell eggs during extended storage. *Journal of Food Protection* 67: 2657-2660
- Kizerwetter-Świda M, Binek M (2008) Bacterial microflora of the chicken embryos and newly hatched chicken. *Journal of Animal and Feed Sciences* 17(2): 224-232.
- Ledoux L (2002) Hatching egg sanitation beyond the myths. *World Poultry Journal* 18: 34-35.
- Mayes FJ, Takeballi MA (1983) Microbial contamination of the hen's egg: A review. *Journal of Food Protection* 46: 1092-1098.
- Miyamoto T, Horie T, Baba E i in. (1998) *Salmonella* penetration through eggshell associated with freshness of laid eggs and refrigeration. *Journal of Food Protection* 61(3): 350-353.
- Musgrove MT, Northcutt JK, Jones DR i in. (2008) *Enterobacteriaceae* and related organisms isolated from shell eggs collected during commercial processing. *Poultry Science* 87: 1211-1218.
- Nylen G, Dunstan F, Palmer SR i in. (2002) The seasonal distribution of campylobacter infection in nine European countries and New Zealand. *Epidemiology & Infection* 128(3): 383-390.
- Olsen R, Kudirkienė E, Thøfner I i in. (2017) Impact of egg disinfection of hatching eggs on the eggshell microbiome and bacterial load. *Poultry Science* 96(11): 3901-3911.
- Pan D, Yu Z (2014) Intestinal microbiome of poultry and its interaction with host and diet. *Gut microbes* 5(1): 108-119.
- Pijarska I, Malec H (2005) Patologia woreczka żółtkowego u piskląt kurzych. *Przegląd Hodowlany* 73(07): 17-20.
- Van de Giessen AW, Tilburg JJHC, Ritmeester WS i in. (1998) Reduction of *Campylobacter* infections in broiler flocks by application of hygiene measures. *Epidemiology & Infection* 121(1): 57-66.
- Wagenaar JA, French NP, Havelaar AH (2013) Preventing *Campylobacter* at the source: why is it so difficult?. *Clinical infectious diseases* 57(11): 1600-1606.
- Wagenaar JA, Mevius DJ, Havelaar AH (2006) *Campylobacter* in primary animal production and control strategies to reduce the burden of human campylobacteriosis. *Revue Scientifique et Technique-Office International Des Epizooties*, 25(2): 581-594.
- Wales AD, Davies RH (2011) A critical review of *Salmonella* Typhimurium infection in laying hens. *Avian Pathology* 40(5): 429-436.

Fauna i flora

- Węsierska E (2006) Czynniki jakości mikrobiologicznej spożywczych jaj kurzych. *Medycyna Weterynaryjna* 11: 1222 - 1228.
- Wlazło L, Drabik K, Al-Shammari KI i in. (2020) Use of reactive oxygen species (ozone, hydrogen peroxide) for disinfection of hatching eggs. *Poultry Science* 99(5): 2478-2484.
- Woronowa A, Vasiukov K, Wengerska K i in. (2020) Transowarialne choroby drobiu. [W:] Nyćkowiak J, Leśny J (red.) *Nauki przyrodnicze: fauna i hodowla zwierząt*. Młodzi Naukowcy, Poznań: 75-80.

4. Fermy drobiu a zapylenie

Poultry farms and dust pollution

Sofiia Danko⁽¹⁾, Paulina Wac⁽¹⁾, Zuzanna Bąk⁽¹⁾, Savelii Ishchenko⁽¹⁾, Dawid Ziobro⁽¹⁾, Justyna Batkowska⁽²⁾, Kamil Drabik⁽²⁾

⁽¹⁾ Studenckie Koło Naukowe Biologii, Hodowli i Użytkowania Drobiu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

⁽²⁾ Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Sofiia Danko: sofia.danko@gmail.com

Opiekunowie SKN: dr hab. Justyna Batkowska prof. UPL, dr inż. Kamil Drabik

Słowa kluczowe: pył, redukcja pyłów, produktywność drobiu, zdrowotność ptaków

Streszczenie

W aspekcie kurnika mianem pyłów określa się mieszaninę cząsteczek organicznych i nieorganicznych pochodzących z odchodów drobiu, ściółki, piór itp. Ze względu na to, że pył często zawiera w swoim składzie mikroorganizmy, czyli jest aktywny biologicznie, jest też jednym z głównych czynników sprzyjających występowaniu chorób górnych oraz dolnych dróg oddechowych, zarówno u ptaków utrzymywanych w budynku, jak i u obsługi, czy też osób mieszkających w pobliżu fermy. Do jednostek chorobowych wywołanych za pośrednictwem pyłów można zaliczyć przewlekłą chorobę obturacyjną dróg oddechowych, astmę oraz alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych. Na poziom zapylenia w kurnikach wpływa w znacznym stopniu system chowu, obsada, rodzaj materiału ściółkowego oraz wentylacja. Obecnie istnieje wiele sposobów redukcji poziomu zapylenia wewnątrz kurników takie jak filtracja powietrza, zraszanie czy też wentylacja z komorą nadciśnieniową. Warto również zwrócić uwagę na to, że prawodawstwo polskie określa, że poziom zapylenia w środowisku pracy powinien być mniejszy niż 4 mg/m^3 i 2 mg/m^3 odpowiednio dla pyłu wdychalnego i respirabilnego, jednak w kurnikach niejednokrotnie odnotowywane wartości są wyższe. Dlatego, też należy przyjrzeć się bliżej czynnikom wpływającym na poziom zapylenia, sposobom redukcji zapylenia oraz wpływowi pyłów na zdrowie ptaków oraz ludzi.

1. Wstęp

Pył jest złożoną mieszaniną drobnych, twardych cząsteczek pochodzenia organicznego i nieorganicznego. Procesy naturalne, takie jak wysychanie oraz działania mechaniczne, w tym przemieszczanie się ludzi i zwierząt, powodują rozpad materiału źródłowego, który następnie jest rozpraszany w postaci pyłu zawieszonoego w powietrzu (WHO, 2014). Kategorie pyłu najczęściej są definiowane w zależności od wielkości cząsteczek jako wdychane i respirabilne. Ten podział opiera się na zdolności dotarcia pyłu do różnych części układu oddechowego ssaków. Według tej definicji średnica cząsteczek pyłu frakcji respirabilnej jest mniejsza niż $10 \mu\text{m}$, tak mały rozmiar umożliwia ich przejście przez krtań i dostanie się do oskrzeli oraz pęcherzyków płucnych. Wdychalność zmniejsza się stopniowo wraz ze wzrostem średnicy cząstek. Za wdychalne uważa się większą frakcję, do $100 \mu\text{m}$. Cząstki wdychalne mogą gromadzić się w nozdrzach i w jamie nosowej. W pomieszczeniach intensywnej produkcji zwierzęcej frakcja respirabilna stanowi zwykle od 5% do 10% cząstek wdychalnych (David i in. 2015). W porównaniu do innych pomieszczeń dla zwierząt, największe narażenie na pył obserwuje się w kurnikach (Basinas i in. 2013). Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej z dnia 12 czerwca 2018 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy (Dz.U. 2018 poz. 1286) zalecenia co do maksymalnego poziomu zapylenia w pomieszczeniach dla zwierząt to 4 mg/m^3 i 2 mg/m^3 odpowiednio dla pyłu wdychanego i pyłu respirabilnego. Dyskusyjny jest jednak to, czy ta klasyfikacja może być stosowana dla drobiu, gdyż

ptaki charakteryzuje inna budowa układu oddechowego. Corbanie i in. (2006) wykazali, że u jednodniowych piskląt brojlerów cząsteczki o wymiarach nawet do 20 µm wnikają do dolnych odcinków dróg oddechowych. Wyjaśnieniem tego zjawiska może być oddychanie młodych piskląt częściowo przez dziób, konsekwencją czego jest omijanie przez cząsteczki naturalnej filtracji zachodzącej w górnych drogach oddechowych. Byłoby to również istotne w warunkach wysokiej temperatury otoczenia, kiedy ptaki oddychają otwartym dziobem, w celu rozproszenia ciepła. W przypadku dwutygodniowych brojlerów granicznym rozmiarem cząsteczek znalezionych w dolnych drogach oddechowych było 5 µm, a w przypadku kurcząt zbliżających się do wieku ubojowego były one wielkości 10 µm.

2. Przegląd literatury

2.1 Pochodzenie oraz skład pyłów

Pył w kurniku może być pochodzenia organicznego oraz nieorganicznego. Głównym jego źródłem są ptaki oraz ich odchody. Do pyłów nieorganicznych zalicza się cząstki materiałów budowlanych np. betonu, metalu, włókna szklanego lub izolacji mineralnej oraz cząsteczki gleby unoszone przez powietrze. W brojlerniach najczęstszym składnikiem pyłu nieorganicznego jest wapń pochodzący z paszy. Innymi składnikami znalezionymi w pyłe zawieszonym w powietrzu może być magnez, miedź, cynk, żelazo i ołów (Corbanie i in. 2006). Badania nad pyłem w pomieszczeniach inwentarskich skupiają się głównie na pyłe organicznym (David i in. 2015). Składnikami pyłu organicznego są cząsteczki piór i skóry, składniki paszy, wysuszone odchody, pleśnie, grzyby, bakterie i endotoksyny bakteryjne oraz wirusy. W powietrzu kurnika występują mikroorganizmy w postaci układu koloidalnego zwanego bioaerozolem, przy czym kurz często pełni w ich przypadku rolę wektora mechanicznego. Najczęściej w kurzu występują grzyby z rodzajów: *Cladosporium*, *Penicillium* i *Aspergillus*, a także *Alternaria*, *Fusarium*, *Geotrichum* i *Streptomyces*, a bakterie: *Bacillus*, *Clostridia*, *Corynebacterium*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* i *E. coli* (Lee i in. 2006). Pył zawiera około 92% suchej masy, z czego 60% stanowi białko surowe, 9% tłuszcz, 4% celuloza, a reszta popiół i węglowodory. W pyłe znajdują się składowe części mikroorganizmów. Należą do nich peptydoglikany błony komórkowej i inne peptydy (proteazy, białka szoku cieplnego itp.), a także endotoksyny z bakterii Gram-ujemnych i mikotoksyny z grzybów (David i in. 2015). Endotoksyny to integralna część ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych uwalniana do środowiska po lizie komórki. W przemyśle drobiarskich endotoksyny pochodzą od drobnoustrojów, które znajdują się w kale, moczu i w drobinach paszy (Just i in. 2009). W pyłe zawieszonym stwierdzono niskie poziomy mykotoksyn, takich jak trikotecen B, deoksyniwalenol i zearalenon. Prawdopodobnym ich źródłem jest pasza, zarówno pobierana, jak i wydalana w odchodach (Michel i in. 2007).

2.2 Czynniki wpływające na poziom zapylenia

Poziom zapylenia w pomieszczeniach dla drobiu zależy od wielu czynników, między innymi od sprawności systemu wentylacyjnego, wilgotności powietrza, systemu chowu ptaków, obsady oraz temperatury. Jak już wspomniano pyły mają również wiele innych źródeł, takich jak ściółka czy cząsteczki paszy (Stuper-Szablewska i in. 2018; Ellen i in. 2000). Każde z wymienionych może wytwarzać inne cząstki, takie jak pył, gaz, mikroorganizmy czy endotoksyny. Warto zaznaczyć, że endotoksyny są najczęściej notowanym zanieczyszczeniem w kurzu budynkach inwentarskich (Matkovic i in. 2012).

Wentylacja budynków inwentarskich ma ogromny wpływ na poziom zapylenia, ponieważ to właśnie wentylatory regulują stężenie zanieczyszczeń w środku. Niewłaściwa konstrukcja czy działanie wentylatora (nieprawidłowa lokalizacja, niewłaściwy kierunek przepływu powietrza) może mieć negatywny wpływ na jakość powietrza i przyczynić się do gromadzenia pyłów. Również wilgotność powietrza w pomieszczeniach przeznaczonych dla drobiu nie może być zbyt niska, poziom niższy niż 50% przyczynia się do zwiększenia zapylenia (Meluzzi i in. 2009). Kontrolowanie poziomu wilgotności i wentylacji powietrza w kurnikach jest bardzo ważnym elementem zapobiegania zbyt dużemu stężeniu pyłu.

Jednym ze sposobów utrzymania drobiu jest chów ściółkowy bądź wolierowy, w których ptaki poruszają się po podłożu wyłożonym ściółką i mają do niej nieograniczony dostęp. Wyróżnia się również systemy klatkowe, w których ptaki mają niewielki dostęp do ściółki (Just i in. 2009). W metodach ograniczania zapylenia istotny jest odpowiedni dobór ściółki i systemu utrzymania. Porównując różne systemy, najniższe stężenie pyłów zaobserwowano w systemach klatkowych. W systemach stosujących grzędę i wolierę zanotowano do 4 lub nawet 5 razy większe zapylenie niż w przypadku systemu klatkowego. Średnia wartość pyłu wdychanego w przypadku wolier wynosi 3,8 mg/m³, natomiast w przypadku klatek 0,8 mg/m³. Średnia zawartość pyłu respirabilnego także była największa w wolierach - 1,93 mg/m³ (Saleh i in. 2004). Niższe zapylenie odnotowano w chowie klatkowym (0,33 mg/m³). Wyraźnie widać, że sposób utrzymania ptaków ma wpływ na zapylenie w kurniku. Nie bez znaczenia jest także większa aktywność ptaków podczas poruszania się po ściółce, co przyczynia się do większego rozproszenia cząsteczek pyłów. Do istotnych jego źródeł zaliczają się także ziarno zbóż, słomę, odchody i glebę. Obecność tych czynników należy ograniczyć dla poprawienia stanu czystości powietrza w pomieszczeniach gospodarczych (De Reu i in. 2005).

Kluczową rolę w kształtowaniu poziomu zapylenia odgrywa ściółka (Kim i in. 2007), którą może być różnego rodzaju materiał, na przykład trociny, słoma, wióry drzewne, torf czy piach. Dodatkowo można znaleźć tam pomiot drobiowy, pióra, resztki paszy i wody. W związku z tym, jest to mieszanina drobnoustrojów, endotoksyn, drobnego pyłu, który może być uwalniany w wyniku różnych czynności wykonywanych przez ptaki, takich jak kąpiel pyłowa, drapanie, żerowanie (Derakhshani i in. 2021). Idealna ściółka powinna być materiałem wysokiej jakości. Musi ona posiadać zdolność do absorpcji wody, ale również możliwość oddania pochłoniętej wilgoci. Uważa się, że wióry drewniane, które posiadają wysoką zdolność absorpcji są lepszym materiałem do ścielenia niż słoma, która jest jednak najczęściej wykorzystywana w tym celu, mimo relatywnie niskiej zdolności pochłaniania wody. Wysoka wilgotność podłoża skutkuje niską jego jakością, zaś dobry materiał ściółkowy powinien być wolny od pyłów, nie zawierać niebezpiecznych zanieczyszczeń, nie zbijać się oraz tworzyć warstw. Typowe pH ściółki ma wartość między pH= 9 a 10, jednak niższe (poniżej 7) hamuje rozwój mikroorganizmów (Petek i in. 2014).

2.3 Wpływ poziomu zapylenia na produktywność oraz zdrowotność ptaków

Ustawa z dnia 21 sierpnia 1997 r. o ochronie zwierząt (Dz. U. 1997 Nr 111 poz. 724) określa szczegółowe zasady traktowania zwierząt gospodarskich. W przypadku drobiu precyzyjnie rozróżnia się systemy chowu, które w różnym stopniu pozwalają ptakom na przejawianie naturalnych zachowań, przede wszystkim chodzi o grzebanie w podłożu i ściółce, kąpiele w piasku. Jest to pożądane pod względem zapewnienia dobrostanu, aczkolwiek może nieść ze sobą negatywne skutki w postaci znacznego zapylenia pomieszczeń, co w konsekwencji odbija się na stanie zdrowotnym stada. Uwalniany w kurniku pył może mieć zarówno bezpośrednie, jak i pośrednie negatywne skutki zdrowotne dla ptaków, co w rzeczywistości przekłada się do obniżenia poziomu ich dobrostanu (Koknaroglu i Akunal 2013).

Kolejnym problemem jest zanieczyszczenie mikroorganizmami, które często występują na cząsteczkach kurzu. Mogą one być bezpośrednio patogenne lub uwalniać toksyny. Często takie zanieczyszczenie powietrza również czyni zwierzęta bardziej podatnymi na nie-patogenne lub warunkowo-patogenne mikroorganizmy. Wolfe i in. (1968) podają, że zanieczyszczenie powietrza pyłem ma istotny wpływ na częstość występowania zapalenia worków powietrznych u drobiu. Wzrost zanieczyszczenia powietrza pyłem z 7,1–21,2 mg/m³ do 25–35,32 mg/m³ powoduje ponad dwukrotny wzrost częstości występowania tego schorzenia u indyków. Ponadto, wysoki poziom pyłu skutkuje pojawieniem się w płucach obszarów zwłóknienia, co negatywnie wpływa na ich funkcjonalną zdolność do wymiany gazowej, mimo, że nie wykazano negatywnego wpływu poziomu zapylenia na śmiertelność i wykorzystanie paszy. Można stwierdzić, że wydajność ptaków zarówno w produkcji mięsnej, jak i nieśnej wprost zależy od ich dobrostanu. Madelin i Wathes (1989) podają, że chociaż u brojlerów utrzymywanych na ściółce częściej występują uszkodzenia płuc o podłożu infekcyjnym, niż u ptaków w systemie rusztowym, te pierwsze wciąż cechują się lepszą wydajnością. Niewiele badań analizuje występowaniem zależności pomiędzy poziomem zapylenia a przejawianym przez ptaki behawiorem nie można jednak zignorować problemu niedrożności górnych dróg oddechowych,

podrażnienia błon śluzowych w okolicach noszdrzy i oczu przez kurz, co niewątpliwie jest powodem dyskomfortu ptaków (Dawid i in. 2015).

2.4 Wpływ poziomu zapylenia na zdrowie pracowników obsługi

W przemyśle drobiarskim nie tylko ptaki, ale też pracownicy obsługujący budynki inwentarskie są narażeni na działanie zanieczyszczeń występujących w powietrzu (Whyte, 1993). Najwyższa częstotliwość występowania negatywnych objawów ze strony górnych i dolnych dróg oddechowych, co może być związane z wykonywaną pracą, odnotowuje się właśnie u pracowników branży drobiarskiej, w porównaniu do innych gałęzi produkcji zwierzęcej. Obsługa skarży się zazwyczaj na przewlekły kaszel, któremu może towarzyszyć podrażnienie oczu, duszności, ogólne zmęczenie, ból głowy, niedrożność górnych dróg oddechowych, gorączka, podrażnienie gardła, ucisk w klatce piersiowej i świszczący oddech (Kirychuk i in. 2006). Do obserwowanych chorób klinicznych należą: alergiczny i niealergiczny nieżyt nosa, zespół toksyczny wywołany pyłem organicznym, przewlekłe zapalenie oskrzeli, zewnątrzpochodne alergiczne zapalenie pęcherzyków płucnych (tzw. płuco farmera), gorączkę o podłożu toksycznym oraz astma zawodowa lub zespół astmopodobny (Radon i in. 2001).

Warto wspomnieć również o takich zanieczyszczeniach, jak endotoksyny, które trafiają do środowiska ze względu na aktywność drobnoustrojów (Rylander i Carvalho 2006). Narażenie na endotoksyny prowadzi do pojawienia się okresowych stanów gorączkowych. Należy zaznaczyć, że endotoksyny pochodzące z różnych gatunków bakterii różnią się poziomem toksyczności, dlatego ich minimalny poziom wywołujący gorączkę jest zależny od gatunku drobnoustrojów. Gorączka występuje zazwyczaj w godzinach popołudniowych lub wieczornych dnia roboczego. Objawy gorączki toksycznej obejmują: ból głowy, nudności, kaszel, podrażnienie nosa, ucisk w klatce piersiowej i flegmę. Minimalny poziom endotoksyny powodujący reakcję gorączkową u ludzi wynosi $0,5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ po czterogodzinnym okresie ekspozycji (Whyte, 1993).

2.5 Sposoby redukcji zapylenia w kurniku

Zmniejszenie poziomu zapylenia jest niezwykle ważną kwestią dla zdrowia ptaków i ludzi mieszkających lub pracujących w pobliżu kurników. Wentylacja powietrza może powodować przenoszenie się pyłów pochodzących z gleb piaszczystych do wnętrza kurnika, czego skutkiem jest między innymi znaczny spadek nieśności. Po wprowadzeniu modyfikacji systemu wentylacji i wprowadzeniu komory nadciśnieniowej, działającej jak separator cząsteczek, umożliwiający redukcję cząstek stałych z użyciem sił inercyjnych i grawitacyjnych odnotowano skuteczną redukcję ilości cząstek gleby o 95%. Zastosowanie wentylacji z komorą nadciśnieniową zaowocowało wzrostem produkcji jaj i masy ciała kur oraz spadkiem zużycia paszy i śmiertelności (Wang i in. 2018).

Innym sposobem na zmniejszenie poziomu zapylenia jest utrzymanie optymalnej wilgotności w kurniku, która powinna wynosić 60-70%. Równie istotna jest odpowiednia wilgotność samej ściółki. Zapewnienie takich warunków powoduje zlepianie się cząstek, dzięki czemu szybciej opadają na podłoże, a nie wirują w powietrzu wdychanym przez zwierzęta i ludzi w pobliżu kurnika. Podobny efekt można uzyskać dzięki ujemnie zjonizowanemu powietrzu (Sikorska, 2006). Sposobem na obniżenie poziomu zapylenia przez utrzymanie odpowiedniej wilgotności jest opryskiwanie roztworem wodnym i 10% oleju rzepakowego (David i in. 2015). Dzięki zraszaniu wodą zawierającą olej, udało się zmniejszyć stężenie pyłu w wolierach aż o 60% (Ellen i in. 2000). Redukcję zapylenia starano się także uzyskać przy użyciu neutralnej wody elektrolitycznej o pH równym 8,2, którą zraszano pomieszczenia gospodarcze. Porównując wyniki badania z próbą kontrolną, poziom pyłu został zmniejszony o 34% w ciągu 3 godzin po spryskaniu. Doświadczenie sprawdzające wpływ wyżej wymienionej metody na zwierzęta przeprowadzono dzieląc powierzchnię budynku na cztery strefy: pierwsza najbliższa poduszki chłodzenia ewaporacyjnego, a ostatnia - najbliższa wentylatorów. Podczas doświadczenia ptaki były utrzymywane w systemie klatkowym. W punktach poboru próbek mierzono przez 3 dni temperaturę powietrza, wilgotność, stężenie pyłów i natężenie przepływu powietrza. Wszystkie mierzone parametry wzrastały stopniowo w kierunku ostatniej strefy. Podobnie było ze śmiertelnością osobników mierzoną w przeciągu jednego miesiąca, kury przebywające w strefie pierwszej odznaczały się mniejszą śmiertelnością niż te, które znajdowały się bliżej wentylatorów (Zheng i in. 2012).

Kolejnym czynnikiem wpływającym na zanieczyszczenia powietrza jest pasza, którą żywione są kury. Zastosowanie paszy granulowanej, jako alternatywy dla pasz sypkich może skutkować obniżeniem poziomu zapylenia (Sikorska, 2006). Aktywność kur także ma znaczny wpływ na zapylenie. Wyniki badania, które dotyczyło kur niosek utrzymywanych w klatkach wykazały, że ilości pyłu w powietrzu z pomieszczeń gospodarczych jest niższa nocą, a wyższa w porze zadawania paszy, co łączy się z ich stopniem ruchliwości ptaków (Matkovic i in. 2012).

3. Podsumowanie

Wysokie zapylenie w kurniku jest jednym z stosunkowo poważnych problemów w produkcji drobiarskiej. Głównymi negatywnymi skutkami wysokiego poziomu zapylenia w kurniku mogą być choroby drobiu (pył jest dobrym nośnikiem dla szkodliwych mikroorganizmów chorobotwórczych), obniżona produktywność ptaków z racji wystąpienia jednostek chorobowych w stadzie oraz zwiększone ryzyko schorzeń górnych i dolnych dróg oddechowych wśród pracowników ferm drobiu. Dlatego też ważne jest monitorowanie poziomu zapylenia oraz stałe poprawianie jakości powietrza poprzez zastosowanie wydajnej wentylacji, utrzymanie odpowiedniej wilgotności powietrza w kurniku, odpowiedni dobór materiałów ściółkowych bądź stosowanie filtracji powietrza.

4. Literatura

- Basinas I, Schlünssen V, Takai H i in. (2013) Exposure to inhalable dust and endotoxin among Danish pig farmers affected by work tasks and stable characteristics. *Annals of occupational hygiene* 57(8): 1005-1019.
- Corbanie EA, Matthijs MG, van Eck JH i in. (2006) Deposition of differently sized airborne microspheres in the respiratory tract of chickens. *Avian Pathology* 35(6): 475-485.
- David B, Oppermann Moe R, Michel V i in. (2015) Air Quality in Alternative Housing Systems May Have an Impact on Laying Hen Welfare. Part I—Dust. *Animals* 5: 495-511.
- Derakhshani SM, Ogink NW, Bos BA i in. (2021) Sensitivity analysis of fine dust spreading from litter in poultry houses. *Biosystems engineering* 208: 272-286.
- Ellen HH, Bottcher RW, Von Wachenfelt E i in. (2000) Dust levels and control methods in poultry houses. *Journal of Agricultural Safety and Health* 6(4): 275-285.
- Just N, Duchaine C, Singh B (2009) An aerobiological perspective of dust in cage-housed and floor-housed poultry operations. *Journal of Occupational medicine and toxicology* 4(1): 1-8.
- De Reu K, Grijspeerd K, Heyndrickx M i in. (2005) Bacterial eggshell contamination in conventional cages, furnished cages and aviary housing systems for laying hens, *British Poultry Science* 46(2): 149-155
- Kim SS, Agblevor FA (2007) Pyrolysis characteristics and kinetics of chicken litter. *Waste management* 27(1): 135-140.
- Kiryuchuk SP, Dosman JA, Reynolds SJ i in. (2006). Total dust and endotoxin in poultry operations: comparison between cage and floor housing and respiratory effects in workers. *Journal of occupational and environmental medicine* 48(7): 741-748.
- Koknaroglu H, Akunal T (2013) Animal welfare: An animal science approach. *Meat Science* 95(4): 821-827.
- Lee SA, Adhikari A, Grinshpun SA i in. (2006) Personal exposure to airborne dust and microorganisms in agricultural environments. *Journal of occupational and environmental hygiene* 3(3): 118-130.
- Madelin TM, Wathes CM (1989) Air hygiene in a broiler house: Comparison of deep litter with raised netting floors. *British Poultry Science* 30(1): 23-37.
- Matkovic K, Vucemilo M, Vinkovic B (2012) Dust and endotoxin in laying hen dwellings. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences* 36(2): 189-195.
- Meluzzi A, Sirri F (2009) Welfare of broiler chickens. *Italian Journal of Animal Science* 8(sup1): 161-173.

- Michel V, Huonnic D, Maurice R i in. (2007) Qualité de l'aire nélevage expérimental de poules pondeuses: Caractérisation des composants aériens et conséquences sur la santé humaine. Institut National de Médecine Agricole 63-70.
- Petek M, Üstüner H, Yeşilbağ D (2014) Effects of stocking density and litter type on litter quality and growth performance of broiler chicken. Kafkas Univ Vet Fak Derg 20(5): 743-748.
- Radon K, Weber C, Iversen M i in. (2001) Exposure assessment and lung function in pig and poultry farmers. Occupational and Environmental Medicine 58(6): 405-410.
- Rylander R, Carvalheiro MF (2006) Airways inflammation among workers in poultry houses. International archives of occupational and environmental health 79(6): 487-490.
- Saleh M, Seedorf J, Hartung J (2004) Inhalable and respirable dust in work place atmospheres of laying hen houses. International Society for Animal Hygiene 211-212.
- Sikorska D (2006) Ekologizacja w produkcji drobiarskiej. Zeszyty naukowe Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Rolnictwo LXXXVII 540: 439-445.
- Stuper-Szablewska K, Szablewski T, Nowaczewski S i in. (2018) Zagrożenia chemiczne i mikrobiologiczne związane z hodowlą drobiu. Medycyna Środowiskowa= Environmental Medicine 21(4): 53-63.
- Wang Y, Zheng W, Tong Q i in. (2018) Reducing dust deposition and temperature fluctuations in the laying hen houses of Northwest China using a surge chamber. Biosystems Engineering 175: 206-218.
- Whyte RT (1993) Aerial pollutants and the health of poultry farmers. World's Poultry Science Journal 49(2): 139-156.
- Wolfe RR, Anderson DP, Chermis Jr FL i in. (1968). Effect of dust and ammonia air contamination on turkey response. Trans. ASAE;(United States), 11(CONF-670680-).
- Zheng W, Li B, Cao W i in. (2012) Application of neutral electrolyzed water spray for reducing dust levels in a layer breeding house, Journal of the Air & Waste Management Association 62(11): 1329-1334.

5. Fizjologiczne wskaźniki stresu u drobiu

Physiological indicators of stress in poultry

⁽¹⁾Melania Brańska, ⁽¹⁾Renata Zdun, ⁽¹⁾Remigiusz Bagrowski, ⁽¹⁾Kinga Rokicka, ⁽¹⁾Ewelina Misiec,
⁽³⁾Dominika Krakowiak, ⁽²⁾Kamil Drabik, ⁽²⁾Justyna Batkowska

⁽¹⁾Studenckie Koło Naukowe Biologii, Hodowli i Użytkowania Drobiu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

⁽²⁾Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

⁽³⁾Katedra Biofizyki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Melania Brańska: melania.branska@gmail.com

Opiekun naukowy: dr hab. Justyna Batkowska prof. UPL, dr inż. Kamil Drabik

Słowa kluczowe: dobrostan, produktywność, stresory, choroby układu

Streszczenie

Wszystkie organizmy żywe poddawane są działaniu wielu bodźców, jednakże tylko nieznaczną część stanowią stresory. Do czynników będących źródłem stresu dla zwierzęcia zaliczane są m. in. odstawienie młodych od matki, transport, hałas, a także promieniowanie elektromagnetyczne. Wzrost i dynamizacja chowu ptaków mogą prowadzić do obniżenia poziomu dobrostanu wynikającego z braku zapewnienia odpowiednich warunków bytowych, co skutkować będzie narażeniem ptaków na czynniki stresowe. Niektóre stresory można zredukować, niestety nie wszystkich nie da się uniknąć. Do stresorów podlegających możliwości redukcji zaliczane są między innymi wentylacja czy obecność toksyny w paszy, do tych zaś których redukcja nie jest możliwa zaliczane są m.in. obsługa kurnika, szczepienia czy też transport.

W wyniku utrzymywania niskiego poziomu dobrostanu zaobserwować można spadek odporności, upośledzenie naturalnych reakcji i odruchów, a także technopatie i zachowania atypowe. Pojawienie się tego typu zaburzeń ma bezpośredni wpływ na wyniki produkcyjne ptaków. Do badań klinicznych, dzięki którym można ocenić poziom dobrostanu zaliczane są na przykład stężenia hormonów, takich jak kortyzol, kortykosteron oraz aldosteron. Dodatkowo, oprócz hormonów, do markerów fizjologicznych stresu u drobiu zaliczane są poziom glukozy oraz cholesterolu. W odpowiedzi na nieodpowiednio dobraną dietę, infekcje na tle bakteryjnym i grzybiczym o przebiegu przewlekłym, a także podczas oddziaływania czynnika stresogenego ich liczba wzrasta.

Celem pracy było przybliżenie wskaźników fizjologicznych stresu u drobiu, umożliwiających identyfikację zaburzenia i weryfikację jego przyczyny.

1. Wstęp

W obecnych czasach, w rozwijającym się społeczeństwie nastawionym w głównej mierze na konsumpcjonizm, coraz szybciej wzrasta zapotrzebowanie na produkty żywnościowe pochodzenia zwierzęcego. Wywiera to tym samym nacisk na producentów, którzy stawiają na intensyfikację chowu zwierząt gospodarskich, w tym także drobiu. Producenci skupiają się na tym, aby uzyskać jak najwięcej surowca, odznaczającego się dobrą jakością, w możliwie jak najkrótszym czasie, zapominając przy tym często o warunkach panujących na fermie. Taka praktyka może prowadzić do zaburzenia homeostazy organizmów ptaków, mimo, że hodowcy są zobowiązani do przestrzegania odpowiednich norm i uwarunkowań prawnych w celu zapewnienia zwierzętom przynajmniej minimalnego poziomu dobrostanu, w tym także w aspekcie redukcji poziomu stresu.

Samo pojęcie stresu, choć nie do końca zdefiniowane, w tym przypadku odnosi się przede wszystkim do reakcji organizmu żywego na szereg oddziałujących na niego czynników powodujących zachwianie homeostazy. Czynniki te nazywane są stresorami. Wśród zwierząt można również zaobserwować liczne oznaki (wskaźniki) stresu informujące o zaistnieniu zaburzeń w równowadze organizmu. Do takich oznak u drobiu możemy zaliczyć choroby układu krążenia,

zaburzenia pracy układu pokarmowego, hipercholesterolemię oraz zaburzenia związane z układem odpornościowym.

2. Wybrane fizjologiczne wskaźniki stresu

Ocena poziomu dobrostanu przeprowadzana jest na podstawie kryteriów, które uwzględniają między innymi zdrowotność zwierząt, wzorce behawioralne, a także wskaźniki fizjologiczne. Analizując te kryteria można pośrednio określić poziom stresu u ptaków (Dawkins 1999; Ericsson i in. 2014). Dodatkowo wiedza ta ukierunkowuje diagnostyczne działania lekarza weterynarii w laboratoryjnej ocenie stresu. Do wskaźników mających znaczenie w diagnostyce laboratoryjnej powyższych zmian, które odpowiadają podwyższonemu poziomowi stresu, możemy zaliczyć m.in. poziom kortykosteronu i cholesterolu (Fallahsharoudi i in. 2015; Puvadolpirod i Thaxton, 2000a). Poniżej zostaną opisane skutki przewlekłego oddziaływania czynników stresogennych na ptaki.

3. Stosunek heterofilii do limfocytów (H:L)

Kortyzol, najważniejszy z hormonów stresu, wytwarzany przez korę nadnerczy wywiera istotny wpływ na układ białokrwinkowy drobiu. Wysokie jego stężenie powoduje spadek liczby limfocytów oraz wzrost liczby granulocytów. To też od lat 80 ubiegłego wieku, stosunek heterofilii do limfocytów miał duże znaczenie w ocenie stresu u drobiu (Davison i Rowell 1983). Do tej pory jest jedną z popularniejszych metod wykorzystywanych do oszacowania poziomu stresu u drobiu (Campo i in. 2008). Stosunek ten oblicza się w prosty sposób z rozmazu niewielkiej ilości krwi pełnej (2 krople), co sprawia, że metoda ta ma duże znaczenie praktyczne w diagnostyce poziomu stresu zarówno u dużych, jak i u małych ptaków, a co istotne sporządzone preparaty można utrwalić (Al-Aqil i in. 2013). Wydaje się jednak, że nie zawsze stosunek H:L jest wiarygodnym wskaźnikiem stresu u drobiu, ponieważ do pobrania krwi niezbędnej do wykonania badania jest nieodzowne złapanie oraz unieruchomienie ptaka. Taka procedura jest bezpośrednim stresorem (tu stres manipulacyjny) dla zwierzęcia, co może wpływać na wynik badania (Wein i in. 2017; Cotter 2015).

4. Hipercholesterolemia

Pobudzenie układu współczulnego na skutek bodźca stresowego wywołuje wyrzut adrenaliny z rdzenia nadnerczy, która uruchamia zapasy energetyczne organizmu takie jak tłuszcze i cukry. Aktywacji ulegają procesy lipo- oraz glikogenolizy, których głównym celem jest produkcja kwasów tłuszczowych i glukozy. Pozwalają one na zwiększony wysiłek organizmu, w tym mięśni. W sytuacji krótkotrwałej ma to korzystny wpływ dla zwierzęcia, gdyż proces należy do reakcji przygotowujących do ucieczki lub walki (Załucki i Zawadzki 2005). Jednak przy przewlekłym stresie może prowadzić m.in. do hipercholesterolemii. Stres termiczny zwiększa poziom cholesterolu w osoczu, obniża poziom białka w surowicy oraz zaburza równowagę elektrolitową w organizmie. Przyczynia się także do aktywacji peroksydacji lipidów we krwi i tkankach (Akbarian i in. 2015). Wysoki poziom kortyzolu ma negatywny wpływ na tempo wzrostu i wykorzystanie paszy oraz zwiększa stosunek tłuszczu do masy beztłuszczowej tuszy (Mormède i in. 2011).

5. Zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego

Podczas ogólnego pobudzenia układu współczulnego dochodzi do wzmocnienia metabolizmu, przeważyć zaczynają procesy kataboliczne. Hamowane są czynności przewodu pokarmowego, głównie motoryki i wydzielania gruczołów trawiennych, skutkuje to spadkiem ilości pobranej paszy. Dochodzi do obniżania wskaźników produkcyjnych. Warunki chronicznego stresu zwiększają wskaźnik wykorzystania paszy na jednostkę przyrostu masy ciała (Omar i in. 2021; Załucki i Zawadzki 2005). Puvadolpirod i Thaxton (2000 b) wskazują, że podczas stresu może nastąpić nieznaczny wzrost spożycia paszy, jednak towarzyszy mu znaczny spadek trawienia węglowodanów i białek, przy czym trawienie tłuszczu pozostaje niezmiennione. Przy przewlekłym nadmiarze glikokortykoidów, który odpowiada długotrwałemu stresowi, dochodzi do osłabienia mięśni

i obniżenia przyrostów masy ciała, co wynika ze spadku tempa syntezy białek. Uwalniane glikokortykoidy powodują wykorzystywanie części aminokwasów w procesach glikoneogenezy, niekorzystnie wpływając na przyrost masy mięśniowej (Załucki i Zawadzki 2005). Stres może wpływać na pracę przewodu pokarmowego poprzez zmiany metaboliczne wywołane obniżonym poziomem trójjodotyroniny (T_3) w osoczu (Lin i in. 2006). T_3 wpływa na przemianę węglowodanów, powoduje wzrost syntezy białek enzymatycznych, które działają synergistycznie z insuliną oraz wzmacnia lipolizę poprzez wzrost poziomu metabolizmu tłuszczów (Pierzchała-Koziec 2005). Wykazano, że obecne rasy kur użytkowych oraz ich mieszańce w porównaniu do dzikich przodków wykazują mniej wyraźną, ale bardziej długotrwałą reakcję na stres ostry. Różnice zauważyć można zarówno w odniesieniu do zachowania, jak i zmian endokrynologicznych (Ericsson i in. 2014).

6. Choroby układu krążenia

Stres, nie tylko długotrwały, może indukować rozwój chorób układu krążenia. Pobudzenie układu współczulnego, jako odpowiedź na stres, prowadzi do przyspieszenia i wzrostu siły skurczów serca, zwężenia naczyń krwionośnych i wskutek tych zmian do wzrostu ciśnienia tętniczego. Powoduje on także wzrost krzepliwości krwi (Załucki i Zawadzki 2005). Wykazano, że część ptaków szybko rosnących typu mięsnego, charakteryzujących się wysoką masą ciała, jest bardzo podatna na arytmie serca wywołaną stresem. U takich ptaków prowokacja stresowa wywołuje ciężkie komorowe zaburzenia rytmu tego narządu. Mówi się wtedy o wystąpieniu nagłej śmierci sercowej - SDS (*sudden death syndrome*) (Olkowski i in. 2008). W patogenezie tej jednostki chorobowej bierze udział kilka procesów, których podłożem może być .in. stres. Dochodzi do spadku ilości prostaglandyn wpływających na przepływ krwi i przewodnictwo nerwowe, pojawia się arytmia serca, która w konsekwencji prowadzi do niewydolności sercowo-naczyniowej, a ta z kolei może prowadzić do obrzęku płuc. Śmierć następuje w bardzo krótkim czasie i jest wynikiem niedotlenienia (Siddiqui i in. 2009). Jednym z głównych stresorów w produkcji drobiarskiej jest stres cieplny. Działanie podwyższonej temperatury powoduje wyraźny wzrost poziomu kinazy kreatynowej w osoczu, które wskazuje na uszkodzenie komórek mięśnia sercowego (Yu i in. 2008). Stres cieplny przyczynia się także do przyspieszenia procesu peroksydacji lipidów, a w konsekwencji wyczerpuje system obrony antyoksydacyjnej u kurcząt brojlerów (Azad i in. 2010). Może to prowadzić do uszkodzenia tkanek głównie wątroby, ale także i serca (Lin i in. 2006).

7. Metody oceny dobrostanu

Wysoki poziom dobrostanu u drobiu jest jednym z kluczowych elementów sukcesu hodowlanego i zadowalającego poziomu produkcji. Ponadto na przestrzeni ostatnich lat notuje się wzrost zainteresowania poziomem dobrostanu drobiu, nie tylko wśród hodowców, ale także wśród potencjalnych konsumentów, którzy chcą uwzględniać również ten czynnik w swoich wyborach zakupowych (Ben Sassi i in. 2016). Metodyka oceny dobrostanu drobiu nie jest jednak możliwa do ujednoczenia. Wynika to ze złożoności tego pojęcia oraz zróżnicowania tej grupy zwierząt (Bombik 2013). Wprowadzono więc różne metody oceny dobrostanu drobiu (Ben Sassi i in. 2016).

Jako jedną z metod oceny podatności ptaków na stres wymienia się czas trwania bezruchu tonicznego, który jest jednym z testów behawioralnych. Test ten pozwala na stwierdzenie faktu, czy zwierzę jest zestresowane, a czas jego trwania jest miarą stresu oraz lęku (Kozak i in. 2019). Bezruch toniczny wystąpi szybciej u spokojniejszych zwierząt, natomiast potrzeba więcej czasu na wywołanie go u nadpobudliwych ptaków. Bezruch wywołuje się poprzez położenie ptaka na grzbiecie lub przez włożenie jego głowy pod skrzydło. Zwierzę przytrzymuje się kilkanaście sekund jedną ręką na mostku, a drugą przysłaniając głowę, następnie ptak jest uwalniany (Forkman i in. 2007). Znieruchomienie toniczne w naturalnym środowisku jest reakcją na drapieżnika, a ptaki, które wykazują się krótszym czasem bezruchu są bardziej podatne na atak (Thompson i in. 1981). W praktyce badanie takie niejednokrotnie stanowi element doświadczeń prowadzonych na zwierzętach, w tym na drobiu, m.in. z zakresu modyfikacji środowiska bytowania ptaków w aspekcie poprawy ich dobrostanu (Ramankevich i in. 2022).

O poziomie dobrostanu u drobiu świadczy przede wszystkim poprawność behawioru zwierząt. Wśród zaburzeń behawioralnych wskazujących na problemy z utrzymaniem prawidłowego poziomu dobrostanu wymienia się m.in. pterofagię (Urban-Chmiel 2014). Pterofagia polega na wzajemnym wydziobywaniu piór przez ptaki. Może mieć przebieg łagodny lub ostry. Przebieg ostry odpowiada za znaczne obniżenie poziomu dobrostanu oraz straty w hodowli (Lambton i in. 2010). Kolejnym zaburzeniem behawioralnym jest kanibalizm, który często wynika z już występującej pterofagii, ponieważ widoczne po wyskubaniu piór powierzchnie ciała przykuwają uwagę innych ptaków w stadzie prowokując je do agresywnych zachowań o podłożu eksploracyjnym. W przypadku wystąpienia kanibalizmu w stadzie ważne jest usuwanie martwych zwierząt, by inne nie mogły powielać tego zaburzenia behawioralnego. Dowiedziono, że wydziobywanie piór oraz kanibalizm mogą być następstwem niezaspokojenia naturalnego instynktu do grzebania oraz dziobania przy poszukiwaniu pokarmu. Działania te przekierowywane są więc na inne osobniki, powodując szkody w hodowli i obniżenie dobrostanu (Cloutier i in. 2002).

O dobrostanie drobiu świadczy również kondycja piór. Jeśli są one zabrudzone kałem ze ściółką oraz jednocześnie zauważalne są zmiany na poduszkach stopy i piersi połączone z kulawizną wskazuje to na występowanie kontaktowego zapalenia skóry, którego przyczyną są nieprawidłowe warunki utrzymania drobiu (Krasnodębska-Depta i Koncicki 2003). Ważnym wskaźnikiem dobrostanu drobiu jest częstotliwość urazów. W stadzie, w którym zauważa się zwiększenie liczby urazów często równoległe stwierdza się także występowanie chorób bakteryjnych, wirusowych czy mykoplazmatycznych. Za wzrost tego parametru mogą również odpowiadać zmiany patologiczne, jak zwyrodnienia stawów. Ból związany z urazami, a w konsekwencji zmniejszenie zdolności motorycznych ptaków negatywnie wpływa na ich dobrostan (Frieske i Mroczkowski 2014).

Kolejnym, a jednocześnie jednym z najnowszych, sposobem kontroli dobrostanu drobiu jest przyżyciowa ocena dobrostanu metodami PLF (precision livestock farming). PLF definiuje się jako sposób wykorzystywania technologii do automatycznego monitorowania zwierząt gospodarskich oraz środowiska ich życia w celu bieżącego dostarczania informacji osobie kierującej hodowlą. Wspomaga to zarządzanie gospodarstwem oraz pozwala podejmować działanie w celu poprawy dobrostanu poprzez aktywację zautomatyzowanych systemów kontroli. PLF polega ona na monitorowaniu stanu drobiu, uwzględniając wiele różnych czynników w czasie rzeczywistym. Najczęściej analizie poddaje się parametry produkcyjne takie jak produktywność i rentowność oraz parametry dotyczące stanu zdrowia oraz behawioru, takie jak stan podszw stóp czy zachowania drobiu. Mimo wielu badań jest to metoda wciąż nowa, stosowana na niewielką skalę, głównie na fermach brojlerów oraz kur niosek (Rowe i in. 2019). W związku z problematyką oceny dobrostanu u drobiu wprowadzono system „Welfare quality assessment protocol for poultry”. Dotyczy on brojlerów oraz kur niosek i dostarcza informacji o dobrostanie zwierząt w okresie ich pobytu na fermie, transportu do rzeźni oraz uboju (De Jong i in. 2016).

Najczęściej wykorzystywana jest jednak poubojowa metoda polegająca na ocenie częstotliwości występowania zapalenia skóry podszwy stóp (*FPD - foot pad dermatitis*). Kondycję łap ocenia się uwzględniając zaawansowanie zmian martwiczych, powierzchniowych oraz głębokich, na podszwie podszwy palców oraz stóp, a czasami także na skórze stawów skokowych. Metoda ta stosowana jest w szczególności u kurcząt brojlerów oraz indyków, ze względu na ich dużą masę ciała i tym samym szczególną podatność na to schorzenie (Shepherd i Fairchild 2010).

8. Podsumowanie

Stres ma ogromny wpływ na parametry fizjologiczne drobiu, a w konsekwencji na dobrostan ptaków. Liczne zaburzenia, zarówno fizjologiczne jak i behawioralne, świadczą o obniżonym poziomie warunków bytowania ptaków. Jest on determinowany wystawieniem zwierząt na stres, który jest nieuniknionym elementem intensywnego chowu drobiu. Oddziaływanie stresorów niesie za sobą przede wszystkim konsekwencje zdrowotne, co bezpośrednio przekłada się na wyniki produkcyjne i w efekcie niesie za sobą straty ekonomiczne. W organizmie zwierzęcia zachodzi wiele procesów, które są konsekwencjami przewlekłego narażenia na wysoki poziom stresu. Poznanie fizjologii tych procesów jest istotne dla zrozumienia długoterminowych skutków zdrowotnych i w hodowli drobiu, które powiązane są jej opłacalnością. Opracowanie obiektywnego systemu oceny

dobrostanu, w oparciu o jego fizjologiczne wskaźniki, pozwoliłaby producentom dostatecznie szybko wyeliminować dany czynnik stresogenny, a w konsekwencji znacząco poprawić warunki bytowania ptaków.

9. Literatura

- Akbarian A, Golian A, Kermanshahi H i in. (2015) Antioxidant enzyme activities, plasma hormone levels and serum metabolites of finishing broiler chickens reared under high ambient temperature and fed lemon and orange peel extracts and *Curcuma xanthorrhiza* essential oil. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 99: 150–162.
- Al-Aqil A, Zulkifli I, Bejo MH i in. (2013) Changes in heat shock protein 70, blood parameters, and fear-related behavior in broiler chickens as affected by pleasant and unpleasant human contact. *Poultry Science* 92(1): 33-40.
- Azad MA, Kikusato M, Maekawa T i in. (2010) Metabolic characteristics and oxidative damage to skeletal muscle in broiler chickens exposed to chronic heat stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 155: 401–406.
- Ben Sassi N, Averós X, Estevez I (2016) Technology and poultry welfare. *Animals* 6(10): 62.
- Bombik T, Bombik E, Biesiada-Drzazga B (2013) Dobrostan zwierząt w aspekcie kryteriów i metod oceny. *Przegląd Hodowlan Hodowlany* 81(6): 25-27.
- Campo JL, Prieto MT, Davila SG (2008) Effects of housing system and cold stress on heterophil-to-lymphocyte ratio, fluctuating asymmetry, and tonic immobility duration of chickens. *Poultry Science* 87(4): 621-626.
- Cloutier S, Newberry RC, Honda K i in. (2002) Cannibalistic behaviour spread by social learning. *Animal Behaviour* 63(6): 1153-1162.
- Cotter PF (2015) An examination of the utility of heterophil-lymphocyte ratios in assessing stress of caged hens. *Poultry Science* 94(3): 512-517.
- Davison TF, Rea J, Rowell JG (1983) Effects of dietary corticosterone on the growth and metabolism of immature *Gallus domesticus*. *General and Comparative Endocrinology* 50(3): 463-468.
- Dawkins MS (1999) The role of behaviour in the assessment of poultry welfare. *World's Poultry Science Journal* 55(3): 295-303.
- De Jong IC, Hindle VA, Butterworth A i in. (2016) Simplifying the Welfare Quality® assessment protocol for broiler chicken welfare. *Animal* 10(1): 117-127.
- Ericsson M, Fallahsharoudi A, Bergquist J i in. (2014) Domestication effects on behavioural and hormonal responses to acute stress in chickens. *Physiology & Behavior* 133: 161-169.
- Fallahsharoudi A, de Kock N, Johnsson M i in. (2015) Domestication effects on stress induced steroid secretion and adrenal gene expression in chickens. *Scientific Reports* 5(1): 1-10.
- Forkman B, Boissy A, Meunier-Salaün MC i in. (2007) A critical review of fear tests used on cattle, pigs, sheep, poultry and horses. *Physiology Behavior* 92(3): 340-374.
- Frieske A, Mroczkowski S (2014) Ból w chowie drobiu. *Medycyna Weterynaryjna* 70(06): 324-347.
- Kozak A, Kasperek K, Zięba G, Rozempolska-Rucińska I (2019) Variability of laying hen behaviour depending on the breed. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 32(7): 1062-1068.
- Krasnodębska-Depta A, Koncicki A (2003) Kontaktowe zapalenie skóry u kurcząt i indyków. *Medycyna Weterynaryjna* 59(3): 202-212.
- Lambton SL, Knowles TG, Yorke C i in. (2010) The risk factors affecting the development of gentle and severe feather pecking in loose housed laying hens. *Applied Animal Behaviour Science* 123(1-2): 32-42.
- Lin H, Decuyper E, Buyse J (2006) Acute heat stress induces oxidative stress in broiler chickens. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* 144(1): 11-17.
- Mormède P, Foury A, Terenina E i in. (2011) Breeding for robustness: the role of cortisol. *Animal* 5(5): 651-657.

- Olkowski AA, Wojnarowicz C, Nain S i in. (2008). A study on pathogenesis of sudden death syndrome in broiler chickens. *Research in Veterinary Science*, 85(1), 131-140.
- Pierzchała-Koziec K (2005) Wydzielanie wewnętrzne [W:] Krzymowski T, Przała J (red.) *Fizjologia zwierząt*. PWRiL, Warszawa, wyd. VII: 159-214.
- Puvadolpirod S, Thaxton JP (2000a) Model of physiological stress in chickens 1. Response parameters. *Poultry Science* 79(3): 363-369.
- Puvadolpirod S, Thaxton JP (2000b) Model of physiological stress in chickens 4. Digestion and metabolism. *Poultry Science* 79(3): 383-390.
- Ramankevich A, Wengerska K, Rokicka K i in. (2022) Environmental enrichment as part of the improvement of the welfare of Japanese quails. *Animals* 12(15): 1963.
- Rowe E, Dawkins MS, Gebhardt-Henrich SG (2019) A systematic review of precision livestock farming in the poultry sector: Is technology focussed on improving bird welfare. *Animals* 9(9): 614.
- Shepherd EM, Fairchild BD (2010) Footpad dermatitis in poultry. *Poultry Science* 89(10): 2043-2051.
- Siddiqui MF, Patil MS, Khan KM i in. (2009) Sudden death syndrome—an overview. *Veterinary World* 2(11): 444-447.
- Thompson RK, Foltin RW, Boylan RJ i in. (1981) Tonic immobility in Japanese quail can reduce the probability of sustained attack by cats. *Animal Learning Behavior* 9(1): 145-149.
- Urban-Chmiel R (2014) Pterofagia oraz kanibalizm jako następstwa obniżonego poziomu dobrostanu u drobiu. *Życie Weterynaryjne* 89(09): 756-759.
- Wein Y, Shira EB, Friedman A (2017) Avoiding handling-induced stress in poultry: use of uniform parameters to accurately determine physiological stress. *Poultry Science* 96(1): 65-73.
- Yu J, Bao E, Yan J i in. (2008) Expression and localization of Hsps in the heart and blood vessel of heat-stressed broilers. *Cell Stress and Chaperones* 13(3): 327-335.
- Załucki G, Zawadzki W (2005) Układ nerwowy i narządy zmysłów [W:] Krzymowski T, Przała J (red.) *Fizjologia zwierząt*. PWRiL, Warszawa, wyd. VII: 80-99.

6. Przepieranie kur niosek

Molt induction in laying hens

⁽¹⁾Melania Brańska, ⁽¹⁾Renata Zdun, ⁽¹⁾Remigiusz Bagrowski, ⁽¹⁾Kinga Rokicka, ⁽¹⁾Ewelina Misiec,
⁽³⁾Dominika Krakowiak, ⁽²⁾Kamil Drabik, ⁽²⁾Justyna Batkowska

⁽¹⁾Studenckie Koło Naukowe Biologii, Hodowli i Użytkowania Drobiu, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

⁽²⁾Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

⁽³⁾Katedra Biofizyki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Melania Brańska: melania.branska@gmail.com

Opiekun naukowy: dr hab. Justyna Batkowska prof. UPL, dr inż. Kamil Drabik

Słowa kluczowe: nieśność, dobrostan, cynk

Streszczenie

Wszystkie gatunki ptaków w pewnych odstępach czasu przechodzą wymianę piór, w przypadku kur proces zwany przepieraniem rozpoczyna się po ok. 52 tyg. użytkowania. Niestety nie jest to obojętne dla hodowcy ze względu na spadek masy ciała i produktywności ptaków, przez co utrzymanie stada staje się nie rentowne i właściciele stad na ogół wymieniają je na nowe. Dowiedziono jednak, że sztuczne wywołanie przepierania może znacząco obniżyć koszty utrzymania stada bez konieczności jego wymiany. Jedną z metod indukcji wymiany upierzenia jest głodzenie ptaków, co niestety stanowi olbrzymi stresor i rażąco obniża dobrostan, dlatego też jego stosowanie jest zabronione. Alternatywnymi metodami może być dodatek cynku lub wapnia do paszy, czy też żywienie śrutą kukurydzianą lub pszeną, co pozwala uniknąć głodzenia zwierząt i sprzyja zachowaniu dobrostanu. Przeprowadzenie przepierania na fermie pozwala pozostawić w produkcji stado, którego utrzymanie jest niższe niż zakup nowych zwierząt, zwłaszcza jeżeli nie są to ptaki wysokoprodukcyjne. Ponadto jest to bardzo dobry czas na regenerację wielu układów (rozrodczy, kostny, immunologiczny) w organizmie ptaków, dzięki czemu wchodzi one w nowy cykl nieśności w lepszej kondycji.

1. Wstęp

Produkcyjność każdego gatunku zwierząt ma swoje ograniczenia wynikające z funkcjonowania ich organizmów. W przypadku kur niosek jednym z takich procesów jest przepieranie czyli naturalny fizjologiczny proces polegający na wymianie upierzenia ptaków. Z ekonomicznego punktu widzenia, z uwagi na fakt, że w czasie trwania pierzenia nieśność zostaje niemal całkowicie ograniczona, jest to wysoce niekorzystne dla producenta jaj. W związku z tym powszechniejszą metodą w produkcji jaj jest całkowita wymiana stada zamiast przeprowadzenia przepierania. Jednak zastosowanie jednej z wielu metod indukowania tego procesu, począwszy od tych wywoływanych wpływem środowiska, a skończywszy na stosowaniu suplementacji diety może pozwolić na ograniczenie niekorzystnych efektów finansowych zjawiska. Wpływ tych środków może nie tyle przyspieszyć sam proces, ale również poprawić parametry produkcyjne w kolejnym cyklu. Istotne zatem jest zaznajomienie się z możliwymi metodami indukowania przepierania oraz potencjalnymi korzyściami z tego płynącymi. Celem pracy było ukazanie korzyści ze sztucznego przepierania stada oraz przybliżenie sposobów indukowania tego procesu.

2. Przepieranie

W środowisku naturalnym, ptaki wszystkich gatunków po osiągnięciu dojrzałości przechodzą przepieranie. Jest to proces fizjologiczny, którego celem jest odnowa upierzenia, zwykle trwa dość długo, nawet do czterech miesięcy. Regulacja tego procesu odbywa się na drodze hormonalnej i w przypadku drobiu użytkowego rozpoczyna się wraz z naturalnym skracaniem

długości dnia świetlnego. Tyrozyna produkowana przez tarczycę jest niezbędna do wywoływania wzrostu i rozwoju jajnika podczas fotostymulacji oraz powoduje wystąpienie fotorefrakcji, która hamuje okres rozrodczy i zapoczątkowuje przepierzanie (Reinert i Wilson 1993). Zmiana upierzenia rozpoczyna się na głowie, a następnie kolejno na szyi, piersi, plecach, brzuchu, skrzydłach oraz ogonie. Podczas przepierzania obserwuje się redukcję masy ciała nawet o 40% oraz przerwę w nieśności indukowaną regresją układu rozrodczego (Morosovsky i Scherry 1980). W przemyśle drobiarskim u starszych kur indukuje się sztucznie przepierzanie przed końcem pierwszego cyklu nieśnego, następnie odpoczywają i wchodzi w następny cykl produkcji nieśnej (North i Bell 1999). Po zakończeniu sztucznie wywołanego przepierzania, stare osobniki wykazują regenerację układu rozrodczego (Brake 1993). Prawidłowo przeprowadzone przepierzanie, przeprowadzone w drugim cyklu produkcyjnym skutkuje poprawą stanu fizycznego kury, jakości skorupy oraz masy jaj, w stosunku do końcowego okresu pierwszego cyklu nieśności.

3. Sposoby przepierzania

Przepierzanie to proces naturalnie zachodzący w przyrodzie i będący odpowiedzią na niekorzystne warunki atmosferyczne. Spotykany jest zarówno u ptactwa dzikiego, jak i udomowionego (Berry 2003). Występuje także w intensywnym chowie drobiu nieśnego, jednak w związku ze znacznie obniżoną produktywnością u drobiu hodowanego na fermach, mającą miejsce właśnie podczas przepierzania, zaczęto sztucznie indukować ten proces. Ma to na celu obniżenie strat związanych z przestojem w produkcji oraz wydłużenie cyklu produkcyjnego (Bell 2003). Istnieje wiele metod sztucznego wywoływania przepierzania, najpopularniejszą z nich jest ta polegająca na ograniczeniu dostępu do paszy. W celu osiągnięcia optymalnych wyników zaleca się, aby masa kur zmniejszyła się od 27% do 35% (Zimmermann i in. 1987). Całkowite pozbawienie dostępu do paszy trwa przeważnie około 10 dni, aż do momentu osiągnięcia pożądanego efektu. Proces tej jednak budzi kontrowersje, ze względu na dobrostan zwierząt w tym okresie (Biggs i in. 2003). Podobnie kontrowersyjna była metoda CAL. Polegała ona na całkowitym pozbawieniu pokarmu na okres 10 dni i jednoczesnym skróceniu dostępu do światła do 8 godzin dziennie. W dniu jedenastym kurom podawano śrutę kukurydzianą *ad libitum*. Proces trwał 28 dni, w 29. dniu ptakom podawano standardową paszę. Była to metoda wydajna, atrakcyjna ze względów ekonomicznych, jednak uznawana za nieetyczną (Onbaşilar i Erol 2007). Dodatkowo całkowite ograniczenie spożywania paszy może powodować u niosek infekcję *Salmonella enteritidis*. Patogen powoduje stany zapalne jelit, przyczynia się do pogorszenia stanu zdrowia kur, a także stanowi zagrożenie bezpieczeństwa żywności (Holt 2003). Stąd też próby poszukiwania alternatyw uwzględniających dobrostan drobiu.

Alternatywne metody indukcji przepierzania dzieli się na dwie kategorie: metody oparte na specjalnych zaleceniach żywnościowych, gdzie unika się długoterminowego pozbawienia dostępu do paszy oraz metody polegające na zastosowaniu dodatków żywieniowych (Webster 2003). Dowiedziono, że podobne efekty do całkowitego pozbawienia paszy można uzyskać zastępując całkowity post podawaniem śruty kukurydzianej lub pszennej. Jest to rozwiązanie o tyle dobre, iż nie budzi kontrowersji etycznych oraz pozwala na dostarczenie wszystkich niezbędnych witamin i minerałów (Biggs i in. 2003). Stosowanie śruty pszennej jest efektywniejsze niż kukurydzianej ponieważ kury szybciej osiągają 50% produktywność. Podejmowano również próby tworzenia pasz kombinowanych zawierających śrutę z pszenicy i z kukurydzy, łuski sojowe oraz dodatek minerałów i witamin, ale efekty nie były zadowalające (Koelkebeck i in. 2006). Kolejną alternatywą do głodzenia praktyką jest stosowanie paszy wytlóków z winogron. Mogą być one wzbogacone o tyroksynę, wapń czy fosfor niefityniowy oraz niektóre witaminy i mikroelementy. Pasza w takiej formie pasza może być podawana bez limitu, a osiągnięte efekty będą porównywalne z przepierzaniem opierającym się na całkowitym ograniczeniu żywienia (Keshavarz i Quimby 2002). Najpopularniejszym dodatkiem paszowym stosowanym w celu wywoływania przepierzania jest cynk (Ruszler 1998). Jego dodatek przynosi zadowalające efekty, porównywalne z metodą tradycyjną. Dodatkowo podawanie cynku, a także wapnia, lub ich mieszanki pozytywnie wpływa na wytrzymałość skorupy jaja (Ga i in. 2022). Istotną rolę w procesie przepierzania pełni światło. Przepierzanie się kur można wywołać całkowitym odcięciem od dostępu do światła. Masa ciała spada wtedy proporcjonalnie do metody opierającej się na poście, jednak proces ten wymaga więcej czasu.

Mimo to jaja uzyskiwane w późniejszym czasie od kur przepierzanych poprzez pozbawienie światła są lżejsze, a same kury spożywają większe ilości paszy niż kury przepierzone metodami tradycyjnymi (Hembree in. 1980).

4. Przepieranie z zastosowaniem diety wysoko cynkowej

Przepieranie można przeprowadzić dzięki modyfikacji stężenia niektórych jonów w diecie m.in. cynku. Jest to metoda żywieniowej indukcji przepierania, którą wymienia się obok metod farmakologicznych i zarządzania stadem (El-Gendi i in. 2009; Fatarone i in. 2008; Park i in. 2004). Al-Mosawy i Al-Hassani (2022a) wskazują, że najlepsze rezultaty przynosi dodatek nanocząsteczek tlenku cynku (ZnO-NP) w ilości 20 g/kg paszy (porównywano dawki 10/20/25g/kg paszy ZnO-NP), powodując zatrzymanie nieśności w dwa tygodnie od rozpoczęcia terapii. Średnia produkcja jaj wzrasta od drugiego tygodnia po zakończeniu wymuszonego przepierania i trwa do 13. tygodnia nieśności. Ci sami autorzy (2022b) potwierdzają przydatność cynku w indukcji przepierania łącząc suplementację z czynnikami środowiskowymi. Dodanie ZnO-NP (20 g/kg paszy) połączone z odpowiednim programem świetlnym doprowadza do spadku masy ciała ptaków i zatrzymania nieśności. Dzień świetlny podczas indukcji przepierania skrócono do 8 godzin, następnie po zahamowaniu nieśności podawano właściwą dietę produkcyjną, a dzień świetlny wydłużono do 16 godzin. Produkcja jaj całkowicie ustała w 3. tygodniu od rozpoczęcia doświadczenia, natomiast średnia tygodniowa produkcja jaj po okresie przepierania nie różniła się pomiędzy grupami bez i z dodatkiem Zn. Podawanie cynku wraz z pokarmem w stężeniu 1%, w postaci propionianu cynku, powodowało zatrzymanie nieśności w 4 dni od rozpoczęcia pierzenia wymuszonego (Park i in. 2004). Dodatek cynku wpływał na zmniejszenie pobrania paszy i spadek masy ciała. Przeprowadzono również badania wpływu cynku z dodatkiem kwasu askorbinowego. Kury żywione dawką 15000 ppm Zn w postaci tlenku cynku z dodatkiem wit. C (1 g/kg) przez 9 dni potrzebowały krótszego okresu czasu do powrotu produkcji nieśnej oraz osiągnięcia progu 50% nieśności w porównaniu z grupami, w których Zn podawany był w większych lub mniejszych ilościach oraz bez dodatku wit. C, jednak indukcja przepierania w tej grupie nastąpiła najwolniej. Program obejmował także skrócenie programu świetlnego do 8h oświetlenia dziennie, a po 9 dniach wydłużenie do 16h. Kury przez cały okres pierzenia nie ograniczono dostępu do paszy (Al-Kirkuki 2012). Produkcja nieśna, w przypadku przepierania wywołanego Zn, rozpoczyna się dwa tygodnie wcześniej niż w przypadku przepierania wymuszonego programem konwencjonalnym z ograniczeniem paszy i stosowaniem śrutu kukurydzianej, a szczyt nieśności trzy tygodnie wcześniej (Yousaf i in. 2009). Nioski po przepieraniu indukowanym ZnO w ciągu dwóch pierwszych tygodni drugiego cyklu produkcyjnego wykazywały wyższą produkcję jaj niż te przepierane metodą przy pomocy całkowitego lub częściowego ograniczenia paszy (Ga i in. 2022).

Wysoka ilość cynku w diecie może mieć wielokierunkowy wpływ na przebieg przepierania kur niosek. Jednym z efektów podwyższonego poziomu tego pierwiastka w paszy jest bezpośrednia aktywność w procesie steroidogenezy przebiegającej w komórkach warstwy ziarnistej pęcherzyka jajnikowego. Cynk ma hamujące działanie na produkcję progesteronu w różnym stadium rozwoju pęcherzyków jajnikowych (Johnson i Brake 1992). Znaczące obniżenie poziomu progesteronu wraz z poziomem hormonu luteinizującego (LH) jest skorelowane z zatrzymaniem nieśności i poprzedza proces wymiany piór (Hoshino i in. 1988). Potwierdza to także odnotowana atrofia (zanik) jajnika (Park i in 2004). Najwyższy poziom progesteronu występuje na 4-6 godzin przed owulacją (Kapauf i Thienhoven 1972), a jego obniżenie poniżej poziomu podstawowego (0,42 - 0,82 ng/ml), powiązane jest z zatrzymaniem owulacji i w związku z tym nieśności (Hoshino i in. 1988). Z kolei, fizjologicznie, luteoliza (proces przekształcania ciała żółtego w ciało białawe na drodze apoptozy) i spadek stężenia progesteronu we krwi do poziomu podstawowego są bodźcem dla podwzgorza do pulsacyjnego wydzielania gonadoliberyny (GnRH, hormon stymulujący wydzielanie gonadotropin LH i FSH). Przyczynia się to do wzmożonego wydzielania FSH (hormon folikulotropowy; pobudzający dojrzewanie pęcherzyków jajnikowych) i LH. Wydzielone gonadotropiny gwałtownie przyspieszają rozwój kilku pęcherzyków jajnikowych, przygotowując je do owulacji (Dusza 2005).

Najistotniejszym działaniem cynku upatruje się jednak w obniżeniu poziomu pobrania paszy. U kur żywionych z dodatkiem propionianu cynku zaobserwowano redukcję spożycia na poziomie

65% (Park i in. 2004). Dochodzi wówczas do obniżania masy ciała, co jest główną przyczyną zahamowania nieśności (Brake 1993). Przy dawce 20g/kg paszy ZnO-NP lub 25g/kg paszy tlenku cynku dochodziło do utraty około 25-26% masy ciała niosek (Al-Mosawy i Al-Hassani 2022b). Spadek masy w dużej mierze dotyczy wątroby, trzustki, jajników i jajowodów (Al-Mosawy i Al-Hassani 2022a). Tlenek cynku ogranicza także syntezę lipidów (m.in. lipidów żółtka jaja) i przyczynia się do ich degradacji (Zhao i in. 2016). Prozdrowotne działanie dodatku cynku na kury nioski przejawia się w intensywniejszym wytwarzaniu przeciwciał (IgG i IgM) po przepierzaniu w porównaniu do procedury ograniczania żywienia. Wskazuje to na wzmocnioną wrodzoną i nabytą odpowiedź immunologiczną (Sandhu i in. 2007).

Suplementacja Zn w postaci nanocząsteczkowej (ZnO-NP) w czasie okresu nieśności wpływa na zwiększenie masy skorupy jaja i poprawę parametrów białka (wysokość białka gęstego, jednostki Haugha). Dieta podstawowa uzupełniona o 80 mg ZnO-NP/kg poza okresem przepierzania nie wpływa na pobranie paszy i jej wykorzystanie (w przeliczeniu na masę jaj), ale może przyczynić się do zwiększenia produktywności niosek (Abedini i in. 2017).

5. Efekty przepierzania

Proces przepierzania ptaków może nieść za sobą szereg korzystnych zmian w procesie produkcyjnym. Indukowane przepierzanie pozwala na ograniczenie strat dla przedsiębiorcy ze względu na możliwość przeprowadzenia go w dogodnym momencie, gdy popyt na jaj na rynku się zmniejsza. Dodatkowo jest to proces wymagający mniejszego nakładu finansowego niż wprowadzenie nowego stada produkcyjnego po każdym cyklu nieśności (Holt 2003). Pozwala na regenerację ptaków przyczyniając się do poprawy parametrów układu kostnego, immunologicznego oraz rozrodczego (Gulde i in. 2010). Często indukowane przepierzanie prowadzi do ogólnej poprawy jakości uzyskiwanych po tym procesie jaj. Dowiedziono, że im wyższa była utrata masy ciała kur niosek tym wyższą jakość skorupy jaj obserwowano (Baker i in. 1983). Sam proces przepierzania prowadzi niejako do 'odmłodzenia' cyklu produkcyjnego, w czasie którego dochodzi do znaczącej poprawy parametrów jakościowych jaj w porównaniu z końcem poprzedniego okresu nieśności (Berry 2003). Podobnie dzieje się w przypadku uzupełnienia diety niosek o wapń (Dickey i in. 2012). Obserwowane jest zwiększenie odsetku kur niosek znoszących jajo każdego dnia (długie serie, krótkie przerwy) w porównaniu do ptaków nie przechodzących przepierzania (Regmi i in. 2018). U ptaków, które zostały poddane przepierzaniu indukowanemu żywieniem z wykorzystaniem lucerny i jęczmienia, nieśność powróciła szybciej w porównaniu do grupy kontrolnej. W przypadku masy właściwej jaj po przepierzaniu również była ona wyższa w przypadku grup doświadczalnych (Sariözkan i in. 2013). Zastosowanie suplementacji cynku przy jednoczesnym dodatku probiotyków ptaków w celu wywołania przepierzania również przynosi pozytywne wyniki zmniejszając stres oksydacyjny (Anwar i in. 2012). Proces przepierzania ma również wpływ na układ immunologiczny ptaków prowadząc do podniesienia udziału limfocytów CT8 przy jednoczesnym zmniejszeniu liczby limfocytów CT4 (Alodan i Mashaly 1999). Limfocyty cytotoksyczne CT odgrywają ważną rolę w odpowiedzi immunologicznej organizmu, CT4 odpowiadają z odpowiedź humoralną, zaś CT8 za niszczenie komórek organizmu zakażonych wirusami (Czekaj i in. 2008). Tym samym pozwala na ogólną regenerację całego układu odpornościowego (Murphy 1996). Zastosowanie chłodzenia grzęd jako sposobu intensyfikacji przepierzania prowadziło do poprawy stosunku heterofilii do limfocytów, który jest wskaźnikiem przewlekłego stresu u zwierząt (Hu i in. 2019).

6. Podsumowanie

Przepierzanie indukowane cynkiem ma wiele zalet. Metoda ta ze względu na brak ograniczenia paszy spełnia obecne oczekiwania dobrostanu u kur niosek. Ponadto może pozytywnie wpływać na odporność ptaków i ograniczyć niebezpieczeństwo transmisji chorób przenoszonych przez surowce drobiarskie. Pozytywnie na organizm wpływa również dodawanie do paszy witaminy C, która pomaga w szybszym osiągnięciu przez ptaki szczytu nieśności. Metody polegające na indukcji przepierzania poprzez żywnie z dodatkiem śrut (kukurydzianej lub pszennej) są

zdecydowanie lepsze od metody głodzenia ptaków, ze względu na mniejszy stres i zachowanie dobrostanu niosek.

7. Literatura

- Abedini M, Shariatmadari F, Torshizi MK i in. (2017) Effects of a dietary supplementation with zinc oxide nanoparticles, compared to zinc oxide and zinc methionine, on performance, egg quality, and zinc status of laying hens. *Livestock Science* 203: 30-36.
- Al-Kirkuki MS (2012) Effect of force molting by zinc oxide and the role of vitamin C on body weight and reentry to production of broiler breeder. *Mesopotamia Journal of Agriculture* 40: 9-18.
- Al-Mosawy HA, Al-Hassani DH (2022a) Effect of force molting using high levels of dietary nano zinc oxide on productive performance of laying hens. *Iraqi Journal Of Agricultural Sciences* 53(1): 230-236.
- Al-Mosawy HA, Al-Hassani HA, Al-Hassani DH (2022b) Experience the efficiency of new force molting programs in layer hens using some productive indicators. *Iraqi Journal Of Agricultural Sciences* 53(2): 385-391.
- Alodan MA, Mashaly MM (1999) Effect of induced molting in laying hens on production and immune parameters. *Poultry Science* 78(2): 171-177.
- Anwar H, Rahman ZU, Javed i i in. (2012) Effect of protein, probiotic, and symbiotic supplementation on serum biological health markers of molted layers. *Poultry Science* 91(10): 2606-2613.
- Baker M, Brake J, McDaniel GR (1983) The relationship between body weight loss during an induced molt and postmolt egg production, egg weight, and shell quality in caged layers. *Poultry Science* 62(3): 409-413.
- Bell DD (2003) Historical and current molting practices in the US table egg industry. *Poultry Science* 82(6): 965-970.
- Berry WD (2003) The physiology of induced molting. *Poultry Science* 82(6): 971-980.
- Biggs PE, Douglas MW, Koelkebeck KW i in. (2003) Evaluation of nonfeed removal methods for molting programs. *Poultry Science* 82(5): 749-753.
- Brake J (1993) Recent advances in induced molting. *Poultry Science* 72(5): 929-931.
- Czekaj H, Samorek - Salamonowicz E, Bednarek E i in. (2008). Subpopulacje limfocytów T we krwi kurcząt szczepionych przeciwko chorobie Mareka. *Medycyna Weterynaryjna* 64(05): 681-683.
- Dickey ER, Johnson AK, Stalder KJ i in. (2012) Effects of a premolt calcium and low-energy molt program on laying hen performance, egg quality, and economics. *Poultry Science* 91(2): 292-303.
- Dusza L (2005) Rozród [W:] Krzymowski T, Przała J (red.) *Fizjologia zwierząt*. PWRiL, Warszawa, wyd. VII: 607-669.
- El-Gendi GM, Samak HR, Mohamed AA (2009) Effect of induced molting on some productive and physiological traits in Hy-Line hens. *Egyptian Poultry Science Journal* 29(1): 385-405.
- Faitarone ABG, Garcia EA, Pizzolante CC i in. (2008) Forced-Molting methods and their effects on the performance and egg quality of japanese quails (*Coturnix japonica*) in the second laying cycle. *Brazilian Journal of Poultry Science* 10: 53-57.
- Ga GW, Kim SK, Kim YG i in. (2022) Evaluation of different non-fasting molting methods on laying performance and egg quality during molting and post molting periods. *Journal of Animal Science and Technology* 64(4): 717.
- Gulde VAL, Renema R, Bédécarrats GY (2010) Use of dietary thyroxine as an alternate molting procedure in spent turkey breeder hens. *Poultry Science* 89(1): 96-107.
- Hembree DJ, Adams AW, Craig JV ((1980) Effects of force-molting by conventional and experimental light restriction methods on performance and agonistic behavior of hens. *Poultry Science* 59(2): 215-223.
- Holt PS (2003) Molting and *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* infection: The problem and some solutions. *Poultry Science* 82(6): 1008-1010.

- Hoshino S, Suzuki M, Kakegawa T i in. (1988) Changes in plasma thyroid hormones, luteinizing hormone (LH), estradiol, progesterone and corticosterone of laying hens during a forced molt. *Comparative Biochemistry and physiology. A Comparative Physiology* 90(2): 355-359.
- Hu JY, Hester PY, Xiong Y i in. (2019) Effect of cooled perches on the efficacy of an induced molt in White Leghorn laying hens previously exposed to heat stress. *Poultry Science* 98(10): 4290-4300.
- Johnson AL, Brake J (1992) Zinc-induced molt: Evidence for a direct inhibitory effect on granulosa cell steroidogenesis. *Poultry Science* 71(1): 161-167.
- Kappauf B, Tienhoven AV (1972) Progesterone concentrations in peripheral plasma of laying hens in relation to the time of ovulation. *Endocrinology* 90(5): 1350-1355.
- Keshavarz K, Quimby FW (2002) An investigation of different molting techniques with an emphasis on animal welfare. *Journal of Applied Poultry Research* 11(1): 54-67.
- Koelkebeck KW, Parsons CM, Biggs P i in. (2006) Nonwithdrawal molting programs. *Journal of Applied Poultry Research* 15(3): 483-491.
- Mrosovsky N, Sherry DF (1980) Animal anorexias. *Science* 207(4433): 837-842.
- Murphy ME (1996). *Energetics and nutrition of molt.* [In:] *Avian energetics and nutritional ecology*, Springer, Boston, MA: 158-198.
- North MO, Bell DD (1990) *Flock recycling.* *Commercial Chicken Production Manual.* 4th ed. Chapman and Hall, New York, NY, 433-452.
- Onbaşlılar EE, Erol H (2007) Effects of different forced molting methods on postmolt production, corticosterone level, and immune response to sheep red blood cells in laying hens. *Journal of Applied Poultry Research* 16(4): 529-536.
- Park SY, Birkhold SG, Kubena LF i in. (2004) Effects of high zinc diets using zinc propionate on molt induction, organs, and postmolt egg production and quality in laying hens. *Poultry Science* 83(1): 24-33.
- Regmi P, Robison CI, Jones DR i in. (2018) Effects of different litter substrates and induced molt on production performance and welfare quality parameters of white Leghorn hens housed in multi-tiered aviary system. *Poultry Science* 97(10): 3397-3404.
- Reinert BD, Wilson FE (1996) Thyroid dysfunction and thyroxine-dependent programming of photoinduced ovarian growth in American tree sparrows (*Spizella arborea*). *General and Comparative Endocrinology* 103(1): 71-81.
- Ruszler PL (1998) Health and husbandry considerations of induced molting. *Poultry Science* 77(12): 1789-1793.
- Sandhu MA, Rahman ZU, Rahman SU i in. (2007) Dynamics of innate immune response in *Gallus domesticus* using two methods of induced moulting. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 120: 106-114.
- Sarıözkan SS, Güclü BK, Kara K i in. (2013) Comparison of different molting methods and evaluation of the effects of postmolt diets supplemented with humate and carnitine on performance, egg quality, and profitability of laying hens. *Journal of Applied Poultry Research* 22(4): 689-699.
- Webster AB (2003) Physiology and behavior of the hen during induced molt. *Poultry Science* 82(6): 992-1002.
- Yousaf MS, Rahman ZU, Sandhu MA i in. (2009) Comparison of the fast-induced and high dietary zinc-induced molting: trace elements dynamic in serum and eggs at different production stages in hens (*Gallus domesticus*). *Journal of animal physiology and Animal Nutrition* 93(1): 35-43.
- Zhao Y, Li L, Zhang PF i in. (2016) Regulation of egg quality and lipids metabolism by Zinc Oxide Nanoparticles. *Poultry Science* 95(4): 920-933.
- Zimmermann NG, Andrews DK, McGinnis J (1987) Comparison of several induced molting methods on subsequent performance of Single Comb White Leghorn hens. *Poultry Science* 66(3): 408-417.

7. Gąbczasta encefalopatia bydła i jej epidemiologia – praca przeglądowa

Bovine spongiform encephalopathy (BSE) and it's epidemiology – a review

Maja Hartung

Katedra Fizjologii Klinicznej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Koło Naukowe Fizjologów Klinicznych

Maja Hartung: mhartung866@gmail.com

Opiekun naukowy: dr hab. Katarzyna Palus , prof. UWM

Słowa kluczowe: BSE, priony, encefalopatia pasażowalna

Streszczenie

Gąbczasta encefalopatia bydła , potocznie zwana chorobą szalonych krów - choroba zakaźna wywoływana przez priony. Są to zakaźne cząsteczki białkowe wywołujące choroby neurodegeneracyjne. Są one odpowiedzialne m.in. za odpowiedni cykl okołodobowy związany z dobrym snem i przekazywanie sygnałów na powierzchni komórki. Źródłem zakażenia są koncentraty białkowe przygotowane z mączek mięsno-kostnych pochodzących od zakażonych przeżuwaczy. PRP^{sc} – po zetknięciu się z normalnym PRP^c przekształca je w sobie podobne. Gdy PRP^{sc} nagromadzenie się w dużej ilości dochodzi do agregacji i precypitacji, to powoduje powstanie w cytoplazmie neuronów licznych wakuol i zaniku komórek nerwowych. Pierwsze objawy dotyczą zmian w zachowaniu się zwierząt i są zwykle dostrzegane tylko przez hodowców. Choroba znajduje się na liście chorób zakaźnych OIE, a w obrocie międzynarodowym zwierząt, zasady są regulowane w zależności od sytuacji epidemiologicznej w danym kraju. Przyżyciowo zwierzęta podejrzane o BSE należy odizolować od stada i obserwować przez 2 tygodnie. Ze względu na to, że nigdy nie ma jednej przyczyny występowania określonego zjawiska konieczne jest wielokierunkowe działanie zmierzające do zmniejszenia skali i skutków choroby.

1. Wstęp

Gąbczasta encefalopatia bydła (encephalopatia spongiformis bovis, bovine spongiform encephalopathy - BSE)- jest to śmiertelna neurologiczna choroba dorosłego bydła, w przebiegu której dochodzi do zwyrodnienia gąbczastego w obrębie mózgu. Charakteryzuje ją także brak swoistej odpowiedzi ze strony układu immunologicznego oraz wyniszczenie organizmu. Z uwagi na zmiany w mózgu (obecność w istocie szarej mózgu licznych wodniczek - co przypomina wyglądem gąbkę) - została ona nazwana gąbczastą encefalopatia bydła (BSE). Jest zaliczana do tzw. pasażowalnych encefalopatii (transmissible spongiform encephalopathies – TSE) . BSE jest zaliczana jako zoonoza – choroba, która może zostać przeniesiona ze zwierzęcia na człowieka. Droga transmisji na ludzi nie jest znana z całą pewnością, ale wykazano, że BSE łatwo się przenosi eksperymentalnie drogą doustną zarówno u bydła, jak i owiec i wydaje się, że najbardziej prawdopodobna droga u ludzi, biorąc pod uwagę, że wiadomo, że bardzo duża liczby bydła inkubującego BSE weszło do ludzkiego łańcucha pokarmowego. Ryzyko infekcji u ludzi zmieniło się na przestrzeni lat od odkrycia BSE w 1986 r

2. Opis zagadnienia

Gąbczasta encefalopatia bydła (ang. Bovine Spongiform Encephalopathy, BSE), potocznie zwana chorobą szalonych krów, lub mylnie chorobą wściekłych krów – choroba zakaźna wywoływana przez białkowe czynniki zakaźne – priony. BSE należy do grupy chorób pasażowalnych encefalopatii gąbczastych i jest uznawana za niebezpieczną zoonozę mogącą wywołać u ludzi wariant (vCJD) choroby Creutzfeldta-Jakoba. BSE podlega obowiązkowi rejestracji i zwalczania oraz znajduje się na liście OIE. Należy do jednostek chorobowych przebiegających z gąbczastością mózgu, wspólnie nazywanych „Zakaźnymi encefalopatiami” – TSEs (Transmissible Spongiform Encephalopathies). Typowe cechy, które decydują o zaklasyfikowaniu do chorób pasażowalnych to:

długi okres inkubacji, zmiany gąbczaste w mózgu, brak reakcji zapalnej, brak odpowiedzi immunologicznej. BSE po raz pierwszy wykryto w Wielkiej Brytanii w 1986 r., od 1988 r. w WB jest zwalczana z urzędu. W Wielkiej Brytanii w latach 1987-1999 zdiagnozowano 175 838 przypadków, a odsetek stad bydła dotkniętego BSE wynosił 36,7. Zachorowalność w innych krajach była zdecydowanie niższa. W tym czasie w Irlandii zanotowano >577, Portugalii 480, Szwajcarii 361, a we Francji 230 przypadków zachorowań. Sporadycznie notowano ją w krajach Europy Zachodniej i Centralnej oraz w Omanie i na Falklandach. Występowanie choroby nie wiąże się z rasą, płcią, okresem laktacji czy porą roku. Choruje najczęściej bydło w wieku 4-7 lat. BSE wywoływane jest przez patologiczne białko prionowe PrP^{Sc} (Scrapie Prion Protein) [PrP^{Res}]. Twórcą teorii prionowej jest Stanley Prusiner, który w 1997 r. został laureatem nagrody Nobla.

3. Przegląd literatury

3.1 Priony

Termin „prion” został wprowadzony przez Stanleya B. Prusinera w 1982 r. na oznaczenie małej „zakaźnej cząsteczki białkowej” (proteinaceous infectious particle), odpornej na inaktywację przez większość procedur uszkadzających kwasy nukleinowe. Termin ten podkreśla, że białko jest istotnym składnikiem czynnika zakaźnego (Prusiner 1982 et al.). W hipotezie protein-only zakłada się, że prion jest pozbawiony jakiegokolwiek informacyjnego kwasu nukleinowego, a istotnym składnikiem patogennym jest białko. Nie wyklucza się jednak w niej połączenia z innymi „nieinformacyjnymi” cząsteczkami, takimi jak lipidy lub glikozoaminoglikany (Aguzzi i Weissmann 1997 et al.). Obecnie powszechnie przyjmuje się w tej hipotezie, zgodnie z poglądami Prusinera, że priony zbudowane są z białka PrP^{Sc}, które jest patologiczną, konformacyjną odmianą prawidłowego białka PrP^C znajdującego się w mózgu i innych narządach kręgowców. Powielanie PrP^{Sc} jest procesem posttranslacyjnym, polegającym jedynie na wymuszaniu konformacyjnej zmiany kolejnych cząsteczek PrP^C w PrP^{Sc} (Gogiel 1998). Obecnie wiadomo, że białko występujące jako prion komórkowy (PrP^C) jest sialoglikoproteidem, o masie 27-30 kDa (α₆). Wykazano (53,57), że jest ono m.in. odpowiedzialne za właściwy cykl okołodobowy tzn. dobry sen. Wykazano, że są one wrażliwe na działanie trypsyny, niektórych detergentów np. siarczan sodowy dodecylu, mocznika, fenolu, kwasu trójchlorooctowego, kwasu mrówkowego, NaOH, podchlorynu i wysokiego pH. Stwierdzono również, że są niewrażliwe na nukleazy (RNA-azy i DNA-azy), formalinę, 70% etanol lub metanol, niskie pH, EDTA, promieniowanie jonizujące i UV (254nm) oraz gotowanie i standardową sterylizację termiczną np. autoklawowanie, a nawet temperaturę 270 C czy 360 C przez 1 godz (Depta i Pawlikowska 1999).

3.2 Etiologia

BSE wywołuje niekonwencjonalny czynnik, którego głównym składnikiem jest odporne na proteolizę „zakaźne” białko określane jako priony - nietypowe zakaźne cząstki białkowe, posiadające zdolność przekształcania normalnego białka prionowego (PrP^C) w białko patologiczne (PrP^{Sc}) (Polak i in. 2007). Priony charakteryzują się wyjątkową opornością na czynniki środowiska zewnętrznego. Zachowują one żywotność w temperaturze wrzenia i suchym gorącym powietrzu o temp. 200°C. Są odporne na promienie UV, promieniowanie jonizujące i ultradźwięki, a także nawet 10% formalinę. Białko prionowe istnieje w dwóch formach: jednej fizjologicznej (komórkowej) PrP^C(PrP^{sen}), drugiej – będącej przyczyną chorób – PrP^{Sc}(PrP^{Res}). Różnica między nimi polega na odmiennej strukturze przestrzennej (konformacji). PrP^C ma strukturę α-helikalną, natomiast PrP^{Sc} β-pofałdowaną. Czynnikiem etiologicznym BSE nie zawiera kwasów nukleinowych i nie podlega replikacji, natomiast szerzy się w tkance nerwowej w następstwie kontaktu z formą fizjologiczną białka prionowego, wywołując u niego, na zasadzie swego rodzaju efektu domina, zmiany jego struktury trzeciorzędowej, charakterystyczne dla prionu (Aguzzi i Heppner 2000 et al.). Efektem jest degeneracja komórek nerwowych, uwidaczniają się gąbczastości w badaniu histopatologicznym tkanki nerwowej, a klinicznie zwiększoną pobudliwością i zaburzeniami motorycznymi oraz ataksją (Braun i in. 1998). Brak reakcji zapalnej i odpowiedzi immunologicznej ze strony zakażonego osobnika również stanowi różnicę w stosunku do typowych chorób zakaźnych. Choroba zawsze kończy się śmiercią.

3.3 Źródła, drogi zakażenia i patogenezą

Źródłem zakażenia są koncentraty białkowe przygotowane z mączek mięsno-kostnych pochodzących od zakażonych przeżuwaczy. PRP^{sc} – po zetknięciu się z normalnym PRP^c przekształca je w sobie podobne. Gdy PRP^{sc} nagromadzenie się w dużej ilości dochodzi do agregacji i precypitacji, to powoduje powstanie w cytoplazmie neuronów licznych wakuol i zaniku komórek nerwowych. Proces przebiega w kilku etapach: Replikacja białka prionowego w miejscu zakażenia, kępkach Peyera, tkance limfoidalnej, węzłach chłonnych → neuroinwazja → neurodegeneracja. Do prawdopodobnych przyczyn pojawienia się BSE zaliczamy stosowanie w żywieniu bydła mączek mięsno – kostnych, zmiany technologii produkcji mączek, centralizację zakładów utylizacyjnych, wzrost pogłowia owiec w latach 1981/1982 w Wielkiej Brytanii (Larska i in. 2002). Dotychczas stosowana ocena skuteczności transmisji chorób prionowych jedynie w oparciu o wystąpienie lub brak objawów klinicznych zakażenia, okazała się zawadna w związku ze stwierdzeniem wysokich mian białka PrP^{sc} pozornie zdrowych zwierząt, a pasażowanie materiału na zdrowych osobnikach, prowadziło w kolejnych pasażach do rozwoju klinicznej postaci choroby i padnięć zwierząt zakażonych (Polak i Rola 2005). Zjawisko występowania zakażeń subklinicznych w przebiegu chorób prionowych potwierdzają jak się wydaje, wyniki badań monitoringowych bydła w kierunku BSE, chociażby w Polsce. Spośród 15 przypadków choroby wykrytych do końca maja 2004 r., zaledwie dwie krowy wykazywały objawy kliniczne nasuwające podejrzenie BSE. Dwanaście przypadków choroby zdiagnozowano wstępnie, a następnie potwierdzono u zwierząt zdrowych jeden przypadek dotyczył krowy padłej. Celem uzyskania całkowitej pewności, że u zwierząt zdrowych z dodatnim wynikiem badania laboratoryjnego w kierunku BSE zdiagnozowano stan zakażenia subklinicznego, należałoby wykonać badanie przyżyciowe w kierunku gąbczastej encefalopatii bydła (co w przypadku BSE nie jest obecnie możliwe), a następnie prowadzić obserwację kliniczną przez cały okres życia zwierzęcia. Jednakże na podstawie wyników badań histopatologicznych stwierdzonych w Polsce przypadków BSE (wykrywana w tym badaniu obecność zmian gąbczastych w istocie szarej pnia mózgu bezpośrednio poprzedza pojawienie się fazy klinicznej choroby) , że przynajmniej dwie krowy (negatywne wyniki w badaniu histopatologicznym) mogły być w fazie zakażenia subklinicznego czynnikiem wywołującym BSE (Collinge i Hill 2003 et al.).

3.4 Objawy

Pierwsze objawy dotyczą zmian w zachowaniu się zwierząt i są zwykle dostrzegane tylko przez hodowców. Temperatura ciała przeważnie jest w normie, a łaknienie zachowane. Niektóre zwierzęta mogą mieć przyspieszony oddech i bradykardię, szczególnie w stanie podniecenia. Zmiany zachowania: lęklność, zmiana temperamentu, wzmożenie czujności, lęk przed przekroczeniem leżącej na ziemi małej przeszkody (belki), lęk przed wejściem na korytarz, agresywność, kopanie ludzi, częste oblizywanie śluzawicy, zgrzytanie zębami, drżenia mięśni warg, śluzawicy, uszu, szyi, przedpiersia, boków lub całego ciała. Zaburzenia motoryczne: sztywny chód, niezborność ruchów, zbyt wysokie unoszenie tylnych kończyn, potykanie się o przeszkody, ślizganie i przewracanie się na twardym podłożu, w końcowym stadium zleganie (Larska i in. 2002). Zaburzenia reakcji na bodźce: przejawy paniki, przewracanie się w wyniku reakcji na zwyczajne bodźce (kłaśnięcie, zapalenie światła), przeculica, głównie głowy i szyi. Wyniszczenie: postępujące chudnięcie mimo zachowanego apetytu, spadek mleczności. Charakterystycznych zmian makroskopowych sekcyjnie się nie stwierdza. Natomiast pod mikroskopem widoczne są pojedyncze lub liczne, różnej wielkości, okrągłe lub owalne wodniczki w istocie szarej mózgu i cytoplazmie niektórych komórek nerwowych. Wakuolizacja włókien nerwowych szczególnie dotyczy jąder pasma samotnego i pasma rdzeniowego nerwu trójdzielnego. Obserwuje się także rozplem komórek gwiaździstych (astrocytoza) i niekiedy neuronofagię (Polak i Rola 2005).

3.5 Rozpoznawanie

Zwiększająca się liczba przypadków chorób z grupy TSE powoduje konieczność opracowania skutecznych testów diagnostycznych. Test przyżyciowy powinien diagnozować chore zwierzęta przed wystąpieniem objawów klinicznych i pozwalać na odróżnienie zwierząt chorych od podejrzanych, wykazujących podobne objawy kliniczne (Polak i Rola 2005). Dostarcza to niemałych

trudności spowodowanych brakiem wyizolowanego czynnika zakaźnego, a także brakiem odpowiedzi immunologicznej ze strony gospodarza. Obecnie jedyną skuteczną i pewną metodą diagnozowania BSE jest badanie pośmiertne. Obejmuje ono: badanie histopatologiczne mózgowia, badania mikroskopowe na obecność włókienek SAP (scrapie associated fibrils), wykrywanie patologicznej formy białka PrP(Sc) z użyciem metod immunoenzymatycznych (western blotting, ELISA) (Górski i Lis 2013). Badanie w kierunku gąbczastej encefalopatii bydła (BSE) przeprowadza się u wszystkich zwierząt powyżej 30 miesiąca życia przeznaczonych do konsumpcji przez człowieka obowiązuje w Unii Europejskiej od 1 stycznia 2001 r. Podstawą była Decyzja Komisji Nr 2000/3741EC z dnia 5 czerwca 2000 r. Kolejne Rozporządzenia Komisji Nr 99912001 z 22 maja 2001 r. oraz Nr 124812001 z 22 czerwca 2001 r. ustala wytyczne w zakresie zapobiegania, kontroli i zwalczania określonych pasażowalnych encefalopatii gąbczastych (m.in. obniżono wiek badanych zwierząt z grupy ryzyka z 30 do 24 miesięcy) (Larska i in. 2002). Stosuje się następujące szybkie testy: Test A (EG & G. Wallac): dwumiejscowa niekompetycyjna procedura immunometryczna przy użyciu dwóch różnych przeciwciał monoklonalnych. Technologia DELFIA służy do generowania sygnału odczytu. Test B (prionics): test immunoblottingu w oparciu o procedurę Western blotting dla wykrywania fragmentu opornego na działanie proteazy PrPSc przy użyciu przeciwciała monoklonalnego. Test C (Enfer): substancja chemiluminescencyjna ELISA z użyciem poliklonalnego anti-PrP przeciwciała do wykrywania. Test D (CEA): test immunologiczny kanapkowy dla PrPSc przeprowadzono po denaturacji i etapy koncentracji. Używa się dwóch przeciwciał monoklonalnych. Testy A i D trwają mniej niż 24 godziny, podczas gdy testy B i C zajmują odpowiednio 8 i 4 godziny, a także mają najwyższą przepustowość (Wisniewski 1998). Stosowane obecnie przeciwciała w szybkich testach do diagnostyki BSE pozwalają na wykrycie zarówno białka normalnego (PrPC) jak i formy patologicznej (PrPSc) stwierdzanej jedynie u zwierząt chorych na BSE. Etapem pozwalającym na wykrycie tylko formy patologicznej, czyli PrPSc (marker molekularny BSE), jest usunięcie z homogenatu białka PrPC. W tym celu materiał poddaje się trawieniu enzymem proteolitycznym – proteinazą K, Wszystkie zestawy diagnostyczne zawierają ten odczynnik. Pod jego wpływem białko PrPC (33-35 kDa) ulega całkowitej degradacji, natomiast białko PrPSc (33-35 kDa) ulega częściowej degradacji, pozostaje forma opora na trawienie tzw. PrPres o masie 27-30 kDa. (Górski i Lis 2013). Do badań laboratoryjnych pobiera się całą głowę i próbki z rdzenia przedłużonego od zwierząt bez objawów nerwowych. Głowę po odcięciu ustawia się otworem potylicznym do góry, przez który wprowadza się łyżeczkę, kierując ją po stronie brzusznej rdzenia, między oponami a samym rdzeniem, na głębokość 7-8 cm. Ostrze łyżeczki obraca się o 90° w lewo i w prawo w celu obcięcia gałązek nerwowych. Następnie łyżeczką wyciąga sit; próbkę materiału i umieszcza w płytce Petriego. Materiałem jest pień mózgu, z określonego rejonu rdzenia przedłużonego – rejon obexu czyli zasuwki – tzw. rygielka, w pniu mózgu) (Larska i in. 2002). U krów należy wykluczyć: wściekliznę, listeriozę, hipomagnezemię (tężyczkę), hipokalcemię (porażenie poporodowe), nerwową postać ketozy, zatrucie ołowiem, a także zaleganie na skutek urazu i innych przyczyn.

3.6 Postępowanie

Leczenia się nie stosuje. Choroba znajduje się w liście chorób zakaźnych OIE. W obrocie międzynarodowym zwierząt, zasady są regulowane w zależności od sytuacji epidemiologicznej w danym kraju. Przyżyciowo zwierzęta podejrzane o BSE należy odizolować od stada i obserwować przez 2 tygodnie. Jeżeli tymczasem zwierzę padnie, istnieje duże prawdopodobieństwo, że przyczyną obserwowanych objawów nie było BSE. Jednakże w każdym przypadku wystąpienia choroby z objawami nerwowymi należy wykonać badania laboratoryjne w kierunku BSE, a także wścieklizny (Górski i Lis 2013). Choroba w Polsce podlega obowiązkowi zgłaszania i zwalczania. W przypadku wystąpienia gąbczastej encefalopatii bydła należy postępować zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z 22 stycznia 2003 r. (Dz.U. nr 18, póź. 163). Polega ono na obfitym polaniu 3% roztworem sody żrącej, o temperaturze 70-80°C, lub 5% roztworem fenolu pomieszczeń i wybiegów, po usunięciu wszystkich zwierząt chorych i podejrzanych o zakażenie. Należy przeprowadzić oczyszczenie pomieszczeń i wybiegów i obornika, ściółki, resztek paszy i innych zanieczyszczeń, a następnie zanieczyszczenia i unieszkodliwić poprzez spalanie albo jeżeli spalanie

ich jest niewykonalne, poprzez zakopanie w głębokim dole, obfite polanie jednym z wymienionych środków odkażających i pokrycie warstwą ziemi o grubości co najmniej 1 m. Oczyszczeniu oraz odkażeniu przy użyciu jednego ze środków odkażających poddaje się wszystkie pomieszczenia, w których przebywały zwierzęta chore lub podejrzane o zakażenie się oraz sąsiadujące z nimi magazyny paszowe, pomieszczenia z urządzeniami mleczarskimi, wybiegi, sprzęt i narzędzia oraz środki transportu używane do przewozu i środków żywienia zwierząt (Polak i Rola 2005). Oczyszczanie i odkażanie pomieszczeń dla zwierząt i wybiegów przeprowadza się trzykrotnie w 14-dniowych odstępach, przy czym ostatni z tych zabiegów należy traktować jako oczyszczanie i odkażanie ostateczne. Oficjalnie próbki do badań były i są pobierane przez służby weterynaryjne od 2001 r. w największych zakładach przemysłu mięsnego od bydła w wieku ponad 24 miesiące. Średnio rocznie poddawane jest testom dla wykrycia BSE ponad 150 tys. zwierząt. Pogłowie bydła w Szwajcarii obejmuje ponad 1,5 mln sztuk (6). Od 1 stycznia 2001 r. w Szwajcarii obowiązuje całkowity zakaz stosowania mączki mięsno-kostnej jako dodatku do paszy dla zwierząt. W latach 2007–2010 nie stwierdzono BSE, natomiast w 2011 r. wykryto dwa przypadki (Górski i Lis 2013).

4. Podsumowanie

Choroby prionowe zwierząt mają tło zakaźne, w odróżnieniu od chorób występujących u ludzi, które są warunkowane także genetyczne. Choroby te charakteryzują się występowaniem złogów amyloidu, a czynnik wywołujący może być przeniesiony na różne zwierzęta. Ponadto ostatnie lata dowiodły dużego postępu w zakresie chorób prionowych, choć nadal wiele zagadnień do końca nie zamknięto, choćby sprawy samego prionu. Wierzyć należy jedynie, że praca naukowców stwarza nadzieję na poznanie mechanizmu działania prionów, oraz tego w jaki sposób dochodzi do molekularnych przekształceń białka fizjologicznego w białko patologiczne prionowe. To pozwoli na opracowanie diagnostyki i skutecznego leczenia chorób prionowych. Niepokój związany z rozprzestrzenianiem się chorób prionowych jest w pełni uzasadniony. Sam człowiek stał się ogniwem łańcucha infekcji, przyczyniając się do zwiększenia dynamiki szerzenia się BSE. Ze względu na to, że nigdy nie ma jednej przyczyny występowania określonego zjawiska konieczne jest wielokierunkowe działanie zmierzające do zmniejszenia skali i skutków choroby. Ważne by objęło ono zarówno diagnostykę jak i szeroko pojętą profilaktykę, szczególnie zaś monitorowanie zwierząt i kontrolę pasz.

5. Literatura

- Polak PM, Samorek – Salamonowicz E, Truszczyński M (2007) Znaczenie ptasiej grypy i gąbczastej encefalopatii bydła w występowaniu zachorowań u ludzi. *Medycyna Wet.* 63(3).
- Aguzzi A, Heppner FL (2000) Pathogenesis of prion diseases: a progress report. *Cell Death Differ.* Nature, 7, 889-902
- Braun U, Hornlimann B, Schicker E, Hornlimann B (1998) Diagnostic reliability of clinical signs in cows with suspected bovine spongiform encephalopathy. *Vet. Rec.* 143, 101-105
- Gogiel T (1998) Priony — nowy czynnik zakaźny. *Biotechnologia* 3(42)
- Prusiner SB (1982) Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie. *Science.* 216, 136-144.
- Aguzzi A, Weissmann C (1997) Prion research: the next frontiers. *Nature*, 389, 795-798.
- Deptuła W, Pawlikowska M (1999) Priony i ich znaczenie u zwierząt i ludzi. *Medycyna Wet.* 55(11)
- Polak M, Rola J (2005) Zakażenia subkliniczne w chorobach prionowych. *Medycyna Wet.* 61(5)
- Collinge J, Hill AF (2003) Subclinical prion infection. *Trends in Microbiology*, 11, 578-584.
- Larska M, Polak PM, Rożek W, Rola J, Żmudziński JF (2002) Szybkie testy diagnostyczne stosowane w Polsce w monitoringu BSE. *Medycyna Wet.* 58(10)
- Wisniewski D (1998) *Annual Abstracts of Statistics* Edn No. 134
- Górski K, Lis H (2013) Gąbczasta encefalopatia bydła – historia i stan obecny. *Życie Weterynaryjne*, 88(2)

8. FIP - zapalenie otrzewnej u kotów – praca przeglądowa

FIP - feline infectious peritonitis among cats – a review

Maja Hartung

Katedra Fizjologii Klinicznej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Koło Naukowe Fizjologów Klinicznych

Maja Hartung: mhartung866@gmail.com

Opiekun naukowy: dr hab. Katarzyna Palus , prof. UWM

Słowa kluczowe: FECV, FIPV, postać wysiękowa, postać sucha

Streszczenie

FIP to zakaźna choroba wywołwana przez zmutowanego koronawirusa jelitowego. Wirus FeCV występuje powszechnie w kale kotów. Zazwyczaj namnażaniu nie towarzyszą żadne objawy, ewentualnie występuje krótkotrwała biegunka i inne zaburzenia ze strony układu pokarmowego. Zakażenie, w zależności od sprawności mechanizmów odporności komórkowej kota, może przyjąć postać wysiękową lub formę zakażenia bezwysiękowego. Objawy zależą od postaci, z którą mamy do czynienia. Koronawirusy kotów i psów są powszechne w populacjach tych zwierząt i czasami prowadzą do poważnych, najczęściej śmiertelnych zakażeń, jak opisywane w tym przeglądzie zakaźne zapalenie otrzewnej kotów, czy pantropowe zakażenie koronawirusem psów u kotów i psów . Zakaźne zapalenie otrzewnej jest częstą przyczyną śmiertelności wśród młodych kotów domowych, ale również wśród występującą również u dzikich gatunków kotowatych, m.in. u lwów, pum, lampartów, gepardów oraz serwali choroba występuje na całym świecie i jest wywołwana przez wirulentny biotyp koronawirusa jelitowego . Objawy kliniczne często są niespecyficzne, tak więc rozpoznanie przedśmiertne FIP jest szczególnie trudne. Koty będące nosicielami FCoV można wykryć wykonując badania kału metodą RTPCR, konieczne jest wykonanie jednak wielokrotnych badań . Istnieje szczepionka, jednak jest nieskuteczna u kotów już wcześniej zakażonych FCoV. FIP wciąż pozostaje nie do końca poznana chorobą, której skutki odczuwa wiele kotów.

1. Wstęp

FIP to zakaźna choroba wywołwana przez zmutowanego koronawirusa jelitowego (Feline Enteric Coronavirus – FeCV). Wirus ten występuje powszechnie w kale kotów. Transmisja wirusa może odbyć się także ze śliną, rzadziej – śródmacicznie. Podczas zakażenia wirusem FeCV dochodzi do wnikięcia koronawirusa do komórek jelit. Zazwyczaj namnażaniu wirusa nie towarzyszą żadne objawy, ewentualnie występuje krótkotrwała biegunka. U niektórych nosicieli dochodzi do mutacji wirusa, przenika on do węzłów chłonnych, śledziony, wątroby, jelita ślepego, okrężnicy i ośrodkowego układu nerwowego, wywołując ich stany zapalne, co prowadzi do rozwinięcia się zakaźnego zapalenia otrzewnej. Rozróżnia się postać „mokrą” i „suchą”. W zależności, z którą postacią mamy do czynienia, występują różne objawy. W postaci wysiękowej najczęściej zaobserwować możemy wodobrzusze oraz wysięk w klatce piersiowej, a także zapalenie naczyń. Postać sucha charakteryzuje się ziarniakowymi zmianami w różnych narządach, a także powiększeniem węzłów chłonnych oraz biegunką.

2. Opis zagadnienia

Zakaźne zapalenie otrzewnej (FIP) jest śmiertelną chorobą, która stawia przed lekarzami weterynarii kilka wyzwań: objawy kliniczne i zmiany laboratoryjne są niespecyficzne. Czasami dwa występujące serotypy określane są jako koronawirus jelitowy kotów (FECV) i wirus zakaźnego zapalenia otrzewnej kotów (FIPV), które różnią się zasadniczo pod względem zjadliwości, ale są nie do odróżnienia za pomocą wielu metod diagnostycznych. Moja monografia koncentruje się na wszystkich ważnych krokach, z którymi musi się zmierzyć każdy lekarz weterynarii, oraz na nowych testach diagnostycznych, które można rozważyć w przypadku napotkania kota z podejrzeniem FIP

w celu ustalenia ostatecznej diagnozy. Koronawirus jelitowy kotów (FECV) jest bardzo rozpowszechniony w środowiskach z wieloma kotami i wysoce zaraźliwy — prawie 100% kotów, które mają kontakt z FECV z kału wydalających kotów, zostaje zarażonych. Natomiast wirus zakaźnego zapalenia otrzewnej kotów (FIPV), nie jest zakaźny drogą fekalno-oralną, ale powstaje w wyniku mutacji z niejadliwego FECV u niewielkiego odsetka zakażonych kotów, a następnie powoduje śmiertelną chorobę zakaźnego zapalenia otrzewnej kotów (FIP). Nadal nie wiadomo, które dokładnie geny zawierają mutacje prowadzące do rozwoju FIPV. Ponieważ niedawno opublikowano obiecujące wyniki stosowania nowych leków do leczenia kotów z FIP, ostateczna diagnostyka ante mortem jest kluczowa w celu prawidłowego zidentyfikowania populacji kotów, które mogłyby odnieść korzyści z takiego leczenia przeciwwirusowego. . Predysponowanymi rasami są koty bengalskie, birmańskie, ragdoll, abisyńskie i rex. Obserwuje się sezonowość zachorowań z intensyfikacją w okresie jesieni i zimy.

3. Przegląd literatury

3.1 Wiadomości ogólne

Koronawirusy kotów i psów (FCoV i CCoV) są powszechne w populacjach tych zwierząt i czasami prowadzą do poważnych, najczęściej śmiertelnych zakażeń, jak zakaźne zapalenie otrzewnej kotów (FIP) i pantropowe zakażenie koronawirusem psów u kotów i psów (Pomorska-Mól i in. 2020). Zakaźne zapalenie otrzewnej (feline infectious peritonitis – FIP) jest częstą przyczyną śmiertelności wśród młodych kotów domowych, ale również wśród występującą również u dzikich gatunków kotowatych, m.in. u lwów, pum, lampartów, gepardów oraz serwali (choroba występuje na całym świecie i jest wywoływana przez wirulentny biotyp koronawirusa jelitowego (FECV) (Moeller in. 2013 et al.). U kotów występują dwa specyficzne gatunkowo koronawirusy (FCoV): feline enteric coronavirus (FECV) wywołujący objawy za strony układu pokarmowego oraz wirus zakaźnego zapalenia otrzewnej – feline infectious peritonitis virus (FIPV). Są to dwa biotypy tego samego wirusa, które jednak znacznie się od siebie różnią, głównie właściwościami patogennymi (Pedersen i in. 2004 et al.). Zakażenia FECV, występujące powszechnie u kotów, mogą być bezobjawowe lub powodować przejściową biegunkę i nie niosą ze sobą poważniejszych konsekwencji zdrowotnych (Moeller i in. 2013 et al.). Zakażenia FECV/FIPV najczęściej są wywoływane przez serotyp I, który ma charakterystyczną budowę białka otoczkowego S, z kolei serotyp II jest przyczyną 2–30% zakażeń koronawirusowych, częściej jest opisywany na kontynencie azjatyckim i jego białko S wykazuje budowę rekombinowaną między serotypem I a koronawirusem psów (Foley i in. 1998 et al.).

3.2 Patogeneza

Około 20–60% kotów domowych jest seropozytywnych, a wskaźniki seropozytywności zbliżają się do 90% w schroniskach dla zwierząt lub gospodarstwach domowych z wieloma kotami (Hohdatsu 1991 et al.). Jak wskazano wcześniej, większość naturalnych infekcji jest spowodowana przez FCoV serotypu I (Addie i Jarrett 1992 et al.). U niektórych zwierząt, w wyniku intensywnej replikacji, dochodzi do mutacji genomu wirusowego oraz powstania nowego, wirulentnego biotypu koronawirusa (FIPV), który ma możliwość wnikania do makrofagów i dalszego namnażania się. Jeżeli na tym etapie zakażenia nie dojdzie do szybkiej eliminacji zakażonych makrofagów, wirus rozprzestrzeni się po organizmie, inicjując reakcję nadwrażliwości typu III z odkładaniem się kompleksów immunologicznych w tkankach i rozwój FIP (Scott i Stoddart 1989 et al.).

3.3 Postaci i objawy

Zakażenie FIPV, w zależności od sprawności mechanizmów odporności komórkowej kota, może przyjąć postać wysiękową, która jest efektem tworzenia się kompleksów immunologicznych antygen – przeciwciała. Są one fagocytowane przez makrofagi, w których dochodzi do namnażania się wirusa i niszczenia makrofagów (Hohdatsu 1991 et al.). Kompleksy immunologiczne osadzają się w ścianach naczyń krwionośnych, powodując stan zapalny, uszkodzenie narządów wewnętrznych i gromadzenie wysięków w jamach ciała. Do najczęściej występujących objawów klinicznych tej formy FIP, kończącej się zwykle śmiercią kota, należą: gorączka, apatia, wychudzenie, odwodnienie, niedokrwistość, powiększenie powłok brzusznych i żółtaczka (Bartges i Legendre 2009 et al.).

U niektórych zwierząt obserwuje się duszność na skutek obecności wysięku w jamie opłucnej, rzadziej dochodzi do manifestacji objawów niewydolności mięśnia sercowego związanych z nagromadzeniem płynu w worku osierdziowym. Zmiany w obrębie gałek ocznych występują sporadycznie. Do mniej typowych objawów można zaliczyć powiększenie moszny u niekastrowanych samców; w jednym przypadku obserwowano stłuszczenie wątroby i kruchość skóry. Forma wysiękowa jest najczęściej spotykana i z reguły dotyczy zwierząt młodych, poniżej 2 roku życia (Nieśpielak i in. 2016). Drugą formą zakażenia wirusem FIPV jest postać bezwysiękowa, w której powstają ziarniniaki w wątrobie, nerkach, centralnym układzie nerwowym lub gałkach ocznych. W wyniku infekcji u kotów są wytwarzane przeciwciała, jednak kluczową rolę w zwalczaniu zakażeń wywołanych przez FCoV pełni odporność komórkowa, która może zahamować rozwój FIP (Addie i Jarrett 1992 et al.). Często procesem chorobowym objęta jest ściana jelita ślepego i okrężnicy, prowadząc do biegunki, wymiotów lub zaparcia. W niektórych przypadkach obserwuje się rozsiane, ropno-ziarniniakowe zapalenie płuc, które daje objawy duszności (Pomorska-Mól i in. 2020). Żółtaczką, hiperbilirubinemią, obecność mas w obrębie nerek i/lub węzłach chłonnych kręzkowych oraz objawy ze strony ośrodkowego układu nerwowego mogą występować zarówno w przypadku formy wysiękowej, jak i bezwysiękowej. Objawy nerwowe występują w min. 10% przypadków FIP i są wynikiem ogniskowych lub rozsianych zmian w obrębie mózgu i rdzenia kręgowego. Wśród zaburzeń neurologicznych wyróżnia się ataksję, oczopląs, przeczulicę, drgawki, dysfunkcję nerwów czaszkowych, niedowład czterokończynowy i zmiany zachowania (Nieśpielak i in. 2016). W niektórych przypadkach koty z FIP wykazują objawy towarzyszące zarówno formie wysiękowej, jak i bezwysiękowej (forma przejściowa). Przypuszcza się, że jest to spowodowane zmianą kompetencji układu immunologicznego, co prowadzi do przejścia jednej formy choroby w drugą. W warunkach eksperymentalnych koty z bezwysiękową postacią FIP początkowo miały niewielkie ilości wysięku w jamach ciała, podczas gdy u innych wysięk pojawiał się w stadium terminalnym choroby (Addie i Jarrett 1992 et al.).

3.4 Rozprzestrzenianie się

Okres inkubacji jest zróżnicowany i zależy od statusu immunologicznego organizmu. W warunkach eksperymentalnych wynosi 2–14 dni, jednak w większości przypadków objawy pojawiają się od 3 tygodni do 18 miesięcy po zaistnieniu mutacji w obrębie genomu koronawirusa, rzadziej po kilku latach. Zarówno koty chore na FIP, jak i te, które są nosicielami FECV, wydalają z kałem jedynie koronawirusa jelitowego, choć na wczesnym etapie zakażenia może on znajdować się w ślinie, wydzielinach dróg oddechowych czy w moczu. Zakażenie następuje drogą pokarmową, rzadziej inhalacyjną, a istotnym czynnikiem predysponującym jest korzystanie przez wiele zwierząt z tych samych kuwet (Pedersen 2009 et al.). Siewstwo koronawirusa może być przejściowe, nawracające lub przewlekłe, jednak z czasem w większości wypadków zanika. Koty chorujące na zakaźne zapalenie otrzewnej sięgają niezmutowanego koronawirusa jelitowego – FECV z kałem, przy czym ilość wydalanego wirusa spada po rozwinięciu procesu chorobowego. Jest to związane z faktem, że FIPV występuje w makrofagach obecnych w tkankach i płynie wysiękowym, natomiast nie stwierdza się go w enterocytach. W związku z tym transmisja wirusa FIPV z kota na kota jest praktycznie niespotykana (Pedersen i in. 2004 et al.).

3.5 Rozpoznanie

Nie ma nieinwazyjnego badania potwierdzającego postać bezwysiękową. Wyniki laboratoryjne sugerujące FIP to limfopenia, nieregeneracyjna niedokrwistość, wzrost stężenia białka całkowitego w surowicy, hiperglobulinemia, niski stosunek albumin do globulin, wysoki poziom α -1 kwaśnej glikoproteiny i wysokie miano przeciwciał przeciw FCoV. Samo wysokie miano przeciwciał przeciwko FCoV nie ma wartości diagnostycznej. Wysięk w otrzewnej przy FIP reaguje dodatnio w teście Rivalty - w teście tym wykorzystujemy właściwości ścinania się białka w środowisku kwaśnym. Pozwala nam na różnicowanie płynu przesiękowego (o niskiej zawartości białka) od płynu wysiękowego (zawierającego >3,5g/l białka) - ma wysoki poziom białka, niski stosunek albumin do globulin i zawiera neutrofile i makrofagi (Addie i Jarrett 1992 et al.). Obecność antygeny FCoV (immunofluorescencja, immunohistochemia z biopłatem z ziarniniaków lub osadu komórkowego z płynu z otrzewnej) potwierdzona przez specjalistyczne laboratoria potwierdza FIP.

Badanie próbek krwi metodą RT-PCR na obecność FCoV nie ma wartości diagnostycznej, gdyż nie można odróżnić mutantów wywołujących FIP od "normalnego" FCoV (Nieśpielak i in. 2016). Objawy kliniczne, takie jak jadłowstręt, letarg, utrata masy ciała, gorączka, objawy oczne i neurologiczne, takie jak zaburzenia chodu czy zaburzenia myślenia, są niespecyficzne. To samo dotyczy nieprawidłowości kliniczno-patologicznych. Na ogół testy z wysiękiem mają znacznie lepsze wartości predykcyjne niż testy z krwią (Nieśpielak i in. 2016). Tak więc rozpoznanie przedśmiertne FIP jest szczególnie trudne u kotów bez znacznego wysięku. Ponieważ nie można postawić ostatecznego rozpoznania wyłącznie na podstawie sygnału, wywiadu oraz objawów klinicznych i laboratoryjnych, parametry te należy zawsze oceniać łącznie i potencjalnie w połączeniu z innymi parametrami, takimi jak wyniki badań molekularnych lub nawet bardziej inwazyjnych testów diagnostycznych. Aby uniknąć błędnego rozpoznania FIP u zdrowych kotów, specyficzność jest zawsze najważniejszą wartością diagnostyczną, którą należy wziąć pod uwagę (Foley i in. 1998 et al.). Podstawowym kryterium klinicznym sugerującym FIP jest wiek kota (poniżej 2 lat) i gorączka nieustępująca pomimo antybiotykoterapii (Moeller in. 2013 et al.).

3.6 Obraz sekcyjny

W obrazie sekcyjnym łatwo rozróżnić postać wysiękową od suchej. Przy wysiękowej u kotów może dojść do zajęcia opłucnej. W otrzewnej rozwija się zapalenie surowiczo – włóknikowe, a ilość wysięku jest duża. Zdarza się, że na otrzewnej pojawiają się ziarniniaki zapalne, szczególnie przy długo występującej chorobie. W postaci suchej dominują ziarniniaki, a wysięku w jamie brzusznej jest bardzo mało. Ziarniniaki stwierdza się na powierzchni wielu narządów jamy brzusznej, są one różnej wielkości, zbudowane z komórek histiocytarnych i limfocytarnych. W większych gruzłkach pojawia się martwica skrzepowa. W naczyniach krwionośnych zauważa się zakrzepicę. Dodatkowo odnotowuje się zapalenie spojówek i zapalenie błony śluzowej przewodu pokarmowego oraz zapalenie limfocytarne centralnego układu nerwowego (Deitz i in. 2012 et al.).

3.7 Leczenie i profilaktyka

Rokowanie w przypadku FIP jest złe. Mediana okresu przeżycia po zdiagnozowaniu wynosi 9 dni. Decyzje o eutanazji należy jednak rozważyć wyłącznie w przypadku jednoznacznej diagnozy. Celem leczenia podtrzymującego przy FIP jest ograniczanie zapalenia i szkodliwej odpowiedzi immunologicznej, zazwyczaj za pomocą kortykosteroidów, jednakże efekty tego nie zostały potwierdzone (Moeller in. 2013 et al.). Steroidowe leki przeciwzapalne, jak prednizolon i deksametazon, są stosowane w terapii FIP celem zniesienia negatywnych skutków związanych ze stanem zapalnym. Dostępny jest również koci interferon ω (IFN- ω) w sprzedaży na rynku polskim (Virbagen Omega, Virbac S.A.). Jego działanie polega na hamowaniu replikacji genomu wirusowego oraz stymulowaniu układu odpornościowego do zwalczania zakażenia wirusowego (Deitz i in. 2012 et al.). Cyklosporyna A ma silne właściwości hamujące replikację koronawirusów *in vitro*, nie przeprowadzono jednak badań *in vivo* nad przydatnością jej zastosowania w terapii FIP. Kolejnym lekiem o podobnych właściwościach jest chlorochina (lek przeciwmalaryczny) o działaniu przeciwwirusowym i przeciwzapalnym. W ramach profilaktyki w mieszkaniach, gdzie wystąpił FIP, zalecane jest odczekanie 2 miesięcy przez nabyciem nowego kota. Inne koty w tym samym gospodarstwie domowym będą prawdopodobnie nosicielami FCoV. Ryzyko zakażenia FCoV można ograniczyć przez ścisłą higienę i utrzymywanie kotów w małych, dobrze zaadaptowanych grupach, zapewnienie dużej liczby kuwet oraz częste ich czyszczenie lub umożliwienie kotom wychodzenia na zewnątrz. Koty będące nosicielami FCoV można wykryć wykonując badania kału metodą RTPCR, konieczne jest jednak wykonanie wielokrotnych badań (4 x w ciągu 3 tygodni) (Moeller in. 2013 et al.). Szczepienie przeciw FIP jest opcjonalne. Obecnie istnieje tylko jedna (donosowa) szczepionka przeciwko FIP dostępna w USA i niektórych krajach europejskich. Szczepionka jest nieskuteczna u kotów już wcześniej zakażonych FCoV, lecz może być pomocna u seronegatywnych kociąt przed wprowadzeniem ich do skażonego otoczenia. Jeżeli szczepienie jest brane pod uwagę, pierwszej dawki nie należy podawać przed ukończeniem 16 tygodnia życia (Deitz i in. 2012 et al.). Diagnostyka różnicowa FIP powinna obejmować chłoniaka, toksoplazmozę, zapalenie opon mózgowych, kryptokokozę, zapalenie wątroby, niewydolność serca, bakteryjne zapalenie otrzewnej i opłucnej oraz zakażenia FeLV i FIV (Nieśpielak i in. 2016).

4. Podsumowanie

Objawy kliniczne FIP bywają niespecyficzne, a do postawienia wiarygodnego rozpoznania konieczne jest wykonanie szeregu testów pośrednich lub przynajmniej jednego z testów bezpośrednich. Jednak wspomniane badania są kosztowne, czasochłonne i nie zawsze możliwe do przeprowadzenia. W wielu przypadkach diagnozowanie FIP polega na wykluczeniu innych chorób mogących dawać podobne objawy, jednak postępowanie to może prowadzić do błędnego rozpoznania. Oprócz wspomnianych wcześniej dzikich kotowatych, zakażenia koronawirusowe występują również u bydła, świń, psów, ptaków i fretek, co wskazuje że koronawirusy są szeroko rozpowszechnione w środowisku. Wykazują one zdolność do zmiany tropizmu tkankowego i patogenności. Te unikatowe cechy wpływają na pojawianie się nieznanych dotąd chorób, często charakteryzujących się ostrym przebiegiem. Wiedza na temat patogenyzy i rozprzestrzeniania infekcji jest kluczowa w zapobieganiu chorobom i może w przyszłości przyczynić się do efektywniejszego zwalczania zakażeń koronawirusowych, do jakich zaliczamy również FIP.

5. Literatura

- Pomorska-Mól M, Turlewicz-Podbielska H, Włodarek J i in. (2020) SARS-CoV-2 u zwierząt towarzyszących w świetle danych Światowej Organizacji Zdrowia Zwierząt (OIE) oraz innych informacji naukowych. *Życie Weterynaryjne*, 95(7).
- Nieśpielak P, Otrocka-Domagala I, Paździor-Czapula K i in. (2016) Obecny stan wiedzy na temat zakaźnego zapalenia otrzewnej kotów. Część II. Diagnostyka, prewencja, leczenie, opis przypadku. *Życie Weterynaryjne*, 91 (8).
- Moeller RB, Stephenson N, Swift P i in. (2013) Feline infectious peritonitis in a mountain lion (*Puma concolor*), California, USA. *J. Wildl. Dis.* 49, 408–412.
- Pedersen NC (2009) A review of feline infectious peritonitis virus infection: 1963–2008. *J. Feline Med. Surg.* 11, 225–258.
- Foley J, Poland A, Vennema H i in. (1998) Feline infectious peritonitis viruses arise by mutation from endemic feline enteric coronaviruses. *Virology* 243, 150–157.
- Scott FW, Stoddart CA (1989) Intrinsic resistance of feline peritoneal macrophages to coronavirus infection correlates with in vivo virulence. *J. Virol.* 63, 436–440.
- Hohdatsu T (1991) A study on the mechanism of antibody-dependent enhancement of feline infectious peritonitis virus infection in feline macrophages by monoclonal antibodies. *Arch. Virol.* 120, 207–217
- Addie DD, Jarrett O (1992) A study of naturally occurring feline coronavirus infections in kittens. *Vet. Rec.* 130, 133–137
- Deitz K, Hostetter S, Jeffery U (2012) Positive predictive value of albumin:globulin ratio for feline infectious peritonitis in a mid-western referral hospital population. *J. Feline Med. Surg.* 14, 903–905.
- Foley JE, Pedersen NC, Sato R (2004) Poland A.M.: Common virus infections in cats, before and after being placed in shelters, with emphasis on feline enteric coronavirus. *J. Feline Med. Surg.* 6, 83–88.
- Bartges JW, Legendre AM (2009) Effect of Polyprenyl Immunostimulant on the survival times of three cats with the dry form of feline infectious peritonitis. *J. Feline Med. Surg.* 11, 624–626.

9. Strach jako czynnik determinujący wyniki badań behawioralnych owiec

Anxiety as a factor determining the results of sheep behavioral research

Kamila Janicka, Aleksandra Miareczka, Jacek Sokołowski

Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Kamila Janicka: kamila.janicka@up.lublin.pl

Słowa kluczowe: owca domowa, stres, behavior

Streszczenie

Strach można zdefiniować, jako każde zakłócenie równowagi zwierzęcia, wymagające od niego pewnych reakcji w celu zachowania równowagi psychofizjologicznej. Stanowi on jeden z najważniejszych czynników wpływających na zachowanie owiec. Życie w stadzie oraz czujność to adaptacja do stałej obrony przed drapieżnikami, która rozwinęła się w toku ewolucji. Umiejętność radzenia sobie z presją środowiska jest indywidualną zdolnością zwierząt, która to ulega zmianom w trakcie całego życia osobnika. Prowadząc badania z udziałem zwierząt należy wziąć pod uwagę istotny wpływ strachu na wskaźniki behawioralne i fizjologiczne. Specyficzne środowisko testowe, konieczność izolacji od stada, czy obecność człowieka mogą być stresujące i potencjalnie powodować różnice w uzyskiwanych wynikach. Jednak dzięki odpowiedniej habituacji, można przyzwyczaić badane osobniki do nietypowych sytuacji, które przestaną wywoływać strach. Rola strachu w codziennym życiu, ale także w warunkach testowych, jest bez wątpienia znacząca, ale nie można pominąć negatywnego wpływu na podejmowane decyzje oraz prezentowane zdolności przez zwierzęta. Dlatego też, obniżenie poziomu strachu, może umożliwić poznanie rzeczywistych zdolności owiec

1. Wstęp

Proces domestykacji zwierząt gospodarskich rozpoczął się kilkanaście tysięcy lat temu, a gatunkiem, który został udomowiony jako jeden z pierwszych była owca domowa (*Ovis aries*). Praca hodowlana miała ogromny wpływ na wzorce behawioralne małych przeżuwaczy, które musiały przystosować się do życia w warunkach stworzonych przez człowieka. Zwierzęta te potrafią funkcjonować w bardzo zróżnicowanych warunkach środowiskowych, co potwierdza ich duże zdolności adaptacyjne (Gruszecki i Junkuszew 2019), ale także umiejętność skutecznego rozwiązywania problemów (Rowell i in. 2021). Rozwiązywanie problemów to zdolność do uczenia się związków między bodźcami, działaniami i osiąganymi rezultatami, a następnie wykorzystanie zdobytych informacji i dostosowanie zachowania do zmian w środowisku. Jest to prawdopodobnie jeden z podstawowych wyznaczników przetrwania (Morton i Avanzo 2011; Rowell i in. 2021). Powszechnie uważa się, że owce są płochliwe, uległe i pasywne, co czyni je zwierzętami nieinteligentnymi (Marino i Merskin 2019). Prawdą jest, że w momencie pojawienia się potencjalnego zagrożenia, obserwuje się wzmożoną czujność stada i zbijanie się w grupę (Gruszecki i Junkuszew 2019). Marino i Merskin (2019) podkreślają, że najnowsze badania dowodzą, że owce są niezwykle społeczne, jednakże odpowiedź behawioralna każdego osobnika stanowi indywidualną cechę. W rzeczywistości liczba zachowań, które można u nich zaobserwować, zależy w dużej mierze od sposobu utrzymania (Rosenberger i in. 2021). Pobieranie pokarmu jest jedną z najważniejszych czynności owiec w ciągu dnia. Monitorowanie szeroko pojętego behawioru pokarmowego, może pozwolić na lepsze zrozumienie tych zwierząt (Gruszecki i Junkuszew 2019; Sokołowski i in. 2022). Owce, niezależnie od wielkości stada, unikają podziałów na podgrupy, dążąc do wspólnego przemieszczania się w obrębie wydzielonego terenu. Podczas wypasu wolnego i niekontrolowanego, ze względów bezpieczeństwa, przebywanie w zwartej grupie jest zrozumiałe. Warto jednak zauważyć, że w przypadku badań behawioralnych, instynkt stadny stanowi kluczową przeszkodę w sytuacji, gdy oceniamy indywidualne cechy poszczególnych osobników. Posługując się

właściwymi metodami, można pracować nad obniżeniem poziomu strachu odczuwanego przez zwierzęta. Przyzwyczajenie do środowiska testowego, procedur i obecności człowieka wydaje się zatem najlepszym rozwiązaniem (Rosenberger i in. 2021).

2. Opis zagadnienia

Celem niniejszego opracowania, jest zwrócenie uwagi na rolę jaką odgrywa strach na zachowanie owcy, a tym samym na wyniki uzyskiwane w badaniach behawioralnych. Jednocześnie praca ma na celu wskazanie możliwych narzędzi, których zastosowanie może obniżyć poziom strachu.

Podczas codziennej praktyki hodowlanej zwierzęta gospodarskie poddawane są ekspozycji na wiele czynników stresogennych mogących negatywnie wpływać na poziom ich dobrostanu. Niekorzystne warunki środowiskowe powodują wzrost poziomu strachu, co może zaburzać prawidłowe funkcjonowanie jednostki. Pojawienie się stresu może być związane z poczuciem zagrożenia ze strony drapieżników (Gruszecki i Junkuszew 2019). Badania dotyczące związku stresu i uczenia się w ostatnich latach cieszą się rosnącą popularnością (Valenchon et al. 2013; Doyle 2017). Warto podkreślić, że strach odgrywa ważną rolę w przetrwaniu zwierząt, a jego optymalny poziom jest wręcz wymagany do efektywnego uczenia się (Meekan i Mench 2007). Co ciekawe, dla wielu zwierząt gospodarskich kontakt z człowiekiem, w dalszym ciągu jest stresującym zdarzeniem, porównywalnym ze spotkaniem z drapieżnikiem. Prowadząc badania ze zwierzętami trzeba mieć na uwadze, że specyficzne środowisko testowe może zwiększać poziom stresu, co będzie utrudniało prawidłową i rzetelną ocenę badanych zwierząt (Dodd i in. 2012; Rosenberger i in. 2021). W zależności od rodzaju doświadczenia zwierzęta mogą być poddawane ocenie pojedynczo lub grupowo. W przypadku gatunków społecznych, do których zaliczają się owce, izolacja socjalna stanowi niezwykle stresujące wyzwanie. Oddzielenie od stada powoduje wzrost niepokoju, wokalizacji, częstości akcji serca, liczby oddechów, ciepłoty ciała oraz poziomu kortyzolu zarówno u badanego zwierzęcia, jak i u pozostałych osobników (Boissy i Erhard 2014). W większości prowadzonych badań behawioralnych, bezpośredni kontakt człowieka ze zwierzęciem jest nieunikniony. Taka interakcja może być stresująca dla zwierząt, zwłaszcza jeśli w przeszłości miały negatywne doświadczenia z ludźmi. Co więcej, jeżeli zwierzę nie zostało przyzwyczajone do obecności człowieka, pojawieniu się eksperymentatora będzie towarzyszył strach, który może zmniejszać motywację zwierzęcia do wykonywania zadania, tj. podejście i otwarcie pojemnika, w którym znajduje się nagroda (Rosenberger i in. 2021).

3. Przegląd literatury

Owce należą do zwierząt wysoce socjalnych, o złożonych relacjach międzyosobniczych. Zachowania pomiędzy osobnikami w stadzie mogą przybierać pozytywny lub negatywny charakter. Poza więzią międzyosobniczą, owce ustalają strukturę grupy, co pomaga im zachować harmonię w codziennych czynnościach. Ich behavior to nie tylko zachowania instynktowne, ale także wyuczone. Część z nich jest niezmienna, ale wyróżnia się także takie, które mogą ulegać modyfikacji poprzez czynniki środowiskowe. Istotną rolę w kształtowaniu odpowiedzi behawioralnej na pojawiające się trudności odgrywają doświadczenia poszczególnych osobników. Wiele przejawianych zachowań, które zostały wyuczone różni się między osobnikami, np. stosunek do ludzi (Gruszecki i Junkuszew 2019). Zmienność w podejmowanych strategiach obserwuje się w obrębie gatunku, w tym między populacjami i jednostkami, a prawdopodobną przyczyną są warunki w trakcie rozwoju osobnika (Krzymowski 2005). W dostępnej literaturze owce często postrzegane są jako nieinteligentne, a wiele informacji dotyczących tych zwierząt, niejednokrotnie opiera się na utrwalonych stereotypach (Doyle 2017; Marino i Merskin 2019). Prawdopodobnie taki odbiór wynika z charakterystycznej cechy owiec, jaką jest silny instynkt stadny, który istotnie wpływa na prezentowanie wielu form behavioru. Zachowanie owiec jest ściśle związane z funkcjonowaniem ich zmysłów. Zwierzęta te komunikują się za pomocą zmysłu wzroku, węchu, dotyku, a także wykorzystując komunikację chemiczną. Owce stanowią potencjalną ofiarę w łańcuchu troficznym, w związku musiały rozwinąć pewne strategie zwiększające ich szanse na przetrwanie. Zmysł wzroku

owiec pozwala na jednoczesne monitorowanie terenu oraz pobieranie pokarmu. Niezależnie od systemu utrzymania owce zawsze kontrolują położenie członków grupy i pozostają w stałym kontakcie wzrokowym, a w sytuacji odłączenia się nawet jednego osobnika dążą do jak najszybszego połączenia stada. Wysoce rozwinięty zmysł zapachu pomaga identyfikować członków stada, co przyczynia się do zachowania integralności (Bernacka i in. 2013). Jak wspomniano wcześniej, oddzielenie od grupy znacząco wpływa na wzrost poziomu stresu u owiec negatywnie oddziałując na ich stan psychiczny i fizyczny (Boissy i Erhard 2014). Bernacka i in. (2013) wskazują, iż barwa i ton głosu owiec zmienia się w zależności od sytuacji. Beczenie jest zdecydowanie głośniejsze w takich sytuacjach jak transport zwierząt, wprowadzenie na nowy teren, odłączenie owcy od grupy, a nawet podczas pogorszenia warunków pogodowych i jakości pastwiska.



Rys. 1-2. Stado owiec rasy świniarka (1. Aleksandra Miareczka, 2. Kamila Janicka).

Presja środowiska i związany z nią strach są naturalnym zjawiskiem, a zwierzęta wykształciły szereg przystosowań behawioralnych i fizjologicznych, aby sobie z nim radzić. Stres kształtuje pamięć, w zależności od czasu ekspozycji na jego działanie odnotowuje się jego pozytywny lub upośledzający wpływ na to, jak wiele owca się uczy i zapamiętuje (Schwabe i in. 2010). Mechanizmy obronne aktywowane w odpowiedzi na stres, są konieczne, aby zwierzęta mogły poradzić sobie z sytuacjami kryzysowymi. Najbardziej charakterystyczne zachowania, które można zauważyć bezpośrednio po pojawieniu się stresora to obserwacja i znieruchomienie, wycofanie się i ucieczka lub bezpośrednia konfrontacja. W przypadku owiec, ale też innych gatunków, można zauważyć, że behawior poszczególnych osobników różni się od siebie. Taka zmienność wynika z różnic w temperamencie, który jest indywidualną cechą każdego zwierzęcia. Szczególnie zauważalne jest to w czasie konfrontacji z zadaniem, obiektem lub sytuacją, z którą nie miały wcześniej styczności. Uspokojenie danego osobnika wywiera wpływ na konkretną reakcję behawioralną (Bickell i in. 2009). Zmienność behawioru jest wynikiem elastyczności behawioralnej każdej jednostki, która może ulegać zmianom rozwojowym w ciągu całego życia. Wspomniana elastyczność jest niezwykle istotną zdolnością, która zwiększa szanse na przetrwanie osobnika, ponieważ pozwala zwierzęciu na dostosowanie reakcji do nowej sytuacji (Rowell i in. 2021). W zależności od kontekstu zwierzę może zareagować na ten sam bodziec, w różny sposób. Wynika to, że zdolności owiec do uczenia się i zapamiętywania konkretnych schematów postępowania. Skupiając się na szczególnych cechach pożądanym przez hodowcę, można wpływać na usposobienie owiec, dokonując selekcji hodowlanej (Price i Thos 1980). Sokołowski i wsp. (2022) wskazują, że zasadne wydaje się przeprowadzanie oceny zachowania owiec pod kątem poziomu strachu, gdyż owce łekliwe negatywnie oddziałują na behawior całego stada. Tworząc grupę osobników wykazujących małą reaktywność na nowe bodźce i wyróżniających się dużą ciekawością względem otoczenia, można stworzyć stado, które będzie chętnie eksplorować dostępny teren, w szerszych odstępach względem siebie (Beausoleil i in. 2008; Beausoleil i in. 2012; Sokołowski i in.

2022). Większość dotychczasowych badań na owcach skupiało się na ich cechach produkcyjnych. Doniesienia koncentrujące się na behawiorze, a przede wszystkim na zdolnościach tych zwierząt są nieliczne. Prawdopodobną przyczyną takiego stanu rzeczy jest dość duża trudność opracowania metod, które pozwoliłyby na zbadanie indywidualnych zdolności owiec. Fakt, iż wiele zachowań małych przeżuwaczy jest wynikiem decyzji podejmowanych przez stado, sprawia, że owce postrzegane są jako zwierzęta nieinteligentne i podejmujące decyzje w sposób automatyczny. Zdolności poznawcze *Ovis aries* są słabo scharakteryzowane, niemniej jednak posiadają one pewne cechy (budowa zwojów podstawnych podobnych do ludzkich oraz dobrze rozwinięta kora mózgowa), które czynią je odpowiednimi modelami zwierzęcymi do badania funkcji poznawczych (Morton i Avanzo 2011). Jednak w ostatnich latach zrozumienie zdolności poznawczych owiec znacznie wzrosło. Rozwój ten jest wynikiem zmiany perspektywy oceny inteligencji zwierząt, szerokiego wykorzystania owiec na świecie i towarzyszącej temu potrzeby zrozumienia ich wymagań (Doyle 2017). Badania Sokołowskiego i wsp. (2022) wykazały, że poziom strachu, który stanowi cechę osobniczą, odgrywa kluczową rolę w regulacji behawioru owiec. Osobniki, które charakteryzowały się większą odwagą znacznie lepiej radziły sobie z presją środowiska, analizowały sytuację, w której się znalazły i podejmowały przemyślaną decyzję. Na tej podstawie można sądzić, że wyeliminowanie lub zmniejszenie poziomu strachu u owiec, może stanowić rozwiązanie ułatwiające badanie ich rzeczywistych zachowań. Planując badania koncentrujące się na ocenie zdolności poznawczych owiec obowiązkowym etapem, który należy uwzględnić jest odpowiednie przygotowanie zwierząt i dostosowanie warunków testowych do biologicznych zdolności tego gatunku. Przyzwyczajenie badanych osobników do obecności człowieka, czy wspomnianej wcześniej izolacji w środowisku testowym istotnie wpływa na wyniki. Potwierdzają to Rosenberger i wsp. (2021), którzy dowiedli, że zwierzęta poddane procesowi habituacji do warunków testowych (obecność eksperymentatora oraz izolacja socjalna) uzyskiwały znacznie lepsze wyniki testów behawioralnych, a ich motywacja była na wyższym poziomie (sprawnie wykonywały zadania), w stosunku do osobników, które nie przeszły habituacji. Jest to o tyle kluczowe, że motywacja bardzo często jest badaną cechą podczas oceny zdolności i umiejętności rozwiązywania problemów przez zwierzęta. Osobniki, których poziom strachu jest wysoki, najczęściej podejmują próby ucieczki lub unikania, dlatego nie można w rzetelny sposób ocenić ich zdolności. Strach jest nieodłącznym elementem życia zwierząt i pełni ważną adaptacyjną funkcję. Można by zatem sądzić, że obniżenie jego poziomu przyniesie dla zwierząt negatywne konsekwencje. Jednakże obserwacje własne wskazują, że sytuacja jest odmienna. Owce, którą zostały poddane procesowi socjalizacji, miały zapewniony dodatkowy, pozytywny kontakt z człowiekiem, bardzo dobrze przechodziły testy lęklivosti. Co więcej, pojawienie się psa postrzeganego jako drapieżnik, nie wywoływał u nich gwałtownej reakcji, ale stado analizowało sytuację w jakiej się znalazło i podejmowało decyzję co do dalszych działań. Natomiast osobniki o wysokim poziomie strachu, których kontakt z człowiekiem ograniczał się do rutynowego postępowania (zadawanie paszy, ścielenie), podejmowały próbę ucieczki i w sposób chaotyczny poruszały się po zagrodzie. Co ciekawe, owce, które miały stały kontakt z psem pasterskim, w momencie pojawienia się obcego osobnika, podejmowały bezpośrednią konfrontację przeganiając intruza (Janicka i Sokołowski 2022; Janicka i in. 2022). Freitas i wsp. (2018) także wskazują na fakt, iż pojawiający się stres wpływa niekorzystnie na zdolności i odbiór bodźców ze środowiska, co może zagrażać dobrostanowi, a także zwiększać ryzyko zranienia zwierząt, kiedy są one spanikowane.

4. Podsumowanie i wnioski

Strach bez wątpienia stanowi czynnik wpływający na funkcjonowanie jednostki. Warunki testowe, które w większości przypadków są dla owiec nowym środowiskiem, z dużym prawdopodobieństwem będą zwiększały poziom strachu, który będzie oddziaływał na odpowiedź behawioralną zwierząt. Jednakże psychiczne przygotowanie zwierząt na sytuacje wywołujące stres zmniejsza u nich poziom odczuwanego niepokoju pozwalając na przejawianie większej liczby swobodnych, naturalnych zachowań, oraz ujawniając rzeczywiste zachowania małych przeżuwaczy. Zapewnienie wizualnego lub dźwiękowego kontaktu podczas testów behawioralnych wydaje się być niezbędnym rozwiązaniem w celu obniżenia, a nawet eliminacji stresu u gatunków społecznych. Możliwość kontrolowania środowiska i skutecznego radzenia sobie z wyzwaniami może być źródłem

pozytywnych emocji zwiększających poziom dobrostanu zwierząt gospodarskich, będzie tak zwłaszcza wtedy, gdy zwierzę może oczekiwać satysfakcjonującego rezultatu. Wzbogacenie środowiska poprzez oferowanie trwałych wyzwań poznawczych wydaje się być praktycznym sposobem poprawy dobrostanu zwierząt gospodarskich.

5. Literatura

- Beausoleil NJ, Blache D, Stafford KJ, et al. (2008) Exploring the basis of divergent selection for 'temperament in domestic sheep. *Applied Animal Behaviour Science*, 109(2-4), 261-274.
- Beausoleil NJ, Blache D, Stafford KJ, et al. (2012) Selection for temperament in sheep: domain-general and context-specific traits. *Applied Animal Behaviour Science*, 139(1-2), 74-85.
- Bernacka H, Niedźwiecki P, Kasperska D i in. (2013) Zachowanie owiec rasy wrzosówka na murawach kserotermicznych. *Przegląd Hodowlany*, 4, 21-24.
- Bickell SL, Nowak R, Poindron P, et al. (2009) Temperament does not affect the overall establishment of mutual preference between the mother and her young in sheep measured in a choice test. *Developmental Psychobiology: The Journal of the International Society for Developmental Psychobiology*, 51(5), 429-438.
- Boissy A, Erhard HW (2014) How studying interactions between animal emotions, cognition, and personality can contribute to improve farm animal welfare. In *Genetics and the behavior of domestic animals* (pp. 81-113). Academic Press.
- Dodd CL, Pitchford WS, et al. (2012) Measures of behavioral reactivity and their relationships with production traits in sheep: A review. *Applied Animal Behaviour Science*, 140(1-2), 1-15.
- Doyle RE (2017) 4 – Sheep cognition and its implications for welfare. *Advances in Sheep Welfare*, Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition, 55-71.
- Freitas ACB, Toledo LM, Costa RLD, Parren GAE, Pereira DB, Fornazari BC, Pinatti E, Quirino CR (2018) Temperament, behavior, body temperature, heart and respiratory rate of sheep trained with tactile stimulation and halter walking. *Boletim de Indústria Animal*, 75
- Gruszecki TM, Junkuszew A (2019) Rasy rodzime w ochronie przyrody i produkcji żywności prozdrowotnej. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, 182-187.
- Janicka K, Sokołowski J (2022) The influence of interspecific socialization on sheep behaviour – a case study. 1st International PhD Student's Conference at the University of Life Sciences in Lublin, Poland: ENVIRONMENT – PLANT – ANIMAL – PRODUCT <https://conference-doctoral.up.lublin.pl/2022-volume/icdsup11-a014/> (dostęp 13.12.2022r.).
- Janicka K, Sokołowski J, Rozempolska-Rucińska I (2022) Wpływ intensywnej socjalizacji na poziom lękliwości owiec. *Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce*, Poznań, 11.
- Krzyszowski T (2005) *Fizjologia zwierząt*. PWRiL, Warszawa.
- Marino L, Merskin D (2019) Intelligence, complexity, and individuality in sheep. *Animal Sentience*, 209.
- Meehan CL, Mench JA (2007) The challenge of challenge: can problem solving opportunities enhance animal welfare? *Applied Animal Behaviour Science*, 102(3-4), 246-261.
- Morton AJ, Avanzo L (2011) Executive Decision-Making in the Domestic Sheep. *PLoS ONE*, 6 (1), e15752.
- Price EO, Thos J (1980) Behavioral responses to short-term social isolation in sheep and goats. *Applied Animal Ethology*, 6(4), 331-339.
- Rosenberger K, Simmler M, Langbein J, et al. (2021) Performance of goats in a detour and a problem-solving test following long-term cognitive exposure. *Royal Society Open Science*, 8, 210656.
- Rowell MK, Pillay N, Rymer TL (2021) Problem Solving in Animals: Proposal for an Ontogenetic Perspective. *Animals*, 11, 866.
- Sokołowski J, Janicka K, Rozempolska-Rucińska I (2022) Wpływ poziomu strachu na behavior pokarmowy owiec. *Medycyna Weterynaryjna*, 78 (11), 577-580.
- Valenchon M, Lévy F, Prunier A, Moussu C, Calandreau L, Lansade L (2013) Stress Modulates Instrumental Learning Performances in Horses (*Equus caballus*) in Interaction with Temperament. *PLoS ONE*, 8(4): e62324.

10. Aktywność fizyczna jako czynnik wzmacniający potencjał zdrowotny psów

Physical activity as a factor in improving the health potential of dogs

Kamila Janicka, Aleksandra Miareczka, Jacek Sokołowski

Instytut Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Kamila Janicka: kamila.janicka@up.lublin.pl

Słowa kluczowe: lokomocja, *Canis lupus familiaris*, dobrostan

Streszczenie

Powszechnie wiadomo, że brak ruchu i związany z nim brak mobilizacji tkanek prowadzi do namnażających się problemów zdrowotnych. Konsekwencje ograniczenia ruchomości własnego ciała prowadzą do przypadłości opisywanych jako choroby cywilizacyjne. Aktywność fizyczna zarówno w odniesieniu do ludzi, jak i zwierząt stanowi niezbędną czynność, która powinna być podejmowana przez całe życie. Kondycja fizyczna i stabilność psychiczna są w dużym stopniu zależne od stanu, w jakim znajduje się organizm. Psy będące towarzyszami osób o biernym stylu życia często są "wciągane" w wymuszony schemat życia, w związku z czym ich aktywność zostaje zredukowana do minimum. Nieprawidłowy styl życia właścicieli oraz nieświadome i błędne interpretowanie potrzeb swojego pupila, przynosi negatywne skutki zdrowotne. Warunkiem zachowania i wzmocnienia sprawności fizycznej w odniesieniu do wszystkich gatunków jest utrzymywanie zdrowego trybu życia poprzez regularną i umiarkowaną, pod względem intensywności, aktywność fizyczną oraz zdrowe odżywianie.

1. Wstęp

Ruch jest nieodzownym i niezbędnym elementem w życiu każdej żywej istoty. Pozytywny wpływ aktywności zarówno dla ludzi, jak i dla zwierząt jest sprawą oczywistą. Wpływa na organizm nie tylko w sferze fizycznej, ale także psychicznej. Nawet najmniejsza aktywność ruchowa podejmowana z własnej inicjatywy pomaga zredukować poziom stresu oraz zwiększa wydzielanie endorfin. Badania wśród ludzi potwierdzają, że aktywność fizyczna w połączeniu z odpowiednio dobraną rehabilitacją znacząco wpływają na wyniki pracy wśród osób zmagających się z depresją (Skrzyp 2020). W przypadku psich pacjentów (ortopedycznych lub neurologicznych) stopniowy powrót do funkcjonowania i czynności życia codziennego, wyrażanych poprzez zwiększającą się częstość ruchu, stanowią najbardziej widoczne wskaźniki sukcesu i wpływu jaki wywiera, dostosowana do możliwości psa, aktywność fizyczna (Millis i Ciuperca 2015). Ruch to nie tylko przemieszczanie się z punktu A do punktu B. Owszem jest to jedna z odmian, tak zwany ruch lokomocyjny, ale można podzielić go także na jeszcze inne. W zależności od rodzaju ruchu musi zostać podjęty odpowiedni wysiłek fizyczny, aby zostały spełnione jego znamiona. Aktywność fizyczną definiuje się jako podwyższenie możliwości organizmu w zakresie zróżnicowanych dyscyplin, a jej głównym celem jest wypracowanie odpowiednich, prozdrowotnych nawyków podczas wykonywania czynności ruchowych, a nie wyłącznie usprawnienie organizmu. Jest to dodatkowa korzyść, która ma możliwość zaistnieć w momencie, gdy wysiłek podejmowany jest regularnie, konsekwentnie i z rozwagą. Zarówno niedostatek, jak i nadmiar aktywności może doprowadzić do zaburzeń rozwojowych oraz zwiększonego ryzyka chorób. Odpowiednio dostosowana aktywność fizyczna stanowi warunek do zachowania mobilności i zdrowia organizmu, wspierając prawidłowy rozwój psychiczny, fizyczny oraz społeczny zarówno w świecie ludzi, jak i zwierząt. Każdy organizm wyróżnia się indywidualnym potencjałem ruchowym, który wyrażany jest jako zaradność ruchowa (Morgulec - Adamowicz i in, 2018). Praca nad rozwijaniem tej umiejętności wpływa znacząco na zdolność adaptacji organizmu względem otoczenia, w którym aktualnie się znajduje. Sprawny fizycznie organizm charakteryzuje się znaczną wydolnością układów (oddechowy, wydzielniczy, termoregulacji, krążenia) niezbędnych w codziennym funkcjonowaniu.

Kondycja jako sprawność fizyczna funkcjonuje jako zdolność organizmu, która powinna być stymulowana przez całe życie danego organizmu. Brak stymulacji ruchowej powoduje zmniejszenie mobilności ciała, ograniczenie ruchomości w stawach, znaczne zmniejszenie wydolności organizmu, zahamowanie odżywiania kości oraz prowadzi do otyłości (Millis i Ciuperca 2015). W przypadku wystąpienia urazu, na skutek którego aktywność danego osobnika zostaje lub musi zostać ograniczona do minimum, a fizjologiczny, samodzielny ruch jest niemożliwy. W zaistniałej sytuacji niezbędne jest wprowadzenie odpowiedniej formy rehabilitacji, która ma na celu zachowanie mobilności ciała i stopniowe wprowadzenie organizmu do ruchu, poprzez odpowiednie ćwiczenia (Dudek i Mituniewicz 2022).

2. Opis zagadnienia

Aktywność fizyczna jest jednym z ważniejszych elementów warunkujących prawidłowe funkcjonowanie organizmu. W przypadku człowieka wskazuje się, że aktywny styl życia jest związany z wieloma korzyściami, tj. poprawa wydolności, spowolnienie procesów starzenia, przyspieszenie przemiany materii, korzystnego oddziaływania na stan emocjonalny, czy też zmniejszenie ryzyka wystąpienia tzw. chorób cywilizacyjnych. Dziwi zatem fakt, iż pomimo wielu dowodów na pozytywny wpływ na zdrowie, ludzie często nie podejmują aktywności fizycznej lub robią to niesystematycznie i na nieodpowiednim progu intensywności. Ten określony sposób postępowania stosują także w odniesieniu do zwierząt. Nie od dziś wiadomo że ruch to zdrowie i odnosi się to do wszystkich żywych istot, a brak aktywności fizycznej zakłóca wiele funkcji organizmu ludzi i zwierząt. Liczne badania prowadzone w tym obszarze dowodzą, że wiele schorzeń zwanych cywilizacyjnymi częściej dotyka osoby prowadzące bierny tryb życia (Szumiec 2016). Niestety przez styl życia wielu właścicieli, coraz większe zabieganie i złudny brak czasu, poświęcają oni znacznie mniej czasu na dłuższy spacer, wyprowadzając swoich podopiecznych na tak zwane "wokół blokowe spacery". Westgarth i wsp. (2014) wskazują, że duża część społeczeństwa, która posiada psa, nie wyprowadza go na spacer lub to robi to sporadycznie, mimo że większość z nich uważa, że regularna aktywność jest dobra dla zdrowia pupila i wzajemnej relacji. Co więcej, szacuje się, że tylko 60% właścicieli psów spaceruje ze swoim psem. Ograniczenie w ten sposób aktywności, połączone często z dodatkowym niekontrolowanym bieganiem, na przykład po psim wybiegu, jest odpowiedzialne za wystąpienie konsekwencji, o których istnieniu większość właścicieli nawet nie zdaje sobie sprawy. Inny przykład stanowią tak zwani weekendowi sportowcy, których zwierzęta większą część tygodnia przebywają w domu, mieszkaniu lub kojcu, a w weekend są zabierane na intensywny trening, na przykład bieg przy rowerze lub spacer w terenie, który znacznie przewyższa ich możliwości związane z kondycją i wydolnością organizmu. U psów takich dochodzić może do różnego typu urazów, naderwań lub przeciążeń, na skutek nieprzystosowania i nieprzygotowania tkanek do intensywnej pracy. Jak wskazują przytoczone przykłady niezwykle istotne jest dostosowanie rodzaju aktywności do konkretnego osobnika. Częstość aktywności oraz jej rodzaj mogą wynikać z rasy i temperamentu zwierzęcia. Warto zauważyć, że inaczej będzie wyglądać aktywność psów ras brachycefalicznych lub o wydłużonym kręgosłupie. W przypadku niektórych intensywny wysiłek może być nawet szkodliwy. Dobierając rodzaj i częstotliwość aktywności dla swojego czworonoga, należy obserwować jego zachowanie. Wczesne podjęcie kroków i odpowiednia profilaktyka, pozwolą na zmniejszenie ryzyka wystąpienia problemów zdrowotnych. Kontrolowanie masy ciała oraz związana z tym odpowiednia dieta i aktywność, to kluczowe działania, które mogą podjąć właściciele. Wprowadzenie regularnych spacerów o stopniowo zwiększającym poziomie trudności przyczyniłoby się do poprawy potencjału zdrowotnego psów na skutek odpowiednio dostosowanych, konsekwentnych ćwiczeń, dopasowanych do możliwości zarówno właściciela, jak i psa. Dzięki temu pies będzie zrelaksowany, wzmocni się i poprawi swoją kondycję i stan zdrowia (Dudek i Mituniewicz 2022).

3. Przegląd literatury

Zwierzęta od zawsze były obecne w życiu człowieka, a ich rola zmieniała się na przestrzeni lat. Szczególną pozycję i znaczenie odgrywają psy (jedne z najczęściej występujących zwierząt

towarzyszących), które stworzyły z ludźmi wyjątkową więź. Psy są narażone na wiele zagrożeń typowych dla współczesnych społeczeństw, co jest wynikiem stylu życia opiekunów oraz antropomorfizacji. Symptomatyczne jest to, że różne problemy zdrowotne np. otyłość u właściciela, koreluje z tą samą chorobą u psów. Aktywność fizyczna jest jednym z ważniejszych elementów warunkujących prawidłowe funkcjonowanie organizmu (Kania i Wrońska 2015). Paradoksalnie, pomimo wiedzy o istotnym wpływie aktywności fizycznej na zdrowie, wiele osób często nie podejmuje jej regularnie. Brak ruchu zakłóca wiele funkcji organizmu ludzi i zwierząt. Badania prowadzone w tym zakresie potwierdzają, że wiele schorzeń zwanymi cywilizacyjnymi częściej dotyka osoby prowadzące bierny tryb życia (Szumiec 2016). Podobną zależność można zaobserwować również w przypadku psów. Zbyt niska aktywność fizyczna oraz nadmierna podaż energii w pokarmie prowadzą do rozwoju otyłości (Stelmach 2010), uznawanej za chorobę cywilizacyjną u psów. Szacuje się, że w Stanach Zjednoczonych problem ten dotyczy ponad 50% populacji *Canis lupus familiaris*. Zważywszy, że ponadnormatywnej masie ciała towarzyszy szereg innych chorób (choroby aparatu ruchu, układu krążeniowo – oddechowego), można stwierdzić, że skala problemu jest niezwykle niepokojąca (Kania i Wrońska 2015). Przypadek otyłości u zwierząt często koreluje, z równoczesnym występowaniem tej samej przypadłości u ich właścicieli. Badania dowodzą, że jest to zwykle problem o podłożu psychicznym (Nijland i in, 2009). Niezdrowy, osiadły tryb życia oraz nadmierna dieta zostają psu narzucone, a ponadto właściciele wymagają, aby pies dostosował się do oferowanych warunków i stylu życia opiekuna (Dudek i Mituniewicz 2022). Nadmierna, ciągła podaż pożywienia w niekontrolowanej ilości oraz wątpliwej jakości, powoduje u psa (należącego do grupy mięsożerców) nieefektywne zarządzanie procesami metabolicznymi, na skutek których dochodzi do uszkodzeń w obrębie całego organizmu. Każda żywa istota potrzebuje ruchu w celu zachowania pełnej sprawności. Poziom aktywności uznawany jest za pozytywny miernik zdrowia u wszystkich populacji. Badania potwierdzają, że wdrożenie i utrzymanie odpowiedniej aktywności już w młodym wieku, wpływa pozytywnie na organizm, zwiększając jego możliwości fizyczne, psychiczne i społeczne. Porównując grupy zwierząt, u których wprowadzono aktywność już we wczesnym okresie i podtrzymywano jej regularność, w późniejszym etapie życia zauważono, że zachowują one większą sprawność sercowo - naczyniową, wykazują wyższą masę kostną w porównaniu z osobnikami, u których aktywność ograniczana była zawsze do minimum (podstawowe potrzeby fizjologiczne) (Boreham i Riddoch 2001). Wprowadzenie odpowiedniego treningu (regularny, kontrolowany spacer oraz ćwiczenia w odciążeniu) u szczeniąt sprawi, że ciało danego osobnika będzie się lepiej rozwijać, a pracujące w odciążeniu tkanki będą lepiej przystosowane do środowiska bytowania i wyzwań, jakie się przed nimi stawia. Dodatkowo aktywny osobnik będzie lepiej wykorzystywał uzyskaną z pożywienia energię, co zmniejsza ryzyko otyłości. Aktywność fizyczna podejmowana przez lata wpływa korzystnie na zdrowie zwierząt zwłaszcza w jego okresie starczym. Utrzymywanie kondycji na wysokim poziomie oraz brak "zasiedzenia" sprawiają, że proces starzenia się oraz demineralizacja struktur kostnych postępują wolniej niż u osobników, które nie podejmowały żadnej aktywności lub robiły to wyłącznie okresowo w sposób nieregularny (Drygas i Jegier, 2003). Człowiek ma znaczący wpływ na fizyczną wydolność psów. Dzieje się tak z powodu silnej presji selekcyjnej, w wyniku której powstają zamknięte populacje o ściśle zdefiniowanych możliwościach fizycznych i behawioralnych (Dybus i in. 2020). Ludzie, kierując się potrzebą, ale także populizmem do tego stopnia ingerowali w genetykę gatunku, że stworzone zostały rasy, u których nawet najmniejszy wysiłek fizyczny jest niewskazany z uwagi na modyfikacje anatomiczne w ich ciałach. U tego typu zwierząt wysiłek doprowadzić może do hiperwentylacji, bezdechu, a nawet do zatrzymania akcji serca na skutek przemęczenia (Dudek i Mituniewicz 2022). W naturalnych warunkach zwierzęta przemieszczają się, aby przeżyć. Podążanie za pożywieniem, ucieczka czy zabawa jest dla nich naturalną formą aktywności, która prowadzi dodatkowo do konkretnego celu (zdobycie jedzenia, uniknięcie zagrożenia, kontakty społeczne). W środowisku sztucznie stworzonym przez człowieka, większość psów nie może wyrażać swoich naturalnych zachowań. W świecie ludzi klasyczny pies żyje w swego rodzaju schemacie, którego najważniejszymi elementami są: jedzenie, szybki spacer, odpoczynek, chwila zabawy i sen, przy czym jedzenie jest podawane pod nos, spacer są ograniczone do minimum, zabawa służy głównie nakręceniu psa, a odpoczynek i sen stanowi całą pozostałą część jego doby. I tak dzień po

dniu. Coraz częściej, szczególnie w mediach społecznościowych, promuje się noszenie całkowicie zdrowych zwierząt w torbach, nosidełkach lub wózkach dziecięcych. Patrząc od strony postronnego odbiorcy, moda ta wywołuje raczej pozytywne skojarzenia. Z medycznego punktu widzenia, jest to dla takiego zwierzęcia prosta droga do niesprawności. U psów, które są transportowane w tego typu nosidłach, dostrzegalne jest znaczne niewykształcenie masy mięśniowej, szczególnie w obrębie kończyn. Zwierzęta te po wyjęciu i umieszczeniu na ziemi (w celu załatwienia, chociażby podstawowych potrzeb fizjologicznych) nie są często w stanie przejść samodzielnie większego dystansu. Na skutek słabości mięśniowej nie mogą zachować prostej postawy, przez co układają ciało w nienaturalnych pozycjach, co prowadzi do zmian zwyrodnieniowych lub deformacji anatomicznych. U takich osobników szczególnie niebezpieczne są także niekontrolowane zabawy, w wyniku których dochodzi do wielu urazów zwłaszcza w obrębie kośćca. Zabawy z piłką lub szarpakiem z psem, u którego mięśnie nie stanowią podpory dla tkanek miękkich, skutkują uszkodzeniem struktur aparatu ruchu. W przypadku leczenia większości urazów najczęstszym zaleceniem jest ograniczenie ruchu, co tylko zapętlia istniejący problem. Wraz z nieużywaniem lub unieruchomieniem stawów dochodzi do zaniku i ścięnięcia chrząstki stawowej, zmniejszenia produkcji i dystrybucji płynu maziowego, zmniejszenia dostarczania tlenu i składników odżywczych, zmniejszenia zawartości i syntezy proteoglikanów (jeden z głównych składników chrząstki stawowej). Prościej ujmując, dochodzi do patologicznych zmian struktur stawowych. W sytuacji, gdy typowy model aktywności fizycznej psa jest bardzo ograniczony i nie wprowadzamy intensywnych jednostek, prawdopodobnie nasz pupil nie będzie miał wyraźnych problemów ze strony aparatu ruchu. Jednak, gdy pojawi się intensywna aktywność, np. energiczne ćwiczenia, wymagające od psa gwałtownych ruchów, może dojść do uszkodzenia chrząstki (Millis i Ciuperca 2015). U psów, szczególnie ras małych i miniaturowych, które przez większość życia noszone są na rękach duży problem stanowi zmiana podłoża. Ograniczając ich poruszanie się, zabiera się im możliwość poznawania różnych struktur, na których podczas przemieszczania uczyłyby się jak dostosować ciało do sytuacji, w której się znalazły. Zmienne podłoże wpływa pozytywnie na propriocepcję. Opisuje się ją jako zmysł czucia głębokiego, umożliwiający ustalenie lokalizacji poszczególnych części własnego ciała oraz ich sposób przemieszczania się względem siebie bez kontroli ze strony narządu wzrokowego (Duran 2017). Rozwijanie świadomości położenia przestrzennego własnego ciała, pozwala szybciej i efektywniej radzić sobie z zaistniałą sytuacją (śliska nawierzchnia, przechylenia terenu, niestabilne podłoże) (Styczyński i in. 2007). Brak siły mięśniowej w takich sytuacjach powoduje, że na ciągle kształtujące się struktury chrzęstne zostaje nałożona duża siła, na którą jest ona nieprzygotowana (Bridges i in. 1992). Ruchu o odpowiedniej jakości potrzebują zarówno psy duże, jak i małe. Każdy zdrowy pies powinien poruszać się na własnych kończynach. Buduje w ten sposób wytrzymałość i siłę, które są mu tak bardzo niezbędne w codziennoci funkcjonowaniu (Dudek i Mituniewicz 2022). Aktywność psów posiadających właścicieli jest w pełni zależna od ich opiekunów. Na podstawie własnych doświadczeń i przeprowadzonych w tym kierunku badania pilotażowego potwierdzono, że środowisko bytowania zwierzęcia ma istotny wpływ na aktywność czworonogów, co z kolei warunkuje potencjał zdrowotny zwierząt. Zestawiając zwierzęta mieszkające w mieście w blokach, w domkach jednorodzinnych z niewielkim ogródkiem z możliwością wyprowadzenia na spacer oraz w domach jednorodzinnych bez możliwości wyjścia na spacer poza teren posesji, zauważono istotne różnice w sposobie aktywizowania się właściciela wraz z psem. Osobniki mieszkające w mieście, w niewielkich mieszkaniach, wyprowadzane są na częste, krótkie spacerki, podczas których od czasu do czasu mają możliwość swobodnego wybiegania się, lecz jest to aktywność naga, niekontrolowana oraz cechująca się dużą intensywnością. U takich psów zauważono wzmoczoną tendencję urazową, niezależnie od wieku, rasy oraz płci. Zwierzęta mieszkające w domkach z niewielkim ogródkiem niezależnie od wielkości, miały umożliwiony stosunkowo regularny spacer, urozmaicany dodatkowymi atrakcjami. Zaspokajało to, ich podstawowe potrzeby fizjologiczne, a dodatkowo miały możliwość swobodnego biegania oraz kontrolowanej zabawy, której zarówno jedna, jak i druga strona była inicjatorem. W grupie tej dało się jednak zauważyć (ponieważ posesje znajdowały się blisko innych zabudowań oraz ulic), że w sytuacjach, gdy pies przebywał na posesji, nieustannie biegał i patrolował teren. W takich okolicznościach dochodzi najczęściej do urazów aparatu ruchu na skutek nagłych zwrotów lub

podczas przemieszczania się w przestrzeniach do tego nieprzeznaczonych. W ostatniej grupie psy nie poruszały się poza ogrodzony teren działki. Ich aktywność wzrastała tylko i wyłącznie w momentach, gdy było to niezbędne. Ponieważ dysponowały dużym terenem, właściciele z góry założyli, że nie potrzebują one dodatkowych spacerów, a potrzeby fizjologiczne mogą załatwić na terenie posesji. U zwierząt tych zauważono skłonność do nadwagi i otyłości, których następstwem były problemy związane z układem ruchu (Miareczka 2021). Długie przebywanie na dworze bez zmiany pozycji i przemieszczania, prowadzi do zaburzeń w poruszaniu się. Niedobór ruchu szczególnie u starszych osobników prowadzi do nasilającej się hipokinezji, która powoduje regres wydolności fizycznej i sprawności ruchowej. Ich pogorszenie jest konsekwencją zmniejszającej się masy i siły mięśniowej, zaburzeń funkcji nerwowo-mięśniowej, w wyniku której dochodzi do spowolnienia przewodnictwa nerwowego, a także czasu reakcji. Widoczne jest również pogorszenie w zakresie koordynacji, równowagi i przekaźnictwa centralnego. Na zahamowanie aktywności życiowej starszych osobników ma także wpływ pogarszający się wzrok, słuch, oraz towarzyszące temu choroby (Skalska, 2011). Wszystkie zwierzęta, niezależnie od wieku powinny być regularnie badane u lekarzy specjalistów, którzy skontrolują, pokierują i doradzą w zakresie niezbędnej opieki. Współczesna opieka weterynaryjna charakteryzuje się intensywnym rozwojem oraz zintegrowaniem wielu usług, co pozwala na poprawę komfortu funkcjonowania, a także wydłużenie życia zwierząt (Veenman 2006). Specyficzną grupę, do której należy podejść indywidualnie, stanowią psi seniorzy. Opieka nad nimi jest niezwykle istotna i wymagająca, ponieważ niezbędna jest do tego wiedza oraz doświadczenie z zakresu geriatry oraz umiejętność znalezienia złotego środka między tym co dany osobnik jeszcze może a tym co powinien robić aby zachować mobilności i samodzielność (Dudek i Mituniewicz 2022).

4. Podsumowanie i wnioski

Aktywność fizyczna bez wątpienia stanowi czynnik wpływający na kondycję oraz zdrowie psów. Regularny ruch korzystnie wpływa na samopoczucie oraz sprawność organizmu, a w przypadku psów starszych, opóźnia także procesy starzenia. Styl życia młodego psa, uzależniony od warunków stwarzanych przez właścicieli, oddziałuje na jakość życia w przyszłości. Indywidualne dobranie aktywności, z uwzględnieniem możliwości psa, czy stanu zdrowia, oraz edukacja właścicieli w tym zakresie, to konieczna profilaktyka. Zapewnienie odpowiedniego rodzaju aktywności wydaje się być niezbędnym rozwiązaniem w celu zapobiegania, a nawet eliminacji różnego rodzaju problemów zdrowotnych. Prawidłowy ruch przynosi korzyści dla organizmu, nie tylko w obszarze fizycznym, ale także psychicznym.

5. Literatura

- Boreham C, Riddoch C. (2001). The physical activity, fitness and health of children. *Journal of sports sciences*, 19(12), 915-929.
- Bridges AJ, Smith E, Reid J (1992) Joint hypermobility in adults referred to rheumatology clinics. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 51(6), 793-796.
- Dudek D, Mituniewicz T (2022) Wpływ aktywności fizycznej na zdrowie psów starszych. *Przegląd Hodowlany*, 4, 19-24.
- Duran J (2017) Propriocepcja i inne zmysły-znaczenie poznawcze. Praca licencjacka, Repozytorium Uniwersytetu Jagiellońskiego.
- Drygas W, Jegier A (2003) Zalecenia dotyczące aktywności ruchowej w profilaktyce chorób układu krążenia. *Czynniki Ryzyka*, 38(39), 76-84
- Dybus A, Terman A, Polasik (2020) D. MARKERY GENETYCZNE WYDOLNOŚCI FIZYCZNEJ PSÓW. *Pies w sporcie i rekreacji*, 59.
- Kania BF, Wrońska D (2015) Otyłość problemem pandemicznym człowieka i zwierząt towarzyszących, *Życie Weterynaryjne*, 90 (8), 501-504.
- Miareczka A (2021) Wpływ aktywności fizycznej na zachowanie psów. Praca magisterska, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie.

- Millis D, Ciuperca I (2015) Evidence for Canine Rehabilitation and Physical Therapy. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 15, 1–27.
- Morgulec-Adamowicz N, Kosmol A, Molik B & Wydawnictwo Lekarskie, P. Z. W. L. (Eds.). (2018). *Adaptowana aktywność fizyczna: dla fizjoterapeutów*. PZWL Wydawnictwo Lekarskie.
- Nijland ML, Stam F, Seidel JC (2009) Overweight In dogs, but no In cats, is related to overweight In their owners. *Public Health Nutr.*, 13, 1–5.
- Pogány Á, Torda O, Marinelli L, et al. (2018) The behaviour of overweight dogs shows similarity with personality traits of overweight humans. *Royal Society Open Science*, 5(6), 172398.
- Skalska A. (2011). Ograniczenie sprawności funkcjonalnej osób w podeszłym wieku. *Zdrowie Publiczne i Zarządzanie*, 9(1), 50-59.
- Skrzyp T (2020) Fizjoterapia i aktywność fizyczna u osób chorujących na depresję zamieszkujących domy pomocy społecznej.
- Stelmach M (2010) Rola aktywności fizycznej w profilaktyce otyłości oraz innych przewlekłych chorób niezakaźnych. *Człowiek i Zdrowie*, 4, 50-58.
- Styczyński T, Gasik R, Pyskło B (2007) Znaczenie kliniczne zaburzeń propriocepcji dla narządu ruchu. *Reumatologia*, 45 (6), 404-406.
- Szumiec M (2016) Aktywność fizyczna jako istotny czynnik wzmacniania potencjału zdrowotnego: wyzwania dla edukacji zdrowotnej. *Annales Universitatis Paedagogicae Cracoviensis. Studia de Securitate et Educatione Civili*, 6, 133-157.
- Veenman P (2006) Animal physiotherapy. *Journal of Bodywork Movement Therapies*, 10, 317–327.
- Westgarth C, Christley RM, Christian HE (2014) How might we increase physical activity through dog walking?: A comprehensive review of dog walking correlates. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity*, 11:83.

11. Płochliwość u koni – zachowanie naturalne czy niepożądane?

Timidity in horses - natural or undesirable behaviour?

Janicka Wiktoria, Wnęć Marta, Noskova Daria, Wnuk-Pawlak Elżbieta

Katedra Hodowli i Użytkowania Koni, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Wiktoria Janicka: wiktoria.janicka@up.lublin.pl

Opiekun naukowy: dr Elżbieta Wnuk-Pawlak

Słowa kluczowe: czujność, wrażliwość zmysłowa, behawior, reaktywność, bezpieczeństwo

Streszczenie

Konie zostały udomowione przez człowieka kilka tysięcy lat temu i od tamtego momentu towarzyszą mu niemal w każdej dziedzinie życia. Obecnie są wykorzystywane głównie w rekreacji oraz w sporcie jeździeckim, zarówno przez dzieci, młodzież jak i osoby dorosłe. Obecnie, konie rzadko doświadczają presji drapieżniczej, jednak również w środowisku antropogenicznym narażone są na wiele stresujących procedur i wydarzeń. Na wolności najlepszym sposobem obrony przed drapieżnikami była ucieczka. Taki tryb życia sprawił, że konie do dziś są zwierzętami szczególnie wrażliwymi na różnego rodzaju bodźce. Podstawowe mechanizmy reagowania koni są więc wynikiem trwającego miliony lat procesu adaptacyjnego zakodowanego w materiale genetycznym. Nierzadko zdarzają się sytuacje, że koń płoszy się na widok foliowej reklamówki czy nawet ptaków zrywających się do lotu, co wynika z ukształtowanej ewolucyjnie szybkiej reakcji na sytuację potencjalnie zagrażającą. Takie zdarzenia wpływają zarówno na obniżenie bezpieczeństwa podczas obsługi i użytkowania koni oraz poziomu dobrostanu samych zwierząt. Kluczowa jest świadomość właścicieli i opiekunów w zakresie reaktywności behawioralnej gatunku oraz podejmowanie odpowiednich działań profilaktycznych, tj. właściwie dobrany trening.

1. Wstęp

Czynnikiem odpowiedzialnym za zachowania instynktowne wszystkich gatunków zwierząt jest ewolucja. Podstawowe mechanizmy reagowania koni są więc wynikiem trwającego miliony lat, zakodowanego w materiale genetycznym procesu adaptacyjnego. Charakterystyczne cechy koni wpływające na ich zachowanie można opisać za pośrednictwem trzech pojęć: koń to zwierzę stepowe, stadne i uciekające. Konie od ponad 25 milionów lat są trawożernymi mieszkańcami stepów. W warunkach zbliżonych do naturalnych przemieszczają się i wypasają całą grupą nawet do 16 godzin dziennie. W związku z tym, konie mają potrzebę codziennego, wielogodzinnego ruchu w spokojnym tempie. Można również przyjąć, że zwierzęta te od 25 milionów lat tworzą związki społeczne, gdyż na otwartej przestrzeni życie w grupie niesie ze sobą znaczne korzyści dla bezbronnych roślinożerców – wiele par oczu i uszu widzi i słyszy więcej niż pojedyncze zwierzę. Tylko w grupie koń był w stanie w wystarczającym stopniu spełniać swoje indywidualne potrzeby i nie musiał pozostawać stale „w stanie gotowości”. Na wolności najlepszym sposobem obrony przed wrogami była dla konia ucieczka. Również obecnie, pomimo 5,5 tysiąca lat od momentu udomowienia, ucieczka pozostaje pierwszą reakcją konia na lęk, wystraszenie się i potencjalne niebezpieczeństwo (Zeitler-Feicht 2014). Konie są zwierzętami szczególnie wrażliwymi na różne bodźce środowiskowe. Jak wykazały obserwacje behawioralne koni i bydła bytujących w warunkach naturalnych, zwierzęta te odmiennie reagują na pojawiające się zagrożenie, pomimo, że zajmują ten sam poziom troficzny – są potencjalnymi ofiarami. W stadzie koni widoczna była klacz przewodniczka, która w momencie, gdy zwierzęta się spłoszyły inicjowała ucieczkę, a inne osobniki podążały za nią. Stado bydła było znacznie mniej płochliwe niż stado koni, jednak w przypadku, gdy konie spłoszone zrywały się do ucieczki, część osobników w stadzie krów przerywała swoje dotychczasowe czynności, obserwując powód spłoszenia koni (Sablik i in. 2010).

Dla konia normalnym zachowaniem w przypadku potencjalnego zagrożenia w pierwszej kolejności jest ucieczka, a dopiero po przebyciu pewnej odległości zatrzymanie się w celu oceny sytuacji. Tak więc zachowanie to jest niepożądane tylko z punktu widzenia człowieka (Zeitler-Feicht 2014). Konie z natury są zwierzętami płochliwymi i ostrożnymi. Wynika to z atawizmu, czyli zachowań odziedziczonych po przodkach żyjących kiedyś na wolności. Dzikie konie, aby przetrwać i nie dać się upolować czyhającym drapieżnikom, musiały być ostrożne, czujne i w porę reagować ucieczką na każdą podejrzaną sytuację (Mickunas 2006). U koni rzadko dochodzi do przejawów zachowań agresywnych w stosunku do innych zwierząt, bowiem w sytuacji zagrożenia ratują się zwykle ucieczką (Kamieniak i in. 2003). Właściciele koni nie mogą zapominać o tym, że koń, który ucieka, jest przerażony. Karząc go za takie zachowanie nie rozwiążemy problemu, a sprawimy jedynie, że strach będzie narastał. Ucieczka jest naturalną reakcją konia pozwalającą na uniknięcie konfrontacji ze stresorem. Istotne jest więc zrozumienie emocji towarzyszących zwierzęciu i odpowiednia praca z takim osobnikiem (Zeitler-Feicht 2014).

2. Opis zagadnienia

Rola konia bardzo zmieniła się na przestrzeni dziejów. Zniknął on co prawda prawie całkowicie z wojska i krajobrazu wsi współczesnych krajów uważanych za rozwinięte, lecz poprzez sport, rekreację jeździecką i różnego rodzaju hipoterapie utrwalił swoje miejsce u boku człowieka. W świetle dotychczasowych badań i obserwacji okazuje się, że zwierzęta te posiadają dosyć złożoną osobowość, co z jednej strony pozwala na stawianie przed nimi wysokich wymagań, z drugiej jednak wiąże się z występowaniem wielu zaburzeń zachowania. Stają się one polem do działania dla behawiorystów, a także przyczyną rozwoju dziedziny nauki jaką jest psychologia koni. Rozbudowana sfera psychiczna konia jest doskonale widoczna w złożoności jego temperamentu, charakteru i osobowości (Niemczycka i Walczak 2019). Konie jako zwierzęta niezwykle wrażliwe i wykazujące wysokie zapotrzebowanie na ruch są szczególnie narażone na występowanie zaburzeń zachowania. Są to zachowania w istotny i ciągły sposób odbiegające od normalnych pod względem modalności, natężenia lub częstotliwości. Przykładami zaburzenia zachowania są u koni samookaleczenie się i wzmożona agresja. Oprócz zaburzeń zachowania, w hodowli, chowie i użytkowaniu koni problematyczne mogą być też zachowania niepożądane, czyli takie, które mieszczą się w etogramie konia, jednak utrudniają człowiekowi utrzymanie i użytkowaniu zwierzęcia (Zeitler-Feicht 2014). Przykładami zachowań niepożądanych są płoszenie się i ponoszenie (Niemczycka i Walczak 2019). Pomimo, że zachowania niepożądane są w znacznej mierze zgodne z naturalnym behawiorem konia, mogą być bardzo uciążliwe lub wręcz niebezpieczne dla ludzi (Zeitler-Feicht 2014). Konie różnią się pod wieloma względami, mają odmienne cechy charakteru, które sprawiają, że jedne osobniki są bardziej odważne, a drugie wręcz boją się spadających liści. Ten drugi typ wierzchowca jest dość nieprzyjemny do jazdy, ponieważ bywa niekiedy nieobliczalny. Większą tendencją do płoszenia się mają konie: 1) młode, 2) wychowywane w boksach i stajniach, 3) energiczne, nadpobudliwe i temperamentne, 4) ras gorącokrwistych (www.myhorse.pl). Ważnym aspektem w treningu jest cierpliwość i spokój jeźdźcy, które przynoszą doskonałe efekty i mogą wpłynąć na obniżenie progu pobudliwości konia. W konsekwencji możliwe będzie czerpanie przyjemności ze wspólnej pracy (Podhajsky 2013).

3. Przegląd literatury

3.1 Ucieczka i strach jako naturalna reakcja konia

Dla roślinożercy, jakim jest koń, podstawową obroną przed wszelkim niebezpieczeństwem jest natychmiastowa ucieczka, przy czym konie charakteryzują się odmiennym progiem pobudliwości. Ucieczka może być spowodowana już samym uczuciem niepewności. Z punktu widzenia użytkownika tych zwierząt jest to reakcja niepożądana, gdyż spanikowane konie, mogą stać się źródłem zagrożenia (Prochniewicz 2003). Strach jest pierwotną cechą wspólną dla świata ludzi i świata zwierząt, której genezy należy upatrywać w instynkcie przetrwania. Silne emocje i napięcie gotowych do akcji mięśni towarzyszące chwilom zagrożenia (realnego lub tylko potencjalnego) to zachowania realizowane bez świadomego udziału mózgu. W przypadku zwierząt emocje te

wywoływane są dzięki zdolności do zapamiętywania podobnych okoliczności wcześniejszego zdarzenia. Sam strach jest uczuciem subiektywnym, związanym z osobniczymi skojarzeniami i doświadczeniami. Kwestia ucieczki konia w sytuacji, kiedy czuje się on zagrożony związana jest bowiem z jego wrodzonym zachowaniem. Ucieczka to typowa reakcja obronna roślinożerców, która w ich konfrontacji z drapieżnikiem gwarantowała przeżycie lub wydatnie zwiększała na nie szanse (www.swiatkoni.pl). Płoszenie się jest reakcją typową dla zwierzęcia uciekającego, jakim jest koń. Następuje ona, gdy wrażliwe zmysły konia sygnalizują niebezpieczeństwo. Zatem sporadyczne płoszenie się, na przykład przed pojawiającą się zniecka sarną czy psem jest całkowicie normalnym, typowym dla gatunku zachowaniem. Przytrafia się to nawet doświadczonym i odważnym koniom pod dobrymi jeźdźcami. Płoszenie się staje się problemem, gdy występuje często lub tak gwałtownie, że stanowi niebezpieczeństwo dla konia i jeźdźca. Zakres możliwych reakcji konia sięga od uskakiwania w bok po paniczne ponoszenie. W skrajnych przypadkach spłoszone konie potrafią niszczyć ogrodzenie i w panice galopować po ulicach lub trudnym do pokonania terenie (Zeitler-Feicht 2014). Instynktowny strach jaki wielu ludzi odczuwa w obecności koni, mimo pewnej świadomości na temat reaktywności behawioralnej gatunku, wynika z siły i płochliwości tych zwierząt. Płochliwość u koni wywołują głównie obiekty przejawiające pewne cechy drapieżne, takie jak czajenie się albo szarżowanie. Zachowania te mogą świadczyć o obecności drapieżnika, zagrażającemu bezpieczeństwu konia. Głównym mechanizmem obrony antydrapieżniczej u konia jest czujność, której celem jest detekcja, lokalizacja i w konsekwencji uniknięcie niebezpieczeństwa. Jednak powodowana przez spłoszenie się gwałtowna ucieczka stanowi zagrożenie zarówno dla człowieka będącego w siodle, jak i przestraszonego konia mogącego zranić się o elementy otoczenia. Ważnym elementem opieki nad końmi jest umiejętność takiej obsługi tych zwierząt lub powodowania nimi, które nie prowadzi do płoszenia się ich bądź minimalizuje możliwość ucieczki i związanych z nią zagrożeń (Apfelbach i in. 2005; Dorohostajski 2015). Nie należy zbliżać się do konia nagle, zaskakując go, bo w takich przypadkach jego reakcje mogą być gwałtowne i nieprzewidywalne. Nawet najspokojniejszy koń może kopnąć tylnymi kończynami. Z natury każdy koń jest mniej lub bardziej strachliwy, lecz jego niepokój zanika, kiedy spotyka się z łagodną obecnością człowieka. Najlepiej więc uprzedzać go głosem i używać ciągle tych samych słów, do których się przyzwyczał, najlepiej wymawiając jego imię (Andrzejewski 2001).

3.2 W jaki sposób konie się płoszą?

Do problemów z posłuszeństwem koni pod siodłem dochodzi dość często z przyczyny, którą ogólnie można określić jako płochliwość. Konie są zwierzętami płochliwymi, bo tak je ukształtowała natura przez miliony lat, zanim zostały udomowione. Skłonność do płoszenia się, czyli do reakcji, która ludziom wydaje się niezrozumiała i irytująca charakteryzuje konie do dziś, jako pozostałość po charakterystycznym dla nich sposobie ratowania się w sytuacji zagrożenia. Konie jako zwierzęta uciekające, wykształciły w sobie szybką reakcję na sytuację zagrożenia. Tą reakcją jest automatyczne włączenie aparatu ruchu w celu uniknięcia bliskiego spotkania z obiektem budzącym obawę, a nawet z obiektem niezbyt dokładnie zidentyfikowanym. Wielu jeźdźców doświadczyło sytuacji, kiedy koń, na którego grzbiecie siedzieli uskakiwał nagle i nieoczekiwanie zmieniał kierunek ruchu w odpowiedzi na poruszające się pod wpływem wiatru liście, folie czy leżące papierki. Tego typu sytuacja jest przykładem naturalnej, instynktownej reakcji koni na często wyimaginowane zagrożenie (Mickunas 2006). Najczęściej konie płoszą się w wyniku działania rozmaitych bodźców optycznych i dźwiękowych, a czasem nawet zapachowych (np. maści przeciw owadom). Można wyraźnie rozróżnić, które wierzchowce w większym stopniu posługują się wzrokiem, a które słuchem. Wzrokowe często rozglądają się i błyskają białkami, przy czym często nie zwracają uwagi na niepokojące dźwięki. Zdarzają się też konie, którym nie przeszkadza widok na przykład kolorowego parasola, natomiast na szelest zamiatającej miotły rzucają się do ucieczki. Wystraszony koń wyraźnie się napina i usztywnia, może kierować uszy do środka oraz wysoko unosi głowę, zwiększając swoje pole widzenia. Jednocześnie odciąża zad, co ułatwia podjęcie ucieczki. Niejednokrotnie człowiek sam nieświadomie wywołuje u konia powyższe reakcje; jeździec siedzący na koniu usztywnia swoje ciało, wyszukuje w otoczeniu wszelkich strasznych czynników i celowo stara się je ominąć z daleka (Zeitler-Feicht 2014; www.qnwortal.com). W taki sytuacjach jeździec bardzo często boi się bardziej,

że koń się za moment spłoszy, niż sam koń boi się jakiegoś przedmiotu. Przeważanie dochodzi do tego, iż koń faktycznie reaguje ucieczką po dostrzeżeniu danego przedmiotu, jednak nie dlatego, że się go wystraszył, lecz dlatego, że wyczuł brak pewności jeźdźcy. W konsekwencji koń również zaczyna odczuwać strach i niepokój pod wpływem danego obiektu. Oczywiście rozważa i wyobrażenia pozwalają zapobiegać wielu wypadkom, jednak nie można zapominać o tym, iż koń powinien traktować jeźdźcę na swoim grzbiecie jako przewodnika, respektować jego polecenia oraz czuć się w jego obecności bezpiecznie (www.qnwortal.com).

3.3 Funkcjonowanie mózgu konia a płoszenie się

Okazuje się, że problem płochliwości związany jest ze szczególną zasadą działania półkul mózgu konia. Prawa półkula odpowiedzialna jest za działania związane z instynktem, lewa zaś odpowiada za proces myślenia u konia. Szkoląc konia, trenując z nim różne umiejętności czy ucząc go skupienia na sobie, motywujemy go do korzystania z lewej półkuli. Jeżeli lewa półkula pracuje, koń ma skierowaną uwagę na jeźdźcę, czyta jego sygnały i dostosowuje się do oczekiwań człowieka. Sytuacja wygląda nieco gorzej, gdy koń używa prawej półkuli. Jest on wtedy całym ciałem gotowy do ucieczki, spina mięśnie, przyspiesza, nie zauważa siedzącego w siodle człowieka i reaguje gwałtownym zrywem na każde niepokojące go zdarzenie. Jeździec czuje w takiej sytuacji, że ma pod sobą przerażone zwierzę, które nie zważa na nacisk wędzidła, sygnały dosiadem czy łydkami. Płochliwy z natury koń znacznie częściej używa półkuli prawej (odpowiedzialnej za działania instynktowne); nawet jeśli korzysta z lewej półkuli (myślącej), to potrafi błyskawicznie przerzucić się z lewej na prawą półkulę. W jednej sekundzie z konia rozluźnionego i skupionego na człowieku, mamy pod siodłem zwierzę gotowe do gwałtownej ucieczki. Takie szybkie przerzucanie aktywności półkul mózgu, zwłaszcza obserwowane u płochliwych koni, może jednak okazać się atutem w trakcie ćwiczeń z nimi (www.wwr.com.pl).

3.4 Jak pracować z płochliwym koniem?

Płochliwość najczęściej przejawiająca się ucieczką jest dla jeźdźców nieprzyjemnym elementem jazdy konnej. Tym bardziej, karanie konia za instynktowne zachowania mijają się z celem. Koń nabiera pewności i zaufania dzięki spokojnemu, cierpliwemu zapoznawaniu z możliwie wieloma nowymi sytuacjami (Próchniewicz 2003). Największym, niestety często spotykanym błędem jaki popełniają jeźdźcy wobec swoich koni, jest karanie za płochliwość. Z drugiej strony, brak odpowiedniej reakcji jeźdźcy i właściwego postępowania może doprowadzić do negatywnego efektu w postaci konia płoszącego się coraz częściej i z coraz bardziej błahego powodu (Mickunas 2006). Koń zdenerwowany i wystraszony potrzebuje w danej sytuacji od jeźdźcy spokojnego, opanowanego, ale i zdecydowanie cierpliwego zachowania. Kara tylko pogłębia strach w niekonicznie przyjemnej dla konia sytuacji oraz wzbudza negatywne uczucia (www.gnwortal.com). Konia należy możliwie jak najwcześniej zacząć przyzwyczajać do nieznanych przedmiotów i sytuacji. Płochliwego konia nie powinno się izolować od hałasu i ruchu. Wskazane jest, aby taki koń żył w otoczeniu ruchliwym i budzącym zainteresowanie, oczywiście w towarzystwie spokojnych towarzyszy (www.gnwortal.com). Do bezpiecznego uprawiania jeździectwa przez najmłodszych niezbędne są odpowiednio przygotowane kuce (Podhajsky 2013). Biorąc pod uwagę wrażliwą naturę koni i ich płochliwość, dużą wagę przywiązuje się do różnych metod przewycięzania ich lęku na drodze desensytyzacji, czyli odwrażliwiania, zwanego potocznie odczulaniem (Sablik i in. 2010). Konie odwrażliwione na różnego rodzaju stresogenne sytuacje okazują się w konsekwencji dużo spokojniejsze, a przez to również bezpieczniejsze dla człowieka (Christensen i in. 2006).

Celem ćwiczeń z płochliwym koniem powinno być jak najdłuższe utrzymanie aktywności jego lewej (myślącej) półkuli. Jeżeli koń z łatwością przerzuca się na prawą (instynktowną) półkulę, to tak samo łatwo będzie się przerzucał na lewą. Trzeba wypracować z koniem metodę przerzucania i utrzymania go w aktywności lewej półkuli. Metoda ta oparta jest na prawidłowości, że płochliwy koń instynktownie czuje silną potrzebę ruchu. Najgorsze co można zrobić, to starać się zatrzymać w miejscu spłoszonego konia, gdy ma on wyłącznie za cel ucieczkę. Z płochliwym koniem najlepiej jest ćwiczyć poruszając się na małych kołach. Jazda po małym kole nie pozwala koniowi na usztywnienie mięśni, spięcie zadu i ucieczkę na wprost, ale jednocześnie zaspokaja jego instynktowną potrzebę ruchu. Koń wygięty na małym kole nie może wykorzystać swojej fizycznej siły przeciw

jeźdźcowi. Skupienie konia na pracy na małych kołach uaktywnia jego lewą półkulę i przeciwdziała instynktownym i panicznym reakcjom. Im bardziej podczas treningu będziemy urozmaicać różnymi ćwiczeniami ruch konia, tym mocniej będzie on zaangażowany myślowo w jazdę. Częste zmiany kierunku, chody boczne, zatrzymania i cofania, przejścia pomiędzy chodami – wtedy koń musi zaangażować swoje myślenie (lewą półkulę) i nie będzie miał okazji uaktywnić prawej półkuli. Ćwiczenia na małych kołach uczą konia szybkiego przeczucia się na lewą półkulę. Podczas jazdy na wprost, jak tylko poczujemy, że koń zaczyna używać prawej półkuli (spina się, rozgląda się wokół i przyspiesza), natychmiast wykonujemy z nim małe koła, aż do całkowitego rozluźnienia. Stopniowo zaczynamy powiększać średnicę kół, cały czas starając się mieć konia używającego lewej półkuli, czyli rozluźnionego. Kiedy tylko jeździec poczuje, że koń się usztywnia – znowu należy wrócić na małe koła. Jest to czasami dość długi proces i musi minąć trochę czasu zanim koń nauczy się samodzielnie utrzymywać aktywność lewej półkuli z jeźdźcem na grzbiecie. Wszystkie wyżej wymienione ćwiczenia, którymi można urozmaić codzienną jazdę, angażują myślącą część mózgu konia. Koń rozluźniony skupiony jest na sygnałach jeźdźcy, uczy się mowy ciała człowieka i szanuje jego polecenia. Sam jeździec rozluźnia się wtedy siodle i nabiera pewności podczas jazdy, co sprawia, że jest w stanie zapanować nad płochliwym zwierzęciem (www.wwr.com.pl).

W pracy z płochliwym koniem, przede wszystkim w stresujących sytuacjach, należy zachować spokój i pomóc wierzchowcowi zrelaksować się. Konia powinno się uspokajać łagodnym głosem, można go również głaskać po szyi, co pozwoli na stopniowe wyciszenie się. Głos to jeden z najmocniejszych bodźców, którym można uzyskać wiele pozytywnych emocji u konia. Istotny jest wybór odpowiednich technik odczulania koni. Zależnie od osobnika bardziej efektywna może być tradycyjna, stopniowa desensytyzacja, czy też wykorzystanie metody klikerowej. Warto nagradzać zwierzę za każdy, nawet najmniejszy krok w kierunku przerażającego obiektu wzmacniając pożądaną reakcję na przykład za pomocą przysmaków. Człowiek powinien poświęcić dużo czasu na pracę z ziemi – parasole, szeleszczące folie, płachty czy nawet psy są doskonałym narzędziem do poprawy pewności naszego wierzchowca. Można także wybrać się na krótki spacer z koniem w rękę i oswajając zwierzę z krzakami, dużymi kamieniami czy powalonymi drzewami. Regularny ruch pod siodłem lub na lonży wpływa korzystnie na naszego wierzchowca zarówno pod kątem fizycznym jak i psychicznym. Koń, który ma zbyt wiele energii, będzie dużo częściej się ploszył. Warto również przyjrzeć się wtedy żywieniu takiego konia; zazwyczaj ilość podawanego owsa jest niewspółmierna do jakości wykonywanej pracy i zdecydowanie warto ją zredukować (Hacan i in. 2022; www.myhorse.pl).

4. Podsumowanie

Człowiek powinien, w miarę możliwości, poznać psychikę konia. Jest to najkrótsza droga do porozumienia i nawiązania łączności ze zwierzęciem, która warunkuje bezpieczną i opartą na wzajemnym zaufaniu relację. Psychika konia w dużym stopniu wiąże się z procesami fizjologicznymi, a te są u tego gatunku dziedziczne. Potrzebne były tysiące lat, aby się pewne cechy ukształtowały (Andrzejewski 2001). Konie przejawiają dużą spostrzegawczość, poznają ludzi, są ciekawe, lubią się bawić i niekiedy zaskakują człowieka swoimi pomysłami. Bywają wrażliwe i przeczulone. Znacznie różnią się między sobą stopniem inteligencji i temperamentem, zatem nie można od nich oczekiwać jednakowej reakcji na te same bodźce. Zachowanie się jest związane z indywidualnością, łączącą w sobie wpływy dziedziczenia, płci, treningu i wychowu oraz doświadczenia i wieku. Konie jako zwierzęta stadne uznają rolę przywódców. Poprzez umiejętne postępowanie człowiek jest w stanie ustalić hierarchię pomiędzy sobą a koniem, wskutek czego koń zaakceptuje człowieka jako przywódcę. Wiele procesów psychicznych i determinowanych nimi sposobów postępowania przesądziło niegdyś o istnieniu konia i jest dziedziczone z pokolenia na pokolenie. Na charakterystyczne dla gatunku wzory zachowania się miała wpływ ewolucja, która pozwoliła koniom zaadaptować się do życia wśród drapieżników. Między procesami psychicznymi i fizjologicznymi istnieje bezpośredni związek i ściśle wzajemne oddziaływanie (Hordyńska 1995). Płochliwość jest jedną z najczęstszych przyczyn konfliktów między koniem, a człowiekiem. Jednak wspólne ich rozwiązywanie przyczynia się do wzrostu wzajemnego szacunku i zaufania. Ważne jest,

aby człowiek nie tylko wymagał rozważań i odwagi od swojego wierzchowca, ale przede wszystkim od samego siebie (www.qnwortal.com).

5. Literatura

- Andrzejewski T (2001) Zrozumieć konia., Gniezno: 23, 39.
- Apfelbach R, Blanchard CD, Blanchard RJ, et al. (2005) The effects of predator odors in mammalian prey species: A review of field and laboratory studies. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 29: 1123-1144.
- Christensen JW, Rundgren M, Olsson K (2006) Training methods for horses: habituation to a frightening stimulus., *Equine Vet. J.* 38(5): 439-443.
- Dorohostajski KW (2015) *Hippica to jest o koniach* księgi. Drukarnia Andrzeja Piotrkowczyka, Kraków: 7-8.
- Hacan Ö, Danişan S, Özbeyaz C (2022) The Efficacy of Clicker Method During Desensitising Horse. *Kocatepe* 15: 223-232.
- Hordyńska E (1995) O koniu i jeździe konnej. Wydawnictwo "JiK", Zbrosławice: 31-32.
- http://qnwortal.com/artukul_43-Moj_kon_sie_ploszy_psychologia_koni (dostęp: 23.11.2022)
- <http://wwr.com.pl/artykuly/rozmaitosci/389-co-poczac-z-plochliwym-koniem-poklosie-rozmow-z-marta-zagrodzka-specjalistka-od-behawioryzmu-koni> (dostęp: 23.11.2022)
- <https://myhorse.pl/editorial/338/dlaczego-kon-sie-ploszy> (dostęp: 23.11.2022)
- <https://www.swiatkoni.pl/o-strachu-i-koniu> (dostęp: 21.11.2022)
- Kamieniak J, Sapała M, Budzyńska M i in. (2002) Dzienna aktywność koni huculskich na pastwiskach., *Ann. UMCS. Sectio EE.* XX: 235-241.
- Mickunas W (2006) Trener radzi. *Galaktyka*, Łódź: 36, 47-48.
- Miller R (2007) *Natural Horsemanship explained*. Lyons Press, Guilford: 21-28.
- Niemczyczka EA, Walczak M (2019) Rozwój psychiatrii koni wyzwaniem dla współczesnej medycyny weterynaryjnej. *Życie Weterynaryjne* 94(11): 749-752.
- Podhajsky A (2013) *The complete training of horse and rider.*, Knopf Doubleday Publishing Group: 1-305.
- Próchniewicz W (2003) *Zasady jazdy konnej część 1. Podstawowe wyszkolenie jeźdźcy i konia.*, Polski Związek Jeździecki: 8-10.
- Roberts M. (2004) *Ode mnie dla was*. Agencja PDM, Warszawa: 18-19.
- Sablik P, Kobak P, Biała M i in. (2010) Porównanie behawioryzmu udomowionych zwierząt roślinożernych (bydła mięsnego i koni) w naturalnych warunkach bytowania w otulinie Przyrodniczego Parku Narodowego „Ujście Warty”, *Acta Sci. Pol., Zootechnika* 9(4): 207-214.
- Wilk I, Wiśniewska M, Tkaczyk S i in. (2018) Ocena Efektywności odwracania kuców na nowe obiekty. *Przegląd Hodowlany* 86(3): 25-28.
- Zeitler-Feicht MH (2014) *Zachowania koni. Przyczyny, terapia i profilaktyka*. Świadome Jeździectwo, Warszawa: 5-50.

12. Rola L-karnityny w hodowli i użytkowaniu koni

The role of L-carnitine in horse breeding and management

Janicka Wiktoria, Noskova Daria, Wnęk Marta, Wnuk-Pawlak Elżbieta

Katedra Hodowli i Użytkowania Koni, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Wiktoria Janicka: wiktoria.janicka@up.lublin.pl

Opiekun naukowy: dr Elżbieta Wnuk-Pawlak

Słowa kluczowe: aminokwasy, suplementacja, trawienie, wysiłek, dieta

Streszczenie

Na przestrzeni ostatnich kilkudziesięciu lat obserwuje się stały rozwój branży konnej na całym świecie. Widoczny jest on we wzroście zatrudnienia w sektorze jeździeckim oraz liczbie organizowanych zawodów, wystaw i pokazów. Hodowcy koni inwestują w swoją działalność, dążąc do wyhodowania potomstwa o wysokiej wartości hodowlanej i użytkowej, co w konsekwencji przyniesie zysk. Jednak sukcesy na arenie krajowej i międzynarodowej wymagają odpowiedniej opieki nad końmi. Szczególną uwagę należy poświęcić koniom sportowym, ze względu na treningi i stres jakim regularnie są poddawane. Warunki życia koni domowych znacznie odbiegają od tych występujących w naturze. Każdy świadomy właściciel koni wie, że należy zaspokoić nie tylko wrodzone potrzeby tych zwierząt, ale również te wynikające z ich intensywnego użytkowania. W tym kontekście kluczowe jest odpowiednie żywienie i suplementacja. W sprzedaży dostępnych jest wiele preparatów zawierających witaminy, minerały czy aminokwasy. Należy jednak dokładnie dowiedzieć się, które składniki można podawać razem dla osiągnięcia prawidłowego efektu. Bardzo często właściciele koni sportowych używają L-karnitynę ze względu na powszechne informacje o jej wpływie na rozwój mięśni. Ale czy wystarczające będzie podawanie koniowi samej karnityny? I czy powinno się podawać ją tylko koniom sportowym? Jest to temat dyskusyjny. Celem tego artykułu jest zapoznanie z podstawową wiedzą i wynikami badań dotyczących suplementacji L-karnityną w diecie koni.

1. Wstęp

1.1 L-karnityna – co to jest i jak działa?

L-karnityna występuje w organizmie jako substancja, która bierze udział w wielu procesach metabolicznych. Syntetyzowana jest z dwóch aminokwasów – lizyny i metioniny. Karnityna pełni bardzo ważną rolę, ponieważ występuje naturalnie jako kofaktor kwasów tłuszczowych. Odpowiada za transport długołańcuchowych kwasów tłuszczowych do mitochondriów, angażując się w przekształcanie cetylo-CoA do acetylo-L-karnityny i koenzymu A, odpowiada za prawidłowy stosunek tych związków, obniża poziom triglicerydów i cholesterolu, kontroluje wykorzystanie glikogenu mięśniowego oraz wspomaga metabolizmu obecnych w mięśniach kwasów BCAA, które transformują się do alfa-ketokwasów i po przyłączeniu się do L-karnityny trafiają do krwiobiegu.

W celu transportu długołańcuchowych kwasów estry acylo-CoA ulegają transestryfikacji, tworząc estry acylokarnityny. W mitochondriach L-karnityna podlega beta-oksydacji, dzięki której powstaje niezbędna energia dla pracy komórek. Oprócz roli nośnika aktywowanych grup acylowych L-karnityna funkcjonuje jako bufor dla grup acylowych, które mogą być obecne w nadmiarze w różnych tkankach podczas ketozy i hipoksyjnej aktywności mięśniowej. Inne funkcje L-karnityny to ochrona struktur błonowych, stabilizacja fizjologicznego stosunku CoA-SH/acetyl-CoA oraz ograniczenie produkcji mleczanu (Zeineri i Harmeyer 1999).

1.2 Proces wchłaniania L-karnityny

L-karnityna może być syntetyzowana endogennie, jak również pobierana z paszy. Organizm konia produkuje około 35% zapotrzebowania, pozostałą część należy więc dostarczyć razem

z pokarmem (Zeiner i Harmeyer 1999). Głównym rezerwuarem L-karnityny w organizmie są mięśnie szkieletowe, w których stężenie L-karnityny jest co najmniej 200 razy wyższe niż w osoczu krwi. L-karnityna jest wchłaniana z jelita cienkiego poprzez aktywne i pasywne mechanizmy transportowe, potem dostaje się do krwi (Gugjonsson 1985; Li i in. 1990). Możliwość transportu L-karnityny jest niska w porównaniu z glukozą i aminokwasami (Rebouche i Chenard 1991). L-karnityna z krwi dostaje się do wątroby i następnie wraca do krwioobiegu. Estry L-karnityny są również uwalniane przez wątrobę z żółcią. Ten proces nazywa się cyklem enterohepatycznym (Gudjonsson 1985). L-karnityna wraz z krwią dostaje się do nerek, gdzie ulega filtracji w kłębuszkach nerkowych, a następnie prawie w całości jest wchłaniana zwrótnie w kanalikach nerkowych (Stadler i in. 1993; Li i in. 1992). Zapotrzebowanie koni na L-karnitynę jest znacznie zwiększone w okresie laktacji u klaczy w związku z tym, że źrebię pobiera L-karnitynę razem z mlekiem. Jest ona niezbędna dla prawidłowego wzrostu i rozwoju źrebiąt i młodych koni.

2. Opis zagadnienia: Rola L-karnityny w organizmie konia

Dlaczego suplementacja L-karnityny jest taka ważna w diecie koni? Po pierwsze, jeśli wziąć pod uwagę konie sportowe, to na prawidłowe wyprodukowanie L-karnityny niekorzystny wpływ mają warunki stresowe, którym jest poddany koń sportowy. Po drugie, zwiększony wysiłek i wysoka wydajność stale zużywają zapasy L-karnityny. Po trzecie, oprócz roli nośnika aktywowanych grup acylowych, L-karnityna pełni funkcję bufora dla grup acetylowych, które mogą być obecne w nadmiarze w różnych tkankach podczas ketozy i niedotlenienia mięśni, a takie warunki mogą chwilowo zaistnieć podczas intensywnego wysiłku. U młodych zwierząt, w tym u źrebiąt, zdolność do biosyntezy karnityny nie jest jeszcze w pełni rozwinięta i nie może sprostać wymaganiom zwierząt żywiących się głównie mlekiem matki. Zwierzęta ssące są więc uzależnione od dodatkowej podaży karnityny, gdyż jej poziom w mleku nie zawsze jest wystarczający. Ponadto młode zwierzęta, w tym źrebięta, posiadają niższe stężenie L-karnityny w osoczu krwi, niż zwierzęta dorosłe (Zeiner i Harmeyer 1999). Ogólnie wymienione sytuacje mogą skutkować niedoborem L-karnityny, co prowadzi do pierwotnych lub wtórnych dysfunkcji organizmu. Do pierwotnych zaburzeń zaliczamy: dziedziczne wady biosyntezy, metabolizmu i transportu L-karnityny. Charakteryzują się one zwykle nadmiernym odkładaniem tłuszczu (lipidów) w mięśniach, zmniejszeniem napięcia mięśniowego i ogólnym pogorszeniem stanu zdrowia zwierząt. Wtórne uszkodzenia wynikają z niedostatecznego spożycia L-karnityny. A nieodpowiednie spożycie L-karnityny w diecie prowadzi do upośledzenia biosyntezy, utraty wagi itp. Istnieje podzbiór wtórnych zaburzeń, do których należą choroby nerek, wątroby oraz nieprawidłowy transport i wchłanianie L-karnityny do tkanek, które tłumią funkcjonalną zdolność organizmu. Zmniejsza to wydajność zwierząt bez widocznych objawów klinicznych lub patologicznych (Meyer i in. 2020).

Przeprowadzono badania na koniach wyścigowych i klaczach hodowlanych na temat wpływu L-karnityny na wysiłek fizyczny i system reprodukcyjny. Stosowano przez kilka tygodni doustną suplementację w ilości od 5 do 20 g L-karnityny dziennie. Kiedy dołączono obciążenie pracą, to suplementacja L-karnityną zmniejszała wywołany wysiłkiem wzrost stężenia mleczanu we krwi oraz wywołany wysiłkiem fizycznym wzrost niezestryfikowanych wolnych kwasów tłuszczowych w osoczu. Efekty te zostały zinterpretowane jako korzystne w odniesieniu do intensywności ćwiczeń (Harmeyer 2002). W innym doświadczeniu dodanie 2 x 10 g L-karnityny dziennie zmniejszyło stężenie triglicerydów i niezestryfikowanych wolnych kwasów tłuszczowych (NEFA) w osoczu, natomiast stężenie glukozy w osoczu wzrosło (Hausenblash i in. 1996). W innych eksperymentach podawanie L-karnityny klaczom w laktacji łagodziło gwałtowny spadek L-karnityny w osoczu krwi ssących źrebiąt w pierwszych tygodniach laktacji (Benamou i Harris 1993).

3. Przegląd literatury

3.1 L-karnityna w pracujących mięśniach konia

Największa ilość L-karnityny gromadzi się w mięśniach szkieletowych – około 80% L-karnityny. Główną różnicą między końmi a innymi gatunkami zwierząt jest to, że stężenie L-karnityny w mięśniach konia jest dość wysokie. Jak pokazują badania, u koni poddanych wysiłkowi

fizycznemu wewnątrzmięśniowe stężenie wolnej L-karnityny obniża się, a zawartość acetylo-karnityny równoważnie wzrasta. Z kolei całkowita pula L-karnityny pozostaje niezmieniona (Foster i Harris 1987a; Carlin i in. 1990). Po krótkich, intensywnych ćwiczeniach wystarcza około 30 minut, żeby poziom wolnej L-karnityny i jej estrów wrócił do wartości spoczynkowych (Harris i Foster 1990). Najwyższy poziom L-karnityna w osoczu krwi osiąga w godzinach popołudniowych (Zeyner i Harmeyer 1999).

Pierwsza funkcja L-karnityny to magazynowanie acetylu. Jeśli energia wytworzona w procesach oksydacyjnych w pracującym mięśniu nie jest wystarczająca dla wykonywanej przez nią czynności, niedobór ATP jest dostarczany w efekcie procesu glikolizy. Powstaje pirogronian, który, aby zapobiec hamowaniu produktów końcowych procesu glikolitycznego, jest przekształcany do mleczanu lub acetylo-CoA. W sytuacji narastającej hipoksji konwersja do acetylo-CoA wydaje się na pierwszy rzut oka daremna, ponieważ wykorzystanie energii w cyklu cytrynianowym nie udaje się z powodu braku tlenu. Ale acetylo-CoA może reagować z wolną L-karnityną. Tak otrzymujemy acetylo-L-karnitynę. Do tej funkcji L-karnityna jest wymagana w ilościach większych niż katalityczne. W biopsjach mięśniowych koni, uzyskanych po intensywnych ćwiczeniach na bieżni, stężenie wolnej L-karnityny spadło z 98 % do około 10 %, a stężenie acetylo-L-karnityny odpowiednio wzrosło (Cerretelli i Marconi 1990; Harris i in. 1987).

Udowodniono również, że wraz z wiekiem konia zwiększa się stężenie L-karnityny. Czerwone włókna mięśniowe zawierają wyższe stężenie L-karnityny i mioglobiny w porównaniu do włókien białych. Mięśnie, w których przeważają włókna czerwone, charakteryzują się dużą aktywnością oksydacyjną. Dzięki temu wysokie stężenie L-karnityny w mięśniach czerwonych może być korzystne w związku z bardziej efektywnym wytwarzaniem energii z lipidów (Shimada i in. 2004). U kłusaków mięśnie pośladkowe mogą się składać z 70-80% włókien szybko kurczliwych typu IIA i IIB oraz 20-30% włókien kurczliwych typu I (Essen-Gustavsson i in. 1994). Badania wskazują, że L-karnityna ma wpływ na reakcję zachodzącą w mięśniach, ale potrzebne są dalsze badania, aby wskazać, czy zawarta L-karnityna jest czynnikiem, który ogranicza utlenianie kwasów tłuszczowych (Rivero i in. 2002).

Kwestią problematyczną dotyczącą suplementacji L-karnityną jest określenie, czy dodatek L-karnityny może wpływać na zawartość L-karnityny w mięśniach szkieletowych. Na podstawie badań, w których dwuletnie kłusaki otrzymywały doustnie 10 g L-karnityny dziennie przez 5 tygodni w połączeniu z treningiem wysiłkowym stwierdzono, że pod koniec czasu trwania doświadczenia zawartość całkowitej L-karnityny w spoczynkowym stanie w mięśniach była podwyższona o 46% (Coenen et al. 2000; Harmeyer et al. 1999).

Z punktu widzenia użyteczności sportowej istotne jest, aby suplementacja L-karnityną zwiększała odpowiedź mięśni szkieletowych na trening. Badanie takie przeprowadzono u siedmiu 2-letnich koni rasy Standardbred. Cztery konie były suplementowane 10 g/dzień L-karnityną przez 10 tygodni, a 3 konie stanowiły grupę kontrolną. Wszystkie konie były ćwiczone regularnie co drugi dzień na bieżni przez 5 tygodni (okres treningowy) i trzymane w indywidualnych boksach przez 5 dodatkowych tygodni (okres roztrenowania). Okres treningowy składał się z 8 ćwiczeń o wysokiej i 8 o niskiej prędkości wykonywanych na przemian. Biopsje mięśnia pośladkowego średniego (*Gluteusmedius*) pobierano przed treningiem oraz w piątym i dziesiątym tygodniu po treningu. Adaptacje mięśni do treningu były obserwowane głównie u koni suplementowanych L-karnityną i obejmowały wzrost odsetka włókien typu IIA (δ35%, P<0.05), atrofię włókien typu I (δ24%, P<0.01), wzrost stosunku kapilar do włókien (δ40%, P<0.01) i wzrost ilościowego odczynu okresowego barwnika Schiffa (δ11%, P<0.05), używanego jako wskaźnik zawartości glikogenu wewnątrz włókien. Po roztrenowaniu większość z tych parametrów powróciła do stanu sprzed treningu. Dlatego egzogenna karnityna ma dodatkowy wpływ na reakcje mięśni na trening, co powinno sprzyjać poprawie wyników sportowych (Foster i in. 1988).

3.2 L-karnityna w hodowli koni

L-karnityna odgrywa kluczową rolę w metabolizmie plemników. Dostarcza ona energii poprzez βoksydację, dzięki czemu zwiększa się ich ruchliwość. Zjawisko takie jest dużym atutem w hodowli koni. Przeprowadzono badanie, celem którego było określenie związku pomiędzy

poziomem L-karnityny w osoczu krwi i nasieniu. Zbadano również wpływ L-karnityny jako dodatku do ekstendera na bazie odtłuszczonego mleka podczas przechowywania nasienia w 5°C. W pierwszym eksperymencie wykorzystano próbki nasienia i krwi od 14 ogierów rasy QuarterHorse. Stwierdzono, że stężenie L-karnityny w osoczu nasienia koreluje z parametrami nasienia, a dodatek L-karnityny do ekstendera na bazie mleka odtłuszczonego zachowuje ruchliwość plemników koni przechowywanych w 5°C do 48 godzin (Robespierre et al. 2020). Najpopularniejszą techniką wspomaganego rozrodu koni stosowaną na świecie jest sztuczna inseminacja, zarówno nasieniem świeżym, jak i mrożonym. Dobra jakość nasienia jest najważniejszym czynnikiem umożliwiającym realizację programów hodowlanych. W stadninach koni używa się nasienie ogiera wysokiej jakości, ponieważ duża ilość komórek jest tracona pomiędzy pobieraniem nasienia a zabiegiem sztucznego unasienniania.

Bardzo często się zdarza, że od genetycznie doskonałych ogierów pozyskuje się ejakulat niskiej jakości. Pomoc w tej sytuacji może L-karnityna, która znajduje się również w plazmie najądrza ogiera (Stradaioli i in. 2004). Karnityna bierze prawdopodobnie udział w nabywaniu ruchliwości plemników. Związek ten jest pobierany z krwiobiegu, a następnie uwalniany w świetle najądrza przez aktywne transportery, które są regulowane przez androgeny. Zubożenie najądrza w karnitynę powoduje zmniejszenie zdolności zapładniającej plemników (Giuseppe i in. 2004). L-karnityna i acetylo-L-karnityna modulują wiele funkcji metabolicznych plemników, takich jak β -oksydacja kwasów tłuszczowych, wewnątrzmitochondrialny stosunek acetylo-CoA do wolnego CoA, które dostarczają łatwo dostępnych grup acetylowych, oraz zwiększają wykorzystanie pirogronianu i mleczanu jako substratów energetycznych w dojrzałych plemnikach. U ogierów poziom L-karnityny skorelowany jest z ruchliwością plemników i ich liczbą (Stradaioli i in. 2004). L-karnitynę można stosować dla poprawy żywotności plemników w warunkach przechowywania *in vitro* (Stradaioli i in. 2000). Przeprowadzono doświadczenie, w którym do diety kuców szetlandzkich dodano wiele antyoksydantów, włącznie z L-karnityną. Stwierdzono zmniejszenie morfologicznie nieprawidłowych plemników (Deichsel i in. 2008). Ponadto istnieją również inne doniesienia dotyczące wpływu podawania karnityny na jakość nasienia ogierów. Herfen i in. (1997) stwierdzili, że L-karnityna miała pozytywny wpływ na ruchliwość plemników.

U kłaczy stężenie L-karnityny w osoczu krwi spada już na początku laktacji. Biorąc pod uwagę, że źrebiak pobiera L-karnitynę razem z mlekiem matki, należy uzupełniać jej rezerwuwar poprzez właściwą suplementację. Gruczoł mlekowy czerpie L-karnitynę z krwi kłaczy. Żeby powiększyć poziom stężenia L-karnityny w osoczu krwi i później w mleku, należy dodawać do paszy kłaczy około 10g na dobę przez kilka tygodni przed wyźrebieniem (Benamou i Harris 1993). Średnia zawartość L-karnityny w mleku wynosi około 3,64 mg/100 g mleka. Doustna suplementacja L-karnityny ma wpływ na zwiększenie stężenia L-karnityny w mleku kłaczy i w konsekwencji w osoczu krwi ssących źrebiąt (Zeyner i Harmeyer, 2009). L-karnityna, która znajduje się w brunatnej tkance tłuszczowej nowo narodzonego zwierzęcia, bierze udział w termogenezie i zapewnia zdolność do utrzymania odpowiedniej temperatury ciała. Wysoki poziom L-karnityny w tkance tłuszczowej brunatnej możemy znaleźć szczególnie u gatunków zwierząt, które są przystosowane do trudnych warunków środowiska (Arenas i in. 1998)

4. Podsumowanie

L-karnityna pełni kluczową rolę w organizmie ludzi i zwierząt. Wykazano, że L-karnityna jest pomocna w suplementacji koni hodowlanych i sportowych, aczkolwiek wskazane jest prowadzenie dalszych badań. L-karnityna pomaga zwiększyć utlenianie kwasów tłuszczowych, a tym samym zapewnić energię dla prawidłowego funkcjonowania mięśni. Podczas długotrwałego wysiłku L-karnityna zmniejsza wykorzystanie glikogenu w mięśniach. Głównym miejscem syntezy L-karnityny jest wątroba. Lizyna – substrat startowy do syntezy L-karnityny – pochodzi z mięśni. Regularne podawanie L-karnityny koniom przez kilka tygodni w połączeniu z obciążeniem wysiłkiem może prowadzić do podwyższenia stężenia L-karnityny w mięśniach szkieletowych, podwyższenia poziomu glukozy w osoczu krwi oraz obniżenia stężenia wolnych kwasów tłuszczowych. Doustna suplementacja L-karnityną ma korzystny wpływ nie tylko na procesy metaboliczne, ale również może polepszyć jakość nasienia ogierów, zmniejszając ilość

morfolożycznie nieprawidłowych plemników. Dla źrebiąt L-karnityna to niezbędny składnik w mleku matki, który w pierwsze dni życia pomaga źrebięciu utrzymać ciepło, dlatego suplementacja L-karnityną klaczy wysokożrebnych i karmiących jest niezbędna. Brakuje jednoznacznych informacji na temat dawkowania L-karnityny u poszczególnych grup wiekowych i użytkowych koni.

5. Literatura

- Arenas J, Rubio JC, Martín MA et al. (1998). Biological roles of L-carnitine in perinatal metabolism. *Early human development* 53: 43-S50
- Benamou AE, Harris RC (1993) Effect of carnitine supplement to the dam on plasma carnitine concentration in the sucking foal. *Equine Veterinary Journal* 25: 49-52.
- Coenen M., Vervuert I., Harmeyer J et al (2000) Effect of L-carnitine in young horses on muscle carnitine during a four week training period. In *Proceedings of the Society of Nutrition Physiology (Germany)*.
- Cerretelli P., and C. Marconi. "L-carnitine supplementation in humans. The effects on physical performance. *International journal of sports medicine* 11(1): 1-14.
- Deichsel K, Palm F, Koblichke P, Budik S, Aurich C (2008) Effect of a dietary antioxidant supplementation on semen quality in pony stallions. *Theriogenology* 69: 940-945.
- Essen-Gustavsson B, Roneus N, Poso AR (1997) Metabolic Response in Skeletal Muscle Fibres of Standardbred Trotters After Racing. *Comparative Biochemistry and Physiology* 117: 431-436.
- Foster CV, Harris RC (1992) Total carnitine content of the middle gluteal muscle of thoroughbred horses: normal values, variability and effect of acute exercise. *Equine Veterinary Journal* 24: 52-57.
- Giuseppe S, Lakamy S, Riccardo Z (2004) Effect of L-carnitine administration on the seminal characteristics of oligoasthenospermic stallions. *Theriogenology* 62: 761-777.
- Goa LK, Brogden RN (1987) L-carnitine. *Drug Evaluation* 34: 1-24.
- Gudjonsson H., Ulysses K., Austin L., Ward A. (1985) In vivo studies of intestinal carnitine absorption in rats. *Gastroenterology* 88(6): 1880-1887.
- Harmeyer J (2002) The physiological role of L-carnitine. A review. *Lohmann information* 27: 1-5 .
- Harris RC, Foster CV (1990) Changes in muscle free carnitine and acetylcarnitine with increasing work intensity in the Thoroughbred horse. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology* 60: 81-85.
- Harris RC, Foster CV, Snow DH (1995) Plasma carnitine concentration and uptake into muscle following oral and intravenous administration. *Equine Veterinary Journal* 27: 382-387.
- Hausenblasz J (1996) Effect of L-carnitine on some metabolic parameters of foals. *AllattenyészTakarmonyozas* 45: 397-403.
- Iben C, Moschitz E, Fehleisen B (1999) Effect of L-carnitine supplementation on heart rate and some blood parameters in the eventing horse. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift* 86: 330-338.
- Janicki B, Buzala M (2011) L-karnityna w żywieniu koni sportowych. *Medycyna weterynaryjna* 67(12): 824-828.
- Kędzierski W. (2010) The effect of training on plasma L-carnitine metabolism in purebred Arabian horses. *Journal of Animal and Feed Sciences* 19: 398-407.
- Li B. U. K., Bummer P. M., Hamilton J. W. et al. (1990). Uptake of l-carnitine by rat jejunal brush border microvillous membrane vesicles: Evidence of passive diffusion. *Digestive diseases and sciences* 35: 333-339.
- Meyer J, Daniels SU, Grindler S et al. (2020) Effects of a Dietary L-Carnitine Supplementation on Performance, Energy Metabolism and Recovery from Calving in Dairy Cows. *Animals (Basel)* 10(2): 342.
- Rebouche C.J., Chenard C.A. (1991) Metabolic fate of dietary carnitine in human adults: identification and quantification of urinary and fecal metabolites. *The Journal of nutrition* 121(4): 539-546.
- Rivero JL, Sporler HP, Quiroz-Rothe E et al. (2002) Oral L-carnitine combined with training promotes changes in skeletal muscle. *Equine Veterinary Journal* 34: 269-274.
- Olek R. (2020) Suplementacja karnityną-dwie strony medalu. *Kosmos – Problemy Nauk Biologicznych* 69(4): 777-784.

- Shimada K., Sakuma Y., Wakamatsu J. et al. (2004) Species and muscle differences in L-carnitine levels in skeletal muscles based on a new simple assay. *Meat Science* 68(3): 357-362.
- Snow DH, Harris RC (1989) The use of conventional and unconventional supplements in the thoroughbred horse. *Proceedings of the Nutrition Society* 48: 135-139.
- Stradaoli G, Sylla L, Zelli R, VeriniSupplizi et al. (2000) Seminal carnitine and acetylcarnitine content and carnitine acetyltransferase activity in young Maremmano stallions. *Animal Reproduction Science* 64: 233-245.
- Van Weyenberg S, Buyse J, Janssens GP (2009) Increased plasma leptin through L-carnitine supplementation is associated with an enhanced glucose tolerance in healthy ponies. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* 93: 203-208.
- Zeiner A, Harmeyer J. (1999) Metabolic functions of L-carnitine and its effects as feed additive in horses. A review. *Archives of Animal Nutrition* 52: 115-138.

13. Cukrzyca u zwierząt domowych - praca przeglądowa

Diabetes in pets - a review

Adrianna Michniewicz

Katedra Fizjologii Klinicznej, Koło Fizjologów Klinicznych Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Michniewicz Adrianna: michniewiczada@gmail.com

Opiekun naukowy: dr hab. Katarzyna Palus, prof UWM

Słowa kluczowe: hiperglikemia, pies, kot, insulina

Streszczenie

Cukrzyca to zaburzenie metaboliczne spowodowane nieprawidłową gospodarką glukozy (brak wytwarzania insuliny lub brak reakcji na insulinę), prowadzące do utrzymującej się hiperglikemii i glikozurii. Jest to jedna z najpopularniejszych chorób endokrynologicznych diagnozowanych u zwierząt domowych. Występować może u zwierząt w każdym wieku i każdej rasy oraz każdej płci. Choroba ta zaburza prawidłowe funkcjonowanie narządów i narusza równowagę organizmu, powodując wiele objawów chorobowych, które mogą prowadzić do poważnych powikłań zdrowotnych. Nieleczona cukrzyca jest poważnym zagrożeniem dla zdrowia, a nawet życia chorego zwierzęcia. Niewystarczająca ilość insuliny w organizmie powoduje kaskadę objawów: wzrostu stężenia glukozy we krwi, kwasicę organizmu, a przy braku leczenia – śpiączkę i śmierć. Mimo trudów leczenia, przebieg choroby jest możliwy do usystematyzowania i zapewnienia komfortu życia zwierzęcia. W leczeniu cukrzycy niezmiernie ważne jest zrozumienie tej choroby przez opiekuna i jego ścisła współpraca z lekarzem weterynarii. Prawidłowo kontrolowane i leczone zwierzę mimo choroby jest w stanie funkcjonować i żyć komfortowo, niezwykle ważne jest jednak wczesne rozpoznanie i leczenie pod okiem specjalisty.

1. Wstęp

Cukrzyca, to inaczej grupa zaburzeń metabolicznych różnego pochodzenia, które skutkują przewlekłym podwyższeniem stężenia glukozy we krwi. Zaburzenia te wywołane są wadliwym działaniem insuliny lub jej brakiem w organizmie zwierzęcia. Dzięki insulinie następuje pobieranie glukozy z krwi przez komórki mięśniowe, wątrobowe i tłuszczowe. Dzięki temu mechanizmowi organizmowi dostarczana jest energia potrzebna do wszelkich procesów życiowych. Przy zaburzeniu tych mechanizmów następuje występowanie bardzo wysokiego poziomu cukru we krwi i usuwanie go przez nerki. Organizm pozbawiony tego podstawowego źródła energii musi pobierać ją z rozpadu tłuszczu i białka. Powoduje to stopniowe wyniszczenie organizmu. Jednocześnie tworzą się ciała ketonowe - produkty zatrujące zwierzę. To dzięki insulinie, glukoza, która jest podstawowym surowcem energetycznym, może wnikać do wszystkich komórek organizmu. Nieleczona cukrzyca upośledza działanie wielu narządów wewnętrznych i efekcie prowadzi do śmierci zwierzęcia. Z roku na rok rośnie liczba osób chorujących na cukrzycę. Nie wszyscy zdają sobie sprawę, że problem dotyka także zwierząt domowych. Niektóre rasy psów i kotów są bardziej predysponowane do wystąpienia cukrzycy, np. sznauclery, maltańczyki i miniaturowe rasy, koty norweskie leśne, birmańskie, syjamskie.

2. Opis zagadnienia

Cukrzyca to choroba, która ma charakter metaboliczny, jednak problemy wbrew pozorom nie dotyczą tylko gospodarki węglowodanowej. Zaburzeniom ulega też przemiana tłuszczu i białek. Chore zwierzę ma również problemy ze stabilnością równowagi kwasowo-zasadowej. Dodatkowo z różnych stron mogą pojawić się powikłania, których leczenie będzie utrudnione i w wielu przypadkach wydłużone. Przede wszystkim organizm chorego na cukrzycę ma problem

z utrzymaniem glukozy na właściwym poziomie. Podczas trawienia posiłek jest rozkładany na proste składniki odżywcze, łatwo przyswajalne przez organizm. Węglowodany rozkładane są na cukry proste, z których najważniejszym jest glukoza. Po przyswojeniu glukoza stanowi źródło energii napędzającej organizm do działania. Aby glukoza mogła zostać dostarczona do wnętrza komórek, niezbędna jest insulina hormon produkowany przez trzustkę. Po posiłku, kiedy poziom cukru wzrasta, niezbędny jest wyrzut insuliny, wydzielanej przez komórki β trzustki. Dzięki niej glukoza może przenikać do wnętrza komórek, a tym samym jej poziom we krwi stopniowo obniża się do właściwego. Jeśli trzustka nie produkuje wystarczająco dużo insuliny glukoza pozostaje w krwiobiegu, wzrasta poziom tego cukru we krwi i rozwija się stan chorobowy jakim jest cukrzyca. U psów najpowszechniejsza postać cukrzycy przypomina cukrzycę typu 1 u ludzi, podczas gdy u kotów najczęściej występuje cukrzyca przypominająca cukrzycę typu 2, chociaż istnieją jeszcze inne rodzaje choroby. Najczęściej wywołują ją przewlekłe problemy z trzustką (zapalenie, nowotworzenie), jednak istotne są również uwarunkowania genetyczne, a także niewłaściwy tryb życia zła dieta, otyłość, brak aktywności. Cukrzyca może też wystąpić wtórnie do innych chorób, jak np. nadczynność tarczycy lub też może zostać wywołana długotrwałym stosowaniem leków hamujących ruje, czy preparatów sterydowych. Za istotne czynniki ryzyka rozwoju cukrzycy typu 2 w medycynie człowieka uznaje się niezdrowy tryb życia, w tym brak aktywności fizycznej oraz otyłość. Również u kotów czynniki te uważa się za ważne w kontekście prawdopodobieństwa wystąpienia cukrzycy.

3. Przegląd literatury

3.1 Częstość występowania i predyspozycje

Cukrzyca dotyka około 1 na 300 psów, ale uważa się, że często występuje niedodiagnozowana. Cukrzyca występuje częściej u psów w średnim wieku i starszych (4-14 lat), ale można ją zdiagnozować u psów w każdym wieku, w tym także u zwierząt młodych. Suki zarówno sterylizowane jak i niesterylizowane są dwa razy bardziej narażone na cukrzycę niż samce. Choroba może być skutkiem przyjmowania leków, szczególnie środków antykoncepcyjnych czy wahań hormonalnych występujących u niesterylizowanych suk. Przyczyna cukrzycy u psów jest w dużej mierze nieznana, ale eksperci sugerują, że genetyka może odgrywać pewną rolę (Grzegory 2017). Jak już wspomniałam każdy pies może zachorować na cukrzycę, ale niektóre rasy są albo predysponowane, albo bardziej zagrożone. Istnieją rasy, bardziej i mniej podatne na wystąpienie choroby, co związane jest z przekazywaniem specyficznych genów. Samojedy, teriery, sznauclery, beagle, czy pudle są bardziej narażone na zachorowanie, natomiast owczarki niemieckie, bokserzy, czy golden retrievery należą do ras o niskim ryzyku zachorowania (Behrend i in. 2018). Choroba występuje najczęściej u psów starszych 7-9 letnich, chyba że jest wrodzona wtedy w wieku 1-2 lat, suk 3-krotnie częściej niż u psów. Bardzo często rozpoczyna się po ciecce. Cukrzyca dotyka około 1 na 200 kotów, ale uważa się, że tak jak w przypadku psów bywa często chorobą niedodiagnozowaną. Występuje częściej u kotów w średnim wieku i starszych. Podobnie jak w przypadku psów, każdy kot może zachorować na cukrzycę, ale niektóre rasy, takie jak kot birmański, wydają się być predysponowane. Ponadto koty otyłe są bardziej narażone na rozwój cukrzycy, ponieważ otyłość zmniejsza wrażliwość organizmu na insulinę. Prowadzi to do większego zapotrzebowania na insulinę, co może prowadzić do wyczerpania wyspecjalizowanych komórek trzustki produkujących insulinę. Wykastrowane samce są również bardziej narażone na cukrzycę. Inne czynniki ryzyka cukrzycy u kotów to m.in. wiek, styl życia w pomieszczeniach zamkniętych, brak aktywności fizycznej, czy obecność innych stanów chorobowych (Behrend i in. 2018).

3.2 Objawy cukrzycy

Pierwszym objawem cukrzycy u czworonogów jest zwykle wzmożone pragnienie, połączone ze zwiększonym wydalaniem moczu. U zwierząt wzrasta też chęć do jedzenia, jednak mimo to zwierzę systematycznie traci swoją masę mięśniową. Pozornie więc chudnie, jednak zmniejszająca się objętość mięśni, pociąga za sobą jeszcze większą utratę chęci do aktywności. Przez co, czworonogi niechętnie skaczą, poruszają się, stają się bardziej oswowiale i apatyczne. Cukrzyca u psów i kotów dotkliwie odbija się na ich samopoczuciu i wyglądzie. U chorych zaobserwować

można już wspomnianą apatię, osłabienie, niechęć do aktywności, ospałość, pogorszenie kondycji szaty, ich sierść jest sucha, matowa i zaniedbana, gdyż zwierzęta nie są zainteresowane codzienną toaletą (Reichler 2009). Koty bardzo długo, mimo bardzo niskiego poziomu cukru, zachowują się normalnie. W bardziej zaawansowanych przypadkach cukrzycy objawy mogą stać się wyraźniejsze i bardziej dokuczliwe. Nieleczona cukrzyca wyniszcza organizm zwierzęcia. W toku choroby mogą wystąpić infekcje dróg moczowych i skóry czy zaburzenia neurologiczne. Cukrzyca może też powodować groźne powikłania, np. zaćmę, niewydolność nerek, stłuszczenie wątroby, kwasicę ketonową (Ettinger i. in. 2005).

3.3 Rozpoznanie choroby

Rozpoznanie choroby stawia się na podstawie charakterystycznych objawów klinicznych oraz badań laboratoryjnych takich jak oznaczenie poziomu glukozy we krwi oraz obecności glukozy w moczu. W badaniu ogólnym moczu stwierdzenie obecności glukozy musi być potwierdzone równoczesnym wzrostem stężenia glukozy we krwi, ponieważ na podstawie obecności glukozy tylko w moczu nie można postawić ostatecznej diagnozy. Glukoza w moczu może występować również przy uszkodzeniach kanalików nerkowych, jej stężenie we krwi jest wówczas prawidłowe. W badanym moczu analizie podlega obecność glukozy w moczu, czasem obecność białka i ciał ketonowych oraz podwyższonego ciężaru właściwego w moczu. W badaniu krwi zawsze wykrywamy podwyższony poziom glukozy, możemy obserwować podwyższenie wskaźników jak ASPAT, ALAT, AP, mocznik, kreatynina, cholesterol (Jackowska 2018). O hiperglikemii mówimy, kiedy poziom glukozy wynosi u psów na czczo powyżej 150-250 mg/dl, natomiast u kotów 250-300 mg/dl. U kotów może występować przejściowa forma hiperglikemia spowodowana stresem, dlatego u tego gatunku najlepiej zbadać poziom fruktozaminy w surowicy, w przypadku cukrzycowej kwasicy ketonowej również wykrywa się ciała ketonowe w moczu. Dalsze badania przeprowadza się w celu wykrycia chorób współistniejących, mogących powodować nietolerancję węglowodanów bądź być ich skutkiem. W zaawansowanej i powikłanej chorobie zaleca się badanie USG jamy brzusznej. Narządy istotne do oceny w obrazie USG, których zmian możemy się spodziewać u pacjenta z cukrzycą, to wątroba, w której zaobserwować możemy powiększenie spowodowane stłuszczeniem, trzustka wykazująca objawy zapalenia, układ rozrodczy u samic, zespół zapalenia błony śluzowej macicy/ropomacicza, nerki, ponieważ cukrzyca może predysponować do rozwoju przewlekłej choroby nerek oraz zmienione nadnercza (Ettinger i in. 2005).

3.4 Typy cukrzycy

Psy

Typ I występuje przede wszystkim u psów. Wynika ona z uszkodzenia komórek beta wysepek trzustkowych odpowiedzialnych za wydzielanie insuliny. Uszkodzenie to ma podłoże immunologiczne (prawdopodobnie autoimmunologiczne) bądź jest skutkiem zapalenia trzustki. Typ II występuje częściej u kotów i prowadzi do rozwoju insulinooporności. Receptory na komórkach docelowych stają się mniej wrażliwe na insulinę, przez co, aby utrzymać prawidłowe stężenie glukozy we krwi, nasila się proces wytwarzania i uwalniania insuliny. Początkowo komórki beta wysepek trzustkowych mogą się dostosować poprzez wydzielanie coraz większych ilości insuliny. Jednak wraz z upływem czasu i przy stałym narażeniu na podwyższone stężenie glukozy w środowisku czynność tych komórek ulega upośledzeniu („wypalenie” komórek beta). Postępującej cukrzycy typu II towarzyszy odkładanie się amyloidu w tkance trzustkowej. Typ III tzw. wtórna określa cukrzycę, która ma swoją przyczynę w innych rozwijających się chorobach. Przykładem mogą być zmiany w części wewnątrzwydzielniczej trzustki, spowodowane stanami zapalnymi, czy nowotworzeniem. Podobny skutek będzie miało nadmierne wydzielanie hormonów, które hamują działanie insuliny i nie pozwalają na jej skuteczne działanie. Do takich hormonów należy somatostatyna, tyroksyna i trójiodotyronina, progesteron lub kortyzol. Dlatego zaburzenia pracy np. tarczycy czy nadnerczy, mogą mieć negatywny wpływ na poziom glukozy. Przejściowa cukrzyca jest niezwykle rzadka u psów. Mamy z nią do czynienia u zwierząt z subkliniczną cukrzycą, będących w trakcie terapii lekami, które działają przeciwstawnie do insuliny (są to m.in. leki blokujące cykl płciowy suk). Podobnie dzieje się u niewielkiego odsetka suczek w okresie porojowym lub po sterylizacji

wykonanej w tej fazie cyklu. Przejściowa cukrzyca występuje najczęściej u kotów i może być związana np. ze stresem. (Niemand 2011).

Wyjątkową cechą cukrzycy kotów jest możliwość jej remisji. U kotów, u których doszło do ustąpienia choroby, stężenie glukozy we krwi powraca do normy, co pozwala na zaprzestanie leczenia na pewien czas. Niemniej jednak u większości tych osobników stan cukrzycowy nawraca. Literatura weterynaryjna nie definiuje remisji w sposób jednoznaczny, co powoduje pewne niejasności w kwestii tego, które schematy leczenia mogą prowadzić do remisji cukrzycy (Ward 2019).

Koty

U kotów można dokonać nieco innego podziału cukrzycy, w którym wyróżnia się:

Typ 1. cukrzycy w którym dochodzi do niszczenia komórek beta trzustki, czego konsekwencją jest najczęściej bezwzględny niedobór insuliny. Podłożem tego procesu jest zazwyczaj autoimmunologiczne (autoprzeciwciała lub odpowiedź komórkowa) albo idiopatyczne. Typ 2. cukrzycy w którym dochodzi do upośledzenia procesów produkcji insuliny z równoczesną opornością komórek docelowych na ten hormon, o nieznannej etiologii. Jest to odpowiednik cukrzycy insulinoniezależnej, diagnozowany poprzez wykluczenie wszystkich innych przyczyn. Typ 3. cukrzycy jest to zazwyczaj cukrzyca wtórna do choroby pierwotnej, na przykład w endokrynopatiach, wadach genetycznych, chorobach trzustki, reakcjach na podane leki. Cukrzyca ciążowa to stan zwiększonej oporności komórek docelowych na insulinę, pojawiający się w czasie ciąży wraz z wcześniejszym upośledzeniem czynności lub liczby komórek beta trzustki. Stan przedcukrzycowy jest to stan wstępny każdego z wymienionych powyżej wariantów (Gadomska i in. 2013).

3.5 Powikłania choroby

Nieleczona cukrzyca prowadzi do wielu groźnych chorób, które szybko postępując, mogą być śmiertelne. Dużo zwierząt kończy swoje życie krótko po diagnozie. Ale nie jest to regułą, psy dobrze zaopiekowane, pod stałą kontrolą lekarza, których opiekun przestrzega zaleceń, potrafią żyć naprawdę długo. Powikłanie nie są związane jedynie z hiperglikemią we krwi. Wzmoczony rozpad tłuszczów wywołuje stłuszczenie wątroby, natomiast rozpad białek, może być przyczyną nie tylko znacznej utraty masy ciała, ale również problemów dermatologicznych, czy spowolnienia gojenia ran. Kolejną sytuacją zagrażającą życiu zwierzęcia jest cukrzycowa ketoza i kwasica, przy których najczęściej obserwuje się postępującą apatię, brak apetytu, wymioty, cechy odwodnienia oraz specyficzny zapach acetonu lub owoców z jamy ustnej. Kwasica metaboliczna powoduje przyspieszenie oddechów, co może doprowadzić do pojawienia się oddechu typu Kussmaula, czyli powolne, głębokie wdechy i wydechy. W tym przypadku właściciel powinien udać się z psem do lekarza weterynarii w celu stabilizacji ogólnego stanu klinicznego. Niezbędne jest założenie wenflonu oraz zastosowanie płynoterapii. Często występuje wspomniane stłuszczenie wątroby oraz niedokrwienie nerwów, które prowadzi do neuropatii cukrzycowej. Objawy z tak zaawansowanymi problemami, to zmniejszenie masy mięśniowej w kończynach, osłabienie odruchów i nieprawidłowe ustawienie kończyn, a nawet poruszanie się na całej stopie. Cukrzyca może też prowadzić do infekcji pęcherza moczowego, chorób skóry, a także poważnej w skutkach kwasicy ketonowej, czy uszkodzenia siatkówki oka i występowania zaćmy (Niemand 2011). Podczas leczenia cukrzycy insuliną musisz zachować szczególną ostrożność, by nie doprowadzić do hipoglikemii. Zbyt niski poziom cukru we krwi jest bezpośrednim zagrożeniem życia. Jeżeli zwierzę otrzymało prawidłową dawkę insuliny, ale nie dostało właściwej ilości pokarmu lub zwróciło jedzenie również może dojść do hipoglikemii. Zwiększona aktywność fizyczna pupila również może prowadzić do obniżenia poziomu cukru we krwi. Przy hipoglikemii czworonóg może zachowywać się inaczej niż zwykle, może poruszać się w nietypowy sposób, być nadmiernie spokojny lub stracić apetyt. Z drugiej strony pupil może być bardzo zaniepokojony i mogą występować drgawki lub drżenie mięśni (Niemand 2011).

3.6 Rokowanie

Ze względu na to, że pacjenci weterynaryjni nie doświadczają długotrwałych wyniszczających skutków cukrzycy związanych z hiperglikemią, które obserwuje się u ludzi, docelowe stężenia glukozy mogą zawierać się u nich w szerszym zakresie. Lekarze weterynarii

powinni zwracać uwagę na monitorowanie zakażeń dróg moczowych, zapalenia trzustki i innych endokrynopatii, takich jak nadczynność kory nadnerczy. Przy przestrzeganiu zaleceń lekarskich przez właścicieli i właściwej opiece weterynaryjnej zwierzęta z cukrzycą nawet te cierpiące z powodu innych wklajających chorób, mogą wieść komfortowe życie.

W przypadku kotów, mamy szansę na całkowite wyleczenie choroby i tym samym odstawienie leków. Ważne jest jednak wczesne wykrycie problemu i ścisła współpraca z lekarzem weterynarii. Stąd też warto pamiętać o regularnych badaniach zwierząt nawet wtedy, kiedy pozornie wydają się być zdrowe (Ward 2019).

3.7 Leczenie

Rozpoczęcie leczenia powinna poprzedzać rozmowa z właścicielem, uświadamiająca mu, że cukrzyca najprawdopodobniej będzie towarzyszyć zwierzęciu do końca życia i że konieczne będzie codzienne regularne podawanie leków oraz wykonywanie regularnych badań kontrolnych. Cukrzyca jest chorobą nieuleczalną (z wyjątkiem, czasami występującej progresji u kotów). Działania lekarzy weterynarii skupiają się na utrzymaniu odpowiedniego poziomu cukru we krwi i zapewnieniu w miarę komfortowego życia pupilom. Leczenie powinno zadziałać wielokierunkowo. Należy zacząć od stabilizacji ogólnej i hormonalnej, a także unormować towarzyszące schorzenia, wprowadzić odpowiednią dietę i rytm dnia oraz w razie konieczności insulinoterapię. W leczeniu cukrzycy najczęściej stosuje się insulinę w zastrzykach, istnieją również preparaty doustne. Mówi się o nim w kontekście leczenia kotów, ale w praktyce nie pozwala osiągnąć zadowalających efektów. Najczęstszym lekiem są pochodne sulfonilomocznika stymulujące wydzielanie insuliny w komórkach trzustki ich stosowanie wydaje się uzasadnione jedynie w początkowej fazie cukrzycy.

Przykładowy schemat stosowania zastrzyków z insuliną: dawka początkowa insuliny – 0,25-0,7 j.m./kg m.c. 2x dziennie; pierwsza kontrola poziomu cukru we krwi jest zalecana 3-5 dni po wprowadzeniu leczenia; wykonanie dziennego profilu glukozy we krwi, czyli tak zwanej krzywej cukrowej – pomiar glukozy wykonuje się co 2-3 godziny zaczynając od pomiaru tuż przed podaniem insuliny; dopasowanie dawki insuliny. Na początku leczenia dawka musi być często modyfikowana według potrzeby i po uzgodnieniu z lekarzem o 0,25-1,0 j.m./zwierzę.

Występuje kilka rodzajów insuliny. Różnią się między sobą pochodzeniem (wieprzowa, wołowa, mieszana, syntetyczna) i długością działania. Insuliny o krótkim okresie działania (1-8h) zarezerwowane są do leczenia szpitalnego, długo działające (do 28h) będą wykorzystywane do codziennej długoterminowej terapii. W praktyce najczęściej wykorzystuje się insulinę Caninsulin i Lantus Glargine. Insulinę podaje się 1 lub 2x dziennie w zależności od efektu działania. Dawkę i częstotliwość podawania ustali zawsze indywidualnie.

Przykłady różnych rodzajów insuliny:

Ultrakrótko działające insuliny są przeznaczone do leczenia powikłanej cukrzycy, w stanach kwasicy ketonowej i na samym początku leczenia pod kontrolą lekarza weterynarii. Stosowane są razem z płynoterapią dożylną. Początek działania obserwujemy 15-30 minut po iniekcji, szczyt działania po 1-4 godzinach, czas działania 3-6 godzin. Insuliny o średnim działaniu przeznaczone do leczenia przypadków niepowikłanych, a także do terapii długotrwałej. Początek działania 0,5-3 godziny po iniekcji, szczyt działania po 2-10 godzinach, czas działania 4-24 godzin. Preparaty złożone z insuliny o krótkim i średnim działaniu są przeznaczone głównie dla pacjentów z wyraźną hiperglikemią po jedzeniu. Długo działające insuliny mają swój początek działania 1-8 godzin po iniekcji, szczyt działania po 4-16 godzin, czas działania 8-28 godzin. Pośrednie między insulinami o średnim i długim działaniu (Insulin Lente, Caninsulin) jej początek działania < 1 godziny po iniekcji, szczyt działania po 2-10 godzinach, czas działania 6-24 godzin. Przed rozpoczęciem leczenia insuliną należy dokładnie zapoznać właściciela z zasadami dawkowania oraz bezpiecznego przechowywania, przygotowywania i ewentualnego rozcieńczania leku. Insulina powinna być stale przechowywana w lodówce i chroniona przed światłem. Nie wolno jej mrozić oraz zaleca się by fiołki z insuliną przechowywać w pozycji pionowej. Przed podaniem zawsze należy insulinę delikatnie wymieszać, ale nie wolno jej wstrząsać. Najczęstsze miejsca do podawania iniekcji u zwierzęcia to fałd skóry między łopatkami, okolica fałdu uda. Właściciel zwykle ma za zadanie obserwować stan kliniczny zwierzęcia od momentu wprowadzenia insuliny do terapii cukrzycy, ilość

pobieranego pokarmu, wypijanej wody i produkowanego moczu, a także kontrolować masę ciała, zazwyczaj raz w tygodniu. (Feldman 2009). Zmiana pokarmu jest nieodłącznym elementem leczenia cukrzycy. Dieta powinna mieć stałą wartość energetyczną i niezmienną zawartość węglowodanów. Ważne jest obniżenie ilości cukrów prostych, a także dodanie włókna pokarmowego. Na rynku dostępne są karmy suche i mokre dla psów i kotów przeznaczone dla chorych zwierząt. Można również samemu przygotowywać odpowiednio zbilansowane posiłki w domu, skonsultowane i ustalone wraz ze specjalistą do spraw żywienia zwierząt. Trzecią bardzo istotną rzeczą przy kontroli cukrzycy jest stały wydatek energetyczny zwierzęcia, a więc zapewnienie stałej aktywności ruchowej. Nadmierny ruch powoduje zwiększone spalanie cukru i może doprowadzić do hipoglikemii, czyli nadmiernego spadku cukru we krwi. Niezwykle istotna przy cukrzycy jest stabilizacja hormonalna samicy. W związku z tym, że absolutnym przeciwwskazaniem jest stosowanie antykoncepcji hormonalnej pozostaje więc sterylizacja chirurgiczna. Bardzo istotny jest też okresowy pomiar glukozy przez właściciela. W związku z tym zaleca się, aby właściciel zaopatrzył się w glukometr i sprawdzał poziom cukru zwłaszcza w momentach pogorszenia się stanu psa. Jeśli zwierzę ma nadwagę, elementem leczenia będzie też odchudzanie. Przy walce zarówno z cukrzycą, jak i otyłością niezwykle istotne będzie podawanie odmierzonej porcji pożywienia i pilnowanie stałych pór karmienia (Ward 2019).

Każdy z nas ma inny styl życia i swoje obowiązki. Koty muszą się do nas dostosować i robią to, choć my niekoniecznie zdajemy sobie z tego sprawę. W przypadku wystąpienia cukrzycy u kota, niezwykle istotne jest wprowadzenie regularności w nasz dzień.

Profilaktyczne badanie krwi może nam bardzo pomóc i zasygnalizować chorobę w naprawdę wczesnej fazie. Również pierwsze niepokojące objawy, zgłaszane na bieżąco lekarzowi weterynarii, pozwalają na dużo szybsze wykrycie problemu. Wczesna i skuteczna reakcja, może znacznie ułatwić dalsze leczenie i złagodzić przebieg tej nieprzyjemnej choroby (Niemand 2011).

4. Podsumowanie i wnioski

Cukrzyca to choroba, która może mieć różną przyczynę. Jest trudna w leczeniu, gdyż często musi być ono prowadzone wielokierunkowo i wymaga od nas sporo zaangażowania. Zdiagnozowanie cukrzycy u zwierzęcia niesie ze sobą konieczność zmiany wielu przyzwyczajeń. Posiłki, spacer, aktywność i odpoczynek, a nawet poziom stresu wszystko powinno być do siebie zbliżone każdego dnia. Dodatkowo należy przestrzegać terminów kontrolnych wizyt lekarskich i badań. Jednak, że dobrze zdiagnozowane zwierzę, z odpowiednio wdrożonym leczeniem jest w stanie przeżyć wiele lat z chorobą, a naszym zadaniem jako lekarzy jest stała edukacja właścicieli w tym temacie.

5. Literatura

- Behrend E, Holford A, Lathan P, i in. (2018) AAHA Diabetes Management Guidelines for Dogs and Cats. *Journal of the American Animal Hospital Association* 54: 1-21.
- Ettinger SJ, Feldman EC, i in. (2005) *Diabetes mellitus*. Elsevier Saunders wydanie 6:1563-92.
- Feldman EC (2009) Diabetes remission in cats: which insulin is best? *Contin. Educ. Vet.*, s. 7.
- Gadomska J, Gójska-Zygner O, Wieczorek M i in. (2013) Cukrzyca u kotów. Część I. Etiologia i patogeneza. *Życie Weterynaryjne*, 458-462.
- Grzegory M (2017) Cukrzyca u psów – najczęstsze problemy przy leczeniu tej choroby. *Magazyn Weterynaryjny*, 38-42.
- Jackowska N (2018) Monitoring cukrzycy u psów i kotów. *Veterinary Life*, 7-8.
- Niemand HG (2011) *Praktyka kliniczna: Psy*. Wydawnictwo Galaktyka, 842-846.
- Reichler IM (2009) Gonadectomy in cats and dogs a review of risks and benefits. *Reprod. Domest. Anim.* 29-35.
- Ward CR (2019) Nutrition And Diabetes Mellitus. *Today's Veterinary Practice* Vol 9, No 6, November/December, 57.

14. Zatrucia pokarmowe u zwierząt domowych

Food poisoning in pets

Adrianna Michniewicz

Katedra Fizjologii Klinicznej, Koło Fizjologów Klinicznych Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

Adrianna Michniewicz: michniewiczada@gmail.com

Opiekun naukowy: dr hab. Katarzyna Palus, prof UWM

Słowa kluczowe: pies, kot, wymioty, biegunka

Streszczenie

W medycynie weterynaryjnej spotykamy różnego rodzaju substancje oddziaływające toksycznie na organizm zwierzęcia. Czas wystąpienia objawów klinicznych od narażenia na toksynę jest z reguły szybki a rokowanie uzależnione od typu toksyny. Psy są gatunkiem bardziej narażonym na zatrucia niż koty, wynika to między innymi z ich różnej natury. W porównaniu do kotów psy posiadają mniejszą zdolność selekcji pobieranego pokarmu. Koty potrafią zaprzestać pobierania pożywienia, gdy nie wyczuwają w nim znanego zapachu, który kojarzy się im z jedzeniem. W większości, bo ponad 90% zatruc ma charakter przypadkowy i ostry, a dochodzi do nich najczęściej w domu właściciela zwierzęcia bądź w jego niedalekim sąsiedztwie. Zatrucia żywnością wynikają głównie z niewiedzy właścicieli na temat toksyczności niektórych produktów, ale także ze względu na powszechne występowanie tych artykułów w gospodarstwach domowych, co znacznie ułatwia przypadkowe spożycie ich przez zwierzęta.

1. Wstęp

Zatruciem nazywamy szereg zaburzeń czynności organizmu pod wpływem wprowadzonej do niego trucizny. Z definicji trucizna to substancja, która po dostaniu się do organizmu, w określonej dawce, powoduje niekorzystne zaburzenia w jego funkcjonowaniu, inne niekorzystne zmiany w organizmie lub jego śmierć. W ujęciu potocznym zatrucia pokarmowe to nagłe, gwałtowne dolegliwości żołądkowo-jelitowe, które manifestują się najczęściej w postaci wymiotów i biegunek. Dość charakterystyczne jest to, że objawy kliniczne zatrucia pojawiają się stosunkowo szybko po spożyciu pokarmu skażonego drobnoustrojami lub też po połknięciu jakiegokolwiek substancji, uważanej za trującą dla danego gatunku. Zatrucie pokarmowe jest więc rodzajem nietolerancji pokarmowej, w obrębie której znajdują się także reakcje anafilaktyczne, idiosynkrazja pokarmowa, reakcje farmakologiczne oraz metaboliczne. Zatrucia to jedna z najczęstszych przyczyn wizyt ze zwierzętami w gabinetach weterynaryjnych. Są one wynikiem naturalnej ciekawości zwierząt, w wyniku której zjadają one potencjalnie niebezpieczne substancje. Niekiedy czas w przypadku zatrucia odgrywa decydującą rolę i pomocy zwierzęciu należy udzielić w domu.

2. Opis zagadnienia

Zatrucia u zwierząt zdarzają się bardzo często i są częstą przyczyną wizyt u lekarza weterynarii. Mogą mieć przebieg ostry lub przewlekły, czasami zdarza się, że mimo poprawy stanu pacjenta po leczeniu z powodu zatrucia niestety utrzymują się objawy związane z trwałym uszkodzeniem narządów wewnętrznych takich jak nerki czy wątroba. W gospodarstwach domowych jest obecnych wiele substancji, które mogą być szkodliwe dla czworonoga. Przyczynami nietolerancji pokarmowych mogą być konkretne składniki i dodatki stosowane do produkcji żywności, ale także produkty metabolizmu drobnoustrojów, które odpowiedzialne są za psucie się żywności. Znanych jest wiele składników pokarmowych, które mogą niekorzystnie oddziaływać na zdrowie psów i kotów. Większość z nich jest powszechnie dostępna, a fakt, iż zwierzęta mają zwyczaj jedzenia potencjalnie niebezpiecznych przedmiotów oraz substancji, zarówno w domu, jak i poza nim,

dotatkowo sprzyja wystąpieniu różnego rodzaju zatruc. Szczególnie narażone są młode psy i koty, które są bardziej dociekliwe i uwielbiają odkrywać świat za pomocą zębów i języka. Obecnie najpowszechniejszymi czynnikami związanymi z narażeniem zwierząt na zatrucie są rodentycydy, czekolada, farmaceutyki, glikol, metale, pestycydy, rośliny oraz różne środki np. chemiczne powszechne w gospodarstwach domowych. Karmienie zwierząt żywnością dla ludzi może również okazać się niebezpieczne. Do zatruc pokarmowych u zwierząt towarzyszących najczęściej dochodzi przypadkowo, na skutek jednorazowego spożycia niewłaściwego pokarmu lub też po połknięciu trującej substancji. Niestety, zdarzają się również zatrucia, będące skutkiem zamierzonych działań ze strony człowieka.

3. Przegląd literatury

3.1 Ogólne informacje

Istnieją znaczące różnice między gatunkami w zakresie występowania zatruc, a fakt ten można wytłumaczyć odmiennym zachowaniem psów i kotów. Generalnie koty są w mniejszym stopniu narażone na spożycie trucizn, a zdecydowana większość epizodów zatrucia pokarmowego występuje u psów. Prawdopodobnie wynika to z powodu dociekliwej natury psów i ich chęci zbadania wszystkiego za pośrednictwem języka. Istnieje również szczególna podatność pewnych gatunków bądź ras zwierząt na zatrucia. Koty są bardziej wrażliwe na działanie insektycydów niż psy. Niektóre zatrucia spotykane są wyłącznie u kotów, ponieważ ze względu na ich szczególny metabolizm są one bardziej wrażliwe na działanie wielu czynników toksycznych. Istnieją również pokarmy, które są jadalne dla ludzi, a nawet innych gatunków zwierząt, które mogą stanowić zagrożenie dla psów ze względu na ich odmienny metabolizm, np. czekolada, kofeina i inne metyloksantyny, winogrona, rodzynki, cebula, czosnek, awokado, alkohol, orzechy. Najczęstszymi trującymi pokarmami dla kotów są cebula i czosnek oraz inne pokrewne warzywa korzeniowe, zielone pomidory, zielone surowe ziemniaki, czekolada, winogrona, rodzynki. Niektóre pokarmy mogą powodować jedynie łagodny rozstrój układu pokarmowego, podczas gdy inne mogą powodować poważne choroby, a nawet śmierć zwierzęcia. Niektóre rasy silniej reagują na pewne substancje i są bardziej predysponowane niż inne. Przykładowo owczarki szkockie oraz ich mieszańce mogą być bardziej wrażliwe na iwermektynę czy loperamid. W przypadku bakteryjnych zatruc pokarmowych dużą rolę odgrywa wiek zwierzęcia. Młode psy i koty w ciągu swojego życia nie były jeszcze narażone na powszechne patogeny w ich środowiskach, więc ich układ odpornościowy dopiero się uczy, z jakimi zarazkami walczyć. W tym czasie szczenięta i kocięta są bardziej podatne na infekcje, które prawdopodobnie nie wywołałyby choroby u osobnika dorosłego (Cortinovic i Caloni 2016).

3.2 Objawy

Objawy, które mogą wskazywać na spożycie toksycznej lub trującej substancji są różnorodne i zależą od jej rodzaju oraz ilości. Symptomy mogą manifestować się wyłącznie ze strony jednego układu, często jednak obserwuje się mieszany obraz kliniczny. Najczęściej przy zatruciach, początkowo występują objawy ze strony przewodu pokarmowego, a są to między innymi wymioty, bądź wymioty z krwią, a nawet puste wymioty, biegunka z możliwą domieszką krwi, smołowate lub czarne stolce, nudności, bolesność przy omacywaniu jamy brzusznej, intensywne ślinienie zwierząt, problemy z połykaniem, nadmierne pragnienie, osłabienie apetytu lub jego brak. Często spotykane przy zatruciach są również objawy ze strony układu nerwowego takie jak nietypowe zachowanie zwierząt, osłabienie, zaburzenia świadomości, ośpienie lub nadmierne pobudzenie, drgawki, drżenia mięśniowe, rozszerzenie lub zwężenie źrenic, niedowidzenie, wokalizacja, trudności w poruszaniu się, brak koordynacji ruchowej, a nawet śpiączka. Mogą również pojawić się objawy ze strony układu krążenia wśród których najczęściej wyróżnia się błądzenie lub zasinienie błon śluzowych, przebarwienie dziąseł, zwolniona lub przyspieszona akcja serca, spadek lub wzrost ciśnienia krwi oraz przy silnym ostrym zatruciu nawet zapaść. Wśród innych objawów wyróżnić można zmniejszone lub zwiększone oddawanie moczu, przyspieszony oddech, zmiany skórne, obrzęki i zaczerwienienie skóry oraz krwawienia z dróg rodnych (Cortinovic i Caloni 2016).

3.3 Czekolada

Czekolada to jedna z najczęstszych przyczyn zatruc pokarmowych u psów. Toksyczny jest nie tylko sam produkt, ale także wszystkie inne słodkości z jego dodatkiem takie jak cukierki w polewie czekoladowe czy czekoladowe ciasteczka. Czekolada pochodzi z prażonych nasion kakaowca, a jej toksyczne składniki to metyloksantyny takie jak teobromina, teofilina oraz kofeina. Teobromina znajduje się również w herbacie, napojach typu cola i niektórych innych produktach spożywczych. Trzydzieści gramów czekolady mlecznej zawiera około od 44 do 56 mg teobrominy i od 5 do 10 mg kofeiny, a trzydzieści gramów czekolady gorzkiej zawiera odpowiednio 134 mg i 21 mg każdej z trucizn. Dawki śmiertelne teobrominy dla psów wynoszą 90-250 mg/kg m.c., czyli przykładowo 10 kg pies może zatruć się czekoladą spożywając 4 tabletki czekolady mlecznej lub 2 tabletki czekolady gorzkiej. Dawka śmiertelna dla kota to 90-250 mg teobrominy na każdy kilogram masy ciała kota, czyli podobnie jak w przypadku psów. Biorąc jednak pod uwagę wymiary i masę kota, do zatrucia wywołanego przez czekoladę u kota ważącego przykładowo 4 kilogramy dawka śmiertelna to ok. 3/4 tabletki czekolady gorzkiej lub ok. 2 tabletki czekolady mlecznej (Campbell i Chapman 2010). Objawy kliniczne zatrucia występują zwykle w ciągu 24 godzin, najczęściej w ciągu 4 godzin od spożycia czekolady. Mogą utrzymywać się do 72 godzin. Mechanizm działania metyloksantyn jest wielokierunkowy. Jednym z nich jest selektywny antagonizm w stosunku do komórkowych receptorów adenylinowych. Hamowanie tych receptorów skutkuje pobudzeniem OUN, zwężeniem naczyń krwionośnych i częstoskurczem. Innym mechanizmem działania jest hamowanie zwrotnego wychwytu jonów Ca^{2+} , czego efektem końcowym jest zwiększona kurczliwość mięśni szkieletowych i mięśnia sercowego. Jeszcze innymi mechanizmami działania metyloksantyn są hamowanie fosfodiesterazy, wzrost cAMP i pobudzenie pracy serca czy też hamowanie receptorów benzodiazepin w mózgu. Długi okres półtrwania tej neurotoksyny w organizmie psów, bo trwa około 17,5 godziny czyni je predysponowanymi do zatrucia czekoladą. Zaleca się podjęcie leczenia, jeżeli zwierzę zjadło więcej niż 20 mg teobrominy na kg m.c. (Finlay i Guiton 2005).

3.4 Cebula i czosnek

Cebula i czosnek zawierają toksyczną substancję tiosiarczan sodu, która może doprowadzić do rozpadu krwinek czerwonych i anemii. Każda forma tych warzyw tj. świeża, smażona, gotowana czy pieczona, jest dla psa i kota niebezpieczna. Cebula jest przedstawicielem rodziny amarylkowatych. Do rodzaju *Allium* należą również czosnek, szczypiorek i por. Gatunki z rodzaju *Allium* zawierają sulfoksydy, które podczas hydrolizy przechodzą w tiosulfiny i dalej rozpadają się na disulfidy. Składniki te są odpowiedzialne za charakterystyczny zapach cebuli, smak oraz efekty farmakologiczne. Disulfidy są łatwo wchłaniane z układu pokarmowego i powodują tlenowe uszkodzenie błon erytrocytów, co skutkuje hemolizą, powstawaniem ciałek Heinz'a oraz methemoglobinemią u psów i kotów (Cope 2005). Uważa się, że hemoglobina kotów jest dwa do trzech razy bardziej wrażliwa na uszkodzenia tlenowe niż u ludzi lub psów, ponieważ koty mają osiem wolnych grup sulfhydrylowych w hemoglobinie, podczas gdy psy i ludzie odpowiednio tylko cztery i dwie. U tego gatunku spożycie 5 g/kg m.c. lub więcej cebuli wiąże się z ryzykiem uszkodzenia oksydacyjnego hemoglobiny i niedokrwistości. Wtórny zaburzeniem jest uszkodzenie nerek na skutek hemoglobinurii. Niedokrwistość może rozwinąć się już w ciągu 12 godzin od spożycia cebuli, ale zazwyczaj następuje to około 2-5 dni po ekspozycji. Początkowe objawy kliniczne zatrucia cebulą są nieswoiste. Zatrucie może przebiegać bezobjawowo, jeżeli zwierzę przyjmuje małe dawki przez dłuższy czas. Dawka toksyczna roślin z rodzaju *Allium* to 50 g na 10 kg m.c. Zauważono, że niektóre rasy takie jak między innymi Akita, Shiba czy Junto są bardziej narażone na zatrucie cebulą i czosnkiem (Simmons 2001).

3.5 Winogrona i rodzynki

Winogrona to kolejny ludzki przysmak, którego zjedzenie przez zwierzę może być przyczyną uszkodzenia organów wewnętrznych. Winogrona są szkodliwe zarówno w formie świeżej, jak i suszonej (rodzynki). Zawarte w nich toksyny szkodzą wątrobie i nerkom zwierzęcia, a w dużej ilości mogą nawet powodować ich niewydolność. Mechanizm, który prowadzi do pojawienia się

zmian w narządach, pozostaje jak na razie nieznaną, chociaż pod uwagę bierze się takie hipotezy, jak nietolerancja tanin zawartych w owocach, zanieczyszczenie owoców mykotoksynami, pestycydami lub metalami ciężkimi, spożycie nadmiaru witaminy D zawartej w owocach czy reakcje idiosynkrazji. Pierwsze objawy zatrucia pojawiają się po około 6 godzinach od ich zjedzenia. Wydaje się, że spożycie większej ilości owoców wiąże się z cięższym przebiegiem zatrucia, jednak obserwowano przypadki przebiegające bez objawów klinicznych nawet po spożyciu 1 kg winogron, jak również sytuacje, w których zwierzęta padały po spożyciu kilku owoców. Stąd zaobserwowano, że podatność na zatrucie jest różna i zależna osobniczo, najniższe dawki toksyczne jakie odnotowano to 19.6g/kg masy ciała w przypadku winogron i 2,8g/kg masy ciała dla rodzynek (Sutton i. in. 2009).

3.6 Awokado

Awokado zawiera substancję persin który jest grzybobójczą toksyną, wytwarzaną przez roślinę w celu samoobrony. Najwięcej tej substancji znajduje się w liściach, korze, skórce i pestce. W miąższu awokado również znajduje się jej niewielka ilość, jednak podczas dojrzewania owocu persin ulega enzymatycznej przemianie i stopniowo jego koncentracja maleje. Persin dla większości ludzi jest obojętny, chociaż wrażliwe na niego osoby mogą cierpieć po spożyciu awokado na problemy żołądkowe. Tymczasem dla zwierząt persin jest niezwykle toksyczny. W niewielkich ilościach wywołuje wymioty i biegunkę, natomiast w większych może doprowadzić do paraliżu i śmierci.

Awokado jest trujące dla koni, bydła, kóz, królików, strusi, kur, kanarków, papużek falistych i ryb, psów i kotów. Dawka, która mogłaby zagrozić życiu zwierzęcia, nie jest znana. Wystąpienie zatrucia oraz objawy zależą od osobniczych skłonności zwierzęcia. Dodatkowo istnieje niebezpieczeństwo, związane z połknięciem pestki awokado, która może doprowadzić do niedrożności jelit i ostatecznie skutkować koniecznością przeprowadzenia zabiegu operacyjnego (Kovalkovicova i. in. 2009).

3.7 Alkohol

Alkohol zawiera etanol, który jest wyjątkowo toksyczny dla psów i kotów, znacznie bardziej niż dla ludzi. Ekspozycja nawet na pozornie nieszkodliwe ilości może mieć bardzo poważne skutki uboczne dla zwierzęcia. Etanol występuje w napojach alkoholowych, farbach i lakierach, lekach, perfumach, płynach do płukania jamy ustnej. Zatrucie etanolem u zwierząt występuje zwykle w wyniku przypadkowego spożycia napojów alkoholowych. Opiswane są także zatrucia etanolem u psów, po spożyciu zgniłych jabłek lub surowego ciasta do wypieku chleba, zawierającego *Saccharomyces cerevisiae* tj. drożdże piwne i piekarnicze. Zatrucie u psów i kotów może też wystąpić w wyniku przedawkowania, gdy etanol jest podawany dożylnie jako odtrutka w leczeniu zatrucia glikolem etylenowym (Campbell i. in. 2010). Etanol wchłania się już w jamie ustnej, jest szybko dystrybuowany w organizmie, przenika przez łożysko, a także pokonuje barierę krew – mózg Jego metabolizm zachodzi w wątrobie pod wpływem dehydrogenazy alkoholowej, a wydalany jest w postaci niezmięnionej drogą oddechową, z moczem i kałem. Objawy zatrucia zwykle zaczynają się w ciągu 30-60 minut po spożyciu. U zwierząt domowych, najniższa śmiertelna dawka wynosi 5,5 g/kg m.c. (5,5 ml/kg 100-proc. etanolu) Natomiast nawet już 1 mg/ml alkoholu we krwi u zwierząt może powodować ataksję, natomiast po spożyciu więcej niż 4 mg/ml zwykle pojawia się śpiączka (Means 2003).

3.8 Trutka na gryzonia

Trutki na gryzonia są powszechnie dostępne i stanowią zagrożenie dla zdrowia ludzi oraz zwierząt. Do spożycia szkodliwej substancji może oczywiście dojść przypadkiem, jeśli trutka nie jest odpowiednio zabezpieczona lub zwierzę zje martwego szczura czy mysz. Rodentycydy antykoagulacyjne są najczęstszą przyczyną zatruc u psów. Mechanizm ich działania opiera się na hamowaniu reduktazy epoksydowej witaminy K1, w konsekwencji dochodzi więc do zahamowania regeneracji czynnej witaminy K1 i tym samym zależnych od niej czynników krzepnięcia – II (protrombina), VII, IX i X. Zatrucie trutką na gryzonia spotykane jest przede wszystkim u psów, a bardzo rzadko u kotów. Wydaje się, że jest to związane z innym behawiorem, koty charakteryzują się bowiem dużo większą ostrożnością, ale i wybrednością w stosunku do spożywanego pokarmu.

Objawy kliniczne zatrucia rodentycydami antykoagulacyjnymi pojawiają się przeważnie dopiero po 3-5 dniach od ich spożycia. Jest to związane z okresami półtrwania osoczowych czynników krzepnięcia krwi. Gdy ulegną one wyczerpaniu, dochodzi do koagulopatii. Wykazano, że aby doszło do spontanicznego krwawienia, stężenie osoczowych czynników krzepnięcia musi ulec zredukowaniu do 25% (Seljetun i. in. 2020).

3.9 Leczenie

W przypadku zatrucia pokarmowego objawiającego się wyłącznie niewielkimi problemami trawiennymi można zastosować kilka domowych sposobów umożliwiających uspokojenie i unormowanie pracy układu pokarmowego zwierzaka. Ułatwi to jego regenerację i złagodzi objawy bólowe. Ciężkie zatrucie pokarmowe, na przykład po zjedzeniu czekolady, winogron, trutki na szczury lub ksylitolu, wymagać będzie pomocy ze strony lekarza weterynarii. Specjalistę podczas wizyty należy poinformować o tym, jaką toksyczną substancję zjadł zwierzak i ile czasu minęło od pojawienia się pierwszych objawów. W miarę możliwości należy zabrać ze sobą opakowania po spożytym jedzeniu lub detergentach. Sposób leczenia po zatruciu będzie bowiem zależny od rodzaju i stężenia toksyny. Leczenie zatrucia wymaga szybkiego i zdecydowanego działania. Postępowanie opiera się najczęściej na działaniu ogólnym (objawowym, nieswoistym, wspomagającym) oraz przyczynowym (swoistym). Zadaniem lekarza weterynarii w przypadku zatrucia będzie przede wszystkim ustabilizowanie stanu zwierzaka i ograniczenie dalszego wchłaniania się toksycznej substancji. W tym celu specjalista może podać zwierzęciu kroplówkę lub specyficzną odtrutkę, wywołać wymioty lub wykonać płukanie żołądka. Po pierwszych czynnościach konieczna będzie ocena stanu zdrowia, czyli wykonanie pełnych badań krwi mających wykazać ewentualne zaburzenia pracy nerek, wątroby i trzustki. Leczenie uszkodzonych narządów wewnętrznych może wymagać długotrwałego podawania leków i suplementów lub wdrożenia diety weterynaryjnej. W skrajnych przypadkach czworonóg po zatruciu wymagać będzie stałego monitorowania stanu zdrowia w lecznicy (Berny i. in. 2010).

4. Podsumowanie i wnioski

Każde zatrucie pokarmowe może być groźne, zwłaszcza dla młodych zwierząt, a także psów i kotów starszych, osłabionych lub cierpiących z powodu chorób przewlekłych. Zatrucie pokarmowe może być trudne do rozpoznania u zwierząt, ponieważ towarzyszące mu objawy kliniczne są słabo poznane i brak jest specyficznych testów diagnostycznych. Trucizną dla zwierząt domowych może być wiele substancji różnorodnych substancji, powszechnie stosowanych w domach ludzi oraz przez ludzi. Stąd bardzo ważne jest odpowiednie uświadomienie właścicieli zwierząt, iż ich pupile mimo bycia członkiem rodziny, nie są ludźmi, przez co nie powinny spożywać produktów, które nie są dla nich przeznaczone. Edukacja właścicieli w tym pouczanie o ostrożności stosowania niektórych środków i produktów w obecności zwierząt to podstawowy krok w walce z zatruciami i skutkami zatruc. Zatrucia zwierząt domowych to obecnie poważny problem w gabinetach weterynaryjnych, w zależności od wielu czynników takich jak rodzaj trucizny, jej dawka, gatunek zwierzęcia, jego masa i wiele innych rokowania dotyczące zatruc mogą być bardzo różne, stąd lepiej zapobiegać zatruciom i uczyć właścicieli, aby przypadki zatruc zdarzały się coraz rzadziej. Oczywiście nie spowoduje to zatrzymania problemu, jednak zmniejszy może odsetek pacjentów w gabinecie, a także odsetek śmierci zwierząt spowodowanych przez zatrucia.

5. Literatura

- Berny P, Caloni F, Croubels S, i. in. (2010) Animal poisoning in Europe. Part 2. Companion animals. *Vet. J* 183, 255–259.
- Caloni F, Cortinovis C, (2016) Household food items toxic to dogs and cats. *Front Vet Sci* 3, 26.
- Campbell A, Chapman M (2010) Zatrucia u psów i kotów. *SIMA WLW*, 115.
- Cope RB (2005) Allium species poisoning in dogs and cats. *Vet Med*, 562-566.
- Finlay F, Guiton S (2005) Chocolate poisoning. *BMJ*, 633.
- Kovalkovicova N, Sutiakova I, Pisl J, i. in. (2009) Some food toxic for pets. *Interdisciplinary*

Toxicology 2, 169– 176.

Means C (2003) Bread dough toxicosis in dogs. J. Vet. Emer. Critical Care, 39-41.

Seljetun KO, Vindenes V, Øiestad EL, i. in. (2020) Determination of anticoagulant rodenticides in faeces of exposed dogs and in a healthy dog population. Acta Vet Scand , 30.

Simmons DM (2001) Onion breath. Vet Tech J 22, 424-427.

Sutton NM, Bates N, Campbell A (2009) Factors influencing outcome of *Vitis vinifera* (grapes, raisins, currants, and sultans) intoxication in dogs. Vet. Rec 164, 430–431.

15. Hierarchiczny model funkcjonowania klanu hieny cętkowanej (*Crocota Crocuta*)

Hierarchical model of clan in spotted hyena (*Crocota crocuta*)

Wojtas Natalia⁽¹⁾, Wołoszyn Monika⁽¹⁾, Zbigniew Bełkot⁽²⁾

⁽¹⁾ Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

⁽²⁾ Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Słowa kluczowe: hiena cętkowana, hierarchia, sukces reprodukcyjny

Streszczenie

Klany hien cętkowanych są zbudowane według liniowej hierarchii dominacji, w której ranga danego osobnika określa jego możliwości dostępu do zasobów na terytoriach im przynależnych, które nieustannie bronią. Samice cechują się najwyższą inwestycją energetyczną, którą, muszą przeznaczyć na odchowanie miotu spośród wszystkich ssaków mięsożernych. Powoduje to, iż sukces reprodukcyjny wiąże się z wysoką pozycją społeczną, która zapewnia większy dostęp do pożywienia i możliwość przedłużenia linii genetycznej osobników stojących na czele hierarchii. Ranga danego członka klanu jest zależna od statusu jaki posiada jego matka i może wiązać się w pośredni sposób z ekspozycją płodu na androgen. Dodatkowo, hierarchiczny układ grupy jest zarysowany przez zrytualizowane powitania i sygnały komunikacyjne, które ułatwiają funkcjonowanie klanu.

1. Wstęp

Hiena cętkowana (*Crocota crocuta*) to gatunek drapieżnego ssaka, który jest niezwykle skutecznym myśliwym. Pojedynczy osobnik jest w stanie schwytać zdobycz wielkości gnu, a same polowania odbywa samotnie lub w większych grupach (Kruuk 1972). Oba typy polowań wiążą się z generowaniem intensywnych rywalizacji o dostęp do zwłok (Franck 1986). Hieny cętkowane cechują się tylko minimalnym dymorfizmem płciowym i żyją w wysoce ustrukturyzowanych i zdominowanych przez samice grupach społecznych. Nazywane są one klanami, a liczą od 10 do nawet 90 osobników. W klanach hien cętkowanych istnieją oddzielne hierarchie dominacji samców i samic, jednakże nie tylko samice ale również ich potomstwo, które nie osiągnęło wieku dorosłego dominują nad wszystkimi dorosłymi samcami - imigrantami.

Taki system oparty na głęboko pojętej hierarchizacji oraz cechujący się dużą ilością członków w grupie ma więcej wspólnego z wieloma społecznościami naczelnych, niż większością innych drapieżników żyjących w stadach (Glickman i in. 2006).

Dla każdego członka dużego klanu zadanie bezbłędne nauczenia się pozycji reszty osobników z grupy wymaga posiadania znacznej zdolności do społecznego uczenia się. Taki osobnik musi bowiem zapamiętać wiele odrębnych jednostek jak i nauczyć się znaczenia interakcji jakie odbywają się pomiędzy członkami klanu. Większość tej nauki odbywa się we wspólnej jaskini, w której wszystkie młode przebywają do 8–12 miesiąca życia. Wspólne miejsce wypoczynku jest głównym miejscem aktywności społecznej wszystkich członków grupy, nie tylko matek z potomstwem. Większość osobników należących do klanu odwiedza je tam regularnie. Dzięki takiej interakcji z resztą członków klanu, w szczególności obejmującej interwencje matki jak i tworzenie koalicji, młode uczą się swojej pozycji społecznej w grupie, które w pełni ustala się w wieku około 18 miesięcy (Holekamp i Smale 1991; Jenks i in. 1995; Engh i in. 2000).

2. Agresja

W obrębie saków regułą wydaje się, iż to osobnik płci męskiej jest zarówno większy jak i bardziej agresywny (Kunc i in.; 2006). Hiena cętkowana stanowi natomiast przykład odwrócenia ról płciowych, gdyż w przeciwieństwie do większości ssaków to samice hieny są większe oraz odznaczają się podwyższonym poziomem agresji w porównaniu do samców (Kruuk 1972; Swanson

i in. 2013). Agresja u tego gatunku zwierząt wydaje się być bardzo częsta i łatwa do zaobserwowania. Różny poziom jej nasilenia może pojawiać się w kilku różnych kontekstach. Ponieważ ranga danego osobnika determinuje jego dostępność do zasobów, często spotykana jest rywalizacja pomiędzy członkami klanu o pożywienie i przeważnie to samice dominujące kierują agresywnymi zachowaniami w stronę osobników z niższą rangą. (Kruuk 1972; Mills 1990; Frank i in. 1995). Takie zachowanie ale nie związane z walką o pierwszeństwo do spożywania jedzenia występuje w przypadku obrony przez matkę swojego potomstwa (Holekamp i Smale 1991; Engh i in. 2000). Co ciekawe poziom androgenu u hien cętkowanych jest wyższy w trakcie późnej ciąży u samic dominujących w porównaniu do samic bardziej podporządkowanych. Dodatkowo zarówno młode płci męskiej jak i żeńskiej, które były eksponowane na wysokie stężenie androgenu w trakcie końcowego życia płodowego wykazują wyższy wskaźnik agresji w porównaniu do potomstwa od niższej rangi matek na których poziom oddziaływanego androgenu był niższy (Dloniak i in. 2006).

3. Komunikacja

Powszechnie wiadomo, iż informacje o statusie społecznym są kluczowe w dostosowaniu odpowiedniego zachowania konfrontujących się osobników. Dzięki temu unikane są bezsensowne walki i szlifowane interakcje społeczne. Wykazano, że sygnały wizualne, akustyczne i chemiczne kodują wiele informacji, w tym o indywidualnej tożsamości, płci, pokrewieństwie, ale również o motywach zbliżającego się kompana (Mathevon i in. 2010).

Hieny cętkowane mają zrytualizowane powitania, w trakcie którego witające się osobniki stoją zwrócone w przeciwnych do siebie kierunkach. Oba osobniki zwykle podnoszą tylną kończynę i wachają lub liżą obszar odbytowo-płciowy drugiego. Bardzo ważną rolę w samym aspekcie powitań pełnią genitalia ulegające wzwodowi u obojga płci. U samic lechtaczka, która przypomina męskiego penisa może również ulec wzwodowi. Podczas powitań osobniki o niskiej randze sygnalizują uległość gestami, które niekoniecznie są odwzajemnione przez dominującego osobnika. W badaniu Marion i in. na hienach cętkowanych z Narodowego Parku Serengeti największe różnice w odwzajemnianiu gestów były widoczne między dorosłymi samicami, gdzie prawdopodobieństwo asymetrii rosło wraz z rozbieżnością rangi między witającymi się hienami.

Dodatkowo pozdrowienia pomiędzy dorosłymi samicami i samcami były rzadkie i ograniczały się do samców stojących na pozycji powyżej mediany w hierarchii. Taki system jest analogiczny do modelu zachowań afiliacyjnych naczelnych, który zakłada, że korzyści jakie są czerpane z relacji społecznych z innymi osobnikami nie są jednolite i jednostki dobierane są tak, aby maksymalizować korzyści czerpane z relacji społecznych z innymi.

Jednym z mających największe znaczenie sposobem komunikacji u hien są sygnały akustyczne (Kruuk 1972).

Zwierzęta te są dobrze znane ze swoich odgłosów, które dominują w nocnym pejzażu dźwiękowym afrykańskiej sawanny. Dodatkowo, repertuar wokalny hieny cętkowanej jest obszerny i wchodzi w jego skład 10 różnych wokalizacji, które dodatkowo są stopniowane względem siebie. Prowadzi to do znacznych trudności w sklasyfikowaniu tych dźwięków (Kruuk 1972; Mills 1990). Mathevon i in. przeprowadzili badanie, oparte na analizie struktury akustycznej zarówno w domenie czasowej, jak i częstotliwościowej dźwięków jakie wydają hieny przypominających chichotanie. Dowiedziono, iż śmiech hieny może kodować informacje zarówno o tożsamości jednostki, wieku, i statusie dominacji/podporządkowaniu danego osobnika, dostarczając odbiorcom wskazówek, które mogą umożliwić ocenę pozycji społecznej emitującego osobnika (Mathevon i in. 2010).

Chociaż wiadomo, iż hieny cętkowane komunikują się za pomocą sygnałów wizualnych, chemicznych i akustycznych, wciąż pozostaje wiele do odkrycia na temat natury wymiany informacji i sposobu w jaki kodowane są te sygnały (Holekamp i in. 2007).

4. Dostęp do pożywienia

Obfitość zasobów żywności na terytoriach danego klanu zmienia się w ciągu roku, ze względu na przemieszczanie się wędrownych roślinożerców. Powoduje to, iż zwykle brakuje pożywienia dla wszystkich członków klanu w obrębie ich terytorium. Gdy obfitość zasobów

pożywienia jest niewielka, czego miarą jest niskie zagęszczenie osiadłych gatunków ofiar, wszyscy członkowie klanu, pojedynczo lub w małych grupach, podejmują kosztowne, długodystansowe (do 70 km) oraz krótkoterminowe wyprawy w celu zdobycia pożywienia. Taka taktyka nie odbywa się w sposób zsynchronizowany i celem są obszary, na których występują duże stada wędrownych ofiar, takich jak gnu *Connochaetes taurinus* i zebry *Equus burchelli*. W okresie laktacji samice regularnie powracają do wspólnych legowisk w celu nakarmienia młodych.

Przy sporej obfitości ofiar, kiedy pojawiają się duże stada wędrownych roślinożerców na terytorium hien, wszyscy członkowie klanu żerują w jego obrębie. Przez około jedną trzecią roku do miejscowych gatunków ofiar dołączają małe, rozproszone stada wędrowne, w szczególności gazy. Powoduje to, iż ilość zdobyczy jakie są w stanie upolować hieny cętkowane na swoim terytorium nie jest wystarczająca dla zapewnienia potrzeb energetycznych u wszystkich członków klanu (Hofer i East 1993).

W tej sytuacji hieny cętkowane mają wybór między energetycznie kosztowną wyprawą w poszukiwaniu pożywienia poza terytorium swojego klanu lub pozostanie i polowanie w bronionym przez wszystkich członków grupy obszarze. Taki wybór nie jest dobrowolny i zależy od statusu społecznego. Dominujące osobniki przeważnie zostają w chronionym obszarze, a jednostki o niskiej pozycji społecznej zmuszone są do dalekiej i nierzadko niebezpiecznej wyprawy poza terytorium klanu w poszukiwaniu zdobyczy (Hofer i East 2003).

5. Reprodukcja

Każda dorosła samica hieny cętkowanej niezależnie od swojej pozycji w stadzie posiada prawo do rozmnażania się i wychowania potomstwa (Smale i in. 1993). Jednakże różnice w sukcesie reprodukcyjnym pomiędzy samicami o odmiennej randze są znaczne.

Samice hieny cętkowanej (*Crocota crocuta*) są silnie zmaskulinizowane, o czym świadczy brak zewnętrznej pochwy i obecność łechtaczki przypominającej penisa, przez którą samica kopuluje, oddaje mocz i rodzi (Glickman i in. 2006). Taka budowa anatomiczna zewnętrznych narządów płciowych jak i stosunkowo duża masa (1,1–1,6 kg) noworodków sprawia, iż akt rodzenia jest niezwykle utrudniony, a potencjalne zejście śmiertelne zarówno matki jak i płodu w trakcie porodu jest szczególnie wysokie u pierworódek (Place i in. 2002).

Sukces reprodukcyjny samców hieny cętkowanej silnie zależy od tego, jak dobrze samce dostosowują się do preferencji samicy w zakresie wyboru partnera. Samce postrzegają potencjalne partnerki o wyższej randze jako znacznie atrakcyjniejsze, wiążą się one bowiem z większym prawdopodobieństwem spłodzenia potomstwa jak i ich stosunkowo dłuższym przeżyciu (Watts i in. 2009). Ostatecznie jednak to samice wybierają partnera do krycia i mają nad samym aktem kopulacji pełną kontrolę dzięki swojej niezwyklej anatomii (Kruuk 1972; Hofer i East 1993). Z drugiej jednak strony zaobserwowano, iż samce żyjące w Parku Narodowym Serengeti wykazują zachowania, które mają na celu zmanipulowanie końcowym wyborem samicy w wyborze partnera. Obejmują one zakres od zachowań afiliacyjnych do nękania i usiłowania dzieciobójstwa, a taktyki te koncentrują się głównie na wysokich rangą samicach (East i Hofer 2001). Dodatkowo samce o możliwie wysokiej pozycji społecznej stosują taktykę ciągłego śledzenia samicy, a samce powyżej mediany rangi mogą „bronić” samicy jako zasobu, ograniczając jej kontakt z bardziej podporządkowanymi samcami (East i Hofer 2001; Goymann i in. 2003).

6. Dziedziczenie pozycji

Ponieważ dostęp do zasobów, w tym pożywienia jest ściśle podporządkowany pozycji danego osobnika w klanie, samice o wysokim statusie społecznym mają wyższą wartość reprodukcyjną niż samice o niskiej randze. Zaangażowanie w opiekę poporodową ze strony matki jest wyjątkowo wysokie i obejmuje zarówno produkcję mleka o wysokiej zawartości składników odżywczych jak i długi okres laktacji, trwający do 2 lat. Samce natomiast nie uczestniczą w wychowaniu potomstwa (Hofer i East 2003). Młode obojga płci osiąga w okresie dojrzewania pozycję społeczną bezpośrednio niższą od pozycji matki dzięki mechanizmom behawioralnym, w którym samica wspiera swoje potomstwo podczas interakcji z członkami klanu, nad którymi

dominuje (Holekamp i Smale 1991; Hofer i East 1995). Badania prowadzone na potomstwie hieny cętkowanej, które było wychowywane przez matki zastępcze wykazało brak dowodów na bezpośredni efekt genetyczny matki czy matczynej wpływ androgenów podczas ciąży na uzyskiwaną rangę zaadoptowanego potomstwa w wieku dorosłym (East i in. 2009). Jednakże jak wcześniej zostało już przywołane, poziom androgenów, na który było eksponowane potomstwo w końcowym etapie życia płodowego wpływa na poziom agresji w późniejszym wieku, a co za tym idzie może wpływać na fenotyp hien i w sposób pośredni może przyczynić się do pozycji jaką dany osobnik osiągnie w życiu dorosłym (Dloniak i in. 2006).

W przypadku samic, z reguły pozostają one w rodzimym klanie przez co zachowują swoją pozycję w hierarchii w życiu dorosłym pod warunkiem utrzymania behawioralnego wsparcia ze strony innych spokrewnionych samic (Hofer i East 2003; East i in. 1993). Dodatkowo, potomstwo od wysokiej rangi samic rośnie znacznie szybciej, dzięki zwiększonej dostępności do pożywienia, a ich córki zaczynają się rozmnażać w młodszym wieku i osiągają większy sukces rozrodczy w porównaniu do potomstwa samic znajdujących się na niższej pozycji w hierarchii (Hofer i East 2003). Z drugiej strony samce po osiągnięciu dojrzałości zazwyczaj opuszczają rodzimy klan i emigrują do innego stada hien. Taki osobnik dołączając do nowego stada spada w hierarchii na ostatnią pozycję i zmuszony jest przestrzegania surowej konwencji społecznych kolejek podnosząc swój status wraz z upływem czasu kiedy to samce o wyższej randze emigrują lub ponoszą śmierć (East i Hofer 2001). Pomimo, iż takie kolejki mogą zawierać nawet 20 osobników płci męskiej, fizyczne walki pomiędzy samcami są rzadkością. Aby samiec został bowiem zaakceptowany jako potencjalny partner przez samicę, musi on najpierw utworzyć z nią bliską relację, a ponieważ taki związek jest kluczowy, samce mogą niewiele zyskać na agresywnych walkach (East i Hofer 1991; East i in. 1993). Oznacza to, iż taka taktyka stosowana przez samice mogła ograniczyć selekcję do jawnych rywalizacji między samcami i przyczynić się do ewolucji i stabilności męskiej hierarchii w klanie hien (East i Hofer 1991, 2001, 2002). Samce zwiększają swoje szanse na skuteczną kopulację wybierając klany z dużą ilością samic w przeliczeniu na samców, do których imigrują (Höner i in. 2007).

Status matki w sposób pośredni również wpływa na sukcesy reprodukcyjne potomstwa płci męskiej. Poprzez lepszy wzrost w okresie karmienia i stosunkowo większy dostęp do pożywienia w porównaniu do potomstwa samic niższej rangi, samce te charakteryzują się większą przeżywalnością w trakcie migracji, jak również mogą poświęcić więcej czasu na poszukiwanie odpowiedniego klanu gdyż ich lepszy stan odżywienia pozwala na możliwie większą inwestycję energetyczną w ocenę potencjalnych miejsc docelowego rozproszenia (Sharma i in. 2021).

7. Podsumowanie

U hien cętkowanej silnie zaznaczony jest zhierarchizowany model klanu, w którym na czele stoją samice.

Wpływ rangi danego osobnika ma wpływ na wiele aspektów codziennego funkcjonowania. Pierwotnym celem każdego zwierzęcia jest reprodukcja, która zapewnia przetrwanie gatunku i ciągłość genetyczną jedynie tych osobników, które najlepiej przystosowały się do otaczającego ich środowiska. Wysoka pozycja społeczna u samic wpływa na możliwość wyboru większej ilości partnerów do kopulacji, ale również zapewnia lepsze warunki odchowu potomstwa dzięki większemu dostępowi do zasobów takich jak pożywienie. Młode dominujących samic lepiej i szybciej się rozwijają w porównaniu do innych rówieśników, wchodząc wcześniej w okres dojrzałości płciowej. Dodatkowo bliska relacja z matką i innymi dominującymi samicami stabilizuje pozycję młodego osobnika w klanie. Można więc zatem przyjąć, iż hieny cętkowane, których matka odznaczała się wysoką rangą są odgórnie “zaprogramowane” na sukces reprodukcyjny.

8. Literatura

Dloniak SM, French JA, Holekamp KE (2006) Rank-related maternal effects of androgens on behaviour in wild spotted hyaenas. *Nature* 440(7088): 1190-1193.

- East ML, Hofer H (1991) Loud calling in a female dominated mammalian society. II. Behavioural context and functions of whooping of spotted hyenas, *Crocuta crocuta*. *Animal Behaviour* 42: 651–669.
- East ML, Hofer H (2001) Male spotted hyenas (*Crocuta crocuta*) queue for status in social groups dominated by females. *Behavioral Ecology* 12: 558 – 568.
- East ML, Hofer H (2002) Conflict and cooperation in a female dominated society: a reassessment of the ‘hyperaggressive’ image of spotted hyenas. *Advances in the Study of Behavior* 31: 1–30.
- East ML, Hofer H, Wickler W (1993) The erect ‘penis’ is a flag of submission in a female-dominated society: greetings in Serengeti spotted hyenas. *Behavioral Ecology Sociobiology* 33: 355 – 370
- East ML, Höner OP, Wachter B, et al. (2009) Maternal effects on offspring social status in spotted hyenas. *Behavioral Ecology* 20: 478 – 483.
- Engh AL, Esch K, Smale L, et al. (2000). Mechanisms of maternal rank ‘inheritance’ in the spotted hyaena, *Crocuta crocuta*. *Animal Behaviour* 60: 323–332.
- Franck LG (1986) Social organization of the spotted hyaena (*Crocuta crocuta*): II. Dominance and reproduction. *Animal Behaviour* 35:1510-1527.
- Frank LG, Holekamp KE, Smale L (1995). Dominance, demography, and reproductive success of female spotted hyenas. *Serengeti II: dynamics, management, and conservation of an ecosystem: 364-384.*
- Glickman SE, Cunha GR, Drea CM et al. (2006) Mammalian sexual differentiation: lessons from the spotted hyena. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism* 17: 349-356.
- Goymann W, East ML, Hofer H (2003) Defense of females, but not social status, predicts plasma androgen levels in male spotted hyenas. *Physiological and Biochemical Zoology* 76(4): 586-593.
- Hofer H, East M (1995) Population dynamics, population size, and the commuting system of Serengeti spotted hyenas. *Serengeti II: dynamics, management, and conservation of an ecosystem 2: 332.*
- Hofer H, East ML (2003) Behavioral processes and costs of co-existence in female spotted hyenas: a life history perspective. *Evolutionary Ecology* 17: 315 – 331
- Hofer H, East ML (1993) The commuting system of Serengeti spotted hyenas: How a predator copes with migratory prey: II. Intrusion pressure and commuters' space use. *Animal Behaviour* 46(3): 559–574.
- Holekamp KE, Sakal ST, Lundrigan BL (2007) Social intelligence in the spotted hyena (*Crocuta crocuta*). *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 362: 523-538.
- Holekamp KE, Smale L (1991) Rank acquisition during mammalian social development: the ‘inheritance’ of maternal rank. *American Zoologist* 31: 306-317.
- Höner OP, Wachter B, East ML (2007) Female mate-choice drives the evolution of male-biased dispersal in a social mammal. *Nature* 448: 798 – 801.
- Jenks S, Weldele M, Frank L, Glickman SE (1995) Acquisition of matrilineal rank in captive spotted hyenas: emergence of a natural social system in peerreared animals and their offspring. *Animal Behaviour* 50: 893-904.
- Kruuk H (1972) *The spotted hyena*. University of Chicago Press.
- Mathevon N, Koralek A, Weldele M et al. (2010) What the hyena's laugh tells: Sex, age, dominance and individual signature in the giggling call of *Crocuta crocuta*. *BMC ecology* 10(1): 1-16.
- Mills MG (1990). *Kalahari hyenas: comparative behavioral ecology of two species* (Vol. 304). London: Unwin Hyman.
- Place NJ, Weldele ML, Wahaj SA (2002) Ultrasonic measurements of second and third trimester fetuses to predict gestational age and date of parturition in captive and wild spotted hyenas *Crocuta crocuta*. *Theriogenology* 58(5): 1047-1055.
- Sharma S, Singh G, Sharma M (2021). A comprehensive review and analysis of supervised-learning and soft computing techniques for stress diagnosis in humans. *Computers in Biology and Medicine* 134: 104450.

- Smale L, Frank LG, Holekamp KE (1993) Ontogeny of dominance in free-living spotted hyaenas: juvenile rank relations with adult females and immigrant males. *Animal Behaviour* 46: 467–77.
- Swanson EM, McElhinny TL, Dworkin I, et al. (2013) Ontogeny of sexual size dimorphism in the spotted hyena (*Crocuta crocuta*). *Journal of mammalogy* 94: 1298-1310.
- Watts HE, Holekamp KE (2009) Ecological determinants of survival and reproduction in the spotted hyena. *Journal of mammalogy* 90: 461–71.

16. Najnowsze odkrycia eksperymentalnej bakteriofagoterapii w medycynie weterynaryjnej

The most recent discoveries of experimental bacteriophage therapy in veterinary medicine

Wojtas Natalia⁽¹⁾, Wołoszyn Monika⁽¹⁾, Zbigniew Bełkot⁽²⁾

⁽¹⁾ Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

⁽²⁾ Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Słowa kluczowe : bakteriofagii, fagoterapia, medycyna weterynaryjna

Streszczenie

Bakteriofagi to wirusy bakterii zdolne do ich lizy. Fagoterapia może stanowić alternatywę dla wielu problemów związanych z antybiotykoopornością bakterii. Badania ostatnich lat jasno wskazują, iż fagi są czynnikami skutecznymi i specyficznymi w leczeniu coraz większej ilości rodzajów infekcji bakteryjnych. Bezpieczeństwo ich stosowania i brak efektów ubocznych powodują, iż w tym typie terapii pokładane są coraz większe nadzieje. Dotyczy to w szczególności sektorów takich jak przemysłowa hodowla zwierząt, która to branża jest jedną z tych, w której stosuje się najwięcej antybiotyków. W poniższej pracy autorki dokonały podsumowania najnowszych badań w dziedzinie bakteriofagoterapii w medycynie weterynaryjnej, z naciskiem na sektor hodowli przemysłowej, jako że to w nim obecnie prowadzona jest większość badań. Wskazano także na konieczność prowadzenia dalszych badań w tym zakresie, jako że w szczególności kinetyka działania fagów, dobór odpowiednich stężeń i częstotliwości podawania pozostaje zagadką do rozwiązania.

1. Wstęp

Bakteriofagi (fagi) odkryte niezależnie przez: Ernesta Hankina (1896), Fredericka Tworta (1915) i Félix d'Hérelle (1917) to wirusy, które mogą zabijać poprzez lizę zainfekowane bakterie. (Woźnica i in. 2015). Nie replikują się one poza komórkami bakterii i jednocześnie nie są w stanie zaatakować komórek eukariotycznych, przez co nie powodują żadnych negatywnych skutków dla komórek zwierzęcych (Hanlon 2007; Principi i in. 2019). Fagi są niezwykle różnorodne pod względem genetycznym i występują wszędzie tam gdzie obecne są bakterie, stanowiąc naturalny czynnik, który reguluje liczebność populacji bakteryjnych w poszczególnych ekosystemach (Matsuzaki i in. 2003; Brzozowska i in. 2011). Na przeżywalność fagów w przyrodzie wpływa wiele czynników, w tym pH otoczenia, temperatura czy obecność komórek gospodarza - bakterii.

Ważną charakterystyką fagów jest ich wysoka specyficzność w stosunku do gospodarza - bakterii. Ma to ogromne znaczenie w terapii fagowej, gdyż bakteriofagii używane w tej metodzie nie prowadzą do zniszczenia populacji bakterii tworzących fizjologiczną mikroflorę. Fagi wykazują również specyficzność zarówno w stosunku do wielu bakterii Gram-ujemnych jak i Gram-dodatnich (Wittebole i in. 2014). Interakcja bakteriofagów z bakteriami, które infekują jest bardzo podobna do tego jaki występuje pomiędzy wirusami, a zwierzęcymi komórkami gospodarza.

Bakteriofagi są w stanie wykazywać różne cykle rozwojowe w tym: lityczny (nazywany również wirulentnym lub zjadliwym), łagodny (lizogenny), pseudolizogenny oraz cykl przewlekłej infekcji (Weinbauer 2004; Gryko i in. 2010; Woźnica i in. 2015). Po adsorpcji z komórką bakteryjną genom faga jest wstrzykiwany do jej wnętrza i następuje ekspresja genów bakteriofaga. W przypadku litycznych fagów zapobiegają one podziałowi zainfekowanych komórek, a ich genom zaczyna się replikować, prowadząc do syntezy fagowego kwasu nukleinowego, białek i składania wirionów. W końcowej fazie syntezowane są enzymy lityczne zdolne do degradacji ściany komórkowej i ostatecznie uwalniane są potomne bakteriofagi zdolne do infekowania kolejnych bakterii. Cały ten cykl może nastąpić w ciągu zaledwie 15 minut.

W przeciwieństwie do zjadliwych fagów, fagi lizogeniczne oprócz namnażania się poprzez rozwój lityczny, mają zdolność do współistnienia (latencji) w komórce gospodarza w postaci DNA, zwanego profagiem. Po przedostaniu się fagowego genomu do wnętrza komórki bakteryjnej, w cyklu lizogenicznym następuje synteza integraz i represora transkrypcji wirusowego DNA oraz integracja DNA (profaga) do chromosomu. Dodatkowo niektóre fagi mogą egzystować w komórce bakteryjnej w formie plazmidu. Oba typy profagów są następnie replikowane jako fragment bakteryjnego DNA (Hanlon 2007). Taka lizogenia może trwać przez wiele pokoleń dzielącej się komórki do momentu, aż wewnątrzkomórkowe stężenie aktywnej postaci represora funkcji litycznych faga jest wystarczające do zahamowania transkrypcji wczesnych genów odpowiadających za cykl lityczny. Jeśli dojdzie do obniżenia stężenia aktywnej postaci represora zapoczątkowany zostanie rozwój lityczny, który kończy się uwolnieniem potomnych bakteriofagów i lizą komórki gospodarza - bakterii (Woźnica i in. 2015). Co ciekawe, stan lizogenii może być traktowany jak rodzaj niekonwencjonalnej symbiozy, w której fag broni komórkę gospodarza przed ponownym zakażeniem takim samym rodzajem bakteriofaga, uniemożliwiając powielenia fagowego DNA (Gryko i in. 2010). W przypadku cyklu przewlekłej infekcji potomne cząsteczki faga są syntezowane przez komórki gospodarza w równych odstępach czasu i wydzielane do środowiska zewnętrznego otoczone pęcherzykiem. W trakcie tego cyklu nie dochodzi do lizy bakterii. Natomiast w cyklu pseudolizogennym genom bakteriofaga egzystuje w komórce gospodarza w formie niezintegrowanej z materiałem genetycznym bakterii. Powoduje to, że fag nie jest w stanie się namnażać i nie przechodzi w stan lizogenii (Ochońska i in. 2016).

2. Zastosowanie bakteriofagów

Pomimo, iż już po zaledwie kilku latach od odkrycia i opisania bakteriofagów podjęto pierwsze próby ich zaimplementowania w formie terapeutycznej, odkrycie antybiotyków oraz skuteczność antybiotykoterapii w przypadku leczenia zakażeń bakteryjnych doprowadziło do spadku zainteresowania terapią fagową. Masowe stosowanie antybiotyków, zarówno w formie terapii jak i profilaktyki, która była stosowana w przypadku zwierząt gospodarskich, doprowadziło do bardzo szybkiego nabywania oporności przez bakterie na powszechnie stosowane antybiotyki. Skutkiem tego jest coraz mniejsza grupa antybiotyków, umożliwiających osiągnięcie sukcesu terapeutycznego. Wszystkie te składowe doprowadziły do poszukiwania alternatywnych metod zwalczania drobnoustrojów (Rossi i in. 2014; Zhang i Liu 2015).

Jako że bakteriofagi występują licznie w środowisku naturalnym ich znalezienie oraz późniejsze wyizolowanie, jest zadaniem znacznie prostszym od próby odkrycia nowych postaci antybiotyków. Dodatkowo, odpowiednio dobrane bakteriofagi dzięki swojej specyficzności nie wpływają negatywnie na naturalną mikroflorę. Dzięki temu stosowanie preparatów osłonowych jest zbędne. Depolimerazy polisacharydów, które są wytwarzane przez fagi prowadzą do degradacji zewnątrzkomórkowej macierzy biofilmu, co sprawia, że dostęp do powierzchni bakterii jest ułatwiony (Fu i in. 2010). Jest to w szczególności istotne w przypadku zakażeń ran i zadrapań patogenami tworzącymi biofilm (Hughes i in. 1998).

Obiecujące wydaje się również zastosowanie, tzw. "koktajli" czyli mieszaniny więcej niż jednego szczepu bakteriofaga. Takie połączenie fagów prowadzi do poszerzenia spektrum ich działania i umożliwia lepszą kontrolę zakażeń bakteryjnych.

W przypadku stosowania pojedynczych szczepów bakteriofagów konieczne jest przeprowadzenie wstępnych przesiewowych badań aby określić, który ze szczepów wirusowych jest w stanie doprowadzić do lizy bakterii powodującej zakażenie. Jeśli stosowany jest koktajl bakteriofagów, takie badania wstępne nie są konieczne i przykładowo można zastosować mieszaninę bakteriofagów infekujących kilka najbardziej powszechnych patogenów bakteryjnych. Ma to istotne znaczenie w przypadku pierwszych objawów choroby, kiedy należy poczekać na wyniki posiewu bakteryjnego, a stan pacjenta wymaga natychmiastowego leczenia (Stachurska 2017).

Dodatkowo wykazano, iż preparaty bakterii, które poddane zostały lizie przez bakteriofagi są silnymi czynnikami immunizacyjnym i ich działanie ochronne jest silniejsze od szczepionek inaktywowanych. Mechanizm, jaki odpowiedzialny jest za tak intensywną immunogenność nie jest jeszcze do końca poznany, jednak wydaje się, iż podanie bakterii, które przeszły lizę jest zarówno

skuteczniejszą jak i bardziej łagodną formą immunizacji pacjenta (Arnold i Weiss 1925; Compton 1928; Larkum 1929).

Z drugiej strony nadal dysponujemy ograniczoną wiedzą na temat kinetyki bakteriofagów co uniemożliwia opracowanie uniwersalnej dawki, którą można zastosować w konkretnym typie zakażenia. Dodatkowo brak jest standaryzowanych technik jak i protokołów, przez co występują obszerne różnice w końcowych efektach terapii (Urban-Chmiel i in. 2022).

Ostatecznie jednak bakteriofagi dzięki możliwości lizy bakterii są postrzegane jako alternatywa dla innych środków przeciwbakteryjnych. Ich zastosowanie wydaje się mieć istotne znaczenie w przypadku leczenia szczepów bakterii antybiotykoopornych również w medycynie weterynaryjnej, gdzie zbyt powszechne stosowanie antybiotyków stało się bardzo istotnym problemem, który może zaważyć na sukcesie w terapii zakażeń bakteryjnych.

3. Zwierzęta hodowlane

Zapalenie wymion u bydła powoduje poważne straty ekonomiczne wśród hodowców oraz znacznie upośledza komfort życia zwierząt. Jednym z najczęściej spotykanych patogenów wywołujących tę chorobę jest *Staphylococcus aureus*, wśród którego ilość szczepów wieloantybiotykoopornych z roku na rok znacząco wzrasta. Jednym z powodów tej sytuacji jest nadużywanie od lat antybiotyków jako formy terapii ale również do niedawna i w profilaktyce hodowli zwierząt gospodarskich. Powoduje to wzrost konieczności stosowania alternatywnych środków przeciwbakteryjnych pozwalających ominąć barierę oporności. Odpowiedzią na to zgodnie z wieloma badaniami jest terapia fagowa. W 2018 roku opublikowana została praca opisująca dwa fagi lityczne: SAJK-IND i MSP. Należą one do odpowiednio rodziny Myoviridae oraz Podoviridae. Ich aktywność lityczna jest specyficzna wyłącznie dla *S. aureus*, a badania przeprowadzone na kilku ich szczepach wykazują 100% skuteczność działania w przypadku SAJK-IND oraz 40% przy MSP (Ganaie i in. 2018). Inne badanie przeprowadzone w 2018 roku również obejmowało tematycznie zakres mastitis, celem był jednak inny patogen mogący doprowadzić do rozwoju tego schorzenia - *Klebsiella oxytoca*. Izolacja bakterii miała miejsce z zanieczyszczonej próbki mleka od stada mlecznego. Naukowcom udało się wyizolować specyficzne względem niej bakteriofagi lityczne nazwane ABG-IAUf-1 znalezione w publicznych ściekach. Skuteczność nowo wyizolowanych fagów określana jest obecnie na 97% (Amiri Fahliyani i in. 2018). Kwestią nierozdzielnie związaną z przemysłową produkcją zwierząt z przeznaczeniem do spożycia przez ludzi są też choroby którymi populacja ludzka może się zarazić podczas spożywania produktów odzwierzęcych. Jedną z głównych chorób wywoływanych spożyciem zakażonego mięsa jest salmonelloza. W 2018 roku duża ilość oporności pojawiająca się w stadach skłoniła naukowców do wzmoczonego poszukiwania alternatywnej terapii fagowej nakierowanej na *S. enteritidis*. W badaniu wyizolowano podane bakterie z próbek surowego mleka i mięsa, następnie wykonano odpowiednie antybiotykogramy. Wykazały one, że aż 39% badanych szczepów charakteryzowała wieloantybiotykooporność. Analiza wody ściekowej przyniosła rozwiązanie w postaci odkrycia bakteriofagów skierowanych przeciwko szczepowi *S. enteritidis*. W ten sposób odkryto 7 różnych fagów działających na podany szczep, niestety zgodnie z wiedzą autorek nie istnieją jeszcze dalsze badania sprawdzające skuteczność tej terapii in vivo (Siddique 2018). Salmonelloza to jednak nie tylko zagrożenie dla konsumenta ale też przede wszystkim dla samych zwierząt hodowlanych, a w szczególności cieląt. Powodowane przez tę bakterię uporczywe biegunki mogą szybko doprowadzić do śmierci zwierzęcia. W 2021 roku przeprowadzono nowatorskie badania z zastosowaniem czopków zawierających probiotyczne szczepy *Lactobacillus* spp. oraz bakteriofagi specyficzne dla patogennej *E. coli* u młodych cieląt z biegunką. Oceniono w nim zarówno działanie profilaktyczne jak i terapeutyczne. Grupa badanych zwierząt liczyła tutaj 24 osobniki w grupie najbardziej narażonej czyli 2 - 7 dniowych cieląt. Opiswane czopki podawane były przez okres 5 dni. Ta eksperymentalna terapia dała pozytywny efekt ochronno - profilaktyczny i terapeutyczny. Umożliwiły całkowitą eliminację biegunki do 48h po zastosowaniu. Fagoterapia w tym przypadku ma również dodatkowy profit - powoduje ona stymulację, a nie immunosupresję układu odpornościowego, co ma miejsce w przypadku stosowania antybiotyków. Może to być również pozytywnym czynnikiem rzutuającym na lepszy rozwój zwierząt i zmniejszających ich ryzyko kolejnego zakażenia (Alomari 2021).

Brucelloza to kolejna z chorób sprawiająca duży problem w hodowli bydła. Antybiotykoterapia często nie daje pożądanych efektów i wiąże się z coraz większymi kosztami. Sytuacja ta prowadzi do intensyfikacji badań nad brucellofagami. Klasyfikowane są one na podstawie zakresu żywicieli na: fagi Tbilisi (TB), Firenze (Fi), Izatnagar (Iz) oraz niedawno wyizolowany w Indiach Bp Gadvasu / BpG. Ponadto autorzy badania z 2021 roku wyizolowali kolejny, działający w szerokim spektrum brucellofag nazwany Brucellaphage Ludhiana (BpL). W badaniach na monocytach bydłowych uprawianych w hodowlach komórkowych wykazano, że fag Tbilisi w przypadku infekcji *B. abortus* zmniejsza zakażenie fagowrażliwym *B. abortus*. Podążając za tymi badaniami oceniono skuteczność profilaktyczną zwykłego i adsorbowanego ałunu lizatu Brucellaphage przez bezpośrednią prowokację wirulentną w modelu mysim. Wyniki wskazały iż lizat faga silnie aktywuje zarówno odpowiedź humoralną jak i komórkową u immunizowanych świnek morskich służących jako zwierzęta modelowe. Zbadano również wpływ terapii fagowej na odpowiedź immunologiczną bydła dotkniętego brucellozą. Badania te doprowadziły do wniosków iż terapia fagowa stymuluje początkowe reakcje immunologiczne u bydła, które jednak powoli zanikają po 45 dniach (Saxena 2021).

4. Drób

W hodowli brojlerów duże znaczenie ma choroba wywoływana przez gram-dodatnie beztlenowe bakterie *Clostridium perfringens* typ A/G. Bakteria ta powoduje martwicze zapalenie jelit. Zastosowanie fagów jest jedną z możliwości terapii danego zakażenia. Kwestią do tej pory jednak jeszcze nie rozwiązana są możliwe drogi podania takich terapeutyków. Jedno z badań przeprowadzonych na tym polu skupiło się na możliwych formach podania: proszku i kapsułce. Wybór ten jest niezwykle istotny, jako że wysoka temperatura i wilgotność pomieszczeń hodowlanych w połączeniu z kwaśnym środowiskiem układu pokarmowego są często czynnikami ograniczającymi skuteczność środków terapeutycznych. W przypadku bakteriofagów powodują one zmniejszenie ich stabilności, przeżywalności oraz aktywności. Wyniki badań wykazały, iż podane bakteriofagi drogą per os pozostawały żywe i hamowały liczbę *C. perfringens* mierzoną w jelicie ślepym w przypadku zastosowania enkapsulacji (Lee i in. 2022). Inna praca dotyczyła porównania efektów terapii fagowej oraz antybiotykowej w przypadku zakażenia *S. typhimurium* 1 dniowych kurczaków pochodzących ze stad niemodyfikowanych genetycznie. Zastosowany koktajl fagowy zawierał fagi vB_SenM-2 i vB_Sen-TO17 lityczne dla *S. typhimurium* oraz kolistynę i enfloksacynę dla części antybiotykowej, z powodu ich rutynowego stosowania w tego typu infekcjach. Całość terapii trwała 1 dzień, a rozpoczęto ją 1 dzień po zainfekowaniu kurcząt. W obu przypadkach nastąpiła eradykacja populacji badanych bakterii, jednakże w przypadku terapii fagowej efekt ten był opóźniony średnio o 2 - 4 dni. Dodatkowo wykazano brak wykształcenia się oporności zarówno u szczepów traktowanych bakteriofagami jak i antybiotykami. Badanie to potwierdziło efektywność stosowania fagoterapii. Odkryto jednak również, iż podczas administracji fagów metodą per os, obecność fagów wykryto nie tylko w mięśniach, śledzionie, wątrobie i nerkach ale również w chronionej barierze krew-mózg tkance mózgowej (Podlacha i in. 2022).

5. Zwierzęta domowe

Bakteryjne infekcje skóry psów często stanowią złożony problem dla lekarzy weterynarii, jako że zazwyczaj wiążą się one z coraz częściej antybiotykkoopornymi szczepami *Staphylococcus*. Przeprowadzono badania mające na celu wyizolowanie i scharakteryzowanie litecznego faga przeciwko *S. aureus* opornego na metycylinę (MRSA). Dokonano tego metodą izolacji faga z próbki ropy psa cierpiącego na zaawansowaną pyoderme. Został on nazwany SPBVC1. W toku badań okazało się, że poza bardzo wysoką aktywnością lityczną skierowaną przeciwko przywołanej bakterii cechuje się też dużą stabilnością zarówno w pH (4-11) jak i temperaturze (4°C-45°C). Nie wykazywał on jednak aktywności przeciwko MMSA. Według autorów może on jednak z powodzeniem być stosowany przeciwko infekcją MRSA (Kaushik i in. 2022). Inne badanie przeprowadzono również nad aktywnością lityczną poliwalentnych bakteriofagów PhiSA012 i ich endolizyn Lys-PhiSA012 przeciwko wieloantybiotykkoopornym (5+) szczepom *Staphylococcus* infekujących skórę psów.

Wykryte na skórze psów gronkowce obejmowały *S. pseudintermedius*, *S. schleiferi* i *S. intermedius*. Wykazano, iż PhiSA012 działa litycznie na każdy z badanych rodzajów izolatów gronkowców, jednakże w przypadku izolatów MDR *S. pseudintermedius* wykazuje tylko niewielką aktywność. Z kolei Lys-phiSA012 wykazywał dużą aktywność lityczną i znacząco zmniejszył liczbę jednostek tworzących kolonię badanych gronkowców. Przypadek faga Lys-phiSA012 może mieć więc potencjalnie większe zastosowanie niż phiSA012 (Nakamura i in. 2020). Trudnością w terapii zakażenia bakteriami *Staphylococcus pseudintermedius* jest jego zdolność tworzenia biofilmu. Rok 2021 przyniósł interesujące wyniki wpływające z badań przeprowadzonych w Korei Południowej na szczepach *S. pseudintermedius* wieloantybiotykoopornych zdolnych do tworzenia biofilmów. Jako alternatywę dla niezwykle trudnego w tej sytuacji leczenia antybiotykowego zastosowano terapię fagową u psów, stosując nowo wyizolowane bakteriofagi pSp-J i pSp-S, z psich parków dla zwierząt domowych. Biologiczna ocena tych nowo odkrytych związków wykazała, iż posiadają one aktywność lityczną wobec większości opornych na metycylinę szczepów *S. pseudintermedius*. Pozytywny jest również fakt ich stabilności w temperaturze i pH charakterystycznym dla ciała zwierząt (~37°C, pH 7). Po przeprowadzonych eksperymentach udało się wykazać iż fagi te w niskich stężeniach zapobiegają wytwarzaniu biofilmów, z kolei przy wysokich doprowadzają do ich degradacji, co jest niezwykle pożądaną cechą (Kim i in. 2021).

6. Podsumowanie

Rosnąca antybiotykooporność wymusza na ludzkości poszukiwanie alternatywnych środków leczenia drobnoustrojów. Jedną z takich metod jest zastosowanie bakteriofagów w terapii zakażeń bakteryjnych. Fagi odznaczają się specyficnością do określonego gatunku, a nawet szczepu bakteryjnego przez co mogą być swoistą metodą zwalczania określonych drobnoustrojów bez wpływu na fizjologiczną mikroflorę organizmu zwierzęcego. Terapia fagowa odznacza się wieloma pozytywnymi wynikami w eksperymentalnych badaniach klinicznych i wiąże się z nią spore nadzieje w zastosowaniu jej na skalę przemysłową.

Pomimo jednak łatwości w izolowaniu bakteriofagów jak i ich pozyskiwaniu, terapia fagowa nie jest jeszcze w pełni wystandaryzowana i zalecane są dalsze jej badania.

7. Literatura

- Adams MH (1959) Bacteriophages. Interscience publishers. INC. New York
- Alomari MMM, Dec M, Nowaczek A, et al. (2021) Therapeutic and prophylactic effect of the experimental bacteriophage treatment to control diarrhea caused by *E. coli* in newborn calves. *ACS Infectious Diseases* 7: 2093-2101.
- Amiri Fahliyani S, Beheshti-Maal K, Ghandehari F (2018) Novel lytic bacteriophages of *Klebsiella oxytoca* ABG-IAUF-1 as the potential agents for mastitis phage therapy. *FEMS microbiology letters*.365.20: fny223.
- Arnold L, Weiss E (1925) Isolation of bacteriophage free from bacterial proteins. *The Journal of Infectious Diseases* 37(5): 411–417.
- Brzozowska E, Bazan J, Gamian A (2011) Funkcje białek bakteriofagowych* The functions of bacteriophage proteins. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* 65: 167-176.
- Compton A (1928) Sensitization and immunization with bacteriophage in experimental plague. *Journal of Infectious Diseases*. 43: 448–457.
- Fu W, Foster T, Mayer O, et al. (2010) Bacteriophage cocktail for the prevention of biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* on catheters in an in vitro model system. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 54 (1): 397–404.
- Ganaie MY, Qureshi S, Kashoo Z, et al. (2018) Isolation and characterization of two lytic bacteriophages against *Staphylococcus aureus* from India: newer therapeutic agents against Bovine mastitis. *Veterinary research communications* 42(4): 289-295.
- Gryko R, Parasion S, Mizak L (2010) Bakteriofagi i fagoterapia. *Medycyna Weterynaryjna*. 66(04): 232-235.

- Hanlon GW (2007) Bacteriophages: an appraisal of their role in the treatment of bacterial infections. *International Journal of Antimicrobial Agents* 30: 118-128.
- Hughes KA, Sutherland IW, Jones MV, et al. (1998) Biofilm susceptibility to bacteriophage attack: the role of phage-borne polysaccharide depolymerase. *Print. Gt. Britain Microbiol* 144: 3039–3047.
- Kaushik P, Kumar A, Kumari S, et al. (2022) Isolation and characterization of lytic bacteriophage against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* from pyoderma in dog. *Indian Journal of Animal Research* 56(7): 873-879.
- Kim SG, Giri SS, Yun S, et al. (2021) Two novel bacteriophages control multidrug-and methicillin-resistant *staphylococcus pseudintermedius* biofilm. *Frontiers in medicine* 8: 524059.
- Larkum NW (1929) Bacteriophage as substitute of typhoid vaccine. *Journal of Bacteriology* 17: 42.
- Lee HG, Kim YB, Lee SH, et al. (2022) In Vivo Recovery of Bacteriophages and Their Effects on *Clostridium perfringens*-Infected Broiler Chickens. *Veterinary Sciences* 9(3): 119.
- Matsuzaki S, Yasuda M, Nishikawa H, et al. (2003) Experimental protection of mice against lethal *Staphylococcus aureus* infection by novel bacteriophage FMR11. *Journal Infectious Diseases* 187: 613-624.
- Nakamura T, Kitana J, Fujiki J, et al. (2020) Lytic activity of polyvalent staphylococcal bacteriophage PhiSA012 and its endolysin Lys-PhiSA012 against antibiotic-resistant staphylococcal clinical isolates from canine skin infection sites. *Frontiers in Medicine* 7: 234.
- Ochońska D, Brzywczy-Włoch M, Bulanda M (2016) Innowacyjne metody leczenia - terapeutyczne zastosowanie bakteriofagów. *Zakażenia (Krak.)* 16: 1.
- Parisen A, Allain B, Zhang J, et al. (2008) Novel alternatives to antibiotics: bacteriophages, bacterial cell wall hydrolases, and antimicrobial peptides. *Journal of Applied Microbiology* 104: 1-13.
- Podlacha M, Grabowski Ł, Wegrzyn G, et al. (2022) Highly different effects of phage therapy and antibiotic therapy on immunological responses of chickens infected with *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Frontiers in immunology*: 5353.
- Principi N, Silvestri E, Esposito S (2019) Advantages and limitations of bacteriophages for the treatment of bacterial infections. *Frontiers in pharmacology* 10: 513.
- Rossi F, Diaz L, Wollam A, et al. (2014) Transferable vancomycin resistance in a community-associated MRSA lineage, *The New England Journal of Medicine* 370 (16): 1524–31.
- Saxena HM (2021) Bacteriophage and its Potential for Therapeutic Use in Brucellosis among Cattles. *Research & Reviews. Journal of Veterinary Science and Technology* 10 (2): 9–17.
- Siddique AB, Nawaz Z, Zahoor MA, et al. (2018) Efficacy of lytic bacteriophages against multidrug resistant salmonella enteritidis from milk and meat. *Pakistan Veterinary Journal* 38: 4.
- Stachurska X, Grygorcewicz B, Nawrotek P (2017) Zastosowanie bakteriofagów do eradykacji patogenów bakteryjnych psów. *Pielęgnacja i Żywnienie Psów*: 49.
- Urban-Chmiel R, Pyzik E, Dec M, i in. (2022) Schyłek ery antybiotyków? Przykłady działań alternatywnych dla antybiotyków. *Życie Weterynaryjne* 97: 7.
- Weinbauer M (2004) Ecology of prokaryotic viruses. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Reviews* 28: 127–181
- Wittebole X, De Roock S, Opal SM (2014) A historical overview of bacteriophage therapy as an alternative to antibiotics for the treatment of bacterial pathogens *Virulence* 5: 226-235.
- Woźnica WM, Bigos J, Łobocka MB (2015) Liza komórek bakteryjnych w procesie uwalniania bakteriofagów-kanoniczne i nowo poznane mechanizmy. *Advances in Hygiene & Experimental Medicine/Postepy Higieny i Medycyny Doswiadczalnej*: 69.
- Zhang HT, Liu H (2015) Laboratory-based evaluation of MDR strains of *Pseudomonas* in patients with acute burn injuries, *International Journal of Clinical and Experimental Medicine* 8: 16512–9.

17. Prozdrowotne właściwości krzewów ozdobnych

Health-promoting properties of ornamental shrubs

Barbara Stadnik^(1,2), Dagmara Migut⁽²⁾

⁽¹⁾ Szkoła Doktorska Uniwersytetu Rzeszowskiego, Uniwersytet Rzeszowski

⁽²⁾ Zakład Produkcji Roślinnej, Instytut Nauk Rolniczych, Ochrony i Kształtowania Środowiska, Uniwersytet Rzeszowski

Stadnik Barbara: barbarast@dokt.ur.edu.pl

Opiekun naukowy: dr hab. inż. Renata Tobiasz-Salach, prof. UR

Słowa kluczowe: rośliny ozdobne, właściwości prozdrowotne, krzewy ogrodowe

Streszczenie

Surowce pochodzenia roślinnego, to cenne źródło związków bioaktywnych, dlatego też coraz częściej wprowadza się na rynek różne preparaty z dodatkiem ekstraktów, soków lub koncentratów otrzymywanych z roślin wykazujących korzystny wpływ na zdrowie człowieka. Krzewy ozdobne poza walorami estetycznymi wykazują wiele alternatywnych zastosowań, w tym pozyskiwanie substancji biologicznie czynnych, które mogą pozytywnie oddziaływać na zdrowie człowieka. W pracy przedstawiono charakterystykę wybranych krzewów ozdobnych odznaczających się walorami prozdrowotnymi. Opisano właściwości takich gatunków jak berberys pospolity (*Berberis vulgaris* L.), bez czarny (*Sambucus nigra* L.), cytryniec chiński (*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.), dereń jadalny (*Cornus mas* L.), forsycja pośrednia (*Forsythia x intermedia*), kalina koralowa (*Viburnum opulus* L.), pigwowiec japoński (*Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach) i rokitnik zwyczajny (*Hippophaë rhamnoides* L.).

1. Wstęp

Krzewy są niezastąpionym elementem ogrodowych aranżacji. Są tłem dla mniejszych roślin, wypełniają przestrzeń i dodają jej tajemniczości lub pozwalają stworzyć niedostępny zakątek, np. odgradzając teren posesji od ulicy. Sprawdzają się także jako efektowne solitery. Jednocześnie kwiaty i owoce wielu gatunków krzewów ozdobnych posiadają cenne właściwości prozdrowotne, a więc mogą być uprawiane zarówno jako rośliny ozdobne, jak i w celach leczniczych. Praca ma na celu przedstawienie, na podstawie aktualnych informacji dostępnych w literaturze naukowej, wybranych gatunków krzewów ozdobnych ze szczególnym uwzględnieniem ich walorów leczniczych.

2. Przegląd literatury

Berberys pospolity (*Berberis vulgaris* L.) jest popularnym, dziko rosnącym krzewem w krajach europejskich oraz krzewem ozdobnym na całym świecie. Rodzaj *Berberis* pochodzi z umiarkowanych i półtropikalnych regionów Azji, Europy, Afryki, Ameryki Północnej i Ameryki Południowej (Rahimi-Madiseh i in. 2017). To koleczasty krzew dorastający do 3 metrów wysokości. Wytwarza żółte, pachnące kwiaty w kształcie małych półkulistych dzwoneczków, które są zebrane w grona. Rozwijają się od maja do czerwca. Roślina ta posiada walory dekoracyjne, dzięki zimotrwałym, czerwonym jagodom. Gatunek ten nadaje się na żywopłoty (Wojciechowska 2017). Berberys pospolity charakteryzuje się wysoką zawartością związków fitochemicznych, w tym kwasu askorbinowego, witaminy K, kilka triterpenoidów i ponad 10 związków fenolowych (Rahimi-Madiseh i in. 2017). W medycynie wykorzystuje się różne części tej rośliny, w tym korzeń, kłaczka, łodygę, liść i owoce. Korzenie i owoce berberysu pospolitego zawierają biologicznie aktywne związki, przez co mają zastosowanie w terapii stanów zapalnych organizmu, chorób serca, dróg żółciowych i jelit. Do tej pory zbadano 22 alkaloidy pochodzące z *Berberis vulgaris* L. które mają znaczenie lecznicze (Arayne i in. 2007). Najwięcej związków fenolowych i antocyjanów znajduje się w soku z owoców, a najwięcej związków flawonoidowych w liściach (Rahimi-Madiseh i in. 2017).

Berberyna i berbamina to najważniejsze związki występujące we wszystkich gatunkach berberysu. Analizy fitochemiczne różnych gatunków tego rodzaju wykryły w nich również alkaloidy, garbniki, związki fenolowe, sterole i triterpeny (Zarei i in. 2015). Głównym związkiem aktywnym berberysu jest alkaloid berberyna. Jego zawartość w liściach i korzeniu szacuje się na 1,5-2% s. m. Berberyna poprzez działanie rozkurczowe na mięśnie gładkie, wspomaga procesy wydzielania żółci, łagodnie obniża ciśnienie krwi, a także jest naturalnym antybiotykiem oraz działa przeciwbólowo (Wojciechowska 2017). Badania fitochemiczne i farmakologiczne wykazały, że wszystkie gatunki z rodzaju *Berberis* mają właściwości przeciwdrobnoustrojowe, przeciwwymiotne, przeciwgorączkowe, przeciwutleniające, przeciwzapalne, przeciwarytmiczne, antycholinergiczne, żółciopędne, przeciw leishmaniozie i przeciw malarii (Imanshahidi i Hosseinzadeh 2008; Zarei i in. 2015). Preparaty na bazie berberysu wykorzystywane są jako środek do łagodzenia stresu, nerwicy i depresji (Możdżeń i in. 2021).

Kolejnym krzewem o właściwościach prozdrowotnych jest bez czarny (*Sambucus nigra* L.) występuje powszechnie w Europie, Azji Centralnej, obu Amerykach i Afryce Północnej. Do pozyskiwania związków biologicznie czynnych wykorzystywane są zarówno kwiatostany jak i owoce tego gatunku. W roślinie tej, głównymi składnikami bioaktywnymi są antocyjany, kwasy organiczne, witamina C, witaminy z grupy B oraz węglowodany. Wykazują one właściwości przeciwwirusowe, przeciwzapalne, przeciwbakteryjne. Ekstrakty z owoców czarnego bzu odznaczają się dużą zawartością rozpuszczalnych fenoli oraz flawanoli i tym samym wysoką zdolnością neutralizacji wolnych rodników tlenowych. Występujące w owocach antocyjany odgrywają istotną rolę w przemyśle spożywczym. Z jednej strony są związkami o charakterze prozdrowotnym, z drugiej zaś pełnią funkcję naturalnego barwnika produktów spożywczych, nie budząc przy tym zastrzeżeń konsumentów. W wielu krajach preparaty z czarnego bzu występują jako samodzielne produkty spożywcze lub znalazły zastosowanie jako dodatki do żywności (Bratu i in. 2012; Hearst i in. 2010; Stoilova i in. 2007).

Kolejnym krzewem jest cytryniec chiński (*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.). To wieloletnie pnącze należące do rodziny cytryńcowatych (*Schisandraceae*). Polska nazwa rośliny pochodzi od cytrynowego zapachu wszystkich jej części oraz od kwaśnego smaku owoców. Ozdobą cytryńca są liście – eliptyczne lub owalne, błyszczące, ostro zakończone, latem ciemnozielone, a jesienią w kolorze żółtym. W warunkach naturalnych cytryniec występuje na terenach południowo-wschodniej Azji. Uprawiany jest na dużą skalę w krajach azjatyckich, Rosji, Bułgarii, na Białorusi, Ukrainie oraz w Czechach (Dobros 2013, Szopa i in. 2016). Głównymi związkami biologicznie czynnymi owoców cytryńca są lignany, pochodne dibenzocycloooktadienu. Zdefiniowano ponad 40 związków tej grupy, występujących w cytryńcu chińskim - głównie w nasionach (7,2–19,2%) (Dobros 2013). Ekstrakt z owoców *S. chinensis* wykazuje m.in. działanie hepatoprotekcyjne przeciwnowotworowe, przeciwzapalne, antyoksydacyjne i detoksykacyjne (Szopa i in. 2016). Z badań wynika, że jednym z podstawowych działań terapeutycznych *Schisandra chinensis* jest działanie adaptogenne, obejmujące wzrost odporności immunologicznej, obniżenie aktywności ośrodkowego układu nerwowego, wzrost wytrzymałości na wysiłek fizyczny, wzrost zdolności uczenia się i zapamiętywania oraz wyraźnie zaznaczone działanie przeciwutleniające (Kędzia 2002).

Do krzewów o właściwościach prozdrowotnych należy także dereń jadalny (*Cornus mas* L.) zwany także właściwym, należy do rodziny dereniowatych (*Cornaceae*). Występuje na terenie Turcji, Rumunii, Bułgarii, Włoszech w Europie Południowej i Azji Południowo-Zachodniej. Jest dużym krzewem z wiekiem wyglądającym jak niewielkie drzewo. Osiąga od 4 do 7 metrów wysokości. Cechuje się powolnym tempem wzrostu i może żyć nawet 300 lat. Dobrze przystosowuje się do niesprzyjających warunków środowiskowych. Jest odporny na choroby i szkodniki (Bayram i Ozturkcan 2020). Jego liście są zielone i lśniące. Kwitnie w marcu i kwietniu przed wykształceniem liści. Ma drobne żółte kwiaty zebrane w kuliste kwiatostany. Owoce derenia są soczyste, o cierpko-kwaśnym smaku. Najpopularniejsze odmiany są ciemnoczerwone i mają kształt oliwki. Owoce osiągają przeważnie długość 1-2 cm. Cechują się słodko-kwaśnym smakiem i specyficznym aromatem. Charakterystycznym wyróżnikiem smaku owoców derenia jest cierpkość wynikająca z wysokiej zawartości substancji garbnikowych, sięgających nawet 2,5 g 100 g⁻¹ (Tarko 2010). *Cornus mas* L. jest szeroko stosowany w medycynie ludowej do leczenia i profilaktyki biegunek,

hemoroidów, cukrzycy, bólu gardła, dolegliwości trawiennych, odry, ospy wietrznej, anemii, krzywicy, chorób wątroby i nerek. W badaniach przeprowadzonych na dereniu jadalnym wykazano obecność w tej roślinie szeregu składników bioaktywnych, takich jak cząsteczki organiczne, węglowodany, kwasy tłuszczowe, witaminy i minerały. Cząsteczki organiczne w dereniu można podzielić na pięć grup strukturalnych: antocyjany, irydoidy, kwasy fenolowe, flawonoidy i garbniki (Szczepaniak i in. 2019; Bayram i Ozturkcan 2020). Ilość tych składników zależy od genotypu rośliny, uprawy, stanu wzrostu roślin oraz dojrzałości owoców. Owoce derenia jadalnego odznaczają się silną aktywnością antyoksydacyjną i wysoką zawartością polifenoli (Tarko i in. 2010). Dereń jadalny może być składnikiem diety jako tzw. „super food” ze względu na składniki fenolowe, kwasy organiczne, witaminę C, pektyny, karotenoidy i niezbędne minerały. W diecie stosowany jest przede wszystkim jako suszone lub sproszkowane owoce lub ekstrakt etanolowy z owoców. Badania wykazały prozdrowotne właściwości derenia poprzez wspomaganie profilaktyki chorób cywilizacyjnych. Wykazano działanie przeciwnowotworowe, przeciwcukrzycowe, przeciwzapalne i zapobiegające chorobom układu krążenia (Bayram i Ozturkcan 2020).

Forsycja pośrednia (*Forsythia x intermedia*) jest najczęściej występującym gatunkiem forsycji w Polsce. Jest popularnym krzewem ozdobnym, wykorzystywanym w aranżacji zieleni miejskiej oraz ogrodów przydomowych. Zwraca uwagę szczególnie wiosną, kiedy wytwarza na pędach żółte kwiaty jeszcze przed pojawieniem się liści. Okres kwitnienia forsycji przypada od połowy marca do początku maja (w zależności od gatunku i odmiany). Forsycja jest dobrym źródłem flawonoidów, czyli związków bioaktywnych, występujących w roślinach, które wykazują pozytywny wpływ na zdrowie człowieka. Wykazują działanie przeciwzapalne, przeciwnowotworowe, przeciwwirusowe i przeciwbakteryjne. Ponadto cechują się działaniem antyoksydacyjnym polegających na zmniejszaniu aktywności enzymów uczestniczących w syntezie wolnych rodników. Przykładowe związki flawonowe występujące w kwiatach forsycji to lignany, antocyjany, kwercetyna oraz rutyna, która wzmacnia oraz uszczelnia naczynia krwionośne i poprawia ich elastyczność ścian naczyń krwionośnych, co pomaga niwelować obrzęki oraz opuchliznę. Ponadto forsycja zawiera saponiny, charakteryzujące się m.in. działaniem moczopędnym oraz wspomagają procesy trawienne (Guo i in. 2007; Dong i in. 2017).

Kalina koralowa (*Viburnum opulus* L.) to cenna roślina ozdobna, lecznicza i spożywcza. Należy do rodzaju *Viburnum* L. z rodziny *Adoxaceae*. Występuje powszechnie w siedliskach przyrodniczych na kontynencie europejskim oraz w niektórych regionach Afryki Północnej i Azji Północnej, a także w centralnej strefie Rosji. Jest szybko rosnącym krzewem liściastym, dorastający do 4–5 m wysokości. Wykształca przeciwległe, trójklapowe liście, z zaokrągloną podstawą i grubo ząbkowanymi brzegami. Na wierzchu są nagie i ciemnozielone, pod spodem jaśniejsze, lekko owłosione z włoskami w kształcie gwiazdek. Liście rozwijają się razem z kwiatami. Kwiaty mają białą barwę i są wytwarzane w baldachimach. Wytwarza lśniące i kuliste owoce o jasnoczerwonym, czerwonym lub ciemnoczerwonym kolorze skórki. Kalina koralowa jest rośliną bogatą w związki fenolowe. Za jej przeciwutleniające działanie odpowiedzialny jest głównie depsyd - kwas chlorogenowy. Ponadto prozdrowotne właściwości tego gatunku wynikają z obecności w niej takich jak składników bioaktywnych jak witamina C, karotenoidy, irydoidy i olejki eteryczne. Bogaty i różnorodny skład chemiczny sprawia, że jest to cenna roślina o zróżnicowanym działaniu biologicznym wykorzystywana jako składnik żywności i lek w medycynie ludowej. Ma tradycyjne zastosowanie w leczeniu dolegliwości, takich jak między innymi kaszel, przeziębienia, gruźlica, bóle reumatyczne, wrzody, problemy żołądkowe i nerkowe. W badaniach odnotowano właściwości przeciwzapalne, przeciwcukrzycowe, osteogenne, kardioprotekcyjne i cytoprotekcyjne kaliny koralowej. Dotychczas większość badań prowadzono na owocach, a tylko nieliczne dane dotyczą innych części morfologicznych rośliny, takich jak kora, liść czy kwiat. (Kąjszczak i in. 2020).

Pigwowiec japoński (*Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach) należy do rodziny różowatych (*Rosaceae*), podrodziny jabłkowych (*Pomoideae*). Ze względu na kolor kwiatów pigwowiec japoński nazywany jest także „ognistym krzewem”. *C. japonica* to gatunek pochodzący z centralnej i południowej Japonii. Został sprowadzony do Europy w XIX w. i jest powszechnie znany jako krzew ozdobny ze względu na swoje walory dekoracyjne; rozpowszechniony jako element parków i ogrodów. Pigwowiec japoński jest krzewem o wysokości ok. 1 m, silnie rozłożystym

z licznymi rozgałęzionymi od nasady rośliny, ciernistymi pędami. Ma liście o długości do 5 cm, odwrotnie jajowate, ciemnozielone, lśniące, nieco skórzaste liście, o dużych, trwałych przylistkach. Kwitnie w kwietniu, czasem także jesienią. Wykształca ceglastoczerwone, pięciokrotne i pięciopłatkowe kwiaty. Owoce są kuliste, o nieregularnym kształcie i zróżnicowanej wielkości. Zwykle mają kształt małego jabłka, o średnicy około 4 cm i masie poniżej 50 g. Dobrze znoszą przechowywanie i transport, a ich miąższ po przekrojeniu długo nie zmienia barwy na powietrzu (Tarko i in. 2010). Duży potencjał użytkowy owoców pigwowca sprawił, że obecnie uprawiany jest w całej strefie umiarkowanej z uwagi na swoje właściwości ozdobne oraz jadalne. Pigwowiec japoński jest ceniony ze względu na wysoki poziom korzystnych dla zdrowia związków odżywczych i bioaktywnych. Owoce pigwowca charakteryzują się przede wszystkim wysoką zawartością kwasu askorbinowego i jego dużą trwałością podczas przechowywania i przetwarzania. Zawartość witaminy C w owocach i w soku z nich uzyskanym ma wartość porównywalną z zawartością w owocach cytrusowych. Owoce *C. japonica* zawierają 20 związków fenolowych. Są to kwasy fenolowe i flawonoidy. Głównymi związkami fenolowymi w owocach są proantocyjanidyny. Pozostałe polifenole w owocni to kwas chlorogenowy i glukozydy kwercetyny. Owoce pigwowca japońskiego zalicza się do grupy ubogich w cukry proste, o korzystnym stosunku fruktozy do glukozy. W porównaniu z innymi krzewami owocowymi pigwowiec japoński wytwarza owoce bogate w składniki mineralne. Są szczególnie zasobne w żelazo i molibden, ale także zawierają wysoką zawartość magnezu, sodu, miedzi, cynku i fosforu. Pigwowiec japoński wykorzystywany był w tradycyjnej chińskiej medycynie w postaci suszu z owoców nazywanego „Mugua”. Owocom przypisywano wiele właściwości prozdrowotnych i stosowano przy łagodzeniu licznych schorzeń. Współczesne badania farmakologiczne wykazały, że *C. japonica* jest rośliną leczniczą wykazującą wiele właściwości biologicznych i farmakologicznych takich jak działanie przeciwzapalne, przeciwbólowe, przeciwskurczowe, antyoksydacyjne, immunoregulujące, przeciwbakteryjne. Ponadto substancje zawarte w owocach wykazują działanie przeciwrakowe poprzez hamowanie proliferacji komórek nowotworowych (Nahorska i in. 2014, Byczkiewicz i in. 2019).

Rokitnik zwyczajny (*Hippophaë rhamnoides* L.) zwany także pospolitym, jest liściastym krzewem, należącym do rodziny rokitnikowatych (*Elaeagnaceae*). Wykształca silne rozgałęzienia i dorasta do 5 metrów wysokości. Zakres jego występowania jest bardzo rozległy, rośnie niemal w całej Azji i Europie. Rokitnik zwyczajny jest uprawiany w ogrodach jako roślina ozdobna, ze względu na dekoracyjne kiście owoców kiście, które nie opadają na zimę, tworząc barwny akcent w zimowym ogrodzie. *H. rhamnoides* jest również rośliną leczniczą. Wszystkie części rokitnika zwyczajnego stanowią źródło wielu substancji odżywczych i aktywnych biologicznie, wpływających korzystnie na organizm ludzki. Użyteczne są zarówno owoce i nasiona, jak i korzenie, łodyga i liście. Obecnie wykorzystywane są głównie owoce i nasiona. Sok z owoców rokitnika jest bogaty w kwasy organiczne, kwasy tłuszczowe, flawonoidy, karotenoidy, witaminy oraz składniki mineralne. Olej z nasion rokitnika charakteryzuje się wysoką zawartością kwasów tłuszczowych, takich jak kwas oleinowy, linolowy i palmitynowy. Jest on również bogaty w karotenoidy, tokoferole oraz fitosterole. Liście są dobrym źródłem białka o wysokiej wartości odżywczej oraz substancji bioaktywnych, w tym głównie związków przeciwutleniających. Owoce rokitnika charakteryzują się dużą ilością naturalnych przeciwutleniaczy, głównym z nich jest witamina C, a ponadto zawierają tokoferole, karotenoidy i flawonoidy. Związki te zlokalizowane są przede wszystkim w miękkich częściach owocu, nadając im charakterystyczny żółtopomarańczowy kolor. W owocach 15-55% wszystkich związków z tej grupy stanowi β -karoten. W mniejszych stężeniach występuje również α - i γ -karoten, likopen, zeaksantyna oraz kantaksantyna. W 100 g świeżych owoców znajduje się od 120 do 1000 mg flawonoidów (Boško i Biel 2017). Herbata sporządzona z liści rokitnika jest również bogata w wapń, potas, magnez, żelazo, fosfor, mangan, i witaminę E (Stobdan i in. 2010). Rokitnik zwyczajny od dawna jest wykorzystywany w medycynie ludowej. W starożytnej Grecji rokitnik zwyczajny był znany jako środek leczniczy dla koni, natomiast we wschodniej medycynie stosowany był w celu poprawy krążenia krwi oraz usuwania skrzepów, a także do łagodzenia kaszlu i biegunek. Dobrze znane i potwierdzone jest lecznicze działanie preparatów z rokitnika zwyczajnego w przypadku chorób sercowo-naczyniowych. Za to działanie odpowiedzialne są głównie flawonoidy

obecne we wszystkich częściach rośliny oraz nienasycone kwasy tłuszczowe występujące w oleju z nasion oraz miększu z owoców rokitnika zwyczajnego (Stobdan i in. 2010, Boško i Biel 2017).

3. Podsumowanie

Opisane gatunki krzewów są wykorzystywane przede wszystkim jako element ozdobny ogrodów i parków wzbogacając je i nadając im wyjątkowych walorów estetycznych. Cechują się różnorodną barwą i kształtem liści, kwiatów i owoców urozmaicając krajobraz. Ponadto wykazują szereg cech mających pozytywny wpływ na organizm człowieka. W celach prozdrowotnych wykorzystywane mogą być różne części roślin, zarówno korzenie, jak i części nadziemne. Z liści i owoców można sporządzać napary lub pozyskiwać sok, a nasion olej. Włączenie tych produktów do diety może zapobiegać wystąpieniu chorób, wzmacniać układ nerwowy, oddechowy, trawienny oraz układ krążenia. Za prozdrowotne właściwości opisanych krzewów ozdobnych odpowiedzialne są zawarte w nich związki bioaktywne takie jak cząsteczki organiczne, węglowodany, kwasy tłuszczowe, witaminy i minerały. Cząsteczki organiczne to m.in. antocyjany, kwasy fenolowe, flawonoidy i garbniki. Lecznicze właściwości tych substancji polegają przede wszystkim na działaniu przeciwzapalnym, przeciwbólowym, przeciwskurczowym i antyoksydacyjnym.

4. Literatura

- Arayne MS, Sultana N, Bahadur SS (2007) The berberis story: *Berberis vulgaris* in therapeutics. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences* 20: 83–92.
- Bayram HM, Ozturkcan SA (2020) Bioactive components and biological properties of cornelian cherry (*Cornus mas* L.): A comprehensive review. *Journal of Functional Foods* 75: 104252.
- Boško P, Biel W (2017) Właściwości lecznicze rokitnika zwyczajnego (*Hippophae rhamnoides* L.). *Postępy Fitoterapii* 1: 36–41.
- Bratu MM, Doroftei E, Negreanu-Pirjol T, Hostina C, Porta S (2012) Determination of antioxidant activity and toxicity of *Sambucus nigra* fruit extract using alternative methods. *Food Technology and Biotechnology* 50: 177–182.
- Byczkiewicz S, Kobus-Cisowska J, Szulc P i in. (2019) Pigwowiec japoński (*Chaenomeles japonica* L.) jako surowiec o właściwościach prozdrowotnych—aktualny stan wiedzy. *Technika Rolnicza Ogrodnicza Leśna* 5: 22–25.
- Dobros N (2013) Owoce mniej znanych gatunków roślin użytkowych jako cenny surowiec dla przetwórstwa Cz. 1. Cytryniec chiński. *Postępy Nauki i Technologii Przemysłu Rolno-Spożywczego* 68: 70–79.
- Dong Z, Lu X, Tong X, Dong Y, Tang L, Liu M (2017) Forsythiae Fructus: a review on its phytochemistry, quality control, pharmacology and pharmacokinetics. *Molecules* 22(9): 1466.
- Guo A, Liu M, Ye M, i in. (2007) Characterization of phenolic compounds in the fruits of *Forsythia suspensa* by high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 21: 715–729.
- Hearst C, McCollum G, Nelson D i in. (2010) Antibacterial activity of elder (*Sambucus nigra* L.) flower or berry against hospital pathogens. *Journal of Medicinal Plants Research* 4: 1805–1809.
- Imanshahidi M, Hosseinzadeh H (2008) Pharmacological and therapeutic effects of *Berberis vulgaris* and its active constituent berberine. *Phytotherapy Research* 22: 999–1012.
- Kajszczak D, Zakłós-Szyda M, Podsędek A (2020) *Viburnum opulus* L.—A review of phytochemistry and biological effects. *Nutrients* 12(11): 3398.
- Kędzia B (2002) Właściwości biologiczne i lecznicze owocu *Schisandra chinensis*. *Herba polonica* 48: 146–155.
- Możdżeń K, Rzepka A, Barabasz-Krasny B (2021) Rośliny lecznicze wspomagające terapie stresu, nerwic i depresji. *Medycyna Ogólna i Nauki o Zdrowiu* 27: 182.
- Nahorska A, Dzwoniarska M, Thiem B (2014) Owoce pigwowca japońskiego (*Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach) źródłem substancji biologicznie aktywnych. *Postępy Fitoterapii* 4: 239–246.

- Rahimi-Madiseh M, Lorigoini Z, Zamani-Gharaghoshi H, Rafieian-Kopaei M (2017) *Berberis vulgaris*: specifications and traditional uses. Iranian Journal of Basic Medical Sciences 20: 569–587.
- Stobdan T, Chaurasia OP, Korekar G i in. (2010) Attributes of seabuckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) to meet nutritional requirements in high altitude. Defence Science Review 60: 226–230.
- Stoilova I, Wilker M, Stoyanova A, i in. (2007) Antioxidant activity of extract from elder flower (*Sambucus nigra* L.). Herba Polonica 53: 45–54.
- Szczepaniak OM, Kobus-Cisowska J, Kusek W, Przeor M (2019) Functional properties of Cornelian cherry (*Cornus mas* L.): A comprehensive review. European Food Research and Technology 245: 2071–2087.
- Szopa A, Klimek M, Ekiert H (2016) Cytryniec chiński (*Schisandra chinensis*)-znaczenie lecznicze i kosmetyczne. Polish Journal of Cosmetology 19: 274–284.
- Tarko T, Duda-Chodak A, Pogon P (2010) Charakterystyka owoców pigwowca japońskiego i derenia jadalnego. Żywność Nauka Technologia Jakość 17: 100–108.
- Wojciechowska I (2017) Berberys pospolity-roślina ozdobna i lecznicza. Kosmos 66: 487–490.
- Zarei A, Changizi-Ashtiyani S, Taheri S, Ramezani M (2015) A quick overview on some aspects of endocrinological and therapeutic effects of *Berberis vulgaris* L. Avicenna Journal of Phytomedicine 5: 485–497.

18. Uprawa i znaczenie gospodarcze owsa zwyczajnego

Cultivation and economic importance of oat

Barbara Stadnik^(1,2)

⁽¹⁾ Szkoła Doktorska Uniwersytetu Rzeszowskiego, Uniwersytet Rzeszowski

⁽²⁾ Zakład Produkcji Roślinnej, Instytut Nauk Rolniczych, Ochrony i Kształtowania Środowiska, Uniwersytet Rzeszowski

Stadnik Barbara: barbarast@dokt.ur.edu.pl

Opiekun naukowy: dr hab. inż. Renata Tobiasz-Salach, prof. UR

Słowa kluczowe: agrotechnika, *Avena sativa* L., produkcja ziarna, wykorzystanie ziarna

Streszczenie

Owies zwyczajny (*Avena sativa* L.) jest zbożem o niewielkim znaczeniu na świecie w porównaniu z innymi gatunkami zbóż, jednak popularność tego gatunku wzrasta ze względu na wiele możliwości zastosowania. Owies wykorzystywany jest przede wszystkim na cele paszowe. Ponadto jest składnikiem żywności funkcjonalnej w diecie człowieka ze względu na wysoką zawartość błonnika pokarmowego. W uprawie owies cechuje się stosunkowo niskimi wymaganiami pokarmowymi oraz wykazuje wysoką tolerancję na odczyn gleby. Gatunek ten posiada właściwości fitosanitarne oraz jest odporny na choroby podstawy źdźbła, dzięki czemu jest dobrym przedplonem dla innych zbóż. Nowe możliwości wykorzystania owsa wiążą się z wykorzystaniem go jako rośliny alternatywnej do produkcji energii. Jest to szczególnie ważny aspekt w obliczu obecnego kryzysu energetycznego na świecie.

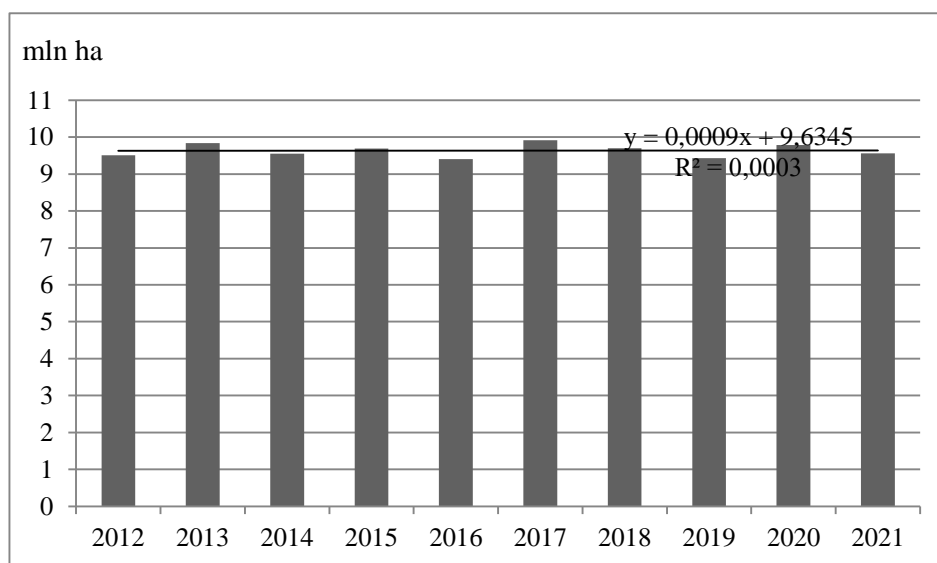
1. Owies - charakterystyka gatunku

Owies siewny (*Avena sativa* L.), zwany także owsem zwyczajnym, to główny gatunek owsa uprawiany na świecie, obejmujący około 90% światowych zasiewów. W obrębie gatunku wyróżniamy formy oplewione i nagoziarniste. Gatunek ten, oprócz formy oplewionej jako plenniejszej i szerzej rozpowszechnionej w uprawie, ma także formę nagoziarnistą (nieoplewioną). W Polsce w uprawie występuje tylko forma jara, ponieważ odmiany ozime w krajowych warunkach nie wykazują odpowiedniej mrozoodporności i zimotrwałości. W warunkach klimatycznych Polski owies może być uprawiany na terenie całego kraju. Szczególnie korzystne warunki do uprawy są w rejonach podgórskich oraz północno-wschodniej części kraju, co wpływa na większy udział tego gatunku w strukturze zasiewów w tych rejonach. Wymagania termiczne owsa są niewielkie. Owies jest odporny na niskie temperatury i wiosenne przymrozki. Ziarno zaczyna kiełkować już w temperaturze 2-3°C, a niska temperatura po wschodach roślin jest korzystna dla uzyskania wysokich plonów. Gatunek ten najlepiej krzewi się w niskich temperaturach (6-12°C) (Szempliński i in. 2021). Małe wymagania cieplne owsa umożliwiają jego dojrzewanie w rejonach górskich – o niższej średniej temperaturze w okresie lata. Owies jest rośliną dnia długiego. Krótki dzień wpływa na znaczne przedłużenie okresu wegetacji, a długi dzień skraca okres rozwoju wegetatywnego i powoduje szybsze wytworzenie wiech. Gatunek ten powinien być wysiewany jak najwcześniej, ponieważ wykazuje wysoką wrażliwość na opóźnienie terminu siewu i reaguje spadkiem plonu. Im późniejszy siew, czyli wówczas, gdy dzień jest dłuższy, tym bardziej negatywnie wpływa na produktywność wiech, czyli na wysokość uzyskiwanego plonu ziarna. Rośliny owsa wykształcają silnie rozwinięty system korzeniowy, dzięki czemu cechują się bardzo dobrą zdolnością pobierania składników pokarmowych z podłoża, także tych znajdujących się w glebie w formie trudno dostępnej. Pod tym względem owies przewyższa inne zboża. Ponadto wykazuje dużą odporność na odczyn gleby. Dobrze znosi nawet dość silne zakwaszenie, jednak najlepiej plonuje na glebach o pH powyżej 5,5. Dzięki tym właściwościom może być uprawiany na glebach słabszych, mniej zasobnych, o gorszych warunkach gospodarowania. Do wad tego gatunku należy wysoki współczynnik

transpiracji, co sprawia, że owies jest zbożem o wysokich wymaganiach wodnych. Owies negatywnie reaguje na deficyt wody i stres suszy. Bardziej wrażliwa na niedobór wody w podłożu jest forma nieoplewiona. W całym okresie wegetacji najkorzystniejsza dla plonu ziarna owsa jest suma opadów wynosząca 200-240 mm (Sulek i Noworolnik 2013; Szempliński i in. 2021). Duże zapotrzebowanie na wodę występuje zwłaszcza w okresie od fazy strzelania w źdźbło do fazy kłoszenia. Nie poleca się go uprawiać na glebach lekkich, przepuszczalnych, na których ryzyko wystąpienia suszy jest duże, takie jak bardzo lekkie, suche piaski oraz gleby o wadliwych stosunkach wodnych. Gatunek ten jest dość dobrym przedplonem dla innych zbóż oraz na ogół dobrze znosi uprawę w zbożowej monokulturze. W związku z tym, że owies ma stosunkowo małe wymagania przedplonowe, a równocześnie pozostawia po sobie dobre stanowisko dla pozostałych roślin zbożowych, wprowadzony do uprawy w uproszczonych zmianowaniach zbożowych wyraźnie wpływa na zwiększenie ich wydajności. Wykazuje odporność na choroby podstawy źdźbła - nie tylko nie jest atakowany przez choroby źdźbła, ale również nie uczestniczy w łańcuchu żywicielskim grzybów wywołujących te choroby. Ponadto pełni funkcję fitosanitarną, dzięki zdolności wydzielania do gleby saponin - substancji hamujących rozwój patogenicznych grzybów (Sulek i Noworolnik 2013; Szempliński i in. 2021; Yusupovna 2022).

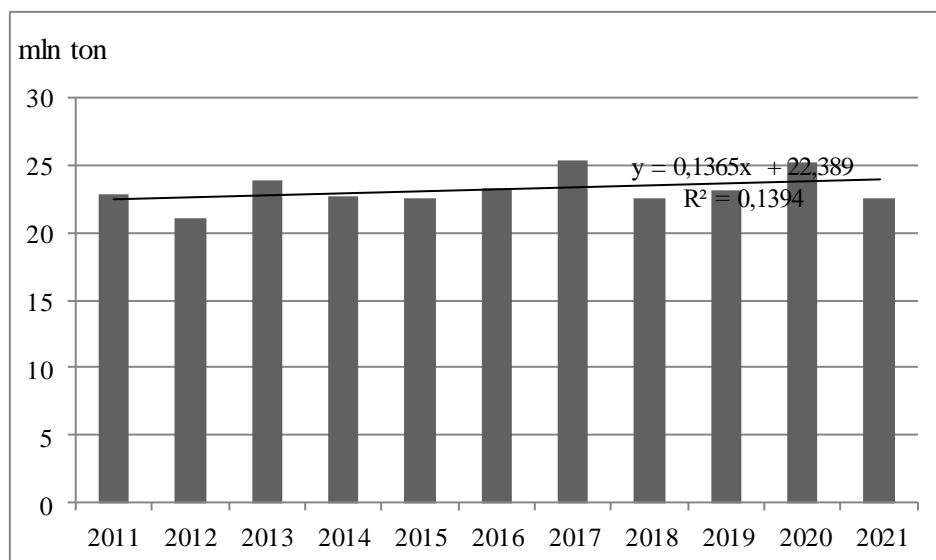
2. Powierzchnia zasiewów i produkcja ziarna

Areał uprawy owsa na świecie w ostatnich latach utrzymuje się na stałym poziomie i wynosi rocznie około 9-10 mln ha. Najwięcej wysiewa się go w Europie, ale uprawiany jest również w Azji, Ameryce Północnej i Południowej, Australii i Nowej Zelandii (FAO 2022). W 2021 roku powierzchnia zasiewów tego gatunku wynosiła 9,6 mln ha i była o 3,5% mniejsza w stosunku do roku poprzedniego (Rys. 1). Roczna produkcja ziarna wynosi około 20-25 mln ton. Średnie zbiory owsa w latach 2012-2021 wyniosły 23,2 mln ton. Największe zbiory uzyskano w roku 2017 i 2020 i wynosiły one odpowiednio 25,3 i 25,18 mln ton (Rys. 2).



Rys. 1 Światowy areał uprawy owsa w latach 2012-2021 w mln ha (FAO 2022).

Wiodącymi producentami owsa na świecie są Kanada i Rosja, które w 2021 roku wyprodukowały łącznie 8,71 mln ton ziarna co stanowi 38,6% światowej produkcji. Polska zajmuje trzecie miejsce wśród producentów owsa z wielkością produkcji 1,63 mln ton (Tab.1). Znaczącymi producentami są również: Hiszpania, Finlandia, Australia i Wielka Brytania, których produkcja przekracza 1 mln ton (Tab.1).



Rys. 2 Światowa produkcja ziarna owsa w latach 2011-2021 w mln ton (FAO 2022).

Tab. 1 Najwięksi producenci ziarna owsa na świecie w 2021 roku (FAO 2022).

Lp.	Kraj	mln ton
1.	Kanada	4,58
2.	Rosja	4,13
3.	Polska	1,63
4.	Hiszpania	1,38
5.	Finlandia	1,21
6.	Australia	1,14
7.	Wielka Brytania	1,03
8.	USA	0,95
9.	Brazylia	0,90
10.	Szwecja	0,81

3. Skład chemiczny ziarna

Wartość odżywcza i energetyczna owsa w porównaniu do pszenicy, czy jęczmienia jest wysoka. Wynika to przede wszystkim z wysokiej zawartości tłuszczu w ziarnie. W oplewionych odmianach owsa zawartość tłuszczu mieści się w granicach 4-7%, a u odmian nagich dochodzi do 9 %. Ilość tłuszczu w ziarnie owsa jest od trzech do pięciu razy większa niż w typowych zbożach chlebowych. Lipidy są rozmieszczone dość równomiernie w całym ziarnie, w odróżnieniu od pszenicy, kukurydzy i żyta, gdzie występują głównie w zarodku i warstwie aleuronowej. Zawartość tłuszczu, jak i skład kwasów tłuszczowych w ziarnie owsa zależne są od odmiany i modyfikowane przez warunki klimatyczno-glebowe w czasie wegetacji roślin (Kawka i Achremowicz 2014). Z owsa pozyskuje się olej o korzystnym, z punktu żywnościowego, udziale nienasyconych kwasów tłuszczowych. W oleju owsianym dominują takie kwasy tłuszczowe nienasycone jak linolowy i oleinowy, a z nasyconych – palmitynowy.

Zawartość białka w ziarnie oplewionym, w zależności od odmiany, waha się od 11,0 do 14,2 %. Białko owsa cechuje się wysoką wartością biologiczną. Ma najwyższą zawartość aminokwasów egzogennych spośród zbóż (Szempliński i in. 2021). Białka owsa są bogatym źródłem aminokwasów

siarkowych. W owsie zaobserwowano wyższą zawartość m.in. fenyloalaniny i lizyny, a także w wybranych odmianach metioniny oraz tryptofanu, leucyny i izoleucyny. Białka są obecne głównie w zarodku (około 30%). Dominującą frakcją są białka globulinowe (50-80% masy białek), stanowiące główne białko zapasowe, mające istotny wpływ na wartość odżywczą. W ziarnie innych zbóż globuliny stanowią około 10% całkowitej ilości białka, z wyjątkiem jęczmienia, u którego wartość ta sięga 15%. Owies zawiera również białka typu awenin (prolamin) i glutelin w ilości 20-25%. Frakcje te w innych zbożach stanowią 75-94% całkowitej ilości białka. Wartość odżywcza białek owsa nie zmniejsza się przy zwiększaniu ilości białka w ziarnie, co jest związane ze wzrostem zawartości frakcji glutelin i globulin (frakcje zasobne w lizynę). Czynnikiem determinującym zawartość białka w ziarniaku owsa są uwarunkowania genetyczne, natomiast warunki agrotechniczne wywierają mniejszy wpływ. Umiarkowane nawożenie azotowe powoduje zwiększenie zawartości białka w ziarniaku, nie wpływa natomiast na jego skład aminokwasowy. W innych zbożach wzrostowi ilości białka w ziarnie towarzyszy spadek jego wartości odżywczej (Piątkowska i in. 2010, Kawka i Achremowicz 2014).

Podobnie jak u innych roślin zbożowych węglowodany stanowią podstawową część suchej masy ziarna owsa. Ze względu na większą zawartość tłuszczu i białka jest uboższy w węglowodany. Średnia zawartość węglowodanów w ziarnie owsa wynosi w zależności od odmiany od 54 do 70 %. W grupie składników węglowodanowych dominuje skrobia, owies zawiera jej średnio 53 %, czyli około 10 % mniej niż w innych zbożach, ale charakteryzuje się ona lepszą przyswajalnością. Oprócz skrobi, w mniejszych ilościach znajdują się dekstryny i cukry rozpuszczalne. W skład węglowodanów ogółem wchodzi również włókno pokarmowe, które stanowi znaczną ich część. Owies jest ważnym źródłem błonnika pokarmowego (Piątkowska i in. 2010). Ziarno owsa cechuje się większą ilością nieskrobiowych polisacharydów: beta-glukanów i pentozanów. Beta-glukany, pentozany i fruktany nadają produktom owsianym wyjątkową wartość fizjologiczno-żywniową (Othman i in. 2011, Kawka i Achremowicz 2014). Najwięcej błonnika pokarmowego zawiera nieobłuszczone ziarno (32,5%), w tym frakcji nierozpuszczalnej jest ponad 6%, a rozpuszczalnej – około 8%. Udział frakcji rozpuszczalnej, bardziej pożądanej z dietetycznego punktu widzenia, w błonniku pokarmowym ogółem jest znacząca. Owies i jego produkty są także zasobne w składniki mineralne (żelazo, mangan, cynk, fosfor, miedź, wapń, magnez). Ponadto cechują się niską zawartością sodu. Spośród witamin w owsie występują przede wszystkim witaminy rozpuszczalne w tłuszczach - A, D, E i K. Składniki mineralne w ziarnie owsa, podobnie jak w innych produktach, pełnią ważne funkcje w organizmie człowieka i muszą być regularnie dostarczane z pożywieniem. Obecne w ziarnie owsa mikroelementy wchodzi także w skład enzymów antyoksydacyjnych, warunkując ich aktywność (Piątkowska i in. 2010, Kawka i Achremowicz 2014).

4. Wykorzystanie owsa na cele paszowe

Owies uprawiany jest przede wszystkim na cele paszowe. Ponad 70% produkcji ziarna w Polsce wykorzystuje się w żywieniu zwierząt. Ziarno owsa ma wyjątkowy skład chemiczny ze względu na wysoką zawartość tłuszczu i białka o korzystnym składzie aminokwasowym (Zarzecka i in. 2018). Jednak wykorzystanie owsa w żywieniu zwierząt jest ograniczone. Owies ma niską wartość jako pasza dla świń i kur, ze względu na zbyt wysoką zawartość trudno strawnego włókna. W żywieniu świń owies oplewiony nie powinien przekraczać 10–20% udziału w paszy. Ziarno owsa oplewionego jest bardzo dobrą paszą dla koni. Może być jedynym zbożem stosowanym w żywieniu tych zwierząt. Ponadto jest również dobrą paszą dla zwierząt przeżuwających (bydło, owce, kozy). Cenny w żywieniu tych gatunków jest głównie owies nieoplewiony ze względu na niską zawartość włókna oraz najwyższą wśród zbóż zawartość białka i tłuszczu. Ziarno owsa popularne jest także w żywieniu gęsi – zwłaszcza w końcowej fazie ich tuczu (Noworolnik i Sułek 2014). Polska od lat jest cenionym producentem gęsi rzeźnych, a tzw. „młoda polska gęś owsiana” posiada znak firmowy i uważana jest za jeden z najlepszych produktów eksportowych naszego rolnictwa. Nazwa handlowa „gęś owsiana” wywodzi się z stąd, że gęsi rzeźne w ostatnich 3 tygodniach tuczu (od 15. do końca 17. tygodnia życia) karmione są wyłącznie owsem i wodą. Ze względu na specyficzny skład chemiczny owies, charakteryzujący się wysoką zawartością tłuszczu jest trawiony i wbudowywany

w tkanki gęsi, co wpływa na walory smakowe mięsa i tłuszczu gęsiego oraz wysoką jakość pierza (Kłopotek i Brzóska 2018).

5. Owies w żywieniu człowieka

Zboża i przetwory zbożowe od wieków są cennym składnikiem pochodzenia roślinnego w diecie. W ostatnich dziesięcioleciach znacznie wzrosło zainteresowanie owsem i jego przetworami. Skład chemiczny oraz wartości odżywcze wskazują na możliwość jego szerokiego zastosowania w dietetyce. W przemyśle spożywczym z ziarna owsa wyrabia się przede wszystkim płatki, a w mniejszym stopniu kaszę, mąkę i otręby. Produkty te służą do bezpośredniego spożycia lub produkcji różnego rodzaju koncentratów spożywczych i wyrobów piekarskich (Kawka i Achremowicz 2014; Szempliński i in. 2021). Owies i jego produkty mogą być stosowane jako zamienniki mąki chlebowej lub dodatki w ogólnej jej masie oraz jako podstawowy surowiec w produkcji piekarskiej i cukierniczej (Kawka i Achremowicz 2014). Udowodniono, że owies i produkty uboczne z owsa są pomocne w profilaktyce i leczeniu chorób cywilizacyjnych. Rozdrowotne działanie owsa wynika przede wszystkim z wysokiej zawartości błonnika rozpuszczalnego w ziarnie. Badania wykazały, że spożycie β -glukanu owsa prowadzi do redukcji poziomu cholesterolu całkowitego i LDL, ponadto β -glukan wykazuje działanie przeciwnowotworowe i przeciwzapalne (Daou i Zhang 2012). W szczególności otręby owsiane są dobrym źródłem β -glukanu, witamin z grupy B, białka, tłuszczu, minerałów (Butt i in. 2008). Przetwory owsiane wyróżnia niska wartość indeksu glikemicznego (GI), stąd zalecane jest profilaktyczne włączanie ich do diety u osób zdrowych, a lecznicze u diabetyków. Ponadto ziarno owsa i produkty owsiane są dobrym źródłem witamin z grupy B, białka oraz wielu związków wykazujących działanie antyoksydacyjne (Sign i in. 2012; Sułek 2016).

6. Wykorzystanie owsa w produkcji energii

Produkcja ziarna zbóż z przeznaczeniem na cele energetyczne jest jedną z alternatyw w działalności gospodarstw rolniczych. Najważniejsze efekty wykorzystania ziarna na cele energetyczne to ograniczenie zużycia surowców kopalnych, zerowy bilans emisji CO₂, a także możliwość wykorzystania powstałego popiołu do nawożenia pól (Kaszkowiak i Kaszkowiak 2011; Mółka i Łapczyńska-Kordon 2011; Głowacka i in. 2016). Wartość opałowa ziarna owsa jest najwyższa wśród zbóż i wynosi około 16,6-18,6 MJ·kg⁻¹. Dla porównania ekogroszek ma około 25 MJ kg⁻¹. Słoma jest produktem ubocznym, który może być wykorzystywany w energetyce i spalany jako sieczka, snopki, baloty lub pellet w zależności od rodzaju pieca do spalania biomasy. Wartość opałowa słomy owsianej jest stosunkowo wysoka i wynosi około 16,5 MJ kg⁻¹. Wykorzystanie owsa na cele energetyczne jest efektywne ekonomicznie, zwłaszcza jeśli ziarno jest produkowane we własnym gospodarstwie (Kaszkowiak i Kaszkowiak 2011; Mółka i Łapczyńska-Kordon 2011; Żabiński i Sadowska 2012; Kocyba i Szczepański 2018).

7. Podsumowanie

Owies charakteryzuje się niskimi wymaganiami glebowymi i może być uprawiany na glebach gorszej jakości. Światowy areal uprawy oraz produkcja ziarna owsa w ostatnich latach utrzymują się na stałym poziomie. Owies jest cennym zbożem ze względu na skład chemiczny ziarna. Zawiera białko o wysokiej wartości biologicznej. Jest bogaty w niezbędne nienasycone kwasy tłuszczowe, składniki mineralne i witaminy, jest też dobrym źródłem włókna pokarmowego. Ziarno owsa jest przede wszystkim wykorzystywane jako pasza dla zwierząt, ale stanowi również ważny składnik diety człowieka, dzięki właściwościom prozdrowotnym. Ziarno i słoma owsiane mogą być z powodzeniem wykorzystywane do produkcji odnawialnej energii.

8. Literatura

Butt M, Tahir-Nadeem M, Khan M (2008) Oat: unique among the cereals. *European Journal Nutrition* 47: 68–79 .

- Daou C, Zhang H (2012) Oat beta-glucan: its role in health promotion and prevention of diseases. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 11: 355–365.
- Głowacka A, Zych M, Żołnierczuk J (2016) Środowiskowe i ekonomiczne skutki wykorzystania ziarna owsa na cele energetyczne. *Inżynieria Ekologiczna* 49: 117–123.
<https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (dostęp w dniu: 10.11.2022)
- Kaszkwowiak E, Kaszkowiak J (2011) Wykorzystanie ziarna kukurydzy na cele energetyczne. *Inżynieria i Aparatura Chemiczna* 50: 35–36.
- Kawka A, Achremowicz B (2014) Owies–roślina XXI wieku. Wykorzystanie żywieniowe i przemysłowe. *Nauka Przyroda Technologie* 8: 41.
- Kłopotek E, Brzóska F (2018) Produkcja, skład chemiczny i wartość pokarmowa ziarna owsa w żywieniu gęsi rzeźnych. *Wiadomości Zootechniczne* 56: 178–187.
- Kocyba M, Szczepański K (2018) Analiza porównawcza przydatności energetycznej wybranych gatunków biomasy. *Rynek Energii* 3: 70–76.
- Mółka J, Łapczyńska-Kordon B (2011) Właściwości energetyczne wybranych gatunków biomasy. *Inżynieria Rolnicza* 6: 141–147.
- Noworolnik K, Sułek A (2014) Agrotechnika owsa na cele paszowe i spożywcze. *Studia i Raporty IUNG-PIB Zeszyt* 14(15): 167–180.
- Othman E, Moghadasian M, Jones P (2011) Cholesterol-lowering effects of oat β -glucan, *Nutrition Reviews* 69: 299–309.
- Piątkowska E, Witkiewicz R, Pisulewska E (2010) Podstawowy skład chemiczny wybranych odmian owsa siewnego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 3(70): 88–99.
- Sign R; De S, Belkheir A (2012) *Avena sativa* (oat), A potential nutraceutical and therapeutic agent: An overview. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 53: 126–144.
- Sułek A (2016) Znaczenie żywieniowe owsa i jego przetworów. *Przegląd Zbożowo-Młynarski* 60: 35–38.
- Sułek A, Noworolnik K (2013) Uprawa owsa na cele paszowe i spożywcze. Instrukcja upowszechnieniowa nr 192. Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa. Państwowy Instytut Badawczy. Puławy.
- Szempliński W, Budzyński W, Bielski S (2021) Owies [w:] Uprawa roślin Tom II. Kotecki A. (red.) Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu ss. 191–202.
- Yusupovna MI (2022) To study the structure of avenacine a-1 and quercetine using ir-spectroscopic and quantum-chemical computational techniques and their antimycobacterial activity. *Eurasian Journal of Educational Research* 4: 713–721.
- Żabiński A, Sadowska U (2012) Ciepło spalania ziarniaków zbóż o obniżonych cechach jakościowych. *Inżynieria Rolnicza* 2(136): 353–359.
- Zarzecka K, Guguła M, Mystkowska I, Baranowska A, Sikorska A, Zarzecka M (2018) Odżywcze i prozdrowotne właściwości ziarna owsa i przetworów owsianych. *Kosmos* 67: 409–414.

19. Metody zwalczania biofilmu bakteryjnego

Bacterial biofilm management methods

Weronika Brudz, Aleksandra Omelaniuk, Dawid Gniazdo

Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, Instytut Biologii, Zakład Mikrobiologii,
Uniwersytecka 7, 25-406, Kielce

Weronika Brudz: weronikabrudz@o2.pl

Opiekun naukowy: dr Dawid Gmter

Słowa kluczowe: biofilm bakteryjny, eradykacja, *quorum-sensing*

Streszczenie

Biofilm to struktura społeczna mikroorganizmów, która może funkcjonować jako kolonia lub społeczność wielogatunkowa. W swojej strukturze zawiera związki, takie jak polisacharydy, białka, lipidy oraz pozakomórkowe DNA. Biofilmy mogą tworzyć się na różnych powierzchniach, w tym na metalu, plastiku, materiałach naturalnych oraz tkankach ludzkich. Tworzenie biofilmu przyczynia się do zwiększenia patogenności bakterii oraz oporności na antybiotyki, dlatego istnieje potrzeba różnych strategii zwalczania.

Najprostsze metody zwalczania biofilmu to metody fizyczne, takie jak zmienne pole magnetyczne (AMF) oraz użycie ultradźwięków, metody chemiczne z wykorzystaniem naturalnego chitozanu lub syntetycznego poliglikolu etylenowego, cząsteczek antybiofilmowych oraz metody biologiczne, które wykorzystują egzopolisacharydy, fitochemikalia, wodę elektrolizowaną oraz proces quorum quenching. W niniejszym przeglądzie omówiono strategię zastosowania każdej z tych metod, aby móc skutecznie eliminować adhezję i tworzenie biofilmów na powierzchniach stosowanych w kontekście medycznym i innych dziedzinach.

1. Biofilm bakteryjny

Biofilm bakteryjny to złożona społeczność mikroorganizmów, która składa się z komórek oraz zewnątrzkomórkowych substancji polimerowych, takich jak polisacharydy, białka, lipidy i pozakomórkowe DNA. Dzięki swojej strukturze, biofilm umożliwia bakteriom przetrwanie na różnych powierzchniach oraz chroni je przed ekstremalnymi warunkami środowiska, takimi jak promieniowanie UV, wysokie temperatury, pH, wysokie zasolenie, ciśnienie, antybiotyki oraz układ odpornościowy gospodarza. Infekcje bakteryjne wywołane przez biofilmy są często przyczyną infekcji chronicznych, takich jak przewlekłe infekcje płuc, ran, uszu oraz infekcje wyrobów medycznych, takich jak cewniki czy implanty. Właśnie dlatego, biofilmy stanowią poważne wyzwanie dla medycyny i są przedmiotem intensywnych badań (Rabin i in. 2015; Tolken-Nielsen 2015; Yin i in. 2019; Yan i Bassler 2020;).

Proces formowania biofilmu jest złożony i zależy od wielu czynników. Rozpoczyna się on poprzez zwiększenie stężenia wewnątrzkomórkowego drugorzędowego przekaźnika c-di-GMP. Dodatkowo, mechanizm quorum-sensing pozwala bakteriom na koordynację swoich działań i reakcję na sygnały pochodzące od innych komórek, co jest kluczowe dla powstania i rozwijania się biofilmu. Istotnym aspektem jest także reakcja na czynniki środowiskowe, takie jak temperatura, pH czy dostępność składników odżywczych, które wpływają na aktywność enzymów i białek odpowiedzialnych za produkcję adhezyn oraz macierzy. Znajomość tych procesów pozwala na opracowanie bardziej efektywnych metod zwalczania biofilmów, w tym inhibitorów c-di-GMP czy quorum-sensing (Tolken-Nielsen 2015; Solano i in. 2014).

Pierwszym etapem formowania biofilmu jest adhezja, podczas której bakterie łączą się z powierzchnią stałą. Proces ten składa się z dwóch etapów: odwracalnej i nieodwracalnej adhezji. W przypadku infekcji organizmu człowieka, bakterie wiążą się z ludzkimi białkami macierzy, takimi jak fibrynogen, fibronektyna i witronektyna. Kolejnym etapem jest proliferacja komórek bakteryjnych

oraz sekrecja zewnątrzkomórkowych substancji polimerowych, co prowadzi do tworzenia kolejnych warstw biofilmu. Biofilm osiąga dojrzałość i tworzy kilkuwarstwową strukturę z kanałami umożliwiającymi dystrybucję składników odżywczych oraz cząsteczek sygnalizacyjnych. Ostatecznie, następuje rozpraszanie biofilmu, a komórki mikroorganizmów przemieszczają się i kolonizują nowe miejsca. Infekcje wywołane przez biofilmy są szczególnie niebezpieczne, ponieważ bakterie w biofilmach są chronione przed działaniem antybiotyków i układu odpornościowego gospodarza, co może prowadzić do powstawania infekcji chronicznych i różnych powikłań (Rabin i in 2015, Yin i in. 2019).

2. Metody zwalczania biofilmu bakteryjnego

2.1 Metody fizyczne

Coraz częściej do usuwania biofilmu z powierzchni metalowych stosuje się zmienne pole magnetyczne (AMF). Wprowadzenie nieinwazyjnej metody termicznego niszczenia biofilmu na metalowych implantach za pomocą zmiennych pól magnetycznych o wysokiej częstotliwości (>100 kHz) staje się rozwiązaniem zwłaszcza w leczeniu zakażeń stawów protetycznych i chirurgicznym czyszczeniu zakażonych stawów. Przyczyną generowania ciepła jest tu indukcja elektromagnetyczna w metalach lub przewodniku – powstaje prąd wirowy (prąd Foucaulta). Rozkład prądu w przewodniku zmienia się w zależności od kształtu powierzchni przewodnika i rozkładu pola magnetycznego. Powstały wir wytwarza ciepło, który daje efekt bakteriobójczy względem komórek biofilmu (Li i in. 2021).

Za pomocą ultradźwięków (US) możliwe jest usuwanie biofilmu z powierzchni o skomplikowanej strukturze przestrzennej. Pole ultradźwiękowe zawiera dużą energię i jest w stanie przeprowadzić odbicie na powierzchni i przechodzić przez różne kawitacje o porowatej strukturze. W rzeczywistości działanie ultradźwiękami może działać dwojako na bakterie: wywoływać efekt bakteriobójczy lub stymulować ich wzrost. Za najważniejszy efekt działania bakteriobójczego uważa się przejściową kawitację, która występuje przy dużym natężeniu i niskich częstotliwościach. Wysoka intensywność wiąże się z niszczeniem matrycy EPS i efektem bakteriobójczym, natomiast niska – stymuluje wzrost ze względu na niszczenie struktur matrycy EPS i warstwy zewnętrznej skupisk biofilmu. Ponadto kawitacja sąsiadująca z powierzchniami o dużej gęstości, może generować dość wysokie naprężenia błony komórkowej i doprowadzać do jej zniszczenia wywołując efekt bakteriobójczy (Li i in. 2021).

2.2 Metody chemiczne

Istnieje możliwość zmniejszenia adhezji bakterii poprzez wykorzystanie pasywnych polimerów, które zredukują adsorpcję białek bakteryjnych na włosowatych przydatkach, takich jak fimbrie czy nanowłókna. Do pasywnych polimerów zalicza się przede wszystkim samonaprawiające się, gładkie powierzchnie porowate wypełnione cieczą (SLIPS), nienaładowane polimery, poliamfolity i polimery obojnacze. Najczęściej stosowanym pasywnym polimerem jest poli(glikol etylenowy) (PEG). Według badań, PEG-400 obniża aktywność wody i działa w sposób specyficzny na komórki bakteryjne, hamując przy tym białka bakteryjne i zapobiegając adhezji bakterii. Dzięki swoim właściwościom przeciwbiofilmowym oraz wysokiej biokompatybilności, PEG jest powszechnie stosowany w medycynie w różnych zastosowaniach, m.in. jako powłoka na implanty. W dodatku, hydrożele to trójwymiarowe (3D) sieci polimerowe, które posiadają również właściwości antybakteryjne. Hydrożele zwykle są związane ze sobą wiązaniami fizycznymi lub kowalencyjnymi, co zapewnia ich dużą zawartość wody. Dzięki tym właściwościom, hydrożele są wysoce biokompatybilne, podobnie jak pasywne polimery. Opisano dwa rodzaje hydrożeli, które są skuteczne w zwalczaniu drobnoustrojów: hydrożele z dodatkiem środków przeciwbakteryjowych, które są albo fizycznie, albo kowalencyjnie związane z matrycą, oraz hydrożele o naturalnej aktywności przeciwbakteryjnej, w których sama matryca ma zdolność do zabijania bakterii. Hydrożele z natury antybakteryjne to przede wszystkim te wykonane z chitozanu, peptydów i polimerów (Unepputy i in. 2022).

Chitozan (CS) jest liniowym polisacharydem. Jest zdolny do polimerazy poprzez sieciowanie w obecności anionów i polianionów. Powszechną metodą wytwarzania chitozanu jest

deacetylacja chityny (CT). CS hamuje wzrost bakterii poprzez dodatnio naładowane grupy aminowe oddziałujące z ujemnie naładowaną zewnętrzną błoną komórkową. Naukowcy podzielili hydrożele na bazie chitozanu na trzy generacje (Unepputy i in. 2022):

- I generacja – to usieciowane hydrożele koordynowane chemicznie i metalicznie – toksyczne o dobrych właściwościach mechanicznych;
- II generacja – to fizycznie usieciowane hydrożele wykorzystujące siły fizyczne, takie jak oddziaływania elektrostatyczne, wiązania wodoru i oddziaływania hydrofobowe – nietoksyczne o niskich/umiarkowanych właściwościach mechanicznych;
- III generacja – to rozległe fizyczne wiązania poprzeczne w łańcuchach chitozanu – bardzo sztywne i wyjątkowo stabilne środowiskowo. Przykład: polianiony o dużej masie cząsteczkowej.

Ogólnie rzecz biorąc, istnieją różne strategie, które umożliwiają skuteczne kowalencyjne przyłączanie hydrożeli do powierzchni. Zastosowanie cienkich hydrożeli do przyłączania ich kowalencyjnie do powierzchni może zapewnić działanie przeciwporstowe lub przeciwbakteryjne w zależności od rodzaju hydrożelu. Ponadto, dodanie cienkowarstwowych hydrożeli może zwiększyć działanie przeciwbakteryjne naturalnych powierzchni przeciwporstowych (Unepputy i in. 2022).

Użycie cząsteczek antybiofilmowych ma za zadanie hamować tworzenie biofilmu bakteryjnego. Cząsteczki te izolowane są głównie ze źródeł naturalnych. Stwierdzono również, że niektóre związki syntetyczne, środki chelatujące i lantybiotyki wykazują aktywność przeciw biofilmowi bakteryjnemu (Roy i in. 2018). Wybrane cząsteczki przeciw biofilmowi wraz z ich docelowymi mikroorganizmami wymieniono w (Tab. 1).

Tab. 1. Cząsteczki o działaniu przeciwbiofilmowym z docelowymi bakteriami (Roy i in. 2018).

Cząsteczki o działaniu przeciwbiofilmowym	Źródło	Bakterie docelowe	Wartości MIC lub MBC
Galusan epigallokatechiny (EGCG)	Herbata chińska (<i>Camellia sinensis</i>)	<i>Acinetobacter baumannii</i>	MIC = 64–512 µg/ml
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	MBC = 64–1024 µg/ml
		<i>Escherichia coli</i>	
Eskuletyna	Przywrotnik wspaniały (<i>Alchemilla speciose</i>)	<i>Staphylococcus aureus</i>	MIC > 512 µg/ml
	Etragon meksykański (<i>Tagetes lucida</i>)		
Fisetyna	Truskawka (<i>Fragaria ananasa</i>)	<i>Staphylococcus aureus</i>	MIC = 64 µg/ml
	Winorośl właściwa (<i>Vitis vinifera</i>)	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	
Kwas linolowy	Gorzchnik kanadyjski (<i>Hydrastis canadensis</i>)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MIC = 250 µg/ml
	Cynowód chiński (<i>Coptis chinensis</i>)		

Cząsteczki o działaniu przeciwbiofilmowym	Źródło	Bakterie docelowe	Wartości MIC lub MBC
Berberyna	Mahonia pospolita (<i>Berberis aquifolium</i>)		MIC = 2000 $\mu\text{g/ml}$
Kurkumina	Ostryż długi (<i>Curcuma longa</i>)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	MIC = 12500 $\mu\text{g/ml}$ MBC = 250 $\mu\text{g/ml}$
		<i>Helicobacter pylori</i>	MBC = 8 $\mu\text{g/ml}$
Lantybiotyki			
Nizyna	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
		<i>Staphylococcus epidermis</i>	
Subtylizyna	<i>Bacillus subtilis</i> szczep ATCC6633	<i>Lactococcus lactis</i>	MIC = 1 $\mu\text{g/ml}$
Gallidermina	<i>Staphylococcus gallinarum</i> szczep Tu3928	<i>Staphylococcus aureus</i>	MIC = 0.5 $\mu\text{g/ml}$
		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	MIC = 2.0 $\mu\text{g/ml}$

gdzie:

MIC = minimalne stężenie hamujące,

MBC = minimalne stężenie bakteriobójcze.

Związki, które wykazują silne właściwości przeciwdrobnoustrojowe, to organiczne i nieorganiczne biocydy, które zwykle są unieruchamiane na powierzchniach materiałów biomedycznych poprzez wiązanie chemiczne. Jednym z najczęściej stosowanych bakteriobójczych środków organicznych są czwartorzędowe sole amoniowe (QAS). QAS najpierw przyciągają bakterie poprzez oddziaływania elektrostatyczne, co ułatwia hydrofobowym łańcuchom alkilowym QAS przebijanie ściany komórkowej bakterii przyczepionych do powierzchni materiału. Następnie QAS rozpuszczają błonę komórkową i destabilizują macierz wewnątrzkomórkową poprzez mechanizm kontaktowy. W 1916 roku naukowcy wykazali, że większość QAS otrzymanych w wyniku reakcji heksametylenotetraminy z różnymi podstawionymi halogenkami benzyłowymi lub alkilowymi ma silną aktywność bakteriobójczą. Poddano również wstępnej obróbce bombardowaniem plazmowym membrany z włókna szklanego, a następnie zastosowano chemiczne szczepienie w celu zakotwiczenia cząsteczek QAS na powierzchni membran i stwierdzono, że efekt antybakteryjny na powierzchni membran z włókna szklanego jest znaczący po modyfikacji przez QAS. Naukowcy zaprojektowali specyficzne struktury QAS z kwasem maleinowym, które zostały wykorzystane do modyfikacji powierzchni bawełnianych opatrunków tekstylnych. Okazało się, że zmodyfikowane opatrunki nie tylko wykazywały silne i szerokie spektrum działania przeciwbakteryjnego, ale również były trwałe i doskonale biokompatybilne, co jest obiecujące dla medycznych zastosowań w opatrywaniu ran (Li i in. 2021).

2.3 Metody biologiczne

Metoda polegająca na użyciu enzymu rozkładającego EPS

Egzopolisacharydy (EPS) to biopolimery pozakomórkowe, wydzielane przez bakterie w celu ochrony przed środowiskiem zewnętrznym. Jednak enzymy degradujące EPS mogą rozłożyć matrycę EPS, co prowadzi do osłabienia połączeń między komórkami oraz między komórkami a powierzchnią, na której się osadzają. Takie enzymy powodują zmniejszenie tolerancji na czynniki środowiskowe i stres komórkowy oraz zwiększenie wrażliwości na antybiotyki oraz usuwanie kolonii biofilmu. Źródłem enzymów mogą być bakteriofagi lub inżynieria biologiczna. Przykłady wykorzystywanych enzymów to glikozydazy, proteazy, DNazy oraz benzonaza, które destabilizują biofilm poprzez zmianę jego architektury i zwiększają penetrację antybiotyku. To obiecująca strategia

dla zwalczania biofilmów i przeciwdziałania problemom związanym z opornością na antybiotyki (Li i in. 2021).

Przykładem konwencjonalnego zastosowania enzymów jest stosowanie detergentów enzymatycznych, które mają tę zaletę, że są wrażliwe na materiały, które mogą zostać uszkodzone przez chemikalia lub wysokie temperatury. Dzięki zastosowaniu detergentów enzymatycznych zawierających mieszaninę proteazy, D-Nazy I, amylazy i celulozy można destabilizować biofilm EPS i poprawiać skuteczność jego usuwania (Li i in. 2021).

Metoda wykorzystująca proces quorum quenching

System Quorum Sensing (QS) to mechanizm komunikacji międzykomórkowej, który kontroluje ekspresję genów w zależności od gęstości komórek. QS jest zaangażowany w regulację szeregu procesów fenotypowych, takich jak wirulencja, ruchliwość, luminescencja oraz tworzenie biofilmów. Częsteczki sygnalizacyjne QS, wykorzystywane do pośredniczenia w zdolności bakterii do wyczuwania gęstości otaczających je komórek (Li i in. 2021):

- powstają w odpowiedzi na określone warunki środowiska;
- gromadzą się w otaczającym środowisku i są rozpoznawane przez receptory u bakterii;
- powodują odpowiedź fizjologiczną (przy nagromadzeniu progowego stężenia sygnału QS);
- powodują zmiany fenotypowe.

Quorum quenching to proces zakłócający komunikację QS, co prowadzi do utraty integralności strukturalnej biofilmu oraz zwiększenia wrażliwości bakterii na antybiotyki. Proces quorum quenching działa poprzez jeden z trzech mechanizmów (Li i in.2021):

- hamowanie produkcji cząsteczek sygnalizacyjnych;
- inaktywacja cząsteczek sygnalizacyjnych QS;
- zakłócenie odbioru cząsteczek sygnalizacyjnych.

Istnieją różne naturalne i syntetyczne związki hamujące QS (QSI), które zakłócają szlaki QS (Li i in. 2021). Wybrane QSI i sposób ich działania przedstawiono w (Tab. 2).

Tab. 2. Wybrane inhibitory QS (QSIs) wraz ze źródłami i sposobem ich działania (na podstawie: Li i in. 2021).

Inhibitor QS	Źródło	Sposób działania
<i>inhibitory naturalne</i>		
AHL-laktonaza	<i>Bacillus cereus</i>	degradacja AHLs
	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	
AHL-acylaza	<i>Tenacibaculum discolor</i> szcep J20	degradacja AHLs
AHL-oksydaza	<i>Bacillus megaterium</i>	C4HSL i 30C12HSL
wanilina	ekstrakt z ziaren wanilii	interferują z receptorami AHL hamują C4-HIS, C6-HSL, C8-HSL
pieprz żuwny	ekstrakt z pieprzu żuwnego	hamują tworzenie biofilmu pod wpływem QS u <i>P. aeruginosa</i>
czosnek	ekstrakt z czosnku	interferuje z ekspresją genów wirulencji kontrolowanych przez QS u <i>P. aeruginosa</i>
<i>inhibitory syntetyczne</i>		
2-aminofenol	syntetyczny	inhibitor ekspresji genu QS
furanon F3 i F4	syntetyczny	zmniejsza aktywność QscR zależną od 30C12HSL

QS jest niezbędny do tworzenia biofilmów – utrata tego systemu komunikacji nie powoduje efektu śmiertelnego dla komórek bakteryjnych, dlatego zaburzenia szlaku QS powoduje kontrolę bakterii i nie wywołuje efektu bakteriobójczego (Li i in. 2021).

Metoda z użyciem kwaśnej wody elektrolizowanej

Kwaśna woda elektrolizowana (AEW) powoduje zahamowania w tworzeniu biofilmów bakteryjnych, poprzez zaburzenia EPS. AWE dokonuje deformacji w pierścieniu aromatycznym znajdującym się w tyrozynie oraz fenyloalaninie. Powoduje również rozpad wiązań C-O-C w węglowodanach (Rather i in. 2021).

Metoda z użyciem fitochemikaliów

Fitochemikalia mają potencjał jako inhibitory QS, ponieważ hamują czynniki wirulencji i inne geny regulacyjne (takie jak *vicR*, *relA*, *brpA* i *comDE*), blokują biosyntezę pirocjaniny, a także zmniejszają regulację genów QS poprzez hamowanie elastazy/proteazy i produkcję laktonu acylohomoserynowego (HSL). Farnesol, aldehyd cynamonowy, resweratrol, wanilina, naringina, kwas taninowy, kurkumina, kwas elagowy, kwercetyna i kaempferol to przykłady takich inhibitorów QS pochodzących z roślin. Ich działanie polega na hamowaniu tworzenia biofilmów bakteryjnych (Rather i in. 2021).

3. Podsumowanie

Bakterie formują biofilmy w celu zwiększenia swojej odporności na czynniki, które im zagrażają. W porównaniu do formy planktonicznej, bakterie rosnące w biofilmie są bardziej odporne na czynniki środowiskowe, chemiczne, fizyczne czy należące do układu odpornościowego infekowanego organizmu. Biofilm to struktura, która znacznie utrudnia leczenie infekcji bakteryjnych. Dlatego stale wynajdowane są nowe metody zwalczania biofilmu. Ze względu na sposób działania, metody te są podzielone na trzy kategorie: fizyczne, chemiczne i biologiczne. Pośród metod fizycznych wyróżnia się stosowanie zmiennego pola magnetycznego oraz ultradźwięków, które doprowadzają do zniszczenia komórek bakteryjnych. W przypadku metod chemicznych stosowane są polimery związków pochodzenia naturalnego np. chitozanu lub pochodzenia syntetycznego np. poli(glikol) etylenowy. Do mechanizmów działania metod chemicznych należy hamowanie tworzenia się biofilmu oraz aktywność bakteriobójcza, która gwarantowana jest przez opisane przez nas organiczne i nieorganiczne biocydy. Metody biologiczne są uważane za te, które wykazują najszerszą gamę sposobów oddziaływania na bakterie. Wśród tych metod wyróżnić można takie, które charakteryzują się działaniem enzymatycznym na elementy ściany komórkowej bakterii, zakłócają procesy regulujące tworzenie biofilmu lub stanowią inhibitory tych procesów.

Wszystkie metody opisane w tym przeglądzie mogą być wykorzystywane do zwalczania biofilmów. Dodatkowo każda z nich może być łączona z innymi, w celu zwiększenia skuteczności ich działania, co może prowadzić do ulepszenia istniejących już terapii leczniczych.

4. Bibliografia

- Li Y, Li X, Hao Y i in. (2021) Biological and Physiochemical Methods of Biofilm Adhesion Resistance Control of Medical-Context Surface. *Int J Biol Sci.* 2021; 17(7): 1769–1781;
- Rabin N, Zheng Y, Opoku-Temeng C i in. (2015) Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. *Future Med. Chem.* 7(4), 493-512;
- Rather MA, Gupta K and Mandal M (2021) Microbial biofilm: formation, architecture, antibiotic resistance, and control strategies. *Braz J Microbiol.* 52(4): 1701–1718;
- Roy R, Tiwari M, Donelli G, Tiwari V (2018) Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. *Virulence* 9(1): 522–554;
- Solano C, Echeverez M, Lasa I (2014) Biofilm dispersion and quorum sensing. *Current opinion in Microbiology* 18: 96-104;
- Szlauer W, Obłąk E, Paluch E i in. (2019) Biofilm i metody jego eradykacji. *Postepy Hig Med Dosw.* 73: 397–413;
- Tolken-Nielsen T (2015) Biofilm development. *Microbiology Spectrum* 3(2);

Fauna i flora

- Uneputty A, Dávila-Lezama A, Garibo D i in. (2022) Strategies applied to modify structured and smooth 23 surfaces: A step closer to reduce bacterial adhesion and biofilm formation. *Colloid and Interface Science Communications*. Volume 46;
- Yan J, Bassler BL (2019) Surviving as a Community: Antibiotic Tolerance and Persistence in Bacterial Biofilms. *Cell Host Microbe*. 26(1):15-21;
- Yin W, Wang Y, Liu L I in. (2019) Biofilms: The Microbial "Protective Clothing" in Extreme Environments. *Int J Mol Sci*. 20(14):3423.

20. Hydrożele i kompozyty hydrożelowe: właściwości i wielokierunkowy pozytywny wpływ na stan gleby

Hydrogels and hydrogel composites: properties and multidirectional positive impact on soil condition

Kukowska Sylwia⁽¹⁾, Siryk Olena^(1,2), Szewczuk-Karpisz Katarzyna⁽¹⁾

⁽¹⁾ Instytut Agrofizyki im. Bohdana Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin

⁽²⁾ Ovcharenko Institute of Biocolloidal Chemistry, National Academy of Science of Ukraine, Academician Vernadsky blvd., 42, 03142 Kiev

Kukowska Sylwia: s.kukowska@ipan.lublin.pl

Opiekun naukowy: dr hab. Katarzyna Szewczuk-Karpisz

Słowa kluczowe: sorbenty, biokompatybilne/biodegradowalne materiały, remediacja gleb, ochrona środowiska

Streszczenie

Jednym z aktualnych i poważnych problemów środowiska jest degradacja gleb. Zagroza ona głównie rolnictwu, ponieważ przyczynia się do zmniejszenia ilości pozyskiwanych plonów, pogorszenia ich jakości, a nawet czyni je niezdatnymi do spożycia. Za degradację gleb odpowiada zarówno działalność antropogeniczna (zanieczyszczenie), jak i zmiany klimatyczne (susze, fale upałów). Ważna jest zatem kontrola i odpowiednie działanie w kierunku zachowania dobrego stanu gleb. Zastosowanie odpowiednich substancji, jakimi są hydrożele i ich kompozyty – na przykład z minerałami ilastymi, może stanowić tu rozwiązanie. W niniejszej pracy zaprezentowano przykłady opracowanych dotychczas hydrożeli i kompozytów hydrożelowych oraz opisano ich wpływ na środowisko glebowe.

1. Wstęp

Degradacja gleby objawia się poprzez zniekształcenie jednej lub kilku jej właściwości fizycznych, chemicznych lub biologicznych, co wpływa ujemnie na jej żyzność i zasobność. Może mieć ona charakter przejściowy, gdy istniejący układ jest stopniowo lub krokowo przekształcany w nowy, zachowując przy tym wysoką aktywność biologiczną (degradacja względna). Degradacja może być również trwała, gdy następuje trwałe zmniejszenie lub całkowite zniszczenie aktywności biologicznej gleby (degradacja bezwzględna) (Dobrzańska i in. 2008). Za degradację gleb odpowiedzialne są zarówno czynniki naturalne (pożary, powódzie, erozja, trzęsienia ziemi), jak i antropogeniczne (przemysłowe, miejskie, komunikacyjne i agrotechniczne). Zjawiska zachodzące bez ingerencji człowieka mają zwykle charakter przejściowy. Natomiast degradacja spowodowana w sposób antropogeniczny jest zwykle silna i gwałtowna, a zniekształcona gleba wymaga remediacji. Obecnie gleby są degradowane zarówno w Unii Europejskiej, jak i na całym świecie w wyniku różnych działań człowieka, takich jak złe gospodarowanie gruntami, niezrównoważone praktyki rolnicze itp. Główne zagrożenia dla gleb to: zanieczyszczenia, susza, pustynnienie, erozja, utrata materii organicznej i zasolenie. Zdegradowane gleby nie są w stanie pełnić funkcji ekosystemowych dla całego społeczeństwa, dlatego tak ważne jest powstrzymanie tego zjawiska. Ze względu na fakt, że proces glebotwórczy jest bardzo długi, istotna jest również skuteczna rekultywacja zdegradowanych gruntów (Rezolucja Parlamentu Europejskiego, 2021).

2. Hydrożele i ich właściwości sorpcyjne

Ze względu na rosnącą ilość zanieczyszczeń wprowadzanych do środowiska oraz zmiany klimatyczne objawiające się nieregularnymi opadami, długotrwałymi suszami i rosnącymi

temperaturami rozpoczęto poszukiwanie materiałów, które byłyby w stanie zdezaktywować lub ułatwić wydzielanie szkodliwych związków z gleb i wód oraz jednocześnie mogłyby zapewnić odpowiednią wilgotność w strefie korzeniowej gleby. Do tej pory opracowano pewne technologie nawadniające, ale ich instalacja nie zawsze jest możliwa ze względów technicznych, środowiskowych i finansowych (Kulikowski i in. 2018). W takich sytuacjach bardzo pomocnymi materiałami mogą być hydrożele. Stanowią one jedne z najnowocześniejszych dodatków do gleb rolniczych, które są stosowane w celu zwiększenia retencji wody oraz przedłużenia uwalniania nawozów mineralnych i pestycydów (Wang i in. 2021). Wiązanie różnych substancji w strukturze hydrożeli następuje poprzez kompleksowanie lub wymianę jonową. Obecność grup amidowych, aminowych, karboksylowych i amonowych umożliwia wiązanie jonów metali, pestycydów, a tym samym oczyszczanie wody. Wśród hydrożeli opisanych dotychczas w literaturze, stosowanych w rolnictwie dominują te usieciowane chemicznie. W swojej strukturze liniowe łańcuchy polimerowe są połączone ze sobą wiązaniami kowalencyjnymi poprzez dwufunkcyjne środki sieciujące (Zhou i in. 2020). Znacznie rzadziej opisywane są hydrożele usieciowane fizycznie, powstające głównie w wyniku oddziaływań słabych, takich jak siły van der Waalsa czy wiązania wodorowe (Olad i in. 2018). Chociaż hydrożele usieciowane chemicznie można łatwo wytworzyć, a kontrola ich właściwości jest prosta (np. przez zastosowanie odpowiedniego stężenia środka sieciującego), mają one szereg wad. Są niejednorodne, co skutkuje ich niską wytrzymałością mechaniczną i elastycznością. Ponadto ich synteza wymaga użycia toksycznych środków sieciujących, np. N,N'-metylenobis-akryloamidu, a nieprzereagowane cząsteczki muszą być usunięte w kosztownej procedurze. Hydrożele usieciowane fizycznie mają uporządkowaną strukturę, lepsze właściwości reologiczne i charakteryzują się znacznie szybszym przejściem fazowym, który może być inicjowany przez zewnętrzne czynniki małoinwazyjne. Charakteryzują się wysoką wytrzymałością mechaniczną i stabilnością chemiczną. Niezależnie od rodzaju, hydrożele nie rozpuszczają się w wodzie dzięki usieciowaniu ich łańcuchów (Ahmed 2015).

Podział hydrożeli można przeprowadzić biorąc pod uwagę różne cechy:

- ze względu na pochodzenie: naturalny lub syntetyczny,
- metodę otrzymywania: homopolimerowe, kopolimerowe, multipolimerowe,
- według konfiguracji: amorficzny (niekryształiczny), półkryształiczny, kryształiczny,
- według rodzaju usieciowania: usieciowane chemicznie i fizycznie,
- wygląd fizyczny: zależnie od techniki polimeryzacji,
- przez sieciowy ładunek elektryczny: niejonowy (obojętny), jonowy (anionowy lub kationowy), amfoteryczny elektrolit (amfolityczny), obojnaczy (polibetainy) (Ahmed 2015).

3. Modyfikacja hydrożeli minerałami elastycznymi (kompozyty hydrożelowe)

W ostatnim czasie jednym z najbardziej innowacyjnych trendów jest synteza hydrożeli usieciowanych fizycznie naturalnymi dwuwymiarowymi (2D) minerałami elastycznymi, m.in. montmorylonitem (MMT). Wyniki uzyskane przez Olada i współpracowników (2018) pokazały, że montmorylonit w wytworzonym przez nich kompozycie hydrożelowym (uzyskanym z monomerów kwasu akrylowego i MMT) pozwalał na uwalnianie mocznika w bardziej kontrolowany sposób. Wei i in. (2018) zbadali zdolność adsorpcji kompozytu poli(kwas akrylowy-co-akrylamid)-montmorylonit wobec błękitu metylenowego (barwnik). Uzyskane wyniki wskazują, że nawet niewielki dodatek montmorylonitu poprawia zdolność adsorpcyjną kompozytu. Qiu i in. (2020) opracowali nanokompozyt poliakryloamidu (PAM) i MMT i zastosowali go jako adsorbent jonów chromu(III). Ma i in. (2022) badali właściwości fizykochemiczne nanokompozytowych hydrożeli składających się z PAM i MMT oraz ich zdolność do wiązania i uwalniania ozonu. Khan i in. (2020a) zsyntetyzowali hydrożel poliakryloamidowo-bentonitowy i zastosowali go do usuwania jonów ołowiu i kadmu ze środowisk wodnych. Ci sami badacze przetestowali nanokompozyt hydrożelowy poli(kwas metakrylowy)/montmorylonit jako adsorbent amoksycyliny i diklofenaku (Khan i in. 2020b). Zhou i in. (2020) wykorzystali do przygotowania kompozytu nanoarkusz MMT, kwas akrylowy i akrylamid oraz zbadali zdolność adsorpcji otrzymanego materiału w stosunku do miedzi. Ianchis i in. (2017) badali nanokompozyty z minerałami elastycznymi poprzez ich zastosowanie jako nośników do

dostarczania leków. Z kolei Chen i in. (2021) wykorzystali kompozyty hydrożelowe z kaolinem jako superabsorbenty wody.

Minerały ilaste są hydrofilowe i mają dużą zdolność sorpcyjną, dzięki czemu mogą poprawiać właściwości hydrożeli (Fijałkowska i in. 2019). Zawierają makro- i mikroelementy, takie jak: wapń, siarka, magnez, miedź, cynk itp. w postaci biodostępnej, dzięki czemu nie są toksyczne dla roślin i zwierząt. Szerokie zastosowanie MMT w wytwarzaniu kompozytów hydrożelowych jest zwykle podyktowane jego dużą zdolnością do rozwarstwiania się na pojedyncze płytki o grubości około 1 nm i średnicy 20-250 nm w określonych warunkach. Zastosowanie MMT i innych minerałów ilastych w syntezie hydrożeli jest ekonomicznie opłacalne (Grim 1953).

Dodatek minerałów ilastych do hydrożelu odgrywa ważną rolę w adsorpcji zanieczyszczeń występujących w ściekach. Same minerały ilaste mają dużą powierzchnię właściwą, a odzyskiwanie ich cząstek z roztworów wodnych bywa trudnością, podobnie jak ich regeneracja po użyciu. Iły cechują się również słabym powinowactwem do adsorpcji związków organicznych. Dlatego zostały opracowane kompozyty minerał ilasty-polimer, które pozwalają korzystać zarówno z zalet ilów (powszechność, niski koszt, przyjazność dla środowiska, duża powierzchnia właściwa) oraz polimerów (wysoka efektywność adsorpcji, dobra regeneracja, wytrzymałość mechaniczna, duża zdolność pęcznienia). Minerały ilaste wpływają na właściwości i strukturę materiałów kompozytowych, poprawiając m.in. ich biodegradowalność, stabilność termiczną, biokompatybilność i właściwości mechaniczne. Wprowadzone do sieci polimerowych odgrywają istotną rolę w kształtowaniu właściwości i struktury materiału kompozytowego (Amari i in. 2021).

4. Wpływ rozpuszczalnych soli na właściwości sorpcyjne hydrożeli

Gleba jest bardzo złożoną mieszaniną, co sprawia, że jednoznaczne określenie jaką ilość wody może przyjąć absorbent wprowadzony do podłoża jest praktycznie niemożliwe. Można za to przewidzieć jak może się zachowywać. Jednym z czynników wpływających na właściwości sorpcyjne hydrożelu jest zawartość soli mineralnych w glebie - gleby piaszczyste, przepuszczalne zawierają niewielkie ilości soli, natomiast gleby zdegradowane są silnie zasolone. Przeprowadzane doświadczenia pokazują, że w obecności soli rozpuszczalnych w wodzie właściwości absorpcyjne czystej wody są znacznie zmniejszone. W przypadku jonów jednowartościowych jest to około 65%, a dla jonów dwuwartościowych i trójwartościowych (w odpowiednich warunkach) nawet 80%. Mniejsze wchłanianie wody powoduje konieczność stosowania większych dawek hydrożelu, co jest nieekonomiczne. Proces ten można odwrócić w przypadku jonów jednowartościowych wielokrotnie przemywając hydrożel wodą demineralizowaną, natomiast w przypadku jonów wielowartościowych metoda ta jest czasochłonna i nie daje zadowalających efektów (Kulikowski i in. 2018). Abdallah (2019) zbadał wpływ zasolenia na zdolność pęcznienia hydrożeli w zależności od wielkości cząstek hydrożelu. Jego prace również wykazały, że wraz ze wzrostem zasolenia wody zmniejszała się zdolność pęcznienia dla wszystkich rozmiarów superabsorbentu. Najbardziej odporne na zasolenie okazały się najdrobniejsze ziarna hydrożelu. Eksperyment przeprowadzono również na mieszaninie absorbentu i gleby, wykazał on, że zdolność pęcznienia była odwrotnie proporcjonalna do wielkości cząstek i zmniejszała się tak samo jak przy zastosowaniu samej wody.

5. Wpływ hydrożeli na retencję wody w glebie

Dla powodzenia hodowli roślin ważne jest, aby woda znajdująca się w glebie, w ryzosferze, była biodostępna z wielu powodów:

- woda transportuje minerały potrzebne do wzrostu tkanek;
- woda utrzymuje prawidłowe ciśnienie osmotyczne komórek roślinnych;
- woda uczestniczy w procesach fotosyntezy;
- woda bierze udział w reakcjach biochemicznych prowadzących do wzrostu biomasy.

Pod względem energetycznym wody glebowe dzielą się na: wody grawitacyjne (pF poniżej 2,2), wody kapilarne (pF między 2,2 a 4,2), wody higroskopijne (pF od 4,2 do 4,7). Potencjał wyraża się jako $pF = \log h$ (wysokość słupa wody w cm) i jest to siła, z jaką woda jest wiązana w glebie.

Dzięki tej wartości można określić stopień dostępności wody dla roślin (Boczoń i in. 2010). Rośliny pobierają tylko wodę, której pF jest niższe niż wody higroskopijnej. Większość upraw uschnie (tzw. punkt wędnięcia), gdy będzie miała do dyspozycji tylko wodę o pF w zakresie od 4,2 do 4,7, ponieważ nie będą w stanie jej wykorzystać. Najbardziej odpowiednia jest więc woda w przedziale pF od 2,2 do 4,2 (Boczoń i in. 2010; Kulikowski i in. 2018). W glebach piaszczystych woda nie jest efektywnie wykorzystywana. Przyczyniają się do tego dwa zjawiska: przenikanie wody do głębszych warstw (które znajdują się poza zasięgiem systemu korzeniowego) oraz intensywne parowanie. Efekt tych działań można ograniczyć poprzez zastosowanie hydrożeli, które zwiększają pojemność i retencję gleby, a także przeciwdziałają niekontrolowanej utracie wody. Żele polimerowe w glebie piaszczystej umożliwiają zatrzymywanie wody przez szerokie kapilary. Zmniejszeniu ulegają również rozmiary porów w glebie oraz blokowane są kanały umożliwiające utratę wody. W wyniku współdziałania opisanych efektów następuje wzrost średniej wilgotności profilu glebowego, a co za tym idzie – poprawa uwodnienia rośliny. Według badań Leciejewskiego i in. (2009) właściwości retencyjne gleby po dodaniu hydrożelu poliakryloamidowego wzrosły w zakresie wody grawitacyjnej, czyli tej, która w warunkach naturalnych (bez hydrożelu) szybko wnikała w głąb profilu glebowego. Hydrożel zatrzymywał więc wodę czyniąc ją dostępną dla roślin. Dodatek 0,2% hydrożelu wpływała na wzrost zawartości wody w glebach piaszczystych nawet o 35%. Z doświadczeń przeprowadzonych na różnych gatunkach roślin uprawnych wynika, że nawet minimalne dawki (mniejsze niż zalecane) hydrożeli aplikowane doglebowo stymulują rozwój roślin (Kulikowski i in. 2018).

Hydrożele mogą magazynować aż 400-1500 ml wody na gram suchego hydrożelu. Sieć polimerowa hydrożeli powoduje, że substancje rozpuszczalne w wodzie są unieruchomione i nie mogą być łatwo wypłukiwane np. podczas opadów deszczu. Absorpcja wody przez hydrożele zależy od kilku czynników. Wśród nich można wyróżnić: stopień zubożenia kwasu monomerycznego, ilość inicjatora, objętość mieszaniny polimeryzacyjnej, obecność grup polarnych (takich jak $-\text{COO}^-$, $-\text{OH}$, $-\text{CONH}_2$, $-\text{SO}_3^-$) (Rudziński i in. 2002; Ahmed 2015). Abdallah (2019) zbadał wpływ wielkości cząstek hydrożelu (usieciowanego poliakrylamidu) na zdolność zatrzymywania. Zastosowanie hydrożelu w postaci drobnych cząstek poprawiło jego zdolność zatrzymywania wody i w rezultacie ilość wody dostępnej dla roślin była większa. Tym samym woda zaabsorbowana w dużych cząstkach sorbentu była mniej dostępna dla korzeni roślin.

Warto również wspomnieć, że hydrożele napowietrzają i spulchniają glebę, stale zmieniając swoją objętość w wyniku pęcznienia (podczas wchłaniania wody) i kurczenia (gdy woda jest desorbowana). Oprócz ich aplikacji celem utrzymania odpowiedniej wilgotności gleby, hydrożele znalazły również zastosowanie jako mikrokapsułki, z których w kontrolowany sposób uwalniane są pestycydy, nawozy i hormony wzrostu (Rudzinski i in. 2002), a także jako kapsułki kondycjonujące nasiona. Zapewniają one nie tylko stałą wilgotność, ale są także nośnikami składników niezbędnych do prawidłowego kiełkowania, ochrony nasion i rozwoju roślin w wczesnych stadiach. Dzięki tej metodzie straty nasion są zminimalizowane, a zużycie środków ochrony roślin (w porównaniu z metodami tradycyjnymi) ograniczone, co przyczynia się do ochrony środowiska (Kulikowski i in. 2018). Hydrożele syntetyzowane na bazie naturalnych substancji polimerowych ulegają biodegradacji (Wei i in., 2018).

Wykorzystanie kompozytów hydrożelowych może także rozwiązać problem braku wody oraz braku składników odżywczych. Odpowiednio dobrane kompozyty hydrożeli i minerałów ilastych mogą zostać wykorzystane zarówno jako dodatki, które ograniczą przenikanie szkodliwych chemikaliów i metali ciężkich przez warstwę gleby do warstwy wodonośnej, ale również jako dodatki uwalniające składniki pokarmowe.

6. Podsumowanie

Remediacja gleb i wód stanowi obecnie poważne wyzwanie. Dlatego bardzo ważne jest opracowywanie nowych sposobów przywracania im wcześniejszych wartości użytkowych, np. aplikowanie bezpiecznych dla zdrowia i środowiska adsorbentów/kondycjonerów. Przykładem takich materiałów są hydrożele i ich kompozyty z minerałami ilastymi, które wykazują dużą pojemność sorpcyjną w stosunku do zanieczyszczeń, składników odżywczych oraz wody.

7. Podziękowania

Praca powstała w ramach projektu OPUS21 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (2021/41/B/NZ9/03059).

8. Literatura

- Abdallah AM (2019). The effect of hydrogel particle size on water retention properties and availability under water stress. *International soil and water conservation research* 7(3): 275-285.
- Ahmed EM (2015) Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review, *Journal of Advanced Research* 6: 105-121.
- Boczoń A, Wróbel M (2010) Zmiana retencyjnych właściwości gleb po zastosowaniu hydrożelu. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 548: 25-31.
- Chen M, Chen X, Zhang C et al. (2021) Kaolin-enhanced superabsorbent composites: synthesis, characterization and swelling behaviors. *Polymers* 13(8): 1204.
- Dobrzańska B, Dobrzański G, Kielczewski D (2008). *Protection of the natural environment*, PWN, Warsaw.
- European Parliament Resolution of 28 April 2021 on soil protection (2021/2548 (RSP)), Brussels.
- Fijałkowska G, Szewczuk-Karpisz K, Wiśniewska M (2019) Chromium(VI) and lead(II) accumulation at the montmorillonite/aqueous solution interface in the presence of polyacrylamide containing quaternary amine groups. *Journal of Molecular Liquids* 293: 111514.
- Grim RE (1953) *Clay Mineralogy*, McGraw-Hill, New York.
- Ianchis R, Ninciuleanu CM, Gifu IC et al. (2017). Novel hydrogel-advanced modified clay nanocomposites as possible vehicles for drug delivery and controlled release. *Nanomaterials* 7(12): 443.
- Khan SA, Siddiqui MF, Khan TA (2020a) Ultrasonic-assisted synthesis of polyacrylamide/bentonite hydrogel nanocomposite for the sequestration of lead and cadmium from aqueous phase: equilibrium, kinetics and thermodynamic studies. *Ultrasonics Sonochemistry* 60: 104761.
- Khan SA, Siddiqui MF, Khan TA (2020b) Synthesis of poly(methacrylic acid)/montmorillonite hydrogel nanocomposite for efficient adsorption of amoxicillin and diclofenac from aqueous environment: kinetic, isotherm, reusability, and thermodynamic investigations. *ACS Omega* 5(6): 2843–2855.
- Kulikowski Ł, Kulikowski E, Matuszewski A et al. (2018) Hydrogels in the natural environment – history and technologies. *Ecological Engineering & Environmental Technology* 19(6):205-218.
- Leciejewski P (2009) The effect of hydrogel additives on the water retention curie of sandy soil from forest nursery in Julinek. *Journal of Water and Land Development*,13a: 239–247.
- Ma P, Wang Z, Jiang Y et al. (2022) Clay-Based nanocomposite hydrogels with microstructures and sustained ozone release for antibacterial activity. *Colloid. Surface. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 641: 128497.
- Olad A, Zebhi H, Salari D et al. (2018) Water Retention and Slow Release Studies of a Salep-Based Hydrogel Nanocomposite Reinforced with Montmorillonite Clay. *New Journal of Chemistry* 42 (4): 2758-2766.
- Qiu J, Du X, Komarneni S et al. (2020) Preparation of polyacrylamide–montmorillonite nanocomposite and its application in Cr(III) adsorption. *Journal of Applied Polymer Science* 137(36): 49065.
- Rudzinski WE, Dave AM, Vaishnav UH et al. (2002) Hydrogels as controlled release devices in agriculture. *Designed Monomers and Polymers*, 5: 39-65.
- Wang J, Wang W, Ai Z et al. (2021) Adsorption toward Pb(II) Occurring on Three-Dimensional Reticular-Structured Montmorillonite Hydrogel Surface. *Applied Clay Science* 210: 106153.
- Wang L, Yu G, Li J et al. (2019). Stretchable hydrophobic modified alginate double-network nanocomposite hydrogels for sustained release of water-insoluble pesticides. *Journal of Cleaner Production* 226: 122-132.

- Wei C, Xu Z, Han F et al. (2018) Preparation and characterization of poly(acrylic acid-co-acrylamide)/montmorillonite composite and its application for methylene blue adsorption. *Colloid and Polymer Science* 296(4): 653-667.
- Zhou Q, Li Y, Liu H et al. (2020) Tough nanocomposite hydrogel based on montmorillonite nanosheets/acrylic acid/acrylamide with copper removal properties. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 598: 124836.