

# WYZWANIA I INNOWACJE W NAUKACH WETERYNARYJNYCH

OD ŻYWIENIA ZWIERZĄT DO BADAŃ BEHAWIORALNYCH

Redakcja:  
Kamil Maciąg  
Alicja Danielewska

Lublin 2023



**Wyzwania i innowacje w naukach  
weterynaryjnych – od żywienia  
zwierząt do badań behawioralnych**



# **Wyzwania i innowacje w naukach weterynaryjnych – od żywienia zwierząt do badań behawioralnych**

Redakcja:  
Kamil Maciąg  
Alicja Danielewska

Lublin 2023

**Wydawnictwo Naukowe TYGIEL składa serdeczne podziękowania  
zespółowi Recenzentów za zaangażowanie w dokonane recenzje  
oraz merytoryczne wskazówki dla Autorów.**

**Recenzentami niniejszej monografii byli:**

- prof. dr hab. Ewa Joanna Godzińska
- prof. dr hab. Eugeniusz Ryszard Grela
- prof. dr hab. Małgorzata Kwiecień
- prof. dr hab. Zenon Sołtysiak
- dr hab. Maciej Frant
- dr hab. inż. Heliodor Wierzbicki
- dr hab. Marta Fiołka
- dr hab. inż. Ewa Jastrzębska, prof. UWM
- dr hab. inż. Jarosław Stanisław Kamieniak
- dr hab. n. wet. dr n. praw. Piotr Listos, prof. ucz.
- dr hab. Anna Nowakowska, prof. UMK
- dr hab. Aneta Ptaszyńska
- dr hab. inż. Dariusz Stasiak
- dr inż. Anna Budny-Walczak
- dr n. o zdr. Mariola Janiszewska
- dr inż. Agata Karpowicz
- dr inż. Wanda Krupa
- dr Agnieszka Richert

Wszystkie opublikowane rozdziały otrzymały pozytywne recenzje.

Skład i łamanie:  
Monika Maciąg

Projekt okładki:  
Marcin Szklarczyk

Korekta:

© Copyright by Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o.o.

ISBN 978-83-67881-21-0

Wydawca:  
Wydawnictwo Naukowe TYGIEL sp. z o.o.  
ul. Głowackiego 35/341, 20-060 Lublin  
[www.wydawnictwo-tygiel.pl](http://www.wydawnictwo-tygiel.pl)

## Spis treści

Kacper Lewikowski, Klaudia Siedlecka, Kinga Panasiuk-Flak, Piotr Listos Weterynaryjno-sądowa analiza porównawcza umieszczenia zwłok zwierząt towarzyszących w wodzie i utonięcia .....	7
Joanna Sadowska ADAM9 jako gen kandydujący różnicujący sprawność odpowiedzi immunologicznej w przebiegu zapalenia gruczołu mlekowego u bydła .....	15
Wiktoria Chwałek, Elżbieta Gałęska Selen w żywieniu zwierząt przeżuwiających – definicja, klasyfikacja, schemat działania, celowość stosowania, zalecenia, korzyści .....	31
Rozalia Kowal, Martyna Wilk Zastosowanie wodorostów w żywieniu przeżuwaczy w celu zmniejszenia emisji metanu .....	41
Klaudia Sowa, Martyna Wilk, Jerzy Pastuszek Postbiotyki w żywieniu psów i kotów .....	49
Agnieszka Łukomska Węgiel drzewny jako dodatek paszowy w żywieniu drobiu .....	56
Nikola Joya, Martyna Wilk Redukcja śladu węglowego w systemach żywienia drobiu .....	64
Szymon Milewski, Julia Fabjanowska, Bożena Kiczorowska, Renata Klebaniuk, Wioletta Samolińska, Magdalena Moczulska Rola swoistych substancji owoców i warzyw w żywieniu zwierząt gospodarskich .....	73
Julia Fabjanowska, Szymon Milewski, Renata Klebaniuk, Bożena Kiczorowska, Wioletta Samolińska, Magdalena Moczulska Potencjał fitochemiczny ziół w żywieniu zwierząt .....	85
Anna Koseniuk, Małgorzata Natonek-Wiśniewska, Agata Piestrzyńska-Kajtoch Wyzwania w opracowaniu skutecznego testu genetycznego do rozróżniania świń i dzików .....	102
Paulina A. Idczak, Anna Nowakowska Mikrobiota ślimaków – charakterystyka i znaczenie .....	113
Katarzyna Krasieńska, Brianna Schwenzer, Justyna Wojtaś Behawioralne skutki długotrwałego oddziaływania stresu na kota .....	130

Martyna Barteczka, Alicja Prusak, Justyna Wojtaś Reakcje stresowe u kota.....	140
Karolina Kaleta, Sylwia Parszewska, Justyna Wojtaś Częstotliwość występowania zachowań agresywnych u kotów .....	151
Kinga Podbielska, Aleksandra Orłowska, Justyna Wojtaś Rozwój psychofizyczny kotów.....	166
Klaudia Kaliszyk, Julia Sykuła, Justyna Wojtaś Lęk separacyjny u kotów: zrozumienie i przeciwdziałanie.....	175
Katarzyna Kurpas, Marta Jaksender, Justyna Wojtaś Wykorzystanie różnego rodzaju materiałów biologicznych w ocenie dobrostanu kotów domowych ( <i>Felis catus</i> ).....	182
Karolina Pustuła, Weronika Cwalińska, Justyna Wojtaś Wzbogacenia środowiskowe jako metoda redukcji stresu kotów schroniskowych .....	189
Kamila Stokłosińska Populacja kotów wolno żyjących i ich wpływ na ekosystemy miejskie.....	195
Aleksandra Ogrodnik, Anna Klimas, Justyna Wojtaś Problemy behawioralne kotów schroniskowych.....	204
Jagoda Czajkowska, Vladimir Hanzal Porównanie wybranych aspektów biologii fermowych i dziko żyjących jeleniowatych.....	211
Radosław Kożuszek, Edyta Świdarska Wykorzystanie plazmy krwi wieprzowej w produkcji wędlin o podwyższonej zawartości białka .....	224
Małgorzata Natonek-Wiśniewska, Piotr Krzyścin Możliwości identyfikacji miodu w produktach w produktach spożywczych na podstawie mtDNA.....	231
Anna Nowakowska Adaptacja do zimna: białka histerezy termicznej i białka stresowe .....	239
Indeks Autorów .....	251

# Weterynaryjno-sądowa analiza porównawcza umieszczenia zwłok zwierząt towarzyszących w wodzie i utonięcia

## 1. Wstęp

Weterynaria sądowa jest dziedziną interdyscyplinarną, która łączy wiedzę typowo lekarsko-weterynaryjną z naukami prawnymi. Szczególnie istotny wspomnienia jest fakt, że opiniowanie często ma charakter trudny, z uwagi na konieczność posiadania szerokiej wiedzy z powodu mnogości gatunków i poznania międzygatunkowych różnic. Powoduje to generowanie wysokich wymogów kompetencji, ciągłego dokształcania się biegłego, a także wykonywania dużej ilości ekspertyz, co według McDonough i McEwen jest kluczowym elementem do wydawania merytorycznych, kompleksowych opinii [1].

Wzmogona potrzeba wykorzystania opinii biegłych lekarzy weterynarii w postępowaniach prowadzonych przez organy procesowe doprowadziła do znacznego przyspieszenia ewolucji weterynarii sądowej oraz pozwoliła na wykorzystanie w niej nowych metod diagnostycznych, narzędzi a także systemów komputerowych, co pozwala na dokonywanie znacznie dokładniejszych, szybszych a także znacznie szerszych badań z zakresu weterynarii sądowej [2].

Zgon w skutek utonięcia w medycynie sądowej jest definiowany jako śmierć w wyniku uduszenia spowodowanego wodą wypełniającą drogi oddechowe. Jest to rodzaj duszenia gwałtownego, gdzie przerywany jest dopływ tlenu do płuc. W medycynie sądowej, według Teresińskiego [3] stanowi ok. 5% nienaturalnych przyczyn zgonów. W przypadku zwierząt ilość sekcji zwłok kończących się opinią o utonięciu jest podobna i stanowi znacznie mniejszą ilość przypadków niż postrzały lub zatrucia śmiertelne [4].

Diagnostyka utonięcia jest przypadkiem trudnym i wielopłaszczyznowym z uwagi na brak w pełni swoistego objawu śmierci z utonięcia, możliwy długi czas przebywania zwłok w wodzie oraz częsty brak dodatkowych informacji o okolicznościach zdarzenia a także historii medycznej zwierząt. Najczęściej weryfikowana jest wersja wrzucenia zwłok do wody zwierząt, których zgon nastąpił z innej przyczyny – biegły sądowy w takich przypadkach określał będzie obecność cech mogących wskazywać na śmierć z powodu utonięcia wedle obowiązującej sztuki lekarsko-weterynaryjnej. Diagnoza ta jest szczególnie istotna w przypadku różnicowania śmierci z powodu chorób mięśnia sercowego i układu naczyniowego, gdy znaleziono w wodzie zwłoki o wystarczająco niskiej temperaturze. Znaczącą ilość cech mogących świadczyć o utonięciu można zaobserwować podczas

---

<sup>1</sup> kacper.lewikowski@icloud.com, Studenckie Koło Naukowe Weterynarii Sądowej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, [www.up.lublin.pl](http://www.up.lublin.pl).

<sup>2</sup> klaudia.siedlecka207@gmail.com, Studenckie Koło Naukowe Weterynarii Sądowej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, [www.up.lublin.pl](http://www.up.lublin.pl).

<sup>3</sup> kinga.panasiuk-flak@up.lublin.pl, Katedra Patomorfologii i Weterynarii Sądowej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, [www.up.lublin.pl](http://www.up.lublin.pl).

<sup>4</sup> piotr.listos@up.lublin.pl, Katedra Patomorfologii i Weterynarii Sądowej, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, [www.up.lublin.pl](http://www.up.lublin.pl).



ogłędzin wewnętrznych. Będą to np. ostre rozedma wodna płuc, obecność piany w drogach oddechowych, obecność w żołądku cząstek ze zbiornika wodnego jak np. fragmenty trawy, różnica w zabarwieniu błony wewnętrznej w aorcie i pniu płucnym czy rozszerzenie prawej komory serca. Charakterystyczną zmianą pośmiertną – makroskopową jest również obecność odcisków żeber na opłucnej płucnej [5, 6]. Szczegółne zainteresowanie w ostatnich latach dotyczy badanie okrzemek – jednokomórkowych eukariontów wodnych. Uważano, że można za pomocą analizy składu ilościowego i jakościowego okrzemek na pokrywie włosowej, drogach oddechowych czy żołądku określić, czy dane zwłoki miały kontakt z konkretnym zbiornikiem wodnym. Istnieje wiele przypadków pomyślnego użycia okrzemek do analizy i rozwiązywania przypadków utonięcia, jednak do tej pory naukowcy nie są zgodni czy można wykorzystywać okrzemki jako metodę o wysokiej wartości dowodowej z uwagi na ich wszechobecność w każdej wodzie, śniegu, a nawet w wdychanym powietrzu [7, 8]. Według obecnego konsultanta krajowego z zakresu medycyny sądowej Grzegorza Teresińskiego okrzemki nie mają wysokiej wartości w badaniach dla celów opiniodawczych [3].

Wyjątkowym materiałem badawczym w analizie weterynaryjno-sądowej są wszystkie gatunki ptaków zwyczajowo bytujących nad morzem, które uległy utonięciu. Wyróżnia je wyjątkowa budowa układu oddechowego, a także okoliczności, w których może dochodzić do śmierci. Simpson i Fisher szczególną uwagę zwracali na określanie obecności piany lub cieczy w ich układzie oddechowym. Istotnym czynnikiem w opiniowaniu w przypadku ptaków jest również wspomniane przez autorów określenie okoliczności i przyczyny zgonu z uwagi na obecne w środowisku morskim odmienne warunki życia, a także zagrożenia środowiskowe jakie napotykają te zwierzęta. Do najważniejszych można wymienić zanieczyszczenia poliizobutylenem (PIB), gdzie ptaki zostają pokryte białym, klejopodobnym materiałem, zanieczyszczenia olejami, które również wpływały ograniczająco na możliwość ruchu ptaków, tak jak w przypadku PIB. Do odnalezienia zwłok w wodzie dochodziło również z powodu sztormów, gdzie ptaki te nie były w stanie pokonać oporów wiatru i wysokich fal, co prowadziło do ich utonięcia.

Bezpośrednio po zanurzeniu się następuje pierwsza z pięciu faz tonięcia – faza niespodziewanych, niezależnych od woli oddechów wodą.

Następnie dochodzi do fazy świadomego oporu, co wynika z prób uniknięcia aspiracji wody. Powoduje to wzrost stężenia dwutlenku węgla we krwi i pobudzenia ośrodka oddechowego do odruchowych wdechów. Następuje faza oddechów wodą i aspirowania dużych ilości płynu, utrata przytomności i niedotlenienie ośrodkowego układu nerwowego a także mięśnia sercowego. Po pojawieniu się drgawek ostatnią fazą jest faza oddechów końcowych i śmierć, która następuje od około 4 do 6 minut od momentu zanurzenia w wodzie [6].

Z powodu aspirowania dużej ilości wody przenika ona do krwiobiegu. U psów następuje to w czasie około 3 minut doprowadzając do rozrzedzenia krwi, hiperwolemii, spadku poziomu sodu, chloru, osmolalności, hematokrytu a także hiperkaliemii, jeśli do zanurzenia doszło w wodzie słodkiej [9]. W przypadku wody słonej miejsce ma zagęszczenie krwi i hipernatremia.

Z uwagi na niską temperaturę wody, szybsze wyziębianie zwłok, a także na utrudniony dostęp środowiska zewnętrznego proces rozkładu zwłok jest zwykle spowolniony do momentu ich wynurzenia. Znaczenie ma także ewentualne przerwanie ciągłości

powłok ciała, co pozwalałoby na wniknięcie mikroorganizmów i wcześniejsze rozpoczęcie procesu rozkładu.

Zwłoki na powierzchni mogą wypływać już po jednym lub dwóch dniach. Czas ten zależy od szybkości generowanego gazu w procesie gnicia zwłok, co można sprowadzić do wniosku, że im wyższa temperatura, większe zanieczyszczenie zbiornika i większa ilość obrażeń ciała, tym czas ten będzie krótszy. Na proces ten ma także wpływ masa ciała oraz ilość tkanki tłuszczowej, która jako jedyna w organizmie ssaków jest lżejsza od wody. Postępująca autoliza spowodowana enzymami obecnymi w organizmie i ewentualne gnicie zwłok wywołane przez bakterie gnilne, które były saprofitami w przewodzie pokarmowym, drogach oddechowych i skórze, powodują pojawianie się coraz większej liczby owadów i mikroorganizmów przyspieszają ten proces aż do całkowitego rozkładu tkanek miękkich co ma miejsce między 10-30 dniem od zanurzenia [10, 11]. Charakterystycznym objawem zwłok zanurzonych w wodzie często jest silnie wzdęcie gazowe, a także wypełnienie przewodu pokarmowego wodą, jeśli ta została aspirowana podczas zanurzania w wodzie.

Przy ujawnianiu zwłok w zbiornikach wodnych istotną informacją przynosi analiza hydrologiczna, która pozwala na określenie czasu wypłynięcia zwłok na powierzchnię a także szybkości ich przemieszczania. Znaczenie w tym procesie ma również pływalność, czyli zdolność zwłok do unoszenia się na wodzie. W przypadku zwierząt będzie zależała od kilku czynników: zasolenia, które zwiększa wypór, masy ciała, aspiracji wody oraz objętości oddechowej i stanu płuc. W zbiornikach wodnych występują także zjawisko termokliny, czyli skoku termicznego na pewnej głębokości. Różnica temperatur przy tym zjawisku może sięgać nawet do 10°C co znacząco rzutuje na czas wypływania zwłok na powierzchnię [12].

Poza wymienionymi czynnikami fizycznymi i chemicznymi istotne znaczenie ma również fakt, iż ze zwłokami mają kontakt glony, organizmy wodne a także inne obiekty obecne w wodzie – mogą one powodować powstawanie licznych obrażeń. Najczęstszymi są rany spowodowane przez wleczenie zwłok, a także obecne na nieowłosionych partiach ciała mniejsze uszkodzenia spowodowane przez ryby. W przypadku szybkiego nurtu i wąskiego koryta rzeki widoczne mogą być istotnie duże obrażenia spowodowane tarciami zwłok o często kamieniste podłoże. Ważnym czynnikiem dla biegłego może okazać się wtedy weryfikacja złamań okolic tych ran, co pozwoli na ustalenie ich zażyłości.

Celem pracy było nakreślenie wielopłaszczyznowego charakteru badań sekcyjnych ciał zwierząt ujawnionych w zbiornikach wodnych – pośmiertnie umieszczonych w wodzie i ofiar utonięcia oraz wykazanie zmian patologicznych towarzyszących utonięciu.

## **2. Opis przypadku**

Do Katedry Patomorfologii i Weterynarii Sądowej Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, został dostarczony materiał dowodowy w postaci 7 zwłok zwierząt towarzyszących, ujawnionych w niewielkim, przydomowym zbiorniku wodnym.

Sekcja zwłok zwierząt została przeprowadzona przez dr. hab. n. wet. dr. n. prawnych Piotra Listosa.

Ogłędziny zewnętrzne wykazały zaawansowany już rozkład gnilny, a materiał dowodowy potwierdzał obecność zwłok w wodzie. Na okrywie włosowej widoczne były równie fragmenty traw i innych elementów prawdopodobnie pochodzących ze zbiornika wodnego. Widoczne odsłonięte kości czaszki a także kończyn wskazują na fakt, że zwłoki były ujawnione po długim czasie przebywania w środowisku wodnym (rys. 1.)



Rysunek 1. Poddane badaniu sekcijnemu zwłoki zwierząt towarzyszących [opracowanie własne]

Przystąpiono również do oceny stanu uzębienia, w celu określenia przybliżonego wieku zwierząt (rys. 2.)



Rysunek 2. Ustalanie wieku zwierzęcia [opracowanie własne]

Następnie przystąpiono do oględzin wewnętrznych zwłok w poszukiwaniu ewentualnych obrażeń, które mogły mieć bezpośredni lub pośredni związek z zejściem śmiertelnym zwierząt. Badanie pozwoliło na potwierdzenie zaawansowanego rozkładu gnilnego, a także obrażeń okolicy klatki piersiowej, co uwidoczniło na fotografiach (rys. 3 i 4)



Rysunek 3. Widoczne wylewy krwawe i obecność gazu [opracowanie własne]



Rysunek 4. Oględziny wewnętrzne zwłok [opracowanie własne]

Dalsze szczegółowe oględziny miały na celu ustalenie bezpośrednią przyczynę zgonu i odpowiedź na pytanie, czy zwierzęta utonęły lub czy zwłoki zwierząt zostały umieszczone po śmierci w zbiorniku wodnym. Nie stwierdzono makroskopowo widocznych uszkodzeń poza wskazanymi powyżej. Nie stwierdzono również znamion śmierci z powodu utonięcia, a przede wszystkim, wykazano brak zaaspirowanej wody, co stanowiło wysoką wartość dowodową i pozwoliło na jednoznaczne stwierdzenie, że zwierzęta nie mogły ulec utonięciu, a ich zwłoki umieszczono po śmierci w zbiorniku wodnym, co spowodowało widoczne podczas oględzin zewnętrznych zmiany.

Analiza porównawcza opisanego przypadku ze zwłokami zwierzęcia (psa), którego bezpośrednią przyczyną śmierci było klasyczne utonięcie pozwala na stwierdzenie, iż w odróżnieniu od opisanego powyżej przypadku, makroskopowym badaniem sekcijnym stwierdzono:



Rysunek 5. Oględziny zewnętrzne zwłok [zbiory prof. dr. hab. Zenona Sołtysiaka]

Podczas oględzin wewnętrznych najbardziej istotną zmianą patologiczną była obecność piany (rys. 6) w drogach oddechowych, która wg. Teresińskiego obecnie stanowi najwyższą wartość dowodową w opiniowaniu przypadków utonięcia.



Rysunek 6. Oględziny wewnętrzne zwłok [zbiory prof. dr. hab. Zenona Sołtysiaka]

Podczas badania sekcijnego stwierdzono silne przekrwienie płuc z cechami rozedmy (rys. 7), obecność odcisków żeber na opłucnej płucnej, a także liczne żdźbła traw obecne w żołądku.



Rysunek 7. Oględziny wewnętrzne zwłok [zbiory prof. dr. hab. Zenona Sołtysiaka]

Wykonane badanie histopatologiczne pozwoliło na potwierdzenie rozpoznanych badaniem pośmiertnym – makroskopowym zmian patologicznych, w postaci obecności płynu w świetle pęcherzyków płucnych, oskrzeli i oskrzelików, w połączeniu z obecnością ostrej rozedmy pęcherzykowej płuc.

### 3. Wnioski

Analizowane przypadki w aspekcie praktyki weterynaryjno-sądowej wydają się być wysoce istotnymi. Przemawia za tym fakt braku obecności klasycznej śmierci z powodu utonięcia w pierwszym przypadku, a także wskazanie kluczowych i naukowo ustalonych wiadomości występujących przy śmierci na skutek utonięcia w wodzie słodkiej, które mogą zostać wykorzystane podczas opiniowania lekarsko-weterynaryjnego. Przypadki, w których należy wydać taką opinię nie należą do częstych i niejednokrotnie sprawiają trudności podczas wykonywania czynności biegłego, a wykonywanie studium przypadków i analizowanie ich nadal stanowi kluczowe elementy w zdobywaniu doświadczenia przez biegłego, które według McDonough i McEwen bezpośrednio rzutuje na wydawanie merytorycznych, a tym samym rzetelnych opinii.

### Literatura

1. McDonough S.P., McEwen B.J., *Veterinary Forensic Pathology: The Search for Truth*, *Veterinary Pathology*, 53(5), 2016, s. 875-877.
2. Lewikowski K., Klimek Sz., Kołodziejska K., *Analiza toksykologiczna w opiniowaniu weterynaryjno-sądowym*, Wybrane zagadnienia w produkcji zwierzęcej, t. 3, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, 2022.
3. Teresiński G., *Medycyna sądowa*, t. 1, Tanatologia i traumatologia sądowa, Wydawnictwo PZWL, 2019.
4. Panusiuk-Flak K., Listos P., *Weterynaria sądowa – badania dodatkowe, a może podstawowe?*, *Magazyn Weterynaryjny*, 29(04), 2020.
5. Listos P., Gryzinska M., Kowalczyk M., *Badanie pośmiertne w aspekcie weterynarii sądowej*, *Życie Weterynaryjne*, 91(02), 2016.
6. McEwen B.J., Gerdin J., *Veterinary Forensic Pathology: Drowning and Bodies Recovered From Water*, *Veterinary Pathology*, 53(5), 2016, s. 1049-1056, doi:10.1177/0300985815625757.
7. Bogusz I., Bogusz M., Kwiatkowska M., Siwińska A., Żelazna-Wieczorek A., *Zastosowanie okrzemek w kryminalistyce*, *Problemy Kryminalistyki*, 302, 2018.

8. Piegari G., De Biase, D., d'Aquino I., Prisco F., Fico R., Ilsami R., Pozzato N., Genovese A., Paciello O., *Diagnosis of Drowning and the Value of the Diatom Test in Veterinary Forensic Pathology*, *Frontiers in veterinary science*, 6, 404, 2019, <https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00404>.
9. Schneppe S., Dokter M., Bockholdt B., *Macromorphological findings in cases of death in water: a critical view on "drowning signs"*, *Int J Legal Med*, 135(1), 2021, s. 281-291, doi: 10.1007/s00414-020-02469-9.
10. Sardar M.A., Sachdev S.S., Sonali K., Chettiankandy T.J., Sarang S., Tupkari J., *A Comprehensive Overview of Forensic Entomology*, *International Journal of Ethics Trauma & Victimology*, 7, 2021, s. 19-28, 10.18099/ijetv.v7i01.5.
11. Perwira S., Affrita T.M., Tambunan E., Yudianto A., *Autopsy Findings on Decomposing Drowned Body: Identification of Specific Diagnostic Features of External, Internal, and Laboratory Examinations*, *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences*, 9(C), 2021, s. 218-221, <https://doi.org/10.3889/oamjms.2021.7250>.
12. Szczeńśniak A., Milewski J., Dybiński O., Futyma K., Skibiński J., Martsinchyk A., Szablowski Ł., *Determination of Thermocline Heat Transfer Coefficient by Using CFD Simulation*, *Energies*, 16(7), 2023, 3150, <https://doi.org/10.3390/en16073150>.

## **Weterynaryjno-sądowa analiza porównawcza umieszczenia zwłok zwierząt towarzyszących w wodzie i utonięcia**

### **Streszczenie**

Niejednokrotnie badanie i opiniowanie spraw podczas wykonywania czynności zawodowych przez biegłego lekarza weterynarii, dotyczy uduszenia gwałtownego na skutek utonięcia zwierząt. Weterynaryjno-sądowe ustalenie bezspornej przyczyny, a tym samym weryfikacja poczynionej hipotezy lub hipotez w przedmiocie zgonu jest najczęściej potrzebna do potencjalnego wykluczenia wrzucenia do wody zwłok zwierzęcia zmarłego z innej przyczyny, co w sposób istotny skutkuje merytorycznym charakterem prowadzonego postępowania przygotowawczego przez właściwe organy procesowe. Wydanie opinii oraz stricte analiza przypadku utonięcia jest procesem skomplikowanym i wielopłaszczyznowym z uwagi niejednokrotnie na brak wielu istotnych informacji o okolicznościach zdarzenia, brak swoistych zmian i długi czas przebywania zwłok w wodzie, co powoduje, że rozpoznanie ustala się w drodze wykluczenia innych okoliczności zgonu.

Celem pracy było nakreślenie wielopłaszczyznowego charakteru badań sekcyjnych ciał zwierząt ujawnionych w zbiornikach wodnych – pośmiertnie umieszczonych w wodzie i ofiar utonięcia oraz wykazanie zmian patologicznych towarzyszących utonięciu.

Słowa kluczowe: weterynaria sądowa, utonięcie

## **Forensic veterinary comparative analysis of the placement of companion animal carcasses in water and drowning**

### **Abstract**

Often, examining and providing opinions on cases during professional activities by a veterinary expert concerns sudden suffocation due to animal drowning. The veterinary-forensic determination of the undisputed cause, and thus the verification of the hypothesis or hypotheses regarding the death, is most often necessary to potentially exclude the throwing of an animal's body into the water due to a different cause. This significantly affects the substantive character of the preparatory proceedings conducted by the competent legal authorities, thus indicating the significant role of veterinary forensic medicine in protecting the rule of law. Providing an opinion and strictly analyzing a drowning case is a complex and multi-dimensional process, especially in terms of veterinary forensic medicine, often due to a lack of many important pieces of information about the circumstances of the event, the possible long time the body spent in the water, and the still not fully developed specific symptoms of death due to drowning, which means that the diagnosis is established by excluding other circumstances of death. The aim of the study was to outline the multifaceted nature of postmortem examinations of the bodies of animals found in water reservoirs – posthumously placed in water and victims of drowning, and to demonstrate pathological changes accompanying drowning.

Keywords: Forensic veterinary, drowning

# ADAM9 jako gen kandydujący różnicujący sprawność odpowiedzi immunologicznej w przebiegu zapalenia gruczołu mlekowego u bydła

## 1. Wprowadzenie

Z biegiem lat postęp technologiczny oraz wdrażana selekcja genomowa osobników stale podnosi wydajność mleczną krów w gospodarstwach. Jednak oprócz ilości wyprodukowanego mleka, na opłacalność produkcji wpływa wiele elementów, w tym profilaktyka zdrowotna prowadzona w stadzie. Częstym problemem krów o wysokiej wydajności jest zapalenie wymienia (ang. *mastitis*), które obniża przydatność technologiczną mleka i generuje koszty związane zarówno z przetwarzaniem surowca jak i leczeniem chorych osobników. Mastitis jest obecnie chorobą powodującą najwyższe straty ekonomiczne w hodowli bydła mlecznego [1]. Poniesione koszty można podzielić na bezpośrednie: usługi weterynaryjne, leki, dodatkowa praca oraz na pośrednie: obniżenie wydajności, pogorszenie jakości mleka, brakowanie krów. Mimo, że w przebiegu postaci klinicznej dodatkowym kosztem jest leczenie chorych osobników, to subkliniczne zapalenie wymienia powoduje większe straty, które mogą sięgać nawet 4,5% produkcji dziennej mleka [2]. Z tego względu, zadaniem współczesnej hodowli jest poprawienie naturalnej odporności krów przy równoczesnym utrzymaniu wysokiej produktywności. Ewentualny postęp w tej dziedzinie wymaga szczegółowego poznania struktury i funkcji genów uczestniczących w odpowiedzi przeciwko drobnoustrojom chorobotwórczym. Prawdopodobnie wytypowane geny mogą być przydatne jako markery molekularne w selekcji bydła o zwiększonej odporności na zakażenia. Celem niniejszej pracy było przybliżenie budowy oraz funkcji genu ADAM9 u bydła w oparciu o dane literaturowe oraz autorskie wstępne analizy bioinformatyczne i molekularne, co pozwoliło na wskazanie go jako nowego genu kandydującego różnicującego sprawność odpowiedzi immunologicznej w gruczole mlecznym u bydła.

## 2. Mastitis – choroba wysokowydajnych krów mlecznych

Wśród czynników etiologicznych powodujących występowanie mastitis u krów można wymienić bakterie, mykoplazmy, wirusy, grzyby oraz glony. Najczęściej wymienianą przyczyną są zakażenia przez bakterie, które ze względu na zróżnicowanie nasilenia objawów stanu zapalnego można podzielić na dwie grupy. Do patogenów głównych (ang. *major pathogens*) zaliczane są: *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, paciorkowce *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Coliforms* (*Escherichia coli* i *Klebsiella* sp.) oraz *Truiperella pyogenes*. Rzadziej opisywane w literaturze, ale klinicznie istotne znaczenie mają również: gronkowce koagulazo-ujemne (*CNS – Coagulase Negative Staphylococci*), mikrokoki, *Corynebacterium bovis*, a także grzyby drożdżopodobne (z rodzaju *Candida*, *Trichosporon*) [3]. Mastitis występuje w postaci klinicznej

---

<sup>1</sup> joanna.sadowska@uwm.edu.pl, Katedra Genetyki Zwierząt, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, <https://uwm.edu.pl/>.



oraz subklinicznej. Patogenem wywołującym formę subkliniczną jest najczęściej gronkowiec złocisty (*Staphylococcus aureus*) [4]. Jest to forma trudna do wykrycia, ponieważ nie daje widocznych objawów na wymieniu oraz w mleku. Z tego względu występuje ona częściej [5], a brak jej rozpoznania może prowadzić do przeniesienia infekcji na inne krowy w stadzie. Kliniczną formę mastitis najczęściej wywołuje *Escherichia coli* [6]. Jest ona łatwiejsza do wykrycia z powodu widocznych objawów zapalenia, takich jak: obrzęk, stwardnienie oraz zaczerwienienie chorych ćwiartek wymienia [7]. Zmiany w mleku są widoczne w postaci strzępków i surowiczej lub krwistej wydzieliny. Markiewicz dodatkowo wymienia utratę wydzielniczości przez ćwiartkę objętą zapaleniem oraz wzrost ogólnej temperatury ciała [8].

### 2.1. Zmiany fizyczne i chemiczne mleka podczas zapalenia wymienia

Pod wpływem zaburzeń czynnościowych gruczołu mlekowego, mleko osobników chorych posiada odmienne parametry fizyczne i chemiczne. Zmiany te dotyczą przede wszystkim takich składników jak: tłuszcz, laktoza oraz kazeina [5, 9]. Miciński podaje, że w przypadku subklinicznej formy zawartość tłuszczu obniża się do 3%, natomiast w formie klinicznej do 2,5%. Zmienia się również zawartość suchej masy. W mleku pochodzącym od zdrowych krow utrzymuje się ona na poziomie 12,3-12,5%. Wraz z rozwojem choroby wartość ta ulega znaczącemu obniżeniu do ok. 11% w przebiegu formy podklinicznej i 9% w fazie klinicznej. Wzrasta natomiast poziom białka ogólnego do 3,5-3,8% (forma subkliniczna) i nawet do 6% (forma kliniczna) [7].

Z badań wynika, że zarówno w swojej klinicznej jak i subklinicznej formie mastitis, oprócz jakości pozyskanego surowca, znacząco wpływa również na wydajność produkcyjną krow mlecznych. Spadek produkcji mleka często spowodowany jest bezpośrednim działaniem patogenu lub uszkodzeniem wymienia spowodowanym reakcją immunologiczną gospodarza [10]. Ma to prawdopodobnie związek z zastąpieniem tkanki wydzielniczej tkanką zwłóknieniową, uszkadzając zdolność syntezy mleka [11]. Badania Goncalves i in. wykazały, że krowy zakażone takimi patogenami jak *Staphylococcus aureus* czy *Streptococcus agalactiae* dawały o 1,13 kg mniej mleka na ćwiartkę w jednym doju niż zdrowe osobniki [12]. Wykazano również związek, między spadkiem wydajności mleka a konkretnym rodzajem patogenu powodującego podkliniczne zapalenie gruczołu mlekowego. W badaniach Martins i in., wydajność krow chorych na przewlekłe subkliniczne zapalenie wymienia była obniżona i wahała się od 5,8 do 11,8 kg/krowę/dzień w zależności od patogenu jaki wywoływał stan zapalny [13]. Ze względu na brak widocznych objawów podczas występowania subklinicznej formy mastitis, diagnozę takich osobników przeprowadza się badając liczbę komórek somatycznych (LKS) w mleku. Zarówno wzrost liczby tych komórek, jak i zmiany w ekspresji genów biorących udział w mechanizmach reakcji zapalnej takich jak: amyloid A (MAA, ang. *milk amyloid A*), białko C reaktywne (CRP, ang. *C-reactive protein*) oraz inne geny kodujące białka ostrej fazy (APPs, ang. *acute-phase protein*), są wskaźnikami toczących się procesów patologicznych związanych z infekcją bakteryjną [14].

### 3. Mechanizm wrodzonej odpowiedzi immunologicznej u krow

Układ odpornościowy jest to system rozpoznawania i odpowiedzi, mający na celu neutralizację wszystkich możliwych czynników szkodliwych wpływających lub potencjalnie wpływających na homeostazę gospodarza [15]. Najważniejszą rolą układu odpornościowego jest zapobieganie rozprzestrzenianiu się drobnoustrojów oraz ograniczanie

lub eliminowanie infekcji. Aktywacja limfocytów jest niezbędna do wyeliminowania wielu drobnoustrojów, jednak odpowiedź swoista rozwija się bardzo wolno. Organizm musi być więc gotowy do skutecznej obrony, zanim dojdzie do inwazji drobnoustrojów. Odporność nieswoista stanowi więc ważną część kompleksowej obrony krów przed wnikającymi drobnoustrojami. Obecność tych mechanizmów daje czas na rozwinięcie bardziej skutecznej odporności swoistej.

### **3.1. Bierne mechanizmy odporności nieswoistej**

Odporność nieswoista (wrodzona) obejmuje zarówno bariery anatomiczne, jak i czynne mechanizmy obronne, zawierające działanie czynników chemicznych i biologicznych, kooperujących zazwyczaj z mechanizmami odporności swoistej. Pierwszym nieswoistym mechanizmem zapobiegającym wnikaniu drobnoustroju do organizmu krowy jest złuszczenie nabłonka kanału strzykowego. Substancje takie jak: lizozym, laktoferyna i lakto-peroksydaza ograniczają zdolność wnikania patogenów do wnętrza gruczołu mlekowego. Działanie lizozymu polega na rozrywaniu wiązań  $\beta$ -1,4-glikozydowych pomiędzy cząsteczkami kwasu N-acetylmuraminowego i N-acetyloglukozaminą, przez co destabilizuje on peptydoglikan w ścianie komórkowej bakterii Gram-dodatnich. Rola laktoferyny polega na przenoszeniu jonów żelaza. Ogranicza w ten sposób bakteriom oraz pierwotniakom dostęp do tego pierwiastka, który jest im niezbędny do życia. Laktoferyna wzmacnia również antybakteryjną aktywność lizozymu. Występuje głównie w swoistych ziarnach neutrofilów, ale także osoczu, łzach, nasieniu oraz mleku. Lakto-peroksydaza utlenia enzymy ściany komórkowej przy udziale nadtlenu wodoru, tiocyjaniny i halogenków.

### **3.2. Czynne mechanizmy odporności nieswoistej**

Przejsie drobnoustrojów przez bariery ochronne organizmu uruchamia czynne mechanizmy odporności nieswoistej, obejmujące rozpoznanie patogenu lub wytwarzanych przez nie molekuł oraz aktywację odpowiedniego typu komórek, prowadzącą do zniszczenia drobnoustroju. Granulocyty obojętnochłonne (neutrofile) są najaktywniejszą linią komórek uczestniczących w obronie gruczołu mlekowego przed drobnoustrojami. Przeprowadzają one fagocytozę opsonizowanych patogenów, jak i wolnych od przeciwciał. Do niszczenia wewnątrzkomórkowego używają enzymów oraz wolnych rodników. Drobnoustroje patogenne, które dostają się do wymienia posiadają na swojej powierzchni charakterystyczne cząsteczki określane jako wzorce molekularne związane z patogenami – PAMP (ang. *pathogen associated molecular patterns*). Komórki odpowiedzi nieswoistej posiadają na swojej powierzchni błony receptory PRR (ang. *pattern recognition receptors*), których interakcja z cząsteczkami PAMP powoduje wykrycie patogenu i uruchomienie reakcji odpornościowej. Ważną cechą cząsteczek PAMP jest to, że są one typowe dla całych grup drobnoustrojów. Wśród nich można wymienić: peptydoglikan (PGN) i kwas teichojowy – które występują jako budulec ściany komórkowej bakterii Gram-dodatnich, liposacharyd (LPS) będący składnikiem ścian komórkowych bakterii Gram-ujemnych oraz mannany, które są uniwersalnym składnikiem drożdży. Ze względu na to, że cząsteczki PAMP są typowe dla całych grup bakterii, także komensalnych, wykrycie drobnoustrojów patogennych opiera się na jednoczesnej aktywacji komórkowych receptorów PRR przez cząsteczki PAMP oraz cząsteczki DAMP (ang. *damage-associated molecular patterns*), zwanych alarminami. Pochodzą one z komórek gospodarza i są wytwarzane pod wpływem ich uszkodzenia. Prowadzi to do uruchomienia kaskady odpowiedzi zapalnej, uwolnienia mediatorów i rekrutacji komórek uczestniczących w swoistej odpowiedzi

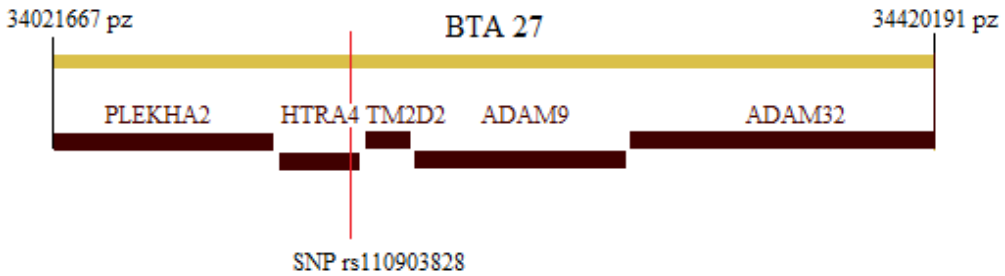
immunologicznej [2, 16]. Do receptorów powierzchniowych, które nie biorą udziału w fagocytozie, a ich głównym zadaniem jest wykrycie cząsteczek PAMP i aktywacja innych komórek, należą receptory Toll-podobne (TLR, ang. *Toll-like receptors*). W części zewnątrzkomórkowej receptory te mają domeny bogate w leucynę, natomiast odcinki cytoplazmatyczne są analogiczne do tych, które występują w receptorach dla IL-1 (interleukiny 1). Zawierają one domenę TIR (ang. *Toll-IL-1 receptor*). Ważnymi receptorami dla wykrycia zapalenia wymienia u krów są TLR2 i TLR4 rozpoznające odpowiednio peptydoglikan błony komórkowej m.in. *Staphylococcus aureus* oraz lipopolisacharydy (LPS) bakterii Gram-ujemnych. Receptory TLR aktywują czynnik transkrypcyjny NF- $\kappa$ B odpowiedzialny za indukcję ekspresji kilkudziesięciu mediatorów prozapalnych oraz czynników IRF (ang. *interferon regulatory factor*), które indukują wytwarzanie interferonów  $\alpha$  i  $\beta$ . Receptor TLR4 występuje na powierzchni komórek nabłonkowych jelit, dróg oddechowych, komórkach tłuszczowych oraz komórkach śródbłonna. Rozpoznaje on liposacharydy występujące w bakteriach gramujemnych. Aktywowane w ten sposób komórki nabłonka rozpoczynają wydzielanie cytokin (w tym chemokin) oraz defensyn, które uczestniczą w przyciągnięciu do miejsca zakażenia komórek układu odpornościowego. Makrofagi aktywowane przez TLR4 rozpoczynają wytwarzanie cytokin prozapalnych, m. in. IL-1, IL-6, CXCL8 (IL-8), IL-12, TNF- $\alpha$  [17]. Ich zadaniem jest fagocytoza, prezentacja antygenów limfocytom T oraz wytwarzanie reaktywnych formy tlenu i NO. Po tym, jak cytokiny prozapalne takie jak IL-1 oraz TNF- $\alpha$  wraz z krwią dotrą do centralnego układu nerwowego, dochodzi do rozwoju gorączki i zaburzeń wydzielania wielu hormonów, co prowadzi do rozwinięcia się ogólnych objawów towarzyszących mastitis jak: apatia, niechęć do poruszania się czy utrata apetytu. Cytokiny są to cząsteczki regulujące takie procesy jak proliferacja, różnicowanie czy też ruchliwość komórek. Wśród nich ważną jest interleukina 8, której podstawową funkcją jest indukcja chemotaksji, czyli ukierunkowanej migracji leukocytów do miejsc objętych zapaleniem. Jest ona jednym z najsilniej działających czynników przyciągających neutrofile. Przyłączając się do receptora powoduje ich dimeryzację, które po zmianie konformacji rozpoczynają przekazywanie sygnałów aktywujących komórkę [18].

#### 4. Poszukiwanie QTL dla zapalenia wymienia u bydła

Z uwagi na fakt, że konwencjonalne metody zmierzające do ograniczania częstości mastitis są długotrwałe, pracochłonne, kosztowne oraz nie przynoszą spodziewanych wyników, od wielu lat prowadzone są badania nad genetycznym uwarunkowaniem odporności/podatności na mastitis. Wyliczony współczynnik odziedziczalności  $h^2$  dla występowania mastitis oraz jego indikatora w postaci liczby komórek somatycznych w mleku (LKS) jest jednak bardzo niski (w wielu badaniach  $<0,1$ ), co wskazuje na poligeniczne uwarunkowanie tych cech i sprawia, że tradycyjne metody selekcji są mało efektywne [19]. Od ponad 30 lat prowadzone są poszukiwania markerów genetycznych podatności/odporności na mastitis, które można by następnie wykorzystać w programach selekcji wspomaganej markerami MAS (ang. *marker assisted selection*). Od lat 90 zeszłego wieku stosowano markery mikrosatelitarne (STR, ang. *short tandem repeats*), czyli proste powtórzenia tandemowe, których zastosowanie umożliwiałało mapowanie regionów QTL (ang. *Quantitative Trait Loci*) dla liczby komórek somatycznych, związanych z występowaniem zapalenia wymienia [20-22]. Obecnie częściej używane są jako markery genetyczne polimorfizmy typu SNP (ang. *single nucleotide polymorphism*), które umożliwiają mapowanie regionów loci cech ilościowych, związanych z podatnością/odpornością na

mastitis wykorzystując badania asocjacyjne całego genomu (GWAS, ang. *genome-wide association studies*). Zmapowany hipotetyczny rejon QTL zawiera geny, których funkcja może być aktualnie bliżej nieokreślona, a które wykazują statystycznie istotną asocjację z poziomem zmienności badanej cechy. Rozszerzeniem koncepcji MAS jest selekcja genomowa, która wykorzystuje tzw. genomową wartość hodowlaną (GEBV, ang. *genomically estimated breeding value*), do obliczenia której wykorzystuje się markery genetyczne SNP rozsiane równomiernie po całym genomie bydła. Metoda ta aktualnie ma duże znaczenie praktyczne, ponieważ umożliwia wczesną selekcję osobników w kierunku pożądanego cechy, pozwalając na skrócenie odstępów między pokoleniami i przez to zwiększenie postępu hodowlanego. Mankamentem tego podejścia jest jednak brak zrozumienia mechanizmów molekularnych, odpowiedzialnych za procesy immunologiczne. Związane jest to z faktem, że przy obliczaniu genomowej wartości hodowlanej, stosuje się markery występujące przede wszystkim w intronach i rejonach międzygenowych. Nie ma więc możliwości ustalenia, który gen, jaka jego mutacja oraz w jaki sposób wpływa na skuteczność odpowiedzi immunologicznej podczas przebiegu mastitis. Analiza GWAS oraz sekwencjonowanie genomowe nowej generacji (NGS, ang. *next generation sequencing*) pozwoliły na identyfikację trzech funkcjonalnych polimorfizmów SNP w obrębie trzech genów regulujących sprawność układu odpornościowego: PTK2B, SYK i TNFRSF21 [23]. Analiza na poziomie transkryptomu wykazała, że poziom ekspresji PTK2B i SYK był obniżony zarówno w komórkach pochodzących od krów z klinicznym zapaleniem wymienia, jak i w leukocytach stymulowanych liposacharydem *E. coli* (LPS) w hodowli *in vitro*. Natomiast ekspresja genu TNFRSF21 była podwyższona u osobników z mastitis co sugeruje, że ma on związek z przebiegiem procesu zapalnego. Innym przykładem wykorzystania technologii NGS są badania Cai i in., gdzie zidentyfikowane zostały 22 QTLs, które łącznie wyjaśniały 14% wariacji wartości hodowlanej odporności na kliniczne zapalenie wymienia [24]. Niedawno przeprowadzono metaanalizę 52 artykułów naukowych z wynikami GWAS w celu zidentyfikowania potencjalnych, funkcjonalnych genów kandydujących związanych z odpornością na mastitis u bydła mlecznego. Zaowocowało to wyłonieniem dwudziestu czterech genów (ABCC9, ACHE, ADCYAP1, ARC, BCL2L1, CDKN1A, EPO, GABBR2, GDNF, GNRHR, IKBKE, JAG1, KCNJ8, KCNQ1, LIFR, MC3R, MYOZ3, NFKB1, OSMR, PPP3CA, PRLR, SHARPIN, SLC1A3 i TNFRSF25) mających związek zarówno z kliniczną postacią mastitis, jak i liczbą komórek somatycznych w mleku [25].

Ważną metodą wykorzystywaną do identyfikacji rejonów QTL są mikromacierze o dużej gęstości firmy Illumina, które opierają się na hybrydyzacji DNA osobnika z sekwencjami oligonukleotydów na szkieletu macierzy, a następnie na reakcji minisekwencjonowania, pozwalającej ustalić genotyp w każdym z analizowanych tysięcy SNP. Metoda ta w 2011 roku pozwoliła wyłonić pik QTL mający związek z mastitis na chromosomie 27 w pozycji 37661635 [26]. W 2019 roku Kurz i in. wyłonili dwadzieścia siedem loci cech ilościowych dla odporności na zapalenie gruczołu mlekowego, w tym jeden na BTA27, niedaleko markera SNP rs133086162, w pozycji 25271391 [27]. Miles i Huson uwzględniając medianę dla LKS z kilku laktacji potwierdzili występowanie rejonu QTL na chromosomie 27 [28]. Wang i in. odkryli region QTL, którego pik znajduje się w obrębie SNP (rs110903828) zamieniającego A/C w pozycji 34136836 nukleotydu chromosomu 27 [29]. W obrębie tego regionu na BTA27 znajdują się geny PLEKHA2 (ang. *Pleckstrin Homology Domain Containing A2*), HTRA4 (ang. *HtrA Serine Peptidase 4*), TM2D2 (ang. *TM2 Domain Containing 2*) oraz ADAM9 i ADAM32 (rys. 1).



Rysunek 1. Geny w bliskim sąsiedztwie rejonu QTL na chromosomie 27, zidentyfikowanego przez Wang i wsp. [29], którego pik znajduje się w obrębie SNP rs110903828 [opracowanie własne]

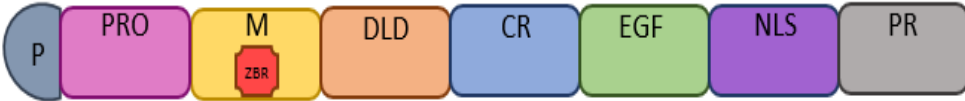
## 5. Budowa białek ADAM

Geny ADAM9 i ADAM32 kodują białka o tej samej nazwie, które należą do rodziny ADAM (ang. *a desintegrin and metalloproteinase*), klasyfikowanej wg bazy MEROPS jako subrodzina adamalizyn (M12B) [30]. Natomiast adamalizyny obok astracyń, matryksyn (MMP – metaloproteiny macierzy) i serralizyn (preteazy bakteryjne) zostały zakwalifikowane do nadrodziny białek zależnych od cynku, zwanych metryzynami [31]. Jak dotąd zidentyfikowano 40 przedstawicieli tej rodziny w genomie ssaków [32]. Według bazy NCBI w genomie *Bos taurus* występują 22 geny z rodziny ADAM (1, 2, 3A, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 28, 29, 30, 32, 33) [33]. Kodują one białka transbłonowe posiadające w swojej budowie wielodomenowy region zewnątrzkomórkowy, pojedynczą sekwencję transbłonową oraz domenę cytoplazmatyczną [34]. Część zewnątrzkomórkowa białka ADAM zawiera kilka odrębnych domen. Wśród nich można wyróżnić: N-końcową sekwencję sygnałową, prodomenę, metaloproteinazę, dezintegrynę oraz region bogaty w cysteinę [35]. Sekwencja sygnałowa na swoim N-końcu kieruje ścieżką sekrecyjną białka na powierzchnię błony. Białka ADAM wytwarzane są jako zymogeny, a prodomena jest odpowiedzialna za hamowanie aktywności poprzez mechanizm „przełączenia cysteiny”, gdzie reszta cysteiny w prodomecie jest połączona z jodem cynku w miejscu katalitycznym [36]. W wyniku obróbki potranslacyjnej białka ADAM9 następuje usunięcie prodomeny poprzez przecięcie łańcucha aminokwasów między prodomeną a domeną metaloproteinazy przez konwertazę probiałka (PC), która rozpoznaje sekwencję aminokwasową RXXR. Badania Wong i in. wykazały wstępowanie drugiego strategicznego miejsca niezbędnego do pełnego procesu aktywacji białka [37]. Oprócz już znanego, występującego między domenami, tzw. granicznego (ang. *boundary*) miejsca, występuje również drugie miejsce ADAM9-RERR<sup>56</sup>/E<sup>57</sup> (ang. *upstream*), które znajduje się od 54-57 aminokwasu. Badania te pokazują, że brak tej specyficznej sekwencji aminokwasów w wyniku mutacji powoduje wzrost ilości pseudo-dojrzałej formy białka o zredukowanej aktywności. Drugą potencjalną funkcją prodomeny jest umożliwienie przyjęcia przez białko ADAM właściwej konformacji przestrzennej, zwłaszcza domeny metaloproteinazy. W badaniach Andersa i in. wykazano, że konstrukt białka ADAM10 pozbawiony swojej prodomeny jest katalitycznie nieaktywny *in vivo* [38]. Natomiast transfekcja tej formy białka oraz konstrukt wyrażającego tylko prodomenę ADAM10 powodowała, że białko odzyskiwało swoją aktywność proteazy. Metaloproteinaza białek ADAM zawiera specyficzną sekwencję aminokwasów (HEXGHxxGxxHD), która umożliwia wiązanie atomu cynku i stanowi miejsce katalityczne całego białka [39]. Niektóre

białka ADAM w toku ewolucji utraciły aktywność domeny metaloproteiny. Z tego względu rola ADAM32 w zapaleniu gruczołu mlekowego jest wątpliwa mimo potwierdzonego związku mutacji delecyjno-insercyjnej w rejonie 5' tego genu z liczbą komórek somatycznych [40]. Lepszym kandydatem wydaje się być ADAM9, którego sekwencja aminokwasowa <sup>346</sup>HELGHNLGMSHD<sup>358</sup> wskazuje na zachowaną aktywność proteolityczną. Nazwa domeny dezintegrynowej pochodzi od jej obecności w metaloproteazach jadu węża (SVMPS). Zawierają one sekwencję RGD, która uniemożliwia asocjację płytek krwi z ich naturalnymi ligandami, takimi jak fibrynogen, co powoduje blokadę agregacji płytek krwi. Białka ADAM łączą się z integrzynami poprzez występującą w domenie dezintegryny sekwencję ECD lub xCD bogatą w kwas asparaginowy oraz kwas glutaminowy. Z tego względu domena ta określana jest mianem „podobnej do dezintegryny” (ang. *desintegrin-like domain*) [41]. W białkach ADAM9 była sekwencja ta występuje <sup>426</sup>ECD<sup>429</sup>. Domena desintegrynowa oddziałuje z następującymi integrzynami:  $\alpha 2\beta 1$ ,  $\alpha 6\beta 1$ ,  $\alpha 6\beta 4$ ,  $\alpha 9\beta 1$  oraz  $\alpha V\beta 5$  [42]. Integrzyny są rozprzestrzeniającymi się po błonie heterodimerami złożonymi z podjednostki  $\alpha$  i  $\beta$ , których skład określa ich zdolność do wiązania różnych składników macierzy zewnątrzkomórkowej (ECM). Integrzyna  $\alpha 2\beta 1$  jest głównym receptorem kolagenu,  $\alpha 6\beta 1$  oraz  $\alpha 6\beta 4$  lamininy,  $\alpha 9\beta 1$  tenascyny, a  $\alpha V\beta 5$  – witronektyny i fibronektyny [18]. W białkach ADAM domena bogata w cysteinę jest zdolna do wiązania składników macierzy zewnątrzkomórkowej niezależnie od oddziaływania między integrzyną i dezintegryną. U ADAM9 funkcja tej domeny nie została jeszcze poznana. Cała rodzina ADAM, z wyjątkiem ADAM10 i ADAM17, posiadają również domenę podobną do naskórkowego czynnika wzrostu (EGF), której funkcja również nie jest wyjaśniona [43]. Domena transbłonowa zakotwicza białko w błonie komórkowej. Natomiast domena cytoplazmatyczna może wchodzić w interakcje z białkami zaangażowanymi w sygnalizację wewnątrzkomórkową. Ogon cytoplazmatyczny białek ADAM może mieć różną zarówno długość, jak i sekwencję aminokwasową. Domena ta zawiera jednak charakterystyczne regiony bogate w prolinę PxxP, które są miejscami wiązania dla białek zawierających domenę SH3 (ang. *Src-homology 3*) oraz reszty seryny, treoniny i tyrozyny, które są potencjalnymi miejscami fosforylacji przez różne kinazy [44]. Domena cytoplazmatyczna ludzkiego ADAM9 zawiera 4 potencjalne miejsca wiązania SH3 [45]. W ADAM9 była również można wyróżnić 4 miejsca, o podobnej sekwencji aminokwasowej: 745-761 aa, 763-776 aa, 784-795 aa oraz 801-818 aa. Większość białek SH3 oddziałujących z ADAM to białka adaptorowe lub kinazy. Regulują one liczne komórkowe szlaki sygnałowe, na przykład poprzez zmianę aktywności katalitycznej i selektywności wobec ligandów kinaz białkowych. Jednym z nich jest białko SNX9, które jest zaangażowane w procesy endocytozy i wewnątrzkomórkowego transportu pęcherzyków. W badaniach Mygind i in. wykazano, że przy obniżeniu stężenia (ang. *knockdown*) białka SNX9 w komórkach raka piersi, całkowita ekspresja białka ADAM9 i jego występowanie na powierzchni komórki w formie aktywnej są podwyższone [46]. To wskazuje, że SNX9 ogranicza aktywację ADAM9 podczas procesu wydzielniczego, w celu kontroli poziomu ilości białka ADAM9 na powierzchni komórki. Innymi białkami zawierającymi domenę SH3 są: SNX33 (ang. *Sorting nexin-33*), białkowa kinaza tyrozynowa Tec, SNX18 (ang. *Sorting nexin-18*), czynnik cytozolowy neutrofilu 1, białkowa kinaza tyrozynowa Lyn oraz ArgBP2 (ang. *Sorbin and SH3 domain-containing protein 2*) [47].

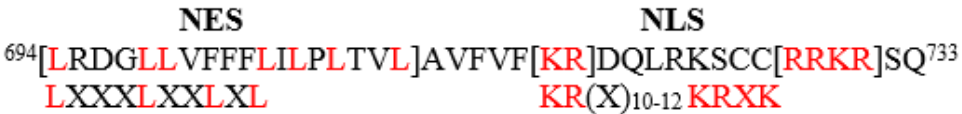
## 6. Analiza bioinformatyczna białka ADAM9 u bydła

Efektom ostatnich postępów w zakresie genomiki bydła jest referencyjna sekwencja genomowa *Bos taurus*, zdeponowana w bazie Ensembl wraz z kolekcją polimorfizmów pojedynczych nukleotydów, występujących u przedstawicieli różnych ras bydła. [48]. Przeprowadzono analizę bioinformatyczną fragmentów sekwencji DNA kodującej białko ADAM9, w celu spozycjonowania miejsc polimorficznych w obrębie regionów kodujących poszczególne domeny tego białka. Użyto programu Motif Scan [49], który w oparciu o bazy danych Pfam oraz Prosite wyodrębnił specyficzne dla białek ADAM domeny funkcjonalne. Ich układ i prawdopodobne umiejscowienie w sekwencji aminokwasów zostało przedstawione na rysunku 2.



Rysunek 2. Schemat budowy genu ADAM9-L, opracowanie własne na podstawie wyników analizy programem Motif Scan [49]. P – N-końcowy peptyd sygnałowy, PRO – prodomena (18-163 aa), M – metaloproteinaza (212-406 aa), ZBR – region wiążący cynk (344-353 aa), DLD – domena podobna do desintegryny (423-499 aa), CR – region bogaty w cysteinę (501-617 aa), EGF – region podobny do naskórkowego czynnika wzrostu (640-674 aa), NLS – sygnał lokalizacji jądrowej (719-733 aa), PR – region bogaty w prolinę (750-815 aa); aa – aminokwasów

Interesującym miejscem wyodrębnionym podczas analizy jest NLS (ang. *nuclear localization sequence*). Występuje ono w formie dwuczłonowej (ang. *biopartite*). Sekwencje BP NLS charakteryzują się dwoma skupiskami 2-3 dodatkowo naładowanych aminokwasów takich jak arginina (R) lub lizyna (K), które są oddzielone regionem łącznika 9-12 aminokwasów [50]. Sekwencję konsensusową można wyrazić jako KR(X)<sub>10-12</sub> KRXX [51]. Porównanie sekwencji konsensusowej oraz sekwencji występującej w białku ADMA9 bydła znajduje się na rysunku 3.



Rysunek 3. Fragment sekwencji białka ADAM9-L u bydła, opracowanie własne na podstawie [51, 52]. Nawiasem zaznaczone zostały fragmenty sekwencji charakterystyczne dla regionów NES i NLS wraz z sekwencją konsensusową zamieszczoną poniżej. Kolorem czerwonym zaznaczone zostały aminokwasy charakterystyczne dla tych regionów: L-leucyna, K-lizyna, R-arginina, X-dowolny aminokwas

Struktura NLS umożliwia przechodzenie białka przez pory błony jądrowej. Jej obecność wskazuje, że białko ADAM9 może mieć zdolność wnikania do jądra komórkowego. Ponadto w sekwencji ADAM9 bydła może występować również region NES (ang. *nuclear export signal*) ze względu na nagromadzenie hydrofobowego aminokwasu leucyny w sekwencji aminokwasowej tego białka (rys. 3). Sekwencja NES rozpoznawana jest przez eksportynę jądrową i umożliwia uwolnienie białka z jądra z powrotem do cytoplazmy. Sekwencja konsensusowa dla tego regionu to LXXXLXXLXL [52]. Występowanie sekwencji NLS oraz NES może sugerować, że białko ADAM9 może pełnić rolę czynnika

transkrypcyjnego i regulować w ten sposób ekspresję genów. Jest to jednak aktualnie jedynie hipoteza, która wymaga potwierdzenia w warunkach eksperymentalnych.

Analiza w programie Motif Scan [49] wykazała prawdopodobne istnienie miejsc specyficznych w obrębie prodomeny, takich jak miejsce glikozylacji (2 miejsca), fosforylacji przez kinazę kazeinową II (3 miejsca), miejsce mirystylacji (4 miejsca), miejsce fosforylacji kinazą C oraz miejsce fosforylacji przez kinazy tyrozynowe (2 miejsca). W wyniku alternatywnego splicingu i delecji 46 aminokwasów jedno miejsce mirystylacji oraz fosforylacji kinazą tyrozynową zostało utracone. Mirystylacja jest to przeniesienie reszty kwasu mirystylogowego na N-końcową resztę glicyny polipeptydu, co może mieć związek z brakiem kotwiczenia formy ADAM9-S w błonie komórkowej. Natomiast kinazy tyrozynowe odpowiadają za przesyłanie sygnałów zewnątrzkomórkowych. Związane są z receptorami transbłonowymi, między innymi receptorem naskórkowego czynnika wzrostu (EGF), który w podobnej wersji występuje również w większości białek ADAM. Brak takiego miejsca fosforylacji może mieć wpływ na aktywność produktu białkowego.

## **7. Różne warianty strukturalne genu ADAM9**

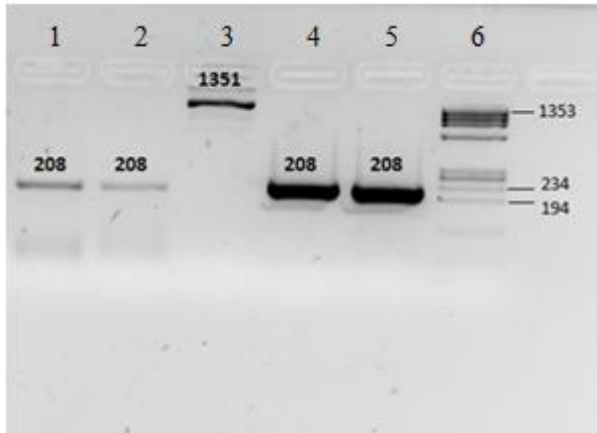
Niektóre geny ADAM w wyniku alternatywnego splicingu na etapie obróbki potranskrypcyjnej wykazują dużą zmienność sekwencji aminokwasowych otrzymywanych białek [35]. Za różnice w składaniu fragmentów RNA odpowiadają mutacje w rejonie splicingowym. Mogą one powodować usunięcie eksonu lub zatrzymanie intronu w czasie obróbki pre-mRNA lub powodować zmianę sekwencji nukleotydowej w dojrzałym mRNA i tym samym zmianę sekwencji aminokwasowej w białku. Według bazy Ensembl w ADAM9-L występuje 80 mutacji zmiany sensu (ang. *missence*) oraz 9 mutacji splicingowych (ang. *splice region variant*) [53]. W wyniku różnic w składaniu fragmentów RNA gen ADAM9 u *Bos taurus* występuje w dwóch wariantach transkryptu. Determinuje to powstanie dwóch różnych białek, o odmiennych funkcjach. Pierwsza, to transbłonowa forma białka – ADAM-L, która charakteryzuje się występowaniem wszystkich charakterystycznych sobie domen oraz druga, krótsza forma – ADAM-S. Według sekwencji nukleotydowej oraz aminokwasowej zdeponowanej w bazie danych Ensembl [53] forma ADAM-L posiada 22 eksony, natomiast forma ADAM-S 20 eksonów. Po porównaniu dwóch sekwencji można stwierdzić, że w ADAM-S zamiast 3 i 4 eksonu występuje długi intron 2 (17,470 pz), natomiast w ADAM-L odcinek ten jest podzielony na intron 2 (2807 pz), ekson 3 (59 pz), intron 3 (8757 pz), ekson 4 (79 pz) i intron 4 (5768 pz). Brak transkrypcji 138 par zasad w ADAM-S powoduje brak 46 aminokwasów (VSYVIQAEGKEHIIIH LERNKDLLPKDFVYTYNKEGALISDHPSIQ) i w konsekwencji zmianę struktury samego białka. Porównanie dwóch różnych wariantów sekwencji aminokwasowej białka ADAM9-S i ADAM9-L w programie Motif Scan [49] wykazało, że delecja dotyczy prodomeny, która jest odpowiedzialna za uaktywnianie właściwości katalitycznych białka oraz za jego ułożenie przestrzenne. Zakres występowania prodomeny w ADAM-L obejmował polipeptyd od 18 do 163 aminokwasu, natomiast w wersji ADAM9-S od 18 do 117 aminokwasu. Może być to spowodowane mutacją w rejonie splicingowym o numerze rs478532953 i zamianą kodonu CAG/CAA w pozycji 34162261 genu ADAM9. Duże znaczenie dla funkcjonalności białka ADAM9 może mieć także grupa 34 mutacji typu zmiany sensu w obrębie prodomeny oraz domeny metaloproteiny, których występowanie może powodować zmianę w aktywności proteolitycznej białka i w konsekwencji wpływać na różne szlaki komórkowe. Istotny wydaje się być również region bogaty



w cysteinę, w obrębie którego mutacje zmiany sensu mogą zmieniać interakcję typu białko-białko metaloproteiny ADAM9 z różnymi ligandami. Obecny poziom wiedzy o polimorfizmach występujących w tych rejonach jest stosunkowo niewielki. Należy więc zweryfikować, które mutacje występują w rasach bydła o użytkowości mlecznej oraz zbadać ich ewentualny wpływ na sprawność wrodzonej odpowiedzi immunologicznej.

## 8. Ekspresja i funkcja ADAM9 w komórkach

Gen ADAM9 ulega powszechnej ekspresji w organizmie. Jego obecność wykrywana jest w wielu typach komórek, w tym monocytach, makrofagach, neutrofilach, keratynocytach i fibroblastach, w wielu narządach: płucach, okrężnicy, nerce, układach: nerwowym, rozrodczym oraz mięśniach gładkich naczyń krwionośnych [45]. Wykazano również jego występowanie w ziarnistościach i pęcherzykach wydzielniczych ludzkich i mysich neutrofilii [54]. Poziom białka ADAM9 gwałtownie wzrasta w trakcie aktywacji komórek PMN. Jego kontakt z integrzynami indukuje chemotaksję oraz produkcję reaktywnych form tlenu w neutrofilach [55]. Rinchai i in. zaobserwowali zwiększoną ekspresję genu ADAM9 w komórkach krwi u pacjentów z ostrą infekcją [56]. Jednak ekspresja tego genu zmieniała się bardzo nieznacznie po ekspozycji *in vitro* na szeroki zakres wzorców molekularnych związanych z patogenami (PAMPs). Brym i Kamiński wykazali, że gen ADAM9 ulega zwiększonej ekspresji w leukocytach krów zainfekowanych wirusem białaczki bydła BLV, w wyniku czego dochodzi do upośledzenia odpowiedzi immunologicznej [57]. Wstępne badania przeprowadzone w Katedrze Genetyki Zwierząt UWM w Olsztynie potwierdziły ekspresję genu ADAM9 w leukocytach oraz komórkach gruczołu mlekowego u krów (rys. 4).



Rysunek 4. Elektroforeza w żelu agarozowym produktów RT-PCR potwierdzająca ekspresję genu ADAM9 w komórkach: PMN (1), PBMC (2), w tkance gruczołu mlekowego (4) i komórkach leukocytów krwi obwodowej (5). W ścieżce 3 znajduje się produkt PCR pełniący rolę kontroli reakcji, powstały w wyniku amplifikacji z wykorzystaniem DNA genomowego jako matrycy. W ścieżce 6 znajduje się marker phiX174 DNA/HaeIII [opracowanie własne na podstawie wykonanych badań wstępnych]

Rola ADAM9 w odpowiedzi zapalnej jest powszechnie uznawana [54, 58, 59]. Jest ona szczególnie nasiloną podczas przewlekłych stanów zapalnych, ponieważ białko ADAM9 bierze udział w regulacji przenikania monocytów do śródbłonna naczyń tkanek objętych procesem zapalnym [60]. Badania Shen i in. potwierdziły indukcję kaskady zapalnej oraz infiltracji makrofagów przez ADAM9 [58]. Potwierdzona została również

jego rola w indukowanym LPS zrzucaniu ekodomeny konwertazy angiotensyny (ACE) w komórkach śródbłonka. ACE przekształca angiotensynę I w angiotensynę II, co prowadzi do wzrostu ciśnienia tętniczego krwi. Angiotensyna II promuje wzrost i proliferację komórek, uczestniczy w pobudzeniu układu krzepnięcia i hamowaniu fibrynolizy, wywołuje stres oksydacyjny oraz nasila procesy zapalne [61]. Ponadto udział białka ADAM9 w stanach zapalnych determinuje funkcja shedazy. ADAM9 zdolne jest do rozszczepiania białek transmembranowych znajdujących się blisko powierzchni komórki, w procesie określanym jako zrzucanie ektodomen (ang. *ectodomain shedding*). Substratami są czynniki wzrostu, cytokiny, chemokiny i cząsteczki adhezyjne [44]. Dzięki tej funkcji, białko ADAM9 odgrywa kluczową rolę w adhezji komórkowej, sygnalizacji zewnętrznej i wewnątrzkomórkowej, różnicowaniu i proliferacji komórek. Proteoliza receptora interleukiny 11 jednoznacznie wskazuje na udział tego białka w stanach zapalnych [62]. Udowodniono również uczestnictwo białka ADAM9 w fuzji monocytów i makrofagów w tzw. komórki olbrzymie tworzące zmiany ziarniniakowe [63]. W ostatnich latach wykazano udział genu i białka ADAM9 w proliferacji komórek [64], angiogenezie (poprzez zwiększenie proteolizy neuropiliny 1) oraz obniżeniu odporności [46]. Badania Ori i in. wskazują na przyczynianie się białka ADAM9 do progresji stanów nowotworowych sprzyjając unaczynieniu się guza i jego zdolności do metastazy w organizmie [65]. Udział białka ADAM9 w nowotworzeniu może mieć związek z zrzucaniem ektodomen czynników podobnych do EGF. Są one syntetyzowane jako transmembranowe prekursorzy, które mogą być poddane proteolitycznemu rozszczepieniu na powierzchni komórki w celu uwolnienia dojrzałej, rozpuszczalnej ektodomeny. Po usunięciu z powierzchni komórki czynniki podobne do EGF wiążą się receptorami powierzchniowymi ErbB, których aktywacja napędza wewnątrzkomórkowe kaskady transdukcji sygnałów. Prowadzą one do różnych losów komórek, w tym proliferacji, różnicowania, migracji i hamowania apoptozy. Rozregulowanie sygnalizacji ErbB jest związane z powstawaniem guzów w różnych tkankach [66].

## 9. Podsumowanie

Przedstawione dane literaturowe oraz wstępne wyniki analiz bioinformatycznych i molekularnych upoważniają do wskazania genu ADAM9 jako genu kandydującego różnicującego odpowiedź immunologiczną w przebiegu zapalenia gruczołu mlekowego (*mastitis*). Należy podjąć szczegółowe badania, identyfikujące ewentualne mutacje sprawcze, analizujące poziomy ekspresji ADAM9 w poszczególnych typach leukocytów i komórkach nabłonka wydzielniczego oraz wyjaśniające molekularne tło procesów biochemicznych w których zaangażowany jest ADAM9, a które prowadzą do stanu odporności lub podatności na infekcje gruczołu mlekowego.

## Literatura

1. Guimarães J., Brito M, Lange C., Silva M., Ribeiro J., Mendonc L., Mendonc J., Souza G., *Estimate of the economic impact of mastitis: A case study in a Holstein dairy herd under tropical conditions*, Preventive Veterinary Medicine, 142, 2017, s. 46-50.
2. Thompson-Crispi K., Atalla H., Miglior F., Mallard B.A., *Bovine mastitis: frontiers in immunogenetics*, Frontiers in Immunology, 5, 2014, s. 493.
3. Reyher K.K., Dohoo I.R., Scholl D.T., Keefe G.P., *Evaluation of minor pathogen intramammary infection, susceptibility parameters, and somatic cell counts on the*

- development of new intramammary infections with major mastitis pathogens*, Journal of Dairy Science, 95(7), 2012, s. 3766-3780.
4. Malinowski E., Gajewski Z., *Charakterystyka zapaleń gruczołu mlekowego u krów wywołanych przez odżywnościowe patogeny człowieka*, Życie weterynaryjne, 84(4), 2009, s. 290-294.
  5. Bobbo T., Ruegg P.L., Stocco G., Fiore E., Giancesella M., Morgante M., Pasotto D., Bittante G., Cecchinato A., *Associations between pathogen-specific cases of subclinical mastitis and milk yield, quality, protein composition, and cheese-making traits in dairy cows*, Journal of Dairy Science, 100, 2017, s. 4868-4883.
  6. Blum S.E., Heller E.D., Leitner G., *Long term effects of Escherichia coli mastitis*, The Veterinary Journal, 201, 2014, s. 72-77.
  7. Miciński J., *Mastitis – „choroba zawodowa” wysokowydajnych krów*, Rolnicze ABC, 8, 2015, s. 299.
  8. Markiewicz H., *Wybrane aspekty patogenezы i leczenia ostrej postaci Escherichia coli mastitis u krów*, Życie weterynaryjne, 88(6), 2013, s. 469-472.
  9. Hogeveen H., Huijп K., Lam T.J.G.M., *Economic aspects of mastitis: New development*, New Zealand Veterinary Journal, 59(1), 2011, s. 16-23.
  10. Dettleux J., *Tolerance to bovine clinical mastitis: Total, direct, and indirect milk losses*, Journal of Dairy Science, 101(4), 2018, s. 3334-3343.
  11. Botaro B.G., Cortinas C.S., Dibbern A.G., Silva L.F., Benites N.R., dos Santos, M.V., *Staphylococcus aureus intramammary infection affects milk yield and SCC of dairy cows*, Tropical Animal Health and Production, 47, 2015, s. 61-66.
  12. Gonçалves J.L., Kamphuis C., Vernooij H., Araújo J.P., Grenfell R.C., Juliano L., Anderson K.L., Hogeveen H., dos Santos M.V., *Pathogen effects on milk yield and composition in chronic subclinical mastitis in dairy cows*, The Veterinary Journal, 262, 2020, s. 105473.
  13. Martins L., Barcelos M.M., Cue R.I., Anderson K.L., Santos M.V.D., Gonçалves J.L., *Chronic subclinical mastitis reduces milk and components yield at the cow level*, Journal of Dairy Research, 87(3), 2020, s. 298-305.
  14. Giagu A., Penati M., Traini S., Dore S., Addis M.F., *Milk proteins as mastitis markers in dairy ruminants - a systematic review*, Veterinary Research Communications 46, 2022, s. 329-351.
  15. Amadori M., *The Innate Immune Response to Noninfectious Stressors: Human and Animal Models*, Academic Press, London 2016, s. 123-135.
  16. Leitner G., Yadlin B., Glickman A., Chaffer M., Saran A., *Systemic and local immune response of cows to intramammary infection with Staphylococcus aureus*, Research in Veterinary Science, 69(2), 2000, s. 181-184.
  17. Gołąb J., Jakóбisiak M., *Mechanizmy rozpoznawania drobnoustrojów*, [w:] Gołąb J., Jakóбisiak M., Lasek W., Stokłosa T. (red.), *Immunologia*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2008, s. 78-93.
  18. Jakóбisiak M., *Immunologia*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2000, s. 169-193.
  19. Martin P., Barkema H.W., Brito L.F., Narayana S.G., Miglior F., *Symposium review: Novel strategies to genetically improve mastitis resistance in dairy cattle*, Journal of Dairy Science, 101(3), 2018, s. 2724-2736.
  20. Kuhn Ch., Bennewitz J., Reinsch N., Xu N., Thomsen H., Looft C., Brockmann G.A., Schwerin M., Weimann C., Hiendler S., Erhardt G., Medjugorac I., Forster M., Brenig B., Reinhardt F., Reents R., Russ I., Averdunk G., Blumel J., Kalm E., *Quantitative Trait Loci Mapping of Functional Traits in the German Holstein Cattle Population*, Journal of Dairy Science, 86, 2003, s. 360-368.
  21. Ashwell M.S., Heyen D.W., Sonstegard T.S., Van Tassell C.P., Da Y., VanRaden P.M., Ron M., Weller J.I., Lewin H.A., *Detection of Quantitative Trait Loci Affecting Milk*

- Production, Health, and Reproductive Traits in Holstein Cattle*, Journal of Dairy Science, 87, 2004, s. 468-475.
22. Lund M.S., Guldbandsen B., Buitenhuis A.J., Thomsen B., Bendixen C., *Detection of Quantitative Trait Loci in Danish Holstein Cattle Affecting Clinical Mastitis, Somatic Cell Score, Udder Conformation Traits and Assessment of Associated Effects on Milk Yield*, Journal of Dairy Science, 91, 2008, s. 4028-4036.
  23. Yang F., Chen F., Li L., Yan L., Badri T., Lv Ch., Yu D., Zhang M., Jang X., Li L., Yuan L., Wang G., Li H., Li J., Cai Y., *Three Novel Players: PTK2B, SYK, and TNFRSF21 Were Identified to Be Involved in the Regulation of Bovine Mastitis Susceptibility via GWAS and Post-transcriptional Analysis*, Frontiers in Immunology, 10, 2019, s. 45-52.
  24. Cai Z., Guldbandsen B., Lund M.S., Sahana G., *Prioritizing candidate genes post-GWAS using multiple sources of data for mastitis resistance in dairy cattle*, BMC Genomics, 19, 2018, s. 656- 667.
  25. Narayana S.G., de Jong E., Schenkel F.S., Fonseca P.A.S., Chud T.C.S., Powell D., Wachoski-Dark G., Ronksley P.E., Miglior F., Orsel K., Barkema H.W., *Underlying genetic architecture of resistance to mastitis in dairy cattle: A systematic review and gene prioritization analysis of genome-wide association studies*, Journal of Dairy Science, 106(1), 2023, s. 323-351.
  26. Cole J.B., Wiggans G.R., Ma L., Sonstegard T.S., Lawlor T.J., Crooker B.A., Van Tassell C.P., Yang J., Wang S., Matukumalli L.K., Da Y., *Genome-wide association analysis of thirty one production, health, reproduction and body conformation traits in contemporary U.S. Holstein cows*, BMS Genomics, 12, 2011, s. 408-425.
  27. Kurz J.P., Yang Z., Weiss R.B., Wilson D.J., Rood K.A., Liu G.E., Wang Z., *A genome-wide association study for mastitis resistance in phenotypically well-characterized Holstein dairy cattle using a selective genotyping approach*, Immunogenetics, 71, 2019, s. 35-47.
  28. Miles A.M., Huson H.J., *Time- and population-dependent genetic patterns underlie bovine milk somatic cell count*, Journal of Dairy Science, 103, 2020, s. 8292-8304.
  29. Wang, X., Ma, P., Liu, J., Zhang Q., Zhang Y., Ding X., Jiang L., Wang Y., Zhang Y., Sun D., Zhang S., Su G., Yu Y., *Genome-wide association study in Chinese Holstein cows reveal two candidate genes for somatic cell score as an indicator for mastitis susceptibility*, BMC Genetics 16, 2015, s. 111.
  30. <http://merops.sanger.ac.uk> [data dostępu: 3.01.2023].
  31. Żebrowska A., Bogdańska M., Waszczykowska E., *Metaloproteiny i adamaliny w patomechanizmie pemfigoidu*, Postępy Dermatologii i Alergologii, 22, 2005, s. 283-287.
  32. Haoyuan M., Yanshu L., *Structure, regulatory factors and cancer-related physiological effects of ADAM9*, Cell Adhesion & Migration, 14 (1), 2020, s. 165-181.
  33. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/> [data dostępu: 11.12.2022].
  34. Hsia H.E., Tüshaus J., Brummer T., Zheng Y., Scilabra S.D., Lichtenthaler S.F., *Functions of 'A disintegrin and metalloproteases (ADAMs)' in the mammalian nervous system*, Cellular and Molecular Life Sciences, 76, 2019, s. 3055-3081.
  35. Edwards D.R., Handsley M.M., Pennington C.J., *The ADAM metalloproteinases*, Molecular Aspects of Medicine, 29, 2008, s. 258-289.
  36. Van Wart H.E., Birkedal-Hansen H., *The cysteine switch: a principle of regulation of metalloproteinase activity with potential applicability to the entire matrix metalloproteinase gene family*, Proceedings of the National Academy of Sciences of U S A, 87(14), 1990, s. 5578-5582.
  37. Wong E., Maretzky T., Peleg Y., Blobel C.P., Sagi I., *The Functional Maturation of A Disintegrin and Metalloproteinase (ADAM) 9, 10, and 17 Requires Processing at a Newly Identified Proprotein Convertase (PC) Cleavage Site*, Cell Biology, 290(19), 2015, s. 12135-12146.

38. Anders A., Gilbert S., Garten W., Postina R., Fahrenholz F., *Regulation of the  $\alpha$ -secretase ADAM10 by its prodomain and proprotein convertases*, *FASEB Journal*, 15(10), 2001, s. 1837-1839
39. Takeda S., *ADAM and ADAMTS Family Proteins and Snake Venom Metalloproteinases: A Structural Overview*, *Toxins*, 8(5), 2016, s. 155.
40. Zabolewicz T., Brym P., Sitarz K., Oleński K., Bojarojć-Nosowicz B., Kamiński S., *Expression and polymorphism of ADAM32 gene and its association with somatic cell count in Holstein-Friesian cows*, *Animal Science Papers and Reports*, 35 (1), 2017, s. 5-15.
41. Giebeler N., Zigrino P., *A Disintegrin and Metalloprotease (ADAM): Historical Overview of Their Functions*, *Toxins*, 8(4), 2016, s. 122.
42. Mygind K.J., Schwarz J., Sahgal P., Ivaska J., Kveiborg M., *Loss of ADAM9 expression impairs  $\beta$ 1 integrin endocytosis, focal adhesion formation and cancer cell migration*, <https://journals.biologists.com/jcs/article/131/1/jcs205393/56759/Loss-of-ADAM9-expression-impairs-1-integrin> [data dostępu: 12.03.2023].
43. Matthews A.L., Noy P.J., Reyat J.S., Tomlinson M.G., *Regulation of A disintegrin and metalloproteinase (ADAM) family sheddases ADAM10 and ADAM17: The emerging role of tetraspanins and rhomboids*, *Platelets*, 28(4), 2017, s. 333-341.
44. Weber, S.; Saftig, P., *Ectodomain shedding and ADAMs in development*, *Development*, 139, 2012, s. 3693-3709.
45. Chou C., Huang Y., Kuo T., Liu J., Sher Y., *An overview of ADAM9: structure, activation and regulation in human diseases*, *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 2020, s. 7790-7812.
46. Mygind K.J., Störiko T., Freiberg M.L., Samsøe-Petersen J., Schwarz J., Andersen O.M., Kveiborg M., *Sorting nexin 9 (SNX9) regulates levels of the transmembrane ADAM9 at the cell surface*, *Journal of Biological Chemistry*, 293, 2018, s. 8077-8088.
47. Kleino I., Järviluoma A., Hepojoki J., Huovila A.P., Saksela K., *Preferred SH3 domain partners of ADAM metalloproteases include shared and ADAM-specific SH3 interactions*, <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0121301> [data dostępu: 06.03.2023].
48. Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium, Elsik C.G., Tellam R.L., Worley K.C., *The genome sequence of taurine cattle: a window to ruminant biology and evolution*, *Science*, 324, 2009, s. 522-528.
49. Sigrist C.J., Cerutti L., de Castro E., Langendijk-Genevaux P.S., Bulliard V., Bairoch A., Hulo N., *PROSITE, a protein domain database for functional characterization and annotation*, *Nucleic Acids Research*, 38, 2010, s. 161-166.
50. Lu J., Wu T., Zhang B., Liu S., Song W., Qiao J., Ruan H., *Types of nuclear localization signals and mechanisms of protein import into the nucleus*, <https://biosignaling.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12964-021-00741-y> [data dostępu: 6.03.2023].
51. Nguyen B.A., Pogoutse A., Provart N., Moses A.M., *NLStradamus: a simple Hidden Markov Model for nuclear localization signal prediction*, *BMC Bioinformatics*, 10, 2009, s. 202.
52. Xu D., Farmer A., Collett G., Grishin N.V., Chook Y.M., *Sequence and structural analyses of nuclear export signals in the NESdb database*, *Molecular Biology of the Cell*, 23(18), 2012, s. 3677-3693.
53. <https://www.ensembl.org> [data dostępu: 2.02.2023].
54. Roychaudhuri R., Hergrueter A.H., Polverino F., Laucho-Contreras M.E., Gupta K., Borregaard N., Owen C.A., *ADAM9 is a novel product of polymorphonuclear neutrophils: regulation of expression and contributions to extracellular matrix protein degradation during acute lung injury*, *Journal of Immunology*, 193(5), 2014, s. 2469-2482.

55. Amendola R.S., Martin A.C., Selistre-de-Araújo H.S., Paula-Neto H.A., Saldanha-Gama R., Barja-Fidalgo C., *ADAM9 disintegrin domain activates human neutrophils through an autocrine circuit involving integrins and CXCR2*, *Journal of Leukocyte Biology*, 97(5), 2015, s. 951-962.
56. Rinchai D., Kewcharoenwong C., Kessler B., Lertmemongkolchai G., Chaussabel D., *Increased abundance of ADAM9 transcripts in the blood is associated with tissue damage*, *F1000Research*, 4, 2015, s. 89.
57. Brym P., Kamiński S., *Microarray analysis of differential gene expression profiles in blood cells of naturally BLV-infected and uninfected Holstein-Friesian cows*, *Molecular Biology Reports*, 44(1), 2017, s. 109-127.
58. Shen G., Sun Q., Yao Y., Li S., Liu G., Yuan C., Li H., Xu Y., Wang H., *Role of ADAM9 and miR-126 in the development of abdominal aortic aneurysm*, *Atherosclerosis*, 297, 2020, s. 47-54.
59. Umeda M., Yoshida N., Hisada R., Tsokos G.C., *ADAM9 enhances Th17 cell differentiation and autoimmunity by activating TGF- $\beta$ 1*, <https://doi.org/10.1073/pnas.2023230118> [data dostępu: 15.02.2023].
60. English W.R., Siviter R.J., Hansen M., Murphy G., *ADAM9 is present at endothelial cell – cell junctions and regulates monocyte – endothelial transmigration*, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 493, 2017, s. 1057-1062.
61. English W.R., Corvol P., Murphy G., *LPS activates ADAM9 dependent shedding of ACE from endothelial cells*, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 421(1), 2012, s. 70-75.
62. Sammel M., Peters F., Lokau J., Scharfenberg F., Werny L., Linder S., Garbers C., Rose-John S., Becker-Pauly C., *Differences in Shedding of the Interleukin-11 Receptor by the Proteases ADAM9, ADAM10, ADAM17, Meprin  $\alpha$ , Meprin  $\beta$  and MT1-MMP*, *International Journal of Molecular Sciences*, 20(15), 2019, s. 3677.
63. Namba K., Nishio M., Mori K., Miyamoto N., Tsurudome M., Ito M., Kawano M., Uchida A., Ito Y., *Involvement of ADAM9 in Multinucleated Giant Cell Formation of Blood Monocytes*, *Cellular Immunology*, 213, 2001, s. 104-113.
64. Mauch C., Zamek J., Abety A.N., Grimberg G., Fox J.W., Zigrino P., *Accelerated wound repair in ADAM-9 knockout animals*, *Journal of Investigative Dermatology*, 130(8), 2010, s. 2120-2130.
65. Oria V.O., Lopatta P., Schilling O., *The pleiotropic roles of ADAM9 in the biology of solid tumors*, *Cellular and Molecular Life Sciences*, 75, 2018, s. 2291-2301.
66. Sanderson M.P., Dempsey P.J., Dunbar A.J., *Control of ErbB signaling through metalloprotease mediated ectodomain shedding of EGF-like factors*, *Growth Factors*, 24(2), 2006, s. 121-136.

## **ADAM9 jako gen kandydujący różnicujący sprawność odpowiedzi immunologicznej w przebiegu zapalenia gruczołu mlekowego u bydła**

### **Streszczenie**

Mastitis czyli zapalenie gruczołu sutkowego jest, mimo upływu lat i postępu nauki, ciągle najistotniejszym problemem w hodowli bydła mlecznego, powodującym znaczne straty ekonomiczne. Z uwagi na fakt, że konwencjonalne metody zmierzające do ograniczania częstości mastitis są długotrwałe, pracochłonne, kosztowne oraz nie przynoszą spodziewanych wyników, od wielu lat prowadzone są badania nad genetycznym uwarunkowaniem odporności/podatności na mastitis. Identyfikowane są rejony genomu bydła (tzw. QTL) wykazujące związek z liczbą komórek somatycznych w mleku będącą indykátorem stanu zapalnego. Kolejnym etapem jest wskazanie zlokalizowanych w tym rejonie genów, których produkty zaangażowane są bezpośrednio w proces zapalny. W niniejszej pracy dokonano przeglądu danych literaturowych oraz zaprezentowano wstępne wyniki analiz bioinformatycznych i molekularnych, które upoważniają do wskazania genu ADAM9, jako nowego genu kandydującego różnicującego sprawność odpowiedzi immunologicznej w gruczole mlecznym.

Wydaje się celowym podjęcie dalszych szczegółowych badań, identyfikujących ewentualne mutacje sprawcze, analizujących poziomy ekspresji ADAM9 w poszczególnych typach leukocytów i komórkach nabłonka wydzielniczego oraz wyjaśniających molekularne tło procesów biochemicznych w których zaangażowany jest ADAM9, a które prowadzą do stanu odporności lub podatności na infekcje gruczołu mlecznego.

Słowa kluczowe: zapalenie wymienia, krowa, ADAM9, układ odpornościowy

## **ADAM9 as a candidate gene differentiating the efficiency of the immune response in bovine mastitis**

### **Abstract**

Mastitis, or inflammation of the mammary gland, is still, despite years of scientific advances, the most significant problem in dairy farming, causing significant economic losses. Because conventional methods aimed at reducing the incidence of mastitis are lengthy, labour-intensive, costly, and do not produce the expected results, research into the genetic background of resistance/susceptibility to mastitis has been ongoing for many years. Regions of the bovine genome (known as QTLs) that show an association with the number of somatic cells in milk, which is an indicator of inflammation, are identified. The next step is to identify genes located in this region whose products are directly involved in the inflammatory process. In the present study, we review the literature data and present preliminary results of bioinformatics and molecular analyses that mandate the identification of the ADAM9 gene as a novel candidate gene that differentiates the efficiency of the immune response in the mammary gland. It seems advisable to undertake further detailed studies, identifying possible causative mutations, analyzing ADAM9 expression levels in specific types of leukocytes and mammary epithelial cells, and elucidating the molecular background of biochemical processes in which ADAM9 is involved and which lead to a state of immunity or susceptibility to mammary gland infections.

Keywords: mastitis, cow, ADAM9, immune system

## **Selen w żywieniu zwierząt przeżuwających – definicja, klasyfikacja, schemat działania, celowość stosowania, zalecenia, korzyści**

### **1. Wprowadzenie**

Zwierzęta przeżuwające to podrząd ssaków z rzędu Cetartiodactyla charakteryzujące się długimi kończynami czaszką z rogami lub porożem, a także gęstym futrem. Zwierzęta poligastryczne (przeżuwacze), na drodze ewolucji znacząco zmodyfikowały sposób pobierania i trawienia pokarmu roślinnego. W przeciwieństwie do zwierząt monogastrycznych, przeżuwacze posiadają żołądek wielokomorowy, ta wyjątkowa budowa przewodu pokarmowego oraz bytujące tam mikroorganizmy umożliwiają przeżuwaczom trawienie pasz wysoko włóknistych [1]. Dzięki temu organizm przeżuwacza jest w stanie pozyskać energię potrzebną do funkcjonowania jedynie z włókien roślinnych. Dodatkowo długie jelita pozwalają na stosunkowo intensywną ekspozycję cząstek roślinnych na trawienie enzymatyczne oraz wchłanianie gotowych substancji odżywczych [2].

Wskazane wcześniej modyfikacje przewodu pokarmowego przeżuwaczy są istotne z uwagi na efektywność procesu trawienia węglowodanów strukturalnych. Pierwsza komora żołądka przeżuwaczy – żwacz pełni funkcje wielkiej komory fermentacyjnej. W trakcie mikrobiologicznej fermentacji węglowodanów złożonych powstają lotne kwasy tłuszczowe, które wchłaniane są w żwaczu do organizmu gospodarza, pokrywając zapotrzebowanie energetyczne przeżuwacza nawet w 80% [2].

Dieta przeżuwaczy, mimo oczywistego przystosowania do trawienia roślin, powinna być możliwie urozmaicona, bazą powinny być wysokowłókniste pasze objętościowe z dodatkiem pasz treściwych (np. ziarna zbóż, nasiona roślin motylkowatych i oleistych), które stymulują rozwój kolejnych komór żołądka złożonego, oraz bezpośrednio wpływają na wskaźniki produkcyjne. Optymalne pH żwacza powinno wynosić między 5,5 a 6,8. Temperatura wewnątrz powinna plasować się w granicy 38 do 42°C [3].

Selen (Se, łac. *selenium*), odkryty na początku XIX wieku był początkowo uznawany za pierwiastek niebezpieczny, przyczyniający się do poważnych zatruc zwierząt hodowlanych, spożycie dużych ilości selenu jest toksyczne i może prowadzić do selenozy, która może objawiać się między innymi problemami układu kostno-stawowego. Jednakże, jak wykazano wiele lat później, selen jest niemetalem niezbędnym do prawidłowego funkcjonowania każdego żywego organizmu. Pierwiastek ten wchodząc w skład dwóch aminokwasów (selenometioniny oraz selenocysteiny) buduje białka, a co za tym idzie, stanowi kluczowy element całego metabolizmu komórkowego zwierzęcia, jednakże warto podkreślić, że spożycie dużych ilości selenu może powodować zatrucia i prowadzić do selenozy. Opisany składnik mineralny występuje w kilku odmianach alotropowych, cechuje go

---

<sup>1</sup> wiktoriachwalek185@gmail.com, Studenckie Koło Naukowe Żywienia Zwierząt, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy Wrocławiu, www.upwr.edu.pl.

<sup>2</sup> 113226@student.upwr.edu.pl, Studenckie Koło Naukowe Żywienia Zwierząt, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy Wrocławiu, www.upwr.edu.pl.



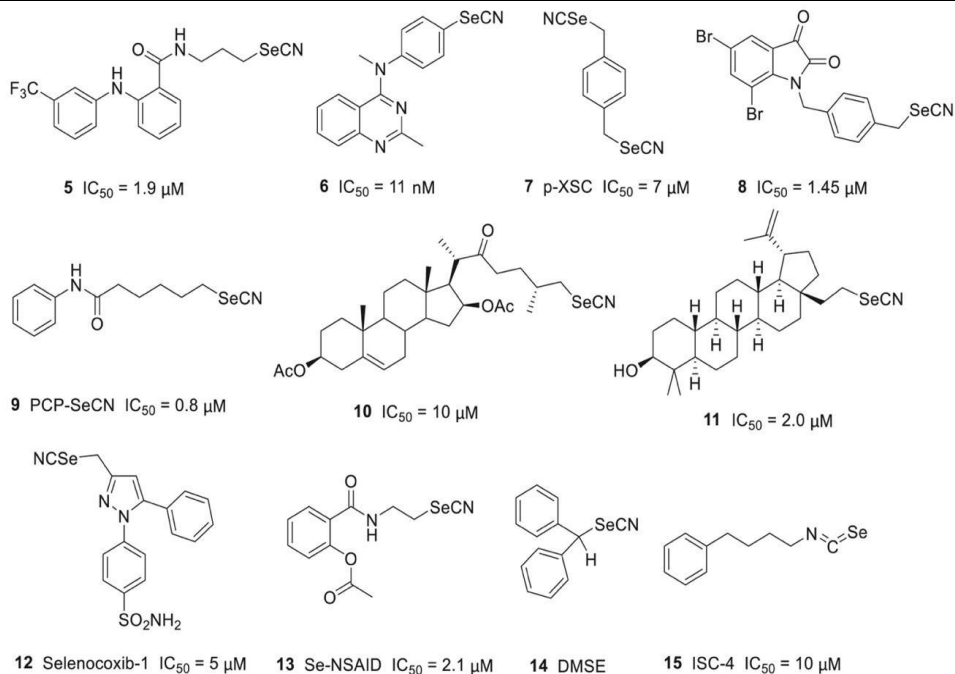
stały stan skupienia, bezwonność oraz szary lub czerwony kolor. W ciemności pierwiastek ten nabiera właściwości izolatora, natomiast pod wpływem światła przewodzi prąd [4, 5].

Selen stanowi składnik około 100 peptydów i białek (biokatalizatorów), które występują w organizmach ssaków. Do najbardziej istotnych związków należą te z rodziny reduktazy tioredoksyny (TRs), peroksydazy glutationowej (GPxs), jodotyroninowej deiodynazy (DIs), a także selenobiałko W (SeW) i selenobiałko P (SeP). Enzymy GPxs i TRs stanowią ochronę związków lipidowych, lipoproteinowych oraz samego DNA przed niepożądanymi reakcjami z nadtlenkami, które powstają podczas fizjologicznych procesów metabolicznych. DIs pełnią rolę kontrolera poziomu hormonów tarczycy. SeP biorą udział w transportowaniu selenu, natomiast SeW bierze udział w reakcjach antyoksydacyjnych, szczególnie tych zachodzących w mięśniach. Dodatkowo SeW bierze udział w regulacji gospodarki metabolicznej wapnia. W związku z powyższym, selen jest składową białek warunkujących procesy antyoksydacyjne, immunologiczne, a także endokrynologiczne i w efekcie może regulować procesy zapalne powstające w organizmie [6]. Peroksydaza glutationowa, w zależności od rodzaju, oddziałuje na kilka układów w organizmie: GPX-1 (cytozolowy), GPX-2 (specyficzny dla przewodu pokarmowego), GPX-3 (osocze/środowisko zewnątrzkomórkowe), GPX-4 (wodoronadtlenki fosfolipidów/środowisko wewnątrzkomórkowe) i GPX-5 (plemniki w torebce mitochondrialnej) [7].

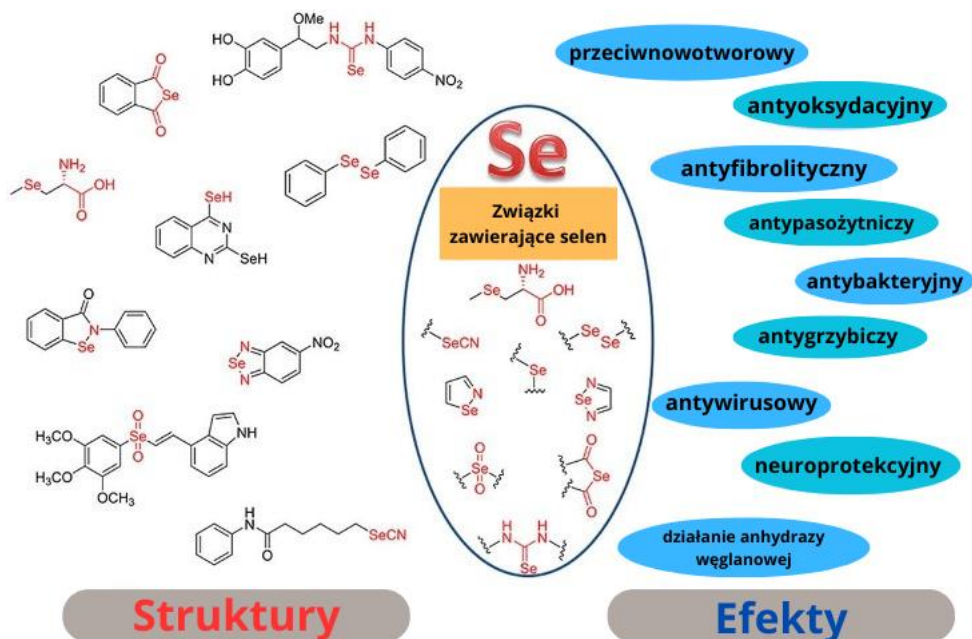
Selenoproteiny działając enzymatycznie mogą wpływać na gospodarkę hormonalną tarczycy, regulować wzrost, rozwój oraz różnicowanie komórek. Dodatkowo, pozwalają zachować odpowiednią kurczliwość układu sercowo-naczyniowego. Dzięki tym działaniom zachowana jest wysoka odporność organizmu [8].

Selen w zależności od środowiska tworzy wiele różnych związków. Każdy z nich ma swoje unikatowe funkcje wynikające z budowy chemicznej. Przykłady takich struktur przedstawiono na rysunku 1. Jak omówiono wcześniej konfiguracje połączeń selenu i innych drobin pozwalają na homeostazę wielu procesów metabolicznych w organizmie. Istotne we wspomnianych związkach są ich czynne elementy biorące udział w poszczególnych szlakach reakcyjnych co przedstawia rysunek 2. W zależności od konfiguracji związków selenu ich wpływ na organizmy żywe będzie zróżnicowany. Do sztandarowych należą: działanie antyoksydacyjne, działanie antyfungicydowe, antywirusowe, antybakteryjne i antypasożytnicze. Dodatkowo selen w wymienionych związkach warunkuje prawidłowe funkcjonowanie układu nerwowego i metabolizmu składników pokarmowych [8].

*Selen w żywieniu zwierząt przeżuwających –  
definicja, klasyfikacja, schemat działania, celowość stosowania, zalecenia, korzyści*



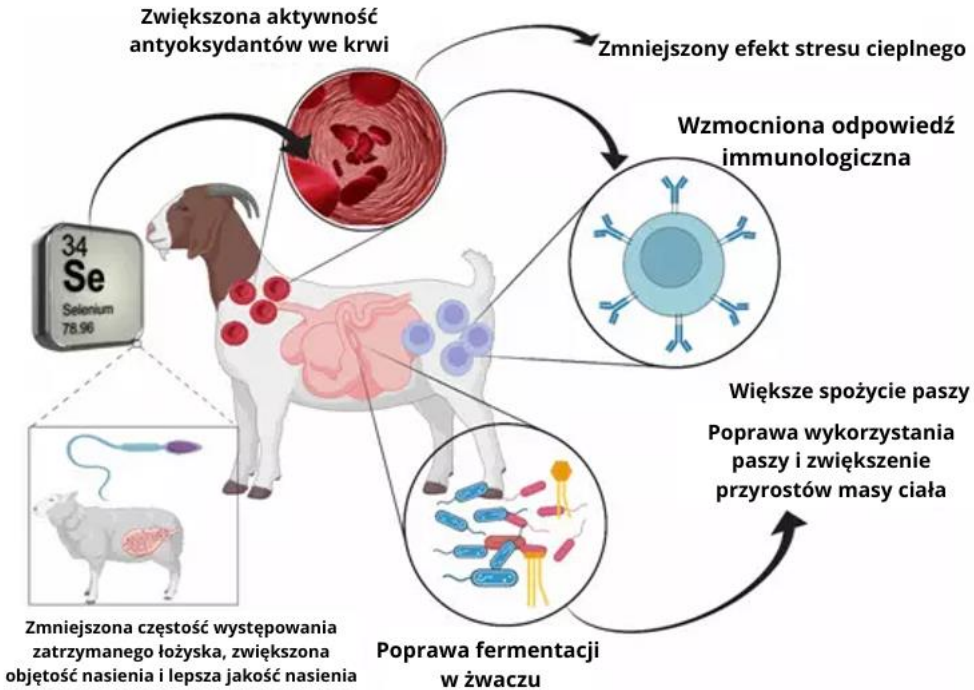
Rysunek 1. Budowa chemiczna przykładowych związków selenu [8]



Rysunek 2. Przykłady działania związków selenu w organizmach żywych [8]

## 2. Selen w żywieniu zwierząt przeżuwających

Pozytywny wpływ selenu na organizm przeżuwacza docelowo powinien przełożyć się na wysoką wydajność produkcyjną zwierzęcia. Schemat zależności związków selenu z produktywnością przeżuwacza przedstawia rysunek 3. Selen poprzez działanie antyoksydacyjne oraz ograniczające negatywny wpływ drobnoustrojów chorobotwórczych na organizm zwierząt przekłada się na poprawę warunków dobrostanowych. Dodatkowo zmniejszenie ryzyka wystąpienia patologii fizjologicznych spowodowanych stresem cieplnym, chorobami oraz upośledzonym funkcjonowaniem mikrobiomu przewodu pokarmowego korzystnie wpływa na dobrostan przeżuwacza oraz jego wysoką użytkowość produkcyjną polegającą na uzyskiwaniu od zwierzęcia mleka oraz mięsa [9].



Rysunek 3. Schemat działania selenu oraz mikroorganizmów na efektywność produkcyjną organizmu przeżuwacza [9]

Jednym z kluczowych aspektów użytkowości przeżuwaczy jest rozród, który należy utrzymać na wysokim poziomie celem zachowania odpowiednich parametrów stada w kontekście ewentualnych remontów. Niedobór selenu może skutkować zaburzeniami rozrodu u przeżuwaczy. Pierwiastki przeciwutleniające, takie jak selen, są kluczowymi składnikami mineralnymi mogącymi wspomóc reprodukcję przeżuwaczy. Działanie takich pierwiastków udokumentowano poprzez udział mechanizmu przeciwutleniania w procesie spermatogenezy, utrzymaniu odpowiednio wysokiej żywotności plemników nawet po zamrożeniu, prawidłowym zachowaniu struktur takich jak chromatyny czy błony komórek. Doustna aplikacja pierwiastków o działaniu przeciwutleniającym powodowała zwiększenie ruchliwości i żywotności plemników, objętości nasienia, jego koncentracji oraz funkcjonalności błony komórkowej. Dodatkowo wykazano spadek nieprawidłowości morfologicznych plemników [10].

Dla bydła selen jest szczególnie ważnym mikroelementem, ponieważ pośrednio warunkuje prawidłowe procesy rozrodcze, które w hodowli tych zwierząt są kluczowe. Zarówno dla bydła mlecznego jak i mięsnego konieczne jest utrzymanie wysokich wskaźników rozrodczych takich jak: wskaźnik zapłodnień, wskaźnik wycieleń, długość okresu międzywycieleniowego czy odsetek poronień. Fizjologicznie selen niezbędny jest u bydła do prawidłowego metabolizmu komórkowego i replikacji DNA. Dodatkowo selenocysteina hamuje powstawanie wolnych rodników i dzięki temu zmniejsza ryzyko uszkodzeń tkanek [7].

Ograniczenie epizodów stresu cieplnego u krów koreluje ze zmniejszeniem poronień, martwych urodzeń, nieprawidłowości okołoporodowych. Dodatkowo niedobór selenu może prowadzić do patologii w fuzji plemników i komórek jajowych, co uniemożliwi powstanie zygoty. Zaradzić temu można poprzez zastosowanie suplementacji tego pierwiastka w paszy lub podanie okresowe soli selenu [7].

Selen można zastosować również jako nośnik ułatwiający wprowadzenia innych pierwiastków do organizmu. Dzięki temu można bezpośrednio przetransportować pożądane związki chemiczne do docelowych miejsc i uzyskać korzyści zdrowotne. Wykazano poprawę funkcji fermentacyjnych żwacza przy pomocy suplementacji selenu zastosowanego jako wektor dla nanocząstek witaminowych [10]. Konieczne są jednak dalsze badania w celu wprowadzenia takiego mechanizmu do codziennej praktyki.

Zalecana suplementacja selenu wynosi  $0,3 \text{ mg} \times \text{kg}^{-1}$  suchej masy (SM) dawki pokarmowej dla bydła. Taka ilość została wyliczona na podstawie tzw. statusu selenowego, oceny koncentracji selenu w surowicy krwi, osoczu bądź na podstawie aktywności peroksydazy glutationowej w erytrocytach. Wskaźnik ten powinien wynosić od 0,07 do 0,10  $\text{mg} \times \text{ml}^{-1}$  dla dorosłych osobników. W przypadku cieląt w okresie okołoporodowym od 0,05 do 0,08  $\text{mg}$ . W sytuacji wykrycia stężenia poniżej 0,04  $\text{mg}$  świadczy to o bardzo dużym niedoborze tego składnika w organizmie. Dzięki suplementacji selenem można obniżyć ryzyko zapalenia macicy nawet o 70%, torbielowatości jajników o 40%, incydentów zatrzymania błon płodowych nawet do 0%. Dodatkowo udowodniono ujemną korelację prawidłowego stężenia selenu w organizmie krowy mlecznej z częstotliwością wystąpienia mastitis oraz ze wzrostem liczby komórek somatycznych w mleku [6].

Suplementacja selenu w zalecanych ilościach nie oddziałuje negatywnie na pozostałe składniki mineralne i elektrolity w organizmach przeżuwaczy. Warto więc zwrócić szczególną uwagę na uzupełnienie tego składnika w diecie. Pozwoli to na ograniczenie patologii związanych z rozrodem oraz wpłynie pozytywnie na ogólną odporność organizmu. Dodatkowo wykazano, że spożycie większej ilości selenu nie wpływało negatywnie na absorpcję i mechanizm działania innych niezbędnych minerałów. W efekcie suplementacja selenem może poprawić produkcję mleka oraz pozwoli osiągnąć zadowalające parametry tego surowca [11].

Zastosowanie suplementacji selenem u przeżuwaczy wskazane jest również w okresie ciąży, ponieważ zapotrzebowanie na ten element wzrasta z uwagi na wzrost i rozwój płodu. Dostarczenie zwierzętom przeżuwającym mikroelementów w postaci suplementów selenu o powolnym uwalnianiu istotnie podnosi stężenie tego składnika we krwi a jednocześnie nie wpływa negatywnie na odsetek cięż, urodzonych młodych, występowanie bliźniąt. Na przykładzie owiec udowodniono, że podczas zwiększania w diecie selenu nie występowały skorelowane z tym działaniem kliniczne objawy choroby białych mięśni (osłabienie mięśnia sercowego oraz mięśni szkieletowych). Dodatkowo zanotowano

zwiększoną produkcję mleka u owiec otrzymujących suplement selenowo-kobaltowy. Stosowanie selenu w konfiguracji z kobaltem może okazać się kluczowe w podnoszeniu efektywności produkcji mlecznej zwierząt przeżuwających z uwagi na liczne doniesienia mówiące o realnym działaniu takiej kombinacji. Wykazano znacząco niższy poziom tłuszczu w mleku od zwierząt otrzymujących dodatkową porcję tych mikroelementów w codziennej diecie. Jednocześnie odsetek białka w badanym mleku i stężenie witaminy B<sub>12</sub> wzrósł, co wskazuje na zasadność dalszych prac nad tymi zależnościami, ponieważ konsument przywiązuje dziś dużą wagę do tych wartości sięgając po produkty mleczne [12].

Wielu badaczy obawiało się zaburzenia wchłaniania innych pierwiastków istotnych dla funkcjonowania przeżuwacza podczas suplementacji większej ilości selenu. Wykazano, że eksperymentalne traktowanie selenem organizmu owcy poprzez podanie bolusa drogą oralną nie miało wpływu na stężenie cynku, żelaza, aktywność fosfokinazy kreatynowej czy kinazy kreatynowej. Nie wykazano również wpływu na stężenia trijodotyroniny i tyroksyny w surowicy, natomiast stosunek tyroksyny do trijodotyroniny był znacznie niższy w przypadku owiec otrzymujących selen i selen-kobalt niż u innych owiec [12].

Podczas synchronizacji rui suplementacja selenem notuje się wzrost stężenie tego pierwiastka oraz witaminy B<sub>12</sub> w okresie okołoporodowym oraz dodatkowo zwiększoną produkcję mleka i zawartości w nim białka [12].

Badacze zwracają uwagę na istotność stanu fizjologicznego zwierzęcia, u którego dokonuje się pomiarów stężeń poszczególnych mikro i makroelementów, ponieważ nawet liczba młodych w miocie będzie korelowała ze zmianą poziomów poszczególnych pierwiastków na skutek zmian fizjologicznych zachodzących w organizmie zwierzęcia. Wszystkie kluczowe metabolity monitorowane podczas kontroli dobrostanu na przykładzie kóz różniły się w zależności od liczby młodych oraz etapu ich rozwoju [13].

Na podstawie takich elementów profilu metabolicznego jak stężenie glukozy, cholesterol całkowity, trójglicerydy, białko całkowite, mocznik, kreatynina w przypadku mlecznej rasy kóz można określić stan zdrowia zwierzęcia. Zaobserwowano również istotne korelacje między sodem, chlorem, magnezem i potasem a różnym rozkładem płynów w ciele i etapem okołoporodowym. Dane te pokazują istotność monitorowania poszczególnych części w ciele zwierząt celem zachowania pełni ich dobrostanu oraz osiągnięciu jak najwyższego poziomu rozrodczości wśród przeżuwaczy [13].

Naukowcy w swoich badaniach często stosują bolusy jako wektory do dystrybucji poszczególnych elementów mających znaleźć się w ciele badanego zwierzęcia. Przy istotności samej suplementacji selenem biorąc pod uwagę bardzo wiele składowych wpływających na poziom tej cząsteczki w osoczu przeżuwacza sprawdza się też zasadność stosowania bolusów. Na szczególną uwagę zasługują te o warunkujące powolne uwalnianie substancji. W przypadku doświadczenia przeprowadzonego na owcach z zastosowaniem bolusa o wydłużonym uwalnianiu wykazano, że masa urodzeniowa, masa ciała jagniąt w wieku dwóch miesięcy, średni przyrost dzienny, produkcja mleka, zawartość tłuszczu w mleku, zawartość białka w mleku, zawartość suchej masy beztłuszczowej w mleku oraz stężenie selenu w mleku były wyższe w grupach otrzymujących selen niż w grupach bez suplementacji. Dodatkowo naukowcy wykazali, że ilość wdrożonego do diety selenu może przekładać się bezpośrednio na produkcję mleka u tych przeżuwaczy. W przypadku zwierząt otrzymujących 0,4 mg selenu dziennie produkcja mleka była wyższa niż tych otrzymujących 0,2 mg selenu dziennie [14].

Na podstawie przeprowadzonych analiz badacze zalecają stosowanie 0,40 mg selenu na dzień u macierek ze względu na wyższą produkcję mleka [14].

Badacze wykazują zasadność stosowania bolusów selenu wraz z towarzyszącymi drobinami. Najczęściej stosuje się kombinację selenu i kobaltu oraz selenu i cynku. Na podstawie analizy suplementacji bolusem selen-cynk o długim uwalnianiu u owiec wykazano, że bez znaczenia czy wykorzystamy specjalistyczny bolus czy też użyjemy soli tych cząsteczek obie metody powodują wzrost stężenia w osoczu oraz zwiększenie aktywność enzymów peroksydazy glutationowej i dysmutazy ponadtlenkowej. Dodatkowo obie metody zwiększają stężenie cynku i selenu w sianie i mleku co pozwala na podniesienie dobrostanu zarówno matek jak i młodych [15].

Wykazano, że suplementacja związku selen-cynk zwiększa ilość hemoglobiny i liczbę krwinek czerwonych u owiec w porównaniu ze zwierzętami, u których nie stosuje się takiego dodatku do diety. Wzrastała też aktywność peroksydazy glutationowej. Co istotne, suplementacja 20 mg cynku i 0,2 mg selenu dziennie powoduje wzrost masy ciała jagniąt. Suplementacja cynku i selenu zwiększyła stężenie tych pierwiastków w osoczu i aktywność enzymów antyoksydacyjnych u owiec i ich jagniąt oraz poprawia wydolność wzrostową jagniąt. Warto podkreślić łatwość stosowania bolusów, co przekłada się na ich większą użyteczność w dużym stadzie przeżuwaczy [15].

Kolejnym stosunkowo często stosowanym bolusem jest zawierający selen i jod o powolnym uwalnianiu. Wykorzystuje się tego typu preparaty przed samym porodem. Produkcja mleka, procentowa zawartość tłuszczu w mleku, stężenie selenu i jodu w mleku były wyższe u kóz otrzymujących 0,25 mg selenu na dzień niż u kóz bez suplementacji selenem. Produkcja mleka, produkcja dobowa składników mleka, stężenie jodu w mleku, stężenia hormonów tarczycy w surowicy u kóz otrzymujących 0,40 mg jodu na dzień były większe niż u kóz, które nie otrzymywały suplementu. Pokazuje to, że chcąc podnieść efektywność produkcji mlecznej kóz warto suplementować selen oraz jod jednocześnie [16].

Jednocześnie badacze udowadniają, że tak jak w przypadku owiec masa ciała młodych kóz oraz ich średni dzienny przyrost również są wyższe w przypadku stosowania suplementacji selenem [16].

Istotną kwestią jest korelacja pomiędzy stężeniem selenu w surowicy, a występowaniem patologii prowadzących do jednostek chorobowych, takich jak stany zapalne wymion i narządów rozrodczych oraz zaburzenia układu immunologicznego. Na podstawie badania na materiale pochodzącym od bydła i z zastosowaniem absorpcji atomowej spektrofotometrii (AAS) oceniono ilość selenu. W zależności od płci zwierząt, obszaru geograficznego z którego pochodziły, stanu fizjologicznego, poziomu produkcji i systemu żywienia oceniono, że niedobór selenu podnosi ryzyko zachorowania na mastitis. Ryzyko pojawienia się stanu zapalnego wymienia może wystąpić nawet u połowy posiadanego stada bydła. W zależności od rasy odsetek ten może być nieznacznie niższy lub znacząco wyższy [17].

### **3. Podsumowanie**

Gatunek bydła ma realne znaczenie przy ocenie ryzyka niedoborów poszczególnych składników w diecie, łącznie z selenem. To samo dotyczy intensywności produkcji gospodarstwa. W przypadku bardzo wysokiej produkcji i niedoborze selenu ryzyko zachorowania na mastitis jest dużo wyższe niż w przypadku niskiej produkcji. Można więc powiedzieć, że poziom selenu jest powiązany ze zdrowiem wymion i układu rozrodczego.

Przeżuwacze hodowane w celu uzyskania mleka przy wysokiej produkcji oraz nieotrzymujące dodatkowej dawki koncentratu zawierającego selen są bardziej zagrożone na choroby wymion, stany zapalne i ogólne zaburzenie homeostazy układu rozrodczego. Dodatkowo wykazano, że samce są bardziej zagrożone konsekwencjami niedoboru selenu niż samice [17].

Naukowcy rekomendują suplementację selenem u zwierząt użytkowanych intensywnie w kierunku mlecznym. Donosi się, że prawie połowa badanych zwierząt miała niedobór selenu. Są to bardzo niepokojące dane, ponieważ ukazują skalę potencjalnego problemu z wydajnością mleczną przeżuwaczy. Jednocześnie jest to informacja wskazująca na konieczność edukowania hodowców w kwestii pozytywnego wpływu suplementacji selenem na poziom wydolności ich gospodarstwa i otrzymywanych zysków ekonomicznych przy zachowaniu odpowiednio wysokiego poziomu dobrostanu zwierząt [17].

Selen to pierwiastek śladowy, ale jego rola w zachowaniu zdrowia i wysokiej produkcji przeżuwaczy jest kluczowa. Ten silny katalizator działa synergistycznie z wieloma innymi składnikami, jednak to z witaminą E jest kojarzony najczęściej z uwagi na działanie antyoksydacyjne obu. Zarówno selen jak i witamina E są niezbędne dla integralności i optymalnego funkcjonowania układu rozrodczego, mięśniowego, krążenia, nerwowego, odpornościowego. W przypadku bydła wystąpienie spadku płodności, patologii łożyska, stanów zapalnych wymion oraz macicy prowadzi bezpośrednio do strat ekonomicznych dla hodowcy [18].

Tak jak w przypadku każdej drobinie w diecie, stosowanie selenu w zwiększonym stężeniu może mieć pewne negatywne skutki dla organizmu zwierzęcia. Wykazano, że selen w połączeniu z dietą bogatą w azotany, siarczany, wapń czy cyjanowodór zawarte w koniczynie, czy nasionach lnu może wpłynąć negatywnie na organizm zwierzęcia przy stosowaniu suplementacji tego pierwiastka. Należy więc, pamiętając o efektach jakie hodowca chce osiągnąć, przyłożyć wagę do każdego z elementów diety przeżuwacza tak, aby osiągnąć zamierzony efekt nie zaburzając dobrostanu zwierzęcia [18].

Z uwagi na ogromny udział produktów mlecznych oraz mięsa w sektorze spożywczym istotnym wydaje się zachowanie równowagi w hodowli przeżuwaczy oraz zadbanie o ich dobrostan i wysoką jakość uzyskiwanych produktów odzwierzęcych [11, 12].

## Literatura

1. Cichocki W., Ważna A., Cichocki J., Rajska-Jurgiel E., Jasiński A., Bogdanowicz W., *Polskie nazewnictwo ssaków świata*, PAN, 2015, s. 169-186.
2. Perez J., Barberia F., *The ruminant: Life history and digestive physiology of a symbiotic animal*, BRIEFSAPPLSCIENCES, 2020, s. 19-45.
3. Olivuera S., Santos A.C.P., Valenca L., *Desenvolvimento e fisiologia do trato digestivo de ruminantes*, Ciencia Animal, 29, 3, 2019, s. 114-132.
4. Klecha B., Bukowska B., *Selen w organizmie człowieka - charakterystyka pierwiastka i potencjalne zastosowanie terapeutyczne*, BROMAT. CHEM. TOKSYKOL., 4, 2016, s. 818-829.
5. Starowicz M., *Tlenowce (Se, Te, Po, Lv)*, AGH Podręczniki, 2022.
6. Niwińska B., Andrzejewski M., *Selen – niezbędny pierwiastek w żywieniu bydła*, przegląd hodowlany, 2, 2014.
7. Wiedosari E., Sani Y., *The Role of Selenium in Controlling Reproductive Disorder in Beef Cattle*, WARTAZOA Indonesian Bulletin of Animal and Veterinary Sciences, 32, 1, 2022.
8. Chuai H., Zhang S., Bai J., Li J., Wang Y., Sun J., Wen E., Zhang J., Xin M., *Small molecule selenium-containing compounds: Recent development and therapeutic applications*, European Journal of Medicinal Chemistry, 223, 2021, s. 113621.

9. Amin A.B., Audu R., Ibrahim A.A., Dalha M., Aleem M.T., Abdullahi A.I., *Selenium Supplementation Efficacy in Small Ruminants: A Review*, IJAS, 12, 4, 2022, s. 633-645.
10. Abdelnour S.A., Alagawany M., Haszem N.M., Farag M.R., Alghamdi E.S., Hassan F.U., Bilal R.M., Elnesr S.S., Dawood M.A.O., Nagadi S.A., Elwan H.A.M., Almasoudi A.G., Attia Y.A., *Nanominerals: Fabrication Methods, Benefits and Hazards, and Their Applications in Ruminants with Special Reference to Selenium and Zinc Nanoparticles*, Animals, 11, 7, 2021, s. 1916.
11. Silva D.C., Codognoto V.M., Piagentini M., Dantas A., Sousa G.C., Silva L.S., Souza E.R., Almeida R.A., Denadai R., Obá E., *Evaluation of biochemical and electrolytic components of semen from ram supplemented with different concentrations of selenium and its correlation with sperm quality*, Veterinary Medicine and Technology and Inspection of Animal Products, Arq. Bras. Med. Vet. Zootec, 74, 06, 2022.
12. Dalvand M., Azarfar A., Fadayifar A., Tehrani A.M., *The effect of slow-release selenium and cobalt bolus on milk production and composition, reproductive performance and some blood parameters of Lari Bakhtiari's ewes*, Journal of ruminant research, 10, 4, 2023, s. 71-88.
13. Cappai M.G., Liesegang A., Dimauro C., Mossa F., Pinna W., *Circulating electrolytes in the bloodstream of transition Sarda goats make the difference in body fluid distribution between single vs. twin gestation*, Res Vet Sci, 123, 2019, s. 84-90.
14. Imani M., Aliarabi H., Alipour D., Fadayifar A., *Influence of different levels of selenium as a slow release bolus pre-mating on Áeperformance and some blood metabolites of Lori Bakhtiari ewes*, Iranian Journal of animal Science, 51, 1, 2020, s. 69-79.
15. Khorrami Z., Aliarabi H., Farahavar A., Fadayifar A., *The effect of slow-release bolus of zinc and selenium or daily feeding of salts of these elements on the performance of pregnant ewes and their lambs*, Research on Animal Production, 12, 31, 2021, s. 77-89.
16. Rashnoo M., Rahmati Z., Azarfar A., Fadayifar A., *The effects of maternal supplementation of selenium and iodine via slow-release blouses in late pregnancy on milk production of goats and performance of their kids*, Italian Journal of Animal Science, 19, 1, 2020.
17. Prince K., Khan M.S., Ijaz M., Anjum A.A., Ali M.A., Khan J.A., Ahmad N., Ahmed R., Mushtaq A., Umar S., Chang Y., *Dynamics of Selenium Deficiency in Bovines in District Kasur, Punjab, Pakistan*, Pakistan J. Zool., 50, 2, 2018, s. 611-617.
18. Sapkota D., *Selenium and vitamin e deficiency in animals*, The Blue Cross, 16, 2020, s. 75-79.

## **Selen w żywieniu zwierząt przeżuwających – definicja, klasyfikacja, schemat działania, celowość stosowania, zalecenia, korzyści**

### Streszczenie

Selen, wchodzi w skład różnych związków chemicznych. Ten istotny pierwiastek jest niezbędny do prawidłowego funkcjonowania żywego organizmu, jednakże w dużych stężeniach może okazać się toksyczny. Zachowanie dobrostanu żywieniowego zwierząt produkcyjnych, w tym przeżuwaczy, warunkuje ich odpowiednią użyteczność. W badaniach naukowych wykazano wpływ selenu na procesy antyoksydacyjne, immunostymulujące oraz znaczny wpływ na układ rozrodczy. Niedobór selenu wpływa na obniżenie zdrowotności zwierząt, wzrost ryzyka zaburzeń płodności oraz chorób gruczołu mlekowego, co bezpośrednio przekłada się na aspekty ekonomiczne chowu bydła. Przyswajalność oraz działanie związków selenu jest zróżnicowane. Szczególnie interesujący jest selen w formie aminokwasowej, który jako składnik enzymów przejmuje ważne zadania w przemieszczaniu materii gruczołów tarczycy, w jajnikach i w łożysku. Uzupełnianie selenu w diecie przeżuwacza, pozwala kompleksowo zadbać o odpowiednie odżywianie zwierzęcia, wzrost i rozwój organizmu, warunkowanie prawidłowej odporności na wszelkiego rodzaju patogeny oraz wpływ na aspekty reprodukcyjne przeżuwacza.

Słowa kluczowe: selen, żywienie zwierząt, zwierzęta przeżuwające, suplementacja, rozród



## **Selenium in the nutrition of ruminant animals – definition, classification, scheme of action, purposefulness of use, recommendations, benefits**

### Abstract

Selenium is a component of various chemical compounds. This important element is necessary for the proper functioning of a living organism, however, in high concentrations it may turn out to be toxic. Maintaining the nutritional welfare of production animals, including ruminants, determines their proper use. Scientific studies have shown the effect of selenium on antioxidant and immunostimulating processes and a significant effect on the reproductive system. Selenium deficiency reduces the health of animals, increases the risk of fertility disorders and diseases of the mammary gland, which directly translates into the economic aspects of cattle breeding. The bioavailability and effect of selenium compounds is varied. Of particular interest is selenium in the amino acid form, which as an enzyme component takes over important tasks in the metabolism of the thyroid glands, ovaries and placenta. Supplementing selenium in a ruminant's diet allows comprehensive care for proper nutrition of the animal, growth and development of the body, conditioning proper resistance to all kinds of pathogens and affecting the reproductive aspects of the ruminant.

Keywords: selenium, animal nutrition, ruminant animals, supplementation, reproduction

## Zastosowanie wodorostów w żywieniu przeżuwaczy w celu zmniejszenia emisji metanu

### 1. Wstęp

W temacie globalnego ocieplenia i związanego z tym wzrostu emisji gazów cieplarnianych, również metanu, pierwszym powodem jest przemysł oraz hodowla zwierząt przeżuwających. Produkcja zwierzęca odpowiada za jedną trzecią globalnej, antropogenicznej emisji metanu, podobnie jak produkcja paliw [1]. W ostatnich 60 latach wzrosła liczba zwierząt przeżuwających utrzymywanych w celu produkcji żywności [2]. W związku z tym poziom żywienia i produkowanego obornika oraz emisja metanu wzrosła o ponad 51% [3]. Produkcję gazów cieplarnianych przez zwierzęta przeżuwające przedstawiają dane zawarte w tabeli 1.

Tabela 1. Emisja gazów cieplarnianych przez krowy

Wyszczególnienie	Wartość
CH <sub>4</sub> z procesów trawiennych (kg/s/a)	92,500
CH <sub>4</sub> z odchodów (kg/s/a)	19,600
CH <sub>4</sub> z odchodów (%)	17,000
NH <sub>3</sub> (kg/s/a)	39,800
N <sub>2</sub> O (kg/s/a)	0,700
NO <sub>x</sub> (kg/s/a)	0,100
CH <sub>4</sub> razem (kg/s/a)	112,100
Dzienna emisja CH <sub>4</sub> (kg/s/d)	0,307

Źródło: opracowanie własne na podstawie [4]. s – stanowisko, a – rok (365 dni), d – dzień.

Według danych naukowych, polskie rolnictwo stanowi około 8% ogólnej krajowej emisji gazów cieplarnianych. W roku 2017 w Polsce emisje gazów cieplarnianych związane z fermentacją w układach trawiennych przeżuwaczy, takich jak krowy, stanowiły ponad 40% całkowitej emisji z sektora rolnictwa. Dodatkowo, emisje związane z gospodarką odchodami zwierzęcymi w tym samym roku stanowiły około 12,5% emisji z produkcji rolnej, co łącznie wynosiło 52,5% [2].

Według raportu IPCC (*Intergovernmental Panel on Climate Change*), czyli Międzypaństwowego Panelu ds. Zmian Klimatu, metan (CH<sub>4</sub>) jest silnym gazem cieplarnianym o potencjale globalnego ocieplenia (GWP) 28 razy większym niż dwutlenek węgla (CO<sub>2</sub>). Oznacza to, że metan 28 razy bardziej przyczynia się do globalnego ocieplenia niż dwutlenek węgla [5]. Ograniczenie emisji metanu pochodzącego od przeżuwaczy jest zatem ważną strategią ograniczania emisji gazów cieplarnianych z sektora hodowlanego.

Jednym z elementów strategii ograniczania emisji metanu z produkcji zwierzęcej jest dobrze zbilansowana dieta, odpowiednie spożycie energii, jakość stosowanych pasz,

<sup>1</sup> 121512@student.upwr.edu.pl, Katedra Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu.

<sup>2</sup> martyna.wilk@upwr.edu.pl, Katedra Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu.

stosunek pasz objętościowych do pasz treściwych. Dodatkowo coraz częściej zwraca się uwagę na suplementację diety określonymi dodatkami paszowymi, takimi jak drożdże czy olejki eteryczne oraz związkami biologicznie czynnymi m.in.: polifenole, taniny lub oleje bogate w długłańcuchowe kwasy tłuszczowe, które przyczyniają się do zmniejszenia emisji metanu przez zwierzęta przeżuwające [6-9].

Jednym z alternatywnych surowców stosowanych w diecie zwierząt przeżuwających są wodorosty, które posiadają szereg korzystnych właściwości wpływających na zmniejszenie intensywności procesu metanogenezy.

## 2. Produkcja gazów fermentacyjnych w przewodzie pokarmowym zwierząt

Gazy fermentacyjne powstające w przewodzie pokarmowym uwalniane są z organizmu zwierząt na trzy różne sposoby. Pierwszym z nich jest odruch odbijania, który towarzyszy przeżuwaczom podczas procesu pobierania pokarmu. Dodatkowo metan jest uwalniany również z gazami jelitowymi w wyniku trawienia pokarmu. Ostatnim procesem jest usunięcie metanu z organizmu zwierzęcia wraz z odchodami poprzez związki, które nie zostały strawione.

Proces metanogenezy u przeżuwaczy odbywa się w żwaczu, obecne tam mikroorganizmy z rodzaju *Methanobrevibacter sp.* i *Methanosarcina sp.* wytwarzają metan jako produkt uboczny fermentacji celulozy i innych związków organicznych [10].

Elementy fermentacji żwaczowej [10]:

1. Produkcja lotnych kwasów tłuszczowych (LKT): Kwas octowy, kwas masłowy i kwas propionowy są produkowane podczas fermentacji przez bakterie z rodzaju *Prevotella*, *Bacteroides* i *Ruminococcus*. Lotne kwasy tłuszczowe są ważnym źródłem energii dla zwierząt przeżuwających.
2. Wytwarzanie wodoru: Podczas fermentacji w żwaczu powstaje również wodór.
3. Metanogeneza: Archeany z rodzaju *Methanobrevibacter* i *Methanosarcina* wykorzystują wodór oraz dwutlenek węgla do produkcji metanu.

## 3. Wodorosty jako dodatek paszowy

Wodorosty są bogate w składniki pokarmowe takie jak białka, węglowodany i związki mineralne, co sprawia, że stają się potencjalnym surowcem paszowym dla zwierząt gospodarskich. Dodatkowo, wodorosty mogą przyczynić się do poprawy jakości żywienia zwierząt [11].

Wodorosty jako surowiec włączony do diety zwierząt przeżuwających może zmniejszyć emisję metanu przyczyniając się do poprawy wskaźników środowiskowych produkcji zwierzęcej. Dokładny mechanizm redukcji emisji metanu nie jest w pełni zrozumiały, ale uważa się, że jest on związany z wpływem na szlak przenoszenia wodoru niezbędnego w procesie metanogenezy. W dostępnych badaniach naukowych oceniono liczne gatunki wodorostów oraz ich wpływ na emisję CH<sub>4</sub> i profil fermentacji żwaczowej, w tym workoliść członowatą (*Ascophyllum nodosum*), listownicę palczastą (*Laminaria digitata*), ulwę sałatową (*Ulva lactuca*). Dawka wodorostów wymagana do zmniejszenia emisji metanu przez zwierzęta przeżuwające jest zróżnicowana i zależy m.in. od gatunku wodorostów [12].

W ostatnich lat zauważalny jest wzrost zainteresowania czerwonymi makroalgami *Asparagopsis taxiformis* jako potencjalne źródło zmniejszenia emisji produkowanego metanu przez zwierzęta przeżuwające. Stefenoni i wsp. [13] ocenili wpływ *Asparagopsis taxiformis* na emisję metanu, fermentację w żwaczu i wydajność laktacyjną krów mlecz-

nych. Uzyskane wyniki wskazują, że włączenie makroalg do dawki pokarmowej w okresie laktacji ma potencjał do redukcji dziennej emisji CH<sub>4</sub> z jelit u krów.

Oprócz wpływu na poziom emisji metanu, dodatek wodorostów w diecie przeżuwaczy zwiększa produkcję lotnych kwasów tłuszczowych w żwaczu – głównego źródła energii dla zwierząt [14]. Wykazano również, że wodorosty podwyższają pH żwacza, co wpływa na zmiany w mikroflorze bakteryjnej żwacza i może mieć pozytywny wpływ na zdrowie zwierząt i wykorzystanie składników odżywczych (białka i skrobi) oraz zmniejszenie emisji metanu przez zwierzęta [15, 16].

### **3.1. Wpływ wodorostów na przyrosty masy ciała**

Waite i wsp. [17] ocenili wpływ dodatku dwóch gatunków wodorostów – *Ascophyllum nodosum* i *Fucus vesiculosus*, na przyrosty masy ciała, skład chemiczny produktów zwierzęcych (mięsa i mleka) oraz wydajność mleczną krów. Wyniki badań wskazują na poprawę przyrostów masy ciała oraz składu produktów zwierzęcych pozyskanych od zwierząt otrzymujących wodorosty w ilości 0,25% suchej masy dawki, a także na wzrost wydajności mlecznej w początkowym okresie laktacji [17].

Badania Hymes-Fecht i wsp. [18] również oceniały wpływ wodorostów (*Laminaria digitata*), w dawce 20 g/kg suchej masy dawki pokarmowej, na przyrosty masy ciała i wydajność mleczną bydła mlecznego. Podobnie jak w badaniach Waite i wsp. [17] wyniki przeprowadzonych badań sugerowały, że dodatek wodorostów może pozytywnie wpłynąć na przyrosty masy ciała oraz poprawę jakości mleka [18].

### **3.2. Zmiany smakowitości mięsa i mleka**

Wodorosty w swoim składzie zawierają związki fenolowe, kwasy tłuszczowe i karotenoidy, które mogą wpłynąć na zmianę cech organoleptycznych np. smak mięsa i mleka. Na przykład, niektóre wodorosty, takie jak algi z gatunku *Ascophyllum nodosum*, zawierają mannitol, który może wpłynąć na zmianę cech mięsa i mleka, nadając im słodki smak [19]. Inne wodorosty, takie jak *Enteromorpha intestinalis*, zawierają kwas hialuronowy, który może wpłynąć na konsystencję i strukturę mięsa [20]. Kwas hialuronowy posiada zdolność wiązania wody, co może poprawić zdolność zatrzymania wilgoci w mięsie i zapobiegać utracie płynów w trakcie obróbki termicznej. Jednakże, warto podkreślić, że wpływ wodorostów na smak mięsa i mleka może zależeć od gatunku wodorostów i ich dawki stosowanej w diecie zwierząt.

### **3.3. Wpływ dodatku wodorostów do diety bydła mlecznego na jakość mleka**

Badania Nudda i wsp. [21] wskazują, że żywienie krów wodorostami może również wpłynąć na skład chemiczny mleka m.in. na zawartość poszczególnych kwasów tłuszczowych i białka [21]. Gao i wsp. [22] wykazali, że dodanie wodorostów z gatunku *Sargassum thunbergii* do dawki pokarmowej bydła mlecznego zwiększyło zawartość kwasów tłuszczowych omega-3 w mleku [22]. Również AbuGhazaleh i wsp. [23] przeprowadzili badanie z wykorzystaniem wodorostów z gatunku *Ascophyllum nodosum* w diecie bydła mlecznego. Autorzy wykazali, że dodatek tych wodorostów zwiększył zawartość kwasów tłuszczowych omega-3 i omega-6 w mleku [23]. Podobnie, Lee i wsp. [24] przeprowadzili badanie z udziałem bydła mlecznego, z wykorzystaniem wodorostów z gatunku *Ecklonia cava*. Wyniki badań również potwierdzają korzystny wpływ dodatku tych wodorostów na zawartość kwasów tłuszczowych, szczególnie omega-3 i zmniejszenie zawartości kwasów tłuszczowych omega-6 w mleku [24].

Z drugiej strony, heptachlor obecny m.in. w wodorostach z rodzaju *Fucus* może niekorzystnie wpływać na jakość mleka krów, powodując zmniejszenie zawartości tłuszczu i białka oraz zwiększenie poziomu niepożądanych związków, takich jak dioksyny i PCB (polichlorowane bifenyly) [25]. Związki PCB mogą gromadzić się w tkance tłuszczowej zwierząt, skarmianych dawką pokarmową z udziałem wodorostów, wywołując tym samym szereg negatywnych skutków zdrowotnych, takich jak problemy z układem hormonalnym, układem odpornościowym i nerwowym, a także zwiększenie ryzyka chorób nowotworowych zarówno u ludzi jak i u zwierząt [26].

#### 4. Negatywne aspekty dodatku wodorostów do dawki pokarmowej

1. Nadmierna podaż jodu – Niektóre gatunki wodorostów, takie jak morskoczyn pęcherzykowaty (*Fucus vesiculosus*) i kelp (*Laminaria* spp.), zawierają duże ilości jodu, który jest niezbędny dla prawidłowego funkcjonowania tarczycy [21]. Jednakże, nadmierna ilość jodu w diecie zwierząt może doprowadzić do nadczynności tarczycy, a to może spowodować różne problemy zdrowotne. Nadmierna podaż wodorostów może powodować utrudnione trawienie i wchłanianie składników pokarmowych ze względu na obecność wodorotlenków i polisacharydów.
2. Nadmiar innych składników mineralnych – wodorosty mogą zawierać różne składniki mineralne, takie jak sód, chlor, potas, magnez, wapń, miedź, żelazo i cynk. Jednakże, przekroczenie limitów zawartości tych składników w diecie zwierząt może prowadzić do zaburzeń metabolicznych [27].
3. Obecność zanieczyszczeń – wodorosty mogą być narażone na zanieczyszczenia, takie jak metale ciężkie, pestycydy i inne substancje chemiczne, które mogą przenikać z wody do tkanek roślinnych. Stosowanie zanieczyszczonych wodorostów w żywieniu zwierząt może prowadzić do negatywnych skutków zdrowotnych [28].
4. Nieodpowiedni skład chemiczny – niektóre gatunki wodorostów mogą zawierać związki chemiczne, takie jak polisacharydy, taniny i flawonoidy, które mogą wpływać na trawienie i wchłanianie składników pokarmowych, co może prowadzić do zaburzeń metabolicznych [29].
5. Badania wykazują, że długotrwała ekspozycja na PCB obecne w niektórych gatunkach wodorostów może prowadzić do zaburzeń hormonalnych, immunologicznych i metabolicznych u przeżuwaczy [30-34]. Dodatkowo, może to powodować zaburzenia wchłaniania składników odżywczych z pokarmu, zmniejszenie wydajności mlecznej i zaburzenia w rozrodzie. Ponadto, podobnie jak u ludzi, PCB mogą zwiększać ryzyko wystąpienia chorób nowotworowych u przeżuwaczy [35].
6. Badania wykazują, że długotrwała ekspozycja na heptachlor obecny w niektórych gatunkach wodorostów może prowadzić do szeregu negatywnych skutków zdrowotnych u przeżuwaczy, takich jak uszkodzenie wątroby, nerek i układu nerwowego, zaburzenia hormonalne, problemy z układem odpornościowym i trawieniem, a także zwiększenie ryzyka chorób nowotworowych [36].

#### 5. Podsumowanie

Potencjalne zastosowanie wodorostów w żywieniu zwierząt przeżuwających może być przyszłością rolnictwa, szczególnie w krajach z rozbudowanym systemem upraw wodorostów. Jednakże potrzebne są dalsze badania, aby w pełni zrozumieć wpływ wodorostów na fizjologię żywienia przeżuwaczy i środowisko naturalne. Wykorzystanie wodorostów w żywieniu przeżuwaczy stanowi obiecującą drogę do zmniejszenia wpływu

przemysłu hodowlanego na środowisko przy jednoczesnej poprawie zdrowia i wydajności zwierząt. Wykorzystanie wodorostów jako surowca lub dodatku paszowego może potencjalnie zmniejszyć emisje metanu pochodzące z hodowli przeżuwaczy, a tym samym ograniczyć emisje gazów cieplarnianych i poprawić aspekty środowiskowe hodowli zwierząt. Istnieją jednak pewne wyzwania związane z wykorzystaniem wodorostów w żywieniu przeżuwaczy. Wodorosty mogą zawierać duże ilości jodu, który w nadmiarze może być toksyczny dla zwierząt. W związku z tym konieczne jest określenie poziomu dawkowania różnymi gatunkami wodorostów. Liczne badania nad wpływem wodorostów na zdrowie i wydajność krów mlecznych i bydła mięsnego koncentrują się na określeniu optymalnych ilości wodorostów dodawanych do diety zwierząt. Podczas konstruowania dawki pokarmowej z udziałem wodorostów zaleca się ostrożność i stosowanie ich w umiarkowanych ilościach, ponieważ zbyt duża ilość wodorostów może prowadzić do problemów zdrowotnych.

## Literatura

1. Saunio M., Stavert A.R., Poulter B., Bousquet P., Canadell J.G., Jackson R.B., Raymond P.A., Dlugokencky E.J., Houweling S., Patra P.K., Ciais P., Arora V.K., Bastviken D., Bergamaschi P., Blake D.R., Brailsford G., Bruhwiler L., Carlson K.M., Carrol M., Castaldi S., Chandra N., Crevoisier C., Crill P.M., Covey K., Curry C.L., Etiope G., Frankenberg C., Gedney N., Hegglin M.I., Höglund-Isaksson L., Hugelius G., Ishizawa M., Ito A., Janssens-Maenhout G., Jensen K.M., Joos F., Kleinen T., Krummel P.B., Langenfelds R.L., Laruelle G.G., Liu L., Machida T., Maksyutov S., McDonald K.C., McNorton J., Miller P.A., Melton J.R., Morino I., Müller J., Murguia-Flores F., Naik V., Niwa Y., Noce S., O'Doherty S., Parker R.J., Peng C., Peng S., Peters G.P., Prigent C., Prinn R., Ramonet M., Regnier P., Riley W.J., Rosentreter J.A., Segers A., Simpson I.J., Shi H., Smith S.J., Steele L.P., Thornton B.F., Tian H., Tohjima Y., Tubiello F.N., Tsuruta A., Viovy N., Voulgarakis A., Weber T.S., van Weele M., van der Werf G.R., Weiss R.F., Worthy D., Wunch D., Yin Y., Yoshida Y., Zhang W., Zhang Z., Zhao Y., Zheng B., Zhu Q., Zhu Q., Zhuang Q., *The global methane budget 2000–2017*, Earth Syst Sci Data, 12, 2020, s. 1561-1623.
2. Ajena F., Becheva S., Benning R., Birke P., Chemnitz Ch., Dewitz I., Fesenfeld L.P., Grethe H., Hoinkes C., Holdinghausen H., Howard P., Karaczun Z., Lang S., Luckmann J., Müller B., Polotzek L., Reinsch T., Sadura P., Sharma S., Sowula-Skrzyńska E., Spiller A., Tostado L., Watanabe M., Wenz K., Wichmann S., Wójcik P., Wunder S., Zühlsdorf A., Zwolińska J., *Atlas mięsa – fakty i dane na temat zwierząt, które zjadamy*, 2022.
3. FAOSTAT, *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, [www.fao.org/aostat/en](http://www.fao.org/aostat/en), [data dostępu: 28.03.2023].
4. Dämmgen U., Haenel H.D., Rösemann C., Conrad J., Lüttich M., Döhler H., Eurich-Menden B., Laubach P., Müller-Lindenlauf M., Osterburg B., *Emissions from German Agriculture - National Emission Inventory Report (NIR) 2009 for 2007 – Structure and improvements*, Landbauforschung vTI Agriculture and Forestry Research, Special Issue, Sonderhe, 2009, 324, s. 1-415.
5. Stocker T.F., Qin D., Plattner G.K., Tignor M., Allen S.K., Boschung J., Nauels A., Xia Y., Bex V., Midgley P.M., *Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*, [w:] Stocker T.F., Qin D., Plattner G.K., Tignor M., Allen S.K., Boschung J., Nauels A., Xia Y., Bex V., Midgley P.M., *IPCC: Climate Change 2013: The Physical Science Basis*, Cambridge University Press, 2013, s. 1535, DOI: 10.1017/CBO9781107415324.

6. Lila Z.A., Mohammed N., Kanda S., Kamada T., Itabashi H., *Effect of sarsaponin on ruminal fermentation with particular reference to methane production in vitro*, Journal of Dairy Science, 86, 2003, s. 330-336.
7. Jordan E., Lovett D.K., Hawkins M., Callan J., O'Mara F.P., *The effect of varying levels of coconut oil on intake, digestibility and methane output from continental cross beef heifers*, Animal Science, 82, s. 859-865.
8. De Oliveira S.G., Berchielli T.T., Dos Santos Pedreira M., Primavesi O., Frighetti R., Lima M.A., *Effect of tannin levels in sorghum silage and concentrate supplementation on apparent digestibility and methane emission in beef cattle*, Animal Feed Science and Technology 135, 2007, s. 236-248.
9. Kamra D.N., Patra A.K., Chatterjee P.N., Kumar R., Agarwal N., Chaudhary L.C., *Effect of plant extracts on methanogenesis and microbial profile of the rumen of buffalo: a brief overview*, Australian Journal of Experimental Agriculture, 48(2), 2008, s. 175.  
DOI:10.1071/ea07268.
10. Ungerfeld E.M., *Shifts in metabolic hydrogen sinks in the methanogenesis-inhibited ruminal fermentation: a meta-analysis*, Frontiers in microbiology, 2015, s. 6, 37.
11. Mulcahy E., O'Beirne D., Hollywood L., *Seaweed as a protein source for mono-gastric livestock: a review*, PeerJ, 6, 2018, e4719.
12. Hristov A.N., Oh J.H., Lee C., Meinen R.A., Montes F., Ott T., Firkins J., Rotz A., Waghorn J., Lassey K., Uwizeye J., Johnson S., Hutchings K., Kreuzer M., Soliva B., Eugène A., Nozière G., Popova D., Martin J., Bayat A.J., Tricarico A.J., *Mitigation of greenhouse gas emissions in livestock production—A review of technical options for non-CO2 emissions*, Livestock Science, 149(1-2), 2013, s. 19-29.
13. Stefenoni H.A., Räisänen S.E., Cueva S.F., Wasson D.E., Lage C.F.A, Melgar A., Fetter M.E., Smith P., Hennessy M., Vecchiarelli B., Bender J., Pitta D., Cantrell C.L., Yarish C., Hristov A.N. *Effects of the macroalga Asparagopsis taxiformis and oregano leaves on methane emission, rumen fermentation, and lactational performance of dairy cows*, J. Dairy Sci., 104, 2020, s. 4157-4173.
14. Machado L., Magnusson M., Paul N.A., de Nys R., *Seaweed as a feed supplement for ruminants: A review*, Journal of Animal Science and Biotechnology, 8(1), 2017, s. 26.
15. Lila R.Z., Malik Z., Singh R.P., Kamal B., Arunachalam K.G., *Effect of brown seaweed (Ascophyllum nodosum) on in vitro rumen fermentation characteristics, methane production and bacterial diversity*, Journal of Applied Phycology, vol. 29, no. 4, 2017, s. 2189-2196, DOI: 10.1007/s10811-017-1089-6.
16. Kong Y., Teather R., Forster R., *Seaweed supplementation of grazing dairy cows: effects on milk production, methane emissions, and animal health*, Journal of animal science, 89(7), 2011, s. 2410-2418.
17. Waite M.E., Beede D.K., Nonnecke B.J., McGilliard M.L., *Effect of seaweed extract supplementation in dairy cow feed on milk production and metabolic parameters in periparturient Holstein cows*, Animal Feed Science and Technology, 206, 2015, s. 25-35.
18. Hymes-Fecht U.C., Beede D.K., McGilliard M.L., Holcombe D.H., *Seaweed extract supplementation in dairy cow feed alters plasma and milk metabolomic profiles and increases milk iodine concentration*, Journal of Dairy Science, 101(6), 2018, s. 5136-5150.
19. Sunwoo I., Kwon J.E., Jeong G.T., Kim S.K., *Optimization of hyper-thermal acid hydrolysis and enzymatic saccharification of Ascophyllum nodosum for ethanol production with mannitol-adapted yeasts*, Bioprocess and biosystems engineering, 42, 2019, s. 1255-1262.
20. Mulcahy E., O'Beirne D., Hollywood L., *Seaweed as a protein source for mono-gastric livestock: a review*, PeerJ, 6, 2018, e4719.
21. Nudda A., Battacone G., Estellé J., Sitzia M., Palomba M., Rasso S.P.G., Roncada M.T., Boe F., Decandia, M., *Seaweed supplementation in diets of lactating dairy goats: effects*

- on milk yield, milk composition, and metabolic parameters*, Journal of animal science, 95(5), 2017, s. 2115-2126.
22. Gao S., Li C., Zhu L., Zhang Y., Zhang W., Song S., Liu H., Xu X., Qi H., *Effects of dietary supplementation of seaweed (Sargassum thunbergii) on the performance, egg quality, and fatty acid composition of laying hens*, Journal of Applied Phycology, 29(4), 2017, s. 2141-2149.
  23. AbuGhazaleh A.A., Nielsen S.G., Wiking L., *Seaweed as a protein source for mono-gastric farm animals*, Journal of Animal Science, 92(3), 2014, s. 1316-1323.
  24. Lee S.H., Kang B.H., Kim Y.C., Kim K.H., Kwon O.S., Cho W.T., Kim J.S., Park K.K., Hong S.K., Kim S.K., *Effect of dietary supplementation of Ecklonia cava on milk production, milk composition and methane emission in early lactating dairy cows*, Journal of Applied Phycology, 29(4), 2017, s. 2141-2149.
  25. Silva M.C., Oliveira L.M.R., Marques M.R.C., Araújo W.F., Jardim A.N.O., Torres J.P.M., *Organochlorine pesticides in bovine milk and feed from a tropical region of Brazil*, Environmental research, 96(2), 2004, s. 171-178.
  26. Liu H., Yu X., Sun Y., Wang Y., *Chlorinated organic compounds in seaweed: a review*, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 59(18), 2019, s. 2944-2957, DOI: 10.1080/10408398.2018.1472223.
  27. Pérez-Gil Romo G.G., Gutiérrez-Gutiérrez C.A., Olivares-Pérez J., Ku-Vera J.C., Burgos-Ornelas R., *Marine algae as sources of minerals in livestock nutrition*, Tropical Animal Health and Production, 51(3), 2019, s. 515-522.
  28. Akbari H.A., Norouzian M.A., Khomeiri M., Wang C., *Seaweed and seaweed-derived compounds for potential management of animal health and production*, Journal of Animal Science and Biotechnology, 7(1), 2016, s. 15.
  29. Loureiro D., Henry M., O'Kiely P., Hynes D.N., *The potential of seaweed as a source of functional ingredients: An overview*, Foods, 7(9), 2018, s. 167.
  30. Malinowska M., Szefer P., *Polychlorinated biphenyls (PCBs) and their impact on livestock health*, Environmental Science and Pollution Research, 26(8), 2019, s. 7019-7030.
  31. Oliveira L.J., Koba Y.T., Kikuchi A., *Polychlorinated biphenyls (PCBs) in dairy cows: Levels, congeners, and potential health risks*, Chemosphere, 2018, s. 197, 303-312.
  32. Xu M., Zhang J., Wu Y., *Polychlorinated biphenyls in dairy cow diets: Occurrence, bioaccumulation, and human exposure*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 67(13), 2019, s. 3648-3655.
  33. Zheng N., Wang J., Zhou X., Feng J., *Dietary exposure of lactating cows to polychlorinated biphenyls (PCBs) and the impact on milk quality and human health risk in China*, Environmental Science and Pollution Research, 27(23), 2020, s. 28955-28963.
  34. Khodaei M., Malekpouri P., Shahraki A.D., *A review of the effects of polychlorinated biphenyls (PCBs) on bovine health*, Journal of Environmental Science and Health, Part C, 36(1), 2018, s. 39-58.
  35. Mitra S., Ghosh A., Chattopadhyay A., Ganguly A., Ghosh A., Dutta A., Mukherjee A., Bhattacharya B.K., Mukhopadhyay S.K., *Polychlorinated biphenyls (PCBs) in food-producing animals and potential impacts on human and animal health: a review of recent studies*, Environmental Science and Pollution Research 27, no. 19, 2020, s. 23317-23331.
  36. Roncada A., Stacchini L., Leone G., Bergonzi R., Cavalli S., Abete M.C., *Organochlorine Pesticides and Polychlorinated Biphenyls in Bovine Tissues from an Industrial Area*, Environmental Pollution, 112(1), 2001, s. 33-40.



## **Zastosowanie wodorostów w żywieniu przeżuwaczy w celu zmniejszenia emisji metanu**

### **Streszczenie**

Przeżuwacze, spośród wszystkich zwierząt gospodarskich, produkują największą ilość metanu uwalnianą do atmosfery. Gaz ten powstaje m.in. w wyniku fermentacji żwaczowej, uwalniany jest z przewodu pokarmowego bydła poprzez odruch odbijania, w gazach fermentacyjnych oraz w mniejszym stopniu wraz z odchodami. Wodorosty posiadają wysoką zdolność wiązania metali ciężkich. Zarówno wodorosty jak i ich ekstrakty zawierają różnorodne związki bioaktywne, które mogą wpływać na procesy fermentacyjne w żwaczu.

W ramach prezentowanej pracy przeprowadzono ocenę stanu wiedzy nt. wpływu wodorostów na produkcję zwierząt przeżuwających i procesy metanogenezy w środowisku żwacza. Liczne badania potwierdzają korzystny wpływ dodatku wodorostów w diecie przeżuwaczy na redukcję poziomu metanogenezy. Ponadto dodatek wodorostów przyczynia się do poprawy wykorzystania paszy u rosnącego bydła mięsnego, co potencjalnie obniża koszty produkcji wołowiny. Bioaktywne metabolity, związki mineralne oraz nienasycone kwasy tłuszczowe pochodzące z wodorostów wpływają na poprawę zdrowia zwierząt.

Wykorzystanie wodorostów w żywieniu przeżuwaczy może pozytywnie wpłynąć na redukcję emisji jednego z głównych gazów cieplarnianych, co przedłoży się na poprawę klimatu.

Słowa kluczowe: wodorosty, przeżuwacze, metan, globalne ocieplenie, metanogeneza

## **The use of seaweed in feeding ruminants to reduce methane emissions**

### **Abstract**

Ruminants, of all livestock, produce the largest amount of methane released into the atmosphere. This gas is formed, among others, as a result of intestinal fermentation, it is released from the digestive tract of cattle through the belching reflex, in fermentation gases and, to a lesser extent, with faeces. Seaweed has a high capacity to bind heavy metals. Both seaweed and its extracts contain a variety of bioactive compounds that can affect fermentation processes in the rumen.

As part of the presented work, an assessment of the state of knowledge on the impact of seaweed on the production of ruminants methanogenesis processes in the rumen environment was carried out. Numerous studies confirm the beneficial effect of the addition of seaweed in the diet of ruminants on the reduction of the level of methanogenesis. In addition, the addition of seaweed contributes to improved feed conversion in growing beef cattle, potentially reducing the cost of beef production. Bioactive metabolites, minerals and unsaturated fatty acids derived from seaweed improve animal health.

The use of seaweed in feeding ruminants can positively affect the reduction of emissions of one of the main greenhouse gases, which will contribute to improving the climate.

Keywords: seaweed, ruminants, methane, global warming, methanogenesis

# Postbiotyki w żywieniu psów i kotów

## 1. Wstęp

W ciągu ostatnich lat dużo uwagi poświęca się związkowi między odpowiednim żywieniem, a zdrowiem zwierząt. Wraz ze wzrostem zainteresowania tym tematem, pojawiło się wiele badań naukowych skupiających się na wpływie prebiotyków, probiotyków, synbiotyków i postbiotyków na układ pokarmowy i ogólny stan zdrowia zwierząt.

Prebiotyki to związki, które nie ulegają trawieniu w przewodzie pokarmowym zwierząt, natomiast pobudzają wzrost i aktywność korzystnych bakterii jelitowych, co bezpośrednio wpływa na zdrowie i funkcjonowanie układu trawiennego [1].

Probiotyki to żywe mikroorganizmy, które wprowadzane są do przewodu pokarmowego w celu poprawy równowagi flory bakteryjnej jelit. Probiotyki, takie jak *Lactobacillus* i *Bifidobacterium* mogą pomóc w zmniejszeniu stresu, poprawie trawienia i wzmocnieniu układu odpornościowego [1].

Synbiotyki to kombinacja prebiotyków i probiotyków, które razem mają pozytywny wpływ na poprawę zdrowia jelit i ogólnego stanu zdrowia zwierząt [1].

Postbiotyki to produkty metaboliczne probiotyków, które są wytwarzane w trakcie fermentacji w przewodzie pokarmowym. W przeciwieństwie do probiotyków, postbiotyki nie zawierają żywych mikroorganizmów, ale wykazują pozytywny wpływ na zdrowie jelit i odporność [2].

W poniższej pracy omówiono działanie probiotyków, prebiotyków i synbiotyków, oraz skupiono się na przedstawieniu charakterystyki postbiotyków, opisując ich wpływ na zdrowie i funkcjonowanie układu trawiennego. Celem pracy jest podsumowanie dotychczasowych badań oraz omówienie perspektyw wykorzystania postbiotyków w żywieniu zwierząt, zarówno gospodarskich, jak i domowych.

## 2. Probiotyki, prebiotyki, synbiotyki i postbiotyki

Probiotyki, prebiotyki, synbiotyki i postbiotyki to różne rodzaje preparatów, które są stosowane w celu poprawy funkcjonowania układu pokarmowego i polepszenia ogólnego zdrowia organizmu. Sposób działania wymienionych preparatów jest zróżnicowany, jednak wszystkie mają wspólny cel – wspieranie prawidłowego mikrobiomu jelitowego i układu odpornościowego [1].

### 2.1. Probiotyki

Probiotyki to substancje, które nie są trawione przez organizm, ale wykorzystywane są jako pożywka przez pozytywne bakterie jelitowe, selektywnie pobudzając ich wzrost i/lub aktywność. Prebiotyki wpływają na skład i funkcję mikrobiomu jelitowego, co

---

<sup>1</sup> 121527@student.upwr.edu.pl, Studenckie Koło Naukowe Żywienia Zwierząt, Katedra Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu.

<sup>2</sup> martyna.wilk@upwr.edu.pl, Katedra Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu.

<sup>3</sup> jerzy.pastuszek@biodose.net, BioDose Sp. z o. o. Sp. k., 60-453 Poznań, Polska.

pozytywnie wpływa na zdrowie i trawienie gospodarza. Probiotyki posiadają zróżnicowaną strukturę chemiczną, mogą to być związki takie jak węglowodany, polifenole czy tłuszcze.

W żywieniu zwierząt gospodarskich i towarzyszących, probiotyki są dodawane do diety w celu poprawy strawności, wzmocnienia odporności oraz zmniejszenia ryzyka chorób jelitowych i wystąpienia innych problemów zdrowotnych. Przykładowymi probiotykami stosowanymi w żywieniu zwierząt są fruktooligosacharydy (FOS), inulina, galaktooligosacharydy (GOS) i mannoooligosacharydy (MOS).

Liczne badania potwierdzają korzystny wpływ probiotyków na skład mikroflory jelitowej, widoczny przede wszystkim w liczbie i różnorodności korzystnych bakterii jelitowych. Dodatek probiotyków do pasz może również poprawić strawność i wchłanianie składników pokarmowych [3].

## 2.2. Probiotyki

Probiotyki to żywe mikroorganizmy, przede wszystkim bakterie kwasu mlekowego (*Lactobacillus spp.*), które wprowadzane są do organizmu, aby wspierać prawidłowy mikrobiom jelit i poprawiać trawienie. Probiotyk może mieć w swym składzie również szczepy drożdży (*Saccharomyces spp.*) lub też bakterie kwasu mlekowego z wyselekcjonowanymi szczepami drożdżowymi.

Probiotyki są zazwyczaj żywe i aktywne w chwili spożycia i muszą być przechowywane w sposób umożliwiający zachowanie ich aktywności. Podawane systematycznie, w odpowiednich ilościach przynoszą korzyści zdrowotne gospodarzowi np. poprawiają czas pasażu jelitowego, wspomagają odporność, zmniejszają częstotliwość występowania stanów zapalnych, ale także chronią przed alergiami pokarmowymi. Z uwagi na działanie probiotyków w kierunku zmniejszenia antybiotykooporności ważną jest ich suplementacja przy antybiotykoterapii [4, 5].

Liczne badania wykazały, że zastosowanie probiotyków w żywieniu zwierząt może mieć wiele korzystnych efektów, w tym poprawę składu mikroflory jelitowej, zmniejszenie ryzyka chorób jelitowych i innych problemów zdrowotnych, zwiększenie wchłaniania składników odżywczych i poprawę wydajności produkcyjnej zwierząt. W badaniu przeprowadzonym na psach z przewlekłą biegunką wykazano, że dodatek probiotyków do karmy poprawił skład mikrobiomu jelitowego i zmniejszył częstotliwość występowania biegunek [6, 7].

Bakterie probiotyczne są dobrze poznane i często stosowane zarówno w żywieniu ludzi jak i zwierząt. Probiotyki mogą wpłynąć na układ odpornościowy, trawienie oraz absorpcję składników odżywczych.

Poniżej wymieniono kilka przykładów stosowanych probiotyków w żywieniu zwierząt:

1. *Lactobacillus acidophilus* – probiotyk z rodzaju *Lactobacillus*, który pozytywnie wpływa na układ odpornościowy, trawienie i wchłanianie składników odżywczych, a także na redukcję ryzyka wystąpienia chorób jelitowych [8];
2. *Bifidobacterium animalis* – probiotyk z rodzaju *Bifidobacterium*, który wykazuje właściwości przeciwzapalne, wpływa na poprawę trawienia i wchłaniania składników odżywczych oraz na redukcję stresu oksydacyjnego [9];
3. *Enterococcus faecium* – probiotyk z rodzaju *Enterococcus*, który wpływa na poprawę trawienia i wchłaniania składników odżywczych, a także na redukcję ryzyka chorób jelitowych i infekcji [10];

4. *Saccharomyces cerevisiae* – drożdże probiotyczne, stosowane w żywieniu krów mlecznych, w celu poprawy ich zdrowia oraz wydajności produkcyjnej. Drożdże pobudzają fermentację bakteryjną w żwaczu, dzięki czemu zwierzęta lepiej wykorzystują składniki pokarmowe, w tym białko i włókno. *S. cerevisiae* wpływa również na stabilizację pH w żwaczu [11].

### 2.3. Synbiotyki

Synbiotyki to połączenie dwóch wcześniej opisanych produktów: probiotyków i prebiotyków, które zawierają żywe kultury bakterii, oraz pożywkę, która umożliwi im rozwój i namnażanie. Synbiotyki łączą w sobie korzyści probiotyków i prebiotyków, co pomaga usprawnić działanie układu pokarmowego i układu odpornościowego.

Dodatek synbiotyków do paszy pełnoporcjowej dla kurcząt brojlerów wpłynął pozytywnie na wskaźniki wydajności produkcyjnej oraz zdrowie ptaków. Badania wykazały, że stosowanie tych substancji w paszy pełnoporcjowej wpływa pozytywnie na wskaźniki wydajności produkcyjnej i stan zdrowia kurcząt. Wyniki wskazują, że dodatek probiotyków i prebiotyku do paszy pełnoporcjowej wpłynął pozytywnie na masę ciała oraz wskaźnik przyswajania paszy. Sugerują również, że może być to skuteczna metoda poprawy wydajności produkcyjnej i zdrowia ptaków [12].

### 2.4. Postbiotyki

Postbiotyki to substancje, które są produkowane przez żywe bakterie probiotyczne. Postbiotykami są także organizmy inaktywowane, które mogą korzystnie wpływać na zdrowie gospodarza np. nienaruszone komórki nieożywionych mikroorganizmów, fragmenty lub struktury komórek mikrobiologicznych wraz z metabolitami/produktami końcowymi lub bez nich. Postbiotyki wykazują korzystny wpływ na zdrowie jelit i funkcjonowanie układu odpornościowego, a ich dodatkową zaletą jest łatwe przechowywanie.

## 3. Zastosowanie postbiotyków w żywieniu zwierząt

Stosowanie postbiotyków może wpłynąć na obniżenie poziomu cholesterolu, regulację ciśnienia krwi, poprawę trawienia oraz wzmocnienie odporności organizmu [13, 14]. W żywieniu ludzi, postbiotyki mogą być stosowane jako składniki lub suplementy diety, jednak obecnie nie ma jeszcze jednoznacznych wytycznych dotyczących ich stosowania. Według badań, postbiotyki mogą mieć potencjalne zastosowania w terapii chorób przewodu pokarmowego, stanów zapalnych jelit, chorób czynnościowych, chorób metabolicznych, czy nawet przy nowotworze jelita grubego. Ich widoczne, pozytywne działanie zauważa się także przy występowaniu alergii pokarmowych [15]. Zastosowanie postbiotyków ma pozytywny wpływ na funkcjonowanie układu immunologicznego, a także wpływa na stan zdrowia skóry m.in. może znaleźć zastosowanie w terapii atopowego zapalenia skóry. W literaturze znaleźć można również informacje nt. potencjalnego zastosowania postbiotyków w różnych dziedzinach medycyny, takich jak leczenie chorób autoimmunologicznych, cukrzycy, chorób nerek i chorób związanych z układem pokarmowym. Dodatkowo, zwraca się uwagę na korzyści wynikające z zastosowania postbiotyków w żywieniu niemowląt oraz u osób starszych [16].

Stosowanie postbiotyków w żywieniu zwierząt domowych ma na celu poprawę zdrowia i funkcjonowania układu trawiennego. Postbiotyki jako produkty metaboliczne probiotyków, zawierają różne substancje, takie jak kwasy organiczne, aminokwasy,

polisacharydy i peptydy, które wpływają na mikroflorę jelitową oraz regulują układ immunologiczny.

Dodatek postbiotyku z ekstraktem z alg morskich do diety psów wykazał pozytywny wpływ na florę bakteryjną jelit m.in. poprawiając różnorodność i równowagę mikrobiomu jelitowego psów, poprawę zdrowia i kondycji psów. Dodatkowo, w omawianych badaniach stwierdzono zmniejszenie ilości patogenów jelitowych, co w praktyce może pomóc w zapobieganiu infekcji bakteryjnych. Wyniki badań sugerują, że postbiotyki mogą mieć pozytywny wpływ na zdrowie psów i poprawę ich układu odpornościowego, poprzez utrzymanie równowagi mikrobioty jelitowej [17].

Suplementacja postbiotyków korzystnie wpływa na trawienie, kondycję skóry i sierści, a także odporność organizmu psa. W jednym z badań stwierdzono, że suplementacja postbiotyków pomogła zmniejszyć objawy alergii pokarmowych u psów [18].

Postbiotyki, ze względu na zdolność modyfikacji mikrobiomu i wzmocnienia naturalnej odporności organizmu stanowią obiecującą alternatywę dla tradycyjnych probiotyków oraz terapii antybiotykowej [19].

Suplementacja postbiotyku w przypadku starszych psów korzystnie wpłynęła na zdrowie i jakość życia zwierząt, zachowanie psów, zwiększenie ilości tkanki mięśniowej i zmniejszenie poziomu tkanki tłuszczowej w organizmie. Ponadto, w doświadczeniach z suplementacją postbiotyków odnotowano wzrost poziomu białka w surowicy krwi, co sugeruje lepszą absorpcję składników odżywczych. Wnioski te sugerują, że suplementacja postbiotykami może być korzystna dla zdrowia starszych psów, jednakże potrzebne są dalsze badania, aby dokładniej zrozumieć mechanizmy działania postbiotyków [20].

W pilotażowych badaniach własnych [dane niepublikowane] przeprowadzanych na psach i kotach określano wpływ postbiotyku na zdrowie i jakość życia zwierząt. W badaniu wzięły udział zwierzęta różnych ras, w różnych grupach wiekowych, różniące się masą ciała oraz stanem zdrowia. W trakcie badania niewielkie ilości postbiotyku dodawano bezpośrednio do wody lub pokarmu zwierząt. Po kilku tygodniach podawania postbiotyku, zaobserwowano poprawę jakości sierści, która stała się bardziej miękka i lśniąca, dodatkowo zmniejszeniu uległa ilość wyczesywanej sierści.

Dodatkowo w badaniu własnym [dane niepublikowane] przeprowadzono ankietę zadowolonia opiekunów zwierząt ze stosowania postbiotyku. Ankieta obejmowała kontrolę czynników mogących wpłynąć na skuteczność stosowania produktu nt. sposób podawania postbiotyku, obecność czynników stresowych podczas trwania badania. Ankieta dotyczyła również obserwacji zmian w pobraniu wody i pokarmu, zmian diety i nawyków żywieniowych, a także ogólnych odczuć i zmiany zauważonych po zastosowaniu postbiotyku. Badania własne wskazują na pozytywny wpływ postbiotyków na zdrowie i jakość życia psów i kotów, w szczególności na kondycję sierści. Dodatkowo, po podaniu postbiotyku zwierzęta stały się bardziej żywotne, co przejawiało się w większej aktywności fizycznej, zwiększonej motywacji do zabawy oraz większej chęci do interakcji z właścicielami. Ponadto, zwierzęta wykazywały większy apetyt, co może świadczyć o poprawie ich samopoczucia i zdrowia. Kolejną istotną obserwacją jest zmniejszenie reakcji organizmu na alergię pokarmowe. Warto podkreślić, że alergię pokarmowe są częstym problemem wśród zwierząt towarzyszących, a znalezienie skutecznej metody zapobiegania i leczenia jest niezwykle istotne dla ich zdrowia i kondycji [1].

Badanie zostało przeprowadzone przy wsparciu firmy BioDose Sp. z o.o. Sp. k., z siedzibą w Poznaniu. Zwierzęta otrzymały produkt postbiotyczny – DeliGuard.

## 4. Podsumowanie

Zagadnienie wpływu diety na mikrobiom jelitowy zyskuje coraz większe zainteresowanie. Równowaga w składzie mikroflory jelitowej jest kluczowym czynnikiem wpływającym na zdrowie. W przeszłości badania dotyczące wpływu diety na mikroflorę jelitową koncentrowały się głównie na ludziach, jednakże w ostatnich latach coraz częściej zwraca się uwagę na wpływ diety na mikrobiom zwierząt domowych.

Jako opiekunowie zwierząt domowych możemy w prosty sposób pozytywnie wpłynąć na skład mikroflory jelitowej np. podając im różnego rodzaju suplementy, które wspomagają pracę układu pokarmowego.

Postbiotyki to produkty metaboliczne, które są produkowane przez bakterie probiotyczne, które wykazują korzystne działanie dla zdrowia gospodarza. Wstępne wyniki badań pokazują, że postbiotyki mogą wpłynąć pozytywnie na funkcjonowanie układu odpornościowego, regulację procesów metabolicznych i trawienie, złagodzenie objawów alergii pokarmowych, a także mogą zapobiegać chorobom przewodu pokarmowego. Wprowadzenie postbiotyków do żywienia psów i kotów może przynieść wiele korzyści zdrowotnych. Należy jednak pamiętać, że każdy organizm jest inny, więc dobór postbiotyków oraz ich dawkowanie powinno być indywidualnie dopasowane do potrzeb danego zwierzęcia.

Konieczne są dalsze badania nad skutecznością stosowania różnych rodzajów postbiotyków, ich wpływu na organizm psa lub kota oraz interakcję postbiotyków z innymi składnikami diety i lekami.

## Literatura

1. Mojka K. *Probiotyki, prebiotyki i synbiotyki – charakterystyka i funkcje. Problemy Higieny i Epidemiologii*, <http://phie.pl/pdf/phe-2014/phe-2014-3-541.pdf> [data dostępu: 03.04.2023].
2. Karbowski M., Zielińska D., *Postbiotyki – właściwości, zastosowanie i wpływ na zdrowie człowieka*, Żywność Nauka Technologia Jakość/Food Science Technology Quality, 123(2), 2020, s. 22-37.
3. Józefiak D., Rutkowski A., Kaczmarek S., Jensen B.B., Engberg R.M., Højberg O., *Effect of  $\beta$ -glucanase and xylanase supplementation of barley- and rye-based diets on, caecal microbiota of broiler chickens*, Br Poult Sci., 51(3), 2010, s. 546-57.
4. Fijan S., *Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature*, International journal of environmental research and public health, 11(5), 2014, s. 4745-4767.
5. Yang Y., Iji P.A., Kocher A., Mikkelsen L.L., Choct M., *Effects of dietary mannanoligosaccharide on growth performance, nutrient digestibility and gut development of broilers given different cereal-based diets*, Journal of animal physiology and animal nutrition, 92(6), Australia 2008, s. 650-659.
6. Garcia-Mazcorro J.F., Dowd S.E., Poulsen J., Steiner J.M., Suchodolski J.S., *Abundance and short-term temporal variability of fecal microbiota in healthy dogs*, MicrobiologyOpen, 1(3), 2011, s. 340-347.
7. Mizak L., Gryko R., Kwiatek M., Parasion S. *Probiotyki w żywieniu zwierząt*, Życie Weterynaryjne, 87(9), 2012, s. 736-741.
8. Ghoshal U.C., Srivastava D., *Irritable bowel syndrome and small intestinal bacterial overgrowth: Meaningful association or unnecessary hype*, PubMed Central (PMC) <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3949258/> [data dostępu: 02.04.2023].

9. Reid G., Younes J.A., Van der Mei H.C., Gloor G.B., Knight R., Busscher H.J., *Microbiota restoration: natural and supplemented recovery of human microbial communities*, Nature Reviews Microbiology, 9(1), 2011, s. 27-38.
10. Langdon A., Crook N., Dantas G., *The effects of antibiotics on the microbiome throughout development and alternative approaches for therapeutic modulation*, Genome Medicine, 8(1), 2016, s. 39.
11. Czaplicka M., Puchajda Z., Pawlak M., *Efektywność stosowania drożdży Saccharomyces cerevisiae w żywieniu krów mlecznych*, Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego, 10(4), 2014, s. 69-75.
12. Janocha A., Miłczarek A., Osek M., Turyk Z., *efektywność bakterii probiotycznych i prebiotyków w żywieniu kurcząt brojlerów*, Acta Sci. Pol., Zootechnica, 9(1), 2010, s. 21-30.
13. Ouwehand A.C., *A review of dose-responses of probiotics in human studies*, Benef Microbes, 2017, s. 143-15.
14. Plaza-Dia J., Ruiz-Ojeda F.J., Gil-Campos M., Gil A., *Mechanisms of Action of Probiotics*, Adv Nutr., 2019, s. 49-S66.
15. Gołdys R., *Postbiotyki cenne dla zdrowia*, DIETETYCY ORG PL, 2020, <https://dietetycy.org.pl/postbiotyki-cenne-dla-zdrowia/> [data dostępu: 02.04.2023]
16. Karbowski M., Zielińska D., *Postbiotyki – właściwości, zastosowanie i wpływ na zdrowie człowieka*, Żywność Nauka Technologia Jakość/Food Science Technology Quality, 2020, s. 22-37.
17. Sivamaruthi B.S., Kesika P., Chaiyasut C., *Influence of Probiotic Supplementation on Health Status of the Dogs: A Review*, MDPI. <https://www.mdpi.com/2076-3417/11/23/11384/htm> [data dostępu: 02.04.2023].
18. Zhong Y., Wang S., Di H., Deng Z., Liu J., Wang H., *Gut health benefit and application of postbiotics in animal production*, Journal of Animal Science and Biotechnology. SpringerLink. <https://link.springer.com/article/10.1186/s40104-022-00688-1> [data dostępu: 02.04.2023].
19. Wernimont S.M., Radosevich J., Jackson M.I., Ephraim E., Bardi D.V., MacLeay J.M., Jewell D.E., Suchodolski J.S., *The Effects of Nutrition on the Gastrointestinal Microbiome of Cats and Dogs: Impact on Health and Disease*, Frontiers, <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2020.01266/full> [data dostępu: 02.03.2023].
20. Zamojska D., Nowak A., Nowak I., Macierzyńska-Piotrowska E. (b.d.), *Probiotics and postbiotics as substitutes of antibiotics in farm animals: A review*, MDPI, <https://www.mdpi.com/2076-2615/11/12/3431> [data dostępu: 02.03.2023].

## Postbiotyki w żywieniu psów i kotów

### Streszczenie

Składniki pokarmowe pozyskiwane z pożywienia mają na celu odżywić organizm i utrzymać go w prawidłowej kondycji zdrowotnej. Tematem, który zyskuje na popularności jest wpływ diety na mikroflorę jelitową, która jest kluczowym czynnikiem wpływającym na zdrowie i odporność organizmu. Wzrastająca świadomość konsumentów sprawia, że przywiązujemy coraz większą uwagę do jakości diety zarówno ludzi, zwierząt produkcyjnych, jak i zwierząt towarzyszących.

Postbiotyki to związki bioaktywne wytwarzane przez pożyteczne bakterie probiotyczne lub uwalniane w trakcie ich rozpadu. Związki te obejmują m.in. enzymy, muropeptydy uwalniane z peptydoglikanów, polisacharydy, krótkołańcuchowe kwasy organiczne i białka powierzchniowe komórek. Z uwagi na działanie przeciwzapalne, immunomodulacyjne, zmniejszające ryzyko otyłości oraz działanie przeciwtłuszczeniowe postbiotyki wykazują korzystne działanie na zdrowie zwierząt.

Badania dotyczące zastosowania postbiotyków w żywieniu psów i kotów są wciąż na wczesnym etapie, jednakże wstępne doniesienia sugerują, że postbiotyki mogą korzystnie wpływać na funkcjonowanie układu odpornościowego oraz złagodzenie objawów alergii pokarmowych. Co więcej, dodatek postbiotyków w diecie zwierząt towarzyszących może przyczyniać się do regulacji procesów metabolicznych oraz procesów trawienia, tym samym zmniejszając ryzyko wystąpienia schorzeń przewodu pokarmowego.

Słowa kluczowe: postbiotyki, prebiotyki, probiotyki, synbiotyki, suplementy

## **Postbiotics in companion animal diets**

### Abstract

The nutrients extracted from food are intended to nourish the body and keep it healthy. A topic that is gaining in popularity is the effect of diet on the intestinal microflora, which is a key factor in the health and immunity of the body. Growing consumer awareness is causing us to pay increasing attention to the quality of the diet of both humans, production animals and companion animals.

Postbiotics are bioactive compounds produced by beneficial probiotic bacteria or released during their degradation. These compounds include, among others, enzymes, muropeptides released from peptidoglycans, polysaccharides, short-chain organic acids and cell surface proteins. Due to their anti-inflammatory, immunomodulatory, obesity-reducing and antioxidant effects, postbiotics show beneficial effects on animal health.

Research on the use of postbiotics in canine and feline nutrition is still at an early stage; however, preliminary reports suggest that postbiotics may benefit immune function and alleviate the symptoms of food allergies. Moreover, the addition of postbiotics in companion animal diets may contribute to the regulation of metabolic and digestive processes, thereby reducing the risk of gastrointestinal disorders.

Keywords: postbiotics, prebiotics, probiotics, synbiotics, supplements



## **Węgiel drzewny jako dodatek paszowy w żywieniu drobiu**

### **1. Węgiel drzewny – charakterystyka i działanie surowca**

Węgiel drzewny jest to substancja pozyskiwana w wyniku suchej destylacji drewna drzew liściastych oraz innych surowców pochodzenia roślinnego np. łupin kokosowych. Może występować w postaci nieregularnych kawałków lub po wcześniejszym rozdrobnieniu – czarnego proszku. Węgiel drzewny zawiera łatwo strawne i dostępne dla zwierząt składniki mineralne, które roślina pobrała z gleby w czasie okresu wegetacji. Węgiel drzewny znany jest od wielu wieków jako substancja lecznicza, pozwalająca na ukojenie różnych dolegliwości, zwłaszcza tych dotyczących układu trawiennego – biegunek, zatruc pokarmowych czy wzdęć, a to za sprawą powierzchni adsorpcyjnej, która pozwala na trwałe wiązanie szkodliwych substancji i wydalanie ich z organizmu. Surowiec ten można poddać dodatkowej aktywacji, polegającej na zagazowaniu materiału parą wodną lub dwutlenkiem węgla, co pozwala na znaczne poprawienie wiążących właściwości węgla drzewnego.

Celem pracy jest przedstawienie cech węgla drzewnego jako dodatku paszowego w żywieniu drobiu i jego wpływu na zdrowie ptaków oraz osiągane przez nie wyniki produkcyjne.

### **2. Właściwości węgla drzewnego**

#### **2.1. Źródło składników mineralnych**

Węgiel drzewny posiada właściwości, które mogą okazać się użyteczne w produkcji drobiarskiej. Przede wszystkim jest to substancja bogata w łatwo dostępne dla zwierząt i rozpuszczalne składniki mineralne, takie jak węgiel, krzem, wapń, magnez, fosfor i cynk [1]. Węgiel jako pierwiastek stanowi podstawowy budulec materii organicznej, co oznacza, że jest niezbędny do wzrostu i rozwoju tkanek, co w produkcji zwierzęcej odgrywa znaczącą rolę [2, s. 41, 54, 15-26]. Zawarty w węglu drzewnym krzem jest substancja biodostępną. Główną drogą dostarczania go do organizmu jest układ trawienny. Zwiększona koncentracja krzemu występuje w kościach i tkance mięszonej. Jego niedobór powoduje deformacje kości długich i czaszki organizmu, a także zmniejszenie udziału tkanki chrzęstnej, gęstości mineralnej kości oraz zwiększenie podatności na złamanie [2, s. 83-84, 3, s. 46-49, 4]. Pozostałe pierwiastki – wapń, magnez, fosfor i cynk również potrzebne są do poprawnego funkcjonowania organizmu. Pierwiastki te wchodzi w skład kości, odpowiadają za regulację pracy układu nerwowego oraz mięśni, a także utrzymanie równowagi kwasowo-zasadowej [2, s. 64-72, 81-82]. Ponadto wapń, magnez, fosfor i cynk stanowią główne składniki tworzące skorupę jaja, dlatego szczególnie ważna jest ich suplementacja dla drobiu nieśnego i osobników wchodzących w skład stad hodowlanych [5, s. 179-182, 184-185].

---

<sup>1</sup> 121531@student.upwr.edu.pl, SKN Żywienia Zwierząt, Katedra Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, www.upwr.edu.pl.

## **2.2. Adsorpcja i detoksykacja**

Kolejną właściwością jest zdolność węgla drzewnego do mechanicznego wiązania szkodliwych substancji takich jak toksyczne metabolity wytwarzane przez bakterie, kokcydia i pasożyty, mikotoksyny produkowane przez grzyby pleśniowe, gazy powstające w układzie trawiennym np.: amoniak, niektóre białka oraz substancje występujące w nadmiarze w stosunku do zapotrzebowania ptaków. Dzięki porowatej strukturze powierzchniowej i znacznym działaniu adsorpcyjnym, węgiel drzewny stanowi dobry detoksykant – niepożądane substancje zostają na stałe związane na powierzchni preparatu węglowego i bezpiecznie wydalone z organizmu. Poprzez wiązanie amoniaku węgiel drzewny powstrzymuje alkalizację jelit i utrzymując kwaśne środowisko w żołądku i jelitach zapobiega rozwojowi groźnych infekcji układu pokarmowego, które mogą prowadzić do biegunek i znacznego osłabienia organizmu ptaków [1, 6]. Skuteczność właściwości adsorpcyjnych węgla drzewnego zależy od średnicy porów znajdujących się na powierzchni substancji, wielkości powierzchni adsorpcyjnej i od koncentracji składnika w mieszance paszowej [7].

## **2.3. Wspomaganie działania układu trawiennego**

Ważną właściwością węgla drzewnego jest także emulgacja tłuszczów [1], dzięki której odciążona zostaje wątroba zwierzęcia, co ze względu na wysoki poziom natłuszczenia pasz dla drobiu, może okazać się korzystne. Ze względu na brak zębów za rozcieranie pokarmu w układzie trawiennym odpowiada druga część żołądka – mięśniowa, tzw. mielec lub żołądek mięśniowy. Często w celu lepszego rozdrobnienia paszy ptaki zjadają drobne kamienie, które pozostają wewnątrz żołądka i poprzez skurcze mięśni wspomagają rozcieranie pokarmu [2, s. 148]. Dodatkowo w kwaśnym środowisku żwirku krzemowy wydziela jony krzemu, które następnie formują nieorganiczne kwasy – metakrzemowy oraz ortokrzemowy [2, s. 45, 8]. Substancje te występują najczęściej w formie żelu, który charakteryzuje się silnymi właściwościami adsorbacyjnymi, wiążą toksyny, gazy i obce białka oraz umożliwiają skuteczne wydalanie ich z organizmu. W gospodarstwach wielkotowarowych rzadko umożliwia się ptakom korzystanie z wybiegu, z którego mogłyby pozyskać drobne kamienie lub piasek, a samodzielne podawanie żwirku krzemowego zwierzętom powoduje techniczne trudności, takie jak znaczne obciążenie żołądka mięśniowego, zafałszowanie wyników pomiarów przedubojowych oraz konieczność dokładnego czyszczenia mielca. Z badań przedstawionych przez Majewską, Mikulskiego i Siwika [8] wynika, że w obecnym systemie odchowu brojlerów indyjskich nie ma konieczności podawania ptakom żwirku krzemowego, ponieważ nie wpływa on w znacznym stopniu na uzyskiwane efekty produkcyjne. Można go natomiast zastąpić węglem drzewnym, który posiada podobne właściwości wiążące, dostarcza niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania składników mineralnych, a przede wszystkim nie obciąża żołądka mięśniowego ptaków. Do zalet dodawania węgla drzewnego do mieszanek paszowych dla drobiu należy również zaliczyć jego lekkość. Dzięki niewielkiej masie sproszkowany węgiel drzewny nie ulega sedymentacji w mieszance paszowej, co zdecydowanie ułatwia podawanie zwierzętom równomiernie wymieszanej mieszanki paszowej [1].

### 3. Potencjalne korzyści ze stosowania węgla drzewnego w mieszankach paszowych dla drobiu

#### 3.1. Ograniczenie występowania zakażeń bakteryjnych i zatruc pokarmowych

Ze względu na liczne właściwości jakie posiada węgiel drzewny, jego stosowanie może przynosić różne korzyści. Przede wszystkim, dzięki silnie działającej powierzchni adsorpcyjnej i mechanicznemu wiązaniu toksyn wytwarzanych przez mikroorganizmy i pasożyty, z organizmu zwierząt zostają usunięte szkodliwe metabolity [1]. Zapobiega to infekcjom układu trawiennego i zatruciom, mogącym wywoływać długotrwałe biegunki, które w szerszej perspektywie prowadzą do odwodnienia i znacznego osłabienia organizmu. Dodatkowo dzięki wiązaniu mikotoksyn węgiel drzewny pozwala na ograniczenie występowania przypadłości wywołanych spożyciem przez ptaki pasz zanieczyszczonych afla- i ochratoksynami [7, 9, 10 s. 519-522]. Skutki aflatoksykoz [7, 9, 10, s. 520-521] to m.in.:

- obniżenie ilości pobieranej paszy;
- spadek wykorzystania pobranych składników pokarmowych ze względu zmniejszenie aktywności enzymów odpowiadających za trawienie skrobi, białek, lipidów oraz kwasów nukleinowych;
- zmniejszenie przyrostów masy ciała;
- pogorszenie nieśności, wykluwalności jaj oraz ich masy;
- immunosupresja spowodowana uszkodzeniem grasicy i torebki Fabrycjusza;
- zwiększone ryzyko wystąpienia m.in. kolibakteriozy, zespołu oddechowego CRD (ang. *Chronic Respiratory Disease*) i choroby Newcastle;
- obniżenie produkcji przeciwciał;
- spadek skuteczności działania szczepionek;
- występowanie patologicznych zmian w nerkach i wątrobie;
- tworzenie się mikrouszkodzeń dróg żółciowych, prowadzących do hiperplazji nabłonka;
- degeneracyjne i nekrotyczne zmiany hepatocytów;
- stłuszczenie wątroby.

Do skutków ochratoksykoz [7, 9, s. 521-522] należą m.in.:

- obniżenie ilości pobieranej paszy;
- spadek przyrostów masy ciała;
- występowanie anemii;
- zmniejszenie krzepliwości krwi;
- ogólne osłabienie organów zwiększające ryzyko ich pęknięcia;
- powiększenie wątroby i nerek;
- odkładanie się moczanów w narządach;
- zmniejszenie integralności istoty gąbczastej kości;
- osłabienie kości piszczelowych ze względu na zmniejszenie ich średnicy;
- teratogenność, pojawianie się wad rozwojowych i uszkodzenia zarodków;
- uszkodzenia genów;
- osłabienie układów odpornościowego i nerwowego;
- powstawanie nowotworów.

### 3.2. Zmniejszenie liczby zachorowań

Poprzez wiązanie szkodliwych substancji, wykorzystanie węgla drzewnego jako dodatku paszowego w żywieniu drobiu pozwala na ograniczenie zachorowań oraz upadków zwierząt, a co za tym idzie zmniejszenie kosztów wymaganego leczenia i utylizacji padłych osobników. Mniejsza częstotliwość występowania chorób u ptaków użytkowych w znacznym stopniu przekłada się na poprawienie ekonomiki ich utrzymania. Ze względu na to, że składniki pokarmowe zawarte w paszy w pierwszej kolejności wykorzystywane są na pokrycie zapotrzebowania bytowego, a następnie produkcyjnego [2, s. 223, 400], chore osobniki zużywają wszystkie pobrane zasoby na zwalczanie dolegliwości, przez co nie starcza ich na pokrycie potrzeb produkcyjnych – długotrwale chore zwierzęta charakteryzują się znacznie obniżoną wydajnością, przez co opłacalność ich dalszej hodowli spada. Dodatkowo stosowanie węgla drzewnego jako dodatku paszowego dla drobiu może przyczynić się do poprawienia osiągniętych wyników produkcyjnych:

- zwiększenia masy ciała;
- zmniejszenia współczynnika FCR (ang. *Feed Conversion Ratio*);
- poprawienia jakości produkowanego mięsa i podrobów;
- obniżenia współczynnika upadków ptaków w trakcie odchowu;
- wzrostu nieśności;
- wzmocnienia struktury skorupy jaj.

### 3.3. Poprawienie warunków zoohigienicznych

Dzięki wiązaniu mechanicznemu gazów produkowanych przez ptaki, poprawie ulegają także warunki zoohigieniczne w pomieszczeniach inwentarskich. Znacząco spada ilość amoniaku w powietrzu, którego stężenie nie powinno przekraczać 20 ppm [11]. W przypadku zbyt dużej ilości  $\text{NH}_3$  w pomieszczeniu może dochodzić do podrażnienia błon śluzowych układu oddechowego oraz spojówek ptaków, co zwiększa ryzyko zakażenia bakteriami takimi jak *Escherichia coli*, *Mycoplasma gallisepticum* czy *Ornithobacterium rhinotracheale* lub kurzym *herpesvirusem* wywołującym zakaźne zapalenie krtani i tchawicy [10, s. 31, 319-320, 387].

### 3.4. Zmniejszenie kosztów produkcji

Do zalet węgla drzewnego należy także jego cena i dostępność. W krajach Trzeciego Świata, gdzie może być trudno pozyskać specjalnie skomponowane dodatki paszowe, probiotyki lub inne podobne produkty lub są one zbyt drogie dla hodowców, potencjalnym rozwiązaniem może być wykorzystanie węgla drzewnego. Jego produkcja jest stosunkowo łatwa do samodzielnego przeprowadzenia i możliwe jest zastosowanie lokalnych surowców, takich jak drewno bambusowe czy łupiny orzechów kokosowych. Wykorzystanie węgla drzewnego mogłoby również ograniczyć koszty produkcji wielkotowarowej ze względu na zmniejszenie ilości kupowanych dodatków paszowych. Dzięki obniżeniu ryzyka zachorowań i liczby upadków zwierząt, a także lepszemu wykorzystaniu paszy przez ptaki, spadają także koszty chowu i hodowli.

### 3.5. Ograniczenie chemizacji produkcji

Warto zwrócić uwagę na to, że od wielu lat rośnie świadomość konsumentów dotycząca powszechnej chemizacji rolnictwa i produkcji zwierzęcej. Wraz z nią na producentów zostaje nakładany coraz większy społeczny nacisk, aby wracać do tradycyjnych

metod odchowu zwierząt oraz stosowania naturalnych środków wspomagających działanie organizmów nie tylko drobiu, ale również innych gatunków [12, s. 30-33, 13, s. 2-4]. Hodowcy rozpoczęli poszukiwanie ekologicznych dodatków paszowych, które ograniczyłyby zużycie antybiotyków i innego rodzaju lekarstw. Coraz częściej przeprowadzane są badania nad wpływem różnych substancji na efektywność i opłacalność produkcji. Rozważa się wykorzystywanie ziołolecznictwa oraz innych naturalnych metod leczenia, zwiększenie znaczenia bioasekuracji hodowli oraz dalsze poprawianie dobrostanu zwierząt. Dobrym kandydatem mogącym przyczynić się do ograniczenia chemizacji produkcji zwierzęcej jest właśnie węgiel drzewny – substancja w pełni ekologiczna, bezpieczna dla organizmu i nieszkodliwa dla środowiska, o wielu pozytywnych właściwościach.

#### 4. Badania

Na temat wpływu węgla drzewnego na organizmy ptaków różnych gatunków i efektywność jego działania przeprowadzono już wiele badań. Wyniki niektórych z nich znacznie się różnią, co powoduje niespójności w ogólnej opinii o skuteczności działania tego surowca. Majewska i Zaborowski [1] przeprowadzili doświadczenie, którego celem było porównanie wyników produkcyjnych odchowanych kurcząt żywionych mieszankami paszowymi, do których węgiel drzewny dodawany był na dwa sposoby – w procesie produkcji paszy i bezpośrednio przed podaniem mieszanki ptakom. Badanie przeprowadzone było na 180 brojlerach kurzych Starbro, nieseksowanych.

Zastosowana metoda polegała na losowym podzieleniu jednodniowych piskląt na trzy liczące po 30 osobników grupy żywieniowe. Każda z nich była utrzymywana osobno, na głębokiej ściółce i żywiona jednakową mieszanką w 3-stopniowym systemie: Starter, Grower, Finisher. W grupie I – kontrolnej, znajdowały się ptaki otrzymujące mieszankę bez dodatku węgla drzewnego. Osobniki z grupy II karmione były paszą, do której węgiel w ilości 0,3% dawki pokarmowej dodawany był w procesie produkcji, natomiast kurczęta z grupy III dostawały mieszankę, do której taka sama ilość węgla dodawana była bezpośrednio przed podaniem. Po zakończonym okresie odchowu 6 kogutków z każdej grupy zostało poddanych ubojowi kontrolnemu w celu określenia wydajności rzeźnej oraz masy każdego z podrobów. Pobrano również próbki krwi ubijanych ptaków, aby wykonać badania hematologiczne i biochemiczne.

Otrzymane wyniki potwierdzają korzystny wpływ dodatku węgla drzewnego na osiągnięte przez ptaki masę ciała oraz ilość spożywanej przez nie paszy. Masa ciała kurek z grupy II zwiększyła się niewiele w stosunku do osobników z grupy kontrolnej – o 1,04%, natomiast z grupy III o prawie 6%. Kogutki z grupy II i III osiągnęły masę ciała większą o 5-6,5% od samców z grupy I. Dodatek węgla drzewnego wpłynął pozytywnie także na zużycie paszy przez ptaki – zostało one obniżone. W grupie II wyniosło ono 1,9 kg na 1 kg masy ciała (spadek o 5% w stosunku do grupy kontrolnej), natomiast w grupie III – 1,82 kg (spadek o 9% w stosunku do grupy kontrolnej). Wynik grupy I to 2 kg na 1 kg masy ciała. Poza zwiększeniem masy ciała i zmniejszeniem ilości zużywanej paszy, korzystnemu wpływowi dodatku węgla drzewnego uległa także liczba upadków ptaków. W obu grupach doświadczalnych wskaźnik przeżywalności wzrósł o 1,67% w stosunku do grupy kontrolnej.

Kana, Teguaia, Mungfu i Tchoumboue [14] również przeprowadzili obszerne doświadczenie dotyczące efektów suplementacji mieszanki paszowej różnymi dawkami węgla drzewnego wyprodukowanego z kolb kukurydzy (węgiel A) i nasion *Canarium schwein-*

*furthii* (węgiel B). Wyniki produkcyjne 110 kurcząt brojlerów, podzielonych na 11 grup żywieniowych – kontrolnej i z udziałem kolejno 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, i 1% węgla A i B. W doświadczeniu wykorzystane zostały kogutki linii Hybro w wieku 21 dni, zaszczepione przeciwko chorobie Newcastle, zakaźnemu zapaleniu oskrzeli IB (ang. *Infectious Bronchitis*) oraz zakaźnemu zapaleniu torby Fabrycjusza IBD (ang. *Infectious Bursal Disease*).

Otrzymane wyniki prezentują się następująco:

- w grupach żywionych mieszankami zawierającymi kolejno 0,2, 0,4 i 0,6% dodatku węgla A i B, ptaki uzyskały wyższą końcową masę ciała w porównaniu do grupy kontrolnej;
- dodatki węgla A i B powyżej 0,6% w mieszance nieznacznie obniżyły osiągnięte masy ciała oraz przyrosty dobowe;
- najwyższe końcowe masy ciała uzyskały kurczęta żywione dawkami zawierającymi 0,2% dodatku obu badanych węgli;
- jedynie kurczęta żywione paszą o zawartości 0,6% węgla B uszykały lepszy współczynnik FCR w stosunku do grupy kontrolnej.

Badania dotyczące wpływu węgla drzewnego pozyskanego z drewna dębowego na ogólne wyniki produkcyjne i otłuszczenie kurcząt brojlerów przeprowadzili Kutlu, Unsal i Gorgulu [15]. W doświadczeniu wykorzystano 64 kogutki linii Ross w wieku jednego tygodnia. Ptaki podzielono na 4 grupy doświadczalne – kontrolną, żywioną dawką z 25, 50, 100 g sproszkowanego węgla drzewnego na 1 kg paszy. Każdy z ptaków utrzymywany był w osobnej klatce. Na koniec badania przeprowadzono dyssekcję w celu określenia wyników produkcyjnych poszczególnych osobników.

Autorzy [15] wykazali, że kurczęta żywione mieszanką o zawartości 5% węgla drzewnego przez pierwsze 3 tygodnie badania pobierały więcej paszy, osiągały większe przyrosty oraz wskaźnik FCR plasował się na niższym poziomie, jednak pod koniec odchowu dodatek węgla nie miał wpływu na żaden z powyższych kryteriów. Wzbogacenie paszy o węgiel drzewny nie wykazało także pozytywnych efektów pod względem składu i jakości tuszki.

## 5. Podsumowanie

Węgiel drzewny posiada wiele właściwości, które mogłyby wykazywać pozytywny wpływ na organizm ptaków użytkowych oraz potencjalnie przynosić korzyści zarówno w dziedzinie zdrowia zwierząt jak i ekonomiki produkcji drobiarskiej. Mimo to, potrzeba przeprowadzić więcej badań w tym kierunku, aby móc jednoznacznie określić działanie tego dodatku i stwierdzić, czy w jego stosowanie na szerszą skalę poprawiłoby wyniki produkcyjne brojlerów oraz ptaków nieśnych różnych gatunków drobiu oraz ograniczyło powszechną chemizację rolnictwa i produkcji zwierzęcej.

## Literatura

1. Majewska T., Zaborowski M., *Węgiel drzewny w żywieniu kurcząt brojlerów*, Medycyna Weterynaryjna, 59 (1), 2003.
2. Jamroz D. (red.), *Żywnienie zwierząt i paszoznawstwo. Tom 1. Fizjologiczne i biochemiczne podstawy żywienia zwierząt*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2015, s. 41, 45, 54, 15-26, 148, 223, 400.
3. Prentice S.E., *The Effects of Silicon on Skeletal Integrity in Poultry*, ProQuest LLC, Ann Arbor 2019.
4. Carlisle E.M., *A Silicon Requirement for Normal Skull Formation in Chicks*, 1980.

5. Świątkiewicz S., Koreleski J., *Wpływ czynników żywieniowych na jakość skorupy jaja*, Postępy Nauk Rolniczych, 1, Balice 2003.
6. Cziko P., Łaptiew J., *Rośliny lecznicze i bogate w witaminy*, PWRiL, Warszawa 1988, s. 20.
7. Patil R.D., Sharma R., Asrani R.K., *Mycotoxins and its control in poultry: A review*, Journal of Poultry Science and Technology, www.jakraya.com/journal/jpst [data dostępu: 01.02.2023].
8. Majewska T., Mikulski D., Siwik T., *Silca Grit, Charcoal and Hardwood Ash in Turkey Nutrition*, Journal of Elementology, 14 (3), 2009, s. 489-500.
9. Filazi A., Yurdakok-Dikmen B., Kuzukiran O., Sireli U.T., *Mycotoxins in Poultry*, [w:] Manafi M. (red.), *Poultry Science*, InTech, Rijeka 2017, s. 74-79.
10. Brown T., Jordan F.T.W, Wood A.M., *Choroby grzybicze*, [w:] Wieliczko A., *Choroby drobiu*, Elsevier Urban & Partner, Wrocław 2011, s. 31, 319-320, 387, 519-522.
11. Ustawa z dnia 15 lutego 2010 r. – Akt prawny (Dz. U. z 2010 r., Nr 56, poz. 344)
12. Konicki A., Konicka-Świdarska K., Śmiałek M., Tykałowski B., Kowalczyk J., Stenzel T., *Czy jest możliwy bezantybiotykowy chów drobiu? Cz. I*, Polskie Drobiarstwo, 9, 2022, s. 30-33.
13. Konicki A., Konicka-Świdarska K., Śmiałek M., Tykałowski B., Kowalczyk J., Stenzel T., *Czy jest możliwy bezantybiotykowy chów drobiu? Cz. II*, Polskie Drobiarstwo, 10, 2022, s. 2-4.
14. Kana J.R., Tegua A., Mungfu B.M., Tchoumboue J., *Growth performance and carcass characteristics of broiler chickens fed diets supplemented with graded levels of charcoal from maize cob or seed of *Canarium schweinfurthii* Engl*, Tropical Animal Health Production, 43, s. 51-56.
15. Kutlu H.R., Unsal I., Gorgulu M., *Effects of providing dietary wood (oak) charcoal to broiler chicks and laying hens*, Animal Feed Science and Technology, 90, 2001, s. 213-226.

## Węgiel drzewny jako dodatek paszowy w żywieniu drobiu

### Streszczenie

Węgiel drzewny jest to lekka, czarna substancja o dobrze rozwiniętej powierzchni adsorpcyjnej, zawierająca składniki mineralne pobrane przez drzewo w okresie wegetacji. Pozyskiwany jest w wyniku suchej destylacji drewna z drzew liściastych. Leczenie różnych przypadłości za pomocą węgla drzewnego jest metodą dobrze znaną od wieków, jednakże dopiero teraz, w dobie chemizacji żywienia i nacisku opinii publicznej na stosowanie naturalnych metod zapobiegania i leczenia chorób, składnik ten okazuje się mieć niesamowity potencjał. W niniejszej pracy zaprezentowano i omówiono korzyści wynikające z wykorzystania węgla drzewnego jako dodatku paszowego w żywieniu drobiu.

Za stosowaniem węgla drzewnego w mieszankach paszowych dla ptaków przemawia m.in. sięgająca 90% zawartość węgla, niezbędne do syntezy związków organicznych, a także bogactwo innych składników mineralnych takich jak wapń czy krzem, w postaci łatwo przyswajalnej i nietoksycznej dla organizmu. Ponadto ogromna powierzchnia chłonna węgla drzewnego pozwala na mechaniczne wiązanie szkodliwych substancji produkowanych przez mikroorganizmy, pasożyty lub grzyby, a także gazów, obcych białek i substancji występujących w nadmiarze w stosunku do zapotrzebowania, i usuwanie ich z organizmu.

Ze względu na wykazywane przez węgiel drzewny właściwości, stanowi on doskonały, w pełni naturalny substytut dla substancji chemicznych, stosowanych w produkcji drobiarskiej.

Celem prezentowanej pracy jest przedstawienie charakterystyki węgla drzewnego jako dodatku paszowego w żywieniu drobiu i jego działa na efekty produkcyjne i zdrowotne ptaków.

Słowa kluczowe: węgiel drzewny, drób, brojlery kurze, nioski

## Charcoal as A Feed Additive in Poultry Nutrition

### Abstract

Charcoal is a light, black substance with a well-developed adsorption surface, containing minerals taken up by the tree during the vegetative period. It is obtained as a result of dry distillation of wood from deciduous trees. Charcoal treatments of various afflictions with charcoal has been a well-known method for centuries,

but only now, in the era of chemicalization of nutrition and public opinion's pressure to use natural methods of preventing and treating diseases, this ingredient turns out to have exceptional potential. This paper presents and discusses the benefits of using charcoal as a feed additive in poultry nutrition.

The use of charcoal in birds' diets is supported by reaching 90% carbon content, necessary for the synthesis of organic compounds, as well as a of other minerals such as calcium or silicon, in an easily absorbable and non-toxic form. In addition, the huge absorbent surface of the charcoal allows the mechanical binding of noxious substances produced by microorganisms, parasites or fungi, as well as gases, foreign proteins and substances in excess of the needs of an animal, and removing them from the body.

Due to the properties of charcoal, it is an excellent, all-natural substitute for chemicals used in poultry production. The goal of this paper is to present characteristics of charcoal as feed additive in poultry nutrition and its effects on production and birds' health.

Keywords: charcoal, poultry, broilers, hens



# Redukcja śladu węglowego w systemach żywienia drobiu

## 1. Ślad węglowy

Niebagatelne znaczenie dla środowiska oraz w rozwoju firm na rynku konsumenckim ma kontrolowanie śladu węglowego, jak i również jego minimalizacja. Niniejsza praca skupia się na aktualnych i przyszłościowych rozwiązaniach sektora żywienia zwierząt mogących poprawić wartości w tym zakresie. Ślad węglowy (*Carbon Footprint*, CF), służy do oceny oddziaływań w zakresie produkcji i dystrybucji żywności. Definiowany jest jako całkowita ilość emisji gazów cieplarnianych (*Green House Gases*, GHG), takich jak dwutlenek węgla (CO<sub>2</sub>), metan (CH<sub>4</sub>) i podtlenek azotu (N<sub>2</sub>O), wyemitowanych w cyklu życia danego surowca lub produktu, czyli podczas produkcji, transportu, użytkowania lub usług. Termin ten jest również określeniem wykorzystywanym do ujęcia emisyjności całej produkcji, organizacji, przedmiotu, wydarzenia, osoby itp. w trakcie jej życia [1]. Celem pracy jest analiza wpływu hodowli drobiu na efekt cieplarniany oraz przedstawienie alternatywnych zmian, jakie mogą wprowadzić przedsiębiorstwa, by zminimalizować ślad węglowy w sektorze żywienia.

### 1.1. Efekt cieplarniany

GHG są to związki chemiczne, występujące naturalnie w atmosferze ziemskiej. Jednak nierówny ich bilans wpływa negatywnie na klimat Ziemi, w tym na jakość życia organizmów na niej funkcjonujących. Podniesienie się stężenia GHG tworzy zjawisko absorpcji promieniowania cieplnego z powierzchni Ziemi oraz chmur. Zjawisko to nazywane efektem cieplarnianym, ogranicza naturalny przepływ ciepła poza atmosferę, doprowadzając do globalnego ocieplenia. Gazy cieplarniane mogą być efektem naturalnych procesów środowiskowych np. rozkład materii organicznej, ale mogą również być wynikiem działalności człowieka [2, 3]. Do głównych źródeł należy spalanie paliw kopalnianych, produkcja energii cieplnej, transport, rolnictwo oraz hodowla zwierząt. Nawet 18% antropogenicznej emisji gazów cieplarnianych pochodzi z przemysłu rolnego, w tym technologii produkcji zwierzęcej, z czego nawet 50-80% emisyjności spowodowane jest przez żywienie, systemy utrzymania i gospodarkę odpadami [4, 5]. Główne substraty stanowiące N<sub>2</sub>O biogenne (powstający w procesie fermentacji metanowej), produkowane są podczas chowu przeżuwaczy.

## 2. Wzrost zapotrzebowania na mięso

Produkcja drobiarska jest jedną z najważniejszych gałęzi produkcji zwierzęcej, a jej znaczenie na przestrzeni ostatnich lat ciągle wzrasta. Od lat dziewięćdziesiątych światową produkcję mięsa drobiowego cechuje nierówna, lecz największa dynamika wzrostu, spowodowana zwiększoną konsumpcją, [6]. Wraz ze wzrostem populacji ludzi rośnie

---

<sup>1</sup> 121462@student.upwr.edu.pl, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, www.upwr.edu.pl.

<sup>2</sup> martyna.wilk@upwr.edu.pl, dr inż., Katedra Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu. www.upwr.edu.pl.

również popyt na mięso i produkty mleczne, co stymuluje rozwój produkcji zwierzęcej. Organizacja Narodów Zjednoczonych do spraw Wyżywienia i Rolnictwa FAO (2017) wraz z Organizacją Współpracy Gospodarczej i Rozwoju OECD, opublikowali raport dotyczący rynku produkcji zwierzęcej, który wykazał 5% zwiększenia popytu na produkty mięsne, co daje wzrost na poziomie około 339 milionów ton od 2021 roku [7]. Prawie połowa z tego to produkcja żywca drobiowego. Jednak w wyniku globalnych zmian gospodarczych koszty produkcji mięsa rosną, a jednym z czynników, który na to wpływa, jest żywienie zwierząt. W przypadku hodowli drobiu koszty są niższe niż w przypadku produkcji wieprzowiny bądź wołowiny, co sprawia, że przemysł drobiarski staje się bardziej opłacalny i przyszłościowy m.in. ze względu na cenę i dostępność surowca. Czynniki antropogeniczne odpowiadają za 35-40% rocznej emisji CH<sub>4</sub>. Jednym z czynników wpływających na wysoki poziom śladu węglowego jest intensyfikacja hodowli zwierząt. Kluczowe jest więc zidentyfikowanie poszczególnych czynników wpływających negatywnie na środowisko i znalezienie odpowiednich rozwiązań w celu zrównoważenia działalności produkcyjnej człowieka. Sam fakt wyboru mięsa, jako surowca spożywczego jest istotnym czynnikiem wpływającym na klimat. Wynika to z równowaznika CO<sub>2</sub> na kilogram wyprodukowanego białka zwierzęcego. Mięso drobiowe wykazuje najniższą emisyjność na wyprodukowanie jednego kilograma białka, w stosunku do innych zwierząt hodowanych. W związku z tym jest znacznie bardziej ekologicznym rozwiązaniem dla konsumentów, podczas wyboru źródła białka w diecie [8].

### 3. Trendy konsumenckie

Kontrola śladu węglowego przez przedsiębiorstwa staje się korzystna dla środowiska jak i biznesu. Wraz ze wzrostem inflacji, wzrasta wartość energii oraz pracy ludzkiej. Odbija się to na produkcji paszowej, której problemem staje się wzrost kosztów, skupu i transportu surowców. Analizy sektorowe *Agro Nawigator* z 2022 roku [9] przedstawiły narastające kłopoty związane z cenami pasz i opłacalnością produkcji zwierzęcej. Popularniejszy jednak staje żywiec drobiowy, który jako tańsze mięso może zyskiwać na rynku względem wołowiny czy wieprzowiny.

Żywiec drobiowy jest produktem wysoce pożądanym przez konsumentów jako surowiec dietetyczny. W związku z tym występuje duża konkurencyjność mechanizmów promocyjnych. Pojawia się rozpropagowanie kampanii świadomości konsumenckiej związanej ze śladem węglowym, bądź dobrostanem zwierząt hodowlanych [5]. Poszerza się popularność produktów z oznaczeniami o niskiej emisyjności produkcji [10]. Podejmowane wybory konsumenckie mogą mocno odcisnąć się na poziomie emisji GHG. Stosowanie diety zawierającej produkty o niskiej emisyjności, może wpływać na modyfikację popytu na rynku i zmiany struktur produkcji zwierzęcej.

Analizy przedstawione przez *Carbon Footprint Foundation* (2022) wskazały, że aż 49% Polek i Polaków jest zmotywowanych do działania na rzecz ochrony środowiska naturalnego. Ze względu na niski poziom edukacji w dziedzinie ekologii nie wiedzą, w jaki sposób mogą przyczynić się do poprawy sytuacji na świecie. Raport wykazał, że do najczęściej stosowanych działań proekologicznych, należą segregacja śmieci (82%) i używanie wielorazowych toreb (70%) [11]. Powszechnym jest jednak pogląd, że indywidualne działania nie mają, lub mają w bardzo niskim stopniu wpływ na zmiany klimatu. Wprowadzanie kampanii dotyczących emisyjności żywienia, poprawi edukację konsumencką i przyczyni się do zmian w podstawowych wyborach zakupowych. Atrakcyjnym rozwiązaniem staje się również wybór mięsa drobiowego jako zamiennika wołowiny, która charakteryzuje się wyższym wskaźnikiem emisyjności gazów cieplarnianych.

#### 4. Redukcja emisji GHG z sektora hodowli drobiu

Sektor hodowli zwierząt na przestrzeni XXI wieku, będzie musiał stawić czoła trudnym decyzjom i wyzwaniom. Z powodu zmian klimatu, które pogarszają warunki utrzymania zwierząt i obniżają produktywność min. podnosząc stres cieplny zwierząt. Wynikiem staje się pogorszenie stanu ich zdrowia, obniżenie jakości produktów takich jak mięso czy jaja [12].

Zrównoważona produkcja żywności jest jednym z wyzwań współczesnego świata. Narastające problemy klimatyczne wyłaniają potrzebę dokładniejszej identyfikacji źródeł emisji oraz upowszechnienia praktyk rolniczych, które przyczyniłyby się do jej zmniejszenia. Minimalizacja śladu węglowego wymaga jednak wieloetapowych badań, które zaczynają się od analizy cyklu życia komponentów paszowych, a kończących na technikach przetwórstwa i transportu. Pierwszym krokiem jest opracowanie kompletnej diety dla zwierząt hodowlanych, która spełnia ich zapotrzebowanie na składniki odżywcze [13]. Bilansowanie zawartości białka i energii powinno kierować się w stronę zrównoważonego żywienia. Obniżenie normy białka o 30-40% w dawkach drobiu, wykazuje pozytywny wpływ na poziom emisji gazów cieplarnianych [14-16]. Nadmiar aminokwasów w diecie jest eliminowany z organizmu w postaci amoniaku, a to podnosi potencjał generowania GHG z obornika. Amoniak w stanie ciekłym może również zanieczyścić gleby i wody gruntowe wysokim stężeniem azotu. Przygotowanie i zadawanie pasz ma pośredni wpływ na zanieczyszczenia odzwierzęce. Alternatywnym wyjściem dla zrównoważonego rozwoju produkcji zwierzęcej jest zastosowanie diet o zbilansowanym zapotrzebowaniu na aminokwasy strawne oraz obniżonej koncentracji energii i białka [17].

Dodatki paszowe mogą zagwarantować wysokie efekty produkcyjne, poprawę jakości surowców, ale i również wpłynąć na obniżenie szkodliwości gospodarstwa na środowisko naturalne. Są atrakcyjne dla hodowcy pod kątem poprawy wykorzystania paszy i pozytywnego wpływu na zdrowie zwierząt, oszczędzając tym samym na kosztach związanych z kontrolą weterynaryjną czy zużyciem paszy. Poprawiają również jakość materiału paszowego, stabilizując jego cechy. Jako dodatki paszowe w żywieniu zwierząt hodowlanych często wybierane są: prebiotyki, probiotyki, synbiotyki, enzymy paszowe, barwniki, substancje aromatyczne i smakowe itp. [18].

#### 5. Mikroalgi w zrównoważonym żywieniu drobiu

Za ślad węglowy produkcji zwierzęcej odpowiada głównie azot (N) i fosfor (P), które wydalone są z organizmu z powodu niskiego poziomu ich przyswajalności. Wprowadzanie dodatków paszowych ma na celu wspomóc te czynniki, tym samym wpływając pozytywnie na środowisko i ekonomię przedsiębiorstwa. Redukcja śladu węglowego ma miejsce w wymianie surowców, których produkcja, bądź transport jest wysoce emisyjny.

Przykładem, może być częściowe zastąpienie mączki sojowej mączką z mikroalg, która posiada podobne walory żywieniowe. Natomiast charakteryzuje się szybszym tempem wzrostu, jakością biomasy i bogactwem w składniki odżywcze. Jak donosi Gerrard i wsp. (2015) algi mogą zastąpić soję w żywieniu drobiu, nie obniżając dobrostanu zwierząt [19]. Produkcja alg charakteryzuje się niższymi wymaganiami niż uprawa soi, obniża intensywność eksploatacji gruntów rolnych oraz ich wyjałowienie na przestrzeni czasu. Dodatkowo ich produkcja charakteryzuje się niższą emisyjnością gazów cieplarnianych.

Algi wykazują od 10 do 1000 razy intensywniejszy wzrost i są lepszym źródłem biomasy niż jakiegokolwiek rośliny lądowe. Efektywność wykorzystania promieni słonecznych

przez mikroglony jest nawet od 10 do 50 razy wyższa, a jest to związane z lepszym bio wiązaniem CO<sub>2</sub> [20]. Algi są również atrakcyjnym surowcem żywieniowym i ze względu na wysoką zawartość białka (od 6 do nawet 52%) [21] mogą służyć jako komponent białkowy w dietach drobiu. Zawartość węglowodanów (od 5 do 23%) i lipidów (od 7 do 23%) jest zróżnicowana i zależna od rodzaju algi. Co więcej, algi wzbogacają dietę w wielonienasycone kwasy tłuszczowe  $\omega$ -3 i  $\omega$ -6 (*PUFA*), składniki mineralne, karotenoidy i witaminy [22].

Wykorzystanie mikroalg w mieszankach paszowych dla drobiu może skutecznie obniżyć koszty żywienia zwierząt oraz minimalizować poziom śladu węglowego bezpośrednio i pośrednio (wpływ na zdrowie zwierząt, strawność pobranego materiału paszowego czy podniesienie jakości produktów odzwierzęcych). Badania wykazują korzystny wpływ mikroglonów na mikroflorę żołądka brojlerów, obniżenie się skali agresji i kaniibalizmu w stadzie. Stwierdzono również poprawę wyników wartości odżywczych w żółtkach jaj takich jak: profil nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT) czy zawartość karotenoidów [19].

Jednakże warto podkreślić, że glony stanowią całkiem nowy surowiec paszowy bogaty w białko. Dalsze badania nad wpływem na zdrowie, trawienie, funkcjonowanie i produktywność drobiu są niezbędne jeśli algi miałyby się stać konkurencją dla rozpowszechnionych i tradycyjnych źródeł białka w żywieniu drobiu [20]. Dodatkowo produkcja alg na skalę przemysłową wymaga wciąż dużej ilości testów i analiz, ponieważ do tej pory wdrożenie intensywnej hodowli drobiu wymaga dużych nakładów inwestycyjnych. Dodatkowymi problemami uprawy mikroglonów jest szereg procesów zbioru i przetwarzania w celu otrzymania produktu końcowego w formie mączki o określonych, standaryzowanych właściwościach. Do takich działań należą m.in.: wirowanie, filtracja, flokulacja, flotacja, sedymentacja, grawitacyjna i elektroforeza.

Ograniczenie poszczególnych elementów w szeregu produkcji surowca z alg może zminimalizować negatywny wpływ na środowisko. Jednym z pomysłów jest stworzenie lokalnych punktów produkcji i włączenie cyrkulacji materii pomiędzy żywieniem drobiu a pożywką dla alg [23]. Polega to na wykorzystaniu odchodów zwierząt jako pożywki dla mikroalg, a następnie po przetworzeniu, wykorzystanie ich jako surowca paszowego [24]. Takie postępowanie obniżyłoby koszty związane z zakupem nawozów i pożywek oraz transportu materiału. Rodzaj paszy i lokalizacja produkcji roślinnej to ważne czynniki wpływające na emisję gazów cieplarnianych podczas procesu produkcji zwierzęcej. Innowacyjne rozwiązania żywieniowe pozwalają więc na zrównoważenie przemysłu rolniczego i rozwiązywanie problemów ekonomicznych przedsiębiorstw.

Ważne jest, aby producenci pasz dla zwierząt, w tym przemysł drobiarski, dążyli do minimalizowania negatywnego wpływu produkcji zwierzęcej na środowisko naturalne, poprzez poszukiwanie bardziej zrównoważonych źródeł pasz.

## 6. DDGS w żywieniu drobiu

DDGS – z ang. *Dried Distillers Grains with Solubles*, czyli suszony gorzelniany wywar ze skrobi kukurydzianej jest produktem ubocznym produkcji spirytusu, powstaje po oddestylowaniu alkoholu etylowego z zacieru. Materiał ten wykorzystywany jest jako popularne i ekonomiczne źródło białka dla wielu grup zwierząt hodowlanych, również dla niosek i brojlerów. DDGS, oprócz białka dostarcza do mieszanki także tłuszcz, skrobię i włókno, witaminy z grupy B, witaminę A i E, oraz mikro- i makroelementy takie

jak cynk (Zn), miedź (Cu), żelazo (Fe), selen (Zn) [20]. W odniesieniu do wpływu na środowisko naturalne DDGS wykazuje największą emisję gazów cieplarnianych, w porównaniu do innych podstawowych surowców takich jak: kukurydza czy śruta sojowa. Badania Benavides i wsp. (2020) [25] wskazują na wyraźne podniesienie się śladu węglowego paszy po zwiększeniu procentowego udziału DDGS w diecie kurcząt brojlerów (wykres 2). W porównaniu do innych surowców podstawowych wykazał się najwyższą emisyjnością, nie wliczając dodatków aminokwasowych (wykres 1) [25]. Ocena przedstawiona na wykresach opierała się na zużyciu paliw kopalnych, wody i energii w transporcie podczas formułowania i wykorzystywania konkretnych rodzajów pasz i składników.

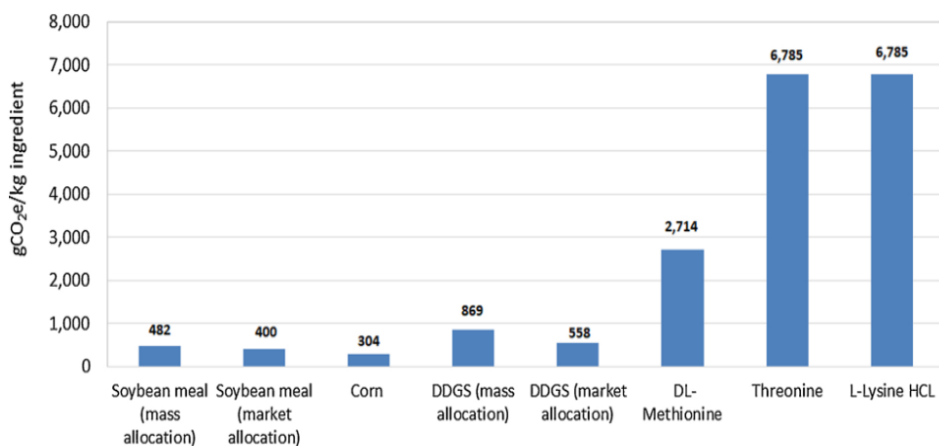


Fig. 2. Carbon intensity using mass and market allocations for main ingredients in swine and poultry diets.

RYC. Animal Feed Science and Technology - Life-cycle analysis of soybean meal, distiller-dried grains with solubles, and synthetic amino acid-based animal feeds for swine and poultry production.

Wykres 1. Intensywność emisji dwutlenku węgla przy użyciu alokacji masowych i rynkowych dla głównych składników diet dla świń i drobiu [25]

Benavides i wsp. (2020) przedstawili i porównali poziom emisyjności surowców paszowych oraz wpływ dodatku DDGS w połączeniu z innymi komponentami paszowymi w różnym procencie, na wyniki odchowu kurcząt brojlerów; masę ciała czy współczynnik wykorzystania paszy. Ze wszystkich przedstawionych na wykresie substratów to aminokwasy stanowiły największe źródło produkcji CO<sub>2</sub>. Suszony gorzelniany wywar ze skrobi kukurydzianej okazał się drugim co do emisyjności surowcem.

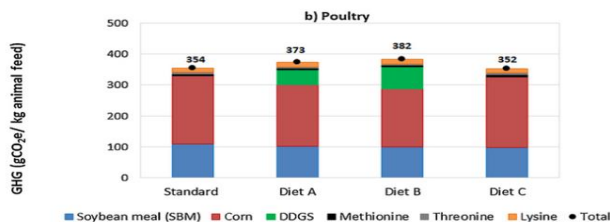


Fig. 3. Greenhouse gas emission contribution of each ingredient per one kg of animal feed for a) swine and b) poultry diets. Note: both subfigures a and b) are calculated based on market allocation method.

RYC. Animal Feed Science and Technology - Life-cycle analysis of soybean meal, distiller-dried grains with solubles, and synthetic amino acid-based animal feeds for swine and poultry production.

Wykres 2. Udział w emisji gazów cieplarnianych każdego składnika na 1 kg paszy dla diety drobiu [25]

Produkt ten, jako że jest produktem ubocznym przetwórstwa spirytusowego, pozwala na pełne wykorzystanie surowca, jakim jest kukurydza. Stosowana jest więc cyrkulacja materii, ekologiczna pod kątem oszczędności wykorzystania infrastruktury, upraw roślin i zużycia nawozów. Dodatkowo DDGS wkomponowany w receptury podnosi wartość żywieniową i z uwagi na korzystną dla przedsiębiorcy cenę, obniża koszty całkowite żywienia. Wysoka koncentracja białka oraz dobra dostępność na rynku paszowym sprawia, że producenci chętnie wybierają ten surowiec w celu zmniejszenia udziału poekstrakcyjnej śruty sojowej, słonecznikowej bądź rzepakowej przy bilansowaniu mieszanek paszowych [25]. Takie postępowanie niesie ze sobą korzyści w postaci racjonalnego zagospodarowania surowców roślinnych, cyrkulacji materii, dodatkowo oszczędzając problemów utylizacji odpadów [24]. W efekcie dochodzi do podniesienia ekonomiki przedsiębiorstwa oraz symbiozy producentów na tle zagospodarowania produktów ubocznych [20].

## **7. Czynniki wpływające na szkodliwość produkcji zwierzęcej**

Dystrybucja rolnicza dzieli się na import i eksport. Oba, pośrednio i bezpośrednio, oddziałują degradująco na środowisko naturalne. Transport surowców rolno spożywczych np. soi, zazwyczaj odbywa się drogą morską na duże odległości, przy wykorzystaniu szerokiej infrastruktury i zużyciu nieodnawialnych paliw kopalnych. W ten sposób działa niekorzystnie podnosząc poziom śladu węglowego danego przedsiębiorstwa skupującego produkty zagraniczne [26].

Z drugiej strony, uprawa roślin wymaga dostosowania i eksploataowania dużych obszarów ziemi. Każdego roku wycinane jest 31 milionów hektarów lasów [26]. Za każdym razem przeprowadzenie takich zabiegów zużywa wysokie nakłady energii i wykorzystuje maszyny, które doprowadzają do erozji i degradacji gleb, a nawet podziału bioróżnorodności. Intensywna produkcja roślin wymaga użycia dużej ilości wody, nawozów i pestycydów. Ich wysokie stężenie doprowadza do przedostawania się substancji do wód gruntowych, a to bezpośrednio generuje ich zanieczyszczenie chemiczne [27].

W intensywniej hodowli zwierząt dochodzi do wysokiej produkcji odchodów zwierząt, które zazwyczaj gromadzone są przez gospodarstwo, niekiedy sprzedawane, bądź wykorzystywane jako nawóz. Nie zawsze istnieją możliwości zagospodarowania obornika, a pozostałości rozkładane są na stosunkowo niewielkiej przestrzeni, gdzie zakwaszają glebę i przedostają się do wód gruntowych [28]. Brak wykorzystania cyrkulacji materii w przyrodzie zakłóca naturalny bilans między produkcją surowców a odpadami.

W związku z powyższym poszukiwane są alternatywne rozwiązania żywieniowe mogące ograniczyć szkodliwość produkcji zwierzęcej na środowisko.

## **8. Podsumowanie**

Aktualnie ważnym wyzwaniem dla sektora rolniczego jest redukcja emisji gazów cieplarnianych (GHG) w celu złagodzenia skutków zmian klimatycznych.

Koszty żywienia zwierząt hodowlanych są stosunkowo wysokie a nawet stanowią większą część wydatków gospodarstwa (nawet 70% kosztu procesów produkcyjnych). Zagospodarowanie produktów ubocznych przemysłu rolno-spożywczego pozwala na zmniejszenie kosztów żywienia zwierząt hodowlanych. Ze względu na wysoką i niestabilną cenę śruty sojowej szukanie jej alternatywnych zamienników jest niezwykle istotne. Opisane w pracy zamienniki surowców białkowych, przynoszą korzyści ekonomiczne, jak i również środowiskowe, poprzez obniżenie emisyjności żywienia zwierząt. Mikroalgi jako łatwo przyrastający materiał paszowy może skutecznie zredukować ślad węglowy

w sektorze żywienia drobiu. Również ze względu na możliwe wykorzystanie cyrkulacji materii, czyli ponownego użycia substratu. Korzystając również na utylizacji, transporcie, nowych surowcach. Okazuje się więc, że dobrze zagospodarowane wykorzystanie alg może holistycznie poprawić stan wpływu na środowisko przedsiębiorstwa. Natomiast wpływ DDGS na ślad węglowy dawek pokarmowych, który okazał się podnosić wraz ze wzrostem udziału surowca. Co świadczy o jego wysoce negatywnym znaczeniu pod kątem wpływu na środowisko. Innym analizowanym aspektem były alternatywne rozwiązania m.in. w zakresie transportu wodnego, który jest wysoce emisyjny w stosunku do lądowego czy powietrznego, pomagają redukować negatywny wpływ produkcji zwierzęcej na środowisko naturalne. Systematyczne wprowadzanie ekologicznych praktyk, takich jak przykładowa cyrkulacja materii, pozwala na zrównoważenie rolnictwa i produkcji zwierzęcej. W związku z czym innowacyjne podejście do żywienia ma kluczowe znaczenie dla przyszłości i rozwoju produkcji drobiarskiej.

## Literatura

1. Kulczycka J., Wernicka M., *Zarządzanie śladem węglowym w przedsiębiorstwach sektora energetycznego w Polsce – bariery i korzyści*, Polityka energetyczna – energy policy journal, Tom 18 Zeszyt 2, 2015.
2. Zarczuk J., Klepacki B., *Pojęcie, znaczenie i pomiar śladu węglowego (carbon footprint)*, Economics and Organization of Logistics, 2021.
3. Venkat K., *Carbon Footprint Analysis for Eco-Labeling*, Surya Technologies, 2007.
4. Roszkowski A., *Technologia produkcji zwierzęcej a emisje gazów cieplarnianych*, Problemy Inżynierii Rolniczej nr 2/2011, Instytut Technologiczno-Przyrodniczy w Falentach, 2010.
5. Konieczny P., Mroczek E., Kucharska M., *Ślad węglowy w zrównoważonym łańcuchu żywnościowym i jego znaczenie dla konsumenta żywności*, Journal of Agribusiness and Rural Development, 3(29), 2013, s. 51-64.
6. Krawczyk J., Wężyk S., *Polski rynek mięsa drobiowego w okresie integracji z Unią Europejską*, Postępy Nauk Rolniczych nr 1/2005, Balice 2005.
7. OECD/FAO (2017), *OECD-FAO Agricultural Outlook 2017-2026*, OECD Publishing, Paryż 2017.
8. Fundacja im. Heinricha Bölla w Warszawie, Fundacja Instytutu na rzecz Ekorozwoju, Polska, Atlas mięsa - Meat Atlas (2022), *Fakty i dane na temat zwierząt, które zjadamy*, Warszawa 2022.
9. Dziwulski M., *Analizy Sektorowe*, Departament Analiz Ekonomicznych, Agro Nawigator, 2022.
10. Bieńkowski J., Holka M., Dąbrowicz R., Dworecka-Wąż E., *Emisje gazów cieplarnianych związane z różnymi scenariuszami diet mieszkańców Polski*, Zeszyty Naukowe Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Problemy Rolnictwa Światowego tom 16, 2016.
11. Carbon Footprint Foundation CFF, *Co Polaki i Polki wiedzą o śladzie węglowym?*, Ogólnopolskie badania postaw ekologicznych, Kraków 2022.
12. Nardone A., Ronchi B., Lacetera N., Ranieri M.S., Bernabucci U., *Effects of climate changes on animal production and sustainability of livestock systems*, Livestock Science, 130, 2010.
13. Paustian K., Antle M., Sheehan J., Eldor P., *Agriculture's Role in Greenhouse Gas Mitigation*, Pew Center on Global Climate Change, 2006.
14. Fiedorowicz E., Sobotka W., *Poekstrakcyjna śruta sojowa a alternatywne źródła białka roślinnego dla trzody chlewnej*, Przegląd Hodowlany, 4/2013, Olsztyn 2013.

15. Binder M., *Life cycle thinking in animal production*, Aminofootprint 2.1—the smart LCA for the daily feed business, 2017.
16. US EPA, *Wykaz emisji i pochłaniaczy gazów cieplarnianych w USA: 1990-1996*, Agencja Ochrony Środowiska Stanów Zjednoczonych, Waszyngton 1998.
17. Księżak J., Gawel E., Staniak M., *Dodatki paszowe stosowane w żywieniu zwierząt monogastrycznych i przeżuwaczy*, Studia i raporty IUNG - PIB, Zeszyt 23, Puławy 2010.
18. Griep W., Binder M., *Pork production ecological burden is decreasing thanks to more sustainable 493 animal feed practices*, AMINONews, 2017.
19. Gerrard C.L., Smith J., Nelder R., Bright A., Colley M., Clements R., Pearce B.D.: *100% organic poultry feed: can algae replace soybean expeller in organic broiler diets?*, Org. Farm, 2015.
20. Grela E.R., *Alternatywne dla soi pasze białkowe w żywieniu świń i drobiu*, Życie weterynaryjne, Lublin 2020.
21. Becker E.W., Venkataraman V.L., *Biotechnology and exploitation of algae: the Indian approach*, Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit, 1982.
22. Borowitzka M.A., Moheimani N.R., *Sustainable biofuels from algae*, Mitig Adapt Strateg Glob Change, 18, 2013, s. 13-25.
23. Shahid A., Malik S., Zhu H., Xu J., Nawaz M.Z., Nawaz S., Asrafal Alam M., Mehmood M.A., *Cultivating microalgae in wastewater for biomass production, pollutant removal, and atmospheric carbon mitigation, a review*, Sci Total Environ, 2020.
24. Chojnacka K., Saeid A., Michalak I., *Możliwości zastosowania biomasy alg w rolnictwie*, CHEMIK 2012, 66, 11/2012, 2012.
25. Benavides P.T., Caia H., Wanga M., Bajjalieh N., *Life-cycle analysis of soybean meal, distiller-dried grains with solubles, and synthetic amino acid-based animal feeds for swine and poultry production*, Animal Feed Science and Technology, Volume 268, 2020.
26. Prudêncio da Silva V., van der Werf H.M.G., Spies A.S., Soares R., *Variability in environmental impacts of Brazilian soybean according to crop production and transport scenarios*, Journal of Environmental Management, Volume 91, Issue 9, 2010.
27. Siegford J.M., Powers W., Grimes-Casey H.G., *Environment aspects of ethical animal production*, Poultry Science, Volume 87, Issue 2, 2008.
28. Fact Sheet APRODEV for EU CAP REFORM 2013, CAP LOBBY BRIEF 5, [www.actalliance.eu/wp-content/uploads/2018/11/APRODEV-CAP-Lobby-Brief-5\\_Standards-Final.pdf](http://www.actalliance.eu/wp-content/uploads/2018/11/APRODEV-CAP-Lobby-Brief-5_Standards-Final.pdf), [data dostępu: 06.01.2013].

## Redukcja śladu węglowego w systemach żywienia drobiu

### Streszczenie

Hodowla zwierząt, przetwórstwo mięsa, a w końcu przygotowanie produktu do spożycia przez ludzi, wymagają nakładów energii i surowców. Wszystkie te elementy przyczyniają się pogłębiania zmian klimatycznych. Szczególnie oddziałuje na to poziom emisji gazów cieplarnianych czy zanieczyszczenie wód gruntowych. W pracy przedstawiono wpływ sektora żywieniowego produkcji drobiarskiej na środowisko naturalne. Przeanalizowane zostały treści oraz dane zawarte w piśmiennictwach naukowych, pod kątem zmian, jakie można wprowadzić w sektorze żywienia drobiu w celu zminimalizowania śladu węglowego. Wykonane analizy źródeł dotyczyły czynników wpływających na wzrost bądź obniżenie poziomu emisji gazów oraz zanieczyszczeń środowiskowych. Zestawione dane, dotyczące systemów żywienia oraz produkcji rolniczej, opisują różne aspekty intensywnie rozwijających się działalności rolniczych, transportowych, produkcyjnych. Wprowadzone zostały alternatywne środki mogące poprawić sytuację wysokiego poziomu śladu węglowego. Jednak ujawnione problemy związane ze słabo rozwiniętą praktyką carbon friendly, oraz niskim rozpowszechnieniem, mówią jedynie o zachowaniu rozwiązań na przyszłość. Mimo, iż mniej szkodliwe surowce paszowe przedstawiają się obiecująco jako alternatywne rozwiązanie dla produkcji zwierzęcej. Ich działanie nie jest wystarczająco dobrze znane i rozpowszechnione by stały się dobrej jakości podstawowym surowcem. Autorka przedstawiła narastający problem stężenia GHG w przemyśle i produkcji zwierzęcej oraz uwzględniła wady i zalety obecnie wprowadzanych, możliwości żywieniowych. Opisane w pracy surowce wykazywały różny



poziom wpływu na zwiększenie emisji GHG do środowiska. Najlepszym profilem wyróżniła się mączka z mikroalg, której walory świadczą o obiecującym kierunku produkcji glonów, jako komponentów paszowych na wysoką skalę. Nieco inną perspektywą objęty został produkt uboczny produkcji spirytusowej – DDGS, który wykazał największy wpływ na poziom śladu węglowego. Biorąc pod uwagę główne źródła emisji gazów cieplarnianych, tzn. odchodów zwierząt hodowlanych, można zidentyfikować przyczyny zwiększonej toksyczności w hodowli. Praca prowadzi do konkluzji, iż szkodliwy wpływ produkcji zwierzęcej na środowisko jest nieunikniony, natomiast istnieją innowacyjne rozwiązania mogące go zminimalizować. Wszystkie opcje jednak wymagają wielu badań by móc ocenić ich wpływ na poziom produktywności oraz ich niekorzystny wpływ na zmiany klimatyczne.

Słowa kluczowe; żywienie zwierząt, drób, ślad węglowy

## **Reducing the carbon footprint of poultry feeding systems**

### **Abstract**

Raising animals, processing meat and eventually preparing the product for human consumption all require energy and raw material inputs. All of these elements contribute to exacerbating climate change. This is particularly affected by greenhouse gas emissions or groundwater pollution. The paper presents the environmental impact of the poultry production nutrition sector. Content and data from scientific literature were analyzed, in terms of changes that can be made in the poultry nutrition sector to minimize the carbon footprint. The source analyses performed addressed factors that increase or decrease gas emissions and environmental pollutants. The data compiled, on feeding systems and agricultural production, describe various aspects of intensively growing agricultural, transportation, production activities. Alternative measures have been introduced that can improve the situation of high carbon footprint. However, the revealed problems of underdeveloped carbon friendly practices, and low uptake, speak only of preserving solutions for the future. Although less harmful feedstocks show promise as an alternative solution for livestock production. Their performance is not sufficiently well known and widespread to become a good quality basic feedstock. The author presented the growing problem of GHG concentrations in industry and animal production and considered the advantages and disadvantages of currently introduced, feed options. The raw materials described in the paper showed different levels of impact on increasing GHG emissions into the environment. The best profile was distinguished by microalgae meal, whose qualities indicate a promising direction for the production of algae as feed components on a large scale. A slightly different perspective was given to the by-product of spirit production-DDGS, which showed the greatest impact on the carbon footprint. Considering the main sources of greenhouse gas emissions, i.e. livestock manure, the causes of increased toxicity in livestock farming can be identified. The work leads to the conclusion that the harmful impact of livestock production on the environment is inevitable, while there are innovative solutions that can minimize it. However, all options require a lot of research to assess their impact on productivity levels and their adverse effects on climate change.

Keywords; animal nutrition, poultry, carbon footprint

## **Rola swoistych substancji owoców i warzyw w żywieniu zwierząt gospodarskich**

### **1. Wstęp**

W ostatnich latach, ekspansja rozwoju przemysłu rolno-spożywczego przyczyniła się do zwiększenia powstawania dużych ilości produktów ubocznych żywności. Należą do nich roślinne produkty uboczne pochodzące z upraw rolnych lub przetwórstwa warzyw i owoców [1]. Obowiązujące przepisy określające możliwości wykorzystania powstających przy produkcji produktów ubocznych zachęcają przemysł spożywczy do poszukiwania nowych alternatyw ich wykorzystania [2]. Zastosowanie produktów ubocznych przetwórstwa owocowo-warzywnego w żywieniu zwierząt gospodarskich jest jednym ze sposobów zmniejszających, obciążające środowisko naturalne, oddziaływanie sektora żywnościowego oraz zwiększające opłacalność sektora hodowlanego. Produkty uboczne powstające podczas przetwarzania warzyw i owoców mogą m.in.: przyczynić się do zaspokojenia rosnącego zapotrzebowania na białko zwierzęce, które będzie efektem prognozowanego wzrostu populacji do 2050 roku [3]. Dzięki obecności wielu składników odżywczych stanowią cenny surowiec możliwy do wykorzystania w żywieniu zwierząt gospodarskich. Ponadto warzywa oraz owoce, a także produkty uboczne ich przetwarzania, są cennym źródłem związków polifenolowych, charakteryzujących się prozdrowotnymi właściwościami [4]. Substancje bioaktywne, a zwłaszcza związki fenolowe są głównymi substancjami, które korzystnie oddziałują na organizm zwierząt. Dzięki różnorodnym mechanizmom biochemicznym wykazują szerokie spektrum działania, jak m.in. przeciwutleniające, przeciwdrobnoustrojowe, przeciwzapalne, przeciwalergiczne, a także kardiochronne oraz przeciwnowotworowe [5].

Celem pracy jest przegląd najnowszej literatury dotyczącej możliwości wykorzystania produktów ubocznych przetwórstwa wybranych warzyw i owoców w żywieniu zwierząt gospodarskich, ze względu na ich właściwości odżywcze i bioaktywne.

---

<sup>1</sup> szymon.milewski@up.lublin.pl, Instytut Żywienia Zwierząt i Bromatologii, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, www.up.lublin.pl/.

<sup>2</sup> julia.fabjanowska@up.lublin.pl, Instytut Żywienia Zwierząt i Bromatologii, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, www.up.lublin.pl/.

<sup>3</sup> bozena.kiczorowska@up.lublin.pl, Instytut Żywienia Zwierząt i Bromatologii, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, www.up.lublin.pl/.

<sup>4</sup> renata.klebaniuk@up.lublin.pl, Instytut Żywienia Zwierząt i Bromatologii, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, www.up.lublin.pl/.

<sup>5</sup> wioletta.samolinska@up.lublin.pl, Instytut Żywienia Zwierząt i Bromatologii, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, www.up.lublin.pl/.

<sup>6</sup> magdalena.moczulska@up.lublin.pl, Instytut Żywienia Zwierząt i Bromatologii, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, www.up.lublin.pl/.

## **2. Substancje bioaktywne**

Polifenole obecne w warzywach i owocach dzielą się na dwie główne grupy: flawonoidy i nieflawonoidy. do pierwszej grupy tych związków zalicza się flawanole, flawonole, antocyjanidyny, flawony, flawanony i chalkony. Nieflawonoidy obejmują: stylben, kwasy fenolowe, saponiny i garbniki [6]. Do najważniejszych właściwości tych substancji zalicza się aktywność przeciwnowotworową [7]. Charakteryzują się szerokimi możliwościami w zakresie biologicznych właściwości, jak np. biodostępność, znaczenie terapeutyczne, wchłanianie, interakcje z receptorami komórkowymi i enzymami, co głównie uwarunkowane jest ich budową chemiczną [8, 9]. Substancje polifenolowe po wchłonięciu do organizmu są poddawane procesom metylacji, glukuronidacji lub siarczkowaniu w błonie śluzowej jelita i tkankach wewnętrznych [10]. Jak podają Fraga i in. [11] mechanizm oddziaływania polifenoli na organizm opiera się m.in. na ich oddziaływaniu z enzymami, czynnikami transkrypcyjnymi oraz receptorami. Polifenole mogą działać jako skuteczne inhibitory aktywności wielu enzymów, w tym tych zależnych od ATP. Niektóre polifenole wykazują zdolność do konkurencyjnego wiązania z miejscem wiązania enzymu ATP. W takim przypadku konkurencja ta może wynikać z obecności dwóch podstawień hydroksylowych w pozycji 5,7 w pierścieniu A flawonoidu, a także nienasyceń 2,3 wraz z grupą 4-keto w pierścieniu C [12]. W przypadku oddziaływania na czynniki transkrypcyjne wykazano, że niektóre flawanole np. procyanidyny, wykazują zdolność do modulowania ekspresji wielu genów, które są związane z procesami zapalnymi oraz karcynogenezą [13]. Oddziaływanie polifenoli na receptory uwarunkowane jest analogiczną budową tych dwóch substancji. Przykładem tego jest podobieństwo struktur estrogenów i izoflawonów. Zapewnia to polifenolom zdolność działania agonistycznego lub antagonistycznego do tego hormonu [14].

Wiele chorób u zwierząt związane są ze stresem oksydacyjnym i obecnością reaktywnych form tlenu. Procesy z nimi związane powodują degenerację struktur komórkowych, co istotnie wpływa na procesy starzenia się i kancerogenezę. Egzogenne antyoksydanty stanowią system ochronny organizmu, ponieważ posiadają zdolność do neutralizacji reaktywnych form tlenu [15]. Ze względu na ich wielokierunkowe działanie na organizmy zwierzęce, w tym silne właściwości antyoksydacyjne, polifenole coraz częściej znajdują zastosowanie w żywieniu zwierząt gospodarskich. Wykazano, że ich dodatek w diecie świń reguluje metabolizm kwasów tłuszczowych i cholesterolu w wątrobie. W przypadku bydła ogranicza niepożądane zmiany oksydacyjne wywołane dużą podażą wielonienasyconych kwasów tłuszczowych [16, 17].

## **3. Wybrane owoce i ich produkty uboczne w żywieniu zwierząt gospodarskich**

### **3.1. Winogrono**

Polifenole winogronowe mają ogromne znaczenie dla zdrowia człowieka ze względu na ich biologiczne właściwości przeciwutleniające, przeciwzapalne, przeciwnowotworowe i przeciwbakteryjne [18], które są związane z klasą i zawartością związków polifenolowych [19]. Pozostałe po procesie przetwarzania winogron skórki oraz ich nasiona, charakteryzują się dużą ilością flawonoidów, które stanowią bogate źródło związków bioaktywnych, jak: katechina, epikatechina, kwas kawowy i kwercetyna [20]. W skórkach winogron metabolitami wtórnymi należącymi do nieflawonoidów są stylbeny, kwas hydro-

ksybenzoesowy i kwas hydroksycynamonowy [21]. Flawonoidy zawarte w skórkach charakteryzują się właściwościami kardioprotekcyjnymi, a kaempferol wykazuje działanie antyoksydacyjne i przeciwnowotworowe. Wytłoki z winogron zawierają związki fenolowe, flawonoidy i monomeryczne antocyjany o właściwościach przeciwutleniających [22]. Korzystny wpływ wykorzystania mąki z pozostałości winogron na wyniki produkcyjne owiec Lacaune w warunkach stresu cieplnego wykazali Alba i in. [23]. Wyniki ich badań sugerują, że 15 dniowa suplementacja dawek pokarmowych mąką z produktów ubocznych powstałych w przetwórstwie winogron w ilości 20 g/kg u owiec mlecznych przyczyniła się do wzrostu produkcji mleka o 5% w porównaniu do grupy kontrolnej. Dodatek wpłynął się również na poprawę jakości mleka owiec. Wykazano, że pomimo podobnej zawartości białka i laktozy w mleku, po dwóch tygodniach notowano wyższe całkowite stężenie substancji stałych (o 6%) i tłuszczu (o 12%) w mleku owiec otrzymujących badaną mączkę. Wyniki tych badań również sugerują, że dzięki zwiększonej zawartości fenoli charakteryzujących się właściwościami antyoksydacyjnymi w diecie owiec wykazano wzrost odpowiedzi antyoksydacyjnej u owiec w stresie cieplnym, co może być uwarunkowane wysoką zawartością katechin, epikatechin, kwercetyny oraz resweratrolu w analizowanym dodatku paszowym [24]. Badania Ianni i in. [25] skupiały się na ocenie wpływu podawania wytlóków z winogron krowom rasy fryzyjskiej. Cechują się one dużą zawartością polifenoli o silnych właściwościach przeciwutleniających. Jednak wprowadzenie do dawki pokarmowej krowom mlecznym suszonych wytlóków z winogron nie wpłynęło na zmiany podstawowego składu mleka. Nastąpiła natomiast modyfikacja profilu kwasów tłuszczowych tłuszczu mleka. Notowano w nim wzrost zawartości wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, takich jak: kwas linolowy, trans-wakceny i rumenowy oraz ogólnej liczby kwasów z rodziny n-6. Podobne zmiany zauważono w profilu kwasów tłuszczowych sera wytwarzanego z tego mleka. Dodanie suszonych wytlóków z winogron do diety krów wpłynęło pozytywnie na stabilność oksydacyjną sera poddanego procesowi dojrzewania.

Przeciwutleniające działanie winogron również potwierdzono w doświadczeniu żywieniowym prowadzonym na jagniętach rasy Chios [26]. Dietę zwierząt uzupełniono wytlókami winogronowymi w ilości 9%. Wyniki badań potwierdziły zmniejszenie stężenia markerów stresu oksydacyjnego we krwi m.in. substancji reaktywnych kwasu tiobarbiturowego (TBARS) w tkance wątroby, serca i śledziony o odpowiednio 33,3% i 44,4%. Ponadto eksperymentalna dawka pokarmowa zwiększyła wzrost fakultatywnych bakterii probiotycznych, jednocześnie hamując wzrost populacji patogenów, takich jak: *Enterobacteriaceae* i *E. coli* w mikrobiocie jelitowej. Według autorów może być to efektem obecności fruktanów i polisacharydów w wytlókach z winogron, które mają właściwości prebiotyczne [27]. Ponadto stwierdzono, że różne rodzaje polifenoli obecne w winogronach mogą zmieniać syntezę mikrobioty zwierzęcej poprzez ograniczanie wzrostu bakterii patogennych, wzmacnianie wzrostu bakterii probiotycznych i zwiększając ich różnorodność w jelicie [28].

Erinle i in. [29] analizując 2,5% udział wytlóków winogronowych w mieszance doświadczalnej stwierdził korzystny wpływ na dzienne przyrosty kurcząt brojlerów Cobb-500 w pierwszym okresie odchowu. Poprawa nastąpiła stosunku wysokości kosmków do głębokości krypt (o 19% w dwunastnicy i o 15% w jelicie czczym). Notowano jednocześnie korzystną modulację składu mikroflory jelitowej (zwiększona ilość *Bacteroidetes* i *Lacto-*

*bacillus*), podczas gdy stężenie krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych jelita ślepego nie uległo zmianie.

Na podstawie wyników badań strawnościowych przeprowadzonych metodą całkowitego pobrania odchodów dodatek 200 g suszonych wytlóków winogronowych (DGP) do dawek pokarmowych dla sportowych koni słowackich gorącokrwistych korzystnie wpłynął na strawność składników pokarmowych, natomiast dawki w ilości 400 g DGP działały już negatywnie na ich biodostępność. Autorzy tłumaczą obserwowane zmiany obecnością związków polifenolowych w wytlókach z winogron, które wprowadzone w optymalnym poziomie do dawki pokarmowej mogłoby poprawić strawność poprzez modyfikację morfologii jelit i mikroflory jelitowej [30].

### **3.2. Banan**

Produkty uboczne banana mogą być dodatkowym źródłem składników odżywczych pasz dla zwierząt, ponieważ są bogate w białko, włókno surowe, niezbędne dla zwierząt elementy mineralne oraz polifenole [31, 32]. Banany zawierają różnorodne stężenia związków bioaktywnych, takich jak: flawonoidy, garbniki, saponiny, antrachinony, steroidy, alkaloidy, glikozydy, fitosterole, fenole i terpenoidy [33]. Dzięki ich obecności charakteryzują się działaniem przeciwutleniającym, przeciwzapalnym i przeciwdrobnoustrojowym. Ponadto dzięki dużej zawartości flawonoidów wykazują także działanie bakteriostatyczne [22]. Głównym produktem ubocznym bananów stosowanych w żywieniu zwierząt jest skórka z banana. Charakteryzuje się wysoką zawartością fitoskładników, głównie przeciwutleniaczy. Skórka dojrzałego banana zawiera różne rodzaje związków takich jak: antocyjany, delfinidyna, cyjanki i katecholaminy, karotenoidy, beta-karoten, alfa-karoten [33].

Araya i in. [34] w swoich badaniach prowadzonych na kurczętach rasy Bovans Brown wprowadzali do diety ptaków dodatek paszowy zawierający w składzie 13%, 26%, 39% i 52% suszonej sproszkowanej skórki z banana. W doświadczeniu zaobserwowano proporcjonalne obniżenie przyrostów masy ciała i produkcji jaj do wzrostu udziału skórek bananowych w diecie. Optymalnym z założonych poziomów doświadczalnych dodatku żywieniowego okazał się udział 25% mączki ze skórki banana. W tej grupie doświadczalnej notowano porównywalne dzienne przyrosty masy ciała ptaków w porównaniu (26,42 g) do grupy kontrolnej (26,76 g). Zwiększenie udziału skórek bananów w mieszance paszowej skutkowało zmniejszeniem przyrostów masy ciała o 17,78, 16,67 i 15,11 g/dzień oraz produkcji jaj o 0,58, 0,4 i 0,22/dzień/kurę, czyli odpowiednio o 50, 75 i 100%. Przeprowadzone doświadczenie wykazało, że o ile przyrosty masy ciała i nieśność zmniejszały się wraz ze wzrostem udziału sproszkowanej skórki banana w diecie kurcząt, to już dawka pokarmowa z 13% zawartością skórki banana nie wpływała niekorzystnie na przyrosty masy ciała, nieśność. Jednocześnie kalkulacja ekonomiczna potwierdziła, że poniesiono niższy koszt na kilogram przyrostu masy ciała i na wyprodukowanie jaj. Wykorzystanie mączki bananowej z gatunku Kepok w żywieniu kur nieśnych analizowali także Leke i in. [35]. Naukowcy wykazali, że włączenie tego komponentu w ilości 20% do paszy ptaków, może zwiększyć wartość odżywczą jaj kurzych oraz poprawić ich profil tłuszczowy. Badania potwierdziły zwiększenie poziomu białka w jajach o 2,77% oraz zmniejszenie poziomu tłuszczu o 3,15%. Ponadto zaobserwowano także polepszenie parametrów zdrowotnych ptaków. Analiza biochemiczna krwi kur doświadczalnych wykazała obniżenie stężenia cholesterolu LDL o 25,6% oraz trójglicerydów o 14,16% w porównaniu

do ptaków kontrolnych. Jak podają autorzy korzystne oddziaływanie mączki z bananów Kepok na organizm zwierząt związane jest z wysoką zawartością beta-karotenów, które mogą obniżać zawartość cholesterolu we krwi oraz działać jako przeciwutleniacze zapobiegając utlenianiu nienasyconych kwasów tłuszczowych, co odzwierciedliło się w poprawie profilu lipidowego w uzyskanych w doświadczeniu produktach zwierzęcych [36]. W przypadku żywienia kurcząt brojlerów, dodatek mączki z bananów w dawce 10, 15 oraz 20% korzystnie wpłynął na wskaźniki produkcyjne, takie jak: dzienne pobranie paszy oraz przyrosty masy ciała [37].

### **3.3. Granat**

Skład chemiczny, w zakresie obecności substancji swoistych granatu jest bardzo złożony. Wyróżnia się w nim około 124 różnych wtórnych metabolitów, w tym około 48 związków fenolowych, flawonoidów, do których należą antocyjany i flawonole, taniny skondensowane (proantocyjanidyny) oraz garbniki elagitaniny i galotani. Związki fenolowe, a zwłaszcza garbniki ulegają procesowi hydrolizy, a ich zawartość jest wyższa w skórce granatu w porównaniu z innymi częściami owocu [38]. Zawiera ona również liczne witaminy, minerały i kwasy organiczne [39]. Skórka granatu charakteryzuje się wysoką aktywnością przeciwutleniającą i przeciwdrobnoustrojową, co można wykorzystać w produkcji zwierzęcej, jako suplement diety poprawiający jakość surowców odzwierzęcych [40].

Właściwości antyoksydacyjne produktów ubocznych granatu potwierdzili Natalello i in. [41] przeprowadzając doświadczenie żywieniowe na jagniętach Comisana. Zastępując w mieszance pokarmowej tym komponentem 200 g/kg s.m. zbóż autorzy zaobserwowali poprawę wartości dietetycznej pozyskanego od nich mięsa. Charakteryzowało się ono głównie zwiększonym stężeniem witaminy E. W odniesieniu do składu kwasów tłuszczowych tłuszczu śródmięśniowego żywieniowy czynnik doświadczalny nie wpłynął na stężenie nasyconych i jednonienasyconych kwasów tłuszczowych. Stwierdzono natomiast zwiększenie o około 38% udziału wielonienasyconych kwasów tłuszczowych w tłuszczu surowym. Autorzy notowali również zwiększenie zdolności antyoksydacyjnej mięsa, co przyczyniło się do poprawy jego trwałości podczas przechowywania. Akuru i in. [42] badali wpływ zastosowania mączki ze skórek granata w dawce pokarmowej w ilości 2, 4, 6 i 8 g/kg paszy w żywieniu kurcząt brojlerów rasy Cobb 500. Efektem interakcji dodatku mączki ze skórek granata w ilości 2 i 4 g/kg była największa średnia końcową masę ciała (odpowiednio o 82,5 g i 41,1 g więcej w porównaniu z grupą kontrolną) oraz najwyższe przyrosty dobowe (odpowiednio o 2,36 g i 1,17 g więcej w porównaniu z grupą kontrolną).

## **4. Wybrane warzywa i ich produkty uboczne w żywieniu zwierząt gospodarskich**

### **4.1. Brokuł**

Zawartość substancji biologicznie czynnych w brokułach różni się istotnie między częściami roślin [43]. Najwyższe średnie stężenie fenoli oraz glukozynolanów ogółem stwierdzono w liściach brokuła przekraczając ponad dwukrotnie ich zawartość w kwiatostanach i łodygach. Z całej biomasy tylko 30% jest wykorzystywane żywieniowo (główki brokułów). Pozostałe części, w tym liście, łodygi i kwiatostany, są uważane za produkty uboczne, które są najczęściej wykorzystywane do kompostowania lub nawożenia gleby

[44]. Brokuły charakteryzują się niskim poziomem tłuszczów nasyconych i bardzo niską zawartością cholesterolu. Stanowią również dobre źródło białka, tiaminy, niacyny, kwasu pantotenowego oraz związków mineralnych (wapń, żelazo i selen, magnez, fosfor, potas i mangan) oraz witamin (A, C, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, foliany) [45].

Yi i in. [46] przeprowadzili doświadczenie żywieniowe polegające na zastąpieniu w diecie krów mlecznych rasy holsztyńsko-fryzyskiej 20% paszy treściwej granulowanymi produktami ubocznymi przetwarzania brokułów. U zwierząt z grupy doświadczalnej obserwowano zwiększenie produkcji mleka o około 3%. Ponadto analiza składu chemicznego mleka wykazała wyższą o około 13% zawartość tłuszczu w porównaniu z krowami z grupy kontrolnej. Mahmoud [45] sugeruje, że zastępując w diecie jagniąt siana z lucerny w 40% brokułami przyczyniło się do poprawy strawności składników odżywczych. Uzyskane wyniki dotyczące parametrów biochemicznych krwi jagniąt doświadczalnych potwierdzają korzystny wpływ brokułów na funkcjonowanie wątroby oraz wzmacniają odpowiedź immunologiczną jagniąt. Wprowadzenie do dziennej dawki pokarmowej 40% brokułów miało również istotny wpływ na wzrost jagniąt. Hu i in. [47] włączając do diety kur niosek brunatnych 90 g/kg suszonej mączki z łądyg i liści brokułów zaobserwowali pozytywny jej wpływ na jakość pozyskiwanych jaj. Stwierdzono o około 3% zwiększenie jakości białka wyrażonych w jednostkach Haugha, a także istotne obniżenie cholesterolu w jajach (o 20,7%). Autorzy tłumaczą, że obniżony poziom cholesterolu może być częściowo spowodowany zmianami w jego syntezie, co może wynikać ze zmian w fermentacji kałowej.

Al-Ashoor i in. [48] stwierdzili, że dodatek alkoholowego ekstraktu z liści brokuła w dawce 200 i 300 mg/l do wody pitnej zarodowych przepiórek japońskich wpływa na poprawę produkcji jaj (o 8,7% dziennej produkcji jaj), jaj zbiorczych z 30 dni (o 8,8%) i masy jaj (o 13%). Autorzy zaobserwowali także zwiększenie liczby pałeczek kwasu mlekowego w dwunastnicy (o 28%) oraz zmniejszenie populacji *E. coli* w jelicie ślepym i dwunastnicy. Obserwowane zmiany wiązane były z faktem zapobiegania abrazyj jelit przez substancje biologicznie czynne w ekstrakcie z liści brokuła, co istotnie ograniczyło przeżywalność szkodliwych mikroorganizmów w jelitach.

## **4.2. Dynia**

Związki czynne zawarte w dyni różnią się w zależności od gatunku, części rośliny i warunków środowiskowych [49]. Fitochemiczne badania przesiewowe dyni wykazały wysoką obecność substancji biologicznie czynnych, takich jak: polifenole, flawonoidy i garbniki w miążdze, nasionach i włóknach owocowych. Największą zawartość polifenoli zaobserwowano w miąższu owoców. W przypadku flawonoidów nasiona wykazywały najniższą ich zawartość. Pomimo obniżonej zawartości substancji bioaktywnych, zawierają one stosunkowo dużą ilość różnych niezbędnych mikroelementów, takich jak: K, Cr i Na [50]. Dynia może wielokierunkowo korzystnie wpływać na status zdrowotny zwierząt. Charakteryzuje się wysokim potencjałem przeciwcukrzycowym, przeciwnowotworowym, przeciwutleniającym i przeciwdrobnoustrojowym. Ponadto ma właściwości hamowania tworzenia się kamieni nerkowych oraz działanie hipotensyjne, przeciwwzapalne i krzepliwie [51]. Efektywność zastąpienia kiszonki z kukurydzy kiszonką z dyni w ilości 40% oraz 60% w żywieniu krów mlecznych rasy simentalskiej badali Halik i in. [52]. Analiza składu chemicznego mleka wykazała zwiększenie udziału wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z rodziny n-3 (odpowiednio o 9,2% oraz 10,8%) w porównaniu

do mleka krów z grupy kontrolnej. Dodatkowo zaobserwowano istotne zwiększenie zawartości karotenoidów (65,5%), czego efektem jest poprawa parametrów dietetycznych pozyskanego surowca. Jak podają autorzy, poprawa profilu kwasów tłuszczowych związana jest z wprowadzeniem do diety krów źródła tłuszczu w formie rozdrobnionych nasion. Przyczyniło się to do ograniczenia biouwodornienia wielonienasyconych kwasów tłuszczowych  $\omega$ -3. Mathewos i in. [53] wykazali, że dodatek 1% sproszkowanych suszonych pestek dyni do mieszanki paszowej piskląt brojlerów Cobb-500 poprawił pobranie paszy, przyrosty masy ciała (o 13%), współczynnik konwersji paszy (o 5%) oraz wydajność rzeźną (o 7,6%). Autorzy tłumaczą uzyskane efekty obecnością w dyni kukurbitacyny wykazującej korzystne oddziaływanie na układ pokarmowy ptaków [54]. Antunović i in. [55] w swoich badaniach żywieniowych na jagniętach rasy Merinolandschaf wykazali pozytywne rezultaty zastąpienia śruty sojowej 10% oraz 15% udziałem makuchów z pestek dyni. Zaobserwowano istotne zmniejszenie poziomu cholesterolu LDL w surowicy o 43,33%, mocznika o 16,4%, co wskazuje na polepszenie parametrów zdrowotnych zwierząt doświadczalnych

### **4.3. Pomidor**

Odpady pomidorowe są bogate w składniki bioaktywne, takie jak  $\beta$ -karoten i likopen, które w wielu badaniach wykazały silne działanie przeciwutleniające [56]. Nasiona pomidorów, pozyskiwane podczas ich przetwarzania są uważane za potencjalne naturalne źródło przeciwutleniaczy ze względu na ich bogaty profil fitochemiczny. Są rezerwuarem bioaktywnych związków fenolowych i karotenoidów, które odgrywają kluczową rolę w regulowaniu procesów metabolicznych i fizjologicznych w organizmie. Skórka pomidora i jego miąższ charakteryzuje się dużą ilością składników bioaktywnych, w tym flawonoidów, kwasów fenolowych, likopenu,  $\beta$ -karotenu itp. [57]. Ze względu na szeroką gamę substancji biologicznie czynnych, pomidory oraz ich produkty uboczne posiadają właściwości przeciwnowotworowe, przeciwdrobnoustrojowe, przeciwmutagenne, przeciwzapalne, przeciwneurodegeneracyjne, przeciwplytkowe i kardioprotekcyjne [57]. Korzystne oddziaływanie na organizm zwierzęcy wykazali Biondi i in. [58], którzy zastąpili 15% kukurydzy wytlókami z pomidorów w diecie świń Nero Siciliano. Zaobserwowano, że wytlóki nie wpływały na pobranie suchej masy, średnie dzienne przyrosty, masę oraz wydajność tuszy. Zanotowano natomiast obniżenie zawartości tłuszczu śródmięśniowego o 25,4%, oraz zwiększenie ilości kwasów tłuszczowych w mięsie. Autorzy sugerują, że może to być związane z zawartością likopenu w wytlókach pomidorowych, wykazującego właściwości antyoksydacyjne. Natomiast spadek zawartości nienasyconych kwasów tłuszczowych (o 31,8%) i jednonienasyconych kwasów tłuszczowych (o 34,6%), wzrost wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (o 16,4%) oraz stężenia kwasów tłuszczowych z grupy n-3 in-6 powiązany jest ze wzrostem zawartość kwasu linolowego i  $\alpha$ -linolenowego [59].

### **5. Podsumowanie**

Intensywny rozwój sektora przemysłowego na skalę światową skutkuje zwiększoną szybkością generowania produktów wtórnych, które powszechnie klasyfikowane są jako odpady o charakterze beżużytecznym. Technologiczne przetwarzanie owoców i warzyw prowadzi do powstawania znacznych ilości produktów ubocznych. Z uwagi na obecność substancji biologicznie czynnych stanowią one wartościowe uzupełnienie diety zwierząt gospodarskich. Przyczyniają się do polepszenia statusu zdrowotnego oraz parametrów



hodowlanych. Wykazano, że obecność winogron, bananów, czy granatów lub ich produktów ubocznych w dawce pokarmowej poprawiają efektywność odchowu owiec, jagniąt, kurcząt brojlerów, kur niosek oraz krów. Korzystne oddziaływanie obecności warzyw takich, jak: brokuł, dynia, pomidor w diecie stwierdzono u krów, jagniąt, kur niosek, kurcząt brojlerów, świń oraz przepiórek japońskich. Udowodnione korzystne oddziaływanie produktów ubocznych owoców i warzyw na organizm zwierząt nadal wymaga prowadzenia dalszych badań w celu poznania możliwości zwiększenia ich wykorzystania w produkcji zwierzęcej jako prozdrowotnych suplementów diety przy jednoczesnym racjonalnym ich zagospodarowaniu, zwłaszcza w sytuacji gdy potencjalnie uznawaje się je za nieprzydatne.

## Literatura

1. García-Rodríguez J., Ranilla M.J., France J., Alaiz-Moretón H., Carro M. D., López, S., *Chemical composition, in vitro digestibility and rumen fermentation kinetics of agro-industrial by-products*, *Animals*, 9(11), 2019, s. 861.
2. Komisja Rady i Parlamentu, 2007, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/HTML/?uri=CELEX:52007DC0059> [data dostępu: 16.02.2023].
3. Alexandratos N., Bruinsma J., *World agriculture towards 2030/2050: the 2012 revision*, 2012, <https://www.fao.org/3/ap106e/ap106e.pdf> [data dostępu: 16.02.2023].
4. Carrillo J.Á., Zafrilla M.P., Marhuenda J., *Cognitive function and consumption of fruit and vegetable polyphenols in a young population: Is there a relationship?*, *Foods*, 8(10), 2019, s. 507.
5. Patra A.K., *An overview of antimicrobial properties of different classes of phytochemicals*, *Dietary phytochemicals and microbes*, 18, 2012, s. 1-32.
6. Zhou Y., Jiang Z., Lu H., Xu Z., Tong R., Shi J., Jia G., *Recent advances of natural polyphenols activators for Keap1-Nrf2 signaling pathway*, *Chemistry & Biodiversity*, 16(11), 2019, e1900400.
7. Tian S., Sun Y., Chen Z., Yang Y., Wang Y., *Functional properties of polyphenols in grains and effects of physicochemical processing on polyphenols*, *Journal of Food Quality*, 3, 2019, s. 1-8.
8. Abbas M., Saeed F., Anjum F.M., Afzaal M., Tufail T., Bashir M.S., Suleria H.A.R., *Natural polyphenols: An overview*, *International Journal of Food Properties*, 20(8), 2017, s. 1689-1699.
9. Swallah M.S., Sun H., Affoh R., Fu H., Yu H., *Antioxidant potential overviews of secondary metabolites (polyphenols) in fruits*, *International journal of food science*, 1, 2020, s. 1-8.
10. Han X., Shen T., Lou H., *Dietary polyphenols and their biological significance*, *International journal of molecular sciences*, 8(9), 2007, s. 950-988.
11. Fraga C.G., Galleano M., Verstraeten S.V., Oteiza P.I., *Basic biochemical mechanisms behind the health benefits of polyphenols*, *Molecular aspects of medicine*, 31(6), 2010, s. 435-445.
12. Lotito S.B., Frei B., *Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: cause, consequence, or epiphenomenon?*, *Free Radical Biology and Medicine*, 41(12), 2006, s. 1727-1746.
13. Mackenzie G.G., Adamo A.M., Decker N.P., Oteiza P.I., *Dimeric procyanidin B2 inhibits constitutively active NF- $\kappa$ B in Hodgkin's lymphoma cells independently of the presence of  $\kappa$ B mutations*, *Biochemical pharmacology*, 75(7), 2008, s. 1461-1471.
14. Messina M., *A brief historical overview of the past two decades of soy and isoflavone research*, *The Journal of nutrition*, 140(7), 2010, s. 1350-1354.

15. Kołodziej B., Drożdżal K., *Właściwości przeciwutleniające kwiatów i owoców bzu czarnego pozyskiwanego ze stanu naturalnego*, Żywność: nauka-technologia-jakość, 4(77), 2011, s. 36-44.
16. Mirowski A., *Polifenole w żywieniu bydła*, Życie Weterynaryjne, 96(06), 2021, s. 415-416.
17. Mirowski A., *Związki polifenolowe w żywieniu trzody chlewnej*, Życie Weterynaryjne, 95(03), 2020, s. 173-174.
18. Derradji-Benmeziane F., Djamaï R., Cadot Y., *Antioxidant capacity, total phenolic, carotenoid, and vitamin C contents of five table grape varieties from Algeria and their correlations*, OENO One, 48(2), 2014, s. 153-162.
19. Du Y., Li X., Xiong X., Cai X., Ren X., Kong Q., *An investigation on polyphenol composition and content in skin of grape (Vitis vinifera L. cv. Hutai No. 8) fruit during ripening by UHPLC-MS2 technology combined with multivariate statistical analysis*, Food Bioscience, 43, 2021, e101276.
20. Mohamed Ahmed I.A., Özcan M.M., Al Juhaimi F., Babiker E.F.E., Ghafoor K., Banjanin T., Alqah H.A., *Chemical composition, bioactive compounds, mineral contents, and fatty acid composition of pomace powder of different grape varieties*, Journal of Food Processing and Preservation, 44(7), 2020, e14539.
21. Andjelkovic M., Radovanović B., Radovanović A., Andjelkovic A.M., *Changes in polyphenolic content and antioxidant activity of grapes cv Vranac during ripening*, South African Journal of Enology and Viticulture, 34(2), 2013, s. 147-155.
22. Maddala V.K.S., *Bioactive Compounds from Fruit Waste and Its Importance*, Journal of Pharmaceutical Negative Results, 13(9), 2022, s. 6364-6368.
23. Alba D.F., Campigotto G., Cazarotto C.J., Dos Santos D.S., Gebert R.R., Reis J.H., Da Silva A.S., *Use of grape residue flour in lactating dairy sheep in heat stress: Effects on health, milk production and quality*, Journal of thermal biology, 82, 2019, s. 197-205.
24. Abe L.T., Mota R.V.D., Lajolo F.M., Genovese M.I., *Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas Vitis labrusca L. e Vitis vinifera L.*, Food Science and Technology, 27, 2007, s. 394-400.
25. Ianni A., Di Maio G., Pittia P., Grotta L., Perpetuini G., Tofalo R., Martino G., *Chemical-nutritional quality and oxidative stability of milk and dairy products obtained from Friesian cows fed with a dietary supplementation of dried grape pomace*, Journal of the Science of Food and Agriculture, 99(7), 2019, s. 3635-3643.
26. Kafantaris I., Kotsampasi B., Christodoulou V., Kokka E., Kouka P., Terzopoulou Z., Kouretas, D., *Grape pomace improves antioxidant capacity and faecal microflora of lambs*, Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 101(5), 2017, s. 108-121.
27. Agte V., Khetmalis N., Nilegaonkar S., Karkamkar S., Yadav S., *Prebiotic potential of 'juice grape' varieties and some hybrids*, Journal of Scientific and Industrial Research, 69(11), 2010, s. 850-854.
28. Etxeberria U., Fernández-Quintela A., Milagro F.I., Aguirre L., Martínez J.A., Portillo M.P., *Impact of polyphenols and polyphenol-rich dietary sources on gut microbiota composition*, Journal of agricultural and food chemistry, 61(40), 2012, s. 9517-9533.
29. Erinle T.J., Oladokun S., MacIsaac J., Rathgeber B., Adewole D., *Dietary grape pomace-effects on growth performance, intestinal health, blood parameters, and breast muscle myopathies of broiler chickens*, Poultry Science, 101(1), 2022, e101519.
30. Kolláthová R., Gálik B., Halo M., Kováčik A., Hanušovský O., Bíro D., Šimko M., *The effects of dried grape pomace supplementation on biochemical blood serum indicators and digestibility of nutrients in horses*, Czech Journal of Animal Science, 65(2), 2020, s. 58-65.
31. Adeolu A.T., Enesi D.O., *Assessment of proximate, mineral, vitamin and phytochemical compositions of plantain (Musa paradisiaca) bract-an agricultural waste*, International Research Journal of plant science, 4(7), 2013, s. 192-197.

32. Lavanya K.M., Florence J.A.K., Vivekanandan B., Lakshmipathy R., *Comparative investigations of raw and alkali metal free banana peel as adsorbent for the removal of Hg<sup>2+</sup> ions*, Materials Today: Proceedings, 55, 2022, s. 321-326.
33. Kibria A.A., Rahman M.M., Kar A., *Extraction and Evaluation of Phytochemicals from Banana Peels and Banana Plants*, Malaysian Journal of Halal Research, 2(1), 2019, s. 22-26.
34. Araya H.G., Gebrekristos S.G., Oliver W.V., *Effects of Banana Peels on Chicken Weight Gain and Egg Production in the Urban and Peri-Urban Areas of Aksum City, Ethiopia*, Theme 2-2: forage production and utilization--poster sessions, 2022.
35. Leke J. R., Wantasen E., Siahaan R., Sompie F., Kaunang C., Widjastuti T., Natsir M.H., *The effect of Kepok Banana (Musa Paradisiaca L.) on immunoglobulin, vitamins, and cholesterol content of eggs in laying hens*, Journal of World's Poultry Research, 12(1), 2022, s. 46-51.
36. Dorisandi M., Saputro L., Jatmiko S. H., Fenita Y., *Pengaruh pemberian fermentasi tepung kulit pisang jantan dengan menggunakan neurospora crassa terhadap deposisi lemak ayam broiler*, Jurnal Sain Peternakan Indonesia, 12(3), 2017, s. 325-334.
37. Dumorné K., Astorga-Eló M., Merino O., Severe R., Morante L. *Importance of banana flour and its effect on growth performance of broiler*, Animal Science Journal, 91(1), 2020, e13419.
38. Akhtar S., Ismail T., Fraternali D., Sestili P., *Pomegranate peel and peel extracts: Chemistry and food features*, Food chemistry, 174, 2015, s. 417-425.
39. Mphahlele R.R., Fawole O.A., Makunga N.P., Opara U.L., *Effect of drying on the bioactive compounds, antioxidant, antibacterial and antityrosinase activities of pomegranate peel*, BMC complementary and alternative medicine, 16(1), 2016, s. 1-12.
40. Kanatt S.R., Chander R., Sharma, A., *Antioxidant and antimicrobial activity of pomegranate peel extract improves the shelf life of chicken products*, International journal of food science & technology, 45(2), 2010, s. 216-222.
41. Nataello A., Priolo A., Valenti B., Codini M., Mattioli S., Pauselli M., Luciano G., *Dietary pomegranate by-product improves oxidative stability of lamb meat*, Meat science, 162, 2020, e108037.
42. Akuru E.A., Mpendulo C.T., Oyeag C.E., Nantapo C.W.T., *Pomegranate (Punica granatum L.) peel powder meal supplementation in broilers: effect on growth performance, digestibility, carcass and organ weights, serum and some meat antioxidant enzyme biomarkers*, Italian Journal of Animal Science, 20(1), 2021, s. 119-131.
43. Gudiño I., Martín A., Casquete R., Prieto M.H., Ayuso M.C., Córdoba, M.D.G., *Evaluation of broccoli (Brassica oleracea var. italica) crop by-products as sources of bioactive compounds*, Scientia Horticulturae, 304, 2022, e111284.
44. Deng Z., Rong Y., Teng Y., Mu J., Zhuang X., Tseng M., Zhang H.G., *Broccoli-derived nanoparticle inhibits mouse colitis by activating dendritic cell AMP-activated protein kinase*, Molecular Therapy, 25(7), 2017, s. 1641-1654.
45. Mahmoud Y.M., *Using broccoli plant wastes in sheep rations*, Egyptian Journal of Nutrition and Feeds, 19(2), 2016, 277-287.
46. Yi X. W., Yang F., Liu J.X., Wang J.K., *Effects of replacement of concentrate mixture by broccoli byproducts on lactating performance in dairy cows*, Asian-Australasian journal of animal sciences, 28(10), 2015, s. 1449-1453.
47. Hu C.H., Zuo A.Y., Wang D.G., Pan H.Y., Zheng W.B., Qian Z.C., Zou X.T., *Effects of broccoli stems and leaves meal on production performance and egg quality of laying hens*, Animal Feed Science and Technology, 170(1-2), 2011, s. 117-121.
48. Al-Ashoor D.S., Al-Salhi K.C., *Effect of Adding Broccoli Leaves (Brassica oleracea L. var. italica) Extract to Drinking Water on Eggs Production and Intestinal Microflora of Japanese Quail Coturnix japonica*, Basrah Journal of Agricultural Sciences, 33(2), 2020, s. 42-51.

49. Salehi B., Capanoglu E., Adrar N., Catalkaya G., Shaheen S., Jaffer M., Capasso R., *Cucurbits plants: A key emphasis to its pharmacological potential*, *Molecules*, 24(10), 2019, s. 1854.
50. Enneb S., Drine S., Bagues M., Triki T., Boussora F., Guasmi F., Ferchichi A., *Phytochemical profiles and nutritional composition of squash (Cucurbita moschata D.) from Tunisia*, *South African Journal of Botany*, 130, 2020, s. 165-171.
51. Yadav M., Jain S., Tomar R., Prasad G.B.K.S., Yadav H., *Medicinal and biological potential of pumpkin: an updated review*, *Nutrition research reviews*, 23(2), 2010, s. 184-190.
52. Halik G., Lozicki A., Wilczak J., Arkuszewska E., Makarski M., *Pumpkin (Cucurbita maxima D.) silage as a feed that improves nutritional properties of cow's milk*, *Journal of Agricultural Science and Technology*, 20(7), 2018, s. 1383-1394.
53. Mathewos Z., Girma M., Ameha N., Zeryehun T., *Effects of neem (Azadirachta Indica) and pumpkin (Cucurbita maxima) seeds and their combination as feed additive on growth and carcass characteristics of broilers*, *Livestock Research for Rural Development*, 31(6), 2019, s. 1-4.
54. Montesano D., Blasi F., Simonetti M. S., Santini A., Cossignani L., *Chemical and nutritional characterization of seed oil from Cucurbita maxima L.(var. Berrettina) pumpkin*, *Foods*, 7(3), 2018, s. 30.
55. Antunović Z., Klir Ž., Šperanda M., Sičaja V., Čolović D., Mioč B., Novoselec J., *Partial replacement of soybean meal with pumpkin seed cake in lamb diets: Effects on carcass traits, haemato-chemical parameters and fatty acids in meat*, *South African Journal of Animal Science*, 48(4), 2018, s. 695-704.
56. Szabo K., Diaconeasa Z., Cătoi A.F., Vodnar D.C., *Screening of ten tomato varieties processing waste for bioactive components and their related antioxidant and antimicrobial activities*, *Antioxidants*, 8(8), 2019, s. 292.
57. Kumar M., Tomar M., Bhuyan D.J., Punia S., Grasso S., Sa A.G.A., Mekhemar M., *Tomato (Solanum lycopersicum L.) seed: A review on bioactives and biomedical activities*, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 142, 2021, e112018.
58. Biondi L., Luciano G., Cutello D., Natalello A., Mattioli S., Priolo A., Valenti B., *Meat quality from pigs fed tomato processing waste*, *Meat science*, 159, 2020, e107940.
59. Peiretti P.G., Gai F., Rotolo L., Brugiapaglia A., Gasco L., *Effects of tomato pomace supplementation on carcass characteristics and meat quality of fattening rabbits*, *Meat science*, 95(2), 2013, s. 345-351.

## Rola swoistych substancji owoców i warzyw w żywieniu zwierząt gospodarskich

### Streszczenie

Efektom rozwijającego się przemysłu rolniczego jest wzrost masowej produkcji owoców i warzyw generującej duże ilości roślinnych produktów ubocznych odpadów. Pozostałości procesów przetwarzania surowców roślinnych (zwłaszcza skórki) mogą stanowić odgrywać istotną rolę w uzupełnianiu dziennego zapotrzebowania pokarmowego zwierząt gospodarskich. Zawarte w nich swoiste substancje tzw. wtórne (tj. m.in. alkaloidy, olejki eteryczne, garbnik, kwas asparginowy, polifenole), będące najczęściej końcowymi produktami przemiany materii, wykazują specyficzne działanie na organizm zwierząt. Działają one korzystnie w zakresie poprawy statusu zdrowotnego zwierząt poprzez m.in.: wzmocnienie mechanizmów obronnych poprzez potencjalne działanie immunostymulujące, działanie przeciwzapalne, antyoksydacyjne, co odzwierciedla się także w optymalizacji efektywności produkcji. Dobór odpowiednich rodzajów i ilości produktów ubocznych przemysłu owocowo-warzywnego może stać się istotną strategią żywieniową umożliwiającą poprawę statusu zdrowotnego zwierząt gospodarskich oraz poprawę dietetyczną i odżywczą, pozyskiwanej od nich, żywności pochodzenia zwierzęcego. Celem pracy jest przedstawienie najnowszych doniesień naukowych dotyczących możliwości wykorzystania produktów ubocznych przemysłu owocowo-warzywnego, w zakresie oddziaływania zawartych w nich swoistych substancji, w żywieniu zwierząt gospodarskich.

Słowa klucze: owoce, warzywa, substancje biologicznie czynne, zwierzęta gospodarskie, status zdrowotny

## **The role of specific substances of fruits and vegetables in livestock nutrition**

### Abstract

The development of the agricultural industry results in the increased mass production of fruits and vegetables, which generates large quantities of plant by-products and waste. Residues from the processing of plant materials (especially peels) can play a significant role in supplementing the daily nutritional requirements of farm animals. These by-products contain specific secondary substances (such as alkaloids, essential oils, tannins, aspartic acid, polyphenols), which are often end-products of metabolism and have specific effects on the animal's body. They have a positive impact on the animals' health status by strengthening their defense mechanisms through potential immunostimulatory effects, anti-inflammatory and antioxidant effects, which also reflect in optimizing production efficiency. Selecting appropriate types and quantities of by-products from the fruit and vegetable industry can become an important nutritional strategy for improving the health status of farm animals and enhancing the nutritional and dietary value of the animal-derived food obtained from them. The aim of this study is to present the latest scientific findings regarding the potential use of by-products from the fruit and vegetable industry, in terms of the effects of their specific substances on the nutrition of farm animals.

Keywords: fruits, vegetables, biologically active substances, farm animals, health status

## Potencjał fitochemiczny ziół w żywieniu zwierząt

### 1. Wstęp

Zwiększenie wykorzystywania ziół w odchowie zwierząt zostało zaobserwowane w 2006 roku, gdy w Unii Europejskiej wprowadzono zakaz stosowania antybiotyków paszowych, wykorzystywanych m.in. jako promotorów wzrostu w odpowiedzi na powszechną praktykę ich stosowania. Spowodowało to intensywny rozwój produkcji ekologicznej oraz szerszy zakres wykorzystania roślin leczniczych, które stanowią obiecującą, naturalną alternatywę dla syntetycznych środków weterynaryjnych. Zapewniają one zarówno zdrowie, dobrostan, jak i optymalne efekty produkcyjne zwierząt. Rosnąca świadomość konsumentów i producentów rolnych sprzyja także zwiększeniu podaży i popytu na produkty rolnictwa ekologicznego oraz popularyzacji tradycyjnych metod wytwarzania żywności [1, 2].

Z obserwacji zwierząt roślinożernych utrzymywanych na wolnych wybiegach wynika, że w trakcie żywienia pastwiskowego selektywnie dokonują one wyboru roślin dzięki czemu samodzielnie uzupełniają dietę roślinami o właściwościach terapeutycznych przejawiając tym samym tzw. sickness behaviour (zachowanie chorobowe). Obserwowany behavior potwierdza teorię wybiórczości żywieniowej w stanie chorobowym zwierząt. Instynktowny dobór oraz pobieranie odpowiednich gatunków roślin leczniczych jest naturalnym mechanizmem zapewnienia prawidłowego funkcjonowania organizmu zwierzęcia.

Skuteczność fitobiotycznych dodatków paszowych zależy od wielu czynników m.in: zawartości i rodzaju substancji biologicznie czynnych [3], ilości i formy włączenia do paszy [4], gatunku zwierząt [5] oraz podstawowego składu chemicznego [6]. Zioła mogą stanowić istotny komponent dziennej dawki pokarmowej zwierząt wpływając tym samym na ich kondycję zdrowotną i produktywność [7].

Celem pracy jest przedstawienie stanu wiedzy na temat możliwości wykorzystania potencjału fitochemicznego ziół w żywieniu zwierząt, których właściwości biostymulujące są ściśle związane z obecnością w nich określonych związków biologicznie aktywnych.

---

<sup>1</sup> julia.fabjanowska@up.lublin.pl, Instytut Żywienia Zwierząt i Bromatologii, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, www.up.lublin.pl/.

<sup>2</sup> szymon.milewski@up.lublin.pl, Instytut Żywienia Zwierząt i Bromatologii, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, www.up.lublin.pl/.

<sup>3</sup> renata.klebaniuk@up.lublin.pl, Instytut Żywienia Zwierząt i Bromatologii, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, www.up.lublin.pl/.

<sup>4</sup> bozena.kiczorowska@up.lublin.pl, Instytut Żywienia Zwierząt i Bromatologii, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, www.up.lublin.pl/.

<sup>5</sup> wioletta.samolinska@up.lublin.pl, Instytut Żywienia Zwierząt i Bromatologii, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, www.up.lublin.pl/.

<sup>6</sup> magdalena.moczulska@up.lublin.pl, Instytut Żywienia Zwierząt i Bromatologii, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, www.up.lublin.pl/.

## **2. Fitoterapia**

Leczenie ziołami, czyli ziołolecznictwo jest najstarszym źródłem wiedzy medycznej, która opiera się przede wszystkim na wieloletniej tradycji. Rośliny zielarskie od zawsze stanowiły jedną z form terapii leczniczych ludzi oraz zwierząt gospodarskich. Ziołami nazywane są rośliny lecznicze zarówno dziko żyjące, które można pozyskiwać ze stanu naturalnego, jak i uprawne. Charakteryzują się szerokimi właściwościami terapeutycznymi wynikającymi z zawartości składników biologicznie aktywnych, co wpływa na wszechstronność ich stosowania [8-10]. Zioła, czy związki pozyskane z roślin zielarskich w różnych kompozycjach (fitopreparaty) stanowią naturalną alternatywę dla związków syntetycznych, których stosowanie jest coraz bardziej ograniczane [11]. W ostatnich latach obserwuje się kolejny wzrost zainteresowania dodatkami ziołowymi, ich właściwościami i stosowaniem w żywieniu zwierząt w celu poprawy funkcji fizjologicznych, zdrowia oraz parametrów produkcyjnych zwierząt bez szkodliwych skutków ubocznych [12].

Zastosowanie fitobiotycznych dodatków w żywieniu zwierząt może przyczynić się do modyfikacji przemian metabolicznych zwierząt, ponieważ wykazują one działanie: immunostymulujące [15], wzmacniające [16], regulujące mikrobiotę przewodu pokarmowego [5, 11] oraz terapeutyczne poprzez zapobieganie powstawaniu różnych dolegliwości oraz chorób [17]. Przyczyniają się także do łagodzenia niekorzystnych skutków stresu środowiskowego [14, 18]. Zioła i preparaty ziołowe działają wielokierunkowo ze względu na dużą ilość substancji czynnych zawartych w roślinach leczniczych, które działają kompleksowo z reguły na kilka na różnych układów organizmu zwierzęcia. Stosowanie złożonych kompozycji ziołowych, zawierających kilka, a nawet kilkanaście surowców zielarskich w jednej mieszance, daje lepsze wyniki w leczeniu określonych schorzeń, w porównaniu do zastosowania pojedynczych komponentów [7]. Potwierdza to powyższą teorię, że wszechstronne działanie ziół wynika z bogatej zawartości związków aktywnych w tych roślinach, które działają na organizm kompleksowo i układowo.

W fitoterapii zwierząt najważniejszym aspektem jest umiejętne dobranie poszczególnych kompozycji ziołowych oraz formy ich stosowania adekwatnej do gatunku, wieku i celu stosowania [5, 13, 19, 20]. Fitopreparaty stanowią jednocześnie istotne uzupełnienie dawki pokarmowej w komponenty zawierające rozmaite substancje odżywcze oraz substancje biologicznie czynne, wśród których można wyróżnić m.in.: aminokwasy, kwasy tłuszczowe, enzymy, jak również witaminy oraz makro- i mikroelementy. W praktyce stosuje się je w niewielkich ilościach, zazwyczaj 1-2%, ale czasami nawet do 4-5% dobowej racji pokarmowej. Ziołolecznictwo stwarza duże możliwości doboru odpowiedniej rośliny leczniczej do ukierunkowanej profilaktyki, czy wykorzystania w żywieniu zwierząt [13, 14].

## **3. Fitochemikalia**

Fitochemikaliami nazywa się organiczne naturalne substancje chemiczne, które występują w roślinach. Termin ten jest powszechnie stosowany w odniesieniu do związków wywierających zasadniczy wpływ na zdrowie zarówno ludzi, jak i zwierząt, lecz nie stanowią one niezbędnych składników odżywczych, a czasami mogą mieć charakter antyodżywczy, czy nawet toksyczny. Uwarunkowane jest to występującymi w roślinach związków o odmiennym składzie chemicznym oraz różnym ich poziomie.

Stale rozwijającą się nauką zajmującą się właściwościami i identyfikacją substancji organicznych naturalnie występujących w roślinach zielarskich jest fitochemia. Ma ona na celu ustalenie skuteczności i zrozumienia podstaw mechanizmu działania fitochemikaliów oraz pomaga w standaryzacji preparatów ziołowych. Dzięki niej wyodrębniono dotychczas około 30 000 różnych substancji wtórnego metabolizmu roślin, co umożliwiło określenie ich zastosowania terapeutycznego. Postęp technologiczny umożliwia określenie struktury oraz funkcji jeszcze niezidentyfikowanych aktywnych związków pochodzenia roślinnego, co jest kluczowe dla określenia wymagań dotyczących efektywnej metody ich ekstrakcji [16, 21-23].

Związki aktywne w roślinach obecne są w bardzo małych ilościach, zwykle ich wartość nie przekracza 0,01%. Należy zwrócić uwagę na fakt, iż zastosowanie małych ilości związków biologicznie aktywnych może wykazywać czynne działanie farmakologiczne, a zbyt duża ich zawartość może przyczynić się do wystąpienia reakcji ubocznych często prowadzących nawet do zatrucia organizmu fitotoksynami. Szkodliwymi dla zdrowia zwierząt substancjami czynnymi są alkaloidy, glikozydy, saponiny, kwasy organiczne, oraz niektóre olejki eteryczne [16, 17, 19, 24]. Saxena i in. [20] podaje, że najbardziej zróżnicowaną oraz liczną grupą substancji wtórnego metabolizmu roślin stanowią fenole, które obejmują aż 45% wszystkich związków aktywnych biologicznie, zaś alkaloidy zaledwie 18%.

Zawarte w roślinach leczniczych substancje bioaktywne wykazują synergizm, czyli zgodne, a zarazem jednokierunkowe działanie na organizm zwierzęcy. Efekty poszczególnych związków czynnych zawartych w danym preparacie zielarskim są sumą kompleksowego działania tych związków. Jednak pomiędzy niektórymi substancjami zawartymi w ziołach może dochodzić do reakcji przeciwnej – interakcji antagonistycznej [25, 26].

Substancje czynne, które występują w roślinach leczniczych, można podzielić na dwie grupy uwzględniając proces przemiany materii. Pierwszą z nich stanowią metabolity pierwotne występujące we wszystkich roślinach do których możemy zaliczyć substancje podstawowe, które są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania roślin, ponieważ spełniają one określone funkcje fizjologiczne. Zalicza się do nich głównie: węglowodany, tłuszcze, związki organiczne zawierające azot (białka, aminokwasy, enzymy – mające strukturę białkową), witaminy, sole mineralne oraz chlorofil (i inne barwniki roślinne). Drugą grupę stanowią produkty metabolizmu wtórnego, które nie odgrywają znaczącej roli w podstawowym funkcjonowaniu roślin, ponieważ nie stanowią materiału budulcowego lub energetycznego, ale mają istotny wpływ na m.in. ich mechanizmy obronne. Substancje wtórne występują przeważnie kompleksowo oraz w znacznie mniejszym zakresie, będąc wtórnymi produktami przemiany materii zachodzącej w roślinach leczniczych. Substancje te charakteryzują się bardzo zróżnicowaną budową chemiczną i cechami fizykochemicznymi [25].

Metabolity wtórne zbudowane są z cząstek strukturalnych, które współpracują ze sobą, wykazując szeroki zakres czynności biologicznych. Główną rolą tych związków jest umożliwienie roślinom wykazywania różnych interakcji z otoczeniem. Przede wszystkim chronią one rośliny przed chorobami oraz uszkodzeniami. Warunkują barwę, aromat oraz smak danej rośliny zielarskiej. Spełniają również funkcję obronną chroniąc je przed owadami, roślinożercami, czy też mikroorganizmami. Metabolity wtórne, które mogą cechować się działaniem przeciwdrobnoustrojowym syntetyzowane są podczas naturalnego wzrostu roślin, bądź w odpowiedzi na stres fizjologiczny lub środowiskowy [2, 21, 27].



Badania prowadzone nad substancjami czynnymi zawartymi w ziołach potwierdzają, że są to substancje posiadające właściwości stymulujące, bakteriobójcze, grzybobójcze lub przeciwzapalne. Wpływają na mikrofaunę i mikroflorę układu pokarmowego poprzez m.in. hamowanie wzrostu mikroorganizmów chorobotwórczych [5, 27]. Do podstawowych metabolitów wtórnych zidentyfikowanych w roślinach zalicza się:

- alkaloidy – związki zawierające w swojej cząsteczce jeden lub więcej atomów azotu. Są głównie regulatorami wzrostu oraz inhibitorami wielu reakcji enzymatycznych. Mają właściwości antynowotworowe i antywirusowe. Mogą wywierać działanie przeciwzapalne, moczopędne, przeciwpasożytnicze, przeciwbólowe, uspokajające lub pobudzające. Alkaloidy tropanowe np. atropina, skopolamina występujące w bieluniu, lulkę wywołują działanie rozkurczowe, rozszerzają źrenicę oka, hamują wydzielanie śliny, potu. Harmina i rezerpina (alkaloidy indolowe) obkurczają m.in. naczynia krwionośne. W niskich dawkach wiele alkaloidów ma działanie lecznicze, wykorzystywane są do uśmierzania bólu (morfina), łagodzenia kaszlu (kodeina). Jednak niektóre z nich to silne trucizny: papaweryna w opium, ergotoksyna w sporyszu;
- olejki eteryczne – wieloskładnikowe wydaliny roślin, składające się z różnych związków chemicznych głównie terpenów, rzadziej związków siarkowych, czy azotowych. Wykazują działanie bakteriobójcze. Zaliczane są do aktywnych utleniaczy. Wiele roślin zawierających olejki eteryczne, jak np.: majeranek, tymianek, kminek zwyczajny, koper włoski mają wpływ na poprawę walorów smakowych paszy. Ponadto wykazują bardzo zróżnicowane działanie np. dezynfekujące, oczyszczające drogi oddechowe (anyż), pobudzają apetyt i trawienie poprzez wzmoczenie aktywności perystaltyki jelit, jak również działają wiatropędnie i moczopędnie;
- garbniki – to substancje bezazotowe, o zróżnicowanym składzie chemicznym, zawierające specyficzne grupy hydroksylowe. Substancje te działają antybakteryjnie i przeciwzapalnie, poprzez ograniczenie przepuszczalność błon śluzowych przypisuje się im działanie przeciwbiegunkowe. Rośliny zawierające garbniki to m.in.: kora dębu, liście i owoce borówki czernicy, pięciornik gęsi, rdest ptasi, brzoza, leszczyna, olcha, wierzba. Znalazły zastosowanie przy zatruciach, różnych chorobach układu pokarmowego, zadrapaniach, ranach;
- saponiny – pobudzają ośrodek nerwu błędnego. Posiadają właściwości wykrztuśne poprzez pobudzenie odruchów kaszlu. W niewielkiej ilości wpływają korzystnie np. na obniżenie napięcia naczyń krwionośnych jelit poprzez ich drażnienie. Są środkami moczopędnymi i dezynfekującymi drogi moczowe (np.: liście brzozy). Mogą działać toksycznie wywołując hemolizę krwinek czerwonych;
- flawonoidy – to związki, które wywołują działanie antyoksydacyjne (rumianek, dziurawiec, czosnek), przeciwnowotworowe, przeciwzapalne, detoksykujące, działają rozkurczowo na mięśnie gładkie przewodu pokarmowego i dróg żółciowych). Jednym z najsilniejszych flawonoidów jest kwercetyna, która ogranicza stany zapalne, hamuje reakcje alergiczne, jak również ma silne właściwości antyoksydacyjne i przeciwbakteryjne;
- glikozydy – są to związki posiadające głównie właściwości terapeutyczne. Na wzmocnienie ścian naczyń krwionośnych wpływają glikozydy antocyjanowe owoców wiśni, czy czarnej porzeczki. Glikozydy fenolowe działają przeciwbólowo, przeciwgorączkowo, przeciwzakrzepowo i przeciwzapalne. Natomiast większość glikozydów cyjanogennych np. tioglikozydy wykazują działania szkodliwe;

- słuzy – pozytywnie wpływają na perystaltykę jelit, ponadto działają powlekająco, osłaniająco, przeciwbólowo, przeciwkaszlowo;
- pektyny – to substancje wpływające na zwiększenie krzepliwości krwi. Znalazły także zastosowanie przy biegunkach, w zaburzeniach układu trawiennego. Regulują pH przewodzenia pokarmowego [16, 19, 28, 29].

#### 4. Zioła i ich możliwy wpływ na organizm zwierzęcy

Zioła należą do środków leczniczych najbardziej bezpiecznych, dlatego są coraz częściej wykorzystywane w hodowli zwierząt gospodarskich. Ziołowe dodatki paszowe w porównaniu do syntetycznych antybiotyków, czy też nieorganicznych substancji chemicznych stanowią naturalny składnik pasz, są mniej toksyczne, przystępne cenowo, ponadto wykazują minimalny problem lekooporności oraz mniejszą ilość niepożądanych skutków. Dodatkowo mogą być stosowane w żywieniu zwierząt utrzymywanych w hodowlach ekologicznych [2, 7, 14, 30].

W medycynie weterynaryjnej najczęściej stosowane są całe rośliny lecznicze, natomiast o tym jaka część rośliny jest surowcem zielarskim, decyduje zawartość charakterystycznych związków biologicznie aktywnych. Ich rozmieszczenie w ziołach nie jest równomierne, ponieważ różne części tej samej rośliny zielarskiej mogą zawierać różne ilości substancji wykazujących działanie farmakologiczne. Surowcem zielarskim określa się tą część rośliny, w której znajduje się największa ilość substancji czynnych [14, 18]. Biorąc pod uwagę części roślin zielarskich stosowanych w celach terapeutycznych można wyróżnić: ziele, kora, pączki, nasiona, kwiaty, owoce, łodygi, liście, jak również w korzeniach oraz kłączach, bulwach [16, 17, 31].

Jako surowce zielarskie najczęściej stosowane są z rośliny pochodzące z pierwotnych stanowisk dziko rosnących, jak również z upraw specjalistycznych. Wykorzystywane są również produkty uboczne z zakładów zielarskich prowadzących produkcję prozdrowotnych preparatów ziołowych (ziołowe produkty uboczne lub przetworzone zioła), a wciąż zawierających odpowiednią ilość substancji aktywnych.

Polska jest jednym z przodujących krajów europejskich w których uprawiane są rośliny zielne. Jest to bardzo perspektywiczny kierunek produkcji rolnej, ponieważ zioła stanowią uprawy atrakcyjne ekonomicznie, co stanowi ważny element dodatkowego dochodu polskich rolników. Ma ona na celu nie tylko zachowanie dziko rosnących roślin, ale również rozpowszechnienie ich ze względu na ich pozytywne właściwości terapeutyczne oraz możliwości ich wszechstronnego zastosowania. Ponadto zainteresowanie leczeniem środkami naturalnymi zarówno w weterynarii, jak i medycynie jest ogromne i systematycznie rośnie. Powszechna dostępność ziół umożliwia szerokie ich stosowanie w żywieniu zwierząt [1, 14]. W polskich gospodarstwach najczęściej uprawianymi gatunkami ziół są: rumianek (*Chamomilla recutita*), ostropest plamisty (*Sylibium marianum*), waleriana (*Valeriana officinalis*), mięta pieprzowa (*Mentha piperita*) oraz dziurawiec zwyczajny (*Hypericum perforatum*) [8, 9, 10, 32].

##### 4.1. Jeżówka purpurowa (*Echinacea purpurea* (L.) Moench)

Najważniejszymi składnikami *Echinacea purpurea* (L.) Moench są alkiloamidy, polisacharydy, glikoproteiny, flawonoidy i związki fenolowe. Do ostatnich należą pochodne kwasu kawowego, takie jak: kwas kawowy, kwas cykorowy, kwas kaftarowy, kwas chlorogenowy i echinakozyd, których ilości różnią się w zależności od sekcji rośliny [33,

34]. Składnikami chemicznymi odpowiedzialnymi za działanie immunomodulacyjne korzenia jeżówki purpurowej są glikoproteiny, alkiloamidy i polisacharydy. Alkiloamidy to rodzaje związków chemicznych charakteryzujących się wysoką biodostępnością. Części nadziemne rośliny zawierają mniejsze ilości olejków eterycznych i alkaloidów pirolizydowych, takich jak: tussilagin i izotussilagin, niż korzeń. Za najważniejszą pochodną kwasu kawowego w jeżówce purpurowej uważa się kwas cykorowy, który jest najobficiej występującym składnikiem fenolowym w korzeniu i ogonku liściowym *Echinacea purpurea* [35, 36]. Związki te wykazują działanie przeciwutleniające i przeciwbakteryjne, przez co korzystnie wpływają na funkcjonowanie układu odpornościowego organizmu (tab. 1) [37]. Makała [10] podaje, że jeżówka jest jedną z najbardziej przebadanych roślin leczniczych pod względem działania immunostymulującego na zwierzęta monogastryczne. Liczne badania wykazują, iż najlepszy efekt jej stosowania jako dodatku żywieniowego zarówno u drobiu, jak i u trzody chlewnej jest zastosowanie jej w cyklu krótkotrwałego i powtarzanego podawania niż ciągłego [20]. Dodatkowo zastosowanie jeżówki u drobiu zwiększa efektywność szczepienia ochronnego przeciw kokcydiozie [38]. Ponadto Makała [10] podaje, że stosowanie jeżówki obniża podatność na stres środowiskowy u drobiu. Ayrle i in. [38] również podają, że jeżówka należy do gatunków roślin leczniczych, które w licznych badaniach wykazały swój potencjał wpływając na wzmocnienie układu odpornościowego młodych zwierząt gospodarskich.

Tabela 1. Zastosowanie różnych form jeżówki purpurowej w żywieniu zwierząt

Dodatek żywieniowy	Dawka	Gatunek	Efektywność zastosowania	Źródło
Ekstrakt z jeżówki purpurowej	0,5, 1 ml/1 wody	Kurczęta brojlery	Parametry produkcyjne ↑ Jakość mięsa ↑ Parametry zdrowotne ↑	[68]
Susz z jeżówki purpurowej	15 g/kg s.m.	Owce	Parametry produkcyjne ↑ Parametry zdrowotne ↑ Jakość mleka ↑	[69]
Susz z jeżówki purpurowej	150 mg/kg	Przepiórka japońska	Parametry produkcyjne ↑ Parametry zdrowotne ↑	[70]
Ekstrakt z jeżówki purpurowej	0, 350, 700 i 1050 mg/dzień/szt.	Cielęta Holsztyńsko-Fryzyskie	Parametry zdrowotne ↑	[71]
Ekstrakt z jeżówki purpurowej	1,0 g i 1,5 g	Króliki	Jakość mięsa ↑	[72]

↑ – poprawa.

## 4.2. Kozieradka pospolita (*Trigonella foenumgraecum* L.)

Stwierdzono, że nasiona kozieradki zawierają szereg związków chemicznych, powszechnie znanych jako fitochemikalia. Zawierają one różne rodzaje alkaloidów, flawonoidy i saponiny, przy czym saponiny wykazują najwyższe stężenie – 4,63 g na 10 g [39]. Kozieradka zawiera około 35% alkaloidów, głównie trygoneliny. Nasiona kozieradki zawierają również ponad 10 mg flawonoidów na gram nasion, a także niewielką ilość olejków lotnych i stałych. Olejek eteryczny z nasion kozieradki jest bogaty w octan nerylu (17,3%), kamforę (16,3%), β-pinen (15,05%), β-kariofilen (14,63%) i 2,5-dimetylopirazyne (6,14%). Glikozydy flawonolowe występujące w kozieradce obejmują 3-O-ramnozyd kwercetyny (kwercytryna), 7-oglukozyd witeksyny (afrozzyd) i 6-C-glukozyd apigeniny

(izowitekсыna) [40]. Kozieradka wpływa na parametry produkcyjne oraz zdrowotne zwierząt (tab. 2). Makała [10] podaje, że kozieradka zastosowana w żywieniu drobiu działa jako istotny stymulator przemiany materii. Natomiast wprowadzona do diety koni wzmacnia odporność, sprzyja rozwojowi i odbudowie mięśni, a olej zawarty w nasionach poprawia wygląd sierści [14, 41]. Według Zentek i in. [41] nasiona kozieradki mogą stanowić interesujący dodatek do paszy dla młodych prosiąt ze względu na ich wpływ na mikrobiotę jelitową oraz oddziaływanie na układ odpornościowy. Kozieradka również wpływa na parametry produkcyjne oraz zdrowotne zwierząt (tab. 2).

Tabela 2. Zastosowanie różnych form kozieradki w żywieniu zwierząt

Dodatek żywieniowy	Dawka	Gatunek	Efektywność zastosowania	Źródło
Ekstrakt z nasion kozieradki	2 g/os./dzień	Bydło	Parametry produkcyjne↑ Parametry zdrowotne ↑	[73]
Nasiona kozieradki	30 g/os./dzień	Kozy	Parametry produkcyjne ↑ Parametry zdrowotne ↑	[74]
Nasiona kozieradki	1%	Króliki	Jakość mięsa ↑	[75]
Zmielone nasiona kozieradki	12%	Jagnięta	Parametry zdrowotne ↑	[76]
Śruta z nasion kozieradki	0,5%, 1% i 1,5%	Kurczęta brojlery	Parametry produkcyjne ↑	[77]

↑ – poprawa.

### 4.3. Mięta pieprzowa (*Mentha piperita*)

Głównymi składnikami o działaniu bioaktywnym wykrytymi w olejku eterycznym z mięty pieprzowej są d-karwon, limonen, menton, mentol i pulegon. Stanowią one około 60% składników olejku, jednak ich zawartość różni się w zależności od regionu uprawy. Innymi składnikami liści *M. piperita* są związki fenolowe, które stanowią około 19-23% suchej masy. Głównymi związkami fenolowymi ekstraktów wodnych są kwas kawowy, kwas rozmarynowy, eriocytryna, luteolino-7-O-glukozyd, kwas galusowy, kwas p-kumarowy, kwas chlorogenowy, kwas synapinowy, kwas elagowy, hesperydyna i kwas trans-ferulowy, z czego 12% należy do grupy flawonoidów. Wpływają one m.in. na obniżenie poziomu w surowicy cholesterolu całkowitego i triglicerydów [43, 44]. Zastosowanie mięty pieprzowej w żywieniu gadów stymuluje apetyt i trawienie oraz wykazuje działanie antyseptyczne [45]. U psów wykazuje działanie prozdrowotne, między innymi łagodzące w zaburzeniach żołądkowych [46]. Stosowana w żywieniu zwierząt przeżywających wykazuje właściwości przeciwbólowe, stanowi stymulator wzrostu oraz przyczynia się do zmniejszenia produkcji metanu w żwaczu [47]. Zastosowanie *Mentha piperita* wpływa poprawę wskaźników produkcyjnych różnych gatunków zwierząt (tab. 3).

Tabela 3. Zastosowanie różnych form mięty pieprzowej w żywieniu zwierząt

Dodatek żywieniowy	Dawka	Gatunek	Efektywność zastosowania	Źródło
Susz z mięty pieprzowej	3%	Owce	Parametry zdrowotne ↑	[78]
Sproszkowana mięta pieprzowa	0,2%, 0,4%, 0,6%	Kurczęta brojlery	Parametry produkcyjne ↑ Parametry zdrowotne ↑	[79]

Koncentrat z mięty pieprzowej	0,4%	Ciełeta	Parametry produkcyjne ↑	[80]
Ekstrakt z mięty	50, 100, 200 mg/kg paszy	Kury nioski	Parametry produkcyjne ↑	[81]
Ekstrakty i olejki eteryczne z mięty	20 g/kg paszy ekstraktu oraz 800 mg/kg paszy	Przepiórki japońskie	Parametry produkcyjne ↑ Jakość mięsa ↑	[82]

↑ – poprawa.

#### 4.4. Rumianek pospolity (*Matricaria chamomilla*)

W składzie chemicznym rumianku pospolitego i jego ekstraktów występują znaczne ilości terpenoidów i związków fenolowych, głównie kwasów fenolowych, flawonoidów i kumaryn. Ponadto ekstrakty zawierają sterole, triterpeny, saponiny, garbniki i alkaloidy [48]. Badania Elsemelawy [48] wykazały, że jest to roślina bogata we flawonoidy (O-acyloheksosyd luteoliny i kwercetynę) oraz kwasy fenolowe (kwas elagowy, katechol i kwas chlorogenowy). Analiza wodnego ekstraktu wykazała, że głównymi związkami były także flawonoidy (myricetyna, kwercetyna i naringenina) oraz kwasy fenolowe (kwasy benzoesowy i rozmarynowy) [50, 51]. Rumianek stosowany u koni działa kojąco, przeciwzapalnie, wiatropędnie, przeciwskurczowo, odkażająco, przeciwalergicznie [16, 52]. Stosowany w żywieniu drobiu wzmacnia odporność na *Eimeria* oraz warunkuje poprawę morfologii jelit [53]. Stosowanie rumianku w żywieniu kóz w różnych okresach laktacji ma pozytywny wpływ na produkcję mleka i uzupełnienie składników odżywczych, tym samym poprawiając jakość mleka (tab. 4) [51]. Zdulski i in. [53] podaje, że zastosowanie rumianku u zwierząt np. w formie wyciągu przeciwdziała zakażeniom ektopasożytami.

Tabela 4. Zastosowanie różnych form rumianku pospolitego w żywieniu zwierząt

Dodatek żywieniowy	Dawka	Gatunek	Efektywność zastosowania	Źródło
Suszone kwiaty rumianku	0; 5; 10 g/100 kg m.c./dzień	Jagnięta Farafra	Parametry produkcyjne ↑ Parametry zdrowotne ↑	[83]
Pellet z rumianku	1%	Króliki New Zealand White	Parametry produkcyjne ↑ Parametry zdrowotne ↑	[84]
Suszone sproszkowane	0,3; 0,6; 0,9; 1,2%	Brojlery	Parametry produkcyjne ↑ Parametry zdrowotne ↑	[85]
Proszek z rumianku	1, 2, 3 g/szt.	Kozy	Parametry produkcyjne ↑ Parametry zdrowotne ↑ Jakość mleka ↑	[86]

↑ – poprawa.

#### 4.5. Szałwia lekarska (*Salvia officinalis* L.)

Szałwia lekarska zawiera wiele związków biologicznie czynnych, które można podzielić na monotereny, diterpeny, triterpeny i składniki fenolowe. Wśród składników fenolowych wyróżnia się dwie grupy: kwasy fenolowe (kawowy, waniliowy, ferulowy i rozmarynowy) oraz flawonoidy (luteolina, apigenina i kwercetyna) [55]. Do najpowszechniejszych monoterenów należą:  $\alpha$ - i  $\beta$ -tujon, 1,8-cyneol i kamfora. A do najczęściej spotykanych diterpenów należą: kwas karnozowy, karnozol, rosmadial i manool. Natomiast do triterpenów należą kwasy oleanolowy i ursolowy [56]. Najwyższą zawartość

polifenoli wykazano w ekstraktach z liści szafwii, a następnie z części nadziemnych [57]. W żywieniu gadów wykazuje działanie antyoksydacyjne, uspokajające, przeciwwirusowe, przeciwbakteryjne, stymulujące trawienie [45]. Dodatkowo szafwia stosowana jest w profilaktyce antystresowej u drobiu [58]. Dodatek *Salvia officinalis* przeciwdziała nadmiernej potliwości koni, a stosowana w leczeniu grypy okazuje się bardziej skuteczna niż antybiotyki [38]. Radkowska [1] podaje, że zastosowanie szafwii lekarskiej w żywieniu zwierząt istotnie wpływa na regulację procesów trawiennych oraz intensywność przemiany materii. Przyczynia się do zwiększenia aktywności enzymów trawiennych błon śluzowych żołądka, co może istotnie wpływać na poprawę i wykorzystanie składników pokarmowych (tab. 5).

Tabela 5. Zastosowanie różnych form szafwii lekarskiej w żywieniu zwierząt

Dodatek żywieniowy	Dawka	Gatunek	Efektywność zastosowania	Źródło
Suszone sproszkowane zioła	0; 0,5%	Przepiórka japońska	Jakość mięsa ↑	[87]
Suszone sproszkowane zioła	0; 0,5; 1 kg/t paszy	Kury noski Bovans brown	Parametry produkcyjne ↑ Parametry zdrowotne ↑	[88]
Sproszkowana szafwia	0; 1%	Kurczęta Cobb 500	Jakość mięsa ↑	[89]
Ekstrakt z szafwi	10 μl/zwierzę/dzień w wodzie	Króliki	Parametry produkcyjne ↑	[90]

↑ – poprawa.

#### 4.6. Tymianek pospolity (*Thymus vulgaris* L.)

*T. vulgaris* L. jest bogatym źródłem licznych związków chemicznych sklasyfikowanych jako związki fenolowe, terpenoidy, flawonoidy, steroidy, alkaloidy, garbniki i saponiny. Najważniejszymi związkami fenolowymi są kwas rozmarynowego, kawowego, p-kumarowego, geranowego, p-hydroksybenzoesowego, kwas gentyzynowy, kwas syryngowy i kwas ferulowy [59, 60]. W olejku eterycznym z *T. vulgaris* L. wyodrębnia się związki lotne o różnych stężeniach. Do nich należą: tymol, karwakrol, geraniol, linalool,  $\alpha$ - i  $\beta$ -pinen, p-cymen i  $\gamma$ -terpinen, które wykazują główne aktywności farmakologiczne [61]. Kostyra i in. [37] podają, że tymianek pospolity wpływa na poprawę apetytu zwierząt. Natomiast podawany koniom działa korzystnie na układ oddechowy, a także działa antybakteryjne, łagodzi kaszel i alergię. Kuźnicki i in. [62] podają, że polifenole stanowią istotne modulatory przemian w przewodzie pokarmowym zwierząt, dlatego dzięki wspomnianej już dużej zawartości związków fenolowych w tymianku oraz lebidocce mogą tworzyć istotną ochronę białek dawki żywieniowej zwierząt przeżywających przed rozkładem mikrobiologicznym w żwaczu. Abd El-Hack i in. [62] również potwierdzają potencjał dodatku żywieniowego tymianku pospolitego w żywieniu drobiu, ze względu na dużą zawartość tymolu. Przynosi korzyści w zakresie biodostępności składników odżywczych i poprawy funkcjonowania układu odpornościowego, co przekłada się na ogólną zdrowotność ptaków i zwiększenie ich wydajności produkcyjnej. Jest to także bardzo istotne w przypadku prosiąt, które w wyniku izolacji od loch często narażone są na stres tlenowy [64]. Tymianek cechują się też właściwości przeciwbakteryjne i może być stosowany do

utrzymania prawidłowej populacji mikroorganizmów przewodu pokarmowego zwierząt [63]. Zastosowanie tymianku w diecie zwierząt pozytywnie wpływa na ich apetyt, zwiększając pobranie paszy oraz przyczynia się do poprawy funkcji trawiennych [11]. Ponadto ma korzystny wpływ na wykorzystanie paszy, wchłanianie składników odżywczych, stan antyoksydacyjny, funkcje odpornościowe oraz jakość tuszy (tab. 6) [63]. W badaniach Klebaniuk i in. [29] wykazano, że zastosowanie w żywieniu cieląt mieszanki ziołowej której jednym z głównych komponentów zielarskich był tymianek, wpływa na wzrost zawartości immunoglobulin w osoczu krwi.

Tabela 6. Zastosowanie różnych form tymianku w żywieniu zwierząt

Dodatek żywieniowy	Dawka	Gatunek	Efektywność zastosowania	Źródło
Liście tymianku	1%	Kozy	Parametry produkcyjne ↑	[91]
Susz	0%, 1%, 2%	Kury nioski	Parametry zdrowotne ↑	[92]
Olejek tymiankowy Mikroemulsja	1 ml/l wody	Pisklęta Cobb	Parametry zdrowotne ↑	[93]
Ekstrakt z tymianku	0; 20; 40 mg/kg m.c.	Cieleta rasy fryzyjskiej	Parametry zdrowotne ↑	[94]
Susz	10 g/maciorkę/dzień	Maciorki i jagnięta rasy Sanjabi	Parametry produkcyjne ↑ Parametry zdrowotne ↑	[95]

↑ – poprawa

#### 4.7. Lebiodka pospolita (*Origanum vulgare*)

W terapii *Origanum vulgare* L. najczęściej stosowane są ekstrakty z części nadziemnej rośliny (liście, kwiaty i nasiona). Reprezentatywnymi związkami odpowiedzialnymi za główne działania terapeutyczne są izomeryczne monoterpeny fenolowe: karwakrol i tymol. Innymi ważnymi składnikami o właściwościach bioaktywnych są acykliczne, monocykliczne i bicykliczne monoterpeny, seskwiterpeny, flawonoidy, kwasy fenolowe oraz garbniki [65]. Jak dowiedli Mohiti-Asli i Ghanaatparast-Rashti [65], dodatek oleju z lebiodki pospolitej w dawce 0,05% w żywieniu eksperymentalnym brojlerów zarażonych szczepionką żywą atenuowaną zawierającą trzy różne gatunki szczepu *Eimeria*, zmniejsza objawy kokcydiozy. Paskudzka i in. [66] również podaje, że suplement ekstraktu z lebiodki pospolitej stosowany w żywieniu kur zarażonych kokcydiami przyczynił się do zmniejszenia oocyt w kale drobiu. Ponadto zaobserwowano pozytywny wpływ fitobiotycznego dodatku na przyrosty masy ciała również u kurcząt nie zarażonych kokcydiazą. Immunomodulujący charakter tego zioła wykazali również Ayrle i in. [38] oraz Studzińska-Sroka i in. [13] (tab. 7). Jak wskazuje Kasproicz-Potocka [67] uzupełnienie 1 g/l kg paszy olejem z lebiodki pospolitej dla loch w okresie okołoporodowym przyczynia się do polepszenia parametrów rozrodu, jak również zwiększa liczebność potomstwa oraz korzystnie wpływa na zdrowie młodych zwierząt. Natomiast wprowadzenie tego fitogenicznego dodatku dawki pokarmowej warunkuje działanie anaboliczne u tuczników, jak i prosiąt.

Tabela 7. Zastosowanie różnych form lebidki w żywieniu zwierząt

Dodatek żywieniowy	Dawka	Gatunek	Efektywność zastosowania	Źródło
Olejek eteryczny	0; 200; 300 mg/kg	Brojlery Arbor Acres	Parametry produkcyjne ↑ Parametry zdrowotne ↑	[96]
Olejek eteryczny	150 mg/kg m.c.	Owce mleczne	Parametry zdrowotne ↑	[97]
Olejek eteryczny	0; 1 g/kg diety	Króliki New Zealand White	Parametry zdrowotne ↑	[98]
Susz	0; 2,5%	Owce rzeźne Saidi	Parametry produkcyjne ↑ Parametry zdrowotne ↑	[99]
Olejek eteryczny	500 mg/kg diety	Prosięta	Parametry produkcyjne ↑ Parametry zdrowotne ↑	[100]

↑ – poprawa

## 5. Podsumowanie

Zioła charakteryzują się bogatym składem substancji wtórnego metabolizmu wykazujących wielokierunkowe działanie terapeutyczne, które w naturalny sposób mogą stanowić uzupełnienie dawki pokarmowej zwierząt. Istnieje konieczność stałej oceny potencjału fitochemicznego ziół w celu sprawdzenia ich synergicznego mechanizmu oddziaływania na organizmy zwierzęce. Potwierdzony pozytywny wpływ ziół sugeruje, że należy przeprowadzać wciąż dalsze badania nad ich wykorzystaniem w żywieniu zwierząt, szczególnie w odniesieniu do znaczącego potencjału w regulacji procesów trawiennych, zwiększania wykorzystania składników pokarmowych, stymulacji odporności. Badania te mogłyby być wykorzystane w poszerzeniu wiedzy o mechanizmach ich działania, z uwzględnieniem dróg synergii i antagonizmu. Zadanie te mogłyby przynieść korzyści wynikające z świadomego i efektywnego optymalizowania kondycji zdrowotnej zwierząt, ich wydajności produkcyjnej oraz zapewnić im szeroko rozumiany dobrostan.

## Literatura

1. Radkowska I., *Wykorzystanie ziół i fitogenicznych dodatków paszowych w żywieniu zwierząt gospodarskich*, Wiadomości Zootechniczne, 51(4), 2013, s. 117-124.
2. Kumar M., Kumar V., Roy D., Kushwaha R., Vaiswani S., *Application of Herbal Feed Additives in Animal Nutrition – a Review*, International Journal of Livestock Research, 9, 2014, s. 1-8.
3. Ulrikh E.V., Khaliullin R.S., Ganieva I.A., Izhmulkina E.A., Arzjutov M.N., *The content of biologically active substances in phytobiotics used for agricultural animals and poultry*, International Journal of Engineering and Technology (UAE), 7, 2018, s. 445-449.
4. Grela E.R., Klebaniuk R., Kwiecień M., Pietrzak K., *Fitobiotyki w produkcji zwierzęcej*, Przegląd Hodowlany, 3, 2013, s. 21-24.
5. Ferdous M.F., Arefin M.S., Rahman M.M., Ripon M.M.R., Rashid M.H., Sultana M.R., Rafiq K., *Beneficial effects of probiotic and phytobiotic as growth promoter alternative to antibiotic for safe broiler production*, Journal of advanced veterinary and animal research, 6(3), 2019, s. 409.
6. Mirowski A., *Użyteczność ziół w żywieniu bydła*, Życie Weterynaryjne, 92, 2019, s. 131-133.
7. Senderski M.E., *Ziołowe receptury na zdrowie*, Herbavis, 2011, s. 1-592.
8. Spsychalski G., *Determinants of growing herbs in Polish agriculture*, Herba Polonica Journal, 59, 2013, s. 6-18.
9. Jütte R., Heinrich M., Helmstädter A., Langhorst J., Niebling W., Pommerening T., Trampisch H.J., *Herbal medicinal products – Evidence and tradition from a historical perspective*, Journal of Ethnopharmacology, 207, 2017, s. 220-225.



10. Makala H., *Ziola i fitogeniczne dodatki paszowe w żywieniu drobiu*, Medycyna Weterynaryjna, 78(1), 2022, s. 11-18.
11. Kostadinović L., Lević J., *Effects of phytoadditives in poultry and pigs diseases*, Journal of Agronomy, 5, 2018, s. 1-7.
12. Laskowski S., Banaszewicz T., Milczarek A., *Wpływ oregano dodanego do mieszanek na wyniki odchowu, wybrane organy wewnętrzne oraz cechy morfometryczne i wartość pH przewodu pokarmowego kurcząt brojlerów*, Medycyna Weterynaryjna, 73, 2017, s. 781-785.
13. Studzińska-Sroka E., Dudek-Makuch M., Czapska I., *Zastosowanie roślin w profilaktyce i leczeniu zwierząt hodowlanych*, Wiadomości Zootechniczne, 3, 2018, s. 66-78.
14. Tykałowski B., Koncicki A., *Immunomodulacja jako narzędzie ograniczające antybiotykoterapię w intensywnym chowie drobiu*, Medycyna Weterynaryjna, 78(8), 2022, s. 369-375.
15. Wójtowski J., Danków R., Foksowicz-Flaczyk J., Grajek K., *Dodatki ziołowe w żywieniu krów, owiec i kóz mlecznych*, Życie Weterynaryjne, 94 (08), 2019, s. 556-560.
16. Paskudska A., Kołodziejczyk D., Socha S., *The use of herbs in Animals*, Acta Scientiarum Polonorum Zootechnica, 17, 2018, s. 3 -14.
17. Bhatt N., *Herbs and Herbal Supplements, a Novel Nutritional Approach in Animal Nutrition*, Iranian Journal of Applied Animal Science, 5, 2015, s. 497-516.
18. Olcha M., Merska M., Bąkowski M., *Efektywność stosowania w dawkach pokarmowych ziół w różnych postaciach u bydła*, Nauka w służbie przyrodzie– wybrane zagadnienia, 2015, s. 15-23.
19. Kiczorowska B., Samolińska W., Al-Yasiry A.R.M., Kiczorowski P., Winiarska-Mieczan A., *The natural feed additives as immunostimulants in monogastric animal nutrition-a review*, Annals of animal science, 17(3), 2017, s. 605.
20. Saxena M., Saxena J., Nema R., Singh D., Gupta A., *Phytochemistry of Medicinal Plants*, Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 1, 2013, s. 168-182.
21. Sivapalan S.R., *Phytochemical study on medicinal plants – Sida cordifolia Linn*, International Journal of Multidisciplinary Research and Development, 2, 2015, s. 200-204.
22. Horoky P., Skalickova S., Smerkova K., Skladanka J., *Essential Oils as a Feed Additives: Pharmacokinetics and Potential Toxicity in Monogastric Animals*, Animals, 9, 2019, s. 1-15.
23. Brodziak A., Król J., Nowaczek A., *Naturalne substancje pochodzenia roślinnego negatywnie oddziaływujące na zdrowie krów oraz jakość mleka*, Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 24, 2017, s. 33-47.
24. Senderski M.E., *Prawie wszystko o ziołach w. 3*, Podkowa Leśna, 2016, s. 1-656.
25. Radzikowski D., Kalińska A., Ostaszewska U., Gołębiewski M., *Alternative solutions to antibiotics in mastitis treatment for dairy cows - a review*, Animal Science Papers and Reports, 38, 2020, s. 117-133.
26. Sadowska A., Skarzyńska E., Rakowska R., Batogowska J., Waszkiewicz-Robak B., *Substancje bioaktywne w surowcach pochodzenia roślinnego i roślinach zielarskich*, Postęp techniki przetwórstwa spożywczego, 2, 2014, s. 131-135.
27. Budny A, Kupczyński R., Sobolewska S., Korczyński M., Zawadzki W., *Samolecznictwo i ziołolecznictwo w profilaktyce i leczeniu zwierząt gospodarskich*, Acta Scientiarum Polonorum Medicina Veterinaria, 11, 2012, s. 5-24.
28. Radkowska I., Szewczyk A., *Wykorzystanie fitoterapii w profilaktyce i leczeniu cieląt*, Rocznik Nauk Zootechnicznych, 44, 2017, s. 149-160.
29. Klebaniuk R., Kowalczyk-Vasilev E., Bąkowski M., Rocki G., Greła E.R., Kiczorowska B., Matras J., Widz J., Kęпка K., *Efektywność stosowania mieszanki ziołowej*, Medycyna Weterynaryjna, 73, 2017, s. 751-755.
30. Kiewlicz J., Malinowska P., Szymusiak H., *Aktywność przeciwdrobnikowa wybranych wyciągów ziołowych*, Problem Hig Epidemiology, 94, 2013, s. 317-320.

31. Newerli-Guz J., *Innowacje na rynku przypraw i produktów przyprawowych*, Marketing i Zarządzanie, 44(3), 2016, s. 361-369.
32. Attarzadeh M., Balouchi H., Rajaie M., Dehnavi M. M., Salehi A., *Improving growth and phenolic compounds of Echinacea purpurea root by integrating biological and chemical resources of phosphorus under water deficit stress*, Industrial Crops and Products, 154, 2020, 112763.
33. Bruni R., Brighenti V., Caesar L.K., Bertelli D., Cech N.B., Pellati F., *Analytical methods for the study of bioactive compounds from medicinally used Echinacea species*, Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 160, 2018, s. 443-477.
34. Erkoyuncu M.T., Yorgancilar M., *Optimization of callus cultures at Echinacea purpurea L. for the amount of caffeic acid derivatives*, Electronic Journal of Biotechnology, 51, 2021, s. 17-27.
35. Jukić H., Habeš S., Aldžić A., Durgo K., Kosalec I., *Antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds of the extracts of Echinacea purpurea (L.)*, Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina, 44, 2015, s. 43-52.
36. Burlou-Nagy C., Bănică F., Jurca T., Vicaș L.G., Marian E., Muresan M.E., Pallag A., *Echinacea purpurea (L.) Moench: Biological and Pharmacological Properties. A Review*, Plants, 11(9), 2022, s. 1244.
37. Kostyra M., Albera-Łojek A., Łojek J., *Ziola w terapii i profilaktyce schorzeń u koni*, Wiadomości Zootechniczne, 1, 2018, s. 90 -107.
38. Ayrle H., Mevissen M., Kaske M., Nathues H., Gruetzner N., Melzig, M., Walkenhorst, M., *Medicinal plants—prophylactic and therapeutic options for gastrointestinal and respiratory diseases in calves and piglets? A systematic review*, BMC veterinary research, 12, 2016, s. 1-31.
39. Visuvanathan T., Than L.T.L., Stanslas J., Chew S.Y., Vellasamy S., *Revisiting Trigonella foenum-graecum L.: Pharmacology and Therapeutic Potentialities*, Plants, 11(11), 2022, s. 1450.
40. Marczuk J., Kiczorowska B., Brodzki P., Kurek L., Kotowicz-Szatkowska U., *Zespół Cushinga u koni-rozpoznanie i leczenie*, Magazyn Weterynaryjny, 23(10), 2014, s. 1032-1039.
41. Zentek J., Gärtner S., Tedin L., Männer K., Mader A., Vahjen W., *Fenugreek seed affects intestinal microbiota and immunological variables in piglets after weaning*, British Journal of Nutrition, 109(5), 2013, s. 859-866.
42. Dorman H.J., Kosar M.K.H., Hiltunen R., *Phenolic profile and antioxidant evaluation of Mentha x piperita L. (peppermint) extracts*, Natural Product Commun, 4, 2009, s. 535-542.
43. Mahdavia F., Saharkhiz M. J., Karami A., *Defensive response of radish seedlings to the oxidative stress arising from phenolic compounds in the extract of peppermint (Mentha x piperita L.)*, Scientia Horticulturae, 214, 2017, s. 133-140.
44. Konkol D., *Perspektywa wykorzystania ziół w żywieniu gadów*, Życie Weterynaryjne, 93(04), 2018, s. 258-260.
45. Klećkowska-Nawrot J., Nowaczyk R., Chrószcz A., Janeczek M., *Ziołolecznictwo w medycynie weterynaryjnej*, W: red. Felsmann M., Szarek J., Felsmann M, 2013, s. 217-240.
46. Klarić I., Domaćinović M., Galović D., Pavić M., Ronta M., Steiner Z., *Peppermint (Mentha piperita) in domestic animal nutrition. 52. hrvatski i 12. međunarodni simpozij agronoma, 12. do 17. veljače 2017*, Dubrovnik, Hrvatska. Zbornik radova, 2017, s. 518-522.
47. Abdalla R.M., Abdelgadir A.E., *Antibacterial activity and phytochemical constituents of Cinnamomum verum and Matricaria chamomilla from Sudan*, Bio Bulletin, 2(2), 2016, s. 1-5.
48. Elsemelawy S., *Antidiabetic and antioxidative activity of chamomile (Matricaria chamomilla L.) powder on diabetic rats*, J Nat Med, 3(1), 2017, s. 501-520.
49. Ghoniem A.A., Abd El-Hai K.M., El-Khateeb A.Y., Eldadamony N.M., Mahmoud S.F., Elsayed A., *Enhancing the potentiality of Trichoderma harzianum against Pythium*

- pathogen of beans using chamomile (*Matricaria chamomilla*, L.) flower extract, *Molecules*, 26(4), 2021, s. 1178.
50. Ahmed M.A., Meawad A.A.A., Abdelkader M.A., *Effect of mineral, organic and bio-fertilizers combinations on growth, yield components and volatile oil of Matricaria chamomilla plant*, *Zagazig Journal of Agricultural Research*, 46(6), 2019, s. 2159-2169.
  51. Heidarianpour A., Mohammadi F., Keshvari M., Mirazi N., *Ameliorative effects of endurance training and Matricaria chamomilla flowers hydroethanolic extract on cognitive deficit in type 2 diabetes rat*, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 135, 2021, 111230.
  52. Beski S.S.M., *Anti-coccidial effects of dietary chamomile against experimentally induced coccidiosis in broiler chicken*, *Czech Journal of Animal Science*, 68(1), 2023, s. 30-43.
  53. Zdulski J., Chabuz, W., Sawicka-Zugaj W., Stobiecka, M., *Rośliny zielarskie jako ważne dodatki paszowe dla przeżuwaczy*, *Journal of Animal Science, Biology and Bioeconomy*, 37(3), 2019, s. 23-33.
  54. Roby M.H.H., Sarhan M.A., Selim K.A.H., Khalel K.I., *Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts*, *Industrial Crops and Products*, 43, 2013, s. 827-831.
  55. Jokić S., Molnar M., Jakovljević M., Aladić K., Jerković I., *Optimization of supercritical CO<sub>2</sub> extraction of *Salvia officinalis* L. leaves targeted on Oxygenated monoterpenes,  $\alpha$ -humulene, viridiflorol and manool*, *The Journal of Supercritical Fluids*, 133, 2018, s. 253-262.
  56. Jakovljević M., Jokić S., Molnar M., Jašić M., Babić J., Jukić, H., Banjari, I., *Bioactive profile of various *Salvia officinalis* L. preparations*, *Plants*, 8(3), 2019, s. 55.
  57. Mustafa A.A., Tayeb I.T., *The influence of dietary salvia and lavender powders on productive performance, some physiological parameters, and immunity of broiler under stocking density stress*, *Iraqi Journal Of Agricultural Sciences*, 53(6), 2022, s. 1280-1288.
  58. Heidari Z., Salehzadeh A., Sadat Shandiz S.A., Tajdoost S., *Anti-cancer and anti-oxidant properties of ethanolic leaf extract of *Thymus vulgaris* and its bio-functionalized silver nanoparticles*, *3 Biotech*, 8, 2018, s. 1-14.
  59. Kuete V., *Thymus vulgaris*, *Medicinal spices and vegetables from Africa*, 2017, s. 599-609.
  60. Patil S.M., Ramu R., Shirahatti P.S., Shivamallu C., Amachawadi R.G., *A systematic review on ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacological aspects of *Thymus vulgaris* Linn*, *Heliyon*, 7(5), 2021, e07054.
  61. Kuźnicki D., Szule P., Szumacher-Strabel M., Cieślak A., *Polifenole jako modulatory przemian w przewodzie pokarmowym zwierząt*, *Przegląd hodowlany*, 6, 2018, s. 18-21.
  62. Abd El-Hacka M.E. Alagawanya M., Faragb M.R., Tiwaric R., Karthikd K., Dhamae K., Zorriehzahraf J., Adelg M., *Beneficial impacts of thymol essential oil on health and production of animals, fish and poultry: a review*, *Journal of Essential Oil Research*, 5, 2016, s. 365-382.
  63. Mirowski A., *Użyteczność antyoksydantów pokarmowych w łagodzeniu stresu oksydacyjnego u młodych świń*, *Życie Weterynaryjne*, 95(05) 2020, s. 281-283.
  64. Sharifi-Rad M., Berkay Yilmaz, Y., Antika G., Salehi, B., Tumer T.B., Kulandaisamy Venil C., Das G., Patra J.F., Karazhan N., Akram M., Iqbal M., Imran M., Sen S., Acharya K., Dey A., Sharifi-Rad, J., *Phytochemical constituents, biological activities, and health-promoting effects of the genus *Origanum**, *Phytotherapy Research*, 35(1), 2021, s. 95-121.
  65. Mohiti-Asli M., Ghanaatparast-Rashti M., *Dietary oregano essential oil alleviates experimentally induced coccidiosis in broilers*, *Preventive veterinary medicine*, 120(2), 2015, s. 195-202.
  66. Paskudska A., Kolodziejczyk D., Socha S., *The use of herbs in animal nutrition*, *Acta Scientiarum Polonorum. Zootechnica*, 17(2), 2018, s. 3-14.
  67. Kasprócz-Potocka M., *Olejki eteryczne-dodatki aktywne*, *Trzoda Chlewna*, 48(01), 2010, s. 40-41.

68. Diab T.M., Abousekken M.S.M., Mahboub H.D., ElAbd N.M., *Effect Of Adding Different Levels Of Echinacea Purpurea Extract On The Productive Performance Of Broiler Chickens*, Journal of Environmental Studies and Researches, 10(4), 2023, s. 1299-1310.
69. Morsy T., Farahat E., Azzaz H., Gaber A., *Quality evaluation of processed cheese made from milk of ewes fed diets supplemented with Moringa oleifera or Echniacea purpurea*, Egyptian Journal of Chemistry, 65(4), 2022, s. 241-248.
70. Sobhani K., Vaziry A., Farzinpour A., Meraati Z., *Effect of Echinacea Purpurea Powder on Productive Performance, Immunity Response, Intestinal Microbial Flora and Some Blood and Reproductive Parameters of Male Japanese Quail*, Veterinary Researches & Biological Products, 35(4), 2022, s. 27-37.
71. Ganjavi R., Bashtani M., Farhangfar H., Sarir H., *Effect of different levels of Echinacea purpurea extract on performance, feed intake, blood metabolites and immune parameters of calves*, Journal of Animal Science Research, 32(1), 2022, s. 113-123.
72. Voroshilin R.A., Kurbanova M.G., Rassolov S.N., Ulrikh E.V., *Rabbit dietary supplementation with Echinacea purpurea L.: the quality profile of rabbit meat*, Food Processing: Techniques and Technology, 50(2), 2020, s. 185-193.
73. Taiwo G., Sidney T., Idowu M., Eichie F., Karnezos T.P., Ogunade I.M., *Dietary fenugreek seed extract improves dry matter intake, apparent total tract nutrient digestibility, and alters whole blood transcriptome of Holstein dairy heifers*, Translational Animal Science, 6(4), 2022, s.132.
74. Hasin D., Pampori Z.A., Ahmad Sheikh A., Aarif O., Bhat I.A., Abdullah M., *Milk production and hormonal profile as affected by Fenugreek supplementation in lactating goats of Kashmir valley*, Biological Rhythm Research, 52(7), 2021, s. 986-993.
75. Pałka S.E., Otwinowska-Mindur A., Migdał Ł., Kmiciek M., Wojtysiak D., *Effect of a diet supplemented with nettle (Urtica dioica L.) or fenugreek (Trigonella foenum-graecum L.) on the post-slaughter traits and meat quality parameters of termond white rabbits*, Animals, 11(6), 2021, s. 1566.
76. Ibdhi R., Salem H.B., *Effect of daily or intermittent addition of fenugreek (Trigonella foenum graecum L.) seeds to concentrate on intake, digestion, and growth performance of Barbarine lamb*, Small Ruminant Research, 216, 2022, 106792.
77. Ali A.H., Yeasmin T., Mohamed Y.A., Mohamud A.I., Mishra P., *Evaluation of dietary supplementation of fenugreek seed (Trigonella foenum-graecum L.) as a growth promoter in broiler diet and its impacts on growth performance, carcass quality and cost effectiveness*, Journal of Istanbul Veterinary Sciences, 5(1), 2021, s. 6-12.
78. Ishfaq A., Bhat A.R., Ganai A.M., Beigh Y.A., Sheikh G.G., *Effect of Pudina (Mentha piperita) Supplementation on Nutrient Utilization and Blood Biochemical Parameters of Sheep*, Indian Journal of Animal Nutrition, 36(2), 2019, s. 146-152.
79. Petričević V., Dosković V., Lukić M., Škrbić Z., Rakonjac S., Petričević M., Stanojković A., *Effect of peppermint (Mentha piperita L.) in broiler chicken diet on production parameters, slaughter characteristics and gut microbial composition*, Large Animal Review, 27, 2021, s. 103-107.
80. Raj R., Mohit Bharadwaj A.R., *Effect of feeding Tinospora cordifolia and Mentha arvensis on growth and nutrient utilization in crossbred calves*, Journal of entomology and zoology studies, 9(1), 2021, s. 1682-1686
81. Rahman A., Bayram I., Gultepe E.E., *Effect of mentha on performance, haematological and biochemical parameters in laying hens*, South African Journal of Animal Science, 51(2), 2021, s. 221-230.
82. Masouri L., Bagherzadeh-Kasmani F., Mehri M., Rokouei M., Masouri B., *Mentha piperita as a promising feed additive used to protect liver, bone, and meat of Japanese quail against aflatoxin B1*, Tropical Animal Health and Production, 54(5), 2022, s. 254.

83. Khattab A.R., Abozed G.F., Saleh A.A., *Impact Of Using Chamomile Flowers As A Feed Additive On Growth Performance, Digestion Coefficients, Blood Profile And Puberty Of Frafra Sheep*, Egyptian Journal of Nutrition and Feeds, 24(3), 2021, s. 377-384.
84. El-Adawy M.M., Salem A.Z., Khodeir M.H., Khusro A., Elghandour M.M., Rojas Hernandez S., Al-Shamandy O.A., *Influence of four tropical medicinal and aromatic plants on growth performance, digestibility, and blood constituents of rabbits*, Agroforestry Systems, 94, 2020, s. 1279-1289.
85. Akbari M., Ashrafi S.S., Bouyeh M., Jáber Mohamad J.R., Seidavi A., Rodríguez Ventura M., *Evaluation of Chamomile (Matricaria chamomilla L.) as an Alternative Growth Promoter in Broiler Chicks*, Animal Nutrition and Feed Technology, Animal Nutrition And Feed Technology, 20(1), 2020, s. 71
86. Ahmed M.I., Mahdy T.M.M., Mansour A.M., Alzahar H., Sadek W.M.A., *Effect of chamomile flower addition to diets of lactating Zaraibi goats on its productive performance*, Egyptian Journal of Nutrition and Feeds, 22(3), 2019, s. 479-489.
87. Jakubowska M., Karamucki T., *The effect of feed supplementation with Salvia officinalis, Thymus vulgaris, and Rosmarinus officinalis on the quality of quail meat*, Animal Science Papers & Reports, 39(4), 2021, s. 393-405.
88. Saleh A.A., Hamed S., Hassan A.M., Amber K., Awad W., Alzawqari M.H., Shukry M., *Productive performance, ovarian follicular development, lipid peroxidation, antioxidative status, and egg quality in laying hens fed diets supplemented with Salvia officinalis and Origanum majorana powder levels*, Animals, 11(12), 2021, s. 3513.
89. Vlaicu P.A., Untea A.E., Turcu R.P., Saracila M., Panaite T.D., Cornescu G.M., *Nutritional composition and bioactive compounds of basil, thyme and sage plant additives and their functionality on broiler thigh meat quality*, Foods, 11(8), 2022, s.1105.
90. Pogány Simonová M., Chrastinová E., Lauková, A. *Enterocin 7420 and Sage in Rabbit Diet and Their Effect on Meat Mineral Content and Physico-Chemical Properties*, Microorganisms, 10(6), 2022, s. 1094.
91. Ghoneem W.M.A., Mahmoud A.E.M., *Impact of Incorporating Thymus vulgaris as Leaves or Essential Oil in Damascus Goats Ration on Lactation Performance*, International Journal of Dairy Science, 17(1), s. 1-12.
92. Yalcin S., Eser H., Onbařilar İ., Yalcin S., *Effects of dried thyme (Thymus vulgaris L.) leaves on performance, some egg quality traits and immunity in laying hens*, Ankara Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi, 67(3), 2020, s. 303-311.
93. Hamed E.A., Abdelaty M.F., Sorour H.K., Elmasry D., Abdelmagid M.A., Saleh M.A. M., AbdelRahman M.A.A., *A pilot study on the effect of thyme microemulsion compared with antibiotic as treatment of Salmonella Enteritidis in broiler*, Veterinary Medicine International, 3, 2022, s. 1-12.
94. Wafa W.M.F., El-Hais A.M., Abo Teba M.M., *Effect of probax, thyme extract, and their combination on growth performance, rumen function, and blood parameters of Friesian calves*, Journal of Animal and Poultry Production, 13(6), 2022, s. 81-89.
95. Khamisabadi H., Fazaeli H., *Effect of Thymus vulgaris or Peppermint on Lactating Sanjabi Ewe Performance, Milk Composition, Lamb Growing and Relevant Blood Metabolites*, Journal of Medicinal plants and By-product, 10, 2021, s. 95-101.
96. Jin X., Huang G., Luo, Z., Hu Y., Liu, D., *Oregano (Origanum vulgare L.) Essential Oil Feed Supplement Protected Broilers Chickens against Clostridium, perfringens Induced Necrotic Enteritis*, Agriculture, 12(1), 2022, s. 18.
97. Štrbac F., Krnjajić S., Maurelli M.P., Stojanović D., Simin N., Orčić D., Bosco A.A *Potential Anthelmintic Phytopharmacological Source of Origanum vulgare (L.) Essential Oil against Gastrointestinal Nematodes of Sheep*, Animals, 13(1), 2023, s. 45.
98. Hassan M.A., Abo-Elmaaty A.M., Zagloul A.W., Mohamed S.A., Abou-Zeid S.M., Farag M.R., El-Hady E., *Origanum vulgare Essential Oil Modulates the AFBI-Induced*

*Oxidative Damages, Nephropathy, and Altered Inflammatory Responses in Growing Rabbits*, *Toxins*, 15(1), 2023, s. 69.

99. Farghaly M.M., Abdullah, M.A.M., *Effect of dietary oregano, rosemary and peppermint as feed additives on nutrients digestibility, rumen fermentation and performance of fattening sheep*, *Egyptian Journal of Nutrition and Feeds*, 24(3), 2021, s. 365-376.
100. Lodh S., Das P.K., Mukherjee J., Naskar S., Banerjee D., Ghosh P.R., Patra, A.K., *Effect of dietary oregano essential oil and milk replacer on physiological status and immunological responses of pre-and post-weaned Ghongroo piglets*, *Animal Biotechnology*, 5, 2022, s. 1-12.

## Potencjał fitochemiczny ziół w żywieniu zwierząt

### Streszczenie

Ziołolecznictwo stanowi jedną z form terapii leczniczych ludzi oraz zwierząt. Obserwacja zwierząt roślinożernych utrzymywanych na wolnych wybiegach potwierdza, że w trakcie żywienia pastwiskowego selektywnie dokonują wyboru roślin leczniczych, dzięki czemu instynktownie uzupełniają dietę roślinami o właściwościach terapeutycznych. Przejawiają tym samym różnorodne zachowania tzw. sickness behaviour, które są charakterystyczne dla danego gatunku i mają na celu poprawę ich kondycji zdrowotnej. Obserwowany behavior potwierdza również teorię o wybiórczości żywieniowej w stanie chorobowym zwierząt. Instynktowny dobór oraz pobieranie odpowiednich gatunków roślin leczniczych jest mechanizmem zapewnienia prawidłowego funkcjonowania organizmu zwierzęcia. Do najczęściej wybieranych roślin zielarskich przez zwierzęta należą: rumianek pospolity (*Matricaria chamomilla*), kozieradka pospolita (*Trigonella foenum-graecum* L.), tymianek pospolity (*Thymus vulgaris* L.), jeżówka purpurowa (*Echinacea purpurea*), szalwia lekarska (*Salvia officinalis*) oraz mięta (*Mentha*). Zjawisko samolecznictwa (autoterapii) w królestwie zwierząt, jest obecnie dobrze udokumentowane w doniesieniach naukowych na podstawie wieloletnich obserwacji naturalnych zachowań zwierząt. Podstawę współczesnej fitoterapii stanowią liczne badania oparte na rozległej wiedzy dotyczącej wpływu substancji swoistych m.in.: flawonoidy, glikozydy, taniny, garbniki, śluzy, olejki eteryczne, alkaloidy, terpeny, saponiny, związki polifenolowe na organizm zwierząt. Celem pracy jest przedstawienie stanu wiedzy na temat możliwości wykorzystania potencjału fitochemicznego ziół w żywieniu zwierząt, których właściwości biostymulujące są ściśle związane z obecnością w nich określonych związków biologicznie aktywnych.

Słowa kluczowe: zioła, substancje biologicznie czynne, zwierzęta, zdrowie

## Phytochemical potential of herbs in animal nutrition

### Abstract

Herbal medicine is one form of therapeutic treatment for both humans and animals. Observations of free-range herbivorous animals have confirmed that during grazing, they selectively choose medicinal plants, instinctively supplementing their diet with plants that have therapeutic properties. They exhibit various sickness behaviors, which are characteristic of their species and aimed at improving their health condition. This observed behavior also confirms the theory of selective feeding in diseased animals. Instinctive selection and intake of appropriate species of medicinal plants are mechanisms to ensure proper functioning of the animal's body. The most commonly chosen herbal plants by animals include chamomile (*Matricaria chamomilla*), fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.), thyme (*Thymus vulgaris* L.), purple coneflower (*Echinacea purpurea*), sage (*Salvia officinalis*), and mint (*Mentha*). Self-medication (autotherapy) in the animal kingdom is now well documented in scientific reports based on long-term observations of natural animal behaviors. The basis of modern phytotherapy is numerous studies based on extensive knowledge of the effects of specific substances, including flavonoids, glycosides, tannins, mucilages, essential oils, alkaloids, terpenes, saponins, and polyphenolic compounds, on animal organisms. The aim of this work is to present the current state of knowledge regarding the potential use of the phytochemical properties of herbs in animal nutrition, whose biostimulating properties are closely related to the presence of specific biologically active compounds.

Keywords: herbs, biologically active substances, animals, health

# Wyzwania w opracowaniu skutecznego testu genetycznego do rozróżniania świń i dzików

## 1. Wprowadzenie

Współczesny konsument, obok ceny, zwraca uwagę na jakość produktu oraz jego pochodzenie. Odpowiedzią producentów żywności oraz naukowców na te trendy jest rosnąca liczba projektów wpisujących się w zasadę „od gospodarstwa do stołu” (farm-to-fork) lub „śledzenia ścieżek dostaw” („food tracking”). Identyfikacja gatunków w produktach spożywczych wpisuje się w ten trend. Zagadnienie to dotyczy również szerszego *spectrum* odbiorców, nie tylko nabywcy gotowych produktów na półkach sklepowych. Bardzo ważnym odbiorcą wyników identyfikacji gatunkowej są organy kontrolne (tj. policja, prokuratura), dla których istotne jest potwierdzenie gatunku na przedmiotach znalezionych w miejscach przestępstw [1]. Również w hodowli wiarygodna metoda weryfikacji składu gatunkowego w mieszankach pasz jest narzędziem wykorzystywanym do kontroli respektowania zapisów unijnych dyrektyw o zakazie dodatków mączek mięsno-kostnych [2]. Molekularne metody identyfikacji gatunków są stosowane w praktyce z dużym powodzeniem w wykrywaniu DNA gatunków jak m.in. bydło, konie, sarny, jelenie, kury, świnie [3-5].

Efektywna i optymalna pod względem kosztów metoda nie została jak dotąd opracowana do rozróżnienia świni (*Sus scrofa domestica*) od dzika (*Sus scrofa scrofa*). Przyczyn jest wiele, między innymi bliskość filogenetyczna obydwu podgatunków, oraz fakt że dochodziło między nimi do sporadycznego krzyżowania [6-10].

Aby wykryć zarówno oba podgatunki, ich mieszańce (hybrydy) czy zafałszowania w gotowym produkcie potrzebna jest skuteczna metoda molekularna. Taka metoda umożliwi egzekwowanie przepisów dotyczących etykietowania żywności i potwierdzanie autentyczności produktów [1, 11].

Celem pracy jest zaprezentowanie aktualnego stanu wiedzy na temat molekularnych metod rozróżniania świni od dzika oraz przedstawienie kierunków, w których prowadzone są badania z tego zakresu.

## 2. Powody, dla których identyfikacja gatunkowa jest tak ważna

Świnie, jedno z najważniejszych zwierząt gospodarskich dla ludzi, są doskonałymi zwierzęcymi modelami do badania molekularnych podstaw chorób człowieka [12] oraz ważnym źródłem światowej produkcji mięsa. Wieprzowina jest szeroko stosowana w przemyśle spożywczym, a roczne spożycie na mieszkańca w Unii Europejskiej (UE) wynosi 41 kg [13]. Deklaracja składu produktu jest niezmiernie ważna dla Klientów i wynika najczęściej z dbałości o zdrowie (alergie, zawartość składników odżywczych zależna od składu produktu) oraz społeczno-religijnych związanych z zakazem

<sup>1</sup> anna.koseniuk@iz.edu.pl, Zakład Biologii Molekularnej Zwierząt, Instytut Zootechniki PIB, www.iz.edu.pl.

<sup>2</sup> malgorzata.natonek@iz.edu.pl, Zakład Biologii Molekularnej Zwierząt, Instytut Zootechniki PIB, www.iz.edu.pl.

<sup>3</sup> agata.kajtoch@iz.edu.pl, Zakład Biologii Molekularnej Zwierząt, Instytut Zootechniki PIB, www.iz.edu.pl.

spożywania mięsa określonych gatunków, czy wręcz wegetarianizmem. Niestety, według statystyk, w latach 2015-2018 fałszowanie mięsa, w tym wieprzowiny, stanowiło aż 28% wszystkich zafałszowań żywności w Polsce [14].

Z definicji, fałszowanie to celowe zastępowanie surowców lub składników żywności wprowadzanych do obrotu oraz podrabianie żywności lub błędne oznakowanie bez informowania o tym nabywcy (konsumenta) (Dz. U. 2020 poz. 2021 ze zm.). Motywy fałszowania żywności są najczęściej powiązane z czynnikami ekonomicznymi. Fałszowanie zmienia skład produktu i często ma realny wpływ na bezpieczeństwo poprzez dodanie substancji alergizujących lub leków. Niektóre z tych bezwzględnie szkodliwych dla wszystkich konsumentów substancji wciąż są dozwolone w niektórych krajach jak np. leki weterynaryjne takie jak raktopamina, która może trafić na rynek razem z wieprzowiną pochodzącą z krajów, w których lek ten nie został wykluczony z łańcucha pokarmowego [15]. Ponadto wieprzowina pochodząca z nielegalnych źródeł może być skażona szkodliwymi mikroorganizmami, takimi jak *Toxoplasma gondii* i *Trichinella spiralis* [16]. Jak widać fałszowanie wieprzowiny i zastępowanie innymi rodzajami mięsa może mieć katastrofalne skutki dla jakości produktów i wpłynąć na zaufanie konsumentów do branży mięsnej. Aby zwalczać nielegalne praktyki fałszowania żywności, w wielu krajach obowiązują przepisy zabraniające takich praktyk i wymagające kontroli w celu zapewnienia zgodności produktu z obowiązującymi przepisami.

Nie należy zapominać, że także hybrydy świni domowej i dzika (wyhodowane celowo lub będące efektem przypadku) niosą ze sobą wysokie ryzyko przenoszenia patogenów (np. afrykańskiego pomoru świń (ASF), klasycznego pomoru świń (CSF), gruźlicy (TB)). Jest to głównym powodem, dla którego hodowanie hybryd jest ściśle regulowane w UE [7].

### 3. Metody identyfikacji gatunkowej

Jednym z rodzajów fałszowania jest zastępowanie deklarowanego mięsa, mięsem innego gatunku. Mięso z dzika uważane jest za smaczniejsze i zdrowsze ze względu na niższą zawartość cholesterolu oraz ograniczenie dodatków paszowych. Jednak jego cena jest wyższa w porównaniu z wieprzowiną. Produkty spożywcze z mięsa dzika mogą zawierać dodatek wieprzowiny bez uwzględnienia tej informacji na etykiecie produktu [11]. Laboratoria na całym świecie opracowują różne metody identyfikacji gatunkowej żywności, w tym wieprzowiny [1].

Można je podzielić na metody klasyczne, oparte na analizie pojedynczych markerów lub zestawów złożonych z niewielkiej liczby markerów (np. markerów typu polimorfizm pojedynczego nukleotydu – ang. single nucleotide polymorphism (SNP), pojedynczych fragmentów DNA, markerów mikrosatelitarnych (ang. STR – *Short Tandem Repeats*) lub innych fragmentów DNA) oraz na metody wysokoprzepustowe, które wykorzystują kilkadziesiąt lub nawet tysiące markerów (głównie SNP). Te same metody można wykorzystywać także w kryminalistyce, kontrolowaniu składu pasz dla zwierząt, weryfikacji informacji na etykietach produktów spożywczych czy do sprawdzania deklarowanej „czystości” gatunkowej linii produkcyjnych, co w niektórych społecznościach ma fundamentalne znaczenie również z powodów religijnych [1, 11].

#### 3.1. Metody klasyczne, oparte na wybranych markerach fenotypowych

Klasyczne metody identyfikacji gatunków w dużej mierze opierają się na wykrywaniu fragmentów mitochondrialnego DNA (mtDNA), specyficznych dla badanego gatunku. Genom mitochondrialny jest bardzo krótki i u zwierząt stanowi nieco ponad 16 000 pz,



co sprawia, że stosunkowo łatwo jest opracować metody identyfikacji dowolnej grupy organizmów. W uproszczeniu metodyka opiera się na identyfikacji konserwatywnych regionów w obrębie wybranych sekwencji mtDNA, np. *Cyt b*, *12S rRNA*, *16S rRNA* [17, 18].

Analiza zafałszowań żywności czy pasz niesie ze sobą ogromne wyzwania metodyczne, gdyż produkty te są najczęściej wysokoprzetworzone. Silny wpływ temperatury i ciśnienia może spowodować fragmentację DNA, dlatego fragmenty DNA wykorzystywane do weryfikacji składu produktów powinny być krótkie, nie dłuższe niż 150 pz [4, 5]. Przewagą genomu mitochondrialnego nad genomem jądrowym jest jego odporność na czynniki fizyczne (temperatura, ciśnienie) [19], które często towarzyszą obróbce żywności. Metody molekularne z wykorzystaniem mtDNA umożliwiają oznaczanie gatunków praktycznie na dowolnej matrycy. Identyfikacja mtDNA, niezależna od postaci matrycy lub jej wcześniejszej obróbki, jest powszechnie wykorzystywana w tego typu analizach na całym świecie. Obecnie skład gatunkowy możemy określić w tkankach surowych (mięsa, kości lub krwi) i przetworzonych (żelatyna, żywność liofilizowana, produkt mięsny) [20-22].

Pomimo ogromnej skuteczności mtDNA w większości przypadków, podczas identyfikacji gatunków blisko genetycznie spokrewnionych i podgatunków jak np.: świnia domowa i dzik, metody które wykorzystują mtDNA bywają mocno ograniczone. Oba podgatunki pochodzą od wspólnego przodka, który rozdzielił się na dwie linie europejską i azjatycką około 1,6-0,8 miliona lat temu. Obie linie udomowiono niezależnie od siebie na obu kontynentach około 9000 lat temu, a badania dowodzą, że proces ten dla obu linii składał się z licznych, niezależnych zdarzeń domestykacji [10].

Zarówno dzik jak i świnia domowa mają najszerszy zasięg geograficzny wśród zwierząt kopytnych i są najbardziej rozpowszechnionym gatunkiem wśród ssaków lądowych, występując na wszystkich kontynentach z wyjątkiem Antarktydy. Jak pokazują badania naukowe, po udomowieniu dzika było wiele przypadków spontanicznego mieszania się obu podgatunków [6, 7, 23]. Co więcej, w niektórych krajach jak Bułgaria czy Włochy istnieją gospodarstwa, w których świnie hodowane są w warunkach półdzikich. Jest więc wysoce prawdopodobne, że świnie domowe czasami krzyżują się z dzikami [24].

Badania genu *MC1R* (receptor melanokortyny 1), wskazywanego jako marker kandydujący do rozróżniania tych podgatunków, potwierdziły występowanie mieszanych genotypów, również w polskich populacjach świń i dzików [6, 25, 26]. Należy również zaznaczyć, że krzyżowanie świń domowych z dzikami zostało wielokrotnie celowo wykorzystane do polepszenia walorów smakowych, gdyż mięso z dzika uważane jest za szlachetniejsze i bardziej pożądane przez klienta. Ponadto, powstała hybryda, tzw. świniodziki, podobnie jak świnia domowa, wykazuje mniej zachowań agresywnych niż dziki podgatunek [7, 26].

Przez pewien czas duże nadzieje wiązano z polimorfizmem genu *NR6A1* (g.748C > T), który skorelowano z różną liczbą kręgów w odcinku krzyżowym u świń i dzików [27], oraz z testowaniem możliwości rozróżnienia podgatunków po połączeniu polimorfizmu *MC1R* i *NR6A1* [26,28] czy wreszcie z różnicami w polimorfizmie markerów mikrosatelitarnych [29]. Dotychczas jednak żadna z tych metod nie pozwala na pełne przypisanie próbek testowych do podgatunków.

Problem rozróżniania obu podgatunków stanowi duże wyzwanie badawcze ze względu na trudności w znalezieniu markerów genetycznych specyficznych tylko dla jednego z tych podgatunków. Dlatego wraz z rozwojem metod badawczych, postanowiono wypró-

bować metody wysokoprzepustowe, wykorzystujące jednocześnie znacznie większą liczbę markerów. Postępy naukowców w tym zakresie zostały zaprezentowane w dalszej części tego opracowania.

## 3.2. Wybrane techniki wysokoprzepustowe

Zwiększenie liczby markerów SNP do testowania u jednego osobnika wpływa korzystnie na moc dyskryminacyjną testu, tym samym opracowanie technologii pozwalającej na analizę kilkuset tysięcy różnych SNPów dla jednego osobnika stało się koniecznością [33].

W badaniach na zwierzętach, zmiany w technologii analizy tego typu markerów oraz ich szybki postęp wymuszane są poprzez potrzeby hodowli zwierząt gospodarskich i genomowego szacowania wydajności [30].

Bez znajomości genomu, nie byłoby tak dużego postępu w badaniach filogenetycznych, historii pochodzenia gatunków i udomowienia. Analiza genomu dała podwaliny do precyzyjnego mapowania sprzężeń, identyfikacji znaczników selekcji, czy też analizy bloków haplotypów [31, 32]. Dobrze poznany genom pozwala na identyfikację *loci* sprzężonych z różnego rodzaju zmiennością w genomie, w tym najczęściej występujących markerów SNP, insercji czy delecji [33]. Na podstawie danych uzyskanych z analiz genomowych możliwe było opracowanie paneli SNP złożonych z kilku- do kilkuset markerów, które znalazły zastosowanie w identyfikacji chorób u ludzi i zwierząt, jak też w szacowaniu wartości hodowlanej i predyspozycji do pewnych schorzeń [33].

Jednak wykorzystanie tych technik jako oficjalnie zaakceptowanych i zwalidowanych metod w podejmowaniu decyzji dotyczących rozróżniania gatunków i podgatunków wiąże się z koniecznością utworzenia referencyjnych baz markerów dla gatunków, podgatunków i wszystkich ras, zawierających dane pochodzące z analiz setek czy tysięcy osobników.

### 3.2.1. Whole genome sequencing

Aktualnie genom świni domowej oznaczony Sscrofa11.1 został opublikowany w 2020 roku [34]. Poprzednia, robocza wersja genomu świni (Sscrofa10.2) [10, 35], choć była przełomowa w badaniach nad tym gatunkiem, charakteryzowała się słabą annotacją i zawierała niepełne sekwencje, a czasami ich brak, nawet dla bardzo istotnych genów (np.: *CD163* i *IGF2*). Nie mniej, w oparciu o wersję Sscrofa10.2 uzyskano informację na temat czasu rozdzielenia obydwu podgatunków (około 1-1,5 miliona lat temu), potwierdzono, że udomowienie form dzikich nie było jednorazowym zdarzeniem i nastąpiło niezależnie na terenie Europy i Azji. Ponadto zidentyfikowano najbardziej zróżnicowane regiony między obydwoma populacjami, które położone były w pobliżu genów związanych ze zmysłami (smaku i węchu) oraz odpowiedzią immunologiczną. Analiza została przeprowadzona na próbkach świń i dzików z Europy i Azji i miała ogromną wartość poznawczą [10].

Techniki sekwencjonowania całych genomów, takich jak pirosekwencjonowanie, sekwencjonowanie przez ligację, sekwencjonowanie przez syntezę określa się mianem sekwencjonowania drugiej generacji. Wraz z ich rozwojem, dostępnością i malejącymi kosztami możliwe było dokładniejsze poznanie genomu świni poprzez dodanie do niego kilkuset sekwencji w formie contigów, jako źródło identyfikacji wariantów genetycznych. Co więcej, dostępny genom świni został udoskonalony i rozwinięty dzięki technikom sekwencjonowania długich fragmentów, które zalicza się do sekwencjonowania trzeciej generacji [34].

### 3.2.2. Mikromacierze

Technologia mikromacierzy jest najpowszechniej wykorzystywana w badaniach populacyjnych i asocjacyjnych [33]. Obecnie na rynku dostępnych jest kilka zestawów mikromacierzy. Różnią się one gęstością rozmieszczenia SNP, ich ilością oraz przywiązaniem do platformy analitycznej konkretnego producenta [36]. Na podstawie informacji zawartych w specyfikacji macierzy, dostarczanej przez ich producentów (Illumina, Thermo Scientific) można stwierdzić, że to co łączy mikromacierze, to zestaw SNP dedykowanych konkretnemu celowi. Przykładem mogą być markery, w oparciu o które szacowana jest wartość genomowa u poszczególnych gatunków zwierząt, czy takie które wykorzystuje się w kontroli pochodzenia u zwierząt, badań populacyjnych oraz identyfikacji mutacji powiązanych z zaburzeniami genetycznymi czy określonymi cechami fenotypowymi.

Analiza mikromacierzy charakteryzuje się uzyskaniem ogromnej ilości danych przy stosunkowo niskich nakładach pracy i kosztach [37]. Jednak metodyka wymaga dobrze poznanego genomu, co w przypadku świni domowej, mimo dużych postępów, jest na średnim stopniu zaawansowania, a w przypadku dzików, genom został opracowany dla chińskiego przedstawiciela z rejonu Tybetu [38] i 12 dzików europejskich [10].

Mikromacierze pozwalają na wyznaczenie map sprzężeniowych (linkage disequilibrium) dla badanych gatunków. Heterogeniczne SNP są określane jako markery informacyjne rasy i są używane do identyfikacji i oceny składu genetycznego rasy oraz sygnatur selekcji. Komercyjne chipy SNP dla świń zostały opracowane głównie w oparciu o najbardziej heterogeniczne SNP między populacją dzików, a czterema powszechnie hodowanymi rasami świń [33]. Choć w przypadku tych ras, analiza mikromacierzy umożliwia przypisanie osobnika do grupy rasowej, to do dokładniejszej analizy innych ras istnieje konieczność wzbogacenia macierzy o inne markery.

### 3.2.3. Genotyping-by-sequencing (GBS)

Słabiej poznane genomy o gorszej anotacji, dla których zbyt kosztowne byłoby genomowanie lub opracowywanie mikromacierzy istnieje genotypowanie przez sekwencjonowanie (*Genotyping-by-sequencing*, GBS). Jest to technika oparta na sekwencjonowaniu następnej generacji krótkich fragmentów genomu, który uprzednio został poddany trawieniu enzymami [39, 40]. Jest to technika, która początkowo była wykorzystywana w badaniach na roślinach [39], ale została z powodzeniem zaimplementowana do badań na genomach zwierzęcych [37, 41]. Metoda umożliwia symultaniczną analizę wielu markerów SNP równomiernie rozmieszczonych w genomie, bez konieczności znajomości genomu [40]. Podkreślić należy, że GBS pozwala na badanie pokrewieństwa, asocjacji, a nawet selekcji genomowej [42].

W ostatnich badaniach opartych na analizie GBS świń i dzików w Polsce udowodniono, że jest to efektywna technika nawet w przypadku niewielkiej liczby próbek [43]. Skutecznie przeprowadzono analizę PCA (Principle Component Analysis, analiza głównych składowych), w której poszczególne rasy świń wyraźnie rozdzieliły się od siebie, a próbki dzików zgrupowały się niezależnie od świń [43].

#### 4. Wybrane markery genetyczne kandydujące do rozróżniania podgatunków świni i dzika

Jednymi z pierwszymi markerów testowanych do rozróżniania świni i dzików były wspomniane wyżej geny *MC1R* i *NR6A1*. Gen *MC1R* koduje receptor melanokortyny 1 i odgrywa kluczową rolę w pigmentacji skóry i sierści wielu gatunków ssaków regulując syntezę eumelaniny (odpowiadającej za odcienie brązów i czerni) i feomelaniny (odpowiadającej za kolory kremowe do czerwonych). Allel E<sup>+</sup> (aminokwasy V<sub>95</sub>L<sub>102</sub>D<sub>124</sub>A<sub>164</sub>), dający fenotyp wynikający z syntezy obu rodzajów melaniny (odcienie brązu), uważany jest za allel typu dzikiego. Początkowo genotyp E<sup>+</sup>/E<sup>+</sup> przypisywano głównie do populacji dzików [44]. Jednak badania [45] wykazały, że nie wszystkie testowane dziki z regionów południowo-środkowej i południowo-wschodniej Europy są homozygotami tego allelu. Około 21% dzików posiadało także allele E<sup>D1</sup> (aminokwasy M<sub>95</sub>P<sub>102</sub>D<sub>124</sub>A<sub>164</sub>; allel koloru czarnego obecny u świń rasy Large Black i Meishan), E<sup>D2</sup> (aminokwasy V<sub>95</sub>L<sub>102</sub>N<sub>124</sub>A<sub>164</sub>; allel koloru czarnego obecny u świń rasy Hampshire) i e (aminokwasy V<sub>95</sub>L<sub>102</sub>D<sub>124</sub>V<sub>164</sub>; recesywny allel koloru czerwonego, charakterystyczny dla świń rasy Duroc). Z kolei u rasy Duroc zaobserwowano występowanie allelu E<sup>+</sup> [28]. Dlatego wykorzystywanie wyłącznie polimorfizmu *MC1R* w rozróżnianiu świni i dzika może prowadzić do fałszywych wniosków odnośnie wykrytego podgatunku.

Świnia i dzik różnią się ilością kręgów piersiowych i grzbietowych – dziki mają ich 19, podczas gdy świni domowe mają 21-23. [46] zidentyfikowali mutację (C>T, P192L) w genie *NR6A1* (nuclear receptor subfamily 6, group A, member 1), uznawaną za mającą wpływ na liczbę kręgów. Dlatego ten SNP stał się bardzo dobrym kandydatem na marker rozróżniający oba te podgatunki. Większość badanych świń domowych jest homozygotami L/L w genie *NR6A1*, podczas gdy większość dzików jest homozygotami allelu dzikiego P/P [28, 45]. Jednak oba te allele (P i L) zaobserwowano u takich ras świń jak Thai native czy Chinese Meishan [47], a u 7,5% dzików z południowej Europy był obecny allel L [45]. Dlatego również ten marker wymaga dalszych analiz z wykorzystaniem większej liczby ras i populacji świń i dzików.

Lepszym podejściem okazało się wykorzystanie obu tych markerów razem [28, 45, 47], markera *NR6A1* w połączeniu z innymi SNP [48], a także obu tych markerów w połączeniu z markerami STR [1].

Innymi markerami, które ze względu na kodowane cechy fenotypowe, mogą się okazać przydatne w analizie rozróżniania podgatunku świni i dzika, są takie geny jak *PLAG1*, *LCORL* i *OSTN*, wskazane w badaniach [31] jako powiązane z procesem domestykacji świni domowej oraz *PPARD* i *CDKN1A* występujące w regionach o dużym zróżnicowaniu pomiędzy tymi podgatunkami [49]. Z kolei dla genów *CYCS*, *ACER1*, *HK2*, *KITLG*, *TCTE1*, *SERPINA6* i *SEMA3D* zaobserwowano różnice we frekwencji alleli u świń i dzików [31]. Różnice we frekwencji polimorfizmu genu *ACER1* pomiędzy świniami i dzikami zaobserwowali również autorzy tej monografii (badania niepublikowane). Badając domestykację świni [50] wskazali jeszcze inne SNP w genach potencjalnie różnicujących świnię i dziki, którym być może warto się bliżej przyjrzeć tj. związany z rozwojem mięśni gen *MSTN*, powiązane z zachowaniami socjalnymi geny *TBX19* i *PAFAH1B3*, z systemem immunologicznym – *LAIR1* oraz gen *Olf466* zasocjowany z percepcją zapachu.

[51] wybrali 20 SNP spośród 60 tysięcy zanalizowanych markerów na podstawie analizy statystycznej. Wszystkie te markery są zlokalizowane w regionach niekodujących,

choć kilka z nich mieści się w intronach genów. Wg autorów, panel pozwala na rozróżnienie rasy Nero Siciliano od trzech innych komercyjnych ras świń (Duroc, Landrace, Large White) i dzików, a co więcej umożliwia odróżnienie świń czystej rasy Nero Siciliano od hybryd tej rasy z wybranymi rasami komercyjnymi. Jednak dotychczas panel ten nie był testowany w innych krajach.

## 5. Wnioski/Podsumowanie

Celem tego opracowania jest zaprezentowanie aktualnego stanu wiedzy na temat molekularnych metod rozróżniania świni od dzika oraz przedstawienie kierunków, w których prowadzone są badania z tego zakresu. Wiele różnych markerów i metod próbowano wykorzystać do rozróżniania podgatunków świni domowej i dzika. W badaniach francuskich z zastosowaniem tysięcy markerów SNP wykazano, że wśród dzików od 83% do 100% zwierząt miało genom „dzikiego” pochodzenia, a analizy genomu na poziomie lokalnych populacji wykazały adaptacyjną introgresję od świni domowej [52]. Te i inne prace [1, 6, 7] wskazują, że w badaniach nad rozróżnianiem świń i dzików należy wziąć pod uwagę możliwość mieszania się populacji. Znalezienie pojedynczych markerów do jednoznacznego rozróżniania obu gatunków może okazać się niemożliwe. Wydaje się, że przyszłość należy do markerów SNP i analiz wysokoprzepustowych, a wyniki analiz wytypowanych paneli markerów będą rozróżniać te podgatunki na podstawie modeli opartych na prawdopodobieństwie. W dobie globalizacji i wolnego rynku, wiarygodny test genetyczny pozwalający na rozróżnianie świni i dzika musi zostać zwalidowany dla wielu różnych ras świń i populacji dzików z wielu krajów świata.

## Literatura

1. Lorenzini R., Fanelli R., Tancredi F., Siclari A., Garofalo L., *Matching STR and SNP genotyping to discriminate between wild boar, domestic pigs and their recent hybrids for forensic purposes*, Scientific Reports, 10, 2020, 3188.
2. Council decision 2000/766/EC of 4. (December 2000), s. 62-83.
3. Safdar M., Junejo Y., Arman K., Abasiyanik M.F., *A highly sensitive and specific tetraplex PCR assay for soybean, poultry, horse and pork species identification in sausages: Development and validation*, Meat Science, 98, 2014, s. 296-300.
4. Girish P.S., Anjaneyulu A.S.R., Viswas K.N., Anand M., Rajkumar N., Shivakumar B.M., Bhaskar S., *Sequence analysis of mitochondrial 12S rRNA gene can identify meat species*, Meat Science, 66, 2004, s. 551-556.
5. Natonek-Wisniewska M., Krzyścin P., Piestrzyńska-Kajtoch A., *The species identification of bovine, porcine, ovine and chicken components in animal meals, feeds and their ingredients, based on COX I analysis and ribosomal DNA sequences*, Food Control, 34, 2013, s. 69-78.
6. Działuk A., Zastempowska E., Skórzewski R., Twarużek M., Grajewski J., *High domestic pig contribution to the local gene pool of free-living European wild boar: a case study in Poland*, Mammal Research, 63, 2018, s. 65-71.
7. Iacolina L., Pertoldi C., Amills M., Kusza S., Megens H.J., Bâlteanu V.A., Bakan J., Cubric-Curic V., Oja R., Saarma U., Scandura M., Šprem N., Vik Stronen A., *Hotspots of recent hybridization between pigs and wild boars in Europe*, Scientific Reports, 8, 2019, 20187.
8. Scandura M., Iacolina L., Crestanello B., Pecchioli E., Di Benedetto M.F., Russo V., Davoli R., Apollonio M., Bertorelle G., Bologna U., *Ancient vs. recent processes as factors shaping the genetic variation of the European wild boar: Are the effects of the last glaciation still detectable?*, Molecular Ecology, 17, 2008, s. 1745-1762.

9. Iacolina L., Scandura M., Goedbloed D.J., Alexandri P., Crooijmans R.P.M.A., Larson G., Archibald A., Apollonio M., Schook L.B., Groenen M.A.M., Megens H.J., *Genomic diversity and differentiation of a managed island wild boar population*, Heredity (Edinb), 116, 2016, s. 60-67.
10. Groenen M.A.M., Archibald A.L., Uenishi H., Tuggle C.K., Takeuchi Y., Rothschild M.F., Rogel-Gaillard C., Park C., Milan D., Megens H.J., Li S., Larkin D.M., Kim H., Frantz L.A.F., Caccamo M., Ahn H., Aken B.L., Anselmo A., Anthon C., Auvi L., Badaoui B., Beattie C.W., Bendixen C., Berman D., Blecha F., Blomberg J., Bolund L., Bosse M., Botti S., Bujie Z., Bystrom M., Capitanu B., Carvalho-Silva D., Chardon P., Chen C., Cheng R., Choi S.H., Chow W., Clark R.C., Clee C.C., Crooijmans R.P.M.A., Dawson H.D., Dehais P., De Sapio F., Dibbits B., Drou N., Du Z.Q., Eversole K., Fadista J., Fairley S., Faraut T., Faulkner G.J., Fowler K.E., Fredholm M., Fritz E., Gilbert J.G.R., Giuffra E., Gorodkin J., Griffin D.K., Harrow J.L., Hayward A., Howe K., Hu Z.L., Humphray S.J., Hunt T., Hornshøj H., Jeon J.T., Jern P., Jones M., Jurka J., Kanamori H., Kapetanovic R., Kim J., Kim J.H., Kim K.W., Kim T.H., Larson G., Lee K., Lee K.T., Leggett R., Lewin H.A., Li Y., Liu W., Loveland J.E., Lu Y., Lunney J.K., Ma J., Madsen O., Mann K., Matthews L., McLaren S., Morozumi T., Murtaugh M.P., Narayan J., Nguyen D.T., Ni P., Oh S.J., Onteru S., Panitz F., Park E.W., Park H.S., Pascal G., Paudel Y., Perez-Enciso M., Ramirez-Gonzalez R., Reecy J.M., Rodriguez-Zas S., Rohrer G.A., Rund L., Sang Y., Schachtschneider K., Schraiber J.G., Schwartz J., Scobie L., Scott C., Searle S., Servin B., Southey B.R., Sperber G., Stadler P., Sweedler J.V., Tafer H., Thomsen B., Wali R., Wang J., Wang J., White S., Xu X., Yerle M., Zhang G., Zhang J., Zhang J., Zhao S., Rogers J., Churcher C., Schook L.B., *Analyses of pig genomes provide insight into porcine demography and evolution*, Nature, 491, 2012, s. 393-398.
11. Koutsogiannouli E.A., Moutou K.A., Sarafidou T., Stamatis C., Mamuris Z., *Detection of hybrids between wild boars (*Sus scrofa scrofa*) and domestic pigs (*Sus scrofa f. domestica*) in Greece, using the PCR-RFLP method on melanocortin-1 receptor (MC1R) mutations*, Mammalian Biology, 75, 2010, s. 69-73.
12. Dziegiel N., Szczurek P., Jura J., Pieszka M., *The pig as an animal model in biomedical research: A review*, Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej, 72, 2018, s. 1032-1042.
13. Mroczek R., *Rynek mięsa w Polsce w dobie koronawirusa SARS-Cov-2*, Zeszyty Naukowe Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie Problemy Rolnictwa Światowego, 20, 2020, 53-65.
14. Bielecki E., Bertrand J., *Falszowanie żywności w Polsce w latach 2015-2018*, Hygeia Public Health, 55, 2020, s. 56-62.
15. Majchrowska E., *Perspektywy rozwoju stosunków handlowych Polski z Kanadą w świetle umowy CETA*, Prace Naukowe Uniwersytetu Ekonomicznego we Wrocławiu, 498, 2017, s. 181-191.
16. Winter M., Abate S.D., Pasqualetti M.I., Fariña F.A., Ercole M.E., Pardini L., Moré G., Venturini M.C., Perera N., Corominas M.J., Mancinif S., Alonsog B., Marcosg A., Veneronig R., Castillog M., Birochiosa D.E., Ribicich M.M., *Toxoplasma gondii and Trichinella infections in wild boars (Sus scrofa) from Northeastern Patagonia, Argentina*, Preventive, Veterinary Medicine, 168, 2019, s. 75-80.
17. Bataille M., Crainic K., Leterreux M., Durigon M., De Mazancourt P., *Multiplex amplification of mitochondrial DNA for human and species identification in forensic evaluation*, Forensic Science International, 99, 1999, s. 165-170.
18. Yang L., Tan Z., Wang D., Xue L., Guan M.X., Huang T., Li R., *Species identification through mitochondrial rRNA genetic analysis*, Scientific Reports, 4, 2014, 4089.
19. Bruford M.W., Bradley D.G., Luikart G., *DNA markers reveal the complexity of livestock domestication*, Nature Reviews Genetics, 4, 2003, s. 900-910.

20. Natonek-Wisniewska M., Krzyściński P., *The use of PCR and real-time PCR for qualitative and quantitative determination of poultry and chicken meals*, *Annals of Animal Science*, 16, 2016, s. 731-741.
21. Shabani H., Mehdizadeh M., Mousavi S.M., Dezfouli E.A., Solgi T., Khodaverdi M., Rabei M., Rastegar H., Alebouyeh M., *Halal authenticity of gelatin using species-specific PCR*, *Food Chemistry*, 184, 2005, s. 203-206.
22. Kumar A., Kumar R.R., Sharma B.D., Gokulakrishnan P., Mendiratta S.K., Sharma D., *Identification of species origin of meat and meat products on the DNA basis: A review*, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55, 2015, s. 1340-1351.
23. Larson G., Dobney K., Albarella U., Fang M., Matisoo-Smith E., Robins J., Lowden S., Finlayson H., Brand T., Willerslev E., Rowley-Conwy P., Andersson L., Cooper A., *Worldwide phylogeography of wild boar reveals multiple centers of pig domestication*, *Science*, 307, 2005, s. 1618-1621.
24. Scandura M., Iacolina L., Crestanello B., Pecchioli E., Di Benedetto M.F., Russo V., Davoli R., Apollonio M., Bertorelle G., *Ancient vs. recent processes as factors shaping the genetic variation of the European wild boar: Are the effects of the last glaciation still detectable?*, *Molecular Ecology*, 17, 2008, s. 1745-1762.
25. Babicz M., Pastwa M., Skrzypczak E., Buczyński J.T., *Variability in the melanocortin 1 receptor (MC1R) gene in wild boars and local pig breeds in Poland*, *Animal Genetics*, 44, 2013, s. 357-358.
26. Fontanesi L., Ribani A., Scotti E., Utzeri V.J., Veličković N., Dall'Olio S., *Differentiation of meat from European wild boars and domestic pigs using polymorphisms in the MC1R and NR6A1 genes*, *Meat Science*, 98, 2014, s. 781-784.
27. Mikawa S., Hayashi T., Nii M., Shimanuki S., Morozumi T., Awata T. *Two quantitative trait loci on Sus scrofa chromosomes 1 and 7 affecting the number of vertebrae*, *The Journal of Animal Science*, 83, 2005, s. 2247-2254.
28. Koseniuk A., Smołucha G., Natonek-Wisniewska M., Radko A., Rubiś D., *Differentiating pigs from wild boars based on nr6a1 and mc1r gene polymorphisms*, *Animals*, 11, 2021, s. 1-9.
29. Canu A., Costa S., Iacolina L., Piatti P., Apollonio M., Scandura M., *Are captive wild boar more introgressed than free-ranging wild boar? Two case studies in Italy*, *European Journal of Wildlife Research*, 60, 2014, s. 459-467.
30. Weber K.L., Thallman R.M., Keele J.W., Snelling W.M., Bennett G.L., Smith T.P.L., McDanel T.G., Allan M.F., Van Eenennaam A.L., Kuehn L.A., *Accuracy of genomic breeding values in multibreed beef cattle populations derived from deregressed breeding values and phenotypes*, *Journal of Animal Science*, 90, 2012, s. 4177-4190.
31. Rubin C.J., Megens H.J., Barrio A.M., Maqbool K., Sayyab S., Schwochow D., Wang C., Carlborg Ö., Jern P., Jørgensen C.B., Archibald A.L., Fredholm M., Groenen M.A.M., Andersson L., *Strong signatures of selection in the domestic pig genome*, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109, 2012, s. 19529-19536.
32. Amaral A.J., Ferretti L., Megens H.J., Crooijmans R.P.M.A., Nie H., Ramos-Onsins S.E., Perez-Enciso M., Schook L.B., Groenen M.A.M., *Genome-wide footprints of pig domestication and selection revealed through massive parallel sequencing of pooled DNA*, *Public Library of Science*, 6(4), 2011, e147826 .
33. Ramos A.M., Crooijmans R.P.M.A., Affara N.A., Amaral A.J., Archibald A.L., Beever J.E., Bendixen C., Churcher C., Clark R., Dehais P., Hansen M.S., Hedegaard J., Hu Z.L., Kerstens H.H., Law A.S., Megens H.J., Milan D., Nonneman D.J., Rohrer G.A., Rothschild M.F., Smith T.P.L., Schnabel R.D., Van Tassell C.P., Taylor J.F., Wiedmann R.T., Schook L.B., Groenen M.A.M., *Design of a high density SNP genotyping assay in*

- the pig using SNPs identified and characterized by next generation sequencing technology*, Public Library of Science One, 2009, 4(8): e6524.
34. Warr A., Affara N., Aken B., Beiki H., Bickhart D.M., Billis K., Chow W., Eory L., Finlayson H.A., Flicek P., Giron C.G., Griffin D.K., Hall R., Hannum G., Hourlier T., Howe K., Hume D.A., Izuogu O., Kim K., Koren S., Liu H., Manchanda N., Martin F.J., Nonneman D.J., O'Connor R.E., Phillippy A.M., Rohrer G.A., Rosen B.D., Rund L.A., Sargent C.A., Schook L.B., Schroeder S.G., Schwartz A.S., Skinner B.M., Talbot R., Tseng E., Tuggle C.K., Watson M., Smith T.P.L., Archibald A.L., *An improved pig reference genome sequence to enable pig genetics and genomics research*, Gigascience 2020, 9, s. 1-14.
  35. Archibald A.L., Bolund L., Churcher C., Fredholm M., Groenen M.A.M., Harlizius B., Lee K.T., Milan D., Rogers J., Rothschild M.F., Uenishi H., Wang J., Schook L.B., *The Swine Genome Sequencing Consortium. Pig genome sequence – analysis and publication strategy*, BMC Genomics, 11, 2010, s. 3-7.
  36. Pachota K., Niedziela A., Orłowska R., Bednarek P.T., *Nowoczesne metody genotypowania DArT i GBS w hodowli gatunków roślin użytkowych*, Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, 279, 2016, s. 3-18.
  37. Gurgul A., Miksza-Cybulska A., Szmatoła T., Jasielczuk I., Piestrzyńska-Kajtoch A., Fornal A., Semik-Gurgul E., Bugno-Poniewierska M., *Genotyping-by-sequencing performance in selected livestock species*, Genomics, 111, 2019, s. 186-195.
  38. Li M., Tian S., Jin L. Zhou G., Li Y., Zhang Y., Wang T., Yeung C.K.L., Chen L., Ma J., Zhang J., Jiang A., Li J., Zhou C., Zhang J., Liu Y., Sun X., Zhao H., Niu Z., Lou P, Xian L., Shen X., Liu X, Zhang S., Zhang M., Zhu L., Shuai S., Bai L., Tang G., Liu H., Jiang Y., Mai M., Xiao J., Wang X., Zhou Q., Wang Z., Stothard P., Xue M., Gao X., Luo Z., Gu Y., Zhu H., Hu X., Zhao Y., Plastow G.S., Wang J., Jiang Z., Li K., Li N., Li X., Li R., *Genomic analyses identify distinct patterns of selection in domesticated pigs and Tibetan wild boars*, Nature Genetics, 45, 2013, 1431-1438, <https://doi.org/10.1038/ng.2811>.
  39. Elshire R.J., Glaubitz J.C., Sun Q., Poland J.A., Kawamoto K., Buckler E.S., Mitchell S.E., *A robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species*, Public Library of Science, 6, 2011, s. 1-10.
  40. Gurgul A., Miksza-Cybulska A., Szmatoła T., Semik-Gurgul E., Jasielczuk I., Bugno-Poniewierska M., Figarski T., Kajtoch Ł., *Evaluation of genotyping by sequencing for population genetics of sibling and hybridizing birds: an example using Syrian and Great Spotted Woodpeckers*, Journal of Ornithology, 160, 2019, s. 287-294.
  41. Baazaoui I., McEwan J., Anderson R., Brauning R., McCulloch A., Van Stijn T., Bedhiaf-Romdhani S., *GBS data identify pigmentation-specific genes of potential role in skin-photosensitization in two tunisian sheep breeds*, Animals, 10, 2020, s. 1-10.
  42. Kim C., Guo H., Kong W., Chandnani R., Shuang L.S., Paterson A.H., *Application of genotyping by sequencing technology to a variety of crop breeding programs*, Plant Science, 242, 2016, s. 14-22.
  43. Koseniuk A., Smołucha G., Gurgul A., Szmatoła T., Oczkowicz M., Radko A., *Differentiation of the domestic pig and wild boar using genotyping-by-sequencing*, Folia Biologica, 71, 2023, s. 1-11.
  44. Kijas J.M.H., Wales R., Törnsten A., Chardon P., Moller M., Andersson L., *Melanocortin receptor 1 (MC1R) mutations and coat color in pigs*, Genetics 150, 1998, s. 1177-1185.
  45. Fontanesi L., Ribani A., Scotti E., Utzeri V.J., Veličković N., Dall'Olio S., *Differentiation of meat from European wild boars and domestic pigs using polymorphisms in the MC1R and NR6A1 genes*, Meat Science, 98, 2014, s. 781-784.
  46. Mikawa S., Morozumi T., Shimanuki S.I., Hayashi T., Uenishi H., Domukai M., Okumura N., Awata T., *Fine mapping of a swine quantitative trait locus for number of vertebrae*



and analysis of an orphan nuclear receptor, germ cell nuclear factor (NR6A1), *Genome Research*, 17, 2007, s. 586-593.

47. Klomtong P., Chaweewan K., Phasuk Y., Duangjinda M., *MC1R, KIT, IGF2, and NR6A1 as markers for genetic differentiation in Thai native, wild boars, and Duroc and Chinese Meishan pigs*, *Genetics and Molecular Research*, 14, 2015, s. 12723-12732.
48. Kaltenbrunner M., Walter M., Kerkhoff K., Epp R., Rüggeberg H., Hochegger R., Cichnamarkl M., *Differentiation between wild boar and domestic pig in food by targeting two gene loci by real-time PCR*, *Scientific Reports*, 9, 2019, 9221.
49. Wilkinson S., Lu Z.H., Megens H.J., Archibald A.L., Haley C., Jackson I.J., Groenen M.A.M., Crooijmans R.P.M.A., Ogden R., Wiener P., *Signatures of Diversifying Selection in European Pig Breeds*, *Public Library of Science Genetics*, 9(4), 2013, e1003453.
50. Yang B., Cui L., Perez-Enciso M., Traspov A., Crooijmans R.P.M.A., Zinovieva N., Schook L.B., Archibald A., Gatphayak K., Knorr C., Triantafyllidis A., Alexandri P., Semiadi G., Hanotte O., Dias D., Dovč P., Uimari P., Iacolina L., Scandura M., Groenen M.A.M., Huang L., Megens H.J., *Genome-wide SNP data unveils the globalization of domesticated pigs*, *Genetics Selection Evolution*, 49, 2017, s. 1-15.
51. Moretti R., Criscione A., Turri F., Bordonaro S., Marletta D., Castiglioni B., Chessa S., *A 20-SNP Panel as a Tool for Genetic Authentication and Traceability of Pig Breeds*, *Animals*, 12, 2022, 11:1335.
52. Mary N., Iannuccelli N., Petit G., Bonnet N., Pinton A., Barasc H., Faure A., Calgaro A., Grosbois V., Servin B., Ducos A., Riquet J., *Genome-wide analysis of hybridization in wild boar populations reveals adaptive introgression from domestic pig*, *Evolutionary Applications*, 2022, s. 1115-1128.

## Wyzwania w opracowaniu skutecznego testu genetycznego do rozróżniania świń i dzików

### Streszczenie

Celem tego opracowania jest zaprezentowanie aktualnego stanu wiedzy na temat molekularnych metod różnicowania świni od dzika oraz przedstawienie kierunków, w których prowadzone są badania z tego zakresu. Identyfikacja składu gatunkowego produktów spożywczych oraz mieszanek paszowych ma istotne znaczenie dla kryminalistyki, policji, prokuratury, hodowcy oraz konsumenta. Świnia i dzik są podgatunkami, między którymi doszło do licznych przypadków krzyżowania. Dlatego, niezwykle trudno jest zidentyfikować markery, które pozwoliłyby jednoznacznie rozróżnić te podgatunki. Zastosowanie klasycznych markerów genetycznych związanych z fenotypowymi różnicami między świnią i dzikiem pozwoliło na połowiczny sukces. Rozwój wysokoprępowych technik analizy genomu pozwolił na dokładniejsze poznanie genomów obydwu podgatunków, identyfikację znaczników selekcji, map sprzężeniowych oraz regionów różnicujących. W oparciu o dotychczasowe wyniki badań wydaje się, że stworzenie testu genetycznego dyskriminującego świnię od dzika będzie opierało się na analizie statystycznej uzyskanych genomowych danych markerowych.

Słowa kluczowe: świnia domowa, dzik, rozróżnianie podgatunków, metody NGS

## Challenges in developing a genetic test to distinguish between pigs and wild boars

### Abstract

This study aims to present the current state of knowledge on the molecular methods of distinguishing pigs from wild boars and present them with research in this field. Identifying food and mixed feed product species composition is essential for forensics, police, prosecutors, breeders and consumers. Pig and boar are subspecies, which crossbred frequently. Therefore, it is challenging to identify the markers used to distinguish between these subspecies. Classical markers depend on the phenotypic effects of failure between pigs and wild boars in the presence of half-success. Development of high-throughput genome analysis techniques, a better understanding of genomes, subspecies isolation, objective selection criteria, linkage maps, and differentiation regions. According to research results, it is highly likely that a genetic test discriminating pigs and wild boars will be achieved based on the statistical analysis of the data obtained

Keywords: domestic pig, wild boar, differentiation of subspecies, NGS methods

## Mikrobiota ślimaków – charakterystyka i znaczenie

Badania bioróżnorodności w niedostatecznie zbadanych środowiskach, odsłaniają często także bogactwo interakcji gospodarz–mikrobiota. Okazuje się że, podobnie jak unikalne ekosystemy na planecie mogą wspierać nową różnorodność biologiczną, tak organizmy w tych ekosystemach również wspierają określone społeczności drobnoustrojów, które żyją zarówno na zwierzętach, jak i wewnątrz nich. Są one często niezbędne do trawienia i uzupełniania składników odżywczych bez względu na specyficzną naturę strategii żywieniowej gospodarza [1, 2]. Zbiór genomów wszystkich mikroorganizmów w środowisku określa termin „mikrobiom”. Z kolei pojęcie ‘mikrobiota’ zwykle dotyczy mikroorganizmów występujących w określonym środowisku, zatem może odnosić się do wszystkich mikroorganizmów występujących w środowisku, w tym bakterii, wirusów i grzybów [3]. Mikrobiota zwierzęca, dzięki swojej unikalnej relacji gospodarz – mikroorganizm opisywana jest często jako ekosystem składający się z populacji zagnieżdżonych w organizmie [4].

Dobrze poznane modele bezkręgowce, które osiągnęły stabilność ewolucyjną, reprezentują wielokomórkowe systemy *in vivo* ze zmiennie podzielonymi przewodami pokarmowymi i homologami wielu zróżnicowanych typów komórek występujących również u modeli kręgowców. Do głównych zalet modeli bezkręgowców należy ich zależność od wrodzonego układu odpornościowego [5] i wysoce ograniczona liczebność (tj. niska różnorodność alfa) mikroflory jelitowej [6, 7]. Dlatego zwierzęta klasyfikowane jako mięczaki, stanowiące blisko 7% wszystkich żyjących zwierząt, będące bardzo zróżnicowaną grupą, zarówno pod względem ilości gatunków, jak i siedlisk oraz behawioru, są często wybieranym modelem zwierzęcym. Wraz z postępowaniem ewolucyjnym i przejściowymi zmianami wzorców żywieniowych, ślimaki z czasem rozwinęły się w gatunki morskie, słodkowodne i lądowe, przekształcając się z roślinożernych w mięsożerne, opierając swój typ żywicielstwa na endopasożytnictwie lub chemoautotrofii, w której pośredniczą symbionty [8]. Większość mięczaków to brzuchonogi, do których należą ślimaki pokryte skorupą i nagie. Zarówno gatunki mające zwinięte muszle na swoich ciałach, jak i nagie ślimaki stanowią większość gatunków należących do gromady Gastropoda. Termin „ślimak” dotyczy nie tylko ślimaków lądowych, ale jest często używany w odniesieniu do odmian słodkowodnych i morskich [9]. Większość mikrobiomu u ślimaków ma pochodzenie egzogenne, zwierzęta te pozyskują drobnoustroje wraz z pokarmem ze środowiska, w którym żyją [10]. Powszechne stosowanie współczesnych metod metagenomicznych i nowoczesnych metod stosowanych w mikrobiologii wciąż dostarcza nowych informacji na temat różnorodności życia mikrobiologicznego w odniesieniu do zwierząt lądowych, a także morskich. W przypadku wielu zwierząt lądowych, doniesienia o symbiozach drobnoustrojów przybliżają różnorodne interakcje genetyczne i biochemiczne

<sup>1</sup> pideczak@doktorant.umk.pl, Academia Copernicana, Katedra Fizjologii Zwierząt i Neurobiologii, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu.

<sup>2</sup> noann@umk.pl, Katedra Fizjologii Zwierząt i Neurobiologii, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu.

oraz nawiązują do sposobów, w jakie mikroorganizmy przyczyniają się do zachowania fizjologii i ekologii zwierząt [2, 4]. Wpływ zmian środowiskowych i ewolucyjnych na mikrobiotę zwierząt morskich, jest coraz większym obszarem badań, który kładzie nacisk na lepsze zrozumienie interakcji między zwierzętami, mikrobiomem i środowiskiem oceanicznym, w tym elementów, które mogą określać ich wymianę [2, 11, 12].

Makroorganizmy wspomagają się charakterystycznymi cechami zamieszkujących je mikroorganizmów, podczas adaptacji do zmiennych czynników środowiskowych. Bakterie symbiotyczne biorą udział w syntezie i degradacji substancji czynnych, utrzymaniu homeostazy, a także budowaniu bariery przed infekcjami chorobotwórczymi [13]. Populacje mikroorganizmów zasiedlające gospodarza, mogą być postrzegane jako pewien rodzaj adaptacji ewolucyjnej, która umożliwiła wielu zwierzętom przechwytywanie i wykorzystywanie zasobów w ich środowisku [4]. Mikrobiota jelitowa jest szczególnie ważnym przedmiotem obserwacji i badań, ponieważ zapewnia wgląd w subtelne zmiany we wzorcach środowiskowych i społecznościach drobnoustrojów, zarówno specyficzne dla gospodarza, jak i na poziomie populacji [14]. Należy nadmienić, że konieczne jest zrozumienie, w jaki sposób mikrobiota podlega zmianom w szerokich gradientach czasowych i przestrzennych, ponieważ zmiany te mogą korelować z reakcją gospodarza na różnego rodzaju stresory [15]. Analiza trendów zmian mikrobioty z przeszłości ma również kluczowe znaczenie dla przewidywania przyszłych zmian i ochrony rzadkich gatunków, których przetrwanie jest silnie uzależnione od ich symbiotycznych mikrobów [16].

Przegląd ten dotyczy identyfikacji i charakterystyki mikrobioty ślimaków lądowych i wodnych w kontekście wpływu lokalizacji i różnorodności mikrobiomu gospodarza oraz zmian indukowanych termicznie. Ślimaki jako bardzo zróżnicowana grupa zwierząt są organizmami ważnymi nie tylko ekologicznie, ale również gospodarczo. Obecnie użyteczność ślimaków jest ograniczona, ale mają one ogromny potencjał, związany z ich zróżnicowaną populacją bakteryjną, a także zasiedlaniem różnorodnych nisz ekologicznych oraz siedlisk, zarówno na lądzie, jak i pod wodą.

Ślimaki lądowe strefy umiarkowanej, w ciągu roku, są wystawiane na działanie skrajnych warunków termicznych: temperatury poniżej punktu zamarzania ich płynów ustrojowych zimą i wysokiej temperatury, często związanej z suszą, latem. Reakcją tych zwierząt na szkodliwe lub stresowe warunki środowiskowe jest zaniechanie aktywności, zwane także, w zależności od pory roku, odrętwieniem zimowym lub estywacją [17]. Ślimaki, zimujące w tej strefie klimatycznej, są poddawane wpływom niskiej temperatury przez znacznie dłuższy czas niż w przypadku klimatu tropikalnego, co skutkuje znaczącymi, sezonowymi zmianami dostępności pożywienia, odporności, a także licznymi zmianami fizjologicznymi, takimi jak opróżnianie jelit, zmniejszanie zawartości wody w organizmie i wytwarzanie epifragmy przed zapadnięciem w odrętwienie zimowe [18]. Zimowanie w temperaturze otoczenia poniżej punktu zamarzania wody niesie ze sobą ryzyko zamarznięcia, ale jest możliwe dzięki dwóm przeciwstawnym i niejako uzupełniającym się strategiom. Pierwsza z nich polega na wytwarzaniu substancji krioprotekcyjnych, które zapobiegają tworzeniu się lodu w płynach ustrojowych, co prowadzi do stanu przechłodzenia organizmu i aktywnego unikania zamarzania. Druga zaś, polega na wykorzystaniu substancji zarodkujących lód (INAs, ang. *Ice Nucleating Agents*) kontrolujących zamarzanie poprzez zaszczepianie drobnych kryształków lodu w ściśle określonych lokalizacjach, co jest podstawą tolerancji zamarzania [10, 19-22]. Badania Riddle [23]

sugerowały, że mięczaki nie używają krioprotektantów, jednak teza ta nie znalazła potwierdzenia w późniejszych badaniach prowadzonych przez Nowakowską i wsp. [24], w których wykazano obecność krioprotektantów u ślimaków *Helix pomatia*. Co ciekawe, odnotowano także, że stężenia substancji krioprotekcyjnych u ślimaków [24] są znacznie niższe niż np. u owadów [25, 26]. Ponadto wykazano, że ślimaki *Cornu aspersum* mają zdolność przechłodzenia organizmu po ekspozycji na krótki fotoperiod [25, 27, 28]. Substancje zarodkujące lód to substancje nieorganiczne, takie jak kryształy mineralne lub substancje organiczne (białka, lipoproteiny i mikroorganizmy lub ich metabolity), które powodują heterogeniczne zarodkowanie cząsteczek wody i powstawanie lodu. Jednak termin ten jest zwykle zarezerwowany dla substancji, które indukują zarodkowanie w temperaturach wyższych niż  $-10^{\circ}\text{C}$ , tj. „jąder biologicznych” [29, 30]. Naturalnie występujące INAs zostały znalezione w hemolimfie [26, 31] i w jelitach [32, 33], zarówno organizmów tolerujących zamarzanie, jak i unikających zamarzania. Zarodki lodu w hemolimfie to zazwyczaj białka lub lipoproteiny, podczas gdy zarodki jelitowe to cząstki jedzenia lub bakterie mające zdolność do zarodkowania lodu. Bakterie zarodkujące lód, znane od lat 70. XX wieku, umożliwiają nukleację lodu w temperaturze około 2 stopni poniżej  $0^{\circ}\text{C}$  [34]. Wiele z nich zostało zidentyfikowanych w ciągu ostatnich kilku dekad, zwłaszcza w atmosferze, glebie i rozkładającej się roślinności [10, 35], co sugeruje, że są one powszechnie obecne w środowisku. Co ciekawe, istnieją doniesienia o tym, że INAs są na ogół usuwane lub inaktywowane u gatunków unikających zamarzania przed zimą, podczas gdy są utrzymywane lub syntetyzowane i magazynowane u gatunków tolerujących zamarzanie [36, 37].

Pomimo że przed nastaniem zimy, ślimaki *H. pomatia* zagrzebują się w ziemi na głębokość około 0,2 m, nie mogą uniknąć ryzyka przemarznięcia, ponieważ w klimacie umiarkowanym grunt zamarza znacznie głębiej. Dlatego *H. pomatia* jest uważany za gatunek częściowo mrozoodporny, który toleruje temperatury poniżej punktu zamarzania płynów ustrojowych przez krótkie okresy ze względu na wiele mechanizmów odpowiedzialnych za kontrolę tworzenia się kryształków lodu w ich ciałach [10]. Chociaż krótkotrwała krystalizacja płynów ustrojowych nie jest śmiertelna, może skutkować wieloma uszkodzeniami komórek i tkanek, co w konsekwencji prowadzi do nieodwracalnych zmian w fizjologii, rozwoju i zdolności reprodukcyjnej [27, 38-40]. Zimowanie ślimaków, ściśle związane z mrozoodpornością, jest złożonym zjawiskiem, które opiera się nie tylko na magazynowaniu substancji krioprotekcyjnych, takich jak aminokwasy, glicerol i trójglicerydy [24], syntezie białek szoku cieplnego [41] i zimnego [42], ale także na utrzymaniu zróżnicowanej psychrofilnej mikroflory bakteryjnej, która indukuje lub/i kontroluje zarodkowanie kryształków lodu [10] i umożliwia obniżenie punktu zamarzania płynów ustrojowych [43]. Nicolai i wsp. [44] wykazali, że u ślimaków *H. pomatia* szczep bakterii *Kluyvera* sp. jest słabym nukleotorem lodu, jednak indukuje on zarodkowanie kryształków lodu w temperaturach znacznie powyżej temperatury krystalizacji ( $T_c$ ) aktywnych lub nieaktywnych ślimaków [10]. Ponadto Ansart i wsp. [10] potwierdzają, że przewód pokarmowy jest pierwszym miejscem zarodkowania lodu dla ślimaków *C. aspersum*, podobnie jak u owadów *Pyrrhocoris apterus* [45] i *Trichiocampus populi* [46]. Organiczne czynniki zarodkowania lodu zostały również znalezione wcześniej w śluzowej wstędze *C. aspersum*, u których w wyniku głodzenia doszło do opróżnienia jelit [47]. Mikrobiota ślimaków ma szeroki wpływ na stan fizjologiczny gospodarza, zapewniając ochronę przed patogenami i regulując funkcje odpornościowe, a także umożliwiając trawienie

różnych substancji w diecie gospodarza [8, 48]. Wpisuje się to w tezę, o ważnej roli mikrobioty w adaptacji gospodarza, tolerancji zmian środowiskowych i prawidłowym funkcjonowaniu układu odpornościowego [49, 50]. Temperatura środowiska jest ważną zmienną abiotyczną, która wpływa na skład społeczności drobnoustrojów jelitowych wielu taksonów zwierząt [51-56]. Drobnoustroje zasiedlające organizmy ektotermiczne podlegają takim samym zmianom temperatury, jak ich gospodarze, w związku z tym zmiany związane z zimowaniem gospodarza mogą być dla drobnoustrojów mniej krytyczne niż te wywołane przez samo zamarznięcie [57]. Ponadto ostatnie badania na zwierzętach endotermicznych wykazały, że zmiany mikrobioty wywołane temperaturą, mogą mieć kaskadowy wpływ na fenotypy gospodarza związane z tolerancją termiczną i potencjalnymi konsekwencjami dla gospodarza w odpowiedzi na zmiany klimatu [55, 56]. Ekstremalne zmiany temperatury mogą także zakłócać i destabilizować różnorodność alfa w obrębie mikroflory jelitowej poszczególnych organizmów i inicjować dominujące zmiany w tworzeniu różnorodności beta w społeczności. Różnorodność alfa jest miarą różnorodności mikrobiomu mającą zastosowanie do „pojedynczej próbki”, a różnorodność beta jest miarą podobieństwa lub odmienności dwóch społeczności. W okresie zaniechania aktywności gospodarza, takim jak zimowanie, zbiorowiska bakteryjne ulegają zmianom, ponieważ żerowanie jest zawieszona, a tym samym gatunki egzogenne nie są dostarczane [58, 59]. Ponadto różne czynniki, takie jak genetyka gospodarza, efekty matczyne, dieta, choroby, patogeny, interakcje z układem odpornościowym i między członkami społeczności drobnoustrojów, a także sezonowość mogą wpływać na mikrobiotę zwierząt, narażając organizm gospodarza na poważne konsekwencje zdrowotne [60, 61]. Dlatego też zwiększenie przeżywalności gospodarza w warunkach stresowych i jego dobry stan zdrowia jest ściśle związane z eubiozą, czyli równowagą mikrobiologiczną w organizmie.

Zwierzęta roślinożerne, które konsumują głównie materiały roślinne bogate w lignocelulozę, postrzegane są jako bogate źródła bakterii o znaczeniu przemysłowym, ponieważ ich jelita funkcjonują jako naturalne bioreaktory do rozkładu biomasy roślinnej [62]. Układ pokarmowy zwierząt zmienia się zgodnie z ich potrzebami żywieniowymi i ich adaptacją fizjologiczną. Przewód pokarmowy jest zazwyczaj długi, dzieląc się na przełyk, wole, żwacz, kątnicę i żołądek, a także odbył, a zasiedlające go bakterie dostarczają gospodarzowi specjalnego zestawu enzymów, wymaganych do rozkładu materiałów roślinnych [8, 63]. W rezultacie flora bakteryjna w przewodzie pokarmowym tych zwierząt może mieć kluczowe znaczenie dla procesu trawienia. Podejrzewa się, że wszystkie funkcjonalnie odrębne obszary przewodu pokarmowego mogą stanowić charakterystyczne mikrośrodowiska, które wspierają różnorodne społeczności bakteryjne zamieszkujące dany organizm [8]. Badania dynamiki mikroflory kałowej *C. aspersum* wykazały, że drobnoustroje należące do grupy Gammaproteobacteria były licznie obecne w różnych populacjach dziko żyjących ślimaków [64]. Największą liczebność wykazały ściśle związane z glebą rodzaje *Pseudomonas* i *Buttiauxella*. Ponadto, różnorodność Gammaproteobacteria w grupie eksperymentalnej, która otrzymywała penicylinę, spadła podczas leczenia, ale z czasem zaczęła powracać. Po trzech tygodniach, próbki kału ślimaków nadal zawierały mikroorganizmy z grupy Gammaproteobacteria sprzed leczenia. Wyniki potwierdziły, że *C. aspersum* utrzymuje endogenny mikrobiom jelitowy [64].

Obecność różnych szczepów bakterii u ślimaków sugeruje, że także u tych gatunków zwierząt na przestrzeni lat wyewoluował symbiotyczny związek między gospodarzem

a drobnoustrojami. Dotychczas badano bakterie eukariotyczne wyizolowane ze ślimaków pochodzących z rodzin *Achatinidae*, *Ampullariidae*, *Helicidae*, *Planorbidae* i innych [65]. Co więcej, wyizolowane bakterie jelitowe zidentyfikowano u wetigastropodów z rodzaju *Haliotis*, a także kilku innych Pulmonata: *Biomphalaria*, *Bulinus*, *Helisoma*, *Helix*, *Cornu* [66, 67] oraz *Achatina* [68-70]. Silva i wsp. [71] donoszą o dominującej roli *Aeromonas*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Cupriavidus*, *Rhizobium*, *Stenotrophomonas*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Acinetobacter*, *Vibrio* i *Sphingomonas* w populacjach zasiedlających gatunek *Biomphalaria glabrata*. U dziko żyjących zwierząt, które miały nieograniczony dostęp do pożywienia, dominującym gatunkiem był *Enterobacter cloacae*, podczas gdy u ślimaków hodowanych w laboratorium, bez dostarczania egzogennych szczepów, najliczniej występowały *Citrobacter freundii* i *Aeromonas sobria*, sugerując że zasiedlają one *B. glabrata* niezależnie od diety [72]. W innych badaniach, Charrier i współpracownicy [66] wykazali, że mikrobiom jelitowy ślimaków *C. aspersum* i *H. pomatia* składa się głównie z klas Gammaproteobacteria i Firmicutes. Simkiss [72] ustalił ogólną liczbę bakterii zamieszkujących *C. aspersum* na  $0,71 \times 10^6$  CFU/g masy ciała, co podważyły późniejsze badania prowadzone przez Belouhova i wsp. [13], którzy zarejestrowali liczebność grup bakterii nadających się do hodowli wynoszącą  $10^{10}$  CFU/g w wydzielinie ślimaczej, a Dar i wsp. [8] oszacowali liczbę bakterii na  $10^7$  CFU/g w ślimaczych jelitach. Głównym problemem w tego typu badaniach jest uzyskanie warunków pozwalających na hodowlę wyizolowanych szczepów *ex vivo*, gdzie standardowe metody mikrobiologiczne nie są wystarczające. Z pomocą przychodzą nowe metody metagenomowe, które z pewnością pozwolą dokładnie oszacować liczebność mikroorganizmów.

Mikrobiota jest zaangażowana w mrozoodporność ślimaków podczas zimowania poprzez ograniczenie tworzenia się lodu w przestrzeniach międzykomórkowych, a także utrzymanie płynności błony komórkowej oraz cytoplazmy wewnątrz komórek [10, 73-75]. Nicolai i wsp. [17] opisali strukturę społeczności bakteryjnej jelit w stanach aktywności i zaniechania aktywności u *H. pomatia* pochodzących z trzech geograficznie odrębnych populacji i udowodnili, że niektóre szczepy bakterii pozostają w jelitach nawet podczas zimowania, wykazując zdolność do zarodkowania lodu. Interesującym jest, że ślimaki, które wykazywały dysbiozę lub miały wyraźnie mniej zróżnicowaną społeczność bakteryjną, nie wchodziły w stan odrętwienia pomimo ekspozycji na warunki zimowe [17]. Dlatego można przypuszczać, że prawdopodobną funkcją mikrobioty jest kontrola i ochrona tolerujących zamarzanie bezkręgowców przed uszkodzeniami spowodowanymi kryształami lodu, przez ograniczenie procesu krystalizacji do przestrzeni pozakomórkowych. Sezonowe zmiany temperatury otoczenia, od ostrego stresu cieplnego (susza) do zimna poniżej punktu zamarzania płynów ustrojowych, odzwierciedlają zmiany w zbiorowiskach drobnoustrojów ślimaków, które także zmieniają się sezonowo. W badaniach Idczak i wsp. [43] wykazano zmiany mikrobioty w trakcie zimowania od początku (w październiku) do końca odrętwienia zimowego (w kwietniu) u *H. pomatia*. Kolejne badania wykazały, że u aktywnych ślimaków tego gatunku, jelito jest kolonizowane głównie przez grupy Proteobacteria, Firmicutes i Bacteroidetes z dużą różnorodnością rodzin, ale podczas zimowania jelito zawiera tylko niektóre grupy należące do *Bacteroidetes* i *Proteobacteria* o wyraźnie zmniejszonej różnorodności szczepów [43]. Oznacza to, że mikrobiota hodowlana jelit *H. pomatia* była najbardziej zróżnicowana przed odrętwieniem zimowym, a po jego rozpoczęciu różnorodność mikrobiologiczna nadal malała. Ogólne wyniki wykazały dużą zmienność osobniczą w składzie bakteryjnym

ślimaków *H. pomatia* tuż przed i po odrętwieniu zimowym [43]. Jednak, dla lepszego zrozumienia różnorodności mikrobioty ślimaków konieczne są dalsze badania wykorzystujące najnowocześniejsze techniki *in silico*, oraz badania metagenomiczne, które służą także do oceny potencjału biotechnologicznego. Bakterie jelitowe pomagają gospodarzowi w takich procesach, jak trawienie złożonych cząsteczek do prostszych form, wytwarzanie energii, synteza kofaktorów i aminokwasów dla podstawowego metabolizmu oraz zapobieganie wzrostowi patogenów [8]. Ponadto niektóre bakterie wyizolowane ze ślimaków przeprowadzają fermentację cukrów, takich jak glukoza, laktoza, mannitol, ramnoza, arabinoza, maltoza i inne, co wskazuje na pozytywną interakcję ślimaków z ich mikrobiotą jelitową [76]. Cardoso i wsp. [73, 74] prowadzili badania na ślimaku olbrzymim *Achatina fulica*, w celu potencjalnego pozyskiwania nowych źródeł enzymów dla przemysłu biopaliwowego. Typ bakterii obecny w próbkach ślimaków należał głównie do grup *Proteobacteria*, a następnie *Bacteroides*, *Firmicutes* i wielu innych. Wykazano szeroki zakres genów mikroorganizmów, które prawdopodobnie odpowiadają za procesy związane z degradacją lignocelulozy, syntezą niezbędnych aminokwasów i witamin czy detoksykacją ksenobiotyków. Ponadto odkryto wiele nowych genów hydrolazy glikozydowej oraz sekwencje kodujące celulazę i hemicelulazę, reprezentujące wyjątkową różnorodność i złożoność u tego gatunku ślimaków [73, 74].

Badania dotyczące składu mikrobioty jelitowej wielu zwierząt, w tym ślimaków, zaczęły skupiać uwagę grup badawczych stosunkowo niedawno [26, 56, 70, 77-79]. Fizjologia i dieta gospodarza to podstawowe czynniki wpływające na strukturę społeczności drobnoustrojów. Wiadomo, że zwierzęta wybierają mikroorganizmy jelitowe w oparciu o funkcję, a liczebność drobnoustrojów przewyższa liczbę gospodarzy o rzędy wielkości [80, 81]. Ślimaki, podobnie jak inne bezkręgowce, jedzą głównie glebę, aby uzyskać korzystne drobnoustroje, które pomagają w trawieniu. Z kolei mikrobiota ma ważne implikacje dla układu odpornościowego gospodarza [4], zapobiegając inwazji egzogennych drobnoustrojów chorobotwórczych. Innymi słowy, zmiany we florze bakteryjnej ślimaków mogą mieć negatywny wpływ, powodując, że przestaną one żerować i ostatecznie padną [8]. Badania wpływu diety i lokalizacji na mikroflorę ślimaków są również ważne w przygotowaniu nowych siedlisk i ochronie zagrożonych gatunków. Powszechnie wiadomo, że jednym z głównych składników w diecie roślinożerców jest celuloza. Naukowcy od dawna interesują się bakteriami, które uwalniając enzymy hydrolizujące celulozę, umożliwiają w pełni wykorzystanie pokarmów roślinnych w diecie. Seillière (1906) jako pierwszy wyizolował celulazy bakteryjne z przewodu pokarmowego *H. pomatia*, a Florin i Lozet (1949) podążali tym samym tropem, badając celulazy w podobny sposób [8, 82], podczas gdy w pracy Jeuniaux [58] postulowano, że chitynazy pochodzenia mikrobiologicznego wyizolowane z *H. pomatia*, są kluczowe w trawieniu materiałów roślinnych we wszystkich fitofagicznych ślimakach. Pomimo opróżniania jelit przed nastaniem zimy, a także braku dostarczania szczepów egzogennych podczas odrętwienia zimowego i estywacji, pewne szczepy bakterii są nadal aktywne w jelitach. Mimo iż z upływem czasu zawsze następuje spadek ich liczebności [66, 83], można je uznać za rodzime bakterie występujące wyłącznie w jelicie ślimaka. Ponadto wiek osobników także ma wpływ na różnorodność populacji bakteryjnych. Bakterie amylopolityczne zamieszkujące przewód pokarmowy *C. aspersum* zasiedlają niedojrzałe osobniki, podczas gdy bakterie proteolityczne i celulolityczne zaobserwowano tylko u dojrzałych osobników [84]. Szczepy o wyższej aktywności celulolitycznej i proteolitycznej zaobser-

wowano u ślimaków w stanie ich aktywności, co wskazuje, że bakterie te wprowadzane są do organizmu wraz z pokarmem spożywanym ze środowiska, wzmacniając i przyspieszając procesy trawienia. Jednak podczas estywacji, zimowania, a także okresu niedojrzałości zwierząt, bakterie proteolityczne były nieobecne. Dodatkowo zaobserwowano także, że liczebność bakterii celulolitycznych zaczęła spadać podczas odrętwienia zimowego [8]. Inwazyjny gatunek ślimaka przodoskrzelnego z rodziny *Ampullariidae* – *Ampullaria Pomacea canaliculata* ma wyspecjalizowane tkanki zidentyfikowane jako złoży kwasu moczowego, który uwolniony działał jako środek ochronny przed degenerującymi skutkami ponownego natlenienia tkanek po estywacji [85]. Autorzy sugerowali, że może to być jeden z mechanizmów, zaangażowanych w ochronę i regenerację tkanek po wyjściu ze stanu hipometabolizmu. W innych badaniach Koch i wsp. [65] po raz pierwszy zidentyfikowali kilka urykazo-dodatnich bakterii w jelitach tego gatunku ślimaków i spekulowali, że są one związane z przekształcaniem kwasu moczowego w prostsze cząsteczki podczas rozkładu innych związków kwasu moczowego (np. z azotem), co także może wskazywać na mechanizmy chroniące tkanki przed uszkodzeniami po wyjściu ze stanu spoczynku.

Mięczaki mają szerokie zastosowanie jako bioindykatory zanieczyszczenia środowiska, zarówno na lądzie, jak i w wodzie. W zachodnich Górach Skalistych w Stanach Zjednoczonych i Kanadzie występuje ważny ekologicznie ślimak lądowy zwany ślimakiem Gór Skalistych (łac. *Oreohelix strigosa*). Po raz pierwszy Chalifour i Li [48] zbadali mikrobiom jelitowy dorosłych, jaj i głodujących ślimaków *O. strigosa*, a ich wyniki pokazały, że warunki wewnętrzne gospodarza wpływają na skład społeczności bakteryjnej, oraz że bakterie mogą być przenoszone bezpośrednio od rodzica do potomstwa przed złożeniem jaj. Dodatkowo odnotowano także, że bogata i zróżnicowana społeczność drobnoustrojów występująca w *O. strigosa* potencjalnie pomaga w trawieniu celulolitycznym i umożliwia ich funkcjonowanie w roli bioindykatorów środowiskowych [48]. Dalsze badania prowadzone przez Chalifour i wsp. [14] dotyczyły zastosowania nowej zaawansowanej technologii molekularnej do identyfikacji społeczności drobnoustrojów w okazach muzealnych zakonserwowanych etanolem. Wykorzystano technikę sekwencjonowania nowej generacji o wysokiej przepustowości, aby zbadać różnorodność bakteryjną okazów muzealnych gatunku ślimaka *O. strigosa* zakonserwowanych na przestrzeni prawie 100 lat. Udowodniono, że reprezentacje wszystkich grup generowały wysokiej jakości odczyty sekwencjonowania, a mikrobiota rdzeniowa (ang. *core*) ślimaków była stabilna we wszystkich okazach muzealnych. Zarówno długi, jak i krótki czas przechowywania generował niewielkie zróżnicowanie danych, a inne czynniki, takie jak lokalizacja poboru, wykazywały więcej zmienności między próbkami [14]. Chociaż wielokrotnie wykazano, że czynniki środowiskowe, stochastyczne i patogenne mają silny wpływ na mikrobiom wielu gatunków, to badanie interakcji między genetyką gospodarza a mikrobiomem jest zagadnieniem wciąż aktualnym [86, 87]. Zrozumienie, w jaki sposób genotyp gospodarza może modyfikować zespół mikrobiomu, jest niezbędne do scharakteryzowania immunobiologii dowolnego organizmu i może być szczególnie ważne w określaniu, w jaki sposób te organizmy reagują na wyzwania immunologiczne [87-90]. Mikroflora jelitowa zwierząt wodnych jest dużo bardziej zmienna [91] i wrażliwa na zmieniające się warunki środowiska [92]. Temperatura wpływa nie tylko na stan fizjologiczny zwierząt, ale także na reakcje biochemiczne organizmów wodnych, kontrolując w ten sposób tempo ich reakcji metabolicznych oraz wpływając na ich wzrost i rozwój [56, 93,



94]. Społeczności drobnoustrojów jelitowych mogą również podlegać wpływowi temperatury w węższych ramach czasowych, takich jak ekstremalne zjawiska pogodowe (fale upałów, nagłe wahania temperatury itp.) [95]. Ponadto w przeciwieństwie do mięczaków lądowych, wszystkie ślimaki strefy międzyżyłowej są gatunkami tolerującymi zamarzanie, wykorzystującymi mechanizmy „aktywnej tolerancji zamarzania” w słonym środowisku [25].

Mikrobiota nie tylko pomaga gospodarzowi w adaptacji do zmian środowiska, ale również sama musi przystosować się do nowego środowiska wewnątrz gospodarza. Wczesniejsze badania wykazały, że mikroflora jelitowa gatunków inwazyjnych ma większy potencjał do inwazji nowych siedlisk [96, 97]. Na przykład ślimak *Potamopyrgus antipodarum* ma większą liczbę podstawowych taksonów drobnoustrojów jako gatunek inwazyjny w porównaniu z gatunkami rodzimymi [98]. Dlatego też porównanie różnorodności i struktury mikroflory jelitowej między sympatycznymi gatunkami inwazyjnymi i rodzimymi gatunkami słodkowodnymi ma na celu pomoc w wyjaśnieniu podstawowych mechanizmów związanych z ich inwazją. Wiadomo również, że mikrobiota jest ściśle związana z wydajnością wzrostu gospodarza [99]. Wykazano, że na skład i różnorodność mikroflory jelitowej *Pomacea canaliculata* może wpływać etap rozwoju i płeć gospodarza, a także zasiedlana część jelita [100, 101]. Ponadto, do innych czynników zalicza się środowisko, w którym bytują gospodarze, źródła pożywienia i gatunki sąsiadujące [102, 103]. Badania dotyczące identyfikacji mikroflory jelitowej słodkowodnych ślimaków *Radix auricularia* i *Planorbella trivolvis* udowodniły, że grupa Proteobacteria dominuje w obu gatunkach, ale różnorodność gatunkowa drobnoustrojów zależy od miejsc pobierania próbek [104]. Badacze zwracają także uwagę na interakcje gospodarz – mikrobiota u gatunków inwazyjnych. Wykazano, że poziom podstawowych taksonów zidentyfikowanych drobnoustrojów inwazyjnego ślimaka słodkowodnego *P. antipodarum* był wyższy u osobników w nowo zasiedlonym terenie, niż u ślimaków w ich rodzimym siedlisku [98]. Badania te sugerują, że środowisko wzrostu jest istotnym czynnikiem dla różnorodności drobnoustrojów jelitowych. Inne badania sugerują, że zmiany w diecie nie są znacząco skorelowane z różnorodnością alfa mikrobioty, ale są dodatkowo skorelowane z różnorodnością beta [105]. Zaobserwowano także odmienną różnorodność beta drobnoustrojów u ślimaków *P. canaliculata* i *Cipangopaludina chinensis*. Inwazyjny gatunek ślimaka *P. canaliculata* ma dużo bardziej rozbudowaną dietę w porównaniu do rodzimego gatunku *C. chinensis* [77, 106], co może być dominującym czynnikiem wpływającym na różnorodność beta mikrobioty. Wspomniane badania przyczyniły się do ogólnego zrozumienia charakterystyki społeczności drobnoustrojów jelitowych między sympatycznym (oznacza on bliskie sobie gatunki, występujące na tym samym obszarze geograficznym) inwazyjnym ślimakiem *P. canaliculata* a rodzimym chińskim ślimakiem *C. chinensis*. Pewne specyficzne typy i rodzaje bakterii mikroflory jelitowej zasiedlającej *P. canaliculata*, mogą promować zdolność wchłaniania i przekształcania składników odżywczych, co pomaga gospodarzowi być bardziej inwazyjnym. Okazuje się, że struktura i funkcja składu mikrobioty ułatwia przystosowanie się gatunku *P. canaliculata* do nowych siedlisk [77]. Coraz częściej uznaje się, że mikrobiom może także wpływać na interakcje wektor-pasożyt. Mikrobiota *Biomphalaria* została po raz pierwszy scharakteryzowana przy użyciu klasycznych mikrobiologicznych metod hodowli drobnoustrojów już 40 lat temu [107]. Bakterie zidentyfikowano w całym ślimaku, zarówno na jego powierzchni, w jelitach, jak i w jamie ciała [108]. Co ciekawe, zaobserwowano zmiany

w mikrobiocie całych ślimaków, gdy ślimaki były przenoszone między różnymi środowiskami, odwrotną zależność między liczebnością bakterii a wielkością ślimaków, niższą gęstość bakterii i inny skład drobnoustrojów ślimaków zebranych w terenie i ślimaków hodowanych w laboratorium, istnienie „ślimaków zaburzonych mikrobiologicznie” z nienormalnie wysoką liczebnością bakterii oraz zmienionym składem mikrobioty u ślimaków stresowanych przez nadmierne zagęszczenie lub leczenie antybiotykami [107].

Spółeczność drobnoustrojów zasiedlająca *Biomphalaria glabrata* i inne blisko spokrewnione gatunki ślimaków płucodysznych (planorbidów/zatoczkowatych) została scharakteryzowana za pomocą klasycznych metod hodowli mikrobiologicznej i sekwencjonowania 16S rDNA bakteryjnego [71, 107, 109]. Badania te wykazały zróżnicowaną gamę komensalnych typów bakterii w tych ślimakach. Allan i wsp. [110], badając ten sam gatunek, odkryli, że zmienność alleli w regionie GRC (ang. *Guadeloupe resistance complex*) ma wpływ na różnorodność, skład społeczności i obfitość co najmniej dwóch taksonów w całym mikrobiomie ślimaka BgGUA (ang. *Guadeloupean B. glabrata*). Ponadto stwierdzili istotny wpływ genotypu GRC na względną liczebność szczepów *Micavibrio aeruginosavorus* i *Gemmatimonas aurantiaca* w dwóch niezależnych doświadczeniach. Zatem zauważono, że zmienność alleliczna w tym locus może odgrywać rolę w modyfikowaniu mikrobiomu BgGUA. Wyniki te sugerują również, że tło genetyczne *B. glabrata* może mieć konsekwencje dla jego społeczności drobnoustrojów, a konkretnie wskazuje na rolę genów w regionie GRC w interakcjach biotycznych, w tym w obronie przed patogenami [110]. Kilka innych badań przeprowadzonych na gatunku *B. glabrata*, koncentrowało się na mikrobiocie zasiedlającej całe ślimaki lub specyficznie ich jelita [79, 110, 111]. Prace te potwierdzają, że populacje mikroorganizmów są zróżnicowane i zawierają od 100 do 1300 operacyjnych jednostek taksonomicznych (OTU, ang. *Operation Taxonomic Units*). Analiza amplikonów rybosomalnego (r)DNA potwierdza, że w tych populacjach dominują proteobakterie. Huot i wsp. [79] wykazali uderzający związek między filogenezą ślimaków a składem bakteryjnym ślimaków utrzymywanych w tych samych warunkach w laboratorium, co sugeruje, że mikrobiom jest silnie kształtowany przez czynniki gospodarza. Le Clec’h i wsp. [108] wykazali, że hemolimfa ślimaka *B. glabrata*, która ma bezpośredni kontakt ze sporocystami schistosomu pasożyta, także zawiera zróżnicowaną mikrobiotę. Zidentyfikowano 113-390 (średnio: 280) wariantów sekwencji amplikonu (ASV) osobników, u których zaobserwowano wystąpienie znaczących różnic w składzie mikrobioty na poziomie gatunku, podobnie jak w badaniach przeprowadzonych przez Huot i wsp. [79]. Mikrobiota zidentyfikowana w hemolimfie była zdominowana przez grupy *Proteobacteria* i *Bacteroidetes*, a także różniła się znacznie od populacji drobnoustrojów ze środowiska: ślimaki pochodzące ze zbiorników wodnych były zdominowane głównie przez grupę *Actinobacteria*. Bez względu na liczebność bakterii uzyskana metodą qPCR wykazała, że próbki hemolimfy zawierały od 1 860 do 17 578 (średnio: 2 800) bakterii na  $\mu\text{l}$ . Aktywne szczepy zasiedlające hemolimfę początkowo wydają się zaskakującym odkryciem, szczególnie biorąc pod uwagę, że hemolimfa ślimaka zawiera dużą populację hemocytów, które aktywnie fagocytują wszystkie bakterie. Jest to jednak zgodne z podobnymi doniesieniami dotyczącymi innych mięczaków słodkowodnych lub morskich (małży i ślimaków) oraz skorupiaków [112]. Nie jest jasne, w jaki sposób bakterie mogą aktywnie kolonizować hemolimfę; jedną z możliwości może być wyciek z jelita lub tkanki płaszczka [78]. Inną przyczyną takiego stanu może być to, że mikrobiota zasiedlająca hemolimfę reprezen-

tuje kolonizujące bakterie, które nie zostały jeszcze zniszczone przez hemocyty. Wydaje się to jednak mało prawdopodobne, biorąc pod uwagę, że drobnoustroje te są charakterystyczne dla różnych gatunków ślimaków [78, 79], co sugeruje ustanowienie populacji specyficznych dla danego gatunku. Wykazano, że stres wysokiej i niskiej temperatury ma istotny wpływ na stan fizjologiczny *P. canaliculata* [113] oraz na skład i liczebność mikrobioty, powodując znaczny wzrost różnorodności bakterii chorobotwórczych. Po 14 dniach stresu termicznego, struktura populacji drobnoustrojów zasiedlających *P. canaliculata* została znacząco zmieniona, aby dostosować się do niekorzystnych środowisk, w tym przedłużonej ekspozycji na stresor, zwiększonej liczebności pożytecznych bakterii i zmniejszonej liczby patogenów oportunistycznych [113]. Podobne wyniki otrzymano dla *Cipangopaludina cathayensis*, u których stres wysokotemperaturowy zmniejsza liczebność rzekomo pożytecznych bakterii i zwiększa liczebność bakterii przypuszczalnie patogennych [114]. Ponadto stres termiczny głęboko wpływa na funkcje metaboliczne mikrobioty, co może zwiększać podatność *C. cathayensis* na choroby. Wyniki uzyskane w tym badaniu rzucają nowe światło na mechanizmy związane z reakcją mikroflory jelitowej *C. cathayensis* na postępujące zmiany środowiska.

Prawidłowe funkcjonowanie ślimaków jest ściśle związane z różnorodnością ich mikrobioty, która współdziała z wieloma mechanizmami odpowiedzialnymi za utrzymanie homeostazy i przetrwanie w zmiennych warunkach środowiska. Dotyczy to nie tylko ślimaków lądowych, ale także gatunków zamieszkujących terytoria słodkowodne oraz morskie, które wystawione na różnego rodzaju stresory, korzystają z różnych właściwości zasiedlających je mikroorganizmów do przeciwdziałania skutkom stresu. Mięczaki są przedmiotem badań w różnych dziedzinach, w tym w produkcji żywności, kosmetologii i biomedycynie. Zyskują również uznanie jako potencjalne modele zwierzęce do szerokiego zakresu badań biologicznych. Związek między gospodarzem a mikroflorą jelitową może przyczynić się do zrozumienia „długowieczności”, metabolizmu, rozwoju i fizjologii bezkręgowców. Optymalne podejście do pobierania próbek mikrobioty ślimaków będzie miało kluczowe znaczenie dla przyszłych badań. Jak dotąd, standardowe strategie pobierania próbek mogą maskować lub pomijać ważne drobnoustroje, których nie jesteśmy jeszcze w stanie hodować *ex vivo*. Potrzebne są dalsze prace, aby określić, w jaki sposób mikrobiota ślimaków różni się między poszczególnymi narządami i tkankami u tego samego gatunku. Idealnie byłoby, gdyby przyszłe prace poszerzyły charakterystykę drobnoustrojów zasiedlających ślimaki o składniki grzybowe, pierwotniakowe i wirusowe.

## Literatura

1. Brune A., Ohkuma M., *Role of the termite gut microbiota in symbiotic digestion*, [w:] Bignell D.E., Roisin Y., Lo N. (red.), *Biology of termites: a modern synthesis*, Springer, Dordrecht 2011, s. 439-475.
2. Apprill A., *Marine animal microbiomes: toward understanding host-microbiome interactions in a changing ocean*, *Frontiers in Marine Science*, 4, 2017, 222.
3. Marchesi J.R., (red.) *The human microbiota and microbiome*, Cabi, Cardiff University, Cardiff, 2014.
4. McFall-Ngai M., Hadfield M.G., Bosch T.C., Carey H.V., Domazet-Lošo T., Douglas A.E., Dubilier N., Eberl G., Fukami T., Gilbert S.F., Hentschel U., King N., Kjelleberg S., Knoll A.H., Kremer N., Mazmanian S.K., Metcalf J.L., Neelson K., Pierce N.E., Rawls J.F., Reid A., Ruby E.G., Rumpho M., Sanders J.G., Tautz D., Wernegreen J.J., *Animals in*

- a bacterial world, a new imperative for the life sciences*, Proceedings of the National Academy of Sciences, 110(9), 2013, s. 3229-3236.
5. Chu H., Mazmanian S.K., *Innate immune recognition of the microbiota promotes host-microbial symbiosis*, Nature Immunology, 14, 2013, s. 668-675.
  6. Chaston J., Goodrich-Blair H., *Common trends in mutualism revealed by model associations between invertebrates and bacteria*, FEMS Microbiology Reviews, 34, 2010, s. 41-58.
  7. Ericsson A.C., *The use of non-rodent model species in microbiota studies*, Laboratory Animals, 53(3), 2019, s. 259-270.
  8. Dar M.A., Pawar K.D., Pandit R.S., *Gut microbiome analysis of snails: a biotechnological approach*, Organismal and Molecular Malacology in Technology, 16, 2017, s. 189-217.
  9. Ugoh S.C., Ugbenyo A.J., *Studies on the isolation of enteropathogens associated with the intestines of Giant African land snails (Achatina and Archachatina) species sold in Gwagwalada, FCT, Abuja-Nigeria*, Researcher, 5, 2013, s. 56-60.
  10. Ansart A., Nicolai A., Vernon P., Madec L., *Do ice nucleating agents limit the super-cooling ability of the land snail Cornu aspersum?*, Cryoletters, 31(4), 2010, s. 329-340.
  11. Lesser M.P., Fiore C., Slattery M., Zaneveld J., *Climate change stressors destabilize the microbiome of the Caribbean barrel sponge, Xestospongia muta*, Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 475, 2016, s. 11-18.
  12. Webster N.S., Negri A.P., Botté E.S., Laffy P.W., Flores F., Noonan S., Schmidt C., Uthicke S., *Host-associated coral reef microbes respond to the cumulative pressures of ocean warming and ocean acidification*, Scientific Reports, 6(1), 2016, s. 1-9.
  13. Belouhova M., Daskalova E., Yotinov I., Topalova Y., Velkova L., Dolashki A., Dolashka P., *Microbial diversity of garden snail mucus*, MicrobiologyOpen, 11(1), 2022, e1263.
  14. Chalifour B.N., Elder L.E., Li J., *Gut microbiome of century-old snail specimens stable across time in preservation*, Microbiome, 10(1), 2022, s. 1-16.
  15. Neu A.T., Hughes I.V., Allen E.E., Roy K., *Decade-scale stability and change in a marine bivalve microbiome*, Molecular Ecology, 30(5), 2021, s. 1237-1250.
  16. West A.G., Waite D.W., Deines P., Bourne D.G., Digby A., McKenzie V.J., Taylor M.W., *The microbiome in threatened species conservation*, Biological Conservation, 229, 2019, s. 85-98.
  17. Nicolai A., Rouland-Lefèvre C., Ansart A., Filser J., Lenz R., Pando A., Charrier M., *Inter-Population Differences and Seasonal Dynamic of the Bacterial Gut Community in the Endangered Land Snail Helix pomatia (Gastropoda: Helicidae)*, Malacologia, 59(1), 2015, s. 177-190.
  18. Nicolai A., *The Impact of Diet Treatment on Reproduction and Thermos-Physiological Processes in the Land Snails Cornu aspersum and Helix pomatia*, Thèse en Co-tutelle. France: Universität Bremen/Université de Rennes, 2010.
  19. Zachariassen K.E., Kristiansen E., *Ice nucleation and antinucleation in nature*, Cryobiology, 41(4), 2000, s. 257-279.
  20. Storey K.B., *To freeze or not to freeze, the dilemma for life below 0°C*, Biochemist, 19, 1997, s. 8-13.
  21. Lee R.E. Jr., Lee M.R., Strong-Gunderson J.M., *Insect cold hardiness and ice nucleating active microorganisms including their potential use for biological control*, Journal of Insect Physiology, 39, 1993, s. 1-12.
  22. Block W., *To freeze or not to freeze? Invertebrate survival of sub-zero temperatures*, Functional Ecology, 1991, s. 284-290.
  23. Riddle W.A., *Physiological ecology of land snails and slugs*, The mollusca, 6, 1983, s. 431-461.

24. Nowakowska A., Caputa M., Rogalska J., *Seasonal changes in cryoprotectants concentrations in Helix pomatia snails*, Journal of Physiology and Pharmacology, 57, 2006, s. 93-105.
25. Ansart A., Vernon P., *Cold hardiness in molluscs*, Acta Oecologica, 24.2, 2003, s. 95-102.
26. Loomis S.H., *Insects at low temperature*, [w:] Lee R.E., Denlinger D.L. (red.), Chapman and Hall, New York, 1991, s. 301-317.
27. Ansart A., Vernon P., Charrier M., Daguzan J., *The effect of antibiotic treatment on the supercooling ability of the land snail Helix aspersa (Gastropoda: Pulmonata)*, Cryobiology, 44, 2002, s. 189-192.
28. Ansart A., Vernon P., Daguzan J., *Photoperiod is the main cue that triggers supercooling ability in the land snail, Helix aspersa (Gastropoda: Helicidae)*, Cryobiology, 42, 2001, s. 266-273.
29. Lundheim R., *Physiological and ecological significance of biological ice nucleators*, Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences, 357(1423), 2002, s. 937-943.
30. Lee R.E., Lee M.R., Strong-Gunderson J.M., *Biological ice nucleation and its applications*, [w:] Lee R.E., Warren G.J., Gusta L.V. (red.), APS Press, St Paul, 1995, s. 257-269.
31. Neven L.G., Duman J.G., Beals J.M., Castellino F.J., *Overwintering adaptations of the stag beetle, Ceruchus piceus: removal of ice nucleators in the winter to promote supercooling*, Journal of Comparative Physiology B, 156, 1986, s. 707-716.
32. Lee M.R., Lee Jr R.E., Strong-Gunderson J.M., Minges S.R., *Isolation of ice-nucleating active bacteria from the freeze-tolerant frog, Rana sylvatica*, Cryobiology, 32(4), 1995, s. 358-365.
33. Lee R.E., Strong-Gunderson J.M., Lee M.R., Kymberly S.G., Riga J., *Isolation of ice nucleating active bacteria from insects*, Journal of Experimental Zoology, 257, 1991, s. 124-127.
34. Hirano S.S., Upper C.D., *Biological ice nucleation and its applications*, [w:] Lee R.E., Warren G.J., Gusta L.V. (red.), APS Press, St Paul, 1995, s. 41-61.
35. Lindow S.E., Army D.C., Upper C.D., *Bacterial ice nucleation: a factor in frost injury to plants*, Plant Physiology, 70(4), 1982, s. 1084-1089.
36. Toxopeus J., Sinclair B.J., *Mechanisms underlying insect freeze tolerance*, Biological Reviews, 93(4), 2018, s. 1891-1914.
37. Zachariassen K.E., *Physiology of cold tolerance in insects*, Physiological Reviews, 65(4), 1985, s. 799-832.
38. Nicolai A., Ansart A., *Conservation at a slow pace: terrestrial gastropods facing fast-changing climate*, Conservation Physiology, 5.1, 2017, cox007.
39. Ansart A., Vernon P., Daguzan J., *Effects of a freezing event during hibernation on further survival, reproduction and growth in the partially freezing tolerant land snail Helix aspersa muller (Gastropoda: helicidae)*, Cryo Letters, 23(4), 2002, s. 269-274.
40. Lee Jr, R.E., Costanzo J.P., *Biological ice nucleation and ice distribution in cold-hardy ectothermic animals*, Annual Review of Physiology, 60.1, 1998, s. 55-72.
41. Mizrahi T., Goldenberg S., Heller J., Arad Z., *Natural variation in resistance to desiccation and heat shock protein expression in the land snail Theba pisana along a climatic gradient*, Physiological and Biochemical Zoology, 88(1), 2015, s. 66-80.
42. Idczak P.A., Ostrowski M., Nowakowska A., *The influence of environmental stress on HSP70 and HSP90 interacting proteins in snails, Helix pomatia L.*, Manuscript under review, 2023.
43. Idczak P.A., Dembińska K., Urbaniak J., Lipińska A.M., Kalwasińska A., Swiontek Brzezinska M., Nowakowska A., *Effect of alimentary microbial inoculation on freeze tolerance in Helix pomatia L. snails*, Manuscript under review, 2023.

44. Nicolai A., Vernon P., Lee M., Ansart A., Charrier M., *Supercooling ability in two populations of the land snails Helix pomatia (Gastropoda: Helicidae) and ice-nucleating activity of gut bacteria*, Cryobiology, 50, 2005, s. 48-57.
45. Andrewartha H.G., Asahina E., Bale J.S., Hansen T.N., Baust J.G., Zachariassen K.E., Cannon R.J.C., Block W., Brunnhofer V.V., Nedved O., Hodkova M., Danks H.V., Denlinger D.L., Duman J.G., Wu D.W., Xu L., Tursman D., Olsen T.M., Hodek I.I., Somme L., Hanzal R., Novakova O., Simek P., Hrubesova H., Slama K., Lee R.E., Lee M.R., Strong-Gunderson J.M., Davidson E.C., Merivee E., Nemeč V., Salt R.W., Shimada K., Tauber M.J., Tauber C.A., Masaki S., Tsumuki H., Kono H., *Temperature Regulation of Supercooling and Gut Nucleation in Relation to Diapause of Pyrrhocoris apterus (L.) (Heteroptera)*, Cryobiology, 34(1), 1997, s. 70-79.
46. Shimada, K., *Ice-nucleating activity in the alimentary canal of the freezing-tolerant prepupae of Trichiocampus populi (Hymenoptera: Tenthredinidae)*, Journal of Insect Physiology, 35, 1989, s. 113-120.
47. Ansart A., Aulne P.A., Madec L., Vernon P., *Influence of temperature acclimation and gut content on the supercooling ability of the land snail Cornu aspersum*, Comparative Biochemistry and Physiology Part A, 150, 2008, s. 14-20.
48. Chalifour B., Li J., *Characterization of the gut microbiome in wild rocky mountainsnails (Oreohelix strigosa)*, Animal microbiome 3, 49, 2021.
49. Bahrndorff S., Alemu T., Alemneh T., Lund Nielsen J., *The microbiome of animals: implications for conservation biology*, International Journal of Genomics, 2016.
50. Amato K.R., *Co-evolution in context: the importance of studying gut microbiomes in wild animals*, Microbiome Science and Medicine, 1(1), 2013.
51. Fontaine S.S., Navarro A.J., Kohl K.D., *Environmental temperature alters the digestive performance and gut microbiota of a terrestrial amphibian*, The Journal of Experimental Biology, 221, 2018, jeb187559.
52. Moghadam N.N., Thorshauge P.M., Kristensen T.N., de Jonge N., Bahrndorff S., Kjeldal H., Nielsen J.L., *Strong responses of Drosophila melanogaster microbiota to developmental temperature*, Fly (Austin), 12, 2018, s. 1-12.
53. Ferguson L.V., Dhakal P., Lebenzon J.E., Heinrichs D.E., Bucking C., Sinclair B.J., *Seasonal shifts in the insect gut microbiome are concurrent with changes in cold tolerance and immunity*, Functional Ecology, 32, 2018, s. 2357-2368.
54. Li Y.F., Yang N., Liang X., Yoshida A., Osatomi K., Power D., Batista F.M., Yang J.L., *Elevated seawater temperatures decrease microbial diversity in the gut of Mytilus coruscus*, Frontiers in Physiology, 9, 2018, s. 839.
55. Moeller A.H., Ivey K., Cornwall M.B., Herr K., Rede J., Taylor E.N., Gunderson A.R., *The Lizard Gut Microbiome Changes with Temperature and Is Associated with Heat Tolerance*, Applied and Environmental Microbiology, 86, 2020, e01181-20.
56. Sepulveda J., Moeller A.H., *The effects of temperature on animal gut microbiomes*, Frontiers in Microbiology, 11, 2020, 384.
57. Mushegian A.A., Tougeron K., *Animal-Microbe Interactions in the Context of Diapause*, Biology Bulletin, 237, 2019, s. 180-191.
58. Jeuniaux C., *Production dexochitinase par des streptomyces*, Comptes Rendus des Séances de la Société de Biologie et Filiales, 149, 1955, s. 1307-1308.
59. Pereira C.R.D., Breckenridge, W.R., *A histophysiological study of the alimentary system of Achatina fulica (Gastropoda: Pulmonata, Stylommatophora) with particular reference to glands in the tract*, Ceylon Journal of Science, 14, 1981, s. 152-192.
60. Carey H.V., Duddleston K.N., *Animal-microbial symbioses in changing environments*, Journal of Thermal Biology, 44, 2014, s. 78-84.

61. Carey H.V., Walters W.A., Knight R., *Seasonal restructuring of the ground squirrel gut microbiota over the annual hibernation cycle*, The American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 304, 2013, s. 33-42.
62. Devendran S., Abdel-Hamid A.M., Evans A.F., Iakiviak M., Kwon I.H., Mackie R.I., Cannal I., *Multiple cellobiohydrolases and cellobiose phosphorylase cooperate in the ruminal bacterium Ruminococcus albus 8 to degrade cellooligosaccharides*, Scientific Reports., 6, 2016, 35342.
63. Breznak J.A., Brune A. *Role of microorganisms in the digestion of lignocellulose by termites*, Annual Review of Entomology, 39, 1994, s. 453-487.
64. Smith P.N., Boomer S.M., Baltzley M.J., *Faecal microbiota dynamics in Cornu aspersum during dietary change and antibiotic challenge*, Journal of Molluscan Studies, 85.3, 2019, s. 327-335.
65. Koch E., Lozada M., Dionisi H., Castro-Vazquez A., *Uric acid-degrading bacteria in the gut of the invading apple snail Pomacea canaliculata and their possible symbiotic significance*, Symbiosis, 63, 2014, s. 149-155.
66. Charrier M.Y., Fonty G., Gaillard-Martinie B., Ainouche K., Andant G., *Isolation and characterization of cultivable fermentative bacteria from the intestine of two edible snails, Helix pomatia and Cornu aspersum (Gastropoda: Pulmonata)*, Biological Research, 39(4), 2006, s. 669-681.
67. Charrier M., Combet-Blanc Y., Ollivier B., *Bacterial flora in the gut of Helix aspersa (Gastropoda Pulmonata): evidence for a permanent population with a dominant homolactic intestinal bacterium, Enterococcus casseliflavus*, Canadian Journal of Microbiology, 44(1), 1998, s. 20-27.
68. Dar M.A., Pawar K.D., Jadhav J.P., Pandit R.S., *Isolation of cellulolytic bacteria from the gastro-intestinal tract of Achatina fulica (Gastropoda: Pulmonata) and their evaluation for cellulose biodegradation*, International Biodeterioration & Biodegradation, 98, 2015, s. 73-80.
69. Pinheiro G.L., Correa R.F., Cunha R.S., Cardoso A.M., Chaia C., *Isolation of aerobic cultivable cellulolytic bacteria from different regions of the gastrointestinal tract of giant land snail Achatina fulica*, Frontiers in Microbiology, 6, 2015, 860.
70. Pawar K.D., Banskar S., Rane S.D., Charan S.S., Kulkarni G.J., Sawant S.S., Ghate H.V., Patole M.S., Shouche, Y.S., *Bacterial diversity in different regions of gastrointestinal tract of Giant African Snail (Achatina fulica)*, MicrobiologyOpen, 1(4), 2012, s. 415-426.
71. Silva T.M., Melo E.S., Lopes A.C., Veras D.L., Duarte C.R., Alves L.C., Brayner F.A., *Characterization of the bacterial microbiota of Biomphalaria glabrata (Say, 1818) (Mollusca: Gastropoda) from Brazil*, Letters in Applied Microbiology, 57, 2013, s. 19-25.
72. Simkiss K., *Prokaryote-eukaryote interactions in trace element metabolism. Desulfovibrio sp. in Helix aspersa*, Experientia, 41, 1985, s. 1195-1197.
73. Cardoso A.M., Cavalcante J.J.V., Cantão M.E., Thompson C.E., Flatschart R.B., Glogauer A., Scapin S.M.N., Sade Y.B., Beltrão P.J.M.S.I., Gerber A.L., Martins O.B., Garcia E.S., de Souza W., Vasconcelos A.T.R., *Metagenomic Analysis of the Microbiota from the Crop of an Invasive Snail Reveals a Rich Reservoir of Novel Genes*, PLOS One, 7(11), 2012, e48505
74. Cardoso A.M., Cavalcante J.J.V., Vieira R.P., Li ma J.L., Grieco M.A.B., Clementino M.M., Vasconcelos A.T.R., Garcia E.S., de Souza W., Albano R.M., Martins O.B., *Gut bacterial communities in the giant land snail Achatina fulica and their modification by sugarcane-based diet*, PLOS One, 7(3), 2012, e33440.
75. Flari V., Charrier M., *Contribution to the study of carbohydrases in the digestive tract of the edible snail Helix lucorum L. (Gastropoda, Pulmonata, Stylommatophora) in relation to its age and its physiological state*, Comparative Biochemistry and Physiology A, 102, 1992, s. 363-372.

76. Mahejabin N.S., Tarannum T.S., *Biochemical study of bacterial strains isolated from snail gut collected from Rauzabagh, Maulana Azad College, Aurangabad, Maharashtra, India*, Journal of Environmental Research and Development, 9, 2015, s. 577-584.
77. Zhou Z., Wu H., Li D., Zeng W., Huang J., Wu Z., *Comparison of gut microbiome in the Chinese mud snail (Cipangopaludina chinensis) and the invasive golden apple snail (Pomacea canaliculata)*, PeerJ, 10, 2022, e13245.
78. Chevalier F.D., Diaz R., McDew-White M., Anderson T.J., Le Clec'h W., *The hemolymph of Biomphalaria snail vectors of schistosomiasis supports a diverse microbiome*, Environmental Microbiology, 22(12), 2020, s. 5450-5466.
79. Huot C., Clerissi C., Gourbal B., Galinier R., Duval D., Toulza E., *Schistosomiasis vector snails and their microbiota display a phyllosymbiosis pattern*, Frontiers in Microbiology, 10, 2020, 3092.
80. Turnbaugh P.J., Ley R.E., Hamady M., Fraser-Liggett C.M., Knight R., Gordon J.I., *The human microbiome project*, Nature, 449(7164), 2007, s. 804-810.
81. Zilber-Rosenberg I., Rosenberg E., *Role of microorganisms in the evolution of animals and plants: the hologenome theory of evolution*, FEMS Microbiology Reviews, 32(5), 2008, s. 723-735.
82. Myers F.L., Northcote D.H., *Partial purification and some properties of a cellulase from Helix pomatia*, Biochemical Journal, 71(4), 1959, s. 749.
83. Watkins B., Simkiss K., *Interactions between soil bacteria and the molluscan alimentary tract*, Journal of Molluscan Studies, 56, 1990, s. 267-274.
84. Koleva Z.V., Kizheva Y.K., Tishkov S.H., Dedov I.K., Kirova E.L., Stefanova P.M., Moncheva P.A., Hristova P.K., *Dynamics of bacterial community in the gut of Cornu aspersum*, Journal of BioScience and Biotechnology, 4, 2015, s. 263-269.
85. Giraud-Billoud M., Vega I.A., Rinaldi Tosi M.E., Abud M.A., Calderón M.L., Castro-Vazquez A., *Antioxidant and molecular chaperone defenses during estivation and arousal in the South American apple-snail Pomacea canaliculata*, The Journal of Experimental Biology, 216, 2013, s. 614-622.
86. Thaiss C.A., Zmora N., Levy M., Elinav E., *The microbiome and innate immunity*, Nature, 535, 2016, s. 65-74.
87. Spor A., Koren O., Ley R., *Unravelling the effects of the environment and host genotype on the gut microbiome*, Nature Reviews Microbiology, 9, 2011, s. 279-290.
88. Gendrin M., Rodgers F.H., Yerbanga R.S., Ouédraogo J.B., Basáñez M.G., Cohuet A., Christophides G.K., *Antibiotics in ingested human blood affect the mosquito microbiota and capacity to transmit malaria*, Nature Communications, 6, 2015, 5921.
89. Kay G.L., Millard A., Sergeant M.J., Midzi N., Gwisai R., Mduluzi T., Ivens A., Nausch N., Mutapi F., Pallen M., *Differences in the faecal microbiome in schistosoma haematobium infected children vs. uninfected children*, PLOS Neglected Tropical Diseases, 9, 2015, e0003861.
90. Mutapi, F., *The gut microbiome in the helminth infected host*, Trends in Parasitology, 31, 2015, s. 405-406.
91. Ringø E.Z.Z.V., Zhou Z., Vecino J.G., Wadsworth S., Romero J., Krogdahl Å., Olsen R.E., Dimitroglou A., Foey A., Davies S., Owen M., Lauzon H.L., Martinsen L.L., De Schryver P., Bossier P., Sperstad S., Merrifield D.L., *Effect of dietary components on the gut microbiota of aquatic animals. A never-ending story?*, Aquaculture Nutrition, 22(2), 2016, s. 219-282.
92. Zhang Y., Li Z., Kholodkevich S., Sharov A., Chen C., Feng Y., Nanqi R., Sun K., *Effects of cadmium on intestinal histology and microbiota in freshwater crayfish (Procambarus clarkii)*, Chemosphere, 242, 2020, 125105.



93. Jiang W.W., Li J.Q., Gao Y.P., Mao Y.Z., Jiang Z.J., Du M.R., Zhang Y., Fang J., *Effects of temperature change on physiological and biochemical responses of Yesso scallop, Patinopecten yessoensis*, *Aquaculture* 451, 2016, s. 463-472.
94. Kelley A.L., *The role thermal physiology plays in species invasion*, *Conservation Physiology*, 2(1), 2014.
95. Gao Y., Fu J.S., Drake J.B., Liu Y., Lamarque J.F., *Projected changes of extreme weather events in the eastern United States based on a high resolution climate modeling system*, *Environmental Research Letters*, 7(4), 2012, 044025.
96. Gallo B.D., Farrell J.M., Leydet B., *Use of next generation sequencing to compare simple habitat and species level differences in the gut microbiota of an invasive and native freshwater fish species*, *PeerJ*, 8, 2020, e10237.
97. Qu Y.F., Wu Y.Q., Zhao Y.T., Lin L.H., Du Y., Li P., Li H., Ji X., *The invasive red-eared slider turtle is more successful than the native Chinese three-keeled pond turtle: evidence from the gut microbiota*, *PeerJ*, 8, 2020, e10271.
98. Bankers L., Dahan D., Neiman M., Adrian-Tucci C., Frost C., Hurst G.D., King K.C., *Invasive freshwater snails form novel microbial relationships*, *Evolutionary Applications*, 14(3), 2021, s. 770-780.
99. Fan J., Chen L., Mai G., Zhang H., Yang J., Deng D., Ma Y., *Dynamics of the gut microbiota in developmental stages of *Litopenaeus vannamei* reveal its association with body weight*, *Scientific Reports*, 9(1), 2019, s. 1-10.
100. Li L.H., Lv S., Lu Y., Bi D.Q., Guo Y.H., Wu J.T., Yue Z.Y., Mao G.Y., Guo Z.X., Zhang Y., Tang Y.F., *Spatial structure of the microbiome in the gut of *Pomacea canaliculata**, *BMC Microbiology*, 19(1), 2019, s. 1-9.
101. Lyra M.L., Bletz M.C., Haddad C.F., Vences M., *The intestinal microbiota of tadpoles differs from those of syntopic aquatic invertebrates*, *Microbial Ecology*, 76, 2018, s. 121-124.
102. Bibbò S., Ianiro G., Giorgio V., Scaldaferrì F., Masucci L., Gasbarrini A., Cammarota G., *The role of diet on gut microbiota composition*, *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 20(22), 2016, s. 4742-4749.
103. Jin Y., Wu S., Zeng Z., Fu Z., *Effects of environmental pollutants on gut microbiota*, *Environmental Pollution*, 222, 2017, s. 1-9.
104. Hu Z., Chen X., Chang J., Yu J., Tong Q., Li S., Niu H., *Compositional and predicted functional analysis of the gut microbiota of *Radix auricularia* (Linnaeus) via high-throughput Illumina sequencing*, *PeerJ*, 6, 2018, e5537.
105. Li H., Li T., Beasley D.E., Hedeneç P., Xiao Z., Zhang S., Li J., Lin Q., Li X., *Diet diversity is associated with beta but not alpha diversity of pika gut microbiota*, *Frontiers in Microbiology*, 7, 2016, 1169.
106. Morrison W.E., Hay M.E., *Feeding and growth of native, invasive and non-invasive alien apple snails (Ampullariidae) in the United States: invasives eat more and grow more*, *Biological Invasions*, 13, 2011, s. 945-955.
107. Ducklow H.W., Clausen K., Mitchell R., *Ecology of bacterial communities in the schistosomiasis vector snail *Biomphalaria glabrata**, *Microbial Ecology*, 7, 1981, s. 253-274.
108. Le Clec'h W., Nordmeyer S., Anderson T. J., Chevalier F.D., *Snails, microbiomes, and schistosomes: a three-way interaction?*, *Trends in Parasitology*, 2022.
109. Van Horn D., Garcia J.R., Loker E., Mitchell K., Mkoji G., Adema C., Takacs-Vesbach C., *Complex intestinal bacterial communities in three species of planorbid snails*, *Journal of Molluscan Studies*, 78, 2012, s. 74-80.
110. Allan E.R., Tennessen J.A., Sharpton T.J., Blouin M.S., *Allelic variation in a single genomic region alters the microbiome of the snail *Biomphalaria glabrata**, *Journal of Heredity*, 109(5), 2018, s. 604-609.

111. Portet A., Toulza E., Lokmer A., Huot C., Duval D., Galinier R., Gourbal B., *Experimental infection of the Biomphalaria glabrata vector snail by Schistosoma mansoni parasites drives snail microbiota dysbiosis*, Microorganisms, 9(5), 2021, 1084.
112. Zhang X., Sun Z., Zhang X., Zhang M., Li S., *Hemolymph microbiomes of three aquatic invertebrates as revealed by a new cell extraction method*, Applied and Environmental Microbiology, 84(8), 2018, e02824-17.
113. Li S., Qian Z., Gao S., Shen W., Li X., Li H., Chen L., *Effect of long-term temperature stress on the intestinal microbiome of an invasive snail*, Frontiers in Microbiology, 2022, 3166.
114. Wu Y.Y., Cheng C.X., Yang L., Ye Q.Q., Li W.H., Jiang J.Y., *Characterization of Gut Microbiome in the Mud Snail Cipangopaludina cathayensis in Response to High-Temperature Stress*, Animals, 12(18), 2022, 2361.

## Mikrobiota ślimaków – charakterystyka i znaczenie

### Streszczenie

Przeżywalność zwierząt w unikalnych ekosystemach jest wspierane przez różnorodne społeczności mikroorganizmów, które zamieszkują, zarówno ich powierzchnię, jak i wnętrze. Mikroorganizmy odgrywają istotną rolę w trawieniu i dostarczaniu składników odżywczych, ale są również bardzo istotne dla zwierząt zasiedlających nowe nisze. Mięczaki, stanowią stabilne, wielokomórkowe systemy *in vivo*, które mogą służyć jako użyteczne modele zwierzęce w badaniach dotyczących symbiotycznych relacji między mikroorganizmami a zwierzętami oraz sposobów, w jakie mikroorganizmy wpływają na fizjologię i ekologię zwierząt. Ponadto ze względu na ogromną różnorodność gatunkową i ekologiczną mięczaków pozwalają także lepiej zrozumieć zmienność mikrobioty związanej, zarówno z jej lokalizacją w organizmie gospodarza, jak również gospodarza w środowisku. Mikrobiom odgrywa istotną rolę w utrzymaniu homeostazy organizmu i przetrwaniu w zmiennych warunkach środowiskowych. Dotyczy to nie tylko mięczaków lądowych ale także gatunków słodkowodnych i morskich, które poddawane działaniu różnych czynników abiotycznych, korzystają z właściwości zasiedlających je mikroorganizmów w celu przeciwdziałania skutkom stresu.

Słowa kluczowe: mięczaki, ślimaki, mikrobiom, mikrobiota

## Snails microbiota – characteristic and potential

### Abstract

Animal survival in unique ecosystems is supported by the diverse communities of microorganisms that inhabit both their surface and interior. Microbiome play an important role in digestion and nutrient delivery, but it is also very important for animals inhabiting new ecological niches. Molluscs are stable, multicellular *in vivo* systems that can serve as useful animal models in studies of symbiotic relationships between microorganisms and animals and the ways in which microbes affect animal physiology and ecology. In addition, due to the huge abundance of species and ecological diversity of molluscs, they also allow for a better understanding of the variability of the microbiota associated with both its location in the host organism and the host in the environment. The microbiome plays an important role in maintaining the body's homeostasis and survival in changing environmental conditions. This applies not only to terrestrial molluscs, but also to freshwater and marine species, which, when subjected to various abiotic factors, use the properties of the microorganisms inhabiting them in order to counteract the effects of stress

Keywords: molluscs, snail, microbiome, microbiota

## Behawioralne skutki długotrwałego oddziaływania stresu na kota

### 1. Wprowadzenie

Kot domowy (*Felis silvestris catus*) bierze swój początek, od kota nubijskiego (*Felis silvestris lybica*), czyli afrykańskiego podgatunku żbika, a udomowienie ówczesnych kotów nastąpiło 9 000 lat temu. Gatunek poddany domestykacji musi spełnić trzy warunki, które będą świadczyć o tym, że taki proces faktycznie miał miejsce. Pierwszym z nich są cechy morfologiczne, takie jak zmniejszenie masy mózgu, zmiana ubarwienia i długości sierści oraz zmiana wielkości i proporcji ciała. Następnie cechy fizjologiczne, do których należy zwiększona laktacja oraz szybsze dojrzewanie wraz ze zwiększoną plennością lub nieśnością. Ostatnim warunkiem są cechy behawioralne, takie jak zmniejszenie płochliwości oraz osłabienie orientacji przestrzennej [1].

Stres to zjawisko, w którym czynnik zagrażający homeostazie organizmu wywołuje reakcję (tzw. reakcja na stres) mającą na celu przywrócenie do pierwotnego stanu równowagi [2]. Niektóre koty będą się charakteryzować różną reaktywnością na bodźce stresogenne, a wpływać na to będzie przebieg procesu socjalizacji kociąt oraz wrażliwość osobnicza. Stres krótkotrwały jest zjawiskiem fizjologicznym, który pozwala kotu na przeżycie. Dzieje się tak ze względu na to, że kot jest nie tylko drapieżnikiem, ale również ofiarą dla większych zwierząt. Dlatego stres jest ważny, bo pozwala mu na adekwatne zachowanie w danej sytuacji w jakiej się znajduje, najczęściej jest to ucieczka przed drapieżnikiem bądź zastyganie w bezruchu. Do ewentualnego ataku napastnika dochodzi w sytuacjach, gdzie zwierzę nie ma jak uciec bądź próbuje chronić swoje zasoby. Taki stres jest krótkotrwały oraz motywujący i jest jednym z elementów procesów adaptacyjnych, dzięki którym kształtuje się zdolność przetrwania [2]. Inaczej jest, kiedy kot jest poddawany długotrwałemu stresowi, wpływa on bowiem na cały organizm zwierzęcia i może się przyczynić do rozwoju wielu chorób oraz zaburzeń behawioralnych.

Celem pracy jest przegląd dostępnej wiedzy na temat mechanizmu powstawania stresu, konsekwencji behawioralnych płynących z długotrwałego oddziaływania bodźców stresogennych oraz w jaki sposób zredukować stres u podatnych na niego zwierząt jakimi są koty.

### 2. Przebieg reakcji stresowej

Reakcja adaptacyjna, która przebiega podczas ekspozycji na bodziec stresogeny, odbywa się w 3 fazach: alarmowej, adaptacji oraz wyczerpania. Reakcja alarmowa mobilizuje organizm do działania, jest to ewolucyjna reakcja „walcz albo uciekaj”. Bodziec

---

<sup>1</sup> k.krasinska1234@gmail.com, Felinologiczne Studenckie Koło Naukowe, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://up.lublin.pl/>.

<sup>2</sup> briannaschwenzer@onet.pl, Felinologiczne Studenckie Koło Naukowe, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://up.lublin.pl/>.

<sup>3</sup> justyna.wojtas@up.lublin.pl, Katedra Etologii Zwierząt i Łowiectwa, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://up.lublin.pl/>.

stresogenny pobudza ośrodki kory i układu limbicznego, a następnie dochodzi do wzmożonego napięcia współczulnego układu nerwowego tzn. pobudzenia nerwowego układu podwzgórzowo-współczulno-rdzeniowo-nadnerczowego [3]. W wyniku tego pobudzenia nadnercza zaczynają wydzielać hormony o działaniu pobudzającym oraz mobilizującym, tj. adrenalinę i noradrenalinę. Dochodzi do symatykotonii obwodowej, której objawami są m.in.: przyspieszenie akcji serca i liczby oddechów, wzrost ciśnienia krwi oraz hiperglikemia. Oprócz tego, pobudzenie układu współczulnego powoduje: rozszerzenie źrenic, blednięcie skóry, piloerekcję oraz hamowanie czynności układu pokarmowego. W wyniku tych symptomów zwierzę otrzymuje odpowiednią ilość energii oraz maksymalną mobilizację organizmu do natychmiastowej reakcji motorycznej – walki i/lub ucieczki. W zależności od rodzaju i długości działania stresora oraz możliwości adaptacyjnych, kot może przystosować się do bodźca. Często jednak osobnik nie radzi sobie ze stresem, w konsekwencji czego organizm aktywuje oś podwzgórzowo-przysadkowo-korowo-nadnerczową (HPA, ang. *hypothalamus – pituitary – adrenal axis*). W konsekwencji przysadka jest pobudzana przez podwzgórze i dochodzi do wydzielania kortykoliberyny (CRH, ang. *corticotropin releasing hormone*) z jądra przykomorowego podwzgórza. Następnie jest ona transportowana do przedniego płata przysadki mózgowej, gdzie pobudza syntezę proopiomelanokortyny (POMC, ang. *proopiomelanocortin*), która w wyniku dalszych procesów przekształca się w hormon adrenokortykotropowy (ACTH, ang. *adrenocorticotropic hormone*) [3]. Kortykotropina (ACTH) jest transportowana do kory nadnerczy, gdzie wydzielane są glikokortykoidy (m.in. kortyzol). Kortyzol wpływa na podwyższenie poziomu glukozy we krwi i w porównaniu do adrenaliny i noradrenaliny, których wyrzut jest gwałtowny oraz ma działanie krótkotrwałe, może utrzymywać się dłużej (do 100 min) i wydłużać czas działania wyżej wymienionych hormonów.

Reakcję stresową możemy podzielić na trzy elementy: rozpoznanie stresora przez zwierzę, obronę przed nim oraz konsekwencje płynące z działania czynnika stresogennego [4]. Na podstawie tych elementów wyróżniamy dwa rodzaje stresu, stres krótkotrwały (eustres) oraz stres przewlekły/chroniczny (dystres). Pierwszy z nich nie ma negatywnego wpływu na organizm, jest mobilizujący, pomaga w przetrwaniu oraz poprawia reakcje odpornościowe. Natomiast w przypadku wydłużenia działania stresora bądź kumulacji kilku stresorów na raz eustres przeradza się w stres chroniczny. W wyniku dystresu dochodzi do zaburzenia gospodarki tłuszczowej, białkowej, węglowodanowej oraz wodno-elektrolitowej organizmu, pod wpływem działania glikokortykosteroidów. Długotrwałe działanie stresora może doprowadzić do obniżenia odporności, rozwoju chorób autoimmunologicznych oraz problemów z reprodukcją. Stres chroniczny, jest to stan, w którym organizm jest w ciągłej gotowości do radzenia sobie z czynnikami stresogennymi. Powoduje nagromadzenie się kortyzolu w wyniku ciągłego jego wyrzutu i braku usunięcia poprzedniej dawki, przyspieszenie metabolizmu oraz duże straty energetyczne. Jest to stan wyczerpania, który stanowi ostatnią z faz reakcji adaptacyjnej i polega na niemożności powrotu organizmu do stanu równowagi.

Tabela 1. Podział zachowań ze względu na rodzaj stresu

Stres krótkotrwały (eustres)	Stres chroniczny (dystres)
Postawa niska	Zahamowanie czynności pielęgnacyjnych
Ogon przyciśnięty do tułowia	Oslabienie zachowań socjalnych
Wibrysy skierowane do tyłu	Apatia
Skulone uszy	Częste oddawanie moczu i kału

Przyspieszony oddech	Zaburzenia odżywiania
Rozszerzone źrenice	Zachowania stereotypowe
Ukrywanie się	Zwiększona senność/zaburzenia snu
Wokalizacja z syczeniem/ pryhanie	Zmniejszenie zachowań eksploracyjnych

Źródło: Opracowanie własne na podstawie [2].

*Układ limbiczny nazywany jest mózgiem emocji* [5]. Wśród wielu struktur znajdujących się w nim, możemy wyróżnić hipokamp, ciało migdałowate oraz korę przedczołową, które podczas długotrwałego działania kortyzolu są najbardziej narażone na negatywne zmiany w strukturze oraz funkcjonowaniu. Tego typu zmiany zaburzają procesy uczenia się oraz mogą doprowadzić do wyuczonej bezradności. Prekursorem tego pojęcia jest amerykański psycholog Martin Seligman, który opisał stan wyuczonej bezradności na podstawie przeprowadzanych eksperymentów na psach. Wykazywały one wyuczony stan w wyniku ekspozycji na szkodliwe i stresujące sytuacje, gdzie nieważne jaką decyzję podejmowało zwierzę, nie przynosiła ona oczekiwanych rezultatów [6]. Regularne poddawanie silnym stresorom doprowadziło do stanu, w którym zwierzęta utraciły motywację oraz zdolność do podejmowania decyzji. Stan wyuczonej bezradności jest jednym z modeli złożonej choroby jaką jest depresja, a długotrwale utrzymujący się tego typu stan może doprowadzić do śmierci zwierzęcia [7].

Tabela 2. Objawy zaburzeń depresyjnych w różnych stadiach

Objawy zaburzeń depresyjnych	
we wczesnym stadium	w późniejszym stadium
apatia oraz wycofanie;	zaburzenia snu - ciągłe uczucie zmęczenia;
zobojętnienie na kontakty społeczne;	oddawanie moczu oraz kału poza kuwetą;
zaburzenia łaknienia;	łysienie psychogenne;
zaprzestanie pielęgnacji;	
brak znakowania terytorium pazurami oraz gruczołami policzkowymi.	

Źródło: opracowanie własne na podstawie [8].

Wyodrębniamy dwa rodzaje bodźców wywołujących stres: fizjologiczne oraz behawioralne. Oba rodzaje mogą zagrozić homeostazie organizmu. Pierwszy rodzaj bodźców, np.: głód, pragnienie, zbyt niska bądź zbyt wysoka temperatura zewnętrzna wpływają bezpośrednio na parametry fizjologiczne. Parametry fizjologiczne, które mogą ulegać zmianie pod wpływem tych czynników to między innymi: temperatura wewnętrzna ciała, ciśnienie krwi, stężenie glukozy we krwi, częstotliwość oddechów, tętno. Behawioralne (emocjonalne) czynniki stresujące angażują procesy poznawcze na przykład: orientację w przestrzeni oraz przetwarzanie uzyskanych informacji, a także procesy emocjonalne, które wartościują każdą sytuację [2]. Pomimo czynników stresujących wynikających ze spotkania z drapieżnikiem, ofiara ponosi ryzyko spotkania się z nim dla osiągnięcia biologicznie istotnych korzyści [9]. Perspektywa konfrontacji z drapieżnikiem jest włączona w procesy wartościowania sytuacji. Podobną decyzję podjęły koty 9 000 lat temu zbliżając się do drapieżnika jakim był człowiek, dla uzyskania korzyści pod postacią łatwego dostępu do pożywienia oraz schronienia.

### **3. Przyczyny stresu chronicznego**

Na rozwój chronicznego stresu u kotów może mieć wpływ wiele czynników środowiskowych. Brak zaspokojenia potrzeb gatunkowych, takich jak możliwość polowania (zabawy), drapania oraz ubogie środowisko, w którym kot przebywa. Obecność większego drapieżnika (np. psa) na kocim terytorium, przed którym nie ma się jak schować, albo kot musi się ukrywać cały czas. Niestabilne środowisko bytowania, może naruszyć ważną dla kotów rutynę i kiedy zostaje ona zaburzona np. podczas remontu, przeprowadzki czy nawet zmiany umeblowania mieszkania, może wpłynąć na reakcję stresową. Nieprawidłowa socjalizacja z innym kotem bądź odrębnym gatunkiem może prowadzić do konfliktów społecznych. Nieodpowiednie traktowanie zwierzęcia w postaci stosowania kar i bodźców awersyjnych oraz długotrwała ekspozycja na uciążliwe bodźce np. ruch uliczny powoduje stres. Koty tak samo jak ludzie potrafią odczuwać stratę innego osobnika lub człowieka-opiekuna, ale również pojawienie się nowego członka rodziny może wpłynąć na pojawienie się stresu. Należy również podkreślić, że bodziec stresogenny u jednego osobnika będzie wywoływał reakcję stresową a na innego osobnika może nie mieć żadnego wpływu. Świadczą o tym cechy osobnicze, bądź fakt, że dany osobnik zaadaptował się już do danego bodźca i nie postrzega go jako zagrażający.

### **4. Zaburzenia zachowania**

Długotrwały stres chroniczny może prowadzić do zachowań stereotypowych, cechujących się powtarzaniem tych samych sekwencji ruchowych. Konkretnie zachowania nazywamy stereotypiami, które możemy podzielić na pielęgnacyjne (np. wylizywanie bądź wygryzanie sierści), lokomotoryczne (np. łapanie ogona), alimentarne (np. żucie lub ssanie materiałów), wokalizacyjne (np. powtarzające się miauczenie) oraz halucynacyjne (np. łapanie nieistniejących much). Powtarzające się zachowania mogą pochłaniać nawet kilka godzin w ciągu dnia i zaburzać rutynę zwierzęcia. Wyróżniamy również inny typ zachowań – zachowania kompulsywne, w przypadku których zachowanie się zwierząt jest nacechowane bardziej skomplikowanymi wzorcami. W zachowaniach stereotypowych chodzi o samą czynność, a w kompulsywnych o swego rodzaju rytuał związany z działaniem. Zwierzę jest tak zaabsorbowane czynnością, że nie spełnia swoich potrzeb fizjologicznych. Przykładem może być kot, który kompulsywnie pije wodę (nawet do 10 minut), nie chce się bawić oraz spożywać pokarmu, gdy ma dostęp do wody. Innym takim przykładem jest kot, który przed spożyciem pokarmu lub napiciu się wody przeprowadza rytuał polegający na wykonywaniu przednimi łapami ruchu zagarniania [10]. Wynikają one również z fiksacji na określonym celu, który może być skierowany na otoczenie bądź na własne ciało. Jednym przykładem wynikającym z fiksacji skierowanym na otoczenie jest tak zwane łapanie nieistniejących much (halucynacyjne). Patologia tego zaburzenia u kotów może być związana ze stresem oraz frustracją, spowodowaną niemożliwością polowania na ptaki, które kot widzi przez szybę. Zaburzenia kompulsywne mogą prowadzić do samoookaleczeń bezpośrednich (wygryzanie sierści) i pośrednich (zjedzenie nitki – martwica odcinka jelitowego). Zachowania stereotypowe mogą przechodzić w zaburzenia kompulsywne, gdy czynnik stresogenny nie znika bądź się nasila. Tego typu zaburzenie może również podlegać regresji, w wyniku, której przekształca się w zachowania stereotypowe [11]. Wiele cech społecznych oraz niespołecznych u zwierząt jest dziedziczna, jak również zaburzenia zachowania. Niektóre rasy kotów oraz psów mają predyspozycje genetyczne do występowania konkretnych

zaburzeń zachowania. Koty syjamskie oraz birmańskie należące do ras orientalnych są bardziej podatne na ssanie wełny oraz zaburzenie pica, tak samo jak norweskie leśne, Maine Coon, tureckie Van i Angora. Ssanie wełny rozpoczyna się we wczesnym życiu kota około 18. miesiąca życia, co sugeruje wpływ genetyczny bądź środowiskowy [9]. Stres związany z wczesnym odstawieniem od matek prowadzi do zachowań stereotypowych oraz agresji. Ssanie wełny jest zachowaniem stereotypowym, natomiast nasilony stres może przekształcić je w zaburzenia kompulsywne na przykład w zaburzenie łąkania zwane pica, które może również występować bez wyżej wspomnianego ssania wełny. Takie zachowanie zagraża zdrowiu zwierzęcia, gdyż przy ssaniu materiałów połyka kawałki tkaniny, co może doprowadzić do blokady jelit oraz przedwczesnej śmierci [12]. W niektórych przypadkach zaburzenie pica ustępuje wraz z dojrzałością emocjonalną kota [13].

Tabela 3. Objawy zachowań stereotypowych oraz zaburzeń kompulsywnych

Zachowania stereotypowe	Zaburzenia kompulsywne
Chodzenie wzdłuż ściany	Kompulsywne oblizywanie nosa
Krążenie wokół własnej osi	Wygryzanie sierści
Lizanie sierści	Gryzienie łap
Ssanie wełny	Syndrom pica
Łapanie ogona	Połowanie na niewidzialną muchę
Wokalizacja	Unikanie/ agresja wobec niewidzialnych wrogów
Lizanie podłogi	Wpatrywanie się w cienie
Zamieranie w bezruchu (freezing)	Zespół falującej skóry (FHS)

Źródło: opracowanie własne na podstawie [2].

#### 4.1. Zaburzenie pica

Jest to spożywanie przez koty produktów nie odżywczych np.: tkaniny (wełna), papieru, sznurowadeł, nici oraz tworzyw syntetycznych. Rozróżniamy trzy objawy tego zaburzenia: ssanie, żucie oraz połykanie, z czego dwa pierwsze mogą mieć inną motywację. Ssanie i żucie są zachowaniami kociąt, a podłożem tych zachowań może być wczesne odstawienie od matki. Przyczyną syndromu pica jaką są np. zmiany w środowisku kota (przeprowadzka, nowy domownik) wzmagają stres, a ubogie zachowania społeczne (brak innych znajomych zwierząt, ograniczony zasób pod postacią człowieka) prowadzą do frustracji zwierzęcia [9].

#### 4.2. FHS

Zespół falującej skóry (FHSang. *Feline Hyperesthesia Syndrome*) – to mimowolny, o charakterze napadowym ruch skóry, który przypomina falowanie. Występuje ono najczęściej u nasady ogona oraz tylnej części grzbietu. Tego rodzaju niekontrolowane reakcje powodują rozpoczęcie procesu reakcji adaptacyjnej, na skrajnie pobudzający stresor. Problem ten z reguły dotyka kota jedynie w przedziale wiekowym od 1. do 4. roku życia. Podłoże powstawania choroby nie jest do końca znane. Mogą mieć na to wpływ problemy neurologiczne, fizjologiczne (reakcja na pasożyty lub inne choroby) oraz behawioralne. Jest to złożony proces i ma na niego wpływ wiele czynników, do których możemy zaliczyć również zaburzenia pierwotnej socjalizacji kociąt oraz nudę wywołaną zbyt ubogim środowiskiem w jakim kot przebywa. Przed wdrożeniem leczenia przeciwko

FHS, należy wykonać szereg badań, które wykluczą inne choroby objawiające się w podobny sposób [14].

Objawy:

- głośna wokalizacja;
- uciekanie przed nieistniejącym napastnikiem – bieganie po domu;
- wylizywanie i wygryzanie tylnych części ciała – może doprowadzić do samo-okaleczeń;
- rozszerzone źrenice;
- niekontrolowana urynnacja i/lub defekacja;
- ślinotok;
- przeniesiona agresja na ludzi i innych domowników.

Czynności, które należy wykonać przed diagnozą:

- badanie ogólne moczu z dodatkową oceną osadu jaki w nim występuje;
- badanie neurologiczne (tomografia komputerowa, rezonans magnetyczny);
- zdjęcie RTG kręgosłupa;
- badanie dermatologiczne pod kątem pasożytów, mykodermatoz, alergii oraz infekcji i atopii skórnych;
- biopsję mięśni, w celu wykluczenia miopatii;
- biochemię, w której należy uwzględnić parametry wątrobowe, nerkowe, T4 oraz poziom hormonów;
- wprowadzenie diety eliminacyjnej, dzięki której można wykluczyć alergię pokarmowe.

### **4.3. PTSD**

Ostry zespół stresu pourazowego (PTSD, ang. *Post-Traumatic Stress Disorder*) jest uznawany jako zaburzenie neurobiologiczne powstałe na skutek traumatycznego przeżycia w towarzystwie bólu fizycznego lub bez (np. zmiana miejsca pobytu, strata osobnika, z którym zwierzę było związane emocjonalnie). Natomiast przyczyn wystąpienia tego typu zaburzenia w obecności bólu jest wiele, jednak, żeby doszło do jego rozwoju zdarzenie musi być związane z nagłą i/lub niekontrolowaną postacią stresu. Przykładem tego typu precedensu może być irracjonalny strach przed ludźmi w wyniku uprzedniego okrutnego traktowania przez człowieka. Zaburzenie ze względu na swoje objawy, a w szczególności w przypadku spadku bądź braku apetytu, może okazać się śmiertelne dla zwierzęcia [3, 11]. W 2015 r. została przeprowadzona analiza przyczyn śmierci u 3309 kotów na przestrzeni lat 2009-2012 na podstawie przeprowadzanych w tym okresie sekcji zwłok. Opierając się na wynikach stworzono ranking składający się z 20 pozycji i stwierdzono, że najczęstszą przyczyną śmierci u kotów była trauma (n = 405, 12,2%) [15].

Objawy:

- zwiększona senność;
- brak reakcji emocjonalnych, niechęć do bodźców środowiskowych oraz brak zainteresowania codziennymi czynnościami (np. zabawa);
- utrata apetytu, anoreksja;
- zmniejszona chęć eksploracji oraz zahamowanie lokomotoryczne;
- obniżona świadomość otoczenia, zmniejszona czujność.



#### 4.4. SAS

Zespół zaburzeń separacyjnych (SAS, ang. *Separation Anxiety Syndrom*) – jest to zespół reakcji organizmu (behawioralnych, fizjologicznych, emocjonalnych), który uaktywnia się podczas nieobecności ulubionego towarzysza [16]. Objawy oraz natężenie zależą od indywidualnych doświadczeń, wrodzonej emocjonalności i stopnia przywiązania, a podłożem zachowań może być strach, stres, lęk, niepokój, nadmierne przywiązanie czy brak odpowiedniej stymulacji. Doktor Stefanie Schwartz prowadziła badania na kotach z zespołem lęku separacyjnego i na podstawie swoich badań stwierdziła, że koty tak jak psy są zwierzętami socjalnymi, u których również może rozwinąć się zaburzenie w postaci lęku separacyjnego. Koty tworzą grupy społeczne oraz mają okres krytyczny, występuje wtedy zjawisko imprintingu (wdrukowanie), zwierzę łatwiej się socjalizuje, a wdrukowane osoby, zwierzęta, zachowania utrwalają się [17].

Objawy:

- oddawanie moczu poza kuwetą, najczęściej na miejsce, w którym właściciel spędza najwięcej czasu (łóżko, kanapa);
- nadmierna wokalizacja za właścicielem, gdy wychodzi/wyszedł z miejsca zamieszkania;
- niszczenie przedmiotów w domu;
- kompulsywne wylizywanie się prowadzące do wyłysień i podrażnień;
- agresja względem preferowanego właściciela, gdy wychodzi, aby zapobiec jego wyjściu;
- objawy żołądkowo-jelitowe jak brak apetytu, wymioty lub biegunki [18].

Debra F. Horwitz oraz Daniel S. Mills wskazali na cztery główne sytuacje, których analiza może pomóc we właściwej diagnozie:

- zwierzę przeżywające stres związany z rozłąką może wykazywać reakcje o podłożu lękowym w czasie, gdy właściciel jest w domu;
- kiedy właściciel szykuje się do wyjścia, zwierzę przejawia oznaki niepokoju;
- kiedy właściciel rzeczywiście wychodzi, może wykazywać agresję;
- w większości przypadków niepokój utrzymuje się również po wyjściu właściciela z domu [2].

Część zwierząt wykazuje zaburzenia zachowania związane z SAS od okresu kocięcego, w innych przypadkach mogą pojawić się one w związku ze zmianami zachodzącymi w domu, jak zmiana czasu pracy, wyprowadzka. Objawy SAS mogą pojawiać się okresowo i nasilać się wraz z wiekiem. Czasami SAS może rozwinąć się, gdy rozłąka nastąpi po długim czasie przebywania razem, tak jak stało się to podczas trwania pandemii COVID-19. Zwierzęta siłą rzeczy przyzwyczyły się do obecności właściciela, a błędem był brak myślenia przyszłościowego o konsekwencjach z tego płynących.

#### 5. Redukcja stresu

W sytuacji, gdy zaburzenie kompulsywne już występuje, stresory mogą to zachowanie utrwaląć. Dlatego tak ważne jest zredukowanie stresu środowiskowego. Istotne jest by zwierzę miało kontrolę nad sytuacją, ponieważ brak przewidywalności i kontroli nad otoczeniem wynikający na przykład z niekonsekwencji ze strony właściciela, nieodpowiednie karanie, brak treningu oraz frustracja wynikająca z braku interakcji społecznej i eksploracji są przyczynami występowania stresu. Dla kotów człowiek jest zasobem podobnie

jak kuweta, zabawki czy drapaki, a niedobór zasobów prowadzi do wielu zaburzeń zachowania [2]. Najważniejsze, żeby działanie opiekuna było regularne oraz występowało o tej samej porze, bo wdrożenie do codziennego funkcjonowania jak największej ilości przewidywalnych elementów takich jak zabawa, karmienie, odpoczynek zmniejsza występowanie stresu. Przy zaburzeniach równie istotne jest wprowadzanie nowości, stymulacji oraz zadań, na których kot może się skupić. Różne zabawki stosowane naprzemiennie, praca węchowa, którą możemy wprowadzić za pomocą zabawek lub mat węchowych sprzyja prawidłowym zachowaniom zwierząt. Koty są drapieżnikami i muszą zaspokajać instynkt łowiecki, z uwzględnieniem tego, że zabawa powinna kończyć się posiłkiem bądź smaczkim, aby zakończyć jedzeniem łańcuch łowiecki. W przypadku FHS kluczowy jest ograniczony kontakt bezpośredni z człowiekiem, ponieważ może on nasilić ataki falowania skóry. Zaleca się więc czasowo zrezygnować z czesania, a głaśkanie ograniczyć jedynie do okolicy głowy *obowiązuje zasada trzech głaśnień, nic więcej, by nie wywołać ataku falowania* [14]. Kara ma charakter awersyjny i powoduje stres u zwierząt, z tego względu kategorycznie nie powinno się nią posługiwać w postępowaniu ze zwierzętami z występującymi zaburzeniami kompulsywnymi, chociaż żadne zwierzę nie powinno być trenowane z użyciem metod awersyjnych.

## **6. Podsumowanie**

Bezpieczny poziom stresu w życiu kota jest ważnym czynnikiem wpływającym na przetrwanie zwierzęcia. To w jaki sposób, kot będzie reagował na dany stresor będzie zależało od cech osobniczych, to w jakim środowisku dorastał oraz jakie ma zdolności adaptacyjne. Długotrwałe oddziaływanie stresogennej sytuacji uruchamia szereg procesów w organizmie, w wyniku których produkowane są hormony tj. adrenalina, noradrenalina oraz kortyzol. Utrzymujący się poziom kortyzolu negatywnie wpływa na cały organizm kota i prowadzi do rozwoju chorób oraz zaburzeń behawioralnych. Często problem chronicznego stresu jest bagatelizowany bądź niezauważany w wyniku niespecyficznych symptomów, a to prowadzi do rozwoju zaburzeń behawioralnych. Dlatego tak ważne jest by zauważyć nawet drobne zmiany w zachowaniu kota i przeprowadzić działania, których celem będzie wyeliminowanie bodźców stresogennych by poprawić poziom dobrostanu zwierzęcia.

## **Podziękowania**

Praca była częścią projektu pt. „Redukcja poziomu stresu u kotów schroniskowych poprzez zastosowanie wzbogaceń środowiskowych”. Dofinansowano przez Ministra Edukacji i Nauki ze środków z budżetu państwa w ramach programu „Studenckie koła naukowe tworzą innowacje”.

## **Literatura**

1. Lasota-Moskalewska A., *Proces udomowienia zwierząt w świetle badań archeozoologicznych*, Światowit, 5, 2003, s. 187-192.
2. Horwitz D.F., Mills D.S., *Medycyna behawioralna psów i kotów*, Galaktyka Łódź, 2016, s. 147-155, 247-255.
3. Kania F.B., *Fizjologia i farmakoterapia zaburzeń behawioralnych u psów i kotów*, Wieś Jutra, Warszawa 2005, s. 59-67.
4. Moberg G., Mensch J., *The Biology of Animal Stress. Basic Principles and Implications to Animal Welfare*, CAB International, Wallingford 2000, s. 1-23.

5. Krzymowski T., Przała J., *Fizjologia zwierząt*, Powszechnie Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa 2005, s. 125.
6. Pageat P., *Pathologie du comportement du chie*, Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France, 149, 1996, s. 101-102.
7. Śmiałowska M., Domin H., *Astrocyty a depresja*, Wszechświat, Kraków 2015, s. 282-286.
8. Biegańska-Hendryk M., *Kocia depresja*, <https://www.animal-expert.pl/artukul/kocia-depresja> [data dostępu: 03.04.2023].
9. Stachowiak M., *Zaburzenia kompulsywne u kotów*, <https://magwet.pl/37808,zaburzenia-kompulsywne-u-kotow> [data dostępu: 01.04.2023].
10. Kaleta T., *Stres i zachowanie się zwierząt dzikich – badania i interpretacje*, Życie Weterynaryjne, 84(1), 2009, s. 21-26.
11. Schroll S., Dehasse J., *Zaburzenia zachowania kotów*, Edra Urban & Partner, Wrocław 2018, s. 96-105, 202-204.
12. Kinsman R., Casey R., Murray J., *Owner-Reported Pica in Domestic Cats Enrolled onto a Birth Cohort Study*, Animals, 11(4), 2021, s. 2-11.
13. Salonem M., Vapalahti K., Tiira K., Maki-Tanila A., Lohi H., *Breed differences of heritable behaviour traits in cats*, Scientific Reports, 9, 2019, s. 1-8.
14. Biegańska-Hendryk M., *Rozmowa z kotem*, Buchmann, Warszawa 2021, s. 22-25, 174-179.
15. O'Neill G., Church D., McGreevy P., Thomson P., Brodbelt D., *Longevity and mortality of cats attending primary care veterinary practices in England*, Journal of Feline Medicine and Surgery, 2015, s. 79-196.
16. Leszczyńska B., *Zaburzenia separacyjne u kotów*, <https://www.animal-expert.pl/artukul/zaburzenia-separacyjne-u-kotow> [data dostępu: 18.05.2023].
17. Schwartz S., *Separation anxiety syndrome in dogs and cats*, Journal of the American Veterinary Medical Association, 2003, s. 1526-1532.
18. Brucker L., *Meow! Who Let the Human Out? Understanding and treating separation anxiety syndrome (SAS) in cats*, [https://companionanimals.commons.gc.cuny.edu/2020/05/29/meow-who-let-the-human-out-understanding-and-treating-separation-anxiety-syndrome-sas-in-cats/?fbclid=IwAR0y3di1OGjkWmbPEN6WdnW\\_7hUoeVTY-Ze39VqdPHUL\\_hE97H0A1kP5dIU](https://companionanimals.commons.gc.cuny.edu/2020/05/29/meow-who-let-the-human-out-understanding-and-treating-separation-anxiety-syndrome-sas-in-cats/?fbclid=IwAR0y3di1OGjkWmbPEN6WdnW_7hUoeVTY-Ze39VqdPHUL_hE97H0A1kP5dIU) [data dostępu: 18.05.2023].
19. Kołodziejczyk K., Cywińska A., *Oznaczanie metabolitów kortyzolu w kale jako metoda oceny stresu u dzikich zwierząt*, Życie Weterynaryjne, 94(5), 2019, s. 355-359.
20. Kudła J., *Zachowania kompulsywne u psów i kotów. Cz. I. Charakterystyka i przyczyny zachowań kompulsywnych u zwierząt*, <https://magwet.pl/25652,zachowania-kompulsywne-u-psow-i-kotow-cz-i-charakterystyka-i-przyczyny-zachowan-kompulsywnych-u?page=2> [data dostępu: 31.03.2023].
21. Bielecka K., *W tym szaleństwie jest metoda. Zaburzenia psychiczne u zwierząt*, Filozofia w praktyce, 5, 2019, s. 1-4.
22. Sergiel A., Maślak R., Kuszniierz J., Paśko Ł., *Zachowania stereotypowe – przegląd definicji i klasyfikacji*, Medycyna wet., 68(1), 2012, s. 45-48.
23. Dugiel G., Tustanowska B., Kęcka K., Jasińska M., *Przegląd teorii stresu/Overview of theories of stress*, Acta Scientifica Academiae Ostroviensis, 2012, 3(1), s. 47-70.
24. Garbiec A., Karpiński M., Wojtaś J., *Określanie poziomu stresu u zwierząt towarzyszących na podstawie poziomu kortyzolu w różnych materiałach biologicznych*, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, 1, 2020, s. 22-28.
25. Ahola M., Vapalahti K., Lohi H., *Early weaning increases aggression and stereotypic behaviour in cats*, Scientific Reports, 7, 2017, s. 1-9.
26. Stachowiak M., *Zaburzenia kompulsywne u kotów*, <https://magwet.pl/37808,zaburzenia-kompulsywne-u-kotow> [data dostępu: 01.04.2023].

## **Behawioralne skutki długotrwałego oddziaływania stresu na kota**

### Streszczenie

Stres jest zjawiskiem fizjologicznym, który ma na celu motywowanie kota do ucieczki bądź ataku, gdy zagraża mu drapieżnik, natomiast nasilony stres może prowadzić do nieprawidłowości w funkcjonowaniu kota oraz zaburzeń zachowania. Zachowania stereotypowe oraz zaburzenia kompulsywne są między innymi następstwem chronicznego stresu. W pracy opisano przebieg reakcji stresowej. Omówiono różnice między stresem krótkotrwałym i chronicznym, podano przyczyny stresu chronicznego oraz jego efekty. Wyjaśniono na czym polegają zachowania stereotypowe i zaburzenia kompulsywne oraz czym się objawiają.

Słowa kluczowe: stres, kortyzol, zaburzenia behawioralne, FHS, zachowania stereotypowe

## **Behavioral effects of long-term stress on the cat**

### Abstract

Stress is a physiological phenomenon that motivates a cat to flee or attack when threatened by a predator, while increased stress can lead to abnormal cat functioning and behavioural disorders. Stereotypical behaviours and compulsive disorders are among other things a consequence of chronic stress. The thesis describes the course of the stress response. The differences between acute and chronic stress are discussed, causes of chronic stress and its effects are given. It explains what stereotypical behaviours and compulsive disorders are and how they manifest themselves.

Keywords: stress, cortisol, behavioural disorders, FHS, stereotypical behaviours

## Reakcje stresowe u kota

### 1. Wprowadzenie

Stres jest zjawiskiem powszechnie występującym u kotów. Stanowi naturalną reakcję obronną organizmu na bodźce lub bodziec stresogenny – zagrożenie, każdą zmianę czy też presję wywieraną na niego poprzez siły wewnętrzne lub/ oraz zewnętrzne. Innymi słowy stres to reakcja organizmu na wymagania spowodowane lub skutkujące przyjemnymi bądź nieprzyjemnymi doznaniem. Organizm wówczas próbuje powrócić do normalnego stanu i broni się przed potencjalnym niebezpieczeństwem [1]. Adrenalina, noradrenalina i kortyzol, potocznie nazywane hormonami stresu, wpływają pobudzająco na ustrój umożliwiając tym samym ucieczkę bądź atak – zwłaszcza w sytuacji zagrażającej życiu [2]. W umiarkowanym stopniu stres jest czynnikiem wywierającym stymulujący wpływ na psychikę, jednak zbyt silny bądź długotrwały może nadmiernie obciążać organizm i być źródłem zaburzeń behawioralnych oraz wielu chorób, które mogą nawet doprowadzić do śmierci [3]. Według naszych spostrzeżeń mimo, iż koty domowe (łac. *Felis catus*) są bezwzględnie drapieżnikami, które instynkt łowiecki pociąga do skupiania uwagi na ofierze, to w rzeczywistości są również wrażliwymi zwierzętami podatnymi na stres.

### 2. Przebieg reakcji stresowej

W reakcji stresowej biorą udział układ nerwowy i układ odpornościowy. Równie ważną rolę w tej reakcji odgrywa układ hormonalny (endokryny, wewnątrzwydzielniczy). Układ nerwowy i endokryny komunikują się za pomocą osi współczulno-rdzeniowo-nadnerczowej (SAS, ang. *sympathetic-adrenomedullary system*) oraz osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (HPA, ang. *hypothalamus-pituitary-adrenal axis*). Oś SAS działa od razu po zadziałaniu stresora (czynnika stresogennego) i odpowiada za reakcję walki lub ucieczki (ang. *fight-or-flight*) pobudzając układ współczulny oraz wytwarzanie w rdzeniu nadnerczy amin katecholowych – adrenaliny i noradrenaliny. Związki te powodują przyspieszenie oddechu, zwiększenie pracy serca oraz rozszerzenie źrenic, ustanie procesów trawiennych, a także zwiększony napływ krwi do mózgu, serca i mięśni. Oś HPA natomiast uruchamia się po minutach od zadziałania bodźca stresowego. Wtedy to pobudzane jest podwzgórze do wydzielania hormonu, który uwalnia kortykotropinę (CRH, ang. *corticotropin releasing hormone*). Ta natomiast stymuluje przysadkę do produkcji hormonu adrenokortykotropowego (ACTH, ang. *adrenocorticotropic hormone*), który działa na korę nadnerczy uwalniając glukokortykoidy – u kota głównie kortyzol. Hormon ten powoduje wzrost stężenia glukozy we krwi oraz przyspieszenie tempa

---

<sup>1</sup> martynabar@op.pl, Felinologiczne Studenckie Koło Naukowe UP Lublin, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie.

<sup>2</sup> alicja.prusak2003@gmail.com, Felinologiczne Studenckie Koło Naukowe UP Lublin, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie.

<sup>3</sup> justyna.wojtas@up.lublin.pl, Katedra Etologii Zwierząt i Łowiectwa, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie.

metabolizmu, gdyż organizm potrzebuje energii i motywacji do działania. Nasilenie stresu oraz jego czas trwania decydują o działaniu pobudzającym bądź hamującym układ odpornościowy. Silny i chroniczny stres hamuje humorálną i komórkową odpowiedź tego układu, za to krótkotrwałe i łagodne stymuluje jego działanie. Reakcja stresowa jest indywidualna, zależy od aktualnego stanu osobnika i z tego względu zdarzać się może, iż pod wpływem krótko trwającego bodźca wywołującego stres również wytworzy się kortyzol [2, 4-6].

### **3. Czynniki stresogenne**

Bodźce stresogenne, inaczej stresory, są czynnikami, które powodują przekroczenie aktualnych adaptacyjnych zdolności jednostki [7]. To one są przyczynami powstania reakcji stresowej. Stresory zaburzają równowagę wewnętrzną organizmu, stąd wszystkie czynniki stresogenne motywują do adaptacji. Wtedy to ustrój jest zmuszony do utrzymania lub odzyskania homeostazy, czyli równowagi systemu. Wyróżniamy stresory ostre oraz chroniczne – ostre są intensywne, ale krótkotrwałe, natomiast chroniczne trwają przez dłuższy czas [8]. W życiu codziennym kota jest wiele czynników stresogennych, z którymi musi się on zmierzyć. Wystąpienie reakcji stresowej zależy w dużej mierze od jego osobowości, doświadczeń, genetyki oraz poprawnie (lub nie) przebytej socjalizacji [9]. Zachowanie wywoływane przez stres zazwyczaj jest prowokowane przez sytuacje potencjalnie zagrażające, których kot nie może zwalczyć atakiem czy zastygnięciem w bezruchu [10].

Na kota domowego stresogenne mogą wpływać:

- stany wyczerpania organizmu spowodowane małą ilością snu lub przeciążeniem;
- choroby i urazy ograniczające wydolność organizmu oraz powodujące ból;
- nagłe, drastyczne zmiany w codziennym środowisku;
- śmierć towarzysza z tego samego lub innego gatunku;
- utrata rewiru;
- hałas nagły lub przewyższający indywidualne zdolności adaptacyjne osobnika;
- ambiwalencja opiekuna (jednoczesne negatywne jak i pozytywne nastawienie do zwierzęcia, w którego wyniku kot nie wie, czego od niego oczekuje właściciel);
- awersyjne metody wychowawcze (m.in. nerwowy ton głosu, karcenie, krzyczenie, obroż elektryczna, przemoc fizyczna);
- przemoc ze strony człowieka i znęcanie się nad kotem, co sprawia ból i dezorientację;
- zła relacja z drugim kotem bądź przedstawicielem innego gatunku;
- remont mieszkania lub zmiana układu mebli w pomieszczeniach – zabiegi te mogą skutkować obecnością obcych osób na kocim terytorium, hałasem i zmianą dotychczasowego ładu;
- podróże, które są związane z jazdą środkami transportu;
- wizyta u weterynarza będąca często źródłem sprawiających dyskomfort ukłuc oraz dużej ilości zapachów;
- zabiegi pielęgnacyjne, takie jak wyjątkowo wymagana kąpiel, obcinanie pazurów czy czyszczenie zębów i uszu mogące naruszać miejsca wrażliwe na dotyk;
- wizyta gości zazwyczaj wiążąca się z obcymi zapachami, hałasem i wyjątkowym zainteresowaniem zwierzęciem;
- nowe zwierzę w domu, które może nie być obiektem sympatii dla rezydenta;

- narodziny dziecka, które zwiększają liczbę zapachów, dźwięków i osób w domu; małe dzieci mogą być niedelikatne wobec zwierząt;
- brak rutyny w kocim życiu;
- niemożność swobodnej ekspresji behawioru (brak drapaków, wysoko położonych miejsc, kryjówek, zabawek, niedomykanie cyklu łowieckiego podczas zabawy);
- niezaspokojenie naturalnych, podstawowych potrzeb fizjologicznych (brak dostępu do świeżej, czystej i zdatnej do spożycia wody, odpowiednio dobranej karmy oraz opieki weterynaryjnej);
- tendencje genetyczne mogące zwiększać prawdopodobieństwo wysokiej podatności na stres;
- nuda i brak wzbogaceń środowiskowych redukujących napięcie;
- pobyt w schronisku, gdzie m.in. mocno ograniczona jest przestrzeń życiowa, występuje duża ilość zapachów oraz innych osobników o różnych osobowościach, przez cały przewijają się obcy ludzie;
- brak lub zbyt mała przestrzeń życiowa uniemożliwiająca większy wysiłek fizyczny, co źle wpływa na układ ruchu;
- odosobnienie, gdy wcześniej kot cały czas przebywał z ludźmi lub innymi zwierzętami oraz brak interakcji z innymi przedstawicielami własnego lub innego gatunku;
- napięte relacje między członkami rodziny mogące być źródłem hałasu i przekierowywania negatywnych emocji na zwierzę;
- katastrofy naturalne jak np. pożar lub powódź, w trakcie których zwierzę zaczyna walczyć o przetrwanie;
- bycie obiektem badań laboratoryjnych [3-6, 9-11].

Częsty brak świadomości opiekunów kotów co do powagi zjawiska stresu funduje tym zwierzętom niepotrzebne, dodatkowe napięcie. W ludzkim przekonaniu zwykła zmiana żwirku w kuwecie na zupełnie inny niż dotychczas lub podanie nowej karmy nie powinno stanowić problemu dla zwierzęcia. U kota jednak, szczególnie bardzo wrażliwego, nawet tak subtelne zmiany mogą wpływać negatywnie na stan emocjonalny. Obcy człowiek na kocim rewirze, zmiana godziny powrotu do domu na inną niż zazwyczaj bądź nieprawidłowe wprowadzenie innego zwierzęcia na stałe czy też chwilowo do mieszkania mogą być źródłem stresu. Czynniki te przyczyniają się do psucia relacji między zwierzętami lub między zwierzęciem a człowiekiem, co w dłuższej perspektywie czasu może wywołać stany lękowe u kota [9, 10, 12, 13].

#### **4. Objawy stresu u kota**

Zrelaksowany kot utrzymuje głowę na poziomie ciała oraz unosi ogon. Oczy ma otwarte, a uszy skierowane są do przodu. Osobniki, które są zadowolone, mruczą. Jest to sposób zakomunikowania aprobaty stanu, w którym przebywają i chęci trwania w nim przez dłuższy okres. Jednak nie zawsze mruczenie odzwierciedla dobre samopoczucie u naszego pupila. Koty często mruczą, kiedy czują się zestresowane lub odczuwają ból, co ma znaczenie samouspokajające. Zaniepokojony kot unosi głowę, jego źrenice znacznie się powiększają, a oczy otwierają się szerzej. Małżowiny uszne ustawione są pionowo w kierunku dochodzącego dźwięku. Strach zaś charakteryzuje płaskie ułożenie uszu, rozszerzenie źrenic oraz przyleganie wibris do pyska. Kot w takim stanie zazwyczaj kieruje się do tyłu i intensywnie wokalizuje: wyje, miauczy lub warczy. Bardzo mocno, a wręcz skrajnie przerażony czynnikiem stresogennym osobnik ma uszy ściśle przyle-

gające do głowy i skierowane ku tyłowi, oraz okrągłe, duże źrenice. Stan ten charakteryzuje swoiste dla kota syczenie, nastroszony grzbiet i ogon oraz stawanie bokiem w celu pokazania siebie w jak największych rozmiarach, by odstraszyć osobnika lub osobniki będące źródłem bodźców stresogennych. W ten sam sposób manifestuje się również gotowość do ataku [2, 4, 14]. Objawy wskazujące na występowanie u kota stresu są różne dla każdego osobnika, gdyż są regulowane przez wrażliwość na bodźce i osobowość będące cechami indywidualnymi. Oznaki te mogą być bardzo subtelne, ale też charakterystyczne i zwracające uwagę. Do najczęstszych symptomów zaliczamy wypróżnianie się poza kuwetę, znakowanie terenu oraz nadmierną pielęgnację ciała. Znakowanie terenu jest często połączone z niewłaściwym wypróżnianiem się poza kuwetę. W sytuacjach stresowych koty rozprzestrzeniają charakterystyczny dla danego osobnika zapach przez opryskiwanie moczem swojego terytorium. Ma to na celu rozładowanie nagromadzonych emocji. Charakterystycznym objawem stresu u kotów jest nadmierna pielęgnacja ciała nazywana również łysieniem psychogennym. Charakteryzuje się zwiększoną częstotliwością czyszczenia sierści. Zwierzęta te w ten sposób rozładowują napięcie zarówno w trakcie reakcji na stres, jak i po jej zejściu. Nadmierne wylizywanie sierści może stać się nawykiem, dlatego w takiej sytuacji należy włączyć plan leczenia behawioralnego. Niebezpieczeństwem w tym zaburzeniu zachowania jest występowanie bezoarów z sierści zalegających w układzie pokarmowym, które w nadmiernej ilości mogą prowadzić do zaczerwienia jelit. Sytuacja ta wymaga wizyty w gabinecie weterynaryjnym [13, 15].

Inne objawy stresu to między innymi:

- agresja wobec domowników przejawiająca się jako próby gryzienia, drapania lub syczenie;
- problemy pokarmowe, najczęściej w postaci biegunki lub zatwardzenia;
- nerwowość, wyraźne zaniepokojenie charakteryzujące się rozszerzonymi źrenicami, uważną kontrolą otoczenia i nastawieniem uszu;
- zanik pielęgnacji ciała, czyli zaprzestanie wylizywania sierści, co jest nienaturalnym stanem u kotów;
- nadmierna wokalizacja przejawiająca się w postaci różnego rodzaju dźwięków, które mają na celu zwrócenie na siebie uwagi;
- zwiększona potrzeba drapania, najczęściej elementów do tego nie przystosowanych, jakimi są chociażby meble;
- unikanie kontaktu fizycznego – nerwowość w próbie jego nawiązania;
- nadmierna potrzeba kontaktu fizycznego – zintensyfikowane narzucanie się człowiekowi [2, 13].

Powyższe przykłady modyfikacji behawioralnych mogą być również powiązane z licznymi problemami zdrowotnymi, dlatego po zaobserwowaniu jednego lub większej liczby objawów, konsultacja z lekarzem weterynarii w celu postawienia diagnozy i wdrożenia odpowiedniego leczenia jest kluczowa dla zapewnienia zdrowia i dobrego samopoczucia zwierzęcia [2].

## 5. Przewlekły stres

Według kanadyjskiego endokrynologa Hansa Selye'a, który wprowadził w obieg pojęcie stresu (co można przeczytać w jego książce wydanej w 1976 roku pt. „Stress in Health and Disease”), odpowiedź organizmu na stresory to ogólny syndrom adaptacyjny (GAS, ang. *general adaptation syndrome*). Występują w nim trzy stadia: reakcja alar-



mowa, stadium odporności, stadium wyczerpania. Reakcja alarmowa to szybka i krótka faza cielesnego pobudzenia, która w ciągu życia występuje bardzo często. Wówczas trwają przygotowania ustroju do podwyższonej aktywności. Kora nadnerczy produkuje i wydziela adrenalinę, a układ limfatyczny się powiększa – w szczególności węzły chłonne. Organizm staje się bardziej podatny na skutki intensyfikacji stresora, zwiększa się również podatność na choroby. Jeśli jednak stan ten przedłuża się, reakcja GAS przechodzi w stadium drugie – odporności. To etap umiarkowanego pobudzenia cielesnego. W efekcie układ limfatyczny powraca do pierwotnej formy, a hormony stresu pozostają na wysokim poziomie. W tym momencie ustrój powraca do normalnego funkcjonowania. Jednakże w sytuacji przedłużenia kontaktu z czynnikiem stresogennym dochodzi do wyczerpania organizmu, czyli stadium trzeciego. Mała zdolność opierania się stresorom może prowadzić do depresji, innych chorób oraz zatrzymania funkcji życiowych, czyli śmierci. Mimo, iż napięcie stresowe przejawia właściwości stymulujące i odgrywa istotną rolę w przystosowaniu się do niekorzystnych warunków, to jego długotrwałe oddziaływanie wywiera hamujący wpływ na układ odpornościowy, co sprzyja podatności organizmu na różnego rodzaju choroby i infekcje [8].

Stres przewlekły (chroniczny) charakteryzuje się długotrwałym oddziaływaniem bodźca lub bodźców stresogennych na zwierzę. Brak zaobserwowania przez właściciela objawów stresu często prowadzi do zaburzenia behawioralnego (lub też kilku jednocześnie), np. mikcji i defekacji poza kuwetę; agresji wobec właściciela; samookaleczania się przejawiającego się jako nadmierne wylizywanie bądź też wygryzanie sierści, prowadzące do powstawania ran; ogólnej niechęci do życia (apatii) czy nadmiernej wokalizacji skierowanej do ludzi lub przedmiotów. Zbyt późna diagnoza może być prostą drogą do utrwalenia patologicznego postępowania, które stanie się nawykiem u kota [2, 13].

Skuteczną metodą oceny poziomu stresu u kota jest pomiar biomarkerów (cząsteczek biologicznych, których poziomy w różnych materiałach biologicznych służą do oceny stanu ustroju) w organizmie, gdyż umożliwia to uzyskanie dokładnych informacji o stanie fizjologicznym zwierzęcia. Ta metoda jest szczególnie przydatna w momencie, w którym chcemy się utwierdzić w przekonaniu, że dane problemy behawioralne lub/i zdrowotne są (bądź nie) wynikiem chronicznego stresu. Pomiar hormonów stresu w stałych biomacierzach (materiałach biologicznych) takich jak sierść czy pazury może być metodą monitorowania przewlekłego stresu u zwierząt. W porównaniu do biomacierzy płynnych (krew, ślina, mocz, mleko), w których poziomy biomarkerów zmieniają się w ciągu dnia, biomacierze stałe mogą dostarczyć informacji o tym, jak zmieniały się stężenia głównych biomarkerów stresu w czasie. Z tego względu w badaniach nad przewlekłym stresem to właśnie sierść lub pazury będą bardziej odpowiednie aniżeli krew czy mocz. Do wykrywania i ilościowego oznaczania kortyzolu i kortykosteronu w próbkach najbardziej adekwatna jest metoda ELISA (test immunoenzymatyczny), ponieważ jest niezwykle czuła, posiada nieskomplikowaną procedurę, a wyniki pojawiają się w ciągu trzech godzin. Jeśli jednak zależy nam na dokładniejszym badaniu, to zastosowanie multipleksowego testu immunologicznego dostarcza szczegółów dotyczących korelacji i interakcji pomiędzy różnymi biomakerami stresu w pojedynczej biomacierzy [5].

## **6. Sposoby zapobiegania stresowi i przeciwdziałania jego skutkom**

Stres u kotów może mieć różne podłoże, dlatego najważniejsze jest znalezienie bodźca stresogennego, a następnie skuteczne jego wyeliminowanie w celu zmniejszenia poziomu napięcia odczuwanego przez zwierzę. Do każdej sytuacji należy podchodzić indywi-

dualnie. Nie zawsze ten wybrany sposób będzie na tyle uniwersalny, by mógł zapobiec danym zaburzeniom stanu emocjonalnego.

Układ węchowy kota jest ściśle związany z obszarami mózgu, które kontrolują reakcję na stres. Związek ten zapewnia kotom wyjątkowe możliwości stosowania strategii węchowych, a utrata zdolności odbierania i emitowania sygnałów chemicznych może mieć wpływ na dobrostan zwierzęcia. Układ węchowy może posłużyć kotu jako potencjalny cel modulacji odpowiedzi na stres ze względu na jego bliskie połączenie z układem limbicznym, który m. in. kontroluje emocje. Stresująco na kota wpływają bodźce węchowe napływające ze strony drapieżników i innych zestresowanych osobników z tego samego gatunku. Natomiast bodźce zapachowe o potencjalnym działaniu redukującym stres i/lub wzbogacającym dla kota to m.in. wydzielina łojowa z gruczołów policzkowych kota, wydzielina gruczołów łojowych na sutkach kotki podczas karmienia, wydzielina gruczołów potowych okolic międzypalcowych, zapach ofiary (np. króliczy feromon wydzielany podczas karmienia, zapach szczura), kocie atraktanty takie jak kocimiętka (łac. *Nepeta cataria*) czy aktinida ussuryjska (łac. *Actinida polygama*) znana jako matatabi. Wiedzę tę można wykorzystać w warunkach domowych w celu zapobiegania napięcia, gdyż zapachy te mogą nie wpływać uspokajająco w sytuacji zaistniałego już stresu [2]. Jeśli chodzi o zapach człowieka, w teście obcej sytuacji (doświadczanie zdarzeń związanych z separacją i ponownym połączeniem zwierzęcia z opiekunem oraz zetknięcie się z nieznanym) koty wykazywały mniej zachowań związanych ze stresem w sytuacji, gdy właściciel był obecny w porównaniu do sytuacji, gdy zostawały same. Obecność wyłącznie przedmiotów mających na sobie zapach właściciela (np. ubrania) nie działała jednak kojąco na koty. Co ciekawe, u psów badanie fMRI wykazało, że obszar mózgu związany z nagrodami i doświadczeniami pozytywnymi aktywował się po powąchaniu przedmiotu, na którym znajdował się zapach właściciela. U kotów jednak nie sam zapach, a rzeczywista obecność opiekuna może zmniejszyć poziom napięcia [16].

Jednym z bardziej skutecznych sposobów zapobiegania stresowi jest feromonoterapia. Istnieje szeroka gama kocich feromonów (związków odbieranych za pomocą zmysłu węchu i pełniących funkcję sygnałów w komunikacji międzyosobniczej). Związki te mają różne znaczenie i przekazują innym osobnikom różne informacje. Kocie feromony produkowane są przez gruczoły zlokalizowane na pięciu obszarach ciała zwierzęcia: na obszarze twarzoczaszki, na poduszkach kończyn, na sutkach, w okolicach odbytu oraz na narządach płciowych [17]. Są istotne przy oznaczaniu terytorium, w którym zwierzę czuje się bezpiecznie. Koty ocierając się o przedmioty zostawiają swój specyficzny zapach. Te feromony, identyfikowane za pomocą narządu Jacobsona (odruch Flehmen – podnoszenie górnej wargi w sytuacji, gdy pysk jest do połowy otwarty [20]), pomagają kotu w opanowaniu swoich emocji i zapewniają mu poczucie bezpieczeństwa w miejscach, w których kot takie emocje odczuwa oraz są dla innych osobników sygnałem, że ten rewir jest już zajęty. Feromony frakcji F3 to feromony policzkowe wydzielane przez koty podczas ocierania się o obiekty w celu znaczenia ich swoim zapachem. Ten zabieg umożliwia kotom rozpoznawanie środowiska, a to z kolei daje im poczucie bezpieczeństwa. Syntetyczne feromony policzkowe i sutkowe stosuje się u kotów w sytuacjach wywołujących stres lub/i lęk, takich jak transport, wizyta w gabinecie lekarza weterynarii czy pojawienie się nowego zwierzęcia w domu. Są one produkowane w postaci sprayu, którym można spryskać newralgiczne miejsca, takie jak transporter czy ręce lekarza weterynarii. Ma to działanie miejscowe. Produkowane są również syntetyczne feromony

do podawania za pomocą dyfuzorów, dzięki którym można rozpylić je w powietrzu na powierzchni 50-70 metrów kwadratowych i które działają do czterech tygodni. Tak podawane feromony działają na większym obszarze, więc zapewnia to kotu mniej stresujące warunki na większej przestrzeni. Feromonoterapię należy włączyć jedynie po konsultacji z behawiorystą lub lekarzem weterynarii [18-20].

Poniżej przedstawiono możliwe rozwiązania przykładowych problemów behawioralnych wypływających ze stresu.

### **6.1. Nadmierna pielęgnacja ciała**

Przy nadmiernej pielęgnacji ciała u kota można zastosować technikę dywersji. Sposób ten polega na wyłapaniu momentu, kiedy zwierzę ustawia się do wylizywania, ale jeszcze nie zaczęło tej czynności. Wtedy to należy odwrócić uwagę kota chociażby zabawką lub znaną mu komendą. Metoda ta będzie skuteczna pod warunkiem umiejętnego odczytywania behawioru danego osobnika. W przypadku braku skuteczności zalecana jest wizyta u lekarza weterynarii w celu włączenia terapii psychofarmakologicznej [20].

### **6.2. Niepokój wywołany rozłąką**

Najważniejszy w sytuacji, gdy zwierzę zmagają się z lękiem separacyjnym jest kontakt opiekuna z kotem w czasie wolnym. Dodanie do codziennej rutyny wielu sesji zabawowych zarówno przed wyjściem z domu jak i po powrocie będzie tu kluczowe. Istotne jest też zapewnienie kotu rozrywki podczas nieobecności właściciela w mieszkaniu. Wzbogacanie środowiska poprzez zabawki czy drapaki przyczynia się do rozładowania napięcia oraz zajęcia czymś kota, co zapobiega niepokojowi związanemu z nieobecnością opiekuna. Technika Play – N – Treat, którą można przetłumaczyć jako Zabawa – I – Smakołyk, jest dobrym sposobem na stymulację węchow. Technika ta polega na ukryciu w domu w różnych miejscach suchej karmy, którą kot może odszukiwać podczas nieobecności opiekuna. Wówczas zwierzę może skupić się na poszukiwaniu jedzenia, co jednocześnie zmniejsza jego napięcie. Wszystko należy wprowadzać stopniowo, aby kot mógł przyzwyczać się do wydłużającej się nieobecności towarzysza [13]. Jeśli już nawet czynności zapowiadające wyjście właściciela z domu są bodźcami wyzwajającymi lęk, to warto zmienić ich kolejność lub zupełnie wyeliminować. Można to osiągnąć na przykład poprzez maskowanie dźwięków związanych z wyjściem opiekuna hałasami urządzeń domowych (pralka, zmywarka). Należy pamiętać, iż koty borykające się z lękiem separacyjnym mogą rozładowywać napięcie na przedmiotach do tego nie przeznaczonych takich, jak chociażby meble. Zwierzęta mające problemy z rozłąką są już zaniepokojone, a więc stosowanie kar za ewentualne zniszczenia w mieszkaniu nie jest wskazane, gdyż jest to źródłem dodatkowego stresu. W przypadku braku poprawy po zastosowaniu powyższych wskazówek, należałoby wdrożyć terapię psychofarmakologiczną i feromonową pod okiem lekarza weterynarii [20].

### **6.3. Wizyta w lecznicy weterynaryjnej**

Wyniki badania nad wpływem stresu związanego z wizytą u weterynarza na parametry fizjologiczne kota potwierdzają tezę, że stres może podwyższać owe parametry w środowisku szpitalnym. Ponadto wyniki tego badania potwierdzają koncepcję o istnieniu występującego również u wielu ludzi „efektu białego fartucha” (podwyższenie ciśnienia krwi w warunkach klinicznych) także u niektórych kotów [6]. Zatem zapobieganie powszechnie występującemu stresowi, który towarzyszy zwierzęciu podczas wizyty

w lecznicy weterynaryjnej, należy zacząć od zapewnienia odpowiedniego transportu. Transporter jest dla kota bardzo ważnym miejscem, w którym w czasie podróży może się czuć bezpiecznie, ponieważ wyczuwa tam swój charakterystyczny, indywidualny zapach. Dodatkowo stosowanie kocich feromonów policzkowych i sutkowych może być czynnikiem uspakajającym. Profilaktyką stresu dla zwierzęcia, które w gabinecie weterynaryjnym „kamienieje”, może być spryskanie przez lekarza rąk kocimi feromonami i dopiero po tym przystąpienie do potrzebnych badań i zabiegów. Warto również rozpylić te feromony w poczekalni, by już od samego wejścia do kliniki minimalizować napięcie u zwierząt. W związku z pozytywnymi bądź neutralnymi skojarzeniami z kliniką weterynaryjną, które zwierzę uzyska w wyniku zastosowania tych procedur, większość kotów z wizyty na wizytę może zacząć czuć się w gabinecie swobodniej, a poziom stresu będzie maleć. Ważne jest również planowanie wizyt w godzinach małego ruchu. Kot wrażliwy na zapachy innych zwierząt najbardziej komfortowo będzie czuł się w gabinecie weterynaryjnym w godzinach porannych, gdy pomieszczenie jest czyste i jest w nim jeszcze stosunkowo mało obcych zapachów. Jeśli dojdzie do zdenerwowania kota w wyniku opóźnienia wizyty, czynnikiem zapobiegającym stresowi może być owinięcie transportera kocem, by do środka docierało jak najmniej bodźców nasilających napięcie. Warto mieć na uwadze, że po wizycie na zwierzęciu znajdują się już inne zapachy, co może drażnić drugiego kota, który na co dzień dzieli z nim mieszkanie i wywołać postawę ofensywną. Ich rozdzielenie zapobiegnie ewentualnej bójce oraz napięciu [13, 17]. W badaniu nad stresem u kotów i ich opiekunów związanym z wizytami ambulatoryjnymi w poradni wykazano, że oddzielne poczekalnie tylko dla kotów są najskuteczniejszym sposobem zmniejszenia stresu w klinice zarówno dla tych zwierząt jak i ich właścicieli, którym zależy na dobrostanie zwierzęcia podczas wizyty u weterynarza. Uznano również, że edukowanie właścicieli w zakresie wyboru transportera i zachęcanie ich do korzystania z takich, które łatwo demontować, może pomóc w zmniejszaniu stresu związanego z wyjmowaniem kota z transportera na czas badań. Warto wziąć pod uwagę stosowanie mniej awersyjnych technik obchodzenia się z kotem nie tylko ze względu na jego napięcie, ale również ze względu na bezpieczeństwo ludzi, których zwierzę może znacząco podrapać i pogryźć podczas próby jego unieruchomienia. W badaniu tym wspomniano również, że w przypadku szczególnie lękliwych osobników wizyta weterynarza w domu może okazać się kluczowa dla zminimalizowania reakcji stresowych kota, a w ostateczności można rozważyć fakt, iż pojedyncza dawka doustna gabapentyny (lek przeciwpadaczkowy) przed spotkaniem z lekarzem zmniejsza stres, ułatwia obchodzenie się z kotem oraz, co istotne, posiada minimalne skutki uboczne. Warto jednak skonsultować ten pomysł z weterynarzem [11].

#### 6.4. Lęk przed nieznanym

Stabilność emocjonalną u kota w przypadku spotkania z nieznaną mu osobą można zapewnić rozpylając w pomieszczeniu, w którym znajdzie się ktoś obcy, feromony uspakajające. Zwierzę powinno zacząć się przyzwyczajać do obecności nowych ludzi przy osobie cichej i spokojnej, która będzie przez całą wizytę ignorować kota. Lękliwy osobnik podczas pierwszego kontaktu może ukryć się, by poczuć bezpieczeństwo. Wówczas należałoby włączyć spokojną sesję zabawową w celu rozładowania napięcia i powtarzać proces w przypadku ponownego lęku. Po pewnym czasie kot powinien poczuć się pewniej w nowej sytuacji. Cierpliwość, poświęcony czas i regularność sesji są kluczowe dla osiągnięcia stabilności emocjonalnej podczas spotkania z nieznanym, a nowe osoby należy wprowadzać stopniowo, by zwiększać grono ludzi, których kot zna [13].

## **6.5. Stres podczas podróży**

Obecnie brak jest jeszcze danych opartych na badaniach dotyczących procesów fizjologicznych i zachowań obserwowanych u kotów podczas podróży, jednakże badania innych gatunków i dzisiejsza wiedza na temat kociego stresu wskazują na to, że transport może być dla nich stresujący. W tej kwestii istotne jest podejście multimodalne, by maksymalnie zmniejszyć poziom stresu. Podejście multimodalne obejmuje m. in. ocenę przydatności do lotu (jeśli podróż ma się odbyć za pośrednictwem samolotu) wymaganą przez większość linii lotniczych i urzędów wydających dokumenty podróżne. Przed podróżą należy ocenić stan zdrowia fizycznego i psychicznego kota oraz przeprowadzić badania przesiewowe. Niezwykle ważna jest również organizacja kontynuacji leczenia długoterminowego – musi być ono kontynuowane podczas całej podróży niezależnie od czasu jej trwania oraz przez cały pobyt w miejscu docelowym. Jeśli chodzi o żywienie kota, wstrzymywanie posiłków do dwudziestu czterech godzin może być stresujące i wywierać negatywny wpływ na zdrowie zwierzęcia (na przykład w przypadku cukrzycy). Jeśli wiadomo, że kot nie ma choroby lokomocyjnej, można nakarmić go dwie – trzy godziny przed umieszczeniem w transporterze. Podczas podróży istotne jest zapewnienie zwierzęciu wody zdatnej do picia w taki sposób, by zminimalizować jej rozlewanie. Chłonna podkładka umieszczona na całym spodzie transportera może służyć do wchłaniania ewentualnego moczu lub rozlanej wody – nie zaleca się stosowania małych kuwet ze względu na ograniczenie przestrzeni często niezbędnej kotu do defekacji i mikcji. Podejście multimodalne obejmuje również bardzo ważną kwestię aklimatyzacji kota w transporterze przed podróżą. W środowisku domowym transporter powinien stać się strefą kojarzącą się kotu z relaksem i przyjemnymi doznaniem takimi jak na przykład karmienie – zapewni to kotu mniejsze napięcie podczas podróży. Środek nośnika można również oznaczyć feromonami frakcji F3 (feromony policzkowe). Podczas podróży, w celu zmniejszenia napięcia, warto zminimalizować bodźce sensoryczne m.in. nakładając ręcznik lub koc na transporter i jednocześnie zapewniając wentylację, by ograniczyć bodźce wzrokowe; chroniąc linię wzroku zwierzęcia przed innymi zwierzętami i ludźmi; zapewniając ciche otoczenie tam, gdzie to możliwe; używając cichej i spokojnej mowy; stosując tłumiki akustyczne oraz zapewniając higieniczne warunki w celu uniknięcia nieprzyjemnych dla zwierzęcia zapachów. Dobrą praktyką wartą uwagi jest zebranie ściereczką kocich feromonów policzkowych jeszcze w warunkach domowych, gdy kot jest spokojny i zrelaksowany. W miejscu docelowym należy przenieść owe feromony ze ściereczki na meble w cichym pomieszczeniu. Po umieszczeniu transportera w nowym miejscu nie należy zwierzęcia zmuszać do wyjścia z niego, ale cierpliwie czekać aż zrobi to sam. Warto zapewnić kotu eksplorację całego wynajętego obiektu, nie tylko jednego pomieszczenia. Koty pochodzące z tego samego gospodarstwa domowego należy wprowadzać w taki sposób, jakby były dla siebie obce, gdyż będąc zestresowane mogą pachnieć inaczej niż dotychczas, co może prowadzić do zachowań agonistycznych. Praktyka ta oznacza m.in. umieszczenie każdego kota w osobnym pomieszczeniu i pozwolenie im na swobodną eksplorację pomieszczeń i zapachów bez zmuszania ich do konfrontacji. Podczas podróży pomocne może się okazać stosowanie nowoczesnych, sprawdzonych i bezpiecznych leków przeciwłękowych, o które warto zapytać lekarza weterynarii [15].

## 7. Podsumowanie

Koty mimo swej drapieżniczej natury mogą płoszyć się i mogą się u nich pojawiać skomplikowane reakcje stresowe. Występuje wiele czynników stresogennych dla tego zwierzęcia. Niestety duża liczba osób nie jest świadoma jak wiele (trywialnych dla ludzi) czynników lub zjawisk może być przyczyną kociego stresu. Umiarkowany stres jest immamentną cechą bytu, jednakże jego nadmiar lub zbyt duża intensywność pociąga za sobą wiele niekorzystnych skutków w zakresie zdrowia fizycznego i psychicznego, co przyczynia się do znacznego obniżenia jakości życia. Skutki nieleczonego, chronicznego stresu mogą nawet doprowadzić do śmierci organizmu. Koty ze względów oczywistych nie powiedzą wprost, że dana sytuacja jest dla nich niewygodna. Dlatego też dbałość o dobrostan kota, czujność opiekuna oraz wiedza na temat objawów stresu jest podstawą zdrowia fizycznego i psychicznego zwierzęcia oraz dobrej relacji między nim a właścicielem.

## Literatura

1. Selye H., *Stress in health and disease*, Butterworth – Heinemann, Boston 1976.
2. Zhang L., Bian Z., Liu Q., Deng B., *Dealing with stress in cats: what is new about the olfactory strategy?*, *Frontiers In Veterinary Science*, 9, 2022, 928943.
3. Stella J., Croney C., Buffington T., *Effects of stressors on the behaviour and physiology of domestic cats*, *Applied Animal Behaviour Science*, 143(2-4), 2013, s. 157-163.
4. Babicz M., Borsuk G., Budzyńska M., Chabuz W., Czyżykowski P., Drozd L., Goleman M., Gorzkowski B., Janczarek I., Karpiński M., Kędziński W., Krupa W., Mieczan T., Olszewski K., Patkowski K., Rechulicz J., Rozempolska – Rucińska I., Sawicka – Zugaj W., Szymanowska A., Tajchman K., Wilczyńska A., Wilk I., Ziętek J., *Behavior zwierząt*, Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, Lublin 2019.
5. Ataallahi M., Nejad J.G., Park K.H., *Selection of appropriate biomatrices for studies of chronic stress in animals: a review*, *Journal Of Animal Science And Technology*, 64(4), 2022, s. 621-639.
6. Quimby J.M., Smith M.L., Lunn K.F., *Evaluation of the effects of hospital visit stress on physiologic parameters in the cat*, *Journal Of Feline Medicine And Surgery*, 13(10), 2011, s. 733-737.
7. Bargiel Z., *Stres Problem Otwarty*, Wydawnictwo Naukowe Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, Toruń 2004.
8. Gerrig R., Zimbardo P., *Psychologia i życie*, Wydawnictwo PWN, Warszawa 2009.
9. Szydelko M., *Jak postępować z kotem w stresujących sytuacjach?*, dostępny na: <https://koty24.pl/zoopsycholog-radzi,ac425/jak-postepowac-z-kotem-w-stresujacych-sytuacjach,3740>.
10. Neville P., O' Farrell V., *Manual of feline behaviour*, British Small Animal Veterinary Association, Kingsley House, Church Lane, Shurdington, Cheltenham, Gloucestershire 1994, s. 27-29.
11. Caney S.M., Robinson N.J., Gunn-Moore D.A., Dean R.S., *Happy cats: stress in cats and their carers associated with outpatient visits to the clinic*, *Journal Of Feline Medicine And Surgery*, 24(12), 2022, s. 551-557.
12. Jones R., *Koty*, MUZA SA, Warszawa 2011, s. 176-178.
13. Johnson – Bennett P., *Jak kot z kotem*, Galaktyka Sp. z o.o., Łódź 2010.
14. Ellis S.L., *Recognising and assessing feline emotions during the consultation: History, body language and behaviour*, *Journal Of Feline Medicine And Surgery*, 20(5), 2018, s. 445-456.
15. Jahn K., DePorter T., *Feline stress management during air travel: a multimodal approach*, *Journal Of Feline Medicine And Surgery*, 25(1), 2023.

16. Behnke A.C., Vitale K.R., Udell M.A.R., *The effect of owner presence and scent on stress resilience in cats*, Applied Animal Behaviour Science, 243, 2021, 105444. doi:10.1016/j.applanim.2021.105444.
17. Bidzińska B., Góral-Radziszewska K., *Zastosowanie syntetycznych feromonów psów i kotów w praktyce weterynaryjnej*, Medycyna Weterynaryjna, 72(2), 2016, s. 92-95.
18. Kłosiński A., *Feromonoterapia - kocie feromony policzkowe i psie feromony kojące*, dostępny na: <https://coape.pl/feromonoterapia>.
19. Max A., *Feromony u ssaków – ewolucyjny klucz do rozmnażania płciowego*, Życie Weterynaryjne, 97(5), 2022, s. 326-331.
20. Mills D.S., Horwitz D.F., *Medycyna behawioralna psów i kotów*, Galaktyka, Łódź 2016.

## Reakcje stresowe u kota

### Streszczenie

Koty domowe są zwierzętami bardzo podatnymi na stres, który w nadmiarze może przyczynić się do wielu chorób oraz problemów behawioralnych. Każdy kot przejawia to w sposób indywidualny. Istnieje wiele czynników stresogennych, ale też i możliwości zapobiegania napięciu. W pracy omówiono problematykę kociego stresu. Opisano przebieg reakcji stresowej oraz czynniki będące jej źródłem. Wspomniano o objawach napięcia stresowego i scharakteryzowano przewlekły stres u kota. Wymieniono wybrane sposoby zapobiegania napięciu wywoływanemu przez niektóre częste stresory.

Słowa kluczowe: kot, *Felis catus*, stres, stresory, reakcje stresowe

## Stress reactions in cat

### Abstract

Domestic cats are animals that are very susceptible to stress which in excess can contribute to many diseases and behavioural problems. Each cat shows stress in its own individual way. There are many stressors, but also ways to prevent tension. The paper discusses the issues of feline stress. We described the course of the stress reaction and its underlying casual factors. We mentioned the symptoms of stress tension and characterized chronic stress in the cat. We provided selected examples of methods of prevention of tension arising in response to some common stressors.

Keywords: cat, *Felis catus*, stress, stressors, stress reactions

# Częstotliwość występowania zachowań agresywnych u kotów

## 1. Wprowadzenie

Obecnie jednym z najpopularniejszych zwierząt domowych, które towarzyszą człowiekowi jest kot domowy. Gatunek ten wywodzi się od kota nubijskiego, który jest świetnie wyspecjalizowanym drapieżnikiem. Proces udomowienia rozpoczął się znacznie później niż w przypadku psów, dlatego koty zachowały dużo cech przodków jak np. potrzebę regularnego polowania [1].

Zachowania agresywne są drugim najczęściej spotykanym zaburzeniem behawioralnym występującym u kotów. Wynika to z ich specyficznej roli w ekosystemie oraz cech gatunkowych. W środowisku naturalnym kot spełnia dwie funkcje, jest drapieżnikiem oraz ofiarą. Musi zabijać, żeby zdobyć pożywienie, ale również umieć się obronić przed silniejszymi zwierzętami, by nie zostać ich posiłkiem. Dodatkowo wykazuje silny instykt terytorialny, zawzięcie broni swojego rewiru przed innymi przedstawicielami gatunku. U niewykastrowanych samców agresja może pojawiać się w okresie rozrodczym i dotyczyć rywalizacji o partnerkę, czyli chęci przekazania swojej puli genetycznej. Wśród zwierząt typowo domowych dochodzi do rywalizacji o ograniczone i zbyt ubogie zasoby. Agresja może być powodem przestymulowania lub braku umiejętności rozładowywania nagromadzonych emocji i stresu [2].

## 2. Zachowania agresywne

Klasyfikacji tego zachowania jest wiele, a zapobieganie jest skuteczne po dokładnej ocenie podłoża emocjonalnego. Agresję rozpatruje się jako uzewnętrzniony skutek stanu psychicznego zwierzęcia, bez względu na to kto jest celem ataków. Z drugiej strony to zachowanie definiuje się jako gwałtowne i wrogie, prezentowane względem innych zwierząt i mające na celu ich zdominowanie oraz zastraszenie. Natomiast od strony medycznej agresję dzieli się na drapieżczą, której główną cechą jest znikome pobudzenie układu nerwowego oraz afektywną, przy której pobudzenie autonomiczne jest bardzo silne. Podział ten jest szczególnie ważny podczas wybierania i prowadzenia terapii z udziałem środków farmakologicznych [2].

### 2.1. Agresja podczas zabawy

W pierwszych tygodniach po porodzie matka wprowadza zabawę do życia młodych kotów. Pod wieloma względami przypomina zachowania drapieżnicze, wyjątkiem jest sygnalizacja intencji i kontrola nad intensywnością działań. Pazury są schowane, gryzienie

---

<sup>1</sup> karolinakaleta700@wp.pl, Katedra Etologii Zwierząt i Łowiectwa, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://up.lublin.pl/>.

<sup>2</sup> sylweparszewska@gmail.com, Katedra Etologii Zwierząt i Łowiectwa, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://up.lublin.pl/>.

<sup>3</sup> justyna.wojtas@up.lublin.pl, Katedra Etologii Zwierząt i Łowiectwa, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://up.lublin.pl/>.



bardzo delikatne, a gdy zabawa między osobnikami staje się zbyt ostra, kończy się poprzez swobodne odejście jednego z kotów [3].

Zwierzęta wzmacniają mięśnie, rozwijają koordynację wzrokowo-mięśniową oraz uczą się granic w kontakcie socjalnym. Wraz z rozwojem kociąt rośnie intensywność i częstotliwość zabawy. Wyuczony przez matkę zachowania mogą być nieświadomie wzmocnione przez opiekuna, np. poprzez zabawę rękami [4].

## **2.2. Agresja drapieżnicza/łowiecka**

Ten rodzaj agresji jest zachowaniem, które w środowisku naturalnym ma na celu zapewnienie kotu pożywienia. Problem pojawia się jeżeli zasięg tego zachowania wykracza poza spełnienie cyklu łowieckiego. Szczególnie często obserwuje się to u kotów niewychodzących, które pomimo posiadania silnego instynktu nie mają możliwości skanalizowania go [2].

Występuje u kotów w każdym wieku, u obu płci, a nawet u dobrze odżywionych kotów domowych, ponieważ czynnikiem warunkującym nie jest jedynie głód. Natomiast brak stałego źródła pożywienia zachęca do poszukiwania zdobyczy i zwiększa prawdopodobieństwo szybkiego ataku, zakończonego uśmierceniem ofiary [5].

Zachowania drapieżnicze są instynktowne, nie da się ich całkowicie wykluczyć. Poruszające się i szeleszczące obiekty są wystarczające, aby kot chętnie rozpoczął polowanie. Zachęcanie zwierzęcia do zabawy odpowiednimi przedmiotami pomaga rozładować nagromadzone emocje i wyeliminować nadmierny popęd. Koty wychodzące na zewnątrz samodzielnie spełniają te potrzeby poprzez polowanie na drobne ssaki, ptaki oraz owady [4].

Właścicielom często nie podoba się, że ich pupile przynoszą martwe lub półżywe zdobycze do domów [6].

## **2.3. Agresja konkurencyjna**

W miejscach zamieszkiwanych przez wiele zwierząt, tworzy się system społeczny. Koty rywalizują ze sobą o dostępne zasoby, takie jak strategiczne miejsca w domu, dostęp do kuwet, zabawek, misek z jedzeniem i wodą oraz kontaktów społecznych. Najczęściej do sporów dochodzi, gdy na określonej przestrzeni jest zbyt mało dóbr w stosunku do ilości kotów jakie o nie zabiegają. Dobrym rozwiązaniem tego problemu jest zapewnienie każdemu zwierzęciu osobistego dostępu do elementów o jakie konkurują. Podczas tej formy agresji właściciele mogą zaobserwować bardzo delikatne i subtelne sygnały wysyłane przez koty. Najczęściej występuje blokowanie przestrzeni przez siedzenie lub leżenie, spychanie, wpatrywanie się, gryzienie w szyję oraz markowanie uderzenia łapą [4, 7].

## **2.4. Agresja przeniesiona/przekierowana**

Ten rodzaj agresji występuje, gdy kot jest pod wpływem silnych emocji i nie jest w stanie ich rozładować na obiekcie, który je spowodował. Prowadzi to do narastającej złości i frustracji, którą zwierzę rozładowuje na najbliższym otoczeniu jakim często jest opiekun. Po takim zachowaniu kot bardzo szybko się uspokaja, ponieważ jego napięcie zostaje skanalizowane. Można próbować odwrócić uwagę atakującego poprzez hałas lub zabawki [8].

Najczęściej stosowana terapia to odseparowanie zwierzęcia wykazującego agresję od jego celu i rozwiązanie pierwotnego problemu, który powodował stres i nieumiejętność rozładowywania emocji. Pomocniczo można wprowadzić leczenie farmakologiczne takie jak antydepresanty i środki przeciwłękowe [9].

## **2.5. Agresja wywołana nadmiernym dotykiem**

Głównym powodem tego rodzaju agresji jest brak zrozumienia kota przez opiekuna. Zwierzę do pewnego momentu toleruje interakcję fizyczną z właścicielem, ale może nie wytrzymać, dlatego zaczyna gryźć i drapać. Opiekunowie uznają, że jeśli zwierzę się do nich zbliża to oczekuje kontaktu poprzez dotyk i głaskanie, natomiast koty wolą okazywać bliskość z dystansu. Chętnie położą się w tym samym pokoju lub obok na kanapie i to będzie dla nich wystarczające. Agresja wywołana nadmiernym dotykiem często jest opisywana jako nieprzewidywalna, natomiast uważna obserwacja pokazuje delikatne zmiany w zachowaniu kota, które mogą sygnalizować atak. Zalicza się do nich zmiany postawy i ogólne usztywnienie ciała, spłaszczenie uszu, rozszerzenie źrenic, drgania ogona a nawet warczenie. Jeśli ten rodzaj agresji jest jedynym objawem jaki kot prezentuje wystarczy uszanować jego granice i nie zmuszać do nadmiernego kontaktu fizycznego [10].

## **2.6. Agresja spowodowana irytacją**

Jest to typowy dla kotów rodzaj zachowań agresywnych spowodowany poirytowaniem sytuacją w jakiej się znalazły. Wykazywany w stosunku do osobników, z którymi są dobrze zsocjalizowane. Koty prezentują bardzo subtelne sygnały grożące, rozszerzają źrenice, delikatnie poruszają końcem ogona oraz napinają mięśnie na całym ciele. Właściciele często ich nie dostrzegają i uważają zachowania za nagłe i niespodziewane. Sam atak jest krótki, po nim kot najczęściej odchodzi i rozpoczyna pielęgnację. Ten rodzaj agresji często jest niespecyficznym objawem zaburzeń lękowych, depresyjnych oraz osobowości dysocjacyjnej, szybko podlega instrumentalizacji [7].

## **2.7. Agresja terytorialna**

Jedną z najpowszechniejszych form agresji u kotów jest agresja terytorialna. Występuje zarówno u kotów utrzymywanych pojedynczo jak i w większych grupach. Związana jest z dążeniem do zdobycia i utrzymania danego terytorium. Zachowania agresywne często nasilają się podczas wprowadzenia do domu nowego zwierzęcia, które zajmuje część terytorium rezydenta [11].

Specyficznym typem tego rodzaju agresji jest ta skierowana na jednostkę, która przez pewien czas przebywała poza terytorium. Pojawia się najczęściej, kiedy zwierzę wraca od weterynarza lub z wystawy i jego zapach się zmienia. Staje się wtedy nierozpoznawalny dla grupy i uznany jako intruz na danym terytorium. Takie sytuacje mają miejsce nawet w przypadku, kiedy koty na co dzień się bardzo lubią i akceptują [12].

## **2.8. Agresja na tle lękowym**

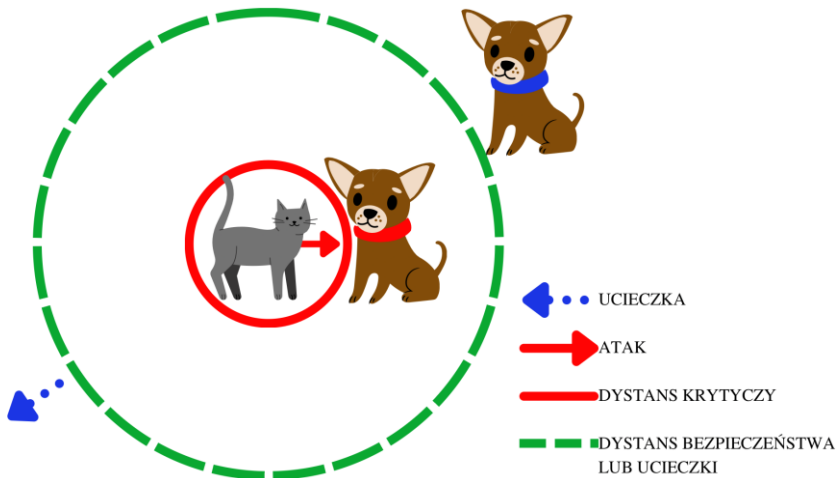
Ten rodzaj agresji jest prezentowany przez koty, które znalazły się w obliczu zagrożenia, przed którym nie mogą uciec lub nie umieją inaczej wybrnąć z niekomfortowej dla nich sytuacji. Zwierzęta wykazują wtedy agresję, ponieważ według nich jest to jedyna skuteczna możliwość obrony przed zagrożeniem [13].

Może zdarzyć się, że bodźce zewnętrzne np. głośny huk lub bójka kotów za oknem wywołają u zwierzęcia tak silne emocje, że związany z nimi strach zostanie powiązany również z otoczeniem w jakim aktualnie znajdował się kot, w tym z opiekunem. Taka sytuacja może sprawić, że zwierzę nagle zaczyna bać się właściciela oraz innych znanych sobie przedmiotów [14].

Kota nigdy nie należy karać za zachowania lękowe, takie działanie mogłoby pogłębić strach zwierzęcia. Najlepiej jest się oddalić lub zabrać bodziec, na który zwierzę reaguje agresją i poczekać aż się uspokoi. Kiedy kot jest zrelaksowany można przystąpić do odwracania go na stresujący bodziec. Na początku należy wystawiać zwierzę na bodziec o niewielkim natężeniu i jeśli nie ma niepożądanego reakcji stopniowo zwiększać jego intensywność, aż do uzyskania pożądanego efektów [11].

## 2.9. Agresja dystansująca

Agresja dystansująca ma na celu uniknięcie konfliktu. Polega na utrzymaniu zagrożenia na określony dystans, który jest uznawany za kota jako bezpieczny (rys. 1). Objawia się głównie poprzez zmiany postawy ciała, odpowiednią mimikę i wokalizację. Grzbiet jest wyprostowany, a głowa lekko obniżona i skierowana w stronę zagrożenia. Zachowanie agresywne może być prezentowane zarówno na terytorium kota, jak i poza nim, w stosunku do różnego rodzaju odbiorców, jakich zwierzę uważa za zagrożenie. Opuszczenie przez intruza granic dystansu bezpieczeństwa kończy sekwencje zachowań [7].



Rysunek 1. Dystans bezpieczeństwa. Opracowanie własne na podstawie [7]

## 2.10. Agresja seksualna

Ten rodzaj agresji jest dość rzadko spotykany u tego gatunku, a kiedy wystąpi to dotyczy niewykastrowanych samców. Dodatkowo może mu towarzyszyć warczenie i wokalizacja. Rozwiązaniem tego problemu jest kastracja kota, a w przypadku, gdy zachowania zostały wyuczone, należy je rozpraszać i przekierowywać na zabawki. W trudnych przypadkach można wprowadzić leczenie farmakologiczne [15].

## 2.11. Agresja pomiędzy kocurami

Dotyczy niewykastrowanych samców, występuje u osobników z wysokim poziomem testosteronu. Zachowanie nasila się w okresie godowym. Podczas walk koty mogą ulec zranieniom, podrapaniom oraz pogryzieniom, co osłabia organizm i sprzyja zarażeniu się groźnymi chorobami. Najskuteczniejszą metodą zapobiegania jest kastracja. Po zabiegu u około 90% samców zachowanie znika. Alternatywnym rozwiązaniem jest podawanie kotu progestyny. Jednak ta metoda ma wiele skutków ubocznych, dlatego możliwe jest jedynie krótkotrwale podawanie tego leku [16].

## **2.12. Agresja matczyzna**

Po porodzie, zwierzę może reagować agresywnie w stosunku do właściciela, który podchodzi zbyt blisko do młodych, próbuje je dotykać lub ingerować w gniazdo. Taki stan może utrzymywać się przez cały okres laktacji, a nawet do momentu, kiedy kocięta dorosną i opuszczą matkę. Zachowania, które wskazują na ten problem nasilają się, gdy dystans między młodymi a właścicielem czy innym zwierzęciem, maleje. Objawiają się one silną wokalizacją oraz ofensywną postawą ciała [17].

Wstępuje najczęściej u samic pod koniec ciąży, lecz kotki w ciąży urojonej również mogą prezentować ten typ agresji [18].

## **2.13. Agresja wywołana bólem**

Zachowanie agresywne może występować również, jeśli kot odczuwa ból fizyczny. Reakcja zwierzęcia jest często nieproporcjonalnie intensywna w stosunku do danego bodźca [19].

Najczęstszym powodem występowania tego rodzaju agresji są bóle brzucha, choroby dolnych dróg moczowych, jamy ustnej, zwyrodnienia stawów oraz kręgosłupa. Podejrzenie tego typu zachowania powinno być skonsultowane z lekarzem weterynarii, który przeprowadzi komplet badań i potwierdzi lub wykluczy chorobę. Najczęściej po zdiagnozowaniu i wyleczeniu zwierzęcia problem z agresją znika samoczynnie [20].

## **2.14. Agresja idiopatyczna/samoistna**

Do tej grupy zalicza się różne rodzaje zachowań agresywnych, których nie da się zdiagnozować. Głównym wyznacznikiem jest brak powiązania zachowania, czyli zdarzeń występujących bezpośrednio przed atakiem oraz stanu zdrowia zwierzęcia, z napadami agresji. Kot może dotkliwie zaatakować każdego bez wcześniejszych ostrzeżeń, co sprawia, że staje się bardzo niebezpieczny dla otoczenia. Między epizodami agresji mogą występować bardzo długie okresy wyciszenia. W pracy z takimi osobnikami konieczne jest stosowanie środków farmakologicznych, mimo to nie zawsze udaje się całkowicie usunąć niepożądane zachowanie [4].

## **2.15. Hiperagresja**

Jest to patologiczna forma agresji, którą można podzielić na pierwotną i wtórną. Hiperagresja pierwotna ma podłoże neurologiczne lub występuje jako przyczyna choroby np. wścieklizny. Charakterystyczne dla tej formy zachowania jest nagłe, nieoczekiwane pojawienie się oraz brak bodźców i sytuacji, które mogłyby zwiastować jej wystąpienie. Natomiast hiperagresja wtórna jest wynikiem wyuczenia określonego zachowania, dlatego każdy rodzaj agresji może się w nią rozwinąć. W tym przypadku agresja jest odruchowa, ataki są silniejsze i niepoahamowane. Ciężko dostrzec sygnały grożące, a czynniki, które ją wywołują są uogólnione [7].

## **3. Cel pracy**

Głównym celem pracy było zbadanie agresywnych zachowań kotów domowych. Zwrócono uwagę na czynniki powodujące występowanie określonych rodzajów zaburzeń oraz ich częstotliwość.

#### 4. Materiał i metody

Badania częstotliwości występowania zachowań agresywnych przeprowadzono za pomocą metody sondażu diagnostycznego, a techniką badawczą był samodzielnie opracowany anonimowy kwestionariusz ankiety.

Badanie ilościowe zostało przeprowadzone na grupie 3500 osób posiadających koty. Większość, bo aż 3381 stanowiły kobiety, mężczyzn wzięło udział 119. Metoda polegała na uzupełnianiu przez respondentów ankiet korzystając z linku na portalu społecznościowym. Kwestionariusz został udostępniony na grupie zrzeszającej właścicieli kotów.

Zawierał 20 pytań zamkniętych (tab. 1), opiekunowie podawali informacje dotyczące wieku, płci, sposobu utrzymania, pochodzenia i pór aktywności zwierzęcia. Subiektywnie oceniali występowanie zachowań mogących świadczyć o agresji oraz oceniali jak często występuje drapanie, gryzienie oraz atakowanie rąk, nóg i innych zwierząt.

Tabela 1. Kwestionariusz ankiety

Metryka	
1. Płeć: <input type="checkbox"/> kobieta <input type="checkbox"/> mężczyzna	2. Wiek: <input type="checkbox"/> do 20 lat <input type="checkbox"/> 21-40 lat <input type="checkbox"/> 41-60 lat <input type="checkbox"/> 61 lat i więcej
3. Wykształcenie: <input type="checkbox"/> podstawowe <input type="checkbox"/> zawodowe <input type="checkbox"/> średnie <input type="checkbox"/> wyższe	4. Miejsce zamieszkania: <input type="checkbox"/> wieś <input type="checkbox"/> małe miasteczko (do 100 tys. mieszkańców) <input type="checkbox"/> średnie miasto (od 100 tys. do 500 tys. mieszkańców) <input type="checkbox"/> duże miasto (powyżej 500 tys. mieszkańców)
Pytania ogólne	
5. Czy Pana/i kot jest? <input type="checkbox"/> Wychodzący na dwór (samodzielnie) <input type="checkbox"/> Wychodzący na dwór (na smyczy) <input type="checkbox"/> Niewychodzący <input type="checkbox"/> Niewychodzący z dostępem do woliery lub balkonu	6. W jakim wieku jest Pana/i kot? <input type="checkbox"/> Poniżej roku <input type="checkbox"/> Od 1 do 5 lat <input type="checkbox"/> Od 6 do 15 lat <input type="checkbox"/> Powyżej 15 lat
7. Skąd pochodzi Pana/i kot? <input type="checkbox"/> Hodowla (posiada rodowód) <input type="checkbox"/> Hodowla (bez rodowodu) <input type="checkbox"/> Schronisko/ stowarzyszenie/ dom tymczasowy <input type="checkbox"/> Został znaleziony/ przygarnięty	8. Jakiej płci jest Pana/i kot? <input type="checkbox"/> Samica <input type="checkbox"/> Samiec
9. Czy Pana/i kot jest po zabiegu kastracji / sterylizacji? <input type="checkbox"/> tak <input type="checkbox"/> nie	10. Czy posiada Pan/i inne zwierzęta? <input type="checkbox"/> Tak, koty <input type="checkbox"/> Tak, psy <input type="checkbox"/> Tak, gryzonie / zajęczaki <input type="checkbox"/> tak, gady/ płazy <input type="checkbox"/> tak, ptaki <input type="checkbox"/> inne <input type="checkbox"/> nie
Pytania dotyczące agresji	
11. Jakie zachowania wykazuje kot w stosunku do Pani/a lub innych domowników w tym zwierząt? <input type="checkbox"/> wpatrywanie się, źrenice wąskie, uszy skierowane w tył i spłaszczone, wibrysy nastrożone <input type="checkbox"/> wpatrywanie się, źrenice szerokie, uszy skierowane w dół i na boki, wibrysy przyklejone do policzków <input type="checkbox"/> ogon uniesiony, widocznie napuszony (piloerekcja)	12. Jak często występują takie zachowania? <input type="checkbox"/> jednorazowy incydent <input type="checkbox"/> kilka razy w roku <input type="checkbox"/> kilka razy w miesiącu <input type="checkbox"/> kilka razy w tygodniu <input type="checkbox"/> codziennie

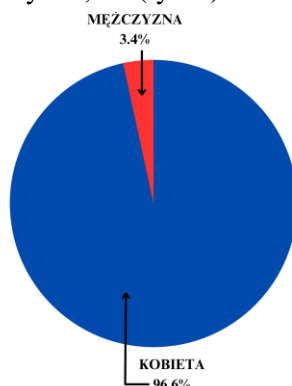
*Częstotliwość występowania zachowań agresywnych u kotów*

<input type="checkbox"/> ogon przy ziemi, silnie machający <input type="checkbox"/> syczenie, warczenie, buczenie, <input type="checkbox"/> pozycja skulona, zwierzę się wycofuje lub przewraca na plecy <input type="checkbox"/> grzbiet wygięty w łuk, tył nieco wyżej niż głowa <input type="checkbox"/> kot nigdy nie wykazuje takich zachowań	
13. Czy zdarzyło się, żeby Pana/i kot kogoś podrapał? <input type="checkbox"/> tak <input type="checkbox"/> nie	14. Jak często występują takie sytuacje? <input type="checkbox"/> jednorazowy incydent <input type="checkbox"/> kilka razy w roku <input type="checkbox"/> kilka razy w miesiącu <input type="checkbox"/> kilka razy w tygodniu <input type="checkbox"/> codziennie
15. Czy zdarzyło się, żeby Pana/i kot kogoś ugryzł? <input type="checkbox"/> tak <input type="checkbox"/> nie	16. Jak często występują takie sytuacje? <input type="checkbox"/> jednorazowy incydent <input type="checkbox"/> kilka razy w roku <input type="checkbox"/> kilka razy w miesiącu <input type="checkbox"/> kilka razy w tygodniu <input type="checkbox"/> codziennie
17. Czy Pana/i kot atakuje poruszające się ręce lub nogi? <input type="checkbox"/> tak <input type="checkbox"/> nie	18. Jak często występują takie sytuacje? <input type="checkbox"/> jednorazowy incydent <input type="checkbox"/> kilka razy w roku <input type="checkbox"/> kilka razy w miesiącu <input type="checkbox"/> kilka razy w tygodniu <input type="checkbox"/> codziennie
19. Czy Pana/i kot atakuje inne zwierzęta? <input type="checkbox"/> tak <input type="checkbox"/> nie	20. Jak często występują takie sytuacje? <input type="checkbox"/> jednorazowy incydent <input type="checkbox"/> kilka razy w roku <input type="checkbox"/> kilka razy w miesiącu <input type="checkbox"/> kilka razy w tygodniu <input type="checkbox"/> codziennie

Źródło: opracowanie własne.

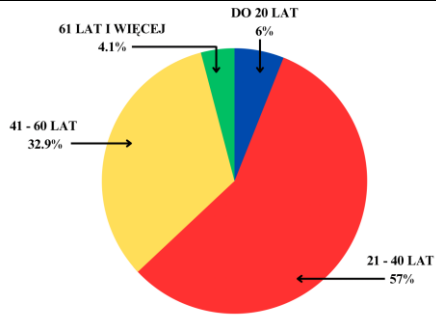
## 5. Wyniki

W badaniu wzięło udział 3500 osób. Znaczącą przewagę stanowiły kobiety, było ich aż 96,6%, natomiast mężczyźni było 3,4% (rys. 2).



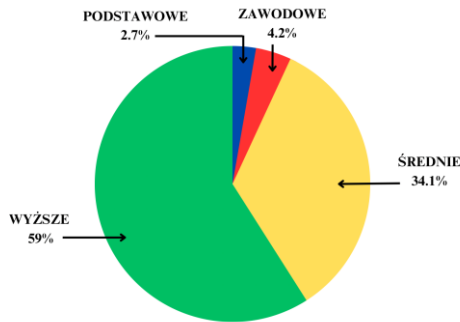
Rysunek 2. Płeć ankietowanych, opracowanie własne

Jeśli chodzi o wiek, najliczniejszą grupę stanowili ankietowani w przedziale 21-40 lat, było ich 57%, 41-60 latków było 32,9%. Osób, które nie ukończyły 20. roku życia było 6% a najmniej liczna grupa odbiorców to właściciele kotów po 61 roku życia (rys. 3).



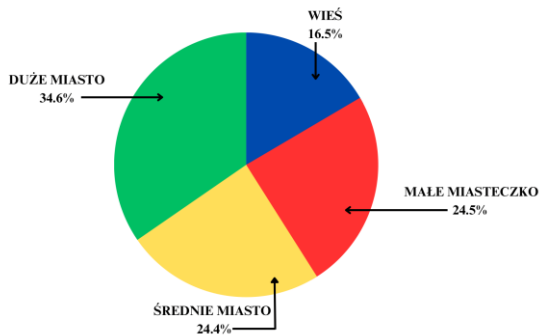
Rysunek 3. Wiek ankietowanych, opracowanie własne

Ponad połowa respondentów posiada wykształcenie wyższe, dokładnie 59%. Średnie posiada 34,1%, zawodowe 4,2%, a podstawowe 2,7% (rys. 4).



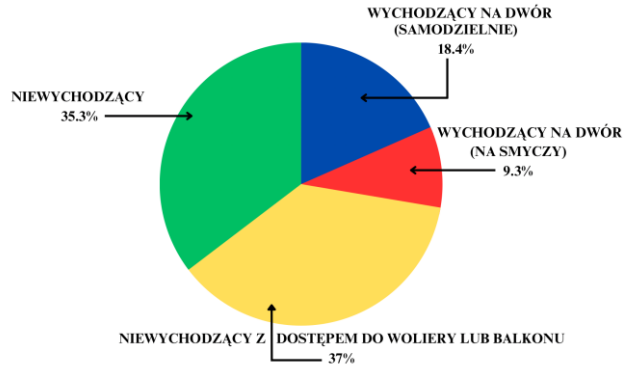
Rysunek 4. Wykształcenie ankietowanych, opracowanie własne

Duże miasta zamieszkuje 34,6% ankietowanych, średnie miasta 24,4%, małe miasteczka 24,5% a wieś 16,5% (rys. 5).



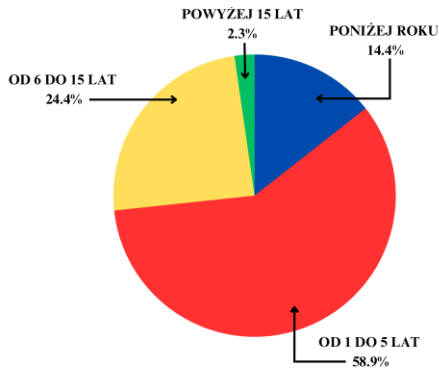
Rysunek 5. Miejsce zamieszkania ankietowanych, opracowanie własne

Opiekunowie w zdecydowanej większości nie wypuszczają kotów samodzielnie na dwór. Zwierząt niewychodzących było 72,5% z czego 37% miało dostęp do woliery lub balkonu. Natomiast wychodzących było 27,7%, wśród nich 9,3% było wyprowadzanych na smyczy (rys. 6).



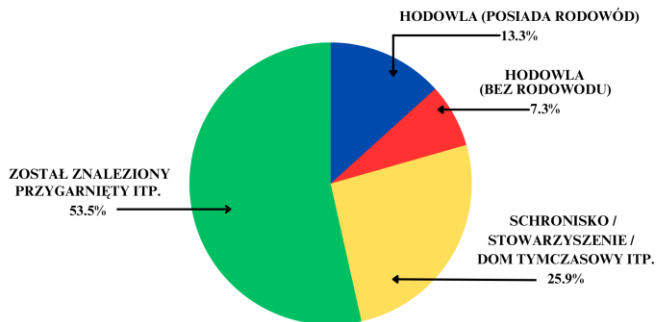
Rysunek 6. Sposób utrzymania kota, opracowanie własne

Jeśli chodzi o wiek badanych zwierząt to 58,9% stanowiły osobniki od 1 do 5 lat. Od 6 do 15 lat było 24,4%, poniżej roku 14,4% a kocich seniorów powyżej 15. roku życia było zaledwie 2,3% (rys. 7).



Rysunek 7. Wiek kota, opracowanie własne

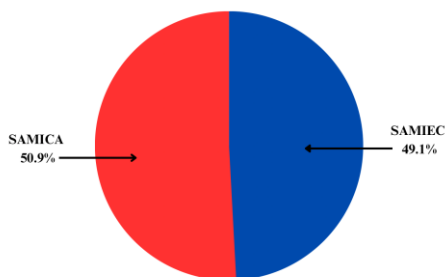
Pochodzenie ponad połowy kotów jest nieznane. Respondenci odpowiedzieli, że 53,5% zostało znalezionych lub przygarniętych, 25,9% zostało adoptowanych ze schronisk, stowarzyszeń prozwierzęcych lub domów tymczasowych. Z hodowli pochodzi 20,6% zwierząt, w tym 13,3% posiada rodowód (rys. 8).



Rysunek 8. Pochodzenie kota, opracowanie własne

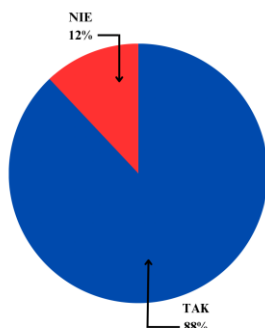


Jeśli chodzi o płeć zwierząt, statystyki były wyrównane. Samce posiadała 49,1% ankietowanych, natomiast samice 50,9% (rys. 9).



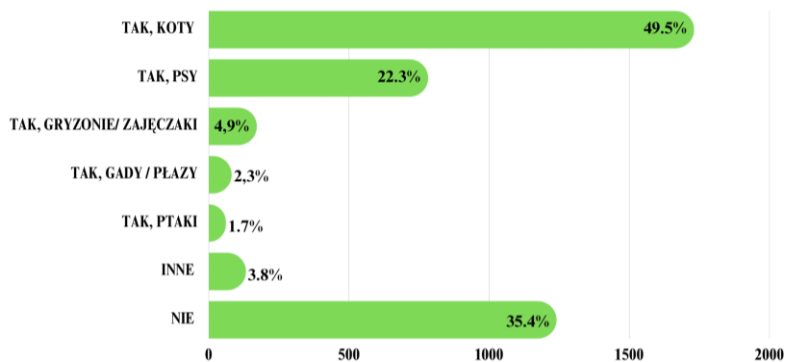
Rysunek 9. Płeć kota, opracowanie własne

Zdecydowana większość kotów była poddana zabiegowi kastracji lub sterylizacji, ponieważ aż 88% (rys. 10).



Rysunek 10. Sterylizacja lub kastracja u kota, opracowanie własne

Znaczna większość ankietowanych, czyli 64,6% posiada więcej zwierząt. Pośród nich 49,5% osób ma koty, 22,3% psy, 4,9% gryzonie lub zajęczaki, 2,3% gady lub płazy, 1,7% ptaki, a 3,8% inne gatunki. Natomiast 35,4% nie posiada innych pupili (rys. 11).



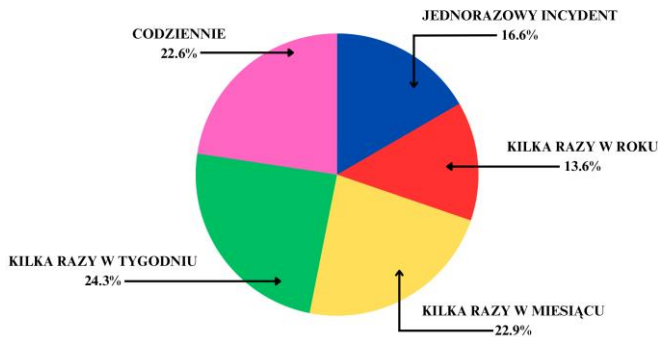
Rysunek 11. Zwierzęta posiadane przez ankietowanych, opracowanie własne

Zdaniem ankietowanych, 70,7% kotów, które posiadają nie wykazuje oznak agresji. Natomiast 20,1% zwierząt prezentuje agresję defensywną. Pośród nich 6,7% podczas ataku wpatruje się, ma rozszerzone źrenice, uszy skierowane w dół i na boki oraz wibrysy przyklejone do policzków. U 9,8% ogon jest uniesiony oraz widocznie napuszony (piloerekcja). A 3,6% przyjmuje skuloną pozycję, wycofuje się lub przewraca na plecy odsłaniając wrażliwe miejsca. Jeśli chodzi o agresję ofensywną to występuje u 23,7% kotów. Wśród nich 7% w trakcie epizodu agresji wpatruje się, ma zwężone źrenice, uszy skierowane w tył i spłaszczone oraz nastroszone wibrysy. U 6,7% grzbiet wygina się w łuk, a tył znajduje się nieco wyżej niż głowa. A 10% silnie macha ogonem ułożonym przy ziemi. Dodatkowo objawem zachowań agresywnych u kotów jest wokalizacja, która wystąpiła u 8,3%, w formie syczenia, warczenia lub buczenia (rys. 12).



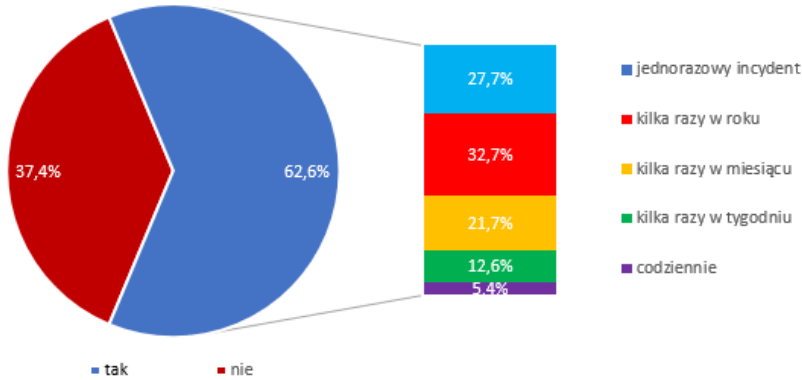
Rysunek 12 Zachowania agresywne u kota, opracowanie własne

Zwierzęta, których właściciele zadeklarowali występowanie zachowań agresywnych określili, że u 22,6% zdarza się to codziennie, u 24,3% kilka razy w tygodniu, u 22,9% kilka razy w miesiącu, u 13,6% kilka razy w roku, a u 16,6% był to jednorazowy incydent (rys. 13).



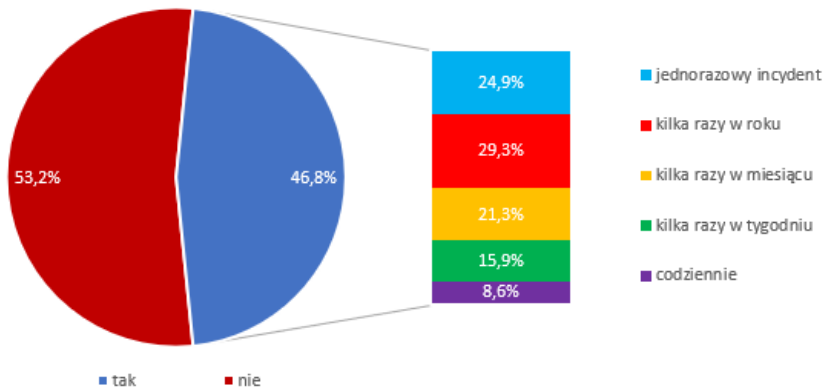
Rysunek 13. Częstotliwość zachowań agresywnych, opracowanie własne

Ponad połowa ankietyowanych, dokładnie 62,6%, zadeklarowała, że zdarzyła się sytuacja, w której zostali podrapani przez swojego kota. Wśród nich, u 5,4% do takich incydentów dochodziło codziennie, u 12,6% kilka razy w tygodniu, u 21,7% kilka razy w miesiącu, u 32,7% kilka razy w roku, a u 27,7% był to jednorazowy incydent. Natomiast 37,4% nie doświadczyło podrapania przez kota (rys. 14).



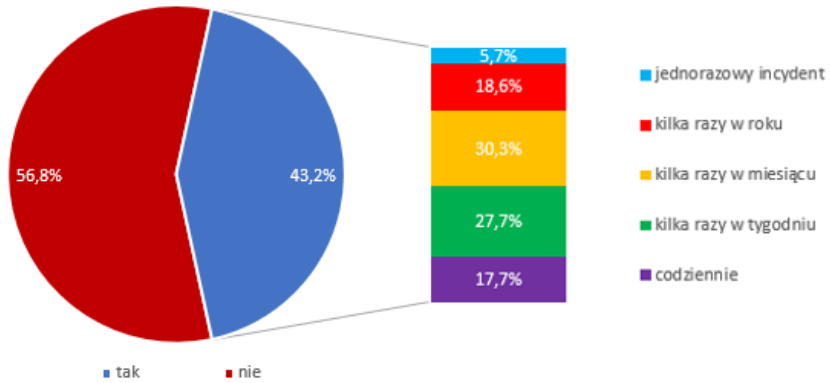
Rysunek 14. Występowanie i częstotliwość podrapań przez koty, opracowanie własne

Jeśli chodzi o pogryzienia przez koty to wystąpiły u 46,8% respondentów. Pośród nich takie zachowanie było najczęściej notowane kilka razy w roku, bo u 29,3%. Dość często występowało kilka razy w miesiącu, bo u 21,3% oraz jako jednorazowy incydent u 24,9% badanych. U 15,9% pogryzienia miały miejsce kilka razy w tygodniu, a u 8,6% zdarzały się codziennie. Natomiast 53,2% kotów nie gryzło właścicieli (rys. 15).



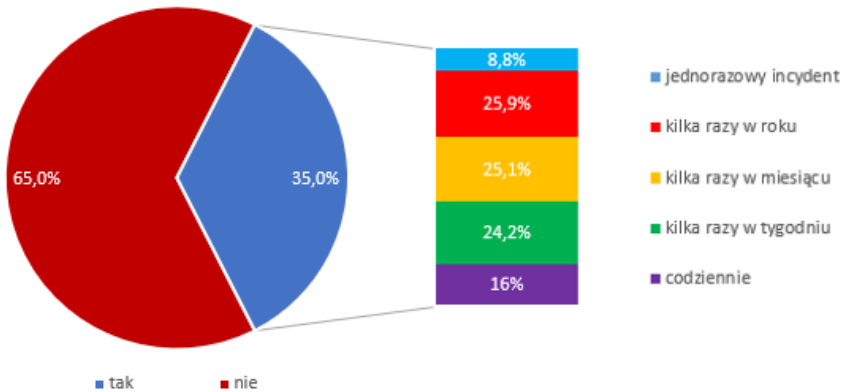
Rysunek 15. Częstotliwość i występowanie pogryzień przez koty, opracowanie własne

Zachowanie takie jak atakowanie rąk i nóg respondentów wystąpiło u 43,2%. W tej grupie najczęściej ankietyowanych, 30,3%, doświadczało tego kilka razy w miesiącu, u 27,7% występowało kilka razy w tygodniu, u 18,6% kilka razy w roku. Aż 17,7% kotów atakowało ręce i nogi swoich opiekunów codziennie, a 5,7% przypadków to były jednorazowe incydenty. Natomiast 56,8% osób biorących udział w badaniu nie spotkało się z takim zachowaniem (rys. 16).



Rysunek 16. Występowanie i częstotliwość atakowania rąk i nóg przez koty [opracowanie własne]

Jeśli chodzi o atakowanie innych zwierząt przez koty to takie zachowanie występuje u 35% badanych. Wśród nich, codziennie występuje u 16%, kilka razy w tygodniu u 24,2%, kilka razy w miesiącu u 25,1%, kilka razy w roku u 25,9%, a jako jednorazowy incydent u 8,8%. Większość ankietowanych, aż 65%, nie zaobserwowała takiego zachowania (rys. 17).



Rysunek 17. Występowanie i częstotliwość atakowania innych zwierząt przez koty, opracowanie własne

## 6. Dyskusja

Przeprowadzone badania wykazały, że zdecydowana większość osób posiadających koty to kobiety. Ludzie głównie w wieku 21-40 lat, posiadający wykształcenie wyższe oraz zamieszkujący duże miasta. Natomiast jeśli chodzi o zwierzęta, pochodzenie dużej części było nieznane. Niestety, nie wszystkie koty, które zostały zakupione z hodowli posiadają rodowód. Świadczy to o niewiedzy opiekunów dotyczącej pseudohodowli. Mimo to bardzo cieszy fakt, że zdecydowana większość właścicieli utrzymuje koty tylko w domu, z dostępem do wolier lub wyprowadza je na smyczy. Zwierzęta samodzielnie wychodzące są narażone na wiele niebezpieczeństw. Należą do nich potrącenia przez samochody, ataki ze strony innych zwierząt oraz zarażenie się chorobami zakaźnymi.

Dodatkowo koty realizując naturalny behavior – polowanie, wpływają bardzo niekorzystnie na środowisko niszcząc bioróżnorodność gatunków fauny. [21]

Według badań koty w wieku od 1 do 5 lat były najliczniejszą grupą, rozkład płci był równomierny. Zdecydowana większość zwierząt była poddana kastracji lub sterylizacji. Głównym celem tych zabiegów jest zapobieganie niekontrolowanemu rozmnażaniu. Jednak mają one wpływ na cały organizm zwierzęcia, zarówno na fizjologię, jak i behavior. Ograniczają prawdopodobieństwo zachorowania na niektóre choroby narządów rozrodczych np. ropomacicze, nowotwory. Dodatkowo przeprowadzone u kotów mogą ograniczać występowanie niektórych rodzajów agresji, atakowania innych zwierząt oraz znaczenia terytorium moczem [22].

Ponad połowa ankietowanych posiada więcej zwierząt, zazwyczaj są to koty lub psy.

## 7. Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań ankietowych zostały wyciągnięte następujące wnioski:

- zachowania agresywne są częściej obserwowane u kotów niewychodzących, natomiast koty wychodzące częściej atakują inne zwierzęta;
- w dużych miastach koty w większości są utrzymywane wyłącznie w domach, natomiast na wsiach mogą samodzielnie wychodzić na zewnątrz;
- koty pochodzące z legalnych hodowli rzadziej przejawiają zaburzenia behawioralne;
- najczęstszym zachowaniem agresywnym skierowanym do opiekuna są podrapania, a najrzadziej występuje atakowanie innych zwierząt;
- u większości kotów wystąpił przynajmniej jeden rodzaj zachowań agresywnych. Gdy się pojawiają, powtarzają się regularnie, kilka razy w tygodniu lub miesiącu.

## Literatura

1. Bradshaw J.W., *The evolutionary basis for the feeding behavior of domestic dogs (Canis familiaris) and cats (Felis catus)*, The Journal of nutrition, 136(7), 2006, s. 1927-1931.
2. Biegańska-Hendryk M., *Agresja u kotów-systematyka i przykłady*, Animal Expert, 4, 2018, s. 6-11.
3. Chapman B.L., *Feline aggression: classification, diagnosis, and treatment*, Veterinary clinics of North America: Small animal practice, 21(2), 1991, s. 315-327.
4. Beaver B.V., *Fractious cats and feline aggression*, Journal of feline medicine and surgery, 6(1), 2004, s. 13-18.
5. Biben M., *Predation and predatory play behaviour of domestic cats*, Animal Behaviour, 27, 1979, s. 81-94.
6. Borchelt P.L., Voith V.L., *Diagnosis and treatment of aggression problems in cats*, The Veterinary clinics of North America. Small animal practice, 12(4), 1982, s. 665-671.
7. Schroll S., Dehasse J., *Zaburzenia zachowania kotów*, Edra Urban & Partner, Wrocław 2018, s. 31-36, 180-182
8. Overall K.L., Rodan I., Beaver B., Carney H., Crowell-Davis S., Hird N., Kudrak S., Wexler-Mitchel E., *Feline behavior guidelines from the American Association of Feline Practitioners*, Journal of the American Veterinary Medical Association, 227(1), 2005, s. 70-84.
9. Overall K.L., *Paradigms for pharmacologic use as a treatment component in feline behavioral medicine*, Journal of Feline Medicine & Surgery, 6(1), s. 29-42.
10. Frank D., Dehasse J., *Differential diagnosis and management of human-directed aggression in cats*, Veterinary Clinics: Small Animal Practice, 33(2), 2003, s. 269-286.

11. Penar W., Klocek C., *Aggressive behaviors in domestic cats (Felis catus)*, Annals of Warsaw University of Life Sciences-SGGW, Animal Science, 57, 2018, s. 143-150.
12. Kmecová N., Weisssová T., Vdoviaková K., *Behaviour problems of cats reared individually or in coexistence with other animals (cats, dog)*, Folia Veterinaria, 60(4), 2016, s. 58-62.
13. Levine E., Perry P., Scarlett J., Houpt K.A., *Inter-cat aggression in households following the introduction of a new cat*, Applied Animal Behaviour Science, 90(3-4), 2005, s. 325-336.
14. Crowell-Davis S.L., Barry K., Wolfe R., *Social behavior and aggressive problems of cats*, Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 27(3), 1997, s. 549-568.
15. Curtis T.M., *Human-directed aggression in the cat*, Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 38(5), 2008, s. 1131-1143.
16. Natoli E., De Vito E., *Agonistic behaviour, dominance rank and copulatory success in a large multi-male feral cat, Felis catus L., colony in central Rome*, Animal Behaviour, 42(2), 1991, s. 227-241.
17. Hunthausen W.L., *Helping owners handle aggressive cats*, Veterinary medicine, 2006.
18. Inselman-Temkin B.R., Flynn J.P., *Sex-dependent effects of gonadal and gonadotropic hormones on centrally-elicited attack in cats*, Brain Research, 60(2), 1973, s. 393-410.
19. Hutchinson R.R., Ulrich R.E., Azrin N.H., *Effects of age and related factors on the pain-aggression reaction*, Journal of Comparative and Physiological Psychology, 59(3), 1965, s. 365.
20. Camps T., de la Fuente C., Pumarola M., Amat M., Le Brech S., Manteca X., *A case of spongiform polioencephalomyelopathy in a cat with a history of behavioural problems*, Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports, 1(2), 2015, s. 1-5.
21. Li Y., Wan Y., Shen H., Loss S.R., Marra P.P., Li Z., *Estimates of wildlife killed by free-ranging cats in China*, Biological Conservation, 253, 2021.
22. McKenzie B., *Evaluating the benefits and risks of neutering dogs and cats*, CAB Rev, 5(45), 2010, s. 1-18.

## Częstotliwość występowania zachowań agresywnych u kotów

### Streszczenie

Koty są gatunkiem, który w ekosystemie zajmuje role zarówno drapieżnika jak i ofiary. Dlatego zachowania agresywne są nieodłącznym elementem ich etogramu. Problem pojawia się, kiedy zwierzęta zaczynają je prezentować w nieadekwatnych sytuacjach. Warunkować agresję może środowisko, stan zdrowia, inne zwierzęta lub konflikt z osobą z otoczenia, w którym zwierzę przebywa. W pracy zbadano występowanie określonych rodzajów zaburzeń agresywnych oraz ich częstotliwość. Część badawczą pracy oparto na ankietach przeprowadzonych wśród właścicieli kotów. Wykonano analizę zgromadzonych danych, z których wynikało, że u większości kotów wystąpił przynajmniej jeden rodzaj zachowań agresywnych. Najczęściej były to podrapania, a najrzadziej atakowanie innych zwierząt.

Słowa kluczowe: agresja, kot, drapieżnik, atak

## Frequency of aggressive behavior in cats

### Abstract

Cats are a species that occupies the roles of both predator and prey in the ecosystem. Therefore, aggressive behavior is inherent in their ethogram. The problem arises when animals begin to display them in inappropriate situations. Aggression can be conditioned by the environment, health, other animals or conflict with a person in the animal's environment. The study investigated the occurrence of certain types of aggressive disorders and their frequency. The research part of the work was based on questionnaires conducted among cat owners. An analysis of the collected data was performed, which showed that most cats had at least one type of aggressive behavior. The most common was scratching, and the least frequent was attacking other animals.

Keywords: aggression, cat, predator, attack

# Rozwój psychofizyczny kotów

## 1. Wprowadzenie

Rozwój psychofizyczny kotów jest fascynującym i wciąż niedostatecznie poznanym obszarem badań. Koty od dawna towarzyszą człowiekowi, jednak w ciągu ostatnich kilkudziesięciu lat zaczęto interesować się dokładnym zrozumieniem procesu ich rozwoju. Dotyczy on zarówno sfery fizycznej (wzrostu zwierzęcia, rozwoju organów) ale także jego strefy psychicznej (nauki, zachowania, reagowania na środowisko). Każdy etap rozwoju kota cechuje się odpowiednią charakterystyką, na którą składają się elementy zmian fizycznych jak i psychicznych. Celem pracy jest przedstawienie dostępnej wiedzy na temat rozwoju psychofizycznego kotów z uwzględnieniem etapów rozwoju, w których zachodzą zmiany. Przytoczone zostały także badania dotyczące zachowań kotów w danych etapach rozwoju.

## 2. Rozwój fizyczny kotów

Postnatalny rozwój kociąt obejmuje okres od narodzin do osiągnięcia dojrzałości płciowej. W tym okresie kocięta przechodzą przez wiele etapów rozwoju fizycznego, które są bardzo istotne dla ich zdrowia i dobrej kondycji w przyszłości. Rozwój fizyczny kota dzielimy na kilka etapów, z których każdy charakteryzuje się poszczególnymi cechami i zmianami w organizmie. Oto bardziej obszerne opisy poszczególnych etapów rozwoju kotów, opierających się na badaniach oraz artykułach naukowych przeprowadzonych w tym zakresie.

### 2.1. Okres prenatalny

Rozwój fizyczny kota rozpoczyna się już w okresie prenatalnym. W 18. dniu ciąży można już zauważyć 2-4mm zarodek ułożony lateralnie [1]. W artykule autorstwa Tomasz Seweryna i Anny Kosiec Tworus, odnośnie diagnostyki ultrasonograficznej ciąży u psów i kotów [1] opisano, iż druga połowa ciąży jest procesem bardzo intensywnym. W okresie od 33-35 dnia trwania ciąży możemy już zauważyć głowę, oczy, tułów, serce i kończyny płodu oraz sznur pępowinowy, który jest w tym okresie dłuższy niż ciało płodu. Z łatwością można zaobserwować poruszanie się płodu. Około 40. dnia długość ciała płodu jest równa długości sznura pępowinowego. W tym okresie ilość wód płodowych w obrębie pęcherza płodowego jest jeszcze znaczna i daje to możliwość dobrego uwidocznienia narządów wewnętrznych oraz zewnętrznych płodu, a w szczególności: nerek, pęcherza moczowego, wątroby, płuc, serca, żołądka, przepony oraz głowy płodu, a w jej obrębie żuchwy, szczęki, oczu oraz spłotów naczyniowych tworzących tkankę rozwijającego się mózgu [2]. Płód wchodzący w fazę noworodka przechodzi

<sup>1</sup> kpodbielska01@gmail.com, Felinologiczne Studenckie Koło Naukowe, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://up.lublin.pl/>.

<sup>2</sup> olaorlow99@gmail.com, Felinologiczne Studenckie Koło Naukowe, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://up.lublin.pl/>.

<sup>3</sup> justyna.wojtas@up.lublin.pl. Katedra Etologii Zwierząt i Łowiectwa, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://up.lublin.pl/>.

kilka zmian fizjologicznych. Wśród nich wymiana gazowa która nie jest już przeprowadzana przez łożysko i odbywa się poprzez oddychanie płucne. Sprawność wymiany gazowej będzie wpływała na odpowiednią adaptację oddechową po urodzeniu.

## **2.2. Okres noworodkowy**

Koty rodzą się po około 63 dniach ciąży. Kocięta przychodzą na świat z zamkniętymi oczami i kanałami słuchowymi, bez zębów i niemal bezwłose [3]. W pierwszych dniach życia kocięta są całkowicie zależne od matki, która karmi je swoim mlekiem. Górna i dolna powieka zaczynają się oddzielać po upływie 5-14 dni od urodzenia [4, 5]. Tęczówka jest szaroniebieska, a po kilku tygodniach zmienia barwę na typową dla dorosłego kota. Noworodek musi nie tylko zainicjować i utrzymać prawidłowe oddychanie płuc, ale także utrzymać stabilną temperaturę ciała – ważną rolę dla prawidłowego samopoczucia kociaków odgrywa ciepło, a także dostosować się do niedojrzałości różnych organicznych systemów, co czyni go niezwykle podatnym na różne zmiany i ich skutki w trakcie jego rozwoju [2, 3]. Przez pierwsze cztery dni życia dominuje napięcie mięśni zginaczy co powoduje charakterystyczny wygląd kociąt ułożonych w kształt podobny do przecinka [6]. Po czterech dniach kocięta leżą na boku z już odgiętą głową [7]. Młode zaczynają się zcołgać w wieku 7-14 dni.

## **2.3. Okres niemowlęcy**

Na tym etapie kocięta zaczynają rozwijać zmysły, m.in. słuch i wzrok, a także zaczynają wykazywać zainteresowanie światem zewnętrznym. W tym okresie zaczyna pojawiać się mleczne uzębienie i małe pazury [3]. Masa ciała zwiększa się niemal dwukrotnie [4, 5]. Rozwijają też zdolność do poruszania się i eksploracji otoczenia. Prawidłowo ich mięśnie powinny być napięte, natomiast nadal nie są one w stanie udźwignąć ciężaru własnego ciała [8, 9]. Po 16 dniach życia zaczynają chodzić, a po 21 – większość zwierząt chodzi prawie normalnie [4, 7].

## **2.4. Okres przejściowy**

W tym okresie kocięta przestawiają się z mleka matki na pokarm stały [3]. Zaczynają eksplorować otoczenie i poznawać świat. Ich koordynacja ruchowa rozwija się. Badania S.L. Crowell-Davis i innych pokazują, że środowisko zewnętrzne w jakim znajduje się kocię, ma bardzo istotny wpływ na to jak będzie rozwijało się w przyszłości. W badaniu pokazano jak brak zrozumienia tego gatunku może promować przyjazne lub agresywne zachowanie, co prowadzi do różnych problemów z zachowaniem, w tym agresji i konfliktów o zasoby, takie jak jedzenie lub miejsca odpoczynku [10]. Faza ta kończy się w wieku 7-8 tygodni.

## **2.5. Okres młodzieńczy**

W wieku 12 tygodni oczy kota nabierają ostateczną barwę, pojawia się również uzębienie stałe [3]. Okres młodzieńczy to etap w życiu kota, w którym kot ma w pełni rozwiniętą kontrolę motoryczną. Kocięta wykazują zachowania drapieżne. Od 12 do 14 tygodnia życia zabawy społeczne przeistaczają się w walki o poważniejszym charakterze. W tym czasie młode zostaje oddzielone od matki i rodzeństwa [8]. Koty uzyskują dojrzałość płciowość pomiędzy 8. a 19. miesiącem życia. Samice z reguły wchodzi w okres dojrzwania wcześniej niż samce [6]. W badaniach Tsutsui T, Nakagawa K, i in. Zaobserwowano pierwszą ruję u kotek już w wieku 181-560 dni [11]. Natomiast podczas



badania spośród grupy 180 mieszańców wykazano, że dojrzałość płciowa u pierwszych kocurów wystąpiła w 5. miesiącu życia. Jest to jednak zależne od rasy, terminu narodzin i indywidualnych uwarunkowań [12].

### **3. Rozwój psychiczny kotów**

Nieodzownym aspektem rozwoju zwierząt pod kątem fizycznym jest rozwój ich psychiki. Pomimo iż największe zmiany w zachowaniu kotów możemy zaobserwować na początku ich życia, rozwój strefy psychicznej kotów trwa przez całe ich życie. Badania nad rozwojem psychofizycznym kotów pozwalają lepiej zrozumieć, jakie czynniki wpływają na ich zachowanie i jakie umiejętności rozwijają się w określonym wieku, co może okazać się bardzo przydatne w próbie zrozumienia zachowań oraz potrzeb kota w danym okresie.

Wyodrębnienie poszczególnych okresów rozwoju kota może być trudniejsze niż w przypadku psów [13]. Nie można określić uniwersalnych ram czasowych dla każdego zwierzęcia, ze względu na indywidualny tok i czas rozwoju dla każdego osobnika. Proponowany podział opiera się o zależność od zmian pojawiających się w psychice kota. Według niego wyróżnić można:

- okres neonatalny (niemowlęcy) – od urodzenia do 2-3 życia kota [2];
- okres socjalizacji – od 2 do 8 tygodnia życia kota;
- okres młodzieńczy – od 6-8 tygodnia życia do osiągnięcia dojrzałości płciowej;
- okres dorosłości – od momentu osiągnięcia dojrzałości płciowej [14].

#### **3.1. Okres neonatalny**

Kocięta na wczesnym etapie życia są w pełni zależne od opieki matki. Większość rozwoju neurologicznego tych zwierząt odbywa się w okresie postnatalnym, dlatego środowisko otaczające zwierzę ma kluczowe znaczenie dla kształtowania się połączeń neuronalnych w mózgu, a więc wpływa na późniejsze zachowanie zwierzęcia [15]. Kocięta rodzą się bezbronne, z zamkniętymi oczami, a ich zmysł słuchu nie jest jeszcze w pełni rozwinięty. Jest to czas, w którym kocięta reagują przede wszystkim na bodźce czuciowe i węchowe [14]. W fazie neonatalnej kotki szybko rozwijają swoje zmysły i zdolności ruchowe [14, 2]. Ich interakcje społeczne związane są głównie z trzymaniem się blisko matki oraz reszty miotu – poruszają się w stronę ciepła [14]. Obecność matki w okresie neonatalnym jest szczególnie ważna. Badania wykazały, że kocięta odsadzone od matki już w 2 tygodniu życia mają większe trudności z nauką oraz wykazują większe reakcje stresowe na pojawiające się bodźce [16]. W miarę rozwoju zaczynają stawać na łapki i eksplorować swoje otoczenie, ucząc się podstawowych umiejętności jak chodzenie, mycie się i kontrolowanie swoich ruchów [14]. Wczesne wprowadzenie elementów interakcji z człowiekiem może mieć korzystny wpływ na socjalizację z ludźmi w dorosłym życiu kota. Badania przeprowadzone przez S. McCune pokazały, że wprowadzenie interakcji z człowiekiem na początku życia kota, daje rezultaty w zachowaniu kota w stosunku do człowieka. Koty socjalizowane na wczesnym etapie rozwoju okazywały się bardziej przyjazne niż te które nie były socjalizowane [17].

#### **3.2. Okres socjalizacji**

W czasie życia kota wyróżnić można okres od około 2. do 8. tygodnia życia, w którym wyraźniej zarysowują się zachowania socjalne zwierząt [14]. Okres ten można nazwać mianem okresu socjalizacji. W wieku 4-5 tygodni kocięta zaczynają rozwijać umiejętności

społeczne poprzez zabawę z resztą miotu oraz naśladowanie zachowań innych kotów. Zabawa pomiędzy kociętami często symuluje polowania, co wspomaga naukę naturalnych kocich zachowań [18]. Badania przeprowadzane już w 1930 roku przez Zing-Yang Kuo pokazały, że okres socjalizacji kotów jest niezmiernie ważny w ich dorosłym życiu. W jednym z badań udowodniono, że kocięta wychowane oraz socjalizowane z innym gatunkiem, w tym przypadku ze szczurami, nie wykazywały zachowań agresywnych względem nich w kolejnych fazach rozwoju [19]. Okres 3 tygodnia życia jest też czasem, kiedy zmysł równowagi kotów zaczyna się coraz bardziej kształtować [18]. Słuch kociąt osiagających 4 tydzień życia jest już tak rozwinięty, jak w przypadku zwierząt dorosłych [20]. W świetle dostępnych badań można stwierdzić, że wspomniany okres jest bardzo ważnym etapem w rozwoju psychiki kotów, a odpowiednie doświadczenia w tym okresie mogą mieć pozytywny wpływ na zachowanie i zdrowie kotów w przyszłości. Obecność matki w tym czasie wydaje się niezmiernie kluczowa, wykazując wpływ na dalszy rozwój zwierząt i wykazywane przez nie zachowania w dorosłym życiu. Kiedy zabawa pomiędzy kociętami przybiera zbyt agresywną formę, matka dyscyplinuje kocięta poprzez dźwięki lub uderzenia łapą. Umiejętność ta okazuje się bardzo ważna przy spotkaniach z innymi kotami w dorosłym życiu kota [21].

Co ciekawe, okres socjalizacji we wczesnym życiu kota może mieć wpływ na późniejsze etapy jego życia również pod względem opieki nad przyszłym miotem. Możliwe jest wystąpienie zaburzeń opieki nad młodymi, które obserwuje się zwłaszcza u kotek, które nie przeszły naturalnego procesu socjalizacji [22].

### **3.3. Okres młodzieńczy**

Okres młodzieńczy życia kotów charakteryzuje się coraz śmielszą chęcią eksplorowania otaczającego je świata. Zaczyna się po ok 6-8 tygodniach życia i trwa do około 18-24. miesiąca [14]. Koty w tym czasie wykazują większą ciekawość otaczającym je światem – rozwijają umiejętności myślenia, a także początki zachowań łowieckich [14]. Badania wskazują na to, że koty w wieku 7 miesięcy mają już rozwinięte zdolności poznawcze, które pozwalają im na rozwiązywanie prostych problemów oraz zapamiętywanie informacji. Dodatkowo, koty w tym okresie są bardziej skłonne do nawiązywania kontaktów z ludźmi i uczą się nowych umiejętności, takich jak chodzenie na smyczy czy korzystanie z kuwety [23]. Więź miotu z matką ulega rozluźnieniu, ponieważ młode w celu eksploracji otoczenia zaczynają opuszczać matkę na dłużej [18].

### **3.4. Okres dorosłości**

Rozwój psychiczny u kotów to proces, który trwa przez całe ich życie. Około pierwszego roku życia, pomimo dojrzałości fizjologicznej, psychika kota ulega dalszemu rozwojowi [14]. Osiągnięcie dojrzałości fizycznej nie wyklucza nauki nowych umiejętności takich jak np. chodzenie na smyczy. W tym czasie koty są nadal w stanie ćwiczyć swoje zdolności intelektualne, aby zachować zdobyte umiejętności poznawcze [14]. Ze względu na brak wprowadzenia socjalizacji z człowiekiem w młodszym wieku, koty, które miały wcześniej niewielki kontakt z ludźmi, mogą być mniej skłonne do nawiązywania interakcji z nimi w późniejszym wieku, ale nadal są w stanie nauczyć się nowych umiejętności społecznych i dostosować swoje zachowanie do nowych sytuacji [24]. W tym czasie koty czują się pewniej w środowisku – są w stanie dostosować swoje zachowania do zmian w otaczającym je świecie [14, 24]. Jednakże, u kotów powyżej 10. roku życia częściej opisuje się występowanie zaburzeń poznawczych, nazywanych kocią demencją [25].

## 4. Czynniki wpływające na indywidualny rozwój psychofizyczny

Na szybkość i poprawność procesu rozwoju kotów wpływać może wiele czynników. Będą to czynniki zarówno osobnicze (np. genetyczne), ale także czynniki środowiskowe, wynikające z warunków w jakich utrzymywane są zwierzęta, częstotliwości i charakteru interakcji z człowiekiem oraz wielu innych.

### 4.1. Genetyka

Powszechnie wiadomo, że genetyka ma wpływ na wygląd zewnętrzny kota, w tym na kolor jego sierści [26]. Szereg badań dowodzi jednak, że odziedziczony przez kota zestaw alleli wpływa także na jego zachowanie i reakcje. Czynniki genetyczne związane są także z tym, w jaki sposób temperament ich matek wpływa na usposobienie kociąt [14]. Zaobserwowano także większą częstość występowania niektórych zaburzeń behawioralnych – między innymi *Pica*, sugerujące zaburzenia z rodzaju kompulsywnych u ras orientalnych, co wskazywać może na predyspozycje o podłożu genetycznym [26].

### 4.2. Środowisko

Czynniki środowiskowe już w okresie życia płodowego odgrywają ważną rolę w rozwoju kociąt. Stres i niedożywienie matki podczas ciąży, mogą manifestować się zaburzeniami rozwojowymi mózgowia i stabilności emocjonalnej kotów w dorosłym życiu. Niedostateczna stymulacja układu nerwowego kociego niemowlęcia może skutkować strukturalnymi deficytami w mózgu kota, który może być tylko częściowo skompensowany w późniejszych etapach życia [27]. Potrzeby środowiskowe kota są podobne, niezależnie od tego, czy zwierzęta są utrzymywane w domu, w klatce w schronisku, placówce badawczej czy szpitalu weterynaryjnym. Ważne jest, aby zapewnić kotu odpowiednie otoczenie do życia, pozytywną relację z człowiekiem, innymi zwierzętami i uwzględnić jego wymagania gatunkowe w pozostałych aspektach. Wszystkie aspekty oddziałują na siebie, wpływając na dobrostan kota [28]. Niski poziom dobrostanu może odzwierciedlać się w złym stanie zdrowia fizycznego, chorobach lub problemach behawioralnych, takich jak niszczenie przedmiotów w domu oraz lękliwe i agresywne zachowania [28]. Występowanie zbyt małej lub zbyt dużej ilości bodźców (np. dźwiękowych) może prowadzić do uniemożliwienia rozwoju zmysłów do przystosowania sensorycznego [27].

### 4.3. Żywienie

Niedobory składników odżywczych już w wieku niemowlęcym mogą mieć wpływ na nieprawidłowy rozwój organizmu kotów. Koty ze względu na naturalnie występujące zachowania łowieckie nie posiadają zdolności wytwarzania aminokwasu tauryny [29]. Kotki, u których występował niedobór tauryny w diecie karmiły swój miot mlekiem o tej samej właściwości. W konsekwencji tego, u kociąt obserwowano zaburzenia rozwojowe związane z układem nerwowym oraz wolniejszy wzrost [30].

### 4.4. Wpływ matki

Opieka matki nad kociętami ma znaczny wpływ na zdrowie miotu w pierwszym okresie życia. Podkreśla się, że pobranie siary przez kocięta w ciągu pierwszych 16 godzin życia jest kluczowe dla prawidłowego wykształcenia się odporności biernej [31]. Kocięta oddzielone od matki przed ukończeniem 7. tygodnia życia, wykazują deficyt w emocjonalnej i motorycznej samokontroli oraz trudności związane z rozwojem zachowań spo-

lęcznych [27]. Badanie poprowadzone przez T.M. Caro [32] pokazuje, że obecność matki podczas kontaktu z ofiarą w okresie niemowlęcym poprawia późniejsze zachowania związane z łapaniem zdobyczy.

#### **4.5. Kontakt z człowiekiem**

Wczesny kontakt z człowiekiem ma nie tylko korzystny wpływ na relacje pomiędzy tymi dwoma gatunkami, wpływa również na szybszy rozwój fizyczny i rozwój układu nerwowego. Badania przeprowadzane u innych gatunków zwierząt, które jednak wykazują się podobnym rozwojem, udowadniają, że dostarczenie określonych bodźców stymulujących organizm kota, może mieć pozytywny wpływ na rozwój zwierząt [33]. Badania Martina i Batesona [14] pokazują, że kocięta głaskane codziennie przez pierwszych 30 dni życia wcześniej otwierają oczy, zaczynają badać otoczenie i mniej obawiają się ludzi [14]. Zwierzęta dotykane przez człowieka codziennie przez 5 minut od urodzenia do 45. dnia życia, chętniej podchodzą do ludzi oraz łatwiej im nawiązać kontakty ze zwierzętami innych gatunków, niż te które nie miały kontaktu z człowiekiem, co przedstawiono w badaniu Karsh'a i Turner'a [34].

#### **4.6. Aktywność fizyczna**

Faktem jest, że koty przesypiają dużą część dnia, jednakże są to zwierzęta łowne więc ich aktywność zwiększa się wieczorami lub o świcie. Zwierzęta te mają duże pokłady energii, które należy ujarzmić zapewniając kotu odpowiednią dawkę aktywności w ciągu dnia, oraz środowisko wzbogacone na tyle aby zapewniać odpowiednią stymulację umysłową, co będzie procentować jego pozytywnym rozwojem oraz utrzymaniem dobrej kondycji [35]. Siedzący lub mało aktywny tryb życia, w tym przebywanie w zamkniętych pomieszczeniach, wiąże się z rozwojem kociej otyłości. Jest prawdopodobne, że te czynniki predysponują koty do otyłości poprzez zmniejszenie wydatku energetycznego z powodu zmniejszonej aktywności fizycznej. Koty przebywające w domu mają mniejsze możliwości wydatkowania energii poprzez aktywność, taką jak interakcja z innymi zwierzętami poza domem czy eksploracja i wędrowanie [36]. Niska aktywność fizyczna została zidentyfikowana jako jeden z istotniejszych czynników wpływających na nadwagę u kotów. Otyłość jest obecnie jedną z najczęstszych chorób występujących u zwierząt towarzyszących. Ostatnie badania sugerują, że około 58% dorosłych kotów w USA cierpi na problemy zdrowotne, spowodowane małą ilością ruchu [35].

#### **4.7. Pielęgnacja**

Nieprawidłowa higiena jamy ustnej może doprowadzić do różnych chorób, w tym między innymi pojawienia się kamienia nazębnego. Kamień powstaje z płytki nazębnej gromadzącej się z resztkami pokarmu oraz bakterii. Powstanie kamienia nazębnego może być przyczyną zapalenia dziąseł co z kolei prowadzi do paradontozy i zaniku dziąseł [37]. Choroby przyzębia są jednymi z najczęstszych chorób zębów występujących u kotów. W Badaniu przeprowadzonym przez Kate E. Ingham i innych, zbadano koty do drugiego roku życia. Celem pracy było zbadanie wpływu codziennego szczotkowania zębów na rozwój chorób przyzębia u kotów. Rozwój choroby przyzębia będzie oceniany co roku przez kolejne lata. Koty podzielono na dwie grupy – w jednej szczotkowano zęby kotów codziennie, natomiast w drugiej wcale. Szczotkowanie zębów zmniejszyło w pewnym stopniu zapalenie dziąseł na policzkowej powierzchni zębów. Badanie jednak nie wykazało zbyt dużej różnicy w obu grupach, natomiast wywnioskowano, że koty do

2. roku życia mają mniejsze skłonności do chorób przyzębia, lecz tendencja rośnie wraz z wiekiem [38].

Odpowiednia pielęgnacja skóry wpływa na spełnianie ich wszystkich funkcji, a tym samym może ona w pełni chronić organizm przed uszkodzającymi czynnikami zewnętrznymi. Dlatego jednym z najistotniejszych sposobów dbania o zdrowie zwierzęcia jest jego prawidłowe żywienie i pielęgnacja [39, 36].

#### 4.8. Wiek

Jak wspomniano, przy omawianiu rozwoju psychicznego kotów, młode kocięta uczą się stosunkowo szybko, a ich rozwój cechuje się dużą efektywnością. Kot osiągając wiek powyżej 10. roku życia jest bardziej predysponowany do wystąpienia zaburzeń poznawczych. Związane są one między innymi ze zmniejszoną aktywnością i zmniejszonym zainteresowaniem interakcjami z ludźmi [25]. Zwierzęta w podeszłym wieku, u których występuje niedobór neuroprzekaźników, zaczynają mieć problemy z układem ruchu, pamięcią, ale także apetytem i snem [25].

W związku z fizjologicznym zwolnieniem metabolizmu w pewnym okresie życia występuje, tendencja do chorób związanych z nadwagą i otyłością u kotów wzrasta wraz z wiekiem [36, 35].

### 5. Podsumowanie

Koty są gatunkiem udomowionym od kilkudziesięciu tysięcy lat, mimo tego nasza wiedza nadal jest niedostateczna. Po dzień dzisiejszy prowadzone są badania na temat tych zwierząt, aby przybliżyć i lepiej zrozumieć w jaki sposób funkcjonują oraz jak działa ich psychika. W powyższym rozdziale korzystając z artykułów i dostępnych badań naukowych odnośnie kotów omówiono szczegółowo jakie zmiany zachodzą w konkretnych stadiach rozwojowych kociąt od okresu prenatalnego do wieku dorosłego. Podkreślono, że wczesny okres życia kota, czyli około pierwszych 12 tygodni, jest szczególnie ważny dla jego rozwoju, gdyż w tym czasie zachodzą fundamentalne procesy nauki i kształtowania zachowań. Wymieniono czynniki wpływające na rozwój osobniczy tego gatunku. Wywnioskowano, że każdy kot jako indywidualna jednostka posiada swoje cechy osobnicze na które wpływają różne elementy takie jak m.in. oddech przez matkę, środowisko, kontakt międzygatunkowy z człowiekiem czy innymi zwierzętami, dieta i aktywność fizyczna. Niezapewnienie dobrostanu czy zaniedbanie innych czynników (które wymieniono powyżej) we wczesnym okresie życia kociąt, oddziałuje negatywnie na ich rozwój w późniejszych latach. Ponadto badania skupione na identyfikacji i zrozumieniu skutków indywidualnych różnic u tych zwierząt mogą prowadzić do dalszej poprawy ich dobrostanu. Mimo obszernej wiedzy na temat tego gatunku, nieustannie dowiadujemy się czegoś nowego na temat tych interesujących istot.

### Literatura

1. Seweryn T., Kosiec-Tworus A., *Ultrasonography pregnancy diagnosis in dogs and cats*, Życie Weterynaryjne, 87(3), 2012, s. 206-212.
2. Pereira K.H.N.P., Fuchs K.M., Corrêa J.V., Chiacchio S.B., Lourenço M.L.G., *Neonatology: Topics on Puppies and Kittens Neonatal Management to Improve Neonatal Outcome*, Animals, 12, 2022, 3426.
3. Seidl D., *Mit Katzen leben*, Franckh – Kosmos Verlags – GmbH & Co. KG, Stuttgart 2007.
4. Johnson C.A., Grace J.A., *Care of newborn puppies and kittens*, Kal Kan Forum, 6(9), 1987.

5. Moiser J.E., *The puppy from birth to six weeks*, The Veterinary clinics of North America, 8(1), 1978, s. 79-100.
6. Hoskins J.D., *Veterinary Pediatrics, Dogs and Cats from Birth to Six Months*, W.N. Saunders Company, 2001.
7. Breazile J.E., *Neurologic and behaviored development in the puppy*, The Veterinary clinics of North America, 8(1), 1978, s. 31-45.
8. Hubrecht R., Kirkwood J., *The UFAW Handbook on The Care and Management of Laboratory and Other Research Animals: Eighth Edition*, the Universities Federation for Animal Welfare, Hertfordshire, 2010, s. 453-472.
9. Thorne C., *The Waltham Book of Dog and Cat Behaviour*, Pergamon Press, Oxford, 1992, s. 53- 64.
10. Crowell-Davis S.L., Curtis T.M., Knowles R.J., *Social organization in the cat: A modern understanding*, Journal of Feline Medicine and Surgery, 6(1), 2004, s. 19-28.
11. Tsutsui T., Nakagawa K., Hirano T., Nagakubo K., Shinomiya M., Yamamoto K., Hori T., *Breeding season in female cats acclimated under a natural photoperiod and interval until puberty*, The Journal of veterinary medical science, 66(9), 2004, s. 1129-1132.
12. Max A., *Koty- Położnictwo i rozród*, Galaktyka sp.z.o.o, Łódź, 2010.
13. Overall K.L., *How understanding normal cat behaviour can help prevent behaviour problems*, Weterinary Medicine, Feb:160, 1988.
14. Turner D.C., Bateson P., *The Domestic Cat: The Biology of its Behaviour*, Cambridge University Press, 2000.
15. Kudła J., *Najczęstsze przyczyny agresji na tle lękowym u kotów, rozpoznanie oraz metody postępowania*, Magazyn Weterynaryjny, 25(01), 2016, s. 11-16.
16. Seitz P.F., *Infantile experience in adult behavior in animal subjects, II. Age of separation from the mother and adult behavior in the cats*, Psychosomatic Medicine, 21(5), 1979, s. 353-378.
17. McCune S., *The impact of paternity and early socialisation on the development of cats' behaviour to people and novel objects*, Applied Animal Behaviour Science, 45(1-2), 1995, s. 109-124.
18. Janczarek I., Karpiński M., *Behavior zwierząt*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2019.
19. Kuo Z.Y., *The genesis of the cat's response to the rat*, Journal of Comparative Psychology, 11(1), 1930, s. 1-36.
20. Beaver B.V., *Feline Behavior: A guide for Veterinarians*, WB Saunders, Philadelphia 1992.
21. Ahola M.K., Vapalahti K., Lohi H., *Early weaning increases aggression and stereotypic behaviour in cats*, Scientific reports, 4(7), 2017, 10412.
22. Ettinger S.J., Feldman E.C., *Textbook of Veterinary Internal Medicine. Diseases of the dog and cat. Fifth Edition*, W.B. Saunders Co., Philadelphia 2000, s. 1527.
23. Vitale Shreve K.R., Udell M.A., *What's inside your kitten's head? A review of the development of cognition and behavior in cats*, Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research, 19, 2017, s. 24-35.
24. Turner D.C., Bateson P., Reby D., *Development of social behaviour in the cat (Felis catus)*, Applied Animal Behaviour Science, 74(1), 2001, s. 89-101.
25. Stilwell N., *Zrozumieć demencję kotów – przewodnik dla lekarzy weterynarii*, Weterynaria po Dyplomie, 01. 2020, s. 52-54.
26. Kaelin C.B., Xu X., Hong L.Z., David V.A., McGowan K.A., Schmidt-Küntzel A., Roelke M.E., Pino J., Pontius J., Cooper G.M., Manuel H., Swanson W.F., Marker L., Harper C.K., van Dyk A., Yue B., Mullikin J.C., Warren W.C., Eizirik E., Kos L., O'Brien S.J., Barsh G.S., Menotti-Raymond M., *Specifying and sustaining pigmentation patterns in domestic and wild cats*, Science, 337(6101), 2012, s. 1537-1541.
27. Schroll S., Dehasse J., *Zaburzenia zachowania kotów*, Edra Urban & Partner, Stuttgart 2018.

28. Stella J.L., Croney C.C., *Environmental Aspects of Domestic Cat Care and Management: Implications for Cat Welfare*, Scientific World Journal, 2016, 6296315.
29. Hayes K.C., Trautwein E.A., *Taurine Deficiency Syndrome in Cats*, Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 19(3), 1989, s. 403-413.
30. Mirowski A., *Milk and milk replacers in rearing puppies and kittens*, Życie Weterynaryjne, 81(11), 2013, s. 948-950.
31. Kalwas-Śliwińska M., Degórska B., Jurka P., *Fading kitten syndrome. Part I. Causes and predilection factor*, Życie Weterynaryjne, 92(12), 2017, s. 892-895.
32. Caro T.M., *Effects of the mother, object play, and adult experience on predation in cats*, Behavioral and Neural Biology, 29(1), 1980, s. 29-51.
33. Nykiel M., *Jak przebiega optymalny rozwój kotów?*, Animal Expert. 3(11), 2019, s. 7-10.
34. Karsh E., Turner D.C., *The human- cat relationship*, Biology of Its Behaviour, Cambridge University Press, New York 1988, s. 159.
35. Detweiler K.B., Rawal S., Swanson K.S., de Godoy M.R.C., *Physical activity level of female and male adult cats before and after running wheel habituation*, Journal of nutritional science, 6, 2017, e17.
36. Zähringer D., Story M., Rand J., Svoboda M., *Feline obesity- prevalence, risk factors, pathogenesis, associated conditions and assessment: A review*, Veterinární Medicina, 6, 2016, s. 295-307.
37. Gradolewska D., *Jak dbać o higienę jamy ustnej psów i kotów?*, Animal Expert, 3(11), 2019, s. 11-12.
38. Ingham K.E., Gorrel C., Blackburn J.M., Farnsworth W., *The Effect of Toothbrushing on Periodontal Disease in Cats*, The Journal of Nutrition, 132(6), 2002, s. 1740-1741.
39. Shils M.E., Olson J.A., Shihe M., Ross A.C., *Modern Nutrition in Health and Disease. 9<sup>th</sup> ed.*, Williams & Wilkins, Baltimore 1999.

## Rozwój psychofizyczny kotów

### Streszczenie

Pomimo tego, że rozwój psychofizyczny kotów stanowi przedmiot badań od ostatnich kilkadziesiąt lat, nadal wymaga dużego wkładu pracy, aby poznać go dokładnie. Rozdział ten zajmuje się opisaniem zmian zachodzących zarówno w strefie fizycznej kota podczas jego dorastania oraz wyszczególnieniem pojawiania się zachowań charakterystycznych dla danego wieku kota. Przegląd badań oraz literatury na wspomniane tematy upewnia, że rozwój psychofizyczny kotów jest bardzo złożonym procesem, na który wpływ ma wiele czynników zarówno środowiskowych, jak i indywidualnych predyspozycji i uwarunkowań osobniczych. Słowa kluczowe: koty, felinologia, rozwój, wzrost

## Psychophysical development of cats

### Abstract

Despite the fact that the psychophysical development of cats has been the subject of research for the last few decades, it still requires a lot of work to get to know it thoroughly. This chapter describes the changes that occur both in the cat's physical area as it grows up and details the emergence of age-specific behaviours. A review of research and literature on these topics ensures that the psychophysical development of cats is a very complex process influenced by many factors, both environmental and individual predispositions and conditions.

Keywords: cats, felinology, development, growth

## Lęk separacyjny u kotów: zrozumienie i przeciwdziałanie

### 1. Wprowadzenie

Lęk separacyjny to zaburzenie zachowania, które może wystąpić zarówno u ludzi, jak i u zwierząt, gdy są oddzielone od swoich opiekunów lub znajomych środowisk. W przypadku zwierząt domowych, takich jak psy i koty, lęk separacyjny często przejawia się w nadmiernym niepokojem lub strachem pojawiającymi się, gdy zwierzęta pozostawione są same lub oddzielone od opiekunów [1, 2]. Emocje pojawiły się niedawno jako alternatywne podejście do oceny zachowania i dobrostanu zwierząt [3]. Jednak niewiele materiałów opisuje, jak je identyfikować. W przeszłości panowało powszechne przekonanie, że lęk separacyjny jest stanem charakterystycznym wyłącznie dla psów i nie dotyczy kotów. Przemawiała za tym społeczna wiara, że koty nie wykazują przywiązania do swoich właścicieli i nie są zdolne do tworzenia więzi społecznych. Pogląd ten jest często utrwalany przez fakt, że koty są zazwyczaj bardziej samowystarczalne w zdobywaniu pożywienia i wykazują bardziej złożone zachowania niż psy. W rezultacie wiele osób zakłada, że koty są mniej zainteresowane interakcjami społecznymi i przywiązaniem do człowieka. Jednak ostatnie badania wykazały, że koty tworzą więzi społeczne i również mogą doświadczać lęku separacyjnego oraz wykazywać podobne oznaki i objawy jak psy [4]. Problemy związane z separacją u kotów domowych to zaburzenia behawioralne, będące trudne do zidentyfikowania ze względu na bardzo ograniczoną ilość przeprowadzonych dotychczas badań. Chociaż dokładne przyczyny lęku separacyjnego u kotów nie są w pełni poznane, czynniki ryzyka mogą obejmować doświadczenia z wczesnego okresu życia, usposobienie rasy, a także aspekty medyczne lub behawioralne. Diagnoza lęku separacyjnego u kotów wymaga dokładnego wywiadu behawioralnego, jak również wykluczenia wszelkich możliwych chorób leżących u jego podstaw.

### 2. Częstotliwość występowania i czynniki ryzyka lęku separacyjnego u kotów

Kot domowy (*Felis silvestris catus*) jest obecnie jednym z najpopularniejszych zwierząt towarzyszących na świecie. Identyfikacja oraz zapobieganie problemom związanym z separacją jest istotne z uwagi na dobrostan jego stale rosnącej populacji. Niestety istnieje silne przekonanie, że gatunek ten niezwykle łatwo radzi sobie nawet z długoterminową nieobecnością właściciela [5]. Koty często określane są jako zwierzęta niezależne, pozbawione głębszej więzi emocjonalnej z człowiekiem i niewymagające poświęcania dużej ilości czasu. W konsekwencji, kiedy zwierzę zaczyna przejawiać zaburzenia

---

<sup>1</sup> klaudia.kaliszyk@gmail.com, Felinologiczne Studenckie Koło Naukowe, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://up.lublin.pl/>.

<sup>2</sup> juliasykuła99@gmail.com, Felinologiczne Studenckie Koło Naukowe, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://up.lublin.pl/>.

<sup>3</sup> justyna.wojtas@uplublin.pl, Katedra Etologii Zwierząt i Łowiectwa, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://up.lublin.pl/>.



behawioralne, właściciele nie są na nie przygotowani. Ponadto, wszelkie zachowania nieprawidłowe bardzo często interpretowane są jako celowe działanie zwierzęcia, napędzane emocjami takimi jak zazdrość, czy też zdolnościami poznawczymi, do których w rzeczywistości nie jest ono zdolne [6].

Istnieje wiele czynników mogących wpływać na występowanie lęku separacyjnego u kotów. Jedną z głównych przyczyn jest stała lub czasowa utrata obiektu przywiązania jakim w tym przypadku jest opiekun. Może to mieć miejsce w trakcie pozostawienia zwierzęcia np. w hotelu lub szpitalu, ale także w domu-środowisku dobrze znanym przez danego kota. Zaburzenia separacyjne mogą także być skutkiem zmiany rutyny dnia lub utraty towarzystwa innego zwierzęcia mieszkającego dotychczas w tym samym gospodarstwie domowym [1]. Ich objawy mogą być widocznie nie tylko w trakcie nieobecności właściciela, ale również w okresie ją poprzedzającym, kiedy to zwierzę zaczyna wykazywać niepokój. Długie rytuały opuszczania domu połączone z silnymi emocjami opiekuna mogą znacząco nasilić lęk separacyjny kota. Osobniki zamknięte w zubożałym, ograniczonym przestrzennie środowisku bardzo często pozbawione są zarówno fizycznej, jak i psychicznej stymulacji [7].

Reakcje behawioralne na stres związany z samotnością mają na celu zapewnienie przetrwania. Dla zwierzęcia bardziej adaptacyjne jest doświadczanie przewidywanego lęku i angażowanie się w wynikające z niego zachowania, które ograniczają potencjalną reakcję na zagrożenie, niż bycie zaatakowanym [8].

Pomimo skali problemu, poziom wiedzy na temat powszechności, rozmieszczenia oraz nasilenia tego typu problemów w populacji kotów domowych, wciąż jest zaskakująco niski. Poznanie etogramu gatunkowego jest konieczne, aby móc zaobserwować wszelkie anomalie behawioralne oraz odróżnić je od zachowań niepożądanych.

### **3. Symptomy lęku separacyjnego u kotów**

Koty cierpiące na lęk separacyjny mogą wykazywać szereg oznak i objawów, gdy zostają same. Wśród nich możemy zaobserwować nasiloną wokalizację, występowanie zachowań destrukcyjnych, wydalanie kału lub moczu w niewłaściwych miejscach (innych niż kuweta), zmiany w apetycie lub nawykach pielęgnacyjnych [9]. Żeby stwierdzić, czy kot wykazuje objawy lęku separacyjnego, ważne jest, aby umieć odróżnić te zachowania od innych zaburzeń behawioralnych lub jednostek chorobowych. Jednym ze skutecznych sposobów, aby to zrobić jest uważna obserwacja zachowania kota i zidentyfikowanie wzorców lub zmian w jego zachowaniu, gdy zostaje sam. Poprzez monitorowanie zachowania kota właściciele mogą zidentyfikować, czy kot wykazuje zachowania takie jak nadmierna wokalizacja, zachowania destrukcyjne lub niewłaściwa urynnacja, gdy zostaje sam, które są powszechnymi oznakami lęku separacyjnego. Z kolei inne zaburzenia zachowania mogą objawiać się w inny sposób, np. agresją lub lękliwością. Obserwacja może również pomóc w zidentyfikowaniu wszelkich czynników wyzwalających lub wzorców, które mogą przyczyniać się do lęku kota, takich jak określone pory dnia lub czynności wykonywane przed pozostawieniem kota samego. Informacje te można wykorzystać do opracowania planu leczenia dostosowanego do konkretnych potrzeb kota. Obserwacja jest kluczowym narzędziem w identyfikacji i rozwiązywaniu problemu lęku separacyjnego u kotów i może pomóc właścicielom w zapewnieniu, że ich zwierzę otrzyma odpowiednią opiekę i leczenie w związku z jego stanem.

Podsumowując, do najczęstszych objawów problemów separacyjnych u kotów możemy zaliczyć:

- zachowania destrukcyjne;
- nadmierna wokalizacja;
- załatwianie potrzeb fizjologicznych poza kuwetą;
- wzmożona agresywność;
- apatia/depresja;
- pobudzenie i ogólny niepokój;
- zmniejszony apetyt lub zmiany w nawykach żywieniowych;
- ukrywanie się lub wycofywanie z interakcji społecznych;
- nadmierna pielęgnacja lub samookaleczanie;
- zaprzestanie pielęgnacji;
- próby ucieczki [5, 10].

Te znaki i objawy mogą wystąpić, gdy kot jest pozostawiony sam lub oddzielony od swojego właściciela lub głównego opiekuna. Należy pamiętać, że te zachowania mogą być również spowodowane innymi kwestiami, takimi jak stan zdrowia lub zmiana środowiska kota [11]. Przykładowo każdy stan chorobowy, który zakłóca normalne zachowanie kota związane z oddawaniem moczu lub kału, może powodować problemy kuwetowe. Należy zwrócić szczególną uwagę na wszelkie objawy fizyczne u kotów, ponieważ mogą one być zewnętrznym wskaźnikiem leżącego u podstaw stresu emocjonalnego. Te fizyczne przejawy mogą stanowić cenny wgląd w stan emocjonalny kota i nie należy ich ignorować [12]. Mogą one wskazywać, że kot doświadcza znacznego stresu. Ponieważ objawy lęku separacyjnego mogą również wskazywać na inne problemy zdrowotne, diagnozowanie wszelkich zaburzeń emocjonalnych zawsze zaczyna się od dokładnego badania lekarsko-weterynaryjnego, aby wykluczyć problemy medyczne. Bardzo pomocne w ustaleniu diagnozy może być dostarczenie nagrania wideo przedstawiającego zachowanie kota, gdy jest on sam w domu.

Konsultacja z lekarzem weterynarii jest ważnym krokiem w rozwiązywaniu problemu lęku separacyjnego u kotów. Fizyczne objawy lęku mogą czasami wskazywać na potencjalne schorzenie, które może wymagać leczenia i nasilać objawy. Lekarz weterynarii przeprowadza badanie fizykalne i wykonuje wszelkie niezbędne testy, aby wykluczyć schorzenia somatyczne, które mogą przyczyniać się do występowania danego stanu emocjonalnego u kota. Oprócz konsultacji z lekarzem weterynarii, skutecznym sposobem na określenie odpowiedniego planu leczenia lęku separacyjnego może być zasięgnięcie porady u wykwalifikowanego behawiorysty zwierzęcego. Dokładny wywiad jest niezbędnym elementem do postawienia diagnozy.

#### **4. Konsekwencje zaniedbania lęku separacyjnego**

Zwierzęta doświadczające stresu związanego z nieobecnością właściciela wykazują stały niepokój, który znacząco obniża ich dobrostan. Chroniczny stres wpływa na zdrowie poprzez osłabienie układu immunologicznego, a także może powodować inne zaburzenia behawioralne. Niszczenie przedmiotów czy też znakowanie moczem niezależnie od przyczyny jest dla opiekunów frustrujące i bardzo często wpływa na decyzję o oddaniu zwierzęcia [3]. Biorąc pod uwagę wyłącznie czynniki behawioralne, brudzenie w domu, będące jednym z symptomów lęku separacyjnego, jest najczęściej występującym powodem porzucenia zwierzęcia [13]. Duża liczba osobników jest także wypuszczana do środo-

wiska naturalnego, co wpływa na rozprzestrzenianie się chorób, zwiększanie się populacji kotów bezdomnych oraz wzrost drapieżnictwa. W skrajnych przypadkach stosowane są kary cielesne, które dodatkowo pogłębiają zaburzenia behawioralne zwierzęcia [14] i zdecydowanie negatywnie wpływają na jego relacje z opiekunem.

## **5. Wzbogacenie środowiska jako element terapii lęku separacyjnego**

Pierwszym krokiem w terapii behawioralnej jest obserwacja oraz obszerna analiza zachowania zwierzęcia. Ocenie powinny zostać poddane wszelkie aspekty relacji człowiek-zwierzę oraz pełen behawior zwierzęcia przejawiany w czasie doby. Istotne są informacje dotyczące karmienia, codziennej rutyny, zabawy, czasu spędzonego w samotności oraz dostępu do podstawowych zasobów. Niezwykle ważne jest umiejscowienie misek oraz kuwety. Powinny one być odpowiednio od siebie oddalone oraz znajdować się z dala od ruchliwych szlaków komunikacyjnych w domu. Miska z wodą nie może znajdować się w pobliżu miski, w której kot otrzymuje pożywienie. Liczba kuwet powinna równać się ilości kotów żyjących w danym gospodarstwie domowym +1. Odpowiednio dobrane, nie raniące opuszków łap podłoże, należy regularnie wymieniać, a jego ilość powinna umożliwiać kotu swobodne kopanie. Odkryta kuweta pozwala na stałą obserwację otoczenia oraz zapewnia zwierzęciu komfort. Jej długość powinna wynosić 1,5-2 długości kota, a szerokość być równa minimum jednej długości kota. Wzór ten pozwala na odpowiednie dostosowanie kuwety do konkretnego osobnika.

Wzbogacenie środowiska jest nefarmakologicznym podejściem do leczenia lęku separacyjnego u kotów. Działanie to polega na modyfikacji środowiska kota w celu zapewnienia stymulacji psychicznej i fizycznej, co może pomóc w zmniejszeniu stresu i niepokoju. Zarządzanie przestrzenią, w której przebywa zwierzę, jest niezwykle ważne z behawioralnego punktu widzenia. Środowisko domowe, w przeciwieństwie do zewnętrzne, jest przede wszystkim niezmiennie i przewidywalne. Aby umożliwić kotom realizację podstawowych popędów oraz prezentowanie specyficznych gatunkowo zachowań należy je odpowiednio przystosować [15]. Najkorzystniej jest, jeśli urozmaicenie stymuluje naturalne zachowania zwierzęcia, a co za tym idzie, jest dostosowane do jego wymagań osobniczych.

Wzbogacenie kociego środowiska może polegać na:

- zapewnieniu zabawek, którymi kot może się bawić podczas nieobecności właściciela;
- ustawianiu konstrukcji do wspinania się, aby zapewnić kotu możliwość eksploracji i ćwiczeń;
- stosowanie zabawek interaktywnych lub ukrywanie smakołyków w całym domu, aby zachęcić kota do poszukiwania i polowania;
- używanie dyfuzorów z feromonami w celu stworzenia bezpiecznego otoczenia;
- odtwarzanie uspokajającej muzyki lub pozostawienie włączonego telewizora w celu zapewnienia stymulacji słuchowej.

Poprzez wzbogacenie środowiska właściciele kotów mogą pomóc w zmniejszeniu poziomu stresu u kota i zapewnić mu odwrócenie uwagi od nieobecności właściciela. Należy pamiętać, że samo wzbogacenie środowiska może nie wystarczyć do pełnego rozwiązania problemu lęku separacyjnego i często jest stosowane w połączeniu z innymi metodami leczenia, takimi jak trening odczulający lub leki.

Urozmaicenie warunków środowiskowych jest ważnym elementem planu leczenia behawioralnego, ponieważ może ono również pomóc w zmniejszeniu przewlekłego

stresu wynikającego ze strachu i lęku [10]. Eksploracja bogatego środowiska zapewnia stymulację mentalną oraz zmysłową poprzez np. poszukiwanie pożywienia czy też patrolowanie terytorium [16].

## **6. Edukacja i wsparcie opiekunów**

Edukacja i wsparcie opiekunów są ważnymi elementami zarządzania lękiem separacyjnym u kotów [17]. Wielu właścicieli kotów może nie być świadomych oznak i objawów lęku separacyjnego lub nie wiedzieć, jak skutecznie zarządzać lękiem u kota. Dlatego też, zapewnienie edukacji i wsparcia może pomóc w lepszym zrozumieniu tego stanu i umożliwić podjęcie skutecznych kroków w celu jego opanowania.

Jednym z ważnych aspektów edukacji i wsparcia właścicieli jest pomoc w rozpoznawaniu oznak i objawów lęku separacyjnego u ich kotów. Może to obejmować dostarczenie informacji na temat powszechnych behawioralnych i fizycznych objawów lęku, jak również wskazówek dotyczących monitorowania zachowania kota podczas jego nieobecności [18]. Oprócz edukacji, oferowanie wsparcia i wskazówek właścicielom kotów może pomóc w łagodzeniu stresu i niepokoju, których mogą doświadczyć, mając do czynienia z kotem cierpiącym na lęk separacyjny. Może to obejmować udostępnianie zasobów i informacji na temat skutecznych strategii leczenia, a także oferowanie wsparcia emocjonalnego i dodawanie otuchy właścicielom, którzy mogą mieć trudności z opanowaniem lęku u kota.

Kluczowe może być również umożliwienie właścicielom nawiązania kontaktu z innymi opiekunami kotów, którzy mają do czynienia z podobnymi problemami, oferowanie regularnych wizyt kontrolnych w celu monitorowania postępów i dostosowywania planów leczenia w razie postępów oraz zapewnianie dostępu do dodatkowych zasobów, takich jak fora internetowe, grupy wsparcia i materiały edukacyjne [19]. Poprzez wyposażenie właścicieli w wiedzę i środki potrzebne do radzenia sobie z lękiem u kota, można przyczynić się do poprawy jakości jego życia i wzmocnienia więzi między kotami a ich opiekunami.

## **7. Podsumowanie**

Istnieją pewne trudności w zaakceptowaniu zdrowia emocjonalnego zwierzęcia w kontekście jego dobrostanu. Wynika to przede wszystkim z postrzegania emocji zwierząt jako tożsamyh z uczuciami odczuwanymi przez ludzi. Zrozumienie i rozpoznanie różnicy między frustracją, a lękiem i strachem kota jest szczególnym wyzwaniem [8]. Pracę nad lękiem separacyjnym należy rozpocząć od dokładnego studium danego przypadku. Skuteczna terapia behawioralna uwzględnia wszelkie czynniki mogące wpływać na zachowanie oraz emocje zwierzęcia. Odpowiedzialne posiadanie zwierzęcia obejmuje praktyki, które chronią je przed szkodami wynikającymi z problemów behawioralnych. Wielu właścicieli nie wie w jaki sposób wzbogacić środowisko kota i zadbać o jego potrzeby gatunkowe, dlatego niezwykle ważna jest edukacja oraz wsparcie opiekunów.

Większość badań nad zachowaniem kotów przeprowadzane jest w warunkach eksperymentalnych, schroniskach czy też na zdziczałych koloniach. W konsekwencji istnieje rozległy, wciąż nie w pełni poznany obszar dotyczący zachowań kotów domowych oraz ich interakcji z właścicielami [5].

## Uwagi ogólne/Podziękowania

Praca była częścią projektu pt. „Redukcja poziomu stresu u kotów schroniskowych poprzez zastosowanie wzbogaceń środowiskowych”. Dofinansowano przez Ministra Edukacji i Nauki ze środków z budżetu państwa w ramach programu „Studenckie koła naukowe tworzą innowacje”.

## Literatura

1. Leszczyńska B., *Zaburzenia separacyjne u kotów*, ANIMAL EXPERT, 1, 2018, s. 31-34.
2. Kozhevnikova M., *Zaburzenia psychiczne zwierząt w perspektywie antropologicznej Rekonesans*, Zoophilologica. Polish Journal of Animal Studies, 1, 2022, s. 1-18.
3. Horwitz D.F., *Separation-related problems in dogs and cats*, [w:] Horwitz D.F., Mills D.S. (red), *Manual of Canine and Feline Behavioural Medicine*, BSAVA, 2009, s. 146-158.
4. Mikkola S., Salonen M., Hakanen M., Lohi H., *Fearfulness associates with problematic behaviors and poor socialization in cats*, iScience, 25, 2022.
5. De Souza Machado D., Oliveira P.M.B., Machado J.C., Ceballos M.C., Sant'Anna A.C., *Identification of separation-related problems in domestic cats: A questionnaire survey*, 2020.
6. Bradshaw J., *Normal feline behaviour: ... and why problem behaviours develop*, Journal of Feline Medicine and Surgery, 20(5), 2018, s. 411-421.
7. Schwartz S., *Separation anxiety syndrome in dogs and cats*, Journal of the American Veterinary Medical Association, 222(11), 2003, s. 1526-1532.
8. Heath S., *Understanding feline emotions: ... and their role in problem behaviours*, Journal of Feline Medicine and Surgery, 20(5), 2018, s. 437-444.
9. Amat M., Camps T., Manteca X., *Stress in owned cats: behavioural changes and welfare implications*, Journal of Feline Medicine and Surgery, 2015.
10. Sirois K., *Can Cats Have Separation Anxiety?*, [www.petmd.com/cat/conditions/behavioral/can-cats-have-separation-anxiety](http://www.petmd.com/cat/conditions/behavioral/can-cats-have-separation-anxiety) [data dostępu: 08.06.2020]
11. Caney M.A.S., Robinson J.N., Gunn-Moore A.D., Dean S.R., *Happy cats: stress in cats and their carers associated with outpatient visits to the clinic*, Journal of Feline Medicine and Surgery, 18(8), 2022, s. 577-586.
12. Urrutia A., Martínez-Byer S., Szenczi P., Hudson R., Bánszegi O., *Stable individual differences in vocalisation and motor activity during acute stress in the domestic cat*, Behavioural Processes, 2019, s. 58-65.
13. Salman M.D., Hutchison J., Ruch-Gallie R., Kogan L., New J.C., Kass P.H., Scarlett J.M., *Behavioral Reasons for Relinquishment of Dogs and Cats to 12 Shelters*, Journal of Applied Animal Welfare Science, 3(2), 2000, s. 93-106.
14. Duffy D.L., de Moura R.T.D., Serpell J.A., *Development and evaluation of the Fe-BARQ: A new survey instrument for measuring behavior in domestic cats (Felis s. catus)*, Behavioural Processes, 141, 2017, s. 329-341.
15. Ganszczyk K., *Zachowania samouszkodzające o podłożu psychogennym u zwierząt – analiza przyczyn w kontekście możliwości leczenia*, Życie Weterynaryjne, 2010, s. 674-679.
16. Strickler B.L., Shull E.A., *An owner survey of toys, activities, and behavior problems in indoor cats*, Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research, 9(5), 2014, s. 207-214.
17. Horwitz D.F., Rodan I., *Behavioral awareness in the feline consultation: Understanding physical and emotional health*, Journal of Feline Medicine and Surgery, 20(5), 2018, s. 423-436.
18. Bennett L.S., Khan Z.M., *Managing Compulsive Disorders in Cats*, Today's Veterinary Practice, 2021, s. 98-102.
19. DeMartini M., *Separation anxiety treatment basics*, [w:] *Separation anxiety in dogs*, Dogwise, Wenatchee Washington U.S.A. 2020, s. 48-50.

## **Lęk separacyjny u kotów: zrozumienie i przeciwdziałanie**

### Streszczenie

Lęk separacyjny to stan zachowania, który może wystąpić zarówno u ludzi, jak i u zwierząt, gdy są oddzielone od swoich opiekunów lub znajomych środowisk. Kot domowy (*Felis silvestris catus*) jest obecnie jednym z najpopularniejszych zwierząt towarzyszących na świecie. Większość badań nad zachowaniem kotów przeprowadzane jest w warunkach eksperymentalnych, schroniskach czy też na zdziczałych koloniach. W konsekwencji istnieje rozległy, wciąż nie w pełni poznany obszar dotyczący zachowań kotów domowych oraz ich interakcji z właścicielami. W pracy omówiono znaczenie identyfikacji oraz zapobiegania problemom związanym z separacją w kontekście dobrostanu przedstawicieli gatunku. Opisano przyczyny, symptomy oraz techniki wykorzystywane w terapii lęku separacyjnego.

Słowa kluczowe: kot domowy, lęk separacyjny, dobrostan

## **Separation anxiety in cats: understanding and counteracting**

### Abstract

Separation anxiety is a condition of behavior that can occur in both humans and animals when they are separated from their caregivers or familiar environments. The domestic cat (*Felis silvestris catus*) is currently one of the most popular companion animals in the world. Most studies on cat behavior are conducted in experimental conditions, shelters or feral colonies. As a consequence, there is a vast, still not fully understood area regarding the behavior of domestic cats and their interaction with their owners. The paper discusses the importance of identifying and preventing separation problems in the context of the welfare of representatives of the species. The causes, symptoms and techniques used in the treatment of separation anxiety are described.

Keywords: domestic cat, separation anxiety, welfare

# Wykorzystanie różnego rodzaju materiałów biologicznych w ocenie dobrostanu kotów domowych (*Felis catus*)

## 1. Wprowadzenie

Dobrostan (ang. *welfare*) zwierząt jest szerokim pojęciem, które obejmuje zarówno psychiczne (behawioralne) jak i fizyczne aspekty, które dodatkowo oddziałują na siebie wzajemnie. Termin ten określa światowe trendy w kształtowaniu warunków bytu zwierząt towarzyszących, gospodarskich, laboratoryjnych, a także żyjących m.in. w ogrodach zoologicznych. Jedną z wielu definicji przedstawia dobrostan jako harmonię zwierzęcia ze środowiskiem, która przejawia się prawidłowym funkcjonowaniem fizjologicznym oraz psychicznym, żywotnością i wysoką jakością życia. Główne wymogi dobrostanu, czyli tak zwane pięć wolności, nakazują, by zwierzęta były:

- wolne od głodu i pragnienia;
- wolne od dyskomfortu;
- wolne od bólu, urazów i chorób;
- wolne od strachu i stresu;
- zdolne do wyrażania normalnego behawioru.

Ocena dobrostanu powinna podlegać metodom obiektywnym, czyli diagnostyce klinicznej i laboratoryjnej, metodach zoohigienicznych (ocena parametrów powietrza) oraz subiektywnym – polegającym na bieżącym obserwowaniu zachowania zwierząt (opracowanie etogramu). Najczęściej piśmiennictwo podaje cztery podstawowe grupy, pod kątem których ocenia się dobrobyt zwierząt:

1. Behawioralne.
2. Fizjologiczne.
3. Zdrowotne (kondycja i wygląd, płodność, zachorowalność).
4. Produkcyjne.

Wśród fizjologicznych parametrów szczególnie warto zwrócić uwagę na stężenie hormonów stresu, takich jak: kortyzol, kortyzon, kortykosteron i aldosteron, bowiem każdemu stresowi towarzyszy nadmierne ich wydzielanie. Najwięcej publikacji skupia się na kortyzolu, który jest wykrywalny w pobieranych od zwierząt materiałach biologicznych pochodzenia tkankowego, wydzielinach i wydalinach [1, 2].

---

<sup>1</sup> kasiakurpas@gmail.com, Felinologiczne Studenckie Koło Naukowe, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://up.lublin.pl/>.

<sup>2</sup> m.jaksender666@gmail.com, Felinologiczne Studenckie Koło Naukowe, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://up.lublin.pl/>.

<sup>3</sup> justyna.wojtas@up.lublin.pl, Katedra Etologii Zwierząt i Łowiectwa, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://up.lublin.pl/>.

## **2. Cel pracy**

Celem pracy było omówienie różnego rodzaju materiałów biologicznych istotnych w ocenie dobrostanu kotów. W szczególności wzięto pod uwagę poziom kortyzolu, kluczowego parametru, który daje nam rzetelną informację o poziomie stresu zwierzęcia.

## **3. Materiały biologiczne**

Dzięki materiałom biologicznym można ocenić szereg parametrów fizjologicznych zwierzęcia, tj. morfologię i biochemię krwi, wydolność narządów wewnętrznych, a przede wszystkim poziom kortyzolu i kortykosteronu. Podane parametry stanowią solidną podstawę kociej profilaktyki, umożliwiają trafną diagnozę zaburzeń i schorzeń.

Materiały biologiczne można podzielić na:

1. Płynne:
  - Krew (surowica i osocze);
  - Ślina;
  - Mocz.
2. Półpłynne:
  - Kał;
  - Woskowina.
3. Suche i stałe:
  - Włosy;
  - Fragmenty rogu pazurowego (pazury) [3].

Za pomocą oznaczenia poziomu kortyzolu we krwi, ślinie oraz moczu można określić natężenie stresu ostrego. Otrzymane wartości należy porównać z wartościami referencyjnymi. Natomiast dzięki włosom, pazurom, fekaliom oraz woskowinie można monitorować stres przewlekły (chroniczny) na podstawie oznaczeń stężenia metabolitów kortyzolu [4, 5].

### **3.1. Krew**

Krew jest najczęściej używanym biomarkerem do monitorowania ostrego stresu. Kortyzol bada się z osocza bądź surowicy krwi (część osocza pozbawiona fibrynogenu) – materiały te należy przechowywać w lodówce, można także mrozić [3]. Jednakże wyniki krwi mogą wyjść mylne i problematyczne ze względu na duże wahania poziomu kortyzolu w trakcie dnia. Największe jego stężenie jest z samego rana, od tego czasu stopniowo maleje. Co więcej, na jego poziom mają także wpływ temperatura, wilgotność, a nawet wiatr. To nie koniec minusów tego materiału biologicznego – pobieranie krwi, jako zabieg inwazyjny, wiąże się z ogromnym stresem dla kotów, a także może być dla nich bolesne. Potrzebna jest wykwalifikowana osoba do jej pobrania oraz najczęściej osoba towarzysząca, która może przytrzymać, unieruchomić wyrwijające się zwierzę. Stresogenność tej procedury wpływa na poziom kortyzolu we krwi, w której i tak stosunkowo krótko się utrzymuje – w osoczu 5-15 minut, w surowicy 30-180 minut po wystawieniu na czynnik stresowy; po tym czasie jego stężenie spada. Jedyną zaletą tego biomarkera jest to, że odzwierciedla rzeczywisty poziom kortyzolu w danym momencie [3, 5, 6].

### **3.2. Włosy**

W ciągu ostatniej dekady wykorzystanie włosów jako wskaźnika stresu zostało dobrze ustalone i udokumentowane. Jako jeden z przedstawicieli niepłynnych biomarkerów jest wykorzystywany do pomiaru długotrwałego, przewlekłego stresu, gdyż kortyzol długo



jest wykrywalny, mowa tutaj o tygodniach, miesiącach a nawet latach. [5]. Nie jest do końca jasne w jaki sposób kortyzol włącza się do włosa, ale ogólnie można powiedzieć, że jego wolna, niezwiązana frakcja jest wprowadzana do miazgi włosa z naczyń krwionośnych poprzez pasywną dyfuzję, w trakcie jego wzrostu. Aby określić obecność stresu, sierść musi być obcięta blisko skóry z obszaru krzyżowego, nie przez wyrwanie, gdyż stanowi to ryzyko zanieczyszczenia materiału krwią, co mogłoby zakłamać wyniki pomiaru [6, 7]. Co więcej, oprócz obszaru ciała, na wyniki mogą mieć wpływ także produkty do pielęgnacji sierści, kolor włosa oraz możliwa lokalna synteza kortyzolu w mieszkach włosowych [8].

Na wyniki pomiaru kortyzolu we włosach nie wpływają takie aspekty jak czas pobrania próbek, jak w przypadku pobierania krwi, gdzie pora dnia miała znaczenie, czy też stres spowodowany pobieraniem materiału. Poziom kortyzolu we włosach odzwierciedla jego poziom we krwi w czasie wzrostu włosa, co umożliwia włosom wychwycenie informacji o tym, jak jego stężenie zmieniało się w czasie, a tym samym czyni z niego przydatną biomatrycę do monitorowania dobrostanu i zdrowia zwierząt pod wpływem czynników środowiskowych [3]. Zaletą tego materiału jest także to, że pobieranie go jest dla kotów bezbolesne, oczywiście o ile zrobi się to we właściwy sposób, nie wymaga obecności wykwalifikowanego personelu, ani specjalistycznego sprzętu [5].

### 3.3. Fragmenty rogu pazurowego

Paznokcie, pazury i kopyta są zrogowaciałymi tkankami i tak samo jak włosy można wykorzystać je do oceny poziomu kortyzolu czy też kortykosteronu. Biologiczne molekuly obecne we krwi mogą deponować w tkanki, a ich powolny wzrost czyni je pożytecznymi do śledzenia zmian stężenia kortyzolu. Te materiały odzwierciedlają aktywność HPA (oś podwzgórze-przysadka-nadnercza) w dłuższych okresach (tygodnie, nawet miesiące), co czyni pazury biomarkerem użytecznym do monitorowania przewlekłego stresu u kotów [5].

Zaletą pomiaru kortyzolu w pazurach jest stosunkowo niska inwazyjność zabiegu dla kotów, o ile zrobi się to umiejętnie. Nie jest to także bardzo stresujące, choć zwierzęta te często nie chcą dobrowolnie dać sobie ich obciąć, co może stanowić problem, dlatego może tutaj być potrzebna druga osoba do pomocy. Niemniej jednak nie są potrzebni pracownicy weterynaryjni. Przechowywanie kocich pazurów nie stanowi problemu, wystarczy włożyć do woreczka strunowego poszczególne próbki i trzymać w temperaturze pokojowej [3, 5].

### 3.4. Ślina

Ślina, wraz z surowicą krwi oraz moczem należy do najczęściej wykorzystywanych materiałów biologicznych w ocenie poziomu stresu u kotów. Poziom kortyzolu a także kortykosteronu w tej biomacie odzwierciedla aktywność osi podwzgórze-przysadka-nadnercza (HPA) w chwili pobrania próbki. Ponadto kortyzol w tej biomacie występuje tylko w postaci wolnej, w stężeniu 2-15% całkowitego poziomu we krwi. Ślina przydatna jest do zdiagnozowania oraz monitorowania ostrego stresu.

Dużą zaletą tego biomarkera jest stosunkowo łatwa dostępność – pobieranie materiału nie jest inwazyjne oraz nie wymaga specjalistycznego przeszkolenia. Ważne jest, aby zwierzę poddawane badaniu było oswojone z tą metodą pobierania próbki, tak by w jego trakcie nie odczuwało silniejszego stresu. Ponieważ poziom kortyzolu zawarty w ślinie odzwierciedla poziom stresu tuż przed pobraniem, wiązałoby to się z zafałszowaniem

wyników badań. Kolejną trudnością, jaka wynika ze stosowania tej metody jest uzyskanie odpowiedniej ilości materiału (50 µL) potrzebnego do badania. Ilość ta jest trudna do uzyskania nawet w sprzyjających warunkach, natomiast w sytuacji stresowej takiej jak wizyta w klinice (zmiana otoczenia, obecność nieznanego człowieka) u kotów występuje zmniejszona produkcja śliny [3].

Dużą wadą wykorzystywania tego materiału biologicznego jest zagrożenie wynikające z zanieczyszczenia próbki śliny pokarmem, wodą lub krwią z jamy ustnej. Prawdopodobnie pobrane próbki powinny przechowywać się w niskiej temperaturze (np. w lodówce).

### **3.5. Kał**

Kał jest materiałem biologicznym dostarczającym informacji o ogólnym, długoterminowym oraz ogólnoustrojowym narażeniu organizmu na glikokortykosteroidy (kortyzol, kortykosteron). Można go wykorzystać do monitorowania poziomów przewlekłego stresu, a nieinwazyjne, bezstresowe pobieranie próbek jest szczególnie korzystne dla dobrostanu zwierząt. Biomarker ten odzwierciedla aktywność HPA w zakresie od kilku godzin do kilku dni przed pomiarem. Kał można wykorzystać do monitorowania zarówno ostrego, jak i przewlekłego stresu. Nie jest to kwestia materiału, ale częstotliwości pobierania próbek. Wychwycenie ostrego stresu wymaga częstszych próbek (aby nie przegapić szczytowego wydalania metabolitów kortyzolu w kale), podczas gdy przewlekły stres (lub wyjściową aktywność HPA) można ocenić na podstawie kilku próbek (zwłaszcza, że poziomy w kale są wyrównane). Stężenie kortyzolu w próbce odpowiada 80% całkowitego poziomu tego hormonu we krwi, a jego maksymalne stężenie występuje po około 24 h po ekspozycji na stresor.

Pobranie kału do badania nie jest skomplikowane i nie wymaga pomocy wyszkolonego personelu. Metoda ta ma jednak jedną wadę – pobranie właściwej próbki może być utrudnione w przypadku kotów żyjących w grupach i dzielących kuwety. Trudność może również sprawić chęć przebadania większej grupy kotów oraz pobrania materiału od każdego z nich.

Wadą wykrywania metabolitów glukokortykoidów w kale jest też to, że nie wykrywają one krótkotrwałych doświadczeń stresowych. Krótkotrwałe lub niewielkie wahania poziomu kortyzolu są najczęściej maskowane przez metabolity gromadzące się w kale i żółci. Próbki kału zawierające wykrywalną ilość metabolitów odzwierciedlającą jednoznaczne doświadczenia stresowe można również przeoczyć w przypadku nieregularnego pobierania próbek [3]. Próbki kału nie są skomplikowane w przechowywaniu – wystarczy trzymać je w chłodnej temperaturze w lodówce.

### **3.6. Mocz**

Mocz tak jak i inne płyny biologiczne wykorzystywany jest w diagnostyce i monitorowaniu ostrego stresu, ale umożliwia również wykrycie stresu przewlekłego. Ten biomateriał odzwierciedla aktywność HPA (osi podwzgórze-przysadka-nadnercza) od kilku godzin do kilku dni przed pomiarem. Stężenie kortyzolu w próbce moczu odpowiada 15-18% jego poziomu we krwi. Maksymalne stężenie natomiast pojawia się po około 9 h po ekspozycji na czynnik stresujący [3].

Pobranie próbki moczu do badania na ogół nie jest trudne i nie wymaga obecności wyszkolonego personelu ani szkolenia. Zdarzają się jednak przypadki, w których stres u kotów może objawiać się zatrzymaniem moczu. Sytuacja ta wymaga interwencji specjalisty – lekarza weterynarii, który może wykonać punkcję z pęcherza moczowego

i w ten sposób pobrać próbkę. Tak jak w przypadku kału, samodzielne zebranie próbek w dużych grupach zwierząt może być niemożliwe i powinno się rozważyć wtedy alternatywną metodę [5].

Ponadto materiał może ulec zanieczyszczeniu np. obecnością krwi w moczu, co będzie skutkowało zafałszowaniem wyników. Pobieranie moczu jednak jest bezinwazyjne i bezbolesne, dlatego chętnie praktykuje się tą metodę. Zebrane próbki należy przechowywać w lodówce, w chłodnej temperaturze.

### **3.7. Woskowina**

Woskowina została niedawno przedstawiona jako obiecująca matryca, którą można wiarygodnie wykorzystać do pomiaru stresu poprzez ekstrakcję kortyzolu. Woskowina ma te same zalety pomiaru hormonów i pobierania próbek w porównaniu z tradycyjnymi płynami biologicznymi (krew, osocze, surowica i ślina) i eliminuje kwestie etyczne, ponieważ pozyskiwanie tego materiału jest nieinwazyjne. Woskowina jako niestresująca metoda pobierania próbek u zwierząt jest również uważana za źródło skumulowanych, retrospektywnych pomiarów hormonów stresu. Uważa się, że woskowina reprezentuje nagromadzenie produkcji kortyzolu w ciągu tygodni lub miesięcy. Ponadto pobieranie i przechowywanie woskowiny jest proste, co może ułatwić ich wykorzystanie w badaniach nad przewlekłym stresem [5]. Tak jak w przypadku włosów czy fragmentów pazurów, biomarker ten jest może być wykorzystywany do przebadania większej liczby osobników. Ponadto podczas pobierania próbki poziom kortyzolu nie ulegnie zafałszowaniu nawet przy reakcji stresowej zwierzęcia na związane z tym czynności. Materiał ten wystarczy przechowywać w lodówce w chłodnym środowisku.

## **4. Podsumowanie**

Istnieje wiele możliwości w zakresie oceny dobrostanu kotów, a także zbadania poziomu ich stresu. Wykorzystanie wielu różnorodnych materiałów biologicznych umożliwia dobór odpowiedniej metody w zależności od potrzeb. Należy pamiętać o tym, że zastosowanie właściwych biomacierzy u różnych osobników zależy od celów badania. Dlatego podczas badania stresu u kotów należy wziąć pod uwagę wszystkie okoliczności. Korzystanie z wielu biomarkerów jednocześnie może być przydatne w utworzeniu lepszego obrazu stanu zdrowia oraz wykazywać bardziej szczegółowe różnice.

W eksperymentach naukowych lub diagnostyce medycznej większość oznaczeń kortyzolu wykonano na biomacierzach, takich jak surowica, ślina, mocz, mleko i inne płyny biologiczne. Jednak większość tych ciekłych biomacierzy nadaje się do pomiaru stężenia kortyzolu w jednym punkcie czasowym i reprezentuje stan ostrego stresu w fizjologicznych wahaniami dobowych. Istnieje potencjalny związek między poziomem kortyzolu we włosach a poziomem kortyzolu w ślinie, moczu i kale, ale każdy z nich ma swoje ograniczenia. Ponadto korelacje między różnymi próbkami materiałów nie okazały się przydatne, zwłaszcza te odzwierciedlające różne okna czasowe. Niemniej jednak tendencja wzrostu lub spadku hormonów stresu w różnych matrycach dostarcza wglądu w interpretację wyników badań. Istnieje wiele czynników, które mają tendencję do zafałszowywania wyników stężenia kortyzolu i jego metabolitów we krwi. Należy zauważyć, że chociaż wykorzystanie moczu i kału do pomiaru hormonów jest obiecujące i wiąże się z produkcją hormonów przez dłuższy czas, pobieranie próbek moczu i kału od każdego osobnika oraz trudność w przechowywaniu tych próbek stwarzają pewne trudności. Wydaje się, że wykorzystanie sierści kotów w celu lepszej identyfikacji zmian hormo-

nalnych w czasie jest lepszym podejściem do przezwyciężenia powyższych trudności. Równie dobrą metodą jest pobieranie fragmentów pazurów. Obie te metody są całkowicie bezbolesne, bezinwazyjne i nie wymagają obecności wyszkolonego personelu. Próbkę są bardzo łatwe w przechowywaniu, ponieważ wystarczy je zabezpieczyć i trzymać w temperaturze pokojowej. Za ich pomocą możemy odczytać poziom stresu nawet sprzed wielu miesięcy, ponieważ zarówno w sierści (włosach), jak i w pazurach stężenie kortyzolu utrzymuje się bardzo długo. Warto dodać, że tymi metodami jesteśmy w stanie sprawnie przebadac grupę wielu osobników. Kolejną zaletą jest fakt, że stres związany z obsługą zwierząt podczas zbioru nie wpływa na stężenie kortyzolu w pobranych próbkach.

Ciekawe spostrzeżenia można również uzyskać łącząc ocenę behawioralnych i fizjologicznych wskaźników stresu u kotów. Ocena zachowania jest prawdopodobnie mniej czułym wskaźnikiem stresu niż stosunek kortyzolu do kreatyniny. Dlatego zachowanie musi być ekstremalne, aby można było wykryć stres. Stwierdzono również, że koty z wyższym poziomem kortyzolu m.in. bardziej wokalizują, mają rozszerzone źrenice, napięte mięśnie ciała, uszy skierowane do tyłu i poruszają się mniej niż koty z niższym poziomem kortyzolu. Spektrum strategii radzenia sobie jest szerokie u kotów. Niektórzy autorzy wykazują elementy zachowań stresowych, inni fizjologiczne przystosowania, czy wysoki poziom hormonów stresu i nie zauważalną zmianę sposobu bycia [3].

Ocena poziomu stresu jako wskaźnika dobrostanu za pomocą wymienionych metod umożliwia ocenę i poprawę warunków życia u kotów. Szczególne znaczenie ma to w przypadku zwierząt przebywających w schroniskach, gdzie towarzystwo innych osobników, ich liczebność, obecność schorzeń oraz specyficzne warunki powodują nasilenie stresu i problemy behawioralne. Dzięki badaniom można dostosować środowisko tak, aby zminimalizować stres u zwierząt, poprawić komfort ich bytowania oraz zapobiec rozwojowi niepożądanych zachowań.

## Literatura

1. Marć-Pieńkowska J., Topolińska P., Mitura K., *Poziom stresu wskaźnikiem dobrostanu zwierząt*, Wiadomości Zootechniczne, 2014, s. 36-42.
2. Bombik T., Bombik E., Biesiada-Drzazga B., *Dobrostan zwierząt w aspekcie kryteriów i metod oceny*, Przegląd Hodowlany, 6, 2013, s. 25-27.
3. Ataallahi M., Nejad J.G., Park K., *Selection of appropriate biomatrices for studies of chronic stress in animals: a review*, J Anim Sci Technol, 64(4), 2022, s. 621-639.
4. Garbiec A., Karpiński M., Wojtaś J., *Określanie poziomu stresu u zwierząt towarzyszących na podstawie poziomu kortyzolu w różnych materiałach biologicznych*, Wybrane zagadnienia w produkcji zwierzęcej, Lublin 2020, s. 22-28.
5. Nejad. J.G., Ghaffari M.H., Ataallahi M., Jo J., Lee H., *Biomarkers of Stress in Different Animal Species*, Scholarly Community Encyclopedia, 2022.
6. Vojtkovska V., Voslarova E., Vecerek V., *Methods of Assessment of the Welfare of Shelter Cats: A Review*, Animals, 2020.
7. Cook N.J., *Minimally invasive sampling media and the measurement of corticosteroids as biomarkers of stress in animals*, Canadian Journal of Animal Science, 2012
8. Mack Z., Fokidis H.B., *A novel method for assessing chronic cortisol concentrations in dogs using the nail as source*, Domestic animal endocrinology, 2016, s. 53-56
9. Kołodziejczyk K., Cywińska A., *Oznaczanie metabolitów kortyzolu w kale jako metoda oceny stresu u dzikich zwierząt*, Życie Weterynaryjne, 94(5), 2019
10. Pyczek T., Stefaniak T., *Wykorzystanie oznaczania kortyzolu i jego pochodnych w ocenie stresu u psów służbowych*, Życie Weterynaryjne, 88(2), 2013

## **Wykorzystanie różnego rodzaju materiałów biologicznych w ocenie dobrostanu kotów domowych (*Felis catus*)**

### Streszczenie

Koci dobrostan można ocenić zarówno przez pryzmat aspektów behawioralnych jak i fizjologicznych, które dodatkowo oddziałują na siebie nawzajem. W przypadku tych drugich, ważną rolę odgrywają pobierane od zwierząt materiały biologiczne. Są to przede wszystkim materiały pochodzenia tkankowego jak krew, włosy czy fragmenty rogu pazurowego, wydzieliny takie jak ślina i woskowina czy też wydaliny jak kał i mocz. Przy ich pomocy można ocenić szereg parametrów fizjologicznych zwierzęcia – skontrolować wartości morfologii i biochemii krwi, oznaczyć poziom kortyzolu, a także ocenić wydolność narządów wewnętrznych. Parametry fizjologiczne są obiektywnymi biomarkerami zdrowia i ogólnego samopoczucia zwierzęcia, przez co stanowią solidną podstawę kociej profilaktyki, diagnoz zaburzeń oraz schorzeń. Celem pracy było omówienie różnego rodzaju materiałów biologicznych przydatnych w ocenie poziomu dobrostanu kotów. Słowa kluczowe: dobrostan, kot, wskaźniki, kortyzol, ocena

## **The use of different biological materials to assess the welfare of domestic cats (*Felis catus*)**

### Abstract

The well-being of cats can be assessed both from the point of view of behavioural and physiological aspects, which additionally influence each other. For the latter, biological material taken from animals plays an important role. These are primarily tissue materials such as blood, hair or claw horn fragments, secretions such as saliva and earwax, or excretions such as feces and urine. With their help, you can assess a number of physiological parameters of the animal – check the values of blood morphology and biochemistry, determine the level of cortisol, as well as evaluate the performance of internal organs. Physiological parameters are objective biomarkers of the animal's health and general well-being, which makes them a solid basis for cat prophylaxis, diagnosis of disorders and diseases. The aim of the study was to discuss different types of biological materials useful in assessing the welfare of cats.

Keywords: welfare, cat, indicators, cortisol, assessment

## **Wzbogacenia środowiskowe jako metoda redukcji stresu kotów schroniskowych**

### **1. Wprowadzenie**

Wzbogaczeniami środowiska nazywamy takie jego elementy, które mają dostarczyć zwierzęciu odpowiednią stymulację. Zatem środowisko wzbogacone to takie, w którym zwierzę ma dostęp do różnych aktywności pozytywnie oddziaływujących na jego dobrostan. Aspekty środowiska możemy podzielić na pięć podstawowych „systemów” – zasoby materialne, wydalanie, zachowania socjalne i behawior [1]. Urozmaicenie środowiska kotów schroniskowych trzymanyh w zamknięciu jest szczególnie ważne. Daje im możliwości przejawiania naturalnych kocich zachowań wpisanych w ich etogram, jak i zapobiega oraz pomaga leczyć zaburzenia zachowania i związane z nimi problemy zdrowotne. Do zachowań wpisanych w koci etogram możemy zaliczyć: sen (ok. 10 godzin snu i 4-5 godzin odpoczynku w ciągu doby), pielęgnację i toaletę (ok. 3 godziny), zabawę, polowanie – zdobywanie pożywienia, jedzenie, rozmnażanie, zapewnianie sobie bezpieczeństwa poprzez ukrywanie się, eksplorację, obserwację czy znaczenie terenu (moczem lub poprzez drapanie). Ukrywanie się jest ważną częścią behawioru pozwalającą kotom na zaadoptowanie się do nowego środowiska [2]. Brak możliwości przejawiania tych zachowań może prowadzić do wystąpienia problemów behawioralnych, jak np. patologicznej agresji lub zaburzeń przestrzeni zamkniętej. Kolejnym skutkiem mogą być również problemy zdrowotne w postaci idiopatycznego zapalenia pęcherza, do którego dochodzi w głównej mierze ze stresu, czy też otyłość spowodowana brakiem ruchu, nieodpowiednią dietą i sposobem karmienia. Koty zachowują również swoje zachowania tropiące i komunikacyjne, gdy przebywają w pomieszczeniach zamkniętych. Z tego powodu zdarza się, że wykazują zachowania niepożądane, gdy są pozbawione odpowiednich ujęć dla ich ekspresji [1].

### **2. Znaczenie praktyczne wzbogaceń środowiska w schroniskach dla bezdomnych zwierząt**

Behawioralne problemy kotów są zasadniczym powodem, przez który zostają one oddane, porzucone lub poddane eutanazji [3]. Problemy związane z brakiem urozmaiceń środowiskowych nie są zazwyczaj poruszane aż tak dogłębnie, jeśli chodzi o koty schroniskowe w porównaniu do kotów towarzyszących. Schroniska dla bezdomnych zwierząt są potencjalnie stresującym środowiskiem dla kotów i wykorzystanie wzbogaceń środowiska jest często rekomendowane jako metoda obniżenia poziomu ich stresu [4]. Niestety z powodu niewystarczającego budżetu lub przez braki w dostępnym personelu,

---

<sup>1</sup> karolinapustula678@gmail.com, Felinologiczne Studenckie Koło Naukowe, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://up.lublin.pl/>.

<sup>2</sup> weronikaa.cwa@gmail.com, Felinologiczne Studenckie Koło Naukowe, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://up.lublin.pl/>.

<sup>3</sup> justyna.wojtas@up.lublin.pl, Katedra Etologii Zwierząt i Łowiectwa, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://up.lublin.pl/>.

nie każde schronisko ma możliwość zapewnić kotom odpowiednie urozmaicenia. W polskich schroniskach dla bezdomnych zwierząt rzadko bierze się pod uwagę realne potrzeby zwierząt, a wynika to nie tylko z zaniedbań ludzkich, ale także z nieadekwatnych wymogów prawnych [5]. Regulacje prawne dotyczące schronisk dla zwierząt nie zawierają żadnych wytycznych co do konieczności zapewniania zwierzętom urozmaiceń środowiskowych. W większości przypadków wynikiem braku takich wytycznych jest zapewnianie zwierzętom jedynie minimum środowiska bytowego wystarczającego do zaspokojenia zaledwie ich najbardziej podstawowych potrzeb. W niektórych schroniskach prowadzi to do obniżonego dobrostanu zwierząt, w tym kotów. Dlatego tak istotne jest wprowadzenie elementów wzbogacających środowisko kotów schroniskowych zwiększające ich dobrostan.

### **3. Metody wykorzystywane jako wzbogacenia środowiska**

Najczęściej wykorzystywane wzbogacenia można podzielić na dwie główne kategorie: metody ożywione (socjalne) i metody nieożywione [6]. Metodami ożywionymi nazywamy wzbogacania środowiska, które uwzględniają stymulację socjalną kotów poprzez kontakt wewnątrzgatunkowy z innymi kotami lub kontakt międzygatunkowy z ludźmi. W przypadku schronisk są to głównie pracownicy placówki, ale także wolontariusze. Poświęcenie czasu na obserwację dynamiki i zachowań w grupie kotów jest niezbędne do zidentyfikowania wszelkich luk w wyposażeniu lub rozmieszczeniu urozmaiceń [7]. W pracy bliżej opisane zostało wykorzystanie metod nieożywionych, czyli takich, które dodają do środowiska kotów nieożywione czynniki tj. zabawki, elementy wyposażenia, nowe sposoby żywienia oraz stymulację sensoryczną.

#### **3.1. Zabawki**

Zabawki są najpopularniejszą i najwygodniejszą metodą wzbogacenia środowiska, jednak należy zwrócić uwagę na to, że koty szybko mogą przyzwyczajać się do zabawek, jeśli nie są one regularnie zmieniane i tym samym przestać z nich korzystać. Aby utrzymać zainteresowanie kotów i zapewnić odpowiedni poziom stymulacji, należy zagwarantować im różnorodność i wybór. Zabawa z kotem powinna również uwzględniać naturalnie występujący u niego cykl łowiecki i jego fazy, czyli: polowanie, łapanie, zabawę zdobyczą, zabijanie, zjadanie, toaletę i odpoczynek. Zabawki ukierunkowane na ruch (np. piłki, tory) nie dają możliwości spełnienia fazy konsumpcyjnej sekwencji polowania [6]. Dlatego chcąc zasymulować kotu proces polowania, należy pamiętać, aby po zabawie z kotem przy użyciu zabawek podać mu niewielki posiłek. Może to być problemem w przypadku schronisk z małą liczbą dostępnych wolontariuszy, a dużą liczbą kotów. W takiej sytuacji można wykorzystać zabawki, w środku których możliwe jest umieszczenie karmy. Używając ich w czasie zabawy koty samodzielnie wydobędą pożywienie.

#### **3.2. Elementy wyposażenia**

Dobrostan kotów schroniskowych można poprawić w dużej mierze przez odpowiednie i przemyślane zagospodarowanie dostępnej w schronisku przestrzeni. Wymóg łatwego czyszczenia zamkniętych powierzchni, takich jak klatki weterynaryjne czy boksy w schroniskach, sprawia że podłoga nie uwzględnia wymagań dobrostanu lub utrudnia wzbogacanie otoczenia [6]. Umożliwienie kotom korzystania z rozmaitych wzbogaceń środowiska w formie przedmiotów, czy struktur może być metodą sprzyjającą realizacji

behavioru typowego dla gatunku. Wspinanie się i skakanie należą do naturalnych zachowań kotów, dlatego zwierzęta te tak chętnie korzystają z przestrzeni położonych wyżej nad poziomem podłogi. Wykorzystanie powierzchni pionowych w schroniskach może się więc okazać korzystne dla poprawy dobrostanu kotów. Można to osiągnąć przez wprowadzenie takich rozwiązań, jak systemy półek, sznury, drapaki oraz miejsca do wspinaczki. Zapewniają one możliwość aktywności fizycznej, eksploracji, a także szansę odpoczynku i ukrycia się na różnych wysokościach, zwiększając tym samym komfort i poczucie bezpieczeństwa kotów. Dostęp do kryjówek pomaga kotom również w adaptacji do nowego miejsca. Stwierdzono, że koty nowo przybyłe do schroniska, które miały możliwość korzystania z pudełka otwartego z jednego boku, wykazywały niższy poziom stresu (mierzony w skali punktowej Cat-Stress-Score) [6]. W przypadku kotów utrzymywanych w schroniskach w grupach, systemy półek zwiększające dostępną przestrzeń dla kotów mogą obniżyć niebezpieczeństwo wystąpienia agresji terytorialnej w stosunku do innych osobników.

### **3.3. Nowe sposoby żywienia**

W trakcie karmienia kotów należy uwzględnić ich potrzebę do wyrażania swoich naturalnych instynktów łowieckich, czyli naturalną potrzebę polowania, zdobywania pożywienia. Niestwarzanie okazji do drapieżniczych zachowań może pozbawić koty aktywności psychicznej i fizycznej, co może przyczynić się do rozwoju otyłości i innych problemów zdrowotnych [8]. W większości schronisk koty mają stały dostęp do suchej karmy, co może powodować ich mniejsze zainteresowanie pożywieniem oraz brak możliwości wyrażania naturalnych zachowań. Aby zainteresować koty karmą i urozmaicić ich środowisko, należy wprowadzić nowe sposoby żywienia. Można ukrywać karmę w różnych miejscach, aby zachęcić zwierzęta do szukania pożywienia np. schować karmę w trawie. Mokrą karmę można podawać w miskach spowalniających, które mają na celu zmniejszyć tempo spożywania posiłku. Suchą karmę oraz smakołyki przeznaczone dla kotów można umieszczać w matach węchowych, specjalnych podajnikach na jedzenie, zabawkach dozujących karmę czy w kulach na smakołyki. Podawanie pożywienia w różnych formach zachęci koty do jego spożywania, co również będzie miało pozytywny wpływ na ich behavior. Dzięki fizycznej manipulacji karmą zwiększa się sprawność umysłowa kotów oraz wzrasta ich dzienna aktywność fizyczna, co ogranicza ryzyko wystąpienia otyłości. Koty muszą mieć stały dostęp do wody, jednak nie każdy osobnik chętnie spożywa wodę z miski. Jest to dla kotów mało interesujące, zdecydowanie preferują wodę bieżącą. Dlatego dobrym rozwiązaniem są różnego rodzaju fontanny, które powinny być umieszczone w kilku pomieszczeniach. Jeśli koty w schronisku są trzymane osobno, wtedy nie ma możliwości zapewnienia każdemu osobnikowi dostępu do fontanny. W takim wypadku wodę należy podawać w dosyć płaskich i szerokich miskach, ponieważ koty nie lubią nadmiernego stymulowania wibrysów. W żywieniu kotów występuje tak zwany „efekt monotonii”, czyli koty wykazują zmniejszone preferencje dla pokarmów, które znają i jednocześnie przejawiają chęć spożywania nowych pokarmów. Dlatego warto urozmaicać i zmieniać smak karmy.

### **3.4. Stymulacja sensoryczna**

Koty są inteligentnymi i aktywnymi zwierzętami, które potrzebują wzbogaceń środowiska. Oprócz zabawek wyzwalających aktywność fizyczną, potrzebują przedmiotów stymulujących ich zmysły oraz psychikę. Dla zapewnienia stymulacji wzrokowej,



powinny mieć dostęp do obserwacji świata przez okno lub wolierę. Należy zwrócić uwagę, aby kot obserwował pozytywne bodźce. W czasie, gdy będzie patrzył np. na gołębie za oknem, czyli na swoją nieosiągalną zdobycz, będzie powodowało to u niego frustrację. Okna umożliwiające obserwację dzikiej przyrody i filmy przyrodnicze dostarczają kotom przydatne formy wzbogacenia zabawy i rozrywki [8]. Koty są drapieżnikami, ale również ofiarami, z tego powodu do obserwacji wybierają miejsca, które są wyżej położone, dlatego warto umieścić półki przeznaczone dla nich na różnych wysokościach w pobliżu okien. Wzbogacenia słuchowe mogą mieć na celu zamaskowanie nieprzyjemnego dla zwierzęcia hałasu, np. remontu czy budowy. W takiej sytuacji do zagłuszania uciążliwych dla kota dźwięków można użyć radia. Zmysł węchu u kotów jest silnie rozwinięty. Aby stymulować jego rozwój oraz ciekawość kotów, należy zapewnić im dostęp do kocimiętki, waleriany, owsa, trawy dla kotów lub innych nieszkodliwych dla nich roślin doniczkowych tj. papirus, paproć, storczyk, czy fiołek afrykański. Kocimiętka na koty działa pobudzająco, odprężająco, uaktywnia instynktowne zachowania kotów tj. zabawa czy polowanie. Substancja zawarta w niej powodująca takie zachowanie to nepetalakton, czyli olejek eteryczny, wydzielany w liściach. Waleriana oprócz działania pobudzającego na niektóre koty, działa także relaksująco i łagodząco stres, co może być dodatkowym atutem w schroniskach, gdzie koty często odczuwają niepokój. Rośliny te można trzymać w doniczkach, w wolierach na zewnątrz lub wykonać zabawkę wypełnioną suszem z kocimiętki lub kozłka lekarskiego. Można korzystać także z preparatów w sprayu, w celu rozpylenia zapachu np. na drapaki, legowiska czy w przypadku pojawienia się nowego osobnika w schronisku. Należy jednak podkreślić, że kocimiętka nie działa przyciągająco na wszystkie koty. Narząd lemieszowo-nosowy, inaczej narząd Jacobsona służy kotom do wykrywania feromonów, które są wydzielane m.in. przez kocimiętkę czy walerianę, ale również są ważnym czynnikiem w komunikacji pomiędzy poszczególnymi osobnikami. W trakcie odbioru feromonów z otoczenia, koty przyjmują charakterystyczną postawę ciała i zachowanie – otwierają pyszczek, oblizują okolice nosa i wpatrują się nieruchomo w dal. Feromony wydzielane są także w trakcie drapania między opuszkami palców, dlatego warto umożliwić kotom przejawianie tej czynności. Aby zapewnić lepszy dobrostan dla kotów przebywających w schronisku można używać feromonów, które występują w różnych formach: obroże nasączone feromonami, spraye oraz dyfuzory. W schroniskach feromony będą działały uspakajająco, będą łagodziły napady lęku czy agresji, będą odpowiednie dla kotów nowo przybyłych do schroniska, ale także dla stałych mieszkańców. Feromony w formie obroży mogą również pomóc kotom po stracie potomstwa lub małym kociakom, które nie mają matek.

#### **4. Cel pracy**

Głównym celem pracy był przegląd dostępnej literatury naukowej podejmującej zagadnienie dotyczące zastosowania wzbogaceń środowiska dla obniżenia poziomu stresu kotów schroniskowych. Zwrócono uwagę na to, w jaki sposób konkretne wzbogacenia środowiska mogą przyczynić się do poprawy dobrostanu kotów schroniskowych podając w pracy różne rozwiązania możliwe do zastosowania w praktyce.

#### **5. Podsumowanie**

Właściwie wzbogacone środowisko życia kotów poprawia ich dobrostan umożliwiając przejawianie naturalnych dla gatunku zachowań. Dzięki temu zmniejsza się ryzyko wystąpienia u nich problemów behawioralnych. Należy podkreślić, iż dobrostan zwierząt

w schroniskach nie zawsze kształtuje się na odpowiednim poziomie. Często schroniska są przepełnione, odwiedzane przez wiele osób, jest w nich głośno, a zwierzęta są zdezoorientowane. Jest to środowisko bardzo stresogenne. Niski dobrostan wywołuje u zwierząt szereg problemów zdrowotnych i behawioralnych. Częste są zaburzenia zachowania, jak np.: wzmóżona autopielęgnacja, spanie w kuwecie, agresja, utrata łaknienia, zaburzenia obsesyjno-kompulsywne, itp. Nietypowe zachowania pojawiające się u kotów są sposobem na rozładowanie napięcia emocjonalnego i poprawę komfortu behawioralnego. Dlatego tak ważne są wzbogacenia środowiskowe, dzięki którym można zredukować poziom stresu występującego u zwierząt. Wyróżnia się pięć typów wzbogaceń środowiskowych: społeczne, zajęciowe, fizyczne, sensoryczne oraz żywieniowe. Wzbogacenia społeczne polegają na zapewnieniu kontaktu z innymi osobnikami własnego, ale także innych gatunków, jak np. ludzie. Niejednokrotnie w schroniskach problemem jest występujący permanentny kontakt kotów z innymi kotami który powinien być ograniczany. Wzbogacenia zajęciowe to zapewnienie kotom właściwego poziomu aktywności fizycznej oraz wykonywanie określonych zadań poprzez zabawę. Wzbogacenia fizyczne mają na celu wprowadzenie do otoczenia kotów różnych elementów, takich jak bezpieczne zabawki, półki na ścianie, drabiny, drapaki, miejsca do chowania np. budki dla kotów czy kartony. Dzięki specjalnym miejscom wyznaczonym na kryjówki, koty stają się spokojniejsze i czują się bardziej bezpiecznie, co również obniża poziom ich stresu. Wzbogacenia sensoryczne działają na zmysły zwierząt poprzez różne dźwięki, zapachy czy feromony, które mają ważne znaczenie dla zachowania kotów. Zastosowanie feromonów obniża poziom stresu i agresji. Wzbogacenia żywieniowe polegają na urozmaiceniu diety oraz sposobów podawania pokarmu np. przez rozsypywanie pokarmu, używanie misek spowalniających, zabawek interaktywnych, tak aby kot uruchomił swój instynkt drapieznika. Warto zauważyć, że nie wszystkie koty będą w taki sam sposób reagować na różne wzbogacenia. Wszystko zależy od indywidualnych preferencji oraz charakteru i potrzeb danego osobnika. Koty starsze będą potrzebowały innych wzbogaceń niż młode, czy koty z różnymi schorzeniami. Należy zwrócić także uwagę na odpowiednie dostosowanie wzbogaceń do możliwości danego schroniska. Wszystkie wzbogacenia środowiskowe mogą działać wspólnie, wtedy obserwujemy najlepsze rezultaty, ale mogą one także oddziaływać oddzielnie. Jednak aby zapewnić jak najlepszy dobrostan oraz redukcję poziomu stresu u kotów w schronisku, najlepiej wprowadzić jak najwięcej wzbogaceń środowiskowych. Warto też zaznaczyć, że gdy obniży się poziom stresu u kotów, nie będą pojawiały się u nich problemy behawioralne, takie jak np. ciągła wokalizacja, załatwianie się poza kuwetą, agresja w stosunku do opiekuna lub innego zwierzęcia, drapanie i niszczenie mebli, które często są powodem tak dużej liczby kotów w schronisku. Odpowiednie wzbogacenie środowiska pośrednio może skutkować większą ilością adopcji kotów przebywających w schronisku. Dlatego warto dokładać wszelkich starań, aby dodatkowo urozmaicać otoczenie zwierząt w schroniskach, pomimo braku wymogów prawnych dotyczących tego problemu.

## **Podziękowania**

Praca była częścią projektu pt. „Redukcja poziomu stresu u kotów schroniskowych poprzez zastosowanie wzbogaceń środowiskowych”. Dofinansowano przez Ministra Edukacji i Nauki ze środków z budżetu państwa w ramach programu „Studenckie koła naukowe tworzą innowacje”.

## Literatura

1. Meghan E., Herron C.A., Buffington T., *Environmental Enrichment for Indoor Cats*, Compendium Continuing Education for Veterinarians, 12, 2012 s. 1-5.
2. Vinke C.M., Godijn L.M., W.J.R. van der Leij, *Will a hiding box provide stress reduction for shelter cats?*, Applied Animal Behaviour Science, 160, 2014, s. 86-93.
3. Overall K.L., Dyer D., *Enrichment Strategies for Laboratory Animals from the Viewpoint of Clinical Veterinary Behavioral Medicine: Emphasis on Cats and Dogs*, ILAR Journal, 46(2), 2005, s. 202-216.
4. Ellis J.J., Stryhn H., Spears J., Cockram M.S., *Environmental enrichment choices of shelter cats*, Behavioural Processes, 141, 2017, s. 291-296.
5. Mamzer H., *Braki urozmaiceń środowiskowych w schroniskach dla bezdomnych zwierząt – ludzka percepcja potrzeb zwierząt, a ich dobrostan*, Życie Weterynaryjne, 95(5), 2020, s. 273-280.
6. Sarah L.H. Ellis BSc (Hons), *Environmental enrichment – Practical strategies for improving feline welfare*, Journal of Feline Medicine and Surgery, 11, 2009, s. 901-912.
7. Desforges E., *Challenges and Solutions Surrounding Environmental Enrichment for Dogs and Cats in a Scientific Environment*, Animals, 11, 2021, s. 1-11.
8. Bidzińska B., Góral-Radziszewska K., *Zastosowanie syntetycznych feromonów psów i kotów w praktyce weterynaryjnej*, Medycyna Weterynaryjna, 72(2), 2016, s. 92-95.
9. Houser B., Vitale K.R., *Increasing shelter cat welfare through enrichment: A review*, Applied Animal Behaviour Science, 248, 2022, s. 168-1591.
10. Buffington C.A., *External and internal influences on disease risk in cats*, Journal of the American Veterinary Medical Association, 220(7), 2002, s. 994-1002.
11. Bradshaw J.W., *The evolutionary basis for the feeding behavior of domestic dogs (Canis familiaris) and cats (Felis catus)*, The Journal of nutrition, 136(7), 2006, s. 1927-1931.
12. Rochlitz I., *A review of the housing requirements of domestic cats (Felis silvestris catus) kept in the home*, Applied Animal Behaviour Science, 93, 2005, s. 97-109.
13. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 20.01.2022 r. w sprawie szczegółowych wymagań weterynaryjnych dla prowadzenia schronisk dla zwierząt (Dz.U. 2022 poz. 175).

## Wzbogacenia środowiskowe jako metoda redukcji stresu kotów schroniskowych

### Streszczenie

Wzbogacenie środowiska odnosi się do praktyki modyfikacji środowiska zwierzęcia w celu zapewnienia stymulacji umysłowej i fizycznej, która to może poprawić jego ogólny dobrostan. Jest to szczególnie ważne w przypadku kotów przebywających w schroniskach, których życiowa przestrzeń często ograniczona jest do małych pomieszczeń. Ponadto mogą doświadczać ciągłego stresu związanego z przebywaniem w nowym środowisku, otoczone innymi zwierzętami i ludźmi. Należy pamiętać, że każdy kot może inaczej reagować na różne rodzaje wzbogaceń. Dlatego ważne jest obserwowanie zachowań i preferencji kotów oraz odpowiednie dostosowanie wzbogaceń do warunków panujących w danym schronisku. Takimi wzbogaceniami środowiska w przypadku kotów schroniskowych mogą być: kryjówki, półki na wysokości, różnorodne zabawki, drapak czy obroże feromonowe.

Słowa kluczowe: wzbogacenia środowiska, koty, schroniska dla zwierząt, stres, dobrostan

## Environmental enrichments as a method to reduce stress in shelter cats

### Abstract

Environmental enrichment is a practical way to modify the environment of an animal and provide mental and psychical stimulation, which can improve their overall wellbeing. It is especially important when it comes to cats housed in animal shelters, where their space is often confined to small areas. Moreover, cats can experience chronic stress related to being housed in a new environment, surrounded by other animals and people. It is important to remember that every cat can react differently to various types of environmental enrichments. It is therefore essential to observe the behaviour of cats and to correctly match the enrichments to conditions in particular shelter. In case of shelter cats, such environmental enrichments include: hiding spots, wall shelves, various types of toys, scratching posts and pheromone collars. This paper addresses the use of mentioned enrichments.

Keywords: environmental enrichment, cats, animal shelter, stress, welfare

# Populacja kotów wolno żyjących i ich wpływ na ekosystemy miejskie

## 1. Wprowadzenie

Koty domowe (*Felis catus*) różnią się od innych zwierząt udomowionych, ponieważ ich fenotyp i genotyp zostały w niewielkim stopniu zmienione. Chociaż żyją z ludźmi jako zwierzęta domowe, zachowały zdolność do przetrwania bez pomocy człowieka i łatwo utrzymują się w środowisku samodzielnie. Większość kotów posiada pewną skłonność do zachowań łowieckich, nawet jeśli zdobywanie pokarmu nie jest dla nich konieczne. W niektórych środowiskach drapieżnicze zachowania kotów mogą stanowić zagrożenie dla ochrony różnorodności biologicznej, co prowadzi do prób ograniczania ich liczby.

Zarządzanie populacją kotów domowych na wolności jest często przedstawiane w mediach oraz literaturze naukowej, jako dyskusja pomiędzy grupami ekologicznymi, wspierającymi rodzimie występujące gatunki i tymi broniącymi praw kotów wolno żyjących [1, 2].

Koty domowe to drapieżniki, które po opuszczeniu naszych domów, polują na dzikie zwierzęta. Są również jednym z najpopularniejszych gatunków zwierząt towarzyszących na świecie. Do połowy XX wieku większość kotów była wolno żyjąca i powierzchownie związana z konkretnymi gospodarstwami domowymi [3]. Postrzeganie wolno wychodzących osobników jest odmienne w zależności od regionu; na przykład koty w Wielkiej Brytanii i Nowej Zelandii częściej przebywają poza domem, niż koty w USA, Australii i Japonii, gdzie przeważnie są utrzymywane jako niewychodzące [4, 5]. Istnieje wiele dowodów szkodliwego wpływu kotów na rozmieszczenie dzikich zwierząt [6-8], a także na przyczynianie się do spadku ich liczebności, a w krytycznych przypadkach nawet do wyginięcia wrażliwych gatunków, szczególnie w regionach wypiariskich [9]. Doprowadziło to do żądań większej regulacji i kontroli zarówno osobników posiadających właściciela, jak i bezpańskich populacji kotów [10, 11].

Koty domowe żyjące na wolności są bardzo powszechne oraz występują w dużym zagęszczeniu na obszarach miejskich na całym świecie [12, 13]. Koty mające wolny i niekontrolowany dostęp do przestrzeni zewnętrznej są narażone na liczne zagrożenia, w tym na ewentualne kolizje z pojazdami [14], zwiększoną możliwość narażenia się na choroby odzwierzęce [15, 16], kontakt z toksynami [16] oraz ewentualne drapieżnictwo na rodzime gatunki zwierząt występujące w środowisku naturalnym [17]. Niestety stanowią także zagrożenie dla dzikich zwierząt, poprzez możliwość przenoszenia chorób odzwierzęcych [18, 19]. Konflikty dotyczące zarządzania kotami w wielu przypadkach uniemożliwiają i opóźniają wdrożenie polityki, która mogłaby ograniczyć populację kotów, poprawić dobrostan zwierząt i zmniejszyć potencjalne zagrożenie dla dzikiej przyrody [20].

Różne grupy społeczne podzielają zainteresowanie kotami wolno żyjącymi, co skutkuje zróżnicowanym spektrum proponowanych rozwiązań w zakresie zarządzania nimi, od

---

<sup>1</sup> kamilastoklosinska@wp.pl, Felinologiczne SKN, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://up.lublin.pl/>.

całkowitej tolerancji dla kotów żyjących na zewnątrz, poprzez kontrolę populacji, a nawet w krytycznych sytuacjach po eutanazję.

Chociaż na arenie międzynarodowej zdania są podzielone, organizacje prozwierzęce w Stanach Zjednoczonych, które opowiadają się za dobrostanem zwierząt domowych, w dużej mierze preferują opcje takie jak *Trap-Neuter-Return* (an. Złap-wysterylizuj-wypuść TNR), dzięki którym koty mogą pozostać na zewnątrz, ale są kastrowane/sterylizowane, przez co pozostają niezdolne do reprodukcji [21]. Lekarze weterynarii również mają tendencję do faworyzowania TNR, ale nie w przytłaczającej większości [22]. Niektórzy właściciele kotów uważają dostęp kotów do przestrzeni zewnętrznej za integralny element ich dobrostanu i podobnie popierają opcje takie jak TNR, które zapewniają wysterylizowanym kotom pewien stopień opieki ze strony ludzi, podczas gdy nadal żyją na zewnątrz. Z kolei konserwatyści i obrońcy dobrostanu rodzimych zwierząt twierdzą, że wpływ drapieżnych zachowań kotów jest zbyt duży, aby uzasadnić ich dostęp do nieograniczonej swobody, często zalecają całkowity zakaz przebywania kotów na wolnym powietrzu lub kary pieniężne dla kotów nie kontrolowanych przez swoich właścicieli. Obecnie, kot jest klasyfikowany jako dziczka, jeśli może swobodnie się przemieszczać i nie jest ściśle związane z konkretnym pojedynczym gospodarstwem domowym [23], albo całkowicie unika kontaktu z ludźmi [24].

## 2. Negatywny stosunek do kotów wolno żyjących

Większość osób zaangażowanych w ochronę ptaków zgadza się, że niekontrolowane koty wolnożyjące przyczyniają się do spadku liczebności rodzimych ptaków [25]. Potencjalne zagrożenie, jakie koty stanowią dla dzikich zwierząt i ekosystemów, jest często podawane przez obrońców ptaków i organizacje zajmujące się ochroną przyrody, jako powód do konieczności usuwania kotów z systemów naturalnych przy użyciu metod śmiertelnych lub ograniczających ich swobodę. Jednym z silnych zwolenników tego stanowiska jest amerykańska organizacja *National Audubon Society*, działająca na rzecz ptaków i ochrony przyrody, która zachęca swoich ponad 40 000 członków do sprzeciwiania się wolno żyjącym koloniom kotów. Audubon Society skrytykowało metody, takie jak (TNR), za to, że nie eliminują one skutecznie odłowów dzikich zwierząt, ani nie ograniczają całkowicie kolonii wolno żyjących i dzikich kotów [26].

Wiele przeprowadzonych badań dotyczących potencjalnych skutków związanych z kotami żyjącymi na zewnątrz, było głównie sponsorowanych właśnie przez organizacje takie jak *National Audubon Society*. Przeważnie używają one negatywnej terminologii dotyczącej kotów i opisują ich negatywny wpływ na dzikie zwierzęta lub możliwość zagrożenia dla ludzi [27, 28]. Jest to niepokojące, ponieważ terminologia ankietowa, stosowana w komunikacji perswazyjnej lub stronnicze kadrowanie może wpływać na odpowiedzi, zmieniać postawy i wywierać presję na respondentów, aby udzielali pożądaných przez autorów ankiety odpowiedzi na pytania dotyczące kontrowersyjnych kwestii.

Wdrażanie stref ograniczających obecność kotów wokół obszarów budzących niepokój ekologiczny, stanowiło jedno z podejść do zarządzania kotami w zależności od lokalizacji i zostało wdrożone w celu zmniejszenia ryzyka utraty różnorodności biologicznej [29]. Podejście to pozwala programom zwalczania kotów wolno żyjących (np. programom TNR i usankcjonowanej opiece nad kotami) działać na obszarach o niskim prawdopodobieństwie oddziaływania na gatunki rodzime [30].

### 3. Kot wolno żyjący jako gatunek inwazyjny

Koty są oportunistycznymi drapieżnikami, u których odnotowano zjadanie setek różnych gatunków zwierząt w obrębie wielu głównych taksonów [31]. W rezultacie, koty przyczyniły się do wyginięcia co najmniej 63 gatunków kręgowców lądowych na całym świecie i zagrażają kolejnym 430 gatunkom objętym ochroną. Zabijają miliardy zwierząt rocznie tylko w Ameryce Północnej i Chinach [32, 33]. Wolno żyjące koty zagrażają także czystości genetycznej dzikich kotowatych, takich jak żbik szkocki (*Felis silvestris silvestris*, podgatunek żbika europejskiego) poprzez możliwość hybrydyzacji.

Ponieważ w wielu częściach świata wzrasta liczba właścicieli kotów, można przypuszczać, że wzrastać będzie również liczba niekontrolowanych kotów mających swobodny dostęp do środowiska, co może stwarzać coraz większe problemy. Jednocześnie, pomimo rosnącej liczby dowodów naukowych potwierdzających negatywny wpływ kotów na środowisko, w wielu krajach koty żyjące na wolności nie są objęte żadną kontrolą. Do braku zarządzania przyczyniają się złożone kwestie ekonomiczne, socjologiczne i prawne poszczególnych regionów [34]. Na przykład koszty zarządzania kotami wolno żyjącymi mogą się znacznie różnić w zależności od zastosowanego podejścia [35], a zainteresowane strony mogą różnić się w swoich poglądach na temat formy takich działań lub w sposobie postrzegania danego problemu [36].

Ryzyko zagrożenia ekologicznego było częstym przedmiotem badań w odniesieniu do działalności człowieka i jej negatywnego wpływu na ekosystemy (np. wycinka lasów, zanieczyszczenie powietrza) [37]. Wiele badań dotyczyło również postrzegania przez interesariuszy ryzyka ekologicznego stwarzanego przez gatunki inwazyjne [38]. Dostrzeganie ryzyka może wpływać na tolerancję interesariuszy wobec zwierząt, postawy wobec zarządzania dzikimi zwierzętami oraz poparcie dla ochrony lub eliminacji poszczególnych gatunków [39].

Strefy buforowe wykluczające obecność kotów są tradycyjnie wyznaczane wokół rezerwatów przyrody, przy czym jako odległość buforową przyjmuje się jedynie średnią wielkość zasięgu terytorium domowego kotów [40]. Podejście to zakłada, że przemieszczanie rodzimych dzikich zwierząt ogranicza się do granic rezerwatu, a zróżnicowanie zachowań kotów jest minimalne. Jednak na obszarach miejskich wiele gatunków rodzimych występuje poza granicami terenów zielonych, a zróżnicowanie tras przemieszczania się kotów może być znaczne [41]. Wyznaczanie stref buforowych w oparciu o biologiczne aspekty drapieżnictwa kotów, a nie granice administracyjne, może ułatwić prowadzenie bardziej skutecznej polityki zarządzania kotami wolno żyjącymi, co ma kluczowe znaczenie dla bioróżnorodności rezerwatów przyrody.

#### 3.1. Kolumbia

W 2022 roku w Kolumbii zostały przeprowadzone badania, mające na celu oszacować liczby ptaków zabitych przez koty polujące na zewnątrz. Dane zostały uzyskane nie tylko z rejestrów publicznych, ale także z kwestionariuszy rozesłanych do właścicieli kotów, aby zbadać ich postawy w stosunku do wpływu kotów domowych na dziką przyrodę w 2020 i 2021 roku. Oszacowano, że od 3 do 12 milionów ptaków ginie rocznie przez niekontrolowane koty wolno chodzące na obszarach miejskich i podmiejskich. Zauważono także, że koty zabijają od 8 do 29 milionów kręgowców w rejonach Andów. Szacunki te mogłyby być bardziej precyzyjne, gdyby lepiej znana była dokładna populacja wychodzących lub dzikich kotów w Kolumbii [42]. Zwrócono jednak uwagę,

że z racji tego, że większość kotów domowych w Kolumbii wędruje na zewnątrz bez nadzoru, a ich populacja stale rośnie, mogą one stanowić coraz większe zagrożenie dla dzikiej przyrody.

### 3.2. Stany Zjednoczone i Kanada

Szacunki dotyczące rocznej liczby ofiar zabijanych przez koty w USA (>1 mld ptaków i 6 mld ssaków) i 100-350 mln ptaków w południowej Kanadzie, zaliczyły koty do grupy najważniejszych antropogenicznych przyczyn śmiertelności ptaków [43, 44]. Ponadto zauważono, że koty nie muszą aktywnie polować, aby mieć negatywny wpływ na dzikie ptaki, gdyż sama ich obecność może zmniejszać ilość populacji dzikich ptaków [45]. Podczas gdy świat staje się coraz bardziej zurbanizowany, obszary o dużej bioróżnorodności są coraz bardziej przejmowane przez zabudowy [46]. Zazwyczaj tereny podmiejskie rozrastają się w strefach peryferyjnych obszarów miejskich, co potencjalnie skutkuje zwiększoną liczbą kotów domowych mających dostęp do obszarów objętych ochroną [47]. Urbaniści i biolodzy zajmujący się ochroną przyrody sugerują, że jednym z możliwych mechanizmów ograniczania potencjalnego drapieżnictwa kotów jest wprowadzenie stref buforowych wokół obszarów o większej wartości ochronnej, w których albo uniemożliwiono by zabudowę mieszkaniową, albo zakazano by posiadania kotów domowych przez osoby decydujące się na zamieszkanie w określonej odległości od obszaru chronionego [48].

### 3.3. Hawaje

Podczas prowadzenia badań ataków drapieżników na hawajskie zagrożone ptaki morskie w latach 2011-2017 roku ustalono, że koty były odpowiedzialne za 35,6% wszystkich zarejestrowanych przypadków. Koty częściej polowały na dorosłe osobniki lęgowe niż na inne klasy wiekowe, co podkreśla szkody, jakie ten gatunek może wyrządzić w zagrożonych populacjach ptaków morskich. Nory, w których zginęły dorosłe osobniki, miały znacznie mniejsze szanse na zasiedlenie przez ptaki w następnym roku, a jeszcze mniejsze na rozpoczęcie lęgów. Ponieważ żadna z obserwowanych kolonii nie jest obecnie chroniona przez ogrodzenie zabezpieczające przed drapieżnikami, koty są nadal rejestrowane w wielu koloniach każdego roku. Polowania kotów są niebezpieczne także przez ich duży zasięg występowania, co oznacza, że pojedynczy osobnik może mieć wpływ na wiele kolonii, przez co może także może łatwo pozbawiać życia dużą liczbę ptaków w bardzo krótkim czasie. W zarejestrowanym przypadku na Upper Limahuli w 2014 roku zidentyfikowano tego samego kota aż na 9 różnych kamerach nor ptaków morskich w ciągu jednego dnia. W innym przypadku w Pōhākea w 2015 roku, kot zabił ptaki z 15% wszystkich monitorowanych nor w ciągu kilku tygodni. Koty zostały zidentyfikowane jako kluczowy drapieżnik wielu rodzimych gatunków ptaków, w tym ptaków leśnych, takich jak zagrożona Palila (*Loxioides bailleui*) i ptaków wodnych, takich jak moczar hawajski (*Gallinula galeata sandvicensis*), kaczka hawajska (*Anas wyvilliana*), nēnē (*Branta sandvicensis*) i łyska hawajska (*Fulica alai*) [49].

### 3.4. Włochy

Wśród zwierząt domowych *Felis catus*, jest powszechnie uważany za jedno z najważniejszych zagrożeń dla ochrony dzikiej przyrody. Jest to szczególnie widoczne w przypadku ekosystemów wyspiarskich. Wśród zebranych artykułów starano się ocenić potencjalne spektrum dzikich kręgowców, które mogą zostać zabite przez wolno żyjące

koty domowe, a wyniki rozpatrywano w kontekście statusu ochronnego poszczególnych gatunków zwierząt i ich kategorii zagrożenia poprzez Międzynarodową Unię Ochrony Przyrody (IUCN – *International Union for Conservation of Nature*). Zebrano dane dotyczące wpływu kotów zarówno w ramach kwestionariuszy obywatelskich, jak i poprzez śledzenie 21 z 145 kotów przez 1 rok i rejestrowanie wszystkich ofiar, przynoszonych przez nich do domu. Koty domowe mogą zabijać we Włoszech co najmniej 207 gatunków (2042 zarejestrowane zdarzenia drapieżnicze); wśród nich 34 są wymienione jako „zagrożone wyginięciem” lub „bliskie wyginięciu” na czerwonej liście IUCN. Ptaki i ssaki, takie jak wróblowate i gryzonie, zostały uznane za grupy najczęściej zabijane przez koty wolno żyjące. Stwierdzono także, że stosowanie dzwonka w obroży nie miało wpływu na sukces łowiecki kotów, a liczba ofiar przynoszonych do domu malała wraz z większym zabudowaniem terenu. Dostarczone zostały mocne dowody na to, że wolno żyjące koty mogą poważnie wpływać na populacje gatunków dzikich zwierząt, które już teraz cierpią z powodu spadku liczebności spowodowanej innymi przyczynami, np. utratą siedlisk.

W przypadku 21 kotów domowych (należących do 145 wcześniej wymienionych), które były obserwowane przez 1 rok, wskaźnik polowania na kręgowce wykazał znaczne zróżnicowanie w obrębie ofiar. Najbardziej dotknięte były ssaki (40% ataków), następnie ptaki (35%), gady (21%) i płazy (4%). Ponad 73% przypadków upolowania ofiar miało miejsce wiosną i latem.

Najczęściej zabijanym gatunkiem wśród ssaków była mysz domowa (*Mus domesticus*) (10%), wielokrotnie zgłaszano również szczury śniade (*Rattus rattus*) (9,4%), myszy leśne (*Apodemus flavicollis*) (8,2%), wiewiórki pospolite (*Sciurus vulgaris*) (8,2%) oraz ryjówki etruskie (*Suncus etruscus*) (8,2%). Wszystkie wymienione gatunki są pospolite we Włoszech [50]. Jeśli chodzi o ptaki, to najczęściej zabijane były kosy (*Turdus merula*) (13%), wróble zwyczajne (*Passer italiae*) (7,9%), sierpówki (*Streptopelia decaocto*) (7,9%) i kapturki (*Sylvia atricapilla*) (7,9%). Jeśli chodzi o gady, najczęściej zabijanymi gatunkami były murówka zwyczajna (*Podarcis muralis*) (29%) i jaszczurka dwupręga (*Lacerta bilineata*) (12,8%). Wreszcie wśród płazów najczęściej zabijanymi gatunkami były żaba dalmatyńska (*Rana dalmatina*) (40%) i żaba wodna (*Pelophylax synklepton esculentus*) (20%).

#### 4. Ryzyko infekcji u kotów swobodnie wędrujących

Biorąc pod uwagę, że wiele chorób zakaźnych u ludzi jest pochodzenia odzwierzęcego, informacje na temat patogenów, które mogą być przenoszone na współżyjące dzikie zwierzęta lub ludzi są istotne. W tym kontekście koty żyjące na wolności mogą stanowić poważny problem dla zdrowia publicznego. Zakres przenoszonych patogenów zależy przede wszystkim od społeczności gospodarzy, przy czym obecność i częstotliwość występowania zwierząt domowych wolno żyjących ma istotny wpływ na ryzyko przeniesienia choroby na człowieka [51]. Częstotliwość występowania wirusów, bakterii i pasożytów jest zazwyczaj wyższa u kotów wolno żyjących, ponieważ dostęp do terenów zewnętrznych i zachowania migracyjne zwiększają ryzyko zakażenia. Koty wolno żyjące mają nieograniczony dostęp do obszarów publicznych, takich jak parki i place zabaw, gdzie występują różni potencjalni żywicieli (np. gryzonie, ptaki, jaszczurki i węże). Ponadto, w wielu miastach w Europie i na innych kontynentach, kolonie kotów wolno żyjących są tolerowane, celowo karmione i utrzymywane przez obywateli, co skutkuje niezwykle wysokim zagęszczeniem kotów w niektórych obszarach [52].



## 5. Podsumowanie

Podsumowując, koty są jednym z najpopularniejszych na świecie zwierząt towarzyszących, a postrzeganie wolno wychodzących osobników jest inaczej widziane w różnych rejonach świata. Stosowanie różnych form zarządzania programami takimi jak *Trap-Neuter-Return* (TNR), umożliwi kontrolowanie ich liczebności w rejonach zarówno miejskich, jak i tych bliżej rezerwatów przyrody. Pozwoli nam to zapobiec wyniszczeniu bioróżnorodności ekosystemów, szczególnie w regionach wypiariskich, gdzie często można zaobserwować ten problem.

Ograniczenie niekontrolowanego przemieszczania się kotów pozwoli także zapewnić im większe bezpieczeństwo, ponieważ to właśnie na zewnątrz narażone są na kolizje z pojazdami, zjedzenie szkodliwego czy trującego pokarmu oraz częstsze zarażenia chorobami.

Praca była częścią projektu pt. „Redukcja poziomu stresu u kotów schroniskowych poprzez zastosowanie wzbogaceń środowiskowych”. Dofinansowano przez Ministra Edukacji i Nauki ze środków z budżetu państwa w ramach programu „Studenckie koła naukowe tworzą innowacje”.

## Literatura

1. Loyd K.A., Hernandez S., *Public Perceptions of Domestic Cats and Preferences for Feral Cat Management in the Southeastern United States*, *Anthrozoos: A Multidisciplinary Journal of The Interactions of People & Animals*, 25, 2012, s. 337-351.
2. Peterson M.N., Hartis B., Rodriguez S., Green M., Lepczyk C.A., *Opinions from the front lines of cat colony management conflict*, *PLOS One*, 7(9), 2012.
3. Crowley S.L., Cecchetti M., McDonald R.A., *Diverse perspectives of cat owners indicate barriers to and opportunities for managing cat predation of wildlife*, *Frontiers in Ecology and the Environment*, 18(10), 2020, s. 544-549.
4. Hall C.M., Adams N.A., Bradley J.S., Bryant K.A., Davis A.A., Dickman C.R., Calver M.C., *Community attitudes and practices of urban residents regarding predation by pet cats on wildlife: an international comparison*, *PloS one*, 11(4), 2016, e0151962.
5. Foreman-Worsley R., Finka L.R., Ward S.J., Farnworth M.J., *Indoors or outdoors? An international exploration of owner demographics and decision making associated with lifestyle of pet cats*, *Animals*, 11(2), 2021, s. 253.
6. Loss S.R., Marra P.P., *Population impacts of free-ranging domestic cats on mainland vertebrates*, *Frontiers in Ecology and the Environment*, 15(9), 2017, s. 502-509.
7. Mori E., Menchetti M., Camporesi A., Caviglioli L., Tabarelli de Fatis K., Girardello M., *License to kill? Domestic cats affect a wide range of native fauna in a highly biodiverse Mediterranean country*, *Frontiers in Ecology and Evolution*, 2019, s. 477.
8. Murphy B.P., Woolley L.A., Geyle H.M., Legge S.M., Palmer R., Dickman C.R., Woinarski J.C., *Introduced cats (*Felis catus*) eating a continental fauna: the number of mammals killed in Australia*, *Biological Conservation*, 237, 2029, s. 28-40.
9. Medina F.M., Bonnaud E., Vidal E., Nogales M., *Underlying impacts of invasive cats on islands: not only a question of predation*, *Biodiversity and Conservation*, 23, 2014, s. 327-342.
10. Calver M.C., Grayson J., Lilith M., Dickman C.R., *Applying the precautionary principle to the issue of impacts by pet cats on urban wildlife*, *Biological Conservation*, 144(6), 2011, s. 1895-1901.
11. Trouwborst A., McCormack P.C., Martínez Camacho E., *Domestic cats and their impacts on biodiversity: A blind spot in the application of nature conservation law*, *People and Nature*, 2(1), 2020, s. 235-250.

12. Hansen C.M., Paterson A.M., Ross J.G., Ogilvie S.C., *Estimating feral cat (Felis catus) density in a rural to urban gradient using camera trapping*, New Zealand journal of zoology, 45(3), 2018, s. 213-226.
13. Hohnen R., Tuft K., McGregor H.W., Legge S., Radford I.J., Johnson, C.N., *Occupancy of the invasive feral cat varies with habitat complexity*, PLoS One, 11(9), 2016, e0152520.
14. Rochlitz I., *Study of factors that may predispose domestic cats to road traffic accidents: part I*, Veterinary Record, 153(18), 2003, s. 549-553.
15. Gehrt M., Wolfart S., Rafai N., Reich S., Edelhoff D., *Clinical results of lithium-disilicate crowns after up to 9 years of service*, Clinical oral investigations, 17, 2013, s. 275-284.
16. Roseveare C. W., Goolsby W.D., Foppa I.M., *Potential and actual terrestrial rabies exposures in people and domestic animals, upstate South Carolina, 1994–2004: a surveillance study*, BMC Public Health, 9, 2009, s. 1-6.
17. Larson D., Patel P., Salapatek A.M., Couroux P., Whitehouse D., Pina A., Durham S.R., *Nasal allergen challenge and environmental exposure chamber challenge: a randomized trial comparing clinical and biological responses to cat allergen*, Journal of Allergy and Clinical Immunology, 145(6), 2020, s. 1585-1597.
18. Roland K., Robert C., Tavis F., George H., William M., *Cats are Rare Where Coyotes Roam*, 2015
19. Lehrer E.W., Fredebaugh S.L., Schooley R.L., Mateus-Pinilla N.E., *Prevalence of antibodies to Toxoplasma gondii in woodchucks across an urban–rural gradient*, Journal of Wildlife Diseases, 46(3), 2010, s. 977-980.
20. Longcore T., Rich C., Sullivan L.M., *Critical assessment of claims regarding management of feral cats by trap–neuter–return*, Conservation biology, 23(4), 2009, s. 887-894.
21. Boone J.D., Miller P.S., Briggs J.R., Benka V.A., Lawler D.F., Slater M., Zawistowski S., *A long-term lens: Cumulative impacts of free-roaming cat management strategy and intensity on preventable cat mortalities*, Frontiers in Veterinary Science, 2019, s. 238.
22. Sherwood L.J., Wilson A.G., South C.S., Roche S.M., Luszcz T.M., *Perceptions of veterinarians in British Columbia of cat management strategies to reduce cat overpopulation and impacts on wildlife populations*, Anthrozoös, 32(5), 2019, s. 613-629.
23. Passanisi W.C., Macdonald D.W., *Group discrimination on the basis of urine in a farm cat colony*, Chemical signals in vertebrates, 5, 1990, s. 337-345.
24. Levy M.G., Gookin J.L., Poore M., Birkenheuer A.J., Dykstra M.J., Litaker R.W., *Tritrichomonas foetus and not Pentatrichomonas hominis is the etiologic agent of feline trichomonal diarrhea*, Journal of Parasitology, 89(1), 2003, s. 99-104.
25. Wald D.M., Jacobson S.K., Levy J.K., *Outdoor cats: Identifying differences between stakeholder beliefs, perceived impacts, risk and management*, Biological Conservation, 167, 2013, s. 414-424.
26. Loyd K.A., Miller C.A., *Factors Related to Preferences for Trap-Neuter–Release Management of Feral Cats Among Illinois Homeowners*, The Journal of Wildlife Management, 74(1), 2010, s. 160-165.
27. Goo M.J., Williams B.H., Hong I.H., Park J.K., Yang H.J., Yuan D.W., Jeong K.S., *Multiple urogenital abnormalities in a Persian cat*, Journal of Feline Medicine & Surgery, 11(2), 2009, s. 153-155.
28. Smith F.O., *Guide to emergency interception during parturition in the dog and cat*, Veterinary Clinics: Small Animal Practice, 42(3), 2012, s. 489-499.
29. Collins G.H., Converse W.K., *Cerebellar degeneration in thiamine-deficient rats*, The American Journal of Pathology, 58(2), 1970, s. 219.
30. Lilith M., Calver M.C., Garkaklis M.J., *Roaming habits of pet cats on the suburban fringe in Perth, Western Australia: what size buffer zone is needed to protect wildlife in reserves?*. In Australian Zoologist, Royal Zoological Society of New South Wales, 34, 2008, s. 65-72.

31. Metsers E.M., Seddon P.J., van Heezik Y.M., *Cat-exclusion zones in rural and urban-fringe landscapes: how large would they have to be?*, *Wildlife Research*, 37(1), 2010, s. 47-56.
32. Woolley L.A., Geyle H.M., Murphy B.P., Legge S.M., Palmer R., Dickman C.R., Woinarski J.C., *Introduced cats Felis catus eating a continental fauna: inventory and traits of Australian mammal species killed*, *Mammal Review*, 49(4), 2019, s. 354-368.
33. Doherty T.S., Dickman C.R., Johnson C.N., Legge S.M., Ritchie E.G., Woinarski J.C., *Impacts and management of feral cats Felis catus in Australia*, *Mammal Review*, 47(2), 2017, s. 83-97.
34. Loss S.R., Will T., Marra P.P., *The impact of free-ranging domestic cats on wildlife of the United States*, *Nature communications*, 4(1), 2013, s. 1-8.
35. Lohr C.A., Lepczyk C.A., *Desires and management preferences of stakeholders regarding feral cats in the Hawaiian Islands*, *Conservation Biology*, 28(2), 2014, s. 392-403.
36. Lohr C.A., Cox L.J., Lepczyk C.A., *Costs and benefits of trap-neuter-release and euthanasia for removal of urban cats in Oahu, Hawaii*, *Conservation Biology*, 27(1), 2013, s. 64-73.
37. McDaniels T.L., Axelrod L.J., Cavanagh N.S., Slovic P., *Perception of ecological risk to water environments*, *Risk analysis*, 17(3), 1997, s. 341-352.
38. Paviolo A., Cruz P., Lezzi M.E., Pardo J.M., Varela D., De Angelo C., Di Bitetti M.S., *Barriers, corridors or suitable habitat? Effect of monoculture tree plantations on the habitat use and prey availability for jaguars and pumas in the Atlantic Forest*, *Forest Ecology and Management*, 430, 2018, s. 576-586.
39. Kellert S.R., Felthous A.R., *Childhood cruelty toward animals among criminals and noncriminals*, *Human relations*, 38(12), 1985, s. 1113-1129.
40. Yepes-Perez A.F., Herrera-Calderón O., Oliveros C.A., Flórez-Álvarez L., Zapata-Cardona M.I., Yepes L., Zapata W., *The Hydroalcoholic extract of Uncaria tomentosa (Cat's claw) inhibits the infection of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in vitro*, *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, s. 1-11.
41. Thomas R.L., Baker P.J., Fellowes M.D., *Ranging characteristics of the domestic cat (Felis catus) in an urban environment*, *Urban Ecosystems*, 17, 2014, s. 911-921.
42. MacDougall L., Kidd S.E., Galanis E., Mak S., Leslie M.J., Cieslak P.R., Bartlett K.H., *Spread of Cryptococcus gattii in British Columbia, Canada, and detection in the Pacific Northwest, USA*, *Emerging infectious diseases*, 13(1), 2007, s. 42.
43. Bonnington C., Gaston K.J., Evans K.L., *Fearing the feline: domestic cats reduce avian fecundity through trait-mediated indirect effects that increase nest predation by other species*, *Journal of Applied Ecology*, 50(1), 2013, s. 15-24.
44. Lilith M., Calver M., Styles I., Garkaklis M., *Protecting wildlife from predation by owned domestic cats: Application of a precautionary approach to the acceptability of proposed cat regulations*, *Austral Ecology*, 31(2), 2006, s. 176-189.
45. McKinney C.M., Holt V.L., Cunningham M.L., Leroux B.G., Starr J.R., *Maternal and infant characteristics associated with prone and lateral infant sleep positioning in Washington state, 1996-2002*, *The Journal of pediatrics*, 153(2), 2008, s. 194-198.
46. McDonald J.L., Maclean M., Evans M.R., Hodgson D.J., *Reconciling actual and perceived rates of predation by domestic cats*, *Ecology and Evolution*, 5(14), 2015, s. 2745-2753.
47. Espinel Rupérez J., Arthurs G.I., Hewit A., Langley-Hobbs S., Trostel C.T., Phillips A.S., Mullins R.A., *Complications and outcomes of cats with coxofemoral luxation treated with hip toggle stabilization using ultrahigh-molecular-weight-polyethylene or nylon (2009-2018): 48 cats*, *Veterinary Surgery*, 50(5), 2021, s. 1042-1053.
48. Laut M.E., Banko P.C., Gray E.M., *Nesting behavior of Palila, as assessed from video recordings*, *Pacific Science*, 57(4), 2003, s. 385-392.

49. Crooks K.R., Burdett C.L., Theobald D.M., Rondinini C., Boitani L., *Global Opatterns of fragmentation and connectivity of mammalian carnivore habitat*, Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 366(1578), 2011, s. 2642-2651.
50. Taetzsch S.J., Bertke A.S., Gruszynski K.R., *Zoonotic disease transmission associated with feral cats in a metropolitan area: A geospatial analysis*, Zoonoses and public health, 65(4), 2018, s. 412-419.
51. Polley L., *Navigating parasite webs and parasite flow: emerging and re-emerging parasitic zoonoses of wildlife origin*, International journal for parasitology, 35(11-12), 2005, s. 1279-1294.
52. Crawford H.M., Calver M.C., Fleming P.A., *A case of letting the cat out of the bag – Why Trap-Neuter-Return is not an ethical solution for stray cat (Felis catus) management*, Animals, 9(4), 2019, s. 171.

## **Populacja kotów wolno żyjących i ich wpływ na ekosystemy miejskie**

### Streszczenie

Praca ma na celu przedstawienie liczebności kotów wolno żyjących w wybranych rejonach świata oraz ich wpływu na populacje rodzimych gatunków zwierząt. Przekazane zostały różne sposoby postrzegania nieograniczonego przemieszczania się kotów na zewnątrz, zarówno przez obrońców praw zwierząt, jaki i organizacji takich jak National Audubon Society, działająca na rzecz ptaków i ochrony przyrody. Ustalono, że wiele negatywnych czynników niekontrolowania kotów, nie tylko zagrożenie dla przedstawicieli gatunków, które są celem ataków kotów poza murami naszych domów, ale także zagrożenia z jakimi mogą stykać się koty wolno wychodzące, takie jak: wypadki komunikacyjne, niekontrolowany rozród czy narażenie na różne choroby i substancje szkodliwe dla ich zdrowia.

Słowa kluczowe: kot domowy, różnorodność biologiczna, koty wolno wychodzące, bezpieczeństwo zwierząt, zagrożenia ekologiczne

## **Population of free-living cats and their impact on urban ecosystems**

### Abstract

This paper aims to present the abundance of free-roaming cats in different regions of the world and their impact on the population of native animal species. Different perceptions of the unrestricted movement of cats outdoors, both by animal rights activists and organizations such as the National Audubon Society, which works for birds and conservation, are conveyed. The paper notes the many negative factors of uncontrolled cats, not only the threat to representatives of species that are targeted by cats outside the walls of our homes, but also the dangers that free-roaming cats may face, such as traffic accidents, uncontrolled reproduction or exposure to various diseases and substances harmful to their health.

Keywords: domestic cat, biodiversity, free-roaming cats, animal safety, environmental hazards

# Problemy behawioralne kotów schroniskowych

## 1. Wprowadzenie

Problemy behawioralne zwierząt to zbiór zachowań nietypowych dla danego gatunku, a także akceptowanych przez ich opiekunów. Niektóre z zachowań kotów obserwowane poza środowiskiem domowym, obiektywnie i z punktu widzenia potrzeb gatunkowych, nie wykraczają poza etogram, wpisując się tym samym w kokon zachowań normalnych stają się jednak problemem w docelowym kocim domu czy ogólnie pojętym ludzkim środowisku życia. Problemem stają się dopiero w docelowym kocim domu czy ogólnie pojętym ludzkim środowisku życia.

Poznanie przyczyn problemów behawioralnych kotów i możliwości ich uniknięcia jest istotne z kilku powodów. Problemy te są często przyczyną porzucania kotów lub zwracania ich do schronisk. W raporcie Johna Wrighta i Richarda Amossa z 2004 roku stwierdzono, że połowa adoptowanych kociąt miała co najmniej jeden problem z zachowaniem po pierwszym miesiącu, a inni autorzy stwierdzili, że problemy z zachowaniem stanowią ponad jedną trzecią wszystkich nieudanych adopcji porzuconych kotów [1].

Problemy z zachowaniem, a raczej ich rozwiązywanie, są ważne również ze względu na zdrowie i bezpieczeństwo właścicieli oraz osób przebywających w kocim środowisku. Pomimo tego, że agresja u kotów w większości przypadków dotyczy zachowań między osobnikami tego samego gatunku, duży odsetek zachowań agresywnych nadal kierowany jest w stosunku do ludzi [1].

Wreszcie, co równie ważne, problemy behawioralne odbijają się także znacząco na kociej psychice, wpływając tym samym negatywnie na dobrostan zwierząt w perspektywie czasu. W szczególności, gdy są konsekwencją przewlekłego stresu lub lęku [2].

## 2. Cel pracy

Celem niniejszej pracy było nakreślenie najczęściej występujących stresorów u kotów przebywających tymczasowo w schroniskach dla zwierząt, poprzez analizę warunków ich życia oraz przegląd możliwości ich minimalizacji, zgodnie z najnowszym stanem wiedzy o potrzebach behawioralnych i dobrostanowych gatunku *Felis Catus*.

### 2.1. Zmienne wpływające na zachowania niepożądane u kotów schroniskowych

Koty domowe lubią stałość, rutynę i szeroko rozumianą przewidywalność. Wszelkie zmiany w kocim środowisku mogą wpływać negatywnie na dobrostan zwierząt. Reakcją kotów na zmiany środowiska jest obniżone samopoczucie, które manifestowane jest poprzez modyfikację zachowania. Z tego powodu wszelkie zmiany w ich życiu powinny

---

<sup>1</sup> aogrodnik2001@gmail.com, Felinologiczne Studenckie Koło Naukowe, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://up.lublin.pl/>.

<sup>2</sup> klimas.anna20@gmail.com, Felinologiczne Studenckie Koło Naukowe, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://up.lublin.pl/>.

<sup>3</sup> justyna.wojtas@up.lublin.pl Katedra Etologii Zwierząt i Łowiectwa, Wydział Nauk o Zwierzętach i Biogospodarki, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, <https://up.lublin.pl/>.

być wprowadzane stopniowo i powoli, a nawet przy takim schemacie działania, pewne zaburzenia behawioralne mogą się pojawiać. O etapowe wprowadzanie nowych, obcych i potencjalnie stresujących dla zwierzęcia czynników dużo łatwiej zadbać w docelowym kocim domu niż w schronisku dla zwierząt. W schroniskach pewne zmiany następują nagle, z dnia na dzień. Jest to nieuniknione ze względu na sposób ich funkcjonowania i może być dla zwierzęcia przytłaczające. Naświetlone poniżej czynniki, jako potencjalnie stresujące, mogą znacząco wpłynąć na kocią psychikę. W celu zminimalizowania problemów behawioralnych występujących u kotów oraz obniżenia poziomu kortyzolu, ważne jest dostrzeżenie najbardziej szkodliwych stresorów i wprowadzenie metod służących ich eliminacji czy redukcji.

## 2.2. Żywnienie

Jako obligatoryjny mięsożerca, kot powinien mieć zapewnioną pełnowartościową dietę mięsną odpowiadającą na jego potrzeby biologiczne. Bogatą w witaminę A, taurynę i kwas arachidonowy. Składniki te, przez specyfikę swojego układu pokarmowego, kot może syntezować tylko z tkanek zwierzęcych. Zapotrzebowanie energetyczne pokrywają głównie białka i tłuszcze, a zaledwie w 2% dziennego zapotrzebowania pochodzi z węglowodanów [3].

Wolnożyjące koty domowe, tak jak ich przodkowie (*Felis lybica*) jedzą zazwyczaj 10-20 małych porcji posiłków w ciągu doby, a ich jadłospis składa się głównie z gryzoni i małych ssaków, jak również ptaków, gadów i owadów [3, 4]. Małe ofiary tego pokroju składają się w około 70% z wody, co jednocześnie, podobnie jak w przypadku wysokomięsnej, mokrej karmy, poza zaspokojeniem uczucia głodu i dostarczaniem składników odżywczych, pokrywa niemalże całkowicie kocię zapotrzebowanie na wodę.

W warunkach schroniskowych kocia dieta zależy od wielu zmiennych. W kociarniach rozstawione są miski ze stale uzupełnianą karmą suchą, która obfituje w węglowodany i prowadzi do wysokiego poposiłkowego stężenia glukozy we krwi, co może skutkować otyłością, sennością, a nawet rozwojem cukrzycy [3]. Dodatkowo, stały dostęp do jedzenia w przypadku kotów bez wystarczającej stymulacji umysłowej i fizycznej, może skutkować zarówno problemami z otyłością, jak i tymi behawioralnymi.

Koty schroniskowe dostają również karmę mokrą w wydzielonych porcjach, jednak jej jakość i wartość uzależniona jest od budżetu oraz stanów magazynowych schroniska, jak i wsparcia ofiarodawców. Z uwagi na te czynniki, podawany pokarm często się zmienia, a taka niestabilność może znacząco odbijać się na wrażliwym, kocim układzie pokarmowym. To z kolei prowadzi nierzadko do ogólnego rozdrażnienia, obniżonego nastroju, a w konsekwencji całej gamy problemów behawioralnych [5, 6].

Alternatywą dla podstawowego karmienia, przy ograniczonych możliwościach czasowych i zasobowych, mogą być zabawki do żywienia interaktywnego. Stymulują one zarówno koci umysł, zapewniając dodatkową aktywność w ciągu dnia i pozwalają rozdzielić wydawane jedzenie na małe porcje (mieszczące się w obrębie danej zabawki). Zapobiegają problemom behawioralnym takim jak agresja w stosunku do ludzi i innych zwierząt, łapczywe jedzenie czy wpływają łagodząco na zespół głodu [5, 7, 8].

W celu holistycznego wzbogacenia i zadbania o koci dobrostan na tle żywieniowym, należy przyłożyć większą wagę nie tylko do zbilansowanych czy urozmaiconych interaktywnie posiłków, ale także spełniania jego naturalnych potrzeb łowieckich poprzez zabawę.

### **2.3. Zabawa**

Kot posiada wrodzone umiejętności łowieckie, a drapieżnicza zabawa tworzy integralną część okresu socjalizacji każdego osobnika. Rozpoczyna się w wieku siedmiu tygodni, kiedy u kociąt rozwijana jest koordynacja pomiędzy wzrokiem, a łapami. Uwagę kocich maluchów przyciągają poruszające się obiekty, które stają się przedmiotem polowania.

Polowanie to jedna z podstawowych kocich potrzeb, plasującą się wysoko w hierarchii, mająca na celu złapanie i zabicie ofiary. Składa się ono z charakterystycznych zachowań, tworzących cykl łowiecki [9, 10].

Zastępstwem prawdziwego cyklu łowieckiego w warunkach domowych jest właśnie poprawna zabawa. Żeby można było mówić o tym, że jest ona prawidłowo przeprowadzona, musi zawierać wszystkie aspekty polowania, a każdy jej etap powinien mieć swój naturalny odpowiednik [6, 9, 11].

Odtwarzanie naturalnej aktywności łowieckiej poprzez zabawę, jest szczególnie ważne w przypadku kotów utrzymywanych w zamknięciu. Zabawa zwiększa kocia aktywność, ogranicza nudę i zapobiega otyłości, a także wzmacnia więź kota z ludźmi, redukując tym samym potencjalny strach przed nimi czy obniżając niechęć.

Zabawa powinna być elementem rutynowym każdego dnia w życiu kota. Jest wskaźnikiem dobrostanu i pomaga ocenić jakość życia oraz stan emocjonalny kota, ponieważ zwierzę bawi się tylko wtedy, kiedy jego potrzeby są zaspokojone. Zabawa jest źródłem wielu benefitów, które uwidaczniają się w relacjach społecznych, fizjologii, rozwoju, sferze poznawczej i adaptacji organizmu [10, 12].

Jeśli schronisko, przy dużej liczbie osobników oraz ograniczonym liczebnie personelu, nie posiada dodatkowo odpowiedniej ilości wolontariuszy, zaspokajanie kocich potrzeb zawężane jest do tych podstawowych i niezbędnych, jak spełnienie pięciu wolności dobrostanu. To z kolei bardzo szybko prowadzi do kociej frustracji, która nie wyłapana w odpowiednim momencie i zostawiona bez adekwatnej reakcji ze strony człowieka, prowadzi do wyładowywania skumulowanych emocji w naturalny dla zwierzęcia, lecz niepożądany przez człowieka sposób, np. agresję przeniesioną czy oddawanie moczu poza kuwetą [13, 14]. Zaniedbanie zabawy w skrajnych sytuacjach skutkuje nawet zachowaniami kompulsywnymi czy stereotypiami.

### **2.4. Niestabilność środowiska**

Codzienna rutyna i stabilne otoczenie to podstawa w zapewnieniu poczucia bezpieczeństwa dla kota. Zwierzę jest ściśle związane z własną przestrzenią i wszelkie zmiany mogą być potencjalnymi czynnikami stresogennymi. Każdy osobnik ma wyuczone nawyki oraz swój harmonogram dnia, którymi się kieruje. Ma swoje strefy bezpieczeństwa, jak i komfortu.

Natłok sytuacji stresowych może doprowadzić do traumy u zwierzęcia, a w konsekwencji zmiany behawioru czy jego zaburzeń.

W schroniskach dla zwierząt ciężko jest zapewnić kotu takie warunki, aby można było mówić o rutynie. Bezustanne zmiany zapachów, rotacja personelu, wolontariuszy oraz odwiedzający są głównymi stresorami, zaburzającymi dobrostan osobników przebywających w schronisku.

Częstymi objawami napięcia jest nie tylko znakowanie terenu, ale również nadmierna pielęgnacja lub jej brak, agresja, nerwowość, wycofanie czy nadmierna wokalizacja. Chroniczny stres powoduje nie tylko problemy behawioralne, ale również prowadzi do obniżenia odporności [15].

## **2.5. Kontakt z człowiekiem**

Kot w trakcie rozwoju musi się nauczyć relacji z człowiekiem. Młode, które w okresie socjalizacji nie mają zapewnionego z nim kontaktu, mogą zdzićzeć i wrócić to typowego dla gatunku, dzikiego trybu życia [16].

Największą uwagę należy zwrócić na okres socjalizacji pierwotnej (między 2-7 tygodniem życia). Kot uczy się podstawowych relacji z ludźmi, jak również relacji gatunkowych i międzygatunkowych. W sytuacji, gdy kocię pozytywnie skoreluje obcowanie z innymi stworzeniami, z dużym prawdopodobieństwem zaprocentuje to w dorosłym życiu kota [17].

W omawianym okresie życia kota powinno się go przyzwyczajać do przebywania z człowiekiem, czyli: głaskać go, czesać, dotykać łapki, przetrzymywać nieruchomo itp. Zwierzęta, które nie miały na etapie rozwoju tego kontaktu, nie będą wykazywały potrzeby bliskiej relacji z ludźmi, aczkolwiek osobniki, które miały zapewnioną stymulację wczesnorozwojową będą odczuwały potrzebę tego rodzaju relacji. W przypadku braku możliwości obcowania z człowiekiem lub ograniczonym stopniu może to doprowadzić do potencjalnych zaburzeń behawioralnych, co można zauważyć w schroniskach dla zwierząt.

## **2.6. Relacje w kocich grupach społecznych**

System społeczny kotów bywa bardzo heterogeniczny i głównie zależy od warunków środowiskowych. Swobodny dostęp do pokarmu sprzyja tworzeniu kocich grup i życiu w symbiozie. Utworzenie relacji daje większe poczucie bezpieczeństwa. Koty budują hierarchię, która dotyczy osobno innego zasobu. Zwierzęta te nie mają jednej trwałej zależności w grupie. Dążą do ciągłej reorganizacji. Osobnik o niższej pozycji społecznej będzie próbował podbudować swoje usytuowanie rywalizując z osobnikiem uprzywilejowanym. Równocześnie kot z większymi prawami będzie udowodniać swoją przewagę.

Koty są zwierzętami społecznymi, mającymi umiejętność budowania skomplikowanych relacji. Mogą one opierać się na sympatii, jak i antypatii. Bliskie więzi oparte na przyjaźni często rodzą się pomiędzy rodzeństwem, ale również wśród zwierząt niespokrewnionych [17].

W schroniskach często dochodzi do nieprzewidywalnej rotacji osobników, która utrudnia budowanie relacji. Często dochodzi do walk o przebiegu pasywnym. Opierają się na wysyłaniu subtelnych sygnałów do osobników słabszych, jak i nowych w grupie. W takich sytuacjach może dość również do znakowania moczem co świadczy o stresie i niekomfortowej sytuacji dla danego osobnika [18].

## **2.7. Zasoby**

Jednym z podstawowych zasobów u kotów jest terytorium. W przypadku ograniczonej przestrzeni koty budują harmonogram korzystania ze współwłasności. W momencie gdy dany osobnik zajmuje jedno legowisko inny będzie korzystał z innego i respektował jego prawo do korzystania z określonego miejsca w danym czasie. Dzięki temu, że zwierzęta te wzajemnie się unikają, jest możliwe utrzymanie względnej równowagi. Zdarza się, że niektóre osobniki nie przestrzegają zasad i próbują anektować dane dobro na własność [15]. Wówczas dochodzi do napięć i ewentualnych konfliktów. Takimi dobrami mogą być drapaki czy wysoko położone miejsca służące jako schronienie oraz punkt obserwacyjny.



Wysokie schronienia pozwalają kotu na izolację oraz odpoczynek. To element przetrzeni, który zwierzę traktuje jak azyl w momencie wyczerpania. Z drugiej strony ma możliwość obserwowania otoczenia, co zapewnia mu poczucie komfortu i bezpieczeństwa.

Drapaki za to służą nie tylko do złuszczenia pochwłki pazurów, ale również, a nawet przede wszystkim, jako „podpis” kota. Drapiąc zwierzę zaznacza wizualnie i zapachowo swoją obecność oraz terytorium [17].

Koty to zwierzęta, które preferują spożywanie posiłków w samotności. W grupie konieczne jest rozdzielanie miejsc spożywania posiłków, na tyle daleko, by zapewnić komfort i poczucie bezpieczeństwa [17]. W przypadku braku zapewnienia tej odległości lub konieczności karmienia z jednego talerza, koty będą spięte i może dochodzić do kłótni. Zazwyczaj pierwszymi objawami braku komfortu jest szybkie i łapczywe jedzenie, oglądanie się za siebie lub wydawanie dźwięków ostrzegawczych np. syczenie [17].

Zagwarantowanie dobrego dostępu do wody, jest dla kotów nad wyraz ważne. Zwierzęta te piją jej bardzo mało. Osobniki polujące lub spożywające mokrą karmę dostarczają ją organizmowi razem z mięsem, za to koty żywiące się karmą suchą trzeba zachęcać do picia. Można to robić na kilka sposobów np. stawiać dużą ilość misek z wodą, unikać lokalizacji, w których znajduje się jedzenie (koty w naturalnym środowisku piją i jedzą w różnych miejscach), zagwarantować przepływ wody.

Kolejnym niezbędnym zasobem dla kotów jest kuweta. Zawsze liczba kuwet powinna odpowiadać ilości kotów w danym środowisku plus jedna. Niezależnie od rodzaju kuwety, ważne jest, by była ona stabilna i czysta. Kot nie wejdzie do niestabilnego pojemnika, może to skutkować problemami z korzystaniem z toalety lub całkowitej ignorancji. W aspekcie czystości trzeba zadbać o regularną wymianę podłoża, jak i mycie kuwet. Zaniedbanie tych czynności może być powodem wielu zaburzeń objawiających się niewłaściwą urynącją czy defekacją. Ważna jest również wielkość kuwety oraz lokalizacja. Powinna ona być na tyle szeroka, by kot mógł się swobodnie obrócić oraz zlokalizowana w miarę cichym, ustronnym miejscu. Rodzaj podłoża również ma bardzo duże znaczenie. Powinno być miękkie, warto, by przypominało naturalny piasek, nie powinno posiadać silnego zapachu. Minimalna warstwa żwirku powinna być na tyle gruba, by kot mógł bezproblemowo w nim kopać. W kwestii terytorialnej, kuwety powinny być postawione w określonych miejscach, które koty uważają za swój teren. W schroniskach bywa to kłopotliwe dlatego ważne jest, by stawiać je w jak największej odległości od siebie. W przeciwnym wypadku, może dojść do sporów między osobnikami [15, 17].

U kotów można zauważyć mechanizm polegający na blokowaniu zasobów przez danego osobnika. Zdarza się to w kocich grupach, a zapobiec temu można stosując metodę multiplikacji zasobów oraz usytuowaniu ich w łatwo dostępnych oraz pozwalających na ucieczkę miejscach [17].

### **3. Podsumowanie**

Wszystkie czynniki środowiskowe mogą znacząco odbić się na zachowaniu i kondycji psychicznej kotów schroniskowych. Ważne jest, aby schroniska dla zwierząt oferowały nie tylko podstawową, minimalną według narzuconych wytycznych opiekę w zakresie warunków życia i dobrostanu, ale także działały prewencyjnie w celu zapobiegania lub minimalizacji potencjalnie występujących problemów behawioralnych. To z kolei jest możliwe tylko dzięki otwartości na zmiany osób zaangażowanych w życie zwierząt przebywających w schronisku, cykliczne udoskonalanie ich warunków bytowych oraz bieżące aktualizowanie wiedzy z zakresu kocich potrzeb gatunkowych.

## Podziękowania

Praca była częścią projektu pt. „Redukcja poziomu stresu u kotów schroniskowych poprzez zastosowanie wzbogaceń środowiskowych”. Dofinansowano przez Ministra Edukacji i Nauki ze środków z budżetu państwa w ramach programu „Studenckie Koła Naukowe Tworzą innowacje”.

## Literatura

1. Amat M., Ruiz de la Torre J.L., Fatjó J., Mariotti V.M., Van Wijk S., Manteca X., *Potential risk factors associated with feline behaviour problems*, Applied Animal Behaviour Science, 121, 2009, s. 134-139.
2. Heath S.E., *Behaviour Problems And Welfare*, [w:] Rochlitz I. (red.), *The Welfare Of Cats*, Animal Welfare, vol. 3, Springer, Dordrecht 2007.
3. Cholewiak-Góralczyk A., „*Nie dla psa (i kota) kielbasa*”, Wydawnictwo Otwarte, Kraków 2020.
4. Fitzgerald B.M., Turner D., *Hunting behaviour of domestic cats and their impact on prey populations*, [w:] *The domestic cat, the biology of its behaviour. 2nd edition*, Wydawnictwo Cambridge University Press, UK, 2000, s. 151-175.
5. Bradshaw J.W.S., *The evolutionary basis for the feeding behavior of domestic dogs (Canis familiaris) and cats (Felis catus)*, The Journal of Nutrition, 136, 2006, s. 1927-1931.
6. Cecchetti M., Crowley S.L., Goodwin C.E., McDonald R.A., *Provision of high meat content food and object play reduce predation of wild animals by domestic cats Felis catus*, Current Biology, 31, 2021, s. 1107-1111.
7. Dantas L.M., Delgado M.M., Johnson I., Buffington C.T., *Food puzzles for cats: feeding for physical and emotional wellbeing*, Journal of Feline Medicine and Surgery, 18(9), 2016, s. 723-732.
8. Delgado M., Bain M.J., Buffington C.T., *A survey of feeding practices and use of food puzzles in owners of domestic cats*, Journal of Feline Medicine and Surgery, 22(2), 2020, s. 193-198.
9. Cecchetti M., Crowley S.L., McDonald R.A., *Drivers and facilitators of hunting behaviour in domestic cats and options for management*, Mammal Review, 2020, s. 1-16.
10. Rzepka A., *Ponad stuletnie poszukiwania funkcji zabawy*, Wydawnictwo Kosmos, 64(1), Kraków 2015, s. 1-10.
11. Martin D., *Feline behavior and development*, [w:] Martin D., Shaw J. (red.), *Canine and Feline Behavior for Veterinary Technicians and Nurses*, John Willey & Sons, Ames, Iowa, USA, 2015, s. 51-69.
12. Rochlitz I., *Podstawowe wymogi dotyczące zdrowia psychicznego i dobrostanu kotów*, [w:] Horwitz D.F., Millis D.S. (red.), *Medycyna Behawioralna psów i kotów*, Wydawnictwo Galaktyka Sp. z o. o., Łódź 2016, s. 39-52.
13. Penar W., Klocek Cz., *Aggressive behaviors in domestic cats (Felis catus)*, Annals of Warsaw University of Life Sciences – SGGW, Animal Science, No 57 (2), 2018, s. 143-150.
14. Frank D., Dehasse J., *Differential diagnosis and management of human-directed aggression in cats*, Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice, 33(2), 2003, s. 269-286.
15. Johnson-Bennet P., *Jak kot z kotem*, Wydawnictwo Galaktyka Sp. z o.o., Łódź 2010, s. 32-33, 94-95, 142-145.
16. Bradshaw J., *Zrozumieć kota, na tropie miauczącej zagadki*, Wydawnictwo Czarna owca, Warszawa 2020, s. 115-119.
17. Biegańska-Hendryk M., *Co jest, kocie? Wszystko, co musisz wiedzieć, aby zrozumieć swojego kota*, Wydawnictwo Samo Sedno 2015, s. 29-33, 51-53, 80-89.
18. Halls V., *Kocie tajemnice*, Wydawnictwo Galaktyka Sp. z o.o., Łódź 2007, s. 94-95.

## Problemy behawioralne kotów schroniskowych

### Streszczenie

Na jakość życia kotów schroniskowych wpływa wiele elementów składowych. W zależności od zasobów finansowych, ludzkich i organizacyjnych schroniska, mogą się one znacząco wahać i tym samym przekładać na koci dobrostan. Nie oznacza to jednak, że schronisko o obiektywnie mniejszym nakładzie środków, nie jest w stanie zapewnić swoim podopiecznym zrównoważonego środowiska życia i możliwości spełniania potrzeb gatunkowych.

W pracy zwrócono uwagę zarówno na przyczyny potencjalnych problemów mogących pojawiać się w schronisku, jaki i wskazano rozwiązania, które można wdrożyć w celu ich załagodzenia bądź eliminacji w zgodzie z kocim etogramem. Taka analiza oraz dokładne przyjrzenie się występującym w kocim życiu stresorom umożliwia szybkie wyłapanie problemów lub braków środowiskowych i podjęcie odpowiednich działań prewencyjnych w zależności od indywidualnych potrzeb.

Słowa kluczowe: kot domowy, *Felis catus*, behawioryzm kotów

## Behavioral problems in shelter cats

### Abstract

The quality of life of shelter cats is affected by many components. Depending on the financial, organizational and human resources of the shelter, they can fluctuate significantly and thus translate into cat well-being. This does not mean that a shelter with an objectively lower expenditure of resources is not able to provide a sustainable living environment and the opportunity to meet the needs of species.

The paper draws attention to both the causes of potential problems that may arise in the shelter, as well as indicates solutions that can be implemented to alleviate or eliminate them in accordance with the cat's ethogram. Such analysis and a thorough look at stressors occurring in cat's life allows to quickly catch environmental problems or deficiencies and take appropriate preventive actions depending on individual needs.

Keywords: domestic cat, *Felis catus*, cat behavior

# Porównanie wybranych aspektów biologii fermowych i dziko żyjących jeleniowatych

## 1. Wprowadzenie

Od kilkudziesięciu lat obserwuje się wzrost zainteresowania jeleniowatymi, a dokładniej ich znaczeniem w rolnictwie [1]. Wynikiem tego jest coraz szybszy rozwój i zauważalny postęp w hodowlach fermowych tych zwierząt. Według danych zaprezentowanych przez organizację FEDFA (ang. *Federation of European Deer Farmers Associations*), zrzeszającą hodowców z 16 państw, na ich terenie funkcjonuje około 5 000 ferm jeleniowatych. W Polsce znajduje się ich 200, utrzymujących łącznie 22 000 zwierząt, w tym 66% danieli zwyczajnych i 34% jeleni szlachetnych [2].

Głównym założeniem hodowców jeleniowatych jest określenie i wykorzystanie potencjału poszczególnych zwierząt w celu pozyskiwania surowca mięsnego [1], jednocześnie zwracając przy tym dużą uwagę na zachowanie odpowiednich warunków dobrostanowych. Chów tych zwierząt stawia przed nimi wiele potencjalnych wyzwań [3]. Jak podaje Mattiello [3] jelenie i daniela można uznać za gatunki nowo udomowione [4], których adaptacja do warunków fermowych wciąż trwa. Wpływ środowiska, ale przede wszystkim praktyk hodowlanych może spowodować u tych zwierząt zmiany fizjologiczne, fenotypowe oraz behawioralne. W związku z tym celem badań było wskazanie różnic w wybranych aspektach biologii fermowych i dziko żyjących jeleniowatych.

## 2. Żywienie

W Polsce występuje 5 dziko żyjących gatunków jeleniowatych, jednak nie wszystkie mogą być utrzymywane w warunkach fermowych. Obowiązujące prawo określa 3 z nich: jelenia szlachetnego, jelenia wschodniego, daniela zwyczajnego, jako zwierzęta gospodarskie [5]. Sarna europejska i łoś euroazjatycki nie zostały do nich zakwalifikowane ze względu na m.in. specyfikę ich żywienia. Według podziału przeżuwaczy zaproponowanego przez Hofmanna i Geigera [6] są to gatunki wyspecjalizowane pod względem selektywności pokarmu (ang. *browsers*), natomiast pozostałe, jelen i daniel, mają mniejsze wymagania pokarmowe i zaliczane są do typu pośredniego (ang. *intermediate feeders*).

Odżywianie jest jednym z kluczowych czynników mających wpływ na pozostałe procesy fizjologiczne zwierząt [7]. W warunkach naturalnych w skład diety jeleni wchodzi co najmniej 145 gatunków roślin, a głównym tego determinantem jest zasobność troficzna środowiska [8], jak również pora roku [9]. Warunki fermowe, mimo braku możliwości migracji zwierząt i mniejszej różnorodności troficznej, zaspokajają zapotrzebowania pokarmowe jeleniowatych, a dodatkowo umożliwiają dopasowywanie dawki pokarmowej do konkretnego osobnika bądź grupy technologicznej [1]. Możliwe jest również stosowanie specjalistycznych sposobów suplementacji mikro- i makroelementów (np.

<sup>1</sup> jagoda.czajkowska@student.uwm.edu.pl, Katedra Hodowli Zwierząt Futerkowych i Łowiectwa, Wydział Bioinżynierii Zwierząt, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, www.uwm.edu.pl.

<sup>2</sup> hanzal@fld.czu.cz, Faculty of Forestry and Wood Sciences, Czech University of Life Sciences, www.czu.cz/en.

poprzez autorskie receptury granulatów), co w efekcie pozwala na zintensyfikowanie rozwoju masy ciała i poroża, które nie wystąpiłoby w warunkach naturalnych [7]. Przykładowo, wyniki badań dotyczących hodowlanych danieli zwyczajnych [10] wskazują, iż suplementacja Ca i P wpływa pozytywnie na masę ciała osobników w wieku 14 miesięcy. Wprowadzenie dodatkowych mikroelementów w diecie doprowadziło również do zwiększenia zawartości Ca, Na, P i Mg w ich porożu.

Różnice w poziomach poszczególnych pierwiastków w tkankach zwierząt mogą być generowane odmiennymi warunkami bytowania, a tym samym – pokarmu. Potwierdzają to badania porównawcze Tajchman i in. [11] szpiku kostnego oraz kości dziko żyjących i hodowlanych jeleniowatych. Analizowane zwierzęta pochodziły z terenów bezpośrednio sąsiadujących ze sobą, mimo tego wyniki wskazały, iż średnia zawartość Na, K, Zn i Se była wyższa w szpiku kostnym osobników fermowych. Natomiast w kościach u dziko żyjących jeleni wyższymi wartościami charakteryzowały się Ca, P, K, Na, Mg, Li, a w grupie hodowlanej – Mn, Cr, Cu, Se oraz Mo. Jak wskazują autorzy, poziomy pierwiastków określonych u osobników na wolności związane były z ich dostępnością w naturalnej bazie pokarmowej [11]. Te same dwie grupy badanych zwierząt [11] posłużyły do porównania u nich stężeń pierwiastków toksycznych. Tajchman i in. [12] wykazała wyższą akumulację As, Ba i Pb w kościach osobników dzikich. Natomiast wyższy poziom Al (w szpiku kostnym i kościach) oraz Cb (w kościach) odnotowano u zwierząt gospodarskich. Wyniki te należy jednak przyjmować jako zależne od środowiska oraz miejsca lokalizacji fermy. Niemniej jednak analizy te wskazują, iż osobniki bytujące na sąsiednich terenach, lecz w różnych warunkach mogą być jednocześnie wskaźnikami zanieczyszczenia i wykazywać w tkankach różne stężenia poszczególnych pierwiastków.

Jeleniowate wykazują zwiększone zapotrzebowanie na związki mineralne w trakcie neuralgicznych okresów w życiu np. podczas corocznego tworzenia poroża [1]. Jeśli środowisko nie zapewni im odpowiedniej ich ilości, wtedy zwierzęta mogą wykazywać specyficzne zachowania. Niedobory w diecie jeleniowatych mogą objawiać się u nich chociażby występowaniem osteofagii, czyli zjadaniem kości (w tym również zrzutów poroża) [13, 14]. Takie przypadki zaobserwowano m.in. u dziko żyjących danieli i jeleni w rezerwacie przyrody Bosque de Riofrío (Segovia, Hiszpania). Jak wskazują autorzy [13] jedną z przyczyn tego jest znaczne wyjałowienie gleby na analizowanym terenie, co zmusiło zwierzęta do pozyskiwania związków mineralnych z kości innych zwierząt roślinożernych. Dotychczas nie odnotowano przypadków osteofagii u fermowych jeleniowatych. Może być to związane z odpowiednią suplementacją związkami mineralnymi, jaką zazwyczaj stosuje się w hodowli jeleniowatych [1].

### **3. Stres**

Przejawianie naturalnego behawioru, w tym również reakcji antagonistycznych, umożliwia przeprowadzenie dokładnych analiz pozwalających na lepsze poznanie biologii jeleniowatych oraz jej zmienności w zależności od warunków otoczenia. Wszelkie bodźce generujące stres wpływają na aktywność dobową zwierząt. Jeśli w środowisku, w którym przebywają jeleniowate jest dużo stresogennych czynników, prowadzą one wtedy w pełni nocny tryb życia. Jeśli natomiast bodźce te występują w niewielkiej liczbie zauważa się zwiększoną aktywność zwierząt (na otwartych przestrzeniach) również w ciągu dnia [3, 15]. Te stwierdzenia łączą się z głównymi założeniami chowu fermowego, czyli zapewnieniem jeleniowatym najlepszych warunków dobrostanowych z zachowa-

niem wszelkich wymogów prawnych. Hodowcy zwracają uwagę na specyfikę gatunków oraz planują z dużym wyprzedzeniem wszelkie prace związane z możliwością generowania nadmiernego stresu [3]. W porównaniu do osobników dziko żyjących, jeleniowate utrzymywane fermowo (z zachowaniem wysokiego poziomu dobrostanu) wykazują aktywność dzienną, co może wskazywać na małą liczbę czynników stresogennych [1], w tym również przyzwyczajenie do ludzi.

Mimo starań w ograniczeniu negatywnych bodźców u fermowych jeleniowatych występują zachowania stresowe, m.in. nagłe ucieczki, wpływające na powstawanie urazów mechanicznych ciała, a nawet śmiertelnych upadków zwierząt [1, 3]. Hodowca musi posiadać odpowiednią wiedzę na temat behawioru konkretnych gatunków, ponieważ jak wskazują badania przeprowadzone przez Kilgoura i Daltona [16] wiele aspektów hodowli tych zwierząt wiąże się z możliwością występowania nadmiernego stresu. Przykładowo daniel zwyczajny, jelen szlachetny i jelen wschodni (sika) to gatunki preferujące bytowanie w ugrupowaniach [17], w związku tym izolowanie pojedynczych osobników w warunkach chowu fermowego może przyczynić się do podwyższenia poziomu stresu, a nierzadko wykazywania agresji [16].

W warunkach naturalnych stres może przyczynić się do poważnych konsekwencji zdrowotnych, w tym śmierci jeleniowatych. Zauważa się wystąpienie miopatii po schwytaniu (PM, ang. *postcapture myopathy*) dziko żyjących osobników [18]. Badania Ashrafa i in. [19] wykazały, iż na 178 przypadków schwytania jeleni axis, 40 z nich zmarło z powodu PM. Dokładne analizy wskazywały na uszkodzenia mięśni i narządów wewnętrznych. Oznacza to, iż próby schwytania osobników dziko żyjących mogą doprowadzić do ich nagłej śmierci na skutek silnego bodźca stresowego. W hodowli fermowej jeleniowatych występuje konieczność schwytania zwierząt w celu m.in. ich oznakowania (transpondery, kolczyki) czy odrobaczenia [1]. Odbywa się to poprzez przeganianie stada przez korytarz przepędowy oraz umieszczenie pojedynczego osobnika w poskromie. Mimo, iż jest to forma schwytania zwierzęcia, to na dobrze zorganizowanych fermach przestrzegających odpowiednie wymogi dobrostanowe bardzo rzadko występują przypadki śmierci na skutek takich działań [1, 20]. Można zatem stwierdzić, iż jeleniowate utrzymywane w warunkach gospodarskich w porównaniu do osobników wolno żyjących przejawiają mniejszy stres spowodowany obecnością oraz kontaktem z ludźmi. Cykliczne prace i zabiegi zootechniczne mogą przyzwyczajając zwierzęta do wspomnianych czynności. Wiąże się to również z adaptacją do warunków bytowania. W celu potwierdzenia tego warto zwrócić uwagę na badania przeprowadzone przez Hanlona i in. [21]. Autorzy wnioskuje, iż cieleta pochodzące od łań dziko żyjących są bardziej wrażliwe na stres wywołany warunkami fermowymi niż te pochodzące od matek hodowlanych [21]. Autorzy stwierdzili to na podstawie obserwacji ich odmiennych zachowań i słabszej odpowiedzi immunologicznej na obce antygeny. Jak twierdzi Mattiello [3], gdy zwierzęta przenoszone są z wolnych terenów do warunków hodowlanych ich mechanizmy adaptacyjne w nowych okolicznościach są wyraźniejsze niż w przypadku gatunków domowych.

#### 4. Struktura socjalna

U większości gatunków należących do rodziny *Cervidae* można stwierdzić występowanie struktury socjalnej [22-27]. W celu wykazania w niej różnic lub jej braku w zależności od odmiennych warunków bytowania jeleni i danieli należy uwzględnić wystę-

pujące u nich ugrupowania. Przez większość roku (z wyjątkiem okresu godowego) tworzą one jednopłciowe chmary (żeńskie i męskie).

Żeńskie ugrupowanie składa się zazwyczaj z kilku do kilkunastu samic (łan) oraz ich potomstwa. Przewodniczką tej grupy jest dojrzała, doświadczona łania (tzw. licówka), która kieruje chmarą [25]. Ze względu na organizację przestrzenną, rola licówki na fermach jest ograniczona w porównaniu do warunków naturalnych. Nie miej jednak w praktyce hodowlanej uwzględnia się ewentualną obecność łani przewodniej w chmarze i unika prób oddzielenia jej od grupy, np. podczas manipulowania stadem [1, 3].

W przypadku ugrupowań męskich można wyróżnić wśród nich: grupy kawalerskie (osobniki dwuletnie i starsze do 6-7 roku życia), grupy byków dojrzałych (po 6.-7. roku życia) oraz najstarsze osobniki [22, 25]. Wykształcenie takich struktur wiekowych ogranicza występowanie interakcji antagonistycznych wewnątrz jednego ugrupowania i pomiędzy nimi [28]. W warunkach gospodarskich także stosuje się podział na analogiczne grupy płciowo-wiekowe, co ułatwia uniknięcie konfliktów pomiędzy dorosłymi samcami i młodszymi, które mogą wynikać np. z konkurencji o pokarm [1]. Oznacza to, iż w ogólnym porównaniu struktur socjalnych u jeleniowatych dziko żyjących i fermowych nie ma znaczących zmian. Jest to natomiast przykład wykorzystania w praktyce hodowlanej wiedzy zdobytej z obserwacji zwierząt wolno żyjących.

## **5. Okres godowy**

Bardzo ważnym aspektem chowu i hodowli zwierząt jest ich rozród. Liczne badania przeprowadzane na zwierzętach gospodarskich umożliwiły znaczny rozwój obiektów hodowlanych, w tym również ferm jeleni i danieli [1, 29-37]. Jak wskazują wyniki badań przeprowadzonych przez de Garine-Wichatitsky i in. [38] populacje jeleniowatych utrzymywanych na dobrze zorganizowanych i kontrolujących proces rozrodu fermach mogą charakteryzować się większą różnorodnością genetyczną od populacji dziko żyjących. Niejednokrotnie potwierdzono możliwość stosowania zabiegu inseminacji na fermach jeleniowatych [39-42], co może wpływać na zróżnicowanie genotypowe hodowlanych zwierząt, jak również pozwala uzyskać cielęta o lepszych przyrostach, większym porożu i wyższej potencjalnej płodności [37]. Jej zastosowanie umożliwiłoby doskonalenie rozrodu jeleniowatych bez konieczności zakupu nowych zwierząt, co może wiązać się z upadkami w trakcie transportu lub problemami przystosowania ich do nowych warunków [41]. Aktualnie w polskich hodowlach jeleniowatych nie stosuje się takich praktyk, chociaż wstępne badania naukowe były prowadzone na fermach PAN w Kosewie Górnym [43] i Popielnie [44-45]. Kontrolowanie rozrodu jeleniowatych na wolności jest kwestią problematyczną. Stwierdzono, że w chmarach, które zasiedlają niewielki obszar, co wpływa na ograniczone możliwości migracji, może dojść do chowu wsobnego. Hamuje to wzbogacanie różnorodności genetycznej oraz w kolejnych pokoleniach może przyczynić się do anomalii w biologii tych zwierząt [46-47]. W warunkach naturalnych odnotowywane są przypadki hybryd między gatunkowych, w tym jelenia wschodniego z jeleniem szlachetnym [48]. Krzyżówki te wykazują m.in. zmiany w wyglądzie i jakości poroża, wokalizacji oraz wymiarach czaszek [49-52]. Jest to istotna różnica pomiędzy warunkami naturalnymi a odpowiednio prowadzoną hodowlą fermową jeleniowatych. W chowie zamkniętych nie występują przypadki niekontrolowanych krzyżówek międzygatunkowych, a ewentualna hybrydyzacja może być jedynie zaplanowanym zabiegiem hodowlanym w celu wykorzystania efektu heterozji (fenotypowa wybujałość mieszańców) [53].

Omawiając różnice w rozrodzie między dziko żyjącymi a fermowymi jeleniowatymi należy uwzględnić również ich behavior godowy i aktywny udział w rozrodzie. Z badań Volodina i in. [54] wynika, iż częstotliwości odgłosów godowych w trakcie rykowiska jest wyższa u jeleni hodowanych fermowo niż u dziko żyjących. Jak sugerują autorzy może być to spowodowane pobudzeniem emocjonalnym wynikającym z obecności człowieka lub dobrej kondycji osobniczej.

Jak podają Bobek i in. [55] byki już w wieku 1,5 roku mogą produkować dojrzałe plemniki. Mimo to, w warunkach naturalnych do rozrodu podchodzą głównie osobniki starsze. Młodsze natomiast ze względu na niższą pozycję w strukturze socjalnej samców nie są dopuszczane do krycia łań [22, 25]. Przykładowo jelenie wschodnie (byki) przystępują do rui w wieku 3-4 lat [27], a samce jelenia szlachetnego powyżej 4 roku życia [26]. W hodowli fermowej szacuje się, iż byk daniela zwyczajnego w wieku 3 lat i powyżej może pokryć 30-35 łań, a jelen szlachetny (3-4 lata) – 30 do 50. Liczba ta jest zależna od wieku, im starszy osobnik (do osiągnięcia starości) tym większe możliwości reprodukcyjne [1, 53]. W przeciwieństwie do warunków naturalnych na fermie do rozrodu można dopuścić byki już w wieku 1,5 roku. Jeżeli takie osobniki nie są poddawane presji ze strony dojrzałych samców, wtedy mogą one przejawiać normalne zachowania płciowe i są w stanie skutecznie zapłodnić samice [1]. W naturze, przy odpowiedniej strukturze wiekowej samców, rzadko odnotowuje się takie przypadki ze względu na wspomnianą wcześniej dominację starszych byków.

## **6. Poród i odchów potomstwa**

Mimo, iż fermowe jeleniowate od kilkudziesięciu pokoleń zostały uznane za zwierzęta gospodarskie, a proces krycia, przebieg ciąży i porody odbywają się w odmiennych warunkach od naturalnych, to jednak termin przyjscia na świat młodych hodowlanych jeleni i danieli jest analogiczny jak u osobników dziko żyjących, czyli na przełomie maja i czerwca [1, 22, 24-26, 55, 56]. Odpowiednia organizacja przestrzenna fermy i urządzenie kwater, na których przebywają wysoko cielne łanie pozwalają na poprawny przebieg tego procesu. Niezapewnienie warunków dobrostanowych może generować u samic atypowy behavior [3]. Zapewnienie osłon wizualnych, tj. krzewy, drzewa, wysoka roślinność zielna, zwalone pnie i inne, umożliwia m.in. poprawę dobrostanu [3, 57-59], a tym samym zmniejszenie niepożądanych zachowań [3, 29, 30, 60]. Na wolności łania na czas porodu odłącza się od stada i powraca do niego po około 2 tygodniach [22, 25]. Na fermach zwierzę może nie mieć takiej możliwości przez co zauważa się charakterystycznie chodzenie samicy wzdłuż ogrodzenia. Zachowanie to intensyfikuje się wraz ze zbliżającym się porodem [1]. W naturze łania rodzi w zagłębieniach terenu charakteryzujących się bujną roślinnością, w tym wysoką trawą, krzewami itp. umożliwiającym jej schronienie [22-27]. Natomiast w warunkach sztucznych, w przypadku braku takich miejsc, łania jest zmuszona do porodu w obszarze naturalnie do tego nieprzystosowanym [61], np. pod siatką lub na całkowicie otwartych przestrzeniach bez wysokiej roślinności czy cienia [3, 62]. Do analogicznych sytuacji dochodzi w przypadku ukrywania nowonarodzonych cieląt w miejscach narażających ich zdrowie i życie, co bardzo rzadko obserwuje się u dziko żyjących jeleniowatych [1, 62].

Przeżywalność młodych osobników na wolności uzależniona jest m.in. od presji drapieżników, chorób i nierzadko od ludzi, co odnosi się do wypadków z udziałem maszyn rolniczych. Dobra organizacja szlaków transportowych oraz odpowiedni nadzór zoo-



techniczny umożliwia ograniczenie śmiertelności cieląt, która dzięki temu na fermach szacowana jest na zaledwie 10% [63]. W przypadku warunków naturalnych parametr ten wyliczany dla osobników do 1 roku życia w Polsce może sięgać nawet 50% [25].

W trakcie okresu dorastania zachodzą u jeleniowatych zmiany anatomiczne oraz fizjologiczne i behawioralne, które mogą wpływać na przyszłość danego zwierzęcia zarówno w warunkach naturalnych, jak i hodowlanych [64]. Analiza zachowań osobników młodocianych może ułatwić hodowcom podjęcie decyzji o czasie odstawienia cieląt od łań, zakładaniu grup hodowlanych czy dostosowywaniu kwater do odchowu młodych. Jednakże nadmierna ingerencja ludzi w proces wycieleń może skutkować m.in. poronieniem, co zauważalne jest najczęściej u pierworódek [1], lub zaburzeniem relacji matka-cielę [65-66], w tym porzuceniem potomstwa [16]. Odchów osieroconych cieląt jelenia przez ludzi, które trzymane są z dala od pozostałych zwierząt, może w przyszłości skutkować częstszymi przypadkami agresji w stosunku do człowieka w trakcie rykowiska [16]. W warunkach chowu zagrodowego obserwuje się również zachowania niespotykane w naturze. Przykładem tego jest tworzenie tzw. „przedszkoli”, które polegają na zgrupowaniu kilkumiesięcznych cieląt pochodzących od różnych matek, nad którymi tymczasową opiekę przejmuje jedna z łań. Przebywają one wówczas razem, wspólnie zaznajamiają się z otoczeniem, uczą się i żerują w niedalekiej odległości od samic [1, 29, 30, 64]. Na fermach odnotowuje się również przypadki „zamiany” matek oraz adopcje cieląt przez łąnie, które straciły potomstwo [67].

Zarówno w warunkach naturalnych, jak i chowu fermowego jeleniowatych podczas laktacji może dojść do specyficznego zjawiska określanego mianem „kradzieży mleka” lub ang. *allosucking*. Polega ono na pobieraniu pokarmu od łąni, która nie jest matką danego cielęcia. Badania występowania, częstotliwości i podatności dziko żyjących cieląt danieli zwyczajnych na „allossanie” wykazały, iż na 292 przypadki prób pobierania mleka 43% z nich dotyczyło ssania samicy nie będącej ich matką [68]. Analogiczne analizy przeprowadzono na danielach fermowych. Ich wyniki wykazały, iż spośród 1747 przypadków ssania 73% z nich było allossaniem [69]. Wskazuje to na wyższą częstotliwość występowania tego zachowania u osobników fermowych niż dziko żyjących. Podobne analizy przeprowadzono również na fermowych jeleniach szlachetnych [70]. Na 1015 przypadków ssania 325 z nich dotyczyło podbierania mleka przez obce młode. Jednakże spośród wszelkich możliwych sposobów pobierania pokarmu jedynie 25% cieląt ssało wyłącznie łąnie matczyne. Ponad 74% zachowań dotyczyło ssania mieszanego, czyli połączenia ssania matczynego i „allossania”. Omawianą „kradzież mleka” zaobserwowano również u wolno żyjących jeleni szlachetnych [71-72]. Można przypuszczać, że podobnie jak u dzikich danieli zwyczajnych zjawisko to może występować z mniejszą częstotliwością u jeleni szlachetnych na wolności. Niestety brak jest pełnego potwierdzenia tej teorii w literaturze naukowej.

## 7. Długość życia jeleniowatych

Maksymalna długość życia jeleni na wolności jest trudna do określenia m.in. ze względu na obecnie obowiązujące zasady gospodarki łowieckiej (realizacja odstrzału redukcyjnego) [22, 56]. Jednak u samców już w wieku 13 i 14 lat obserwuje się zmiany świadczące o ich starzeniu, tj. uwstecznianie się poroża, silne starcie zębów [73]. W hodowli fermowej jelen szlachetny może żyć 20-25 lat [1, 22], natomiast odnotowany rekord wyniósł 31 lat [74]. Można zatem przypuszczać, iż utrzymywanie zwierząt w warunkach

zamkniętych z zachowaniem wysokiego poziomu dobrostanu może przyczynić się do zwiększania przeżywalności starych osobników, a tym samym do zwiększenia średniego wieku jeleniowatych.

Jednym z czynników wpływających na ich śmiertelność są ataki wilków lub rzadziej bezpańskich psów. Zabezpieczenie zwierząt przed drapieżnikami jest jednym z podstawowych aspektów planowanych w trakcie tworzenia fermy [1, 20, 75]. Istotnym zabiegiem w chowie zagrodowym jest cykliczne odrobaczanie oraz stały dogład stanu zdrowia zwierząt. Tym samym hodowca ma możliwość wpływu na mniejszy procent upadków i lepszą kondycję jeleniowatych będących w różnym wieku [1]. Takich możliwości nie ma w warunkach naturalnych. Na przeżywalność znaczny wpływ mają jakość i ilość pokarmu pobieranego przez zwierzęta. W hodowli fermowej istnieje możliwość przygotowywania odpowiedniej dawki pokarmowej, w tym o odmiennej formie oraz składzie, indywidualnie przypisanej do danego osobnika lub grupy wiekowej [1]. Można przy tym uwzględnić m.in. zmiany w uzębieniu, w tym wycieranie się zębów przedtrzonowych i trzonowych postępujące wraz z wiekiem [25] oraz brak fizjologicznego przystosowania zwierzęcia do spożywania pokarmów stałych, co dotyczy głównie osieroconych bądź wcześniej odłączonych cieląt [1, 3]. W przeciwieństwie do tego dziko żyjące jeleniowate wykorzystują naturalne zasoby troficzne siedliska, które nie zawsze zaspokoja ich wymagania jakościowe i ilościowe [7]. Jednocześnie poddane są one dużej zmienności wynikającej m.in. z panujących warunków atmosferycznych [9]. Przyczynia się to do różnic z kondycji osobniczej zwierząt dziko żyjących a hodowlanych.

## **8. Nowe techniki badania biologii jeleniowatych**

Omawiając różnice w biologii fermowych i dziko żyjących jeleniowatych obserwuje się obopólne korzyści badań naukowych przeprowadzanych w odmiennych warunkach bytowania. Wiedza zdobyta na dzikich osobnikach wykorzystywana jest na fermach m.in. w celu zwiększania dobrostanu zwierząt a równocześnie wyniki badań uzyskane na zwierzętach hodowlanych mogą pomóc w zrozumieniu pewnych procesów, które są obserwowane i trudne do wyjaśnienia w warunkach naturalnych.

Naukowe rozpoznanie wielu aspektów fizjologicznych i behawioralnych jeleni i danieli możliwe jest dzięki zastosowaniu różnych technik diagnostycznych. Przykładem tego mogą być biologiczne uwarunkowania tworzenia się i zrzucania poroża przez jeleniowate, co stanowiło od kilkudziesięciu lat temat licznych badań [76-77]. Przeprowadzanie ich w warunkach naturalnych mogło wiązać się z mniejszą dokładnością czy efektywnością, natomiast analizy dokonywane na fermach umożliwiły potwierdzenie wielu naukowych hipotez. Przykładowo, wyniki badań termowizyjnych wskazują, iż ścieranie scypułu poprzedzone jest nagłym spadkiem temperatury, co prawdopodobnie oznacza moment skostnienia tyk [78]. Aktualnie prowadzone są doświadczenia odnośnie komórek wzrostu poroża, m.in. jako skutecznego spoiwa przyśpieszającego i polepszającego proces regeneracji tkanki chrzęstnej i kostnej [79-81]. Hodowla fermowa umożliwia łatwiejsze pobieranie próbek oraz wykonywanie badań, które niekiedy wymagają znacznego zbliżenia się do zwierzęcia, co w warunkach naturalnych stanowiło by kwestię problematyczną.

Chęć lepszego zbadania oraz udoskonalenia chowu i hodowli zwierząt gospodarskich przyczyniło się do wprowadzania nowoczesnych, bezinwazyjnych metod kontroli rozrodu. Cykliczna obserwacja łań z zachowaniem stałych metod badawczych w naturalnych

warunkach jest trudna i nie pozwala na dokładną analizę rozwoju płodu czy poprawnego przebiegu ciąży [29, 30]. W hodowli fermowej możliwe jest wykrywanie rui u samicy daniela zwyczajnego za pomocą termowizji, co uwidacznia się poprzez wzrost temperatury w okolicach narządów rodnych [32]. Zmiany ciepłoty ciała mogą stanowić element oceny zmian fizjologicznych organizmu [34, 82]. Ta sama technika pozwala kontrolować proces przebiegu ciąży. Jak wskazują Cilulko i in. [32] największe różnice temperatury w dolnej części brzucha oraz zadu odnotowano w ostatnim trymestrze, czyli w okresie najintensywniejszego rozwoju płodu. Umożliwia to efektywną obserwację przebiegu ciąży, co ze względów metodycznych, m.in. konieczność zbliżenia się do zwierzęcia na odległość około 1 m, nie byłoby możliwe w przypadku osobników dziko żyjących. Termowizję wykorzystuje się również do lokalizacji cieląt ukrytych w wysokich trawach [31]. Skuteczność tego potwierdzają liczne badania przeprowadzane na fermowych, jak i na dziko żyjących jeleniowatych [29-33].

## 9. Podsumowanie

Porównanie populacji dziko żyjących jeleniowatych i osobników tych samych gatunków, ale utrzymywanych fermowo, wskazuje na występowanie różnic w wybranych aspektach ich biologii. Największe z nich odnotowuje się w przypadku rozrodu oraz behawioru jeleni i danieli. Na wszelkie zmiany bardzo duży wpływ ma miejsce bytowania oraz wszelkie wiążące się z tym praktyki i zabiegi.

Ponadto wykazano, iż wiedza zdobyta na osobnikach dziko żyjących może być wykorzystywana na fermach w celu zwiększania dobrostanu zwierząt, a równocześnie wyniki badań uzyskane na hodowlanych jeleniach i danielach mogą pomóc w zrozumieniu pewnych procesów, które są obserwowane i trudne do wyjaśnienia w warunkach naturalnych.

## Literatura

1. Janiszewski P., Bogdaszewski Z., Bogdaszewski M., Bogdaszewski P., Cilulko-Dołęga J., Nasiadka P., Steiner Ż., *Chów i hodowla fermowa jeleniowatych*, Wydawnictwo UWM, Olsztyn, 2014, s. 5-120.
2. <https://www.fedfa.com> [data dostępu: 15.04.2023].
3. Mattiello S., *Welfare issues of modern deer farming*, Italian Journal of Animal Science, 8(1), 2009, s. 205-217.
4. Mattiello S., *From the wild to the farm: a history of domestication. The example of deer*, [w]: Trávníček M., Kočišová A. (red.), 4<sup>th</sup> International Symposium on Wild Fauna, Stará Lubovňa, Slovakia, 2005, s. 37-44.
5. Ustawa z dnia 29 czerwca 2007 r. o organizacji hodowli i rozrodzie zwierząt gospodarskich (Dz.U. 2007, nr 133, poz. 921).
6. Hofmann R.R., Geiger G., *Zur topographischen und funktionellen Anatomie der Viscera abdominus des Rehes*, Anatomia, Histologia, Embryologia, 3 (1), 1974, s. 63-84.
7. Tajchman K., Steiner-Bogdaszewski Ż., Żółkiewski P., *Requirements and role of selected micro and macro elements in nutrition of cervids (Cervidae)-Review*, Applied Ecology and Environmental Research, 16, 2018, s. 7669-7686.
8. Gebert C., *Variations of diet composition of Red Deer (Cervus elaphus L.) in Europe*, Mammal review, 31, 3 /4, 2001, s. 189-201.
9. Sokół J., *Red Deer (Cervus elaphus) Hinds Discriminate Between the Roars of Their Current Harem-Holder Stag and Those of Neighbouring Stags*, Ethology, 107, 2009, s. 951-959.
10. Tajchman K., Bogdaszewski M., Kowalczyk-Vasilev E., *Effects of supplementation with different levels of calcium and phosphorus on mineral content of first antler, bone, muscle,*

- and liver of farmed fallow deer (Dama dama)*, Canadian Journal of Animal Science, 100(1), 2020, s. 17-26.
11. Tajchman K., Ukalska-Jaruga A., Bogdaszewski M., *Comparison of the accumulation of macro- and microelements in the bone marrow and bone of wild and farmed red deer (Cervus elaphus)*, BMC Veterinary Research. 17, 2021, s. 324.
  12. Tajchman K., Ukalska - Jaruga A., Bogdaszewski M., Pecio M., Dziki-Michalska K., *Accumulation of Toxic Elements in Bone and Bone Marrow of Deer Living in Various Ecosystems, A Case Study of Farmed and Wild-Living Deer*, Animals, 10, 2020, s. 2151.
  13. Cáceres I., Esteban-Nadal M., Bennàsar M., Fernández-Jalvo Y., *Was it the deer or the fox?*, Journal of Archaeological Science, 38 (10), 2011, s. 2767-2774.
  14. Deokar A.R., *Osteophagy Behaviour Observed in Indian Spotted Deer (Axis axis axis: Erxleben) in Wild at Pench Tiger Reserve, Maharashtra, India*, Journal of Animal Health and Behavioural Science, 6, 2022, s. 154.
  15. Bartoš L., Šiler J., *Survey of game farming in Europe*, The Food and Agriculture Organization, Roma, Italy, 1993, s. 44-53.
  16. Kilgour R., Dalton C., *Livestock behaviour. A practical guide*, Granada Publishing Limited, Bungay, UK, 1984, s. 61-72.
  17. Putman R.J., *The natural history of deer*, Comstock Publishing Associates, Cornell University Press, New York, USA, 1988, s. 138-152.
  18. McCallum H.J.F., *Stress and postcapture myopathy in red deer*, [w:] Fennessy P.F., Drew K.R. (red.), *Proceedings of an International Conference on Biology of Deer Production*, Wellington, New Zealand, The Royal Society of New Zealand, 22, 1985, s. 65-72.
  19. Ashraf M., Akter M., Saha M., Mishra P., Hoda N., Alam M.M., *Clinicopathological Evaluation On Capture Myopathy Due To Chemical Immobilization In Spotted Deer*, 3, 2019, s. 73-79.
  20. Janiszewski P., Czajkowska J., Bogdaszewski M., *Zasady bezpieczeństwa pracy na fermie jeleniowatych*, Przegląd Hodowlany, 4, 2020, s. 23-29.
  21. Hanlon A.J., Rhind S.M., Reid H.W., Burrells C., Lawrence A.B., Milne J.A., McMillen S.R., *Relationship between immune-response, live-weight gain, behaviour and adrenal-function in red deer (Cervus elaphus) calves derived from wild and farmed stock, maintained at two housing densities*, Applied Animal Behaviour Science, 41, 1994, s. 243-255.
  22. Okarma H., Tomek A., *Łowiectwo*, Wydawnictwo Edukacyjno-Naukowe H2O, Kraków 2008, s. 215-230.
  23. Hoffman R.R., *Digestive physiology of deer – their morphophysiological specialisation and adaptation*, [w:] Fennessy P.F., Drew K.R. (red.), *Biology of Deer Production*, Proceedings of an International Conference held at Dunedin, New Zealand, 1983, s. 393-407.
  24. Dzięciołowski R., *Daniel*, Wydawnictwo SGGW, Warszawa 1994, s.16-33.
  25. Kamieniarz R., *Podstawy Łowiectwa*, Oficyna Wydawnicza Oikos, Warszawa 2022, s. 22-36.
  26. Dzięgielewski S., *Jeleń*, Wydawnictwo PWRiL, Warszawa 1970, s. 15-38.
  27. Matuszewski G., *Jeleń sika – Cervus nippon (Temminck, 1838)*, [w:] Krupka J. (red.), *Łowiectwo*, PWRiL, Warszawa 1990, s. 89-101.
  28. Mattiangeli V., Mattiello S., Verga M., *Factors affecting the duration of fights in fallow deer (Dama dama) during the rut*, Ethology Ecology & Evolution, 10 (1), 1998, s. 87-93.
  29. Cilulko J., *Rozród jeleniowatych. Cz. 1. Wybrane aspekty biologii rozrodu*, Przegląd Hodowlany, 5, 2011, s. 26-31.
  30. Cilulko J., *Rozród jeleniowatych. Cz. 2. Zarządzanie procesami rozrodu na fermie*, Przegląd Hodowlany, 6, 2011, s. 23-27.
  31. Czajkowska J., *The Applicability of Infrared Thermography in Deer Farming*, The Polish Journal of Natural Sciences, 37 (2), 2022, s. 153-165.

32. Cilulko J., Janiszewski P., Bogdaszewski M., *The applicability of thermography during the breeding season and early nursing in farmed fallow deer*, The International Journal of Applied Research in Veterinary Medicine, 16 (3), 2018, s. 186-196.
33. Cukor J., Bartoška J., Rohla J., Sova J., Machálek A., *Use of aerial thermography to reduce mortality of roe deer fawns before harvest*, PeerJ, 7, 2019, e6923.
34. Kastberger G., Stachl R., *Infrared imaging technology and biological applications*, Behavior Research Methods, Instruments & Computers, 35, 2003, s. 429-439.
35. Stewart M., Webster J.R., Schaefer A.L., Cook N.J., Scott S.L., *Infrared thermography as a non-invasive tool to study animal welfare*, Animal Welfare, 14, 2005, s. 319-325.
36. Garde J.J., Martínez-Pastor F., Gomendio M., Malo A.F., Soler A.J., Fernández-Santos M.R., Estes M.C., García A.J., Anel L., Roldán E.R., *The application of reproductive technologies to natural populations of red deer*, Reproduction in domestic animals, 2, 2006, s. 93-102.
37. Dziekońska A., Neuman N.M., Burdal K.K., Wiszniewska-Łaszczych A., Bogdaszewski M., *The Effect of Different Extenders on the Quality Characteristics of European Red Deer Epididymal Sperm Stored at 5°C*, Animals (Basel), 12 (19), 2022, s. 2669.
38. De Garine-Wichatitsky M., de Meeûs T., Chevillon C., Berthier D., Barré N., Thévenon S., Maillard J.C., *Population genetic structure of wild and farmed rusa deer (Cervus timorensis russa) in New-Caledonia inferred from polymorphic microsatellite loci*, Genetica, 137, 2009, s. 313-323.
39. Duarte G., Galindo D.J., Mazzoni Baldini M.H., Fonseca J.F., Barbanti Duarte J.M., Oliveira M.E.F., *Transcervical artificial insemination in the brown brocket deer (Subulo gouazoubira): A promising method for assisted reproduction in deer*, Research Square, 2023.
40. Bringans M., Kjelland M., Lenz, R.W., Templeton J.A., Evans K.M., Belluzzo L., Rosenstein M., *Artificial Insemination of Red Deer Using Sex-sorted Sperm*, The Proceedings of the 5th World Deer Congress, 2010, s. 21-23.
41. Fennesy P., Mackintosh C., Shackell G. *Artificial insemination of farmed red deer (Cervus elaphus)*, Animal Production, 51 (3), 1990, s. 613-621.
42. Willard S.T., Neuendorff D.A., Lewis A.W., Randel R.D., *A comparison of transvaginal artificial insemination procedures for use in commercially farmed deer*, Small Ruminant Research, 44 (2), 2002, s. 135-140.
43. <https://kosewopan.pl/pl/publikacje-naukowe-2/> [data dostępu: 10.04.2023].
44. Giżejewski Z., *Improving the artificial vagina for the separation of fractions in the ejaculate of red deer*, Animal Science, Papers and Reports, 18, 2000, s. 145-151.
45. Demianowicz W., Giżejewski Z., Kubiak D., Kowalski R., Glogowski J., *Doskonalenie kriokonserwacji nasienia jelenia szlachetnego pobranego metoda sztucznej pochwy*, Medycyna Weterynaryjna, 64, 2008, s. 608-612.
46. Walling C., Nussey D., Morris A., Clutton-Brock T., Kruuk L., Pemberton J., *Inbreeding depression in red deer calves*, BMC Evolutionary Biology, 11, 2011, s. 318.
47. Sternicki T., Szablewski P., Szwaczkowski T., *Inbreeding effects on lifetime in David's deer (Elaphurus davidianus, Milne Edwards 1866) population*, Journal of Applied Genetics, 44, 2003, s. 175-183.
48. Biedrzycka A., Solarz W., Okarma H., *Hybridization between native and introduced species of deer in Eastern Europe*, Journal of Mammalogy, 93 (5), 2012, s. 1331-1341.
49. Czajkowska J., *Jeden gatunek, dwie historie*, Brać Łowiecka 9, 2022, s. 62-64.
50. Bartoš L., Hyánek J., Žirovnický J., *Hybridization between red and sika deer, Craniological analysis*, Zoologischer Anzeiger, 207, 1981, s. 260-270.
51. Bartoš L., *Sika deer in continental Europe*, [w:] McCullough D.R., Takatsuki S., Kaji K., *Sika Deer: Biology and Management of Native and Introduced Populations*, Springer, Tokyo, Japan, 2009, s. 573-594.

52. Janiszewski P., *Hybrydyzacja jelenia sika i jelenia szlachetnego – kolejne dowody*, Brać Łowiecka, 9, 2018, s. 44-47.
53. Tuckwell C., *The Deer Farming Handbook*, Rural Industries Research and Development Corporation, 2003, s. 188-194.
54. Volodin I.A., Matrosova V.A., Volodina E.V., Garcia A.J., Gallego L., Márquez R., Llusia D., Beltrán J., Landete-Castillejos T., *Sex and age-class differences in calls of Iberian red deer during the rut: Reversed sex dimorphism of pitch and contrasting roars from farmed and wild stags*, Acta Ethology, 18 (1), 2015, s. 19-29.
55. Bobek B., *Daniel*, Wydawnictwo SGGW, 1992, s. 55-57.
56. Bobek B., Morow K., Perzanowski K., *Ekologiczne podstawy łowiectwa*, Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, 1984, s. 55-67.
57. Pollard J.C., Littlejohn R.P., *Activities and social relationships of red deer at pasture*, New Zealand veterinary journal, 47, 1999, s. 83-87.
58. Herrmann H.J., *Environmental enrichment and the behaviour of farmed red deer (Cervus elaphus)*, Applied Animal Behaviour Science, 44, 1995, s. 263-264.
59. Hodgetts B.V., Waas J.R., Matthews L.R., *Use of different artificial shelter types by farmed red deer (Cervus elaphus) calves*, Applied Animal Behaviour Science, 79, 2002, s. 43-52.
60. Whittington C.J., Chamove A.S., *Effects of visual cover on farmed red deer behaviour*, Applied Animal Behaviour Science, 45, 1995, s. 309-314.
61. Mattiello S., Bianchi L., *Alterazioni del comportamento materno nei cervidi allevati*, Obiettivi e Documenti Veterinari, 24, 2003, s. 39-44.
62. Pollard J.C., Drewry J., *Calving environments for farmed red deer: a review of current knowledge and a pilot study on soil quality*, Proceedings of the Deer Branch of the New Zealand Veterinary Association Conference, 19, 2002, s. 97-104.
63. Wass J.A., Pollard J.C., Littlejohn R.P., *A comparison of the calving behaviour of farmed adult and yearling red deer (Cervus elaphus) hinds*, Applied Animal Behaviour Science, 80 (4), 2003, s. 337-345.
64. Tajchman K., Steiner-Bogdaszewska Ż., Janiszewski P., *Behaviour of farmed fallow deer fawns in the rearing period depends on weather conditions*, South African Journal of Animal Science, 52 (5), 52, 2022, s. 656-666.
65. Mattiello S., Sulpizio B. M., Olivieri O., Rambotti F., *Aspetti tecnici e gestionali degli allevamenti di cervidi in Umbria, [w]: 13 The National Congress Game Farming Working Group*, Nocera Umbra (PG), Italy, 1994, s. 163-175.
66. Pollard J.C., Littlejohn R.P., *Effects of winter housing, exercise, and dietary treatments on the behaviour and welfare of red deer (Cervus elaphus) hinds*, Animal Welfare, 7, 1998, s. 45-56.
67. Wilson P., Haigh J., *Reproductive Management of Farmed Red Deer and Wapiti*, Current Therapy in Large Animal Theriogenology: Second Edition, 2006, s. 943-952.
68. Ekvall K., *Effects of social organization, age and aggressive behaviour on allosuckling in wild fallow deer*, Animal Behaviour, 56 (3), 1998, s. 695-703.
69. Pélabon C., Yoccoz N., Ropert-Coudert Y., Caron M., Peirera V., *Suckling and Allosuckling in Captive Fallow Deer (Dama dama, Cervidae)*, Ethology, 104, 1997, s. 75-86.
70. Bartoš L., Vaňková D., Šiler J., Illmann G., *Adoption, allonursing and allosuckling in farmed red deer (Cervus elaphus)*, Animal Science, 72 (3), 2001, s. 483-492.
71. Bubenik A.B., *Beitrag zur Geburtskunde und zu den Mutter-Kind-Beziehungen des Reh (Capreolus capreolus L.) und Rotwildes (Cervus elaphus L.)*, Zeitschrift für Säugetierkunde 30, 1965, s. 65-128.
72. Guinness F.E., Hall M. J., Cockerill R.A., *Mother-offspring association in red deer (Cervus elaphus L.) on Rhum*, Animal Behaviour, 27, 1979, s. 536-544.

73. Zalewski D., Szczapański W., *Grupy wiekowe byków jelenia szlachetnego (Cervus elaphus L.), w ramach których powinna być prowadzona ich selekcja osobnicza na Warmii i Mazurach*, Sylwan, 8, 2004, s. 43-51.
74. <https://www.guinnessworldrecords.com/world-records/70571-oldest-deer> [data dostępu: 20.03.2023].
75. Blackshaw J.K., *Notes on some topics in applied animal behaviour*, School of Veterinary Science, 2003, s. 34-38.
76. Jaczewski Z., *Wpływ oświetlenia dziennego na poroże jelenia (Cervus elaphus L.)*, Folk Biology, 2, 1954, s. 133-143.
77. Huo Y.S., Hou H., Zhang J., *The contribution of deer velvet antler research to the modern biological medicine*, Chinese journal of integrative medicine, 20 (10), 2014, s. 723-728.
78. Potrapeluk A., Janiszewski P., Bogdaszewski M., *Thermography as a tool to monitor the velvet temperature and ossification stage of fallow deer (Dama dama) antlers under normal and modified photoperiodic conditions*, Veterinární medicína-Czech, 66 (6), 2021, s. 233-241.
79. Cegielski M., *Charakterystyka komórek porožogennych mezenchymy rosnącego poroża jelenia szlachetnego (Cervus elaphus) oraz próba ich wykorzystania w regeneracji chrząstki królika*, Wydawnictwo Akademii Medycznej, Warszawa 2009, s. 3-12.
80. Czerniawska-Piątkowska E., Grudziński M., *Porožogenne komórki macierzyste MIC-1 – rewolucja w medycynie regeneracyjnej*, Przegląd Hodowlany, 4, 2014, s. 25-27.
81. Qin T., Zhang G., Zheng Y., Li S., Yuan Y., Li Q., Hu M., Si H., Wei G., Gao X., Cui X., Xia B., Ren J., Wang K., Ba H., Liu Z., Heller R., Li Z., Wang W., Huang J., Li C., Qiu Q., *A population of stem cells with strong regenerative potential discovered in deer antlers*, Science, 379, 2023, s. 840-847.
82. Barros D.V., Silva L.K.X., Kahwage P.R., Lourenço J.B., Sousa J.S., Silva A.G.M., Franco I.M., Martorano L.G., Garcia A.R., *Assessment of surface temperatures of buffalo bulls (Bubalus bubalis) raised under tropical conditions using infrared thermography*, Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 68, 2016, s. 422-430.

## Porównanie wybranych aspektów biologii fermowych i dziko żyjących jeleniowatych

### Streszczenie

Od kilkudziesięciu lat obserwuje się wzrost zainteresowania jeleniowatymi, a dokładniej ich znaczeniem w rolnictwie. Wynikiem tego jest coraz szybszy rozwój i zauważalny postęp na fermach jeleni i danieli. Utrzymanie zwierząt w warunkach hodowlanych może spowodować u nich zmiany fizjologiczne, fenotypowe oraz behawioralne. W związku z tym celem badań było wskazanie różnic w wybranych aspektach biologii fermowych i dziko żyjących jeleniowatych.

Jak wskazuje literatura naukowa, w zależności od omawianej cechy, zauważalne są różnice w biologii porównywanych zwierząt. Największe z nich odnotowuje się w przypadku rozrodu oraz aspektów związanych z zachowaniem jeleniowatych. Na wszelkie zmiany bardzo duży wpływ ma miejsce bytowania oraz wszelkie wiążące się z tym praktyki i zabiegi. Ponadto wykazano, iż wiedza zdobyta na osobnikach dziko żyjących może być wykorzystywana na fermach w celu zwiększania dobrostanu zwierząt, a równocześnie wyniki badań uzyskane na jeleniach i danielach fermowych mogą pomóc w zrozumieniu pewnych procesów, które są obserwowane i trudne do wyjaśnienia w warunkach naturalnych.

Słowa kluczowe: biologia, Cervidae, hodowla fermowy, dziko żyjące jeleniowate

## **Comparison of selected aspects of farmed and wild deer biology**

### Abstract

For several years, there has been an increase in interest in deer, and more specifically in their importance in agriculture. The result is faster development and noticeable progress on red deer and fallow deer farms. Keeping animals in breeding conditions can cause physiological, phenotypic and behavioral changes in them. Therefore, the aim of the research was to identify differences in selected aspects of the biology of farmed and wild deer population.

As the scientific literature indicates, depending on the discussed feature, there are noticeable differences in the biology of the compared animals. The largest of them are recorded in the case of reproduction and aspects related to the behavior of deer. Any changes are very much influenced by the place of existence and all related practices and procedures. In addition, it has been shown that the knowledge gained on wild animals can be used on farms to increase animal welfare, and at the same time, the results of research obtained on farmed red deer and fallow deer can help understand certain processes that are observed and difficult to explain in natural conditions.

Keywords: biology, *Cervidae*, farm breeding, wild deer



## Wykorzystanie plazmy krwi wieprzowej w produkcji wędlin o podwyższonej zawartości białka

### 1. Wprowadzenie

W związku ze wzrostem liczby ludności na świecie oraz zmianami klimatu wynikającymi z degradacji środowiska naturalnego konieczne jest optymalne wykorzystywanie białka do produkcji żywności [1]. Przemysł mięsny rokrocznie wprowadza na rynek duże ilości bogatych w białko surowców o doskonałej wartości odżywczej, w tym krew, mięso, podroby i w mniejszym stopniu kości i skórę [2]. Dla przykładu w Danii, będącej czołowym producentem żywca wieprzowego w Europie, w ciągu roku uzyskuje się nawet 60 000 ton krwi wieprzowej [3]. W większości przypadków wykorzystuje się jedynie mięso i podroby. Krew natomiast będąca ważnym produktem ubocznym podczas uboju [3] często traktowana jest jako odpad. Prawodawstwo wielu krajów określa, że krew może być składowana jako odpad, ale taki, który w możliwie najmniejszym stopniu niekorzystnie oddziałuje na środowisko. Niestety wymaga to dość kosztownych procesów technologicznych. Krew jest bogatym źródłem jonów żelaza oraz białka charakteryzującego się wysoką wartością odżywczą i funkcjonalną. Białko takie może być wykorzystywane nie tylko w przemyśle spożywczym, ale również w leczeniu ludzi [4]. Wiele instytucji naukowych oraz koncernów produkujących żywność opracowało metody pozyskiwania białka z krwi wieprzowej [3] oraz z plazmy krwi wieprzowej [5]. Przemysł mięsny wykorzystuje większość białek krwi. W wyrobach mięsnych pełnią funkcje: wzmacniające kolor, emulgacyjne, strukturotwórcze, są zamiennikami tłuszczu, wypełniaczami oraz dodatkowym źródłem białka [6, 7]. Innymi komponentami stosowanymi w przemyśle spożywczym, których zadaniem jest zwiększenie zawartości białka ogólnego w gotowym produkcie są białka serwatkowe [8, 9] oraz soja [9].

Kolejnym aspektem, który przemawia za wykorzystaniem krwi są zyski w ograniczeniu użycia mięsa do gotowych produktów. W ten sposób można uzyskać produkt końcowy, w którym białko pochodzące z mięsa zostało zastąpione białkiem z krwi. Coraz częściej spotykane są także produkty mięsne określane mianem „wysokobiałkowych”. Do ich wytworzenia może być również wykorzystywana krew, która jednak nadaje wędlinom ciemne zabarwienie [10-13]. Stosowanie krwi jest ograniczane również dlatego, że może być ona w większym stopniu skażona mikroorganizmami [14]. Ilość dodanej pełnej krwi do produktów spożywczych (salcesony, kaszanka, kiełbasy) wynosi zazwyczaj od 0,5 do 2% masy surowców [15]. Z tego względu liczne badania koncentrowały się na usunięciu części komórkowej z krwi i dodaniu czystego osocza do produktów spożywczych [11, 16-22]. Plazma krwi jest w przemyśle spożywczym najbardziej popularnym produktem uzyskanym z krwi ponieważ nie zmienia koloru wędlin, do których jest dodawana [22-24].

<sup>1</sup> rajdoslaw1@gmail.com, Zakłady Mięsne „Świderscy” Kazimierz Świdarski, Kosów Lacki, ul. Radosna 6.

<sup>2</sup> edytatraczyk@wp.pl, Zakłady Mięsne „Świderscy” Kazimierz Świdarski, Kosów Lacki, ul. Radosna 6.

Celem przeprowadzonych badań było wytworzenie i wstępna ocena jakości wędliny wieprzowej w o podwyższonej zawartości białka z wykorzystaniem plazmy krwi wieprzowej. Wędlina taka miałaby być wprowadzona na rynek jako produkt o podwyższonej zawartości białka.

## **2. Materiał i metody**

### **2.1. Informacje ogólne na temat materiału badawczego**

Badania przeprowadzone zostały w latach 2021-2022 w Zakładach Mięsnych „Świderscy” Kazimierz Świdorski, ul. Radosna 6, Kosów Lacki. Materiał badawczy stanowiło mięso wieprzowe. Żywiec wieprzowy nie był leczony i utrzymywany był w warunkach dobrostanu zootechnicznego. Po transporcie żywca wieprzowy każdorazowo przetrzymywany był kilka dni na terenie specjalnie dostosowanego magazynu żywca znajdującego się u organizatora badań w warunkach dobrostanu zootechnicznego. Uboj zwierząt przeprowadzono zachowując wszystkie warunki humanitarnego uboju zwierząt wymagane przez krajowe prawodawstwo. Zwierzęta były w odpowiedni sposób wykrwawiane, z zachowaniem wymaganych warunków higienicznych. W trakcie uboju zachowywano wybrane wyręby (szynka wieprzowa bez kości) i krew, która z założenia miała być wykorzystywana technologicznie. Wyręby i krew z uboju przenoszone były do chłodni, gdzie panowała temperatura wynosząca 3-5°C. Część krwi i mięsa wykorzystywano bezpośrednio do badań a nadpodaj był mrożony. Do krwi dodawano antykoagulant (sól sodowa kwasu cytrynowego) zgodnie z zaleceniami producenta. Świeża, schłodzona krew magazynowana była w pojemnikach z tworzywa sztucznego, dopuszczonego do kontaktu z żywnością, o objętości 1m<sup>3</sup> i przenoszona do pomieszczenia wirówki, gdzie utrzymywano temperaturę 3-5°C. Krew z pojemnika zasysana była pompą membranową i tłoczona do wirówki, która obracała się z prędkością 700 obrotów na minutę. Rozdzielona plazma i część krwi zawierająca hemoglobinę były kierowane do zbiorników magazynowych. Zbadanie ilości białka ogólnego w otrzymanej plazmie krwi zostało zlecone do laboratorium zewnętrznego. Udział białka ogólnego w produkcie oznaczany był metodą Kjeldahla (PN-75/A-04018+Az3:2002).

Suszoną plazmę krwi wieprzowej o nazwie handlowej Aproport zakupiono u autoryzowanego sprzedawcy (Agnex). Według producenta 100 g produktu zawierało 74,9 g białka, 2,0 g tłuszczu, 2,0 g węglowodanów i 11,9 g soli.

### **2.2. Technologia produkcji wędliny**

Do wytworzenia wędlin używano wyrębów mięsa określanych jako szynka wieprzowa bez kości. Mięso rozdrabniano na automatycznym wilku kątowym (sito 5 mm). Następnie do mięsa dodano przyprawy (sól, pieprz czarny mielony) oraz (w zależności od grupy badawczej) plazmę krwi wieprzowej i wodę. Mięso mieszano przez 20 minut w automatycznej mieszalce do mięsa (20 obr./min). Wędlinę formowano ręcznie tworząc 20 cm wałki o masie wynoszącej 70 g. Produkty przeznaczone do obróbki termicznej, która odbywała się w temperaturze wynoszącej 90°C. Następnie wyroby mięsne poddawane były wędzeniu w temperaturze 58°C przez czas 35 minut. Wędzenie odbywało się w tradycyjnej wędzarni, w której dym wędzarniczy wytworzony był ze spalania drewna bukowego (50%) i dębowego (50%). Drewno przeznaczone do spalania miało postać suchych kłód drewna. Palenisko znajdowało się obok wędzarni. Wytworzony dym wędzarniczy określany był mianem dymu średnio-gęstego. Gęstość dymu wędzenia kontrolowana była

przez pracownika Zakładu poprzez jego ocenę organoleptyczną. W tylnej części komory wędzarniczej umieszczona była żarówka, której światło w momencie wędzenia było widoczne z odległości 7 m. Szybkość przepływu dymu, wynosiła 15 m/min. Temperatura wędzenia kontrolowana była przez pracownika Zakładu wykorzystując do tego celu aparaturę pomiarową. Po wędzeniu wyroby mięsne poddawane były schładzaniu w chłodni, w której panowała temperatura 1°C. W przeciągu godziny gotowe produkty uzyskały wewnątrz 4°C. Następnie wędliny przenoszone były do dojrzewalni z wymuszonym nawiewem powietrza. Dojrzewanie wędlin prowadzone było do 12 h w temperaturze 22°C przy wilgotności wynoszącej 55%. Z dojrzewalni produkty przenoszone były do pakowni, gdzie zostały zapakowane w hermetyczne woreczki próżniowe a następnie do magazynu wyrobów gotowych, w którym do czasu transportu do badań przechowywane były w temperaturze 4°C.

### 2.3. Wyodrębnienie i oznaczenie partii badawczych

Materiał badawczy stanowiło 6 partii produktu. Z każdej partii do badania przeznaczano każdorazowo 10 próbek wędliny. Przeprowadzono trzy powtórzenia badań. Próbkę stanowił kawałek gotowej, świeżej wędliny o masie od 30 do 50 g. Próbkę wytworzone były w dniu przekazania ich do badań. Po zapakowaniu w hermetyczne woreczki próżniowe próbki przekazane były w dniu wytworzenia do laboratorium Control Food sp. z o.o. w Sokołowie Podlaskim. Badania przeprowadzane były dnia następnego. Do określenia udziału białka ogólnego zastosowano oznaczanie azotu metodą Kjeldahla (PN-75/A-04018+Az3:2002).

Skład każdej partii badawczej stanowiło 20 kg mięsa mielonego, 400 g soli kuchennej, 80 g pieprzu czarnego mielonego, 100 g kwasu mlekowego oraz w zależności od partii badawczej zmienna ilość suszonej i/lub płynnej plazmy krwi i wody. Zestawienie partii badawczych przedstawiono w tabeli 1. Nazwy wędliny w każdej z partii badawczej wskazują na rodzaj składnika jaki dodano do jej wytworzenia. Słowo *classic* użyte w tabeli 1 używane jest zwyczajowo w Zakładzie do oznaczania wędlin, do których nie dodawano substancji smakowych i barwiących (oprócz soli i czarnego pieprzu). Pierwszą grupę wędlin określono jako testową. Do jej wytworzenia nie użyto plazmy krwi wieprzowej. Pozostałe próbki zostały pobrane z wędlin, do których dodano plazmę krwi wieprzowej.

Tabela 1. Zestawienie partii badawczych wędlin z określeniem ich składu (oznaczenie badań) w przeliczeniu na 1 kg mięsa mielonego

Lp.	Nazwa rodzaju partii badawczej	Ilość plazmy suszonej	Ilość plazmy płynnej	Woda
1	Classic, testowy, bez dodatków	-	-	-
2	Classic z dodatkiem 25 g plazmy suszonej	25 g	-	-
3	Classic z dodatkiem 50 g plazmy suszonej	50 g	-	-
4	Classic z dodatkiem 100 g plazmy suszonej i wody	100 g	-	100 ml
5	Classic z dodatkiem 100 g plazmy suszonej i 125 g plazmy płynnej	100 g	125 g	-
6	Classic z dodatkiem 200 g plazmy suszonej i 125 g plazmy płynnej	200 g	125 g	-

Źródło: opracowanie własne.

Dodatek wody w przypadku wędliny oznaczonej jako classic z dodatkiem 100 g suszonej plazmy krwi wieprzowej oraz wody miał za zadanie umożliwienie dobrego wymieszania mielonego mięsa z suszoną plazmą krwi. Podczas prowadzenia badań wykazano trudności z wymieszaniem składników, gdy na 1 kg mięsa mielonego dodano 100 g lub więcej suszonej plazmy krwi wieprzowej. W tym przypadku dodatek wody okazał się nieodzowny. W wędlinach oznaczonych jako classic z dodatkiem 100 g plazmy suszonej i 125 g plazmy płynnej oraz classic z dodatkiem 200 g plazmy suszonej i 125 g plazmy płynnej oprócz suszonej plazmy krwi wieprzowej dodano także plazmę płynną, która w swoim składzie zawiera głównie wodę. W tym przypadku dodatek wody nie był wymagany.

### 3. Wyniki badań

Wykazano, że plazmę krwi otrzymaną w Zakładzie charakteryzował poziom białka na poziomie 6,9-9,0%. Tabela 2 prezentuje udział białka w poszczególnych grupach wędlin. Najmniejszy udział białka stwierdzono w wędlinach testowych, do których nie dodano podczas produkcji plazmy krwi wieprzowej i wynosił on 40,9%. Wyższy udział białka (41,2%) charakteryzował wędliny, do których podczas produkcji dodano 25 g suszonej plazmy krwi. W przypadku wędliny, którą wzbogacono dodatkiem 50 g suszonej plazmy krwi wieprzowej stwierdzono udział białka na poziomie 42,8%. Udział białka w wędlinie, do której dodano 100 g suszonej plazmy krwi wynosił 43,9%, a w wędlinie którą dodatkowo wzbogacono o 125 g płynnej plazmy krwi wieprzowej udział białka wyniósł 43,7%. Największy udział białka (46,1%) stwierdzono w wędlinie, do której dodano 200 g suszonej plazmy krwi wieprzowej oraz 125 g płynnej plazmy krwi wieprzowej. Tym samym różnica między grupą testową wędlin, którą wyprodukowano bez dodatku plazmy krwi wieprzowej a grupą z najwyższym dodatkiem plazmy wyniosła 5,2 punktów procentowych.

Tabela 2. Udział białka ogólnego w wędlinach testowych (bez dodatku suszonej plazmy krwi i płynnej plazmy krwi) oraz w wędlinach z dodatkiem suszonej plazmy krwi i/lub płynnej plazmy krwi. Wartości średnie z trzech powtórzeń

Lp.	Nazwa rodzaju partii badawczej	Udział białka ogólnego (%)
1	Classic, testowy, bez dodatków	40,9
2	Classic z dodatkiem 25 g plazmy suszonej	41,2
3	Classic z dodatkiem 50 g plazmy suszonej	42,8
4	Classic z dodatkiem 100 g plazmy suszonej i wody	43,9
5	Classic z dodatkiem 100 g plazmy suszonej i 125 g plazmy płynnej	43,7
6	Classic z dodatkiem 200 g plazmy suszonej i 125 g plazmy płynnej	46,1

Źródło: opracowanie własne z wykorzystaniem wyników uzyskanych od instytucji zewnętrznej.

### 4. Analiza i interpretacja wyników badań

Analizując uzyskane wyniki badań stwierdzono, że dodatek plazmy krwi wieprzowej zwiększył udział białka ogólnego w gotowej wędlinie. Wzbogacenie receptury classic o 25 g suszonej plazmy krwi wieprzowej nieznacznie zwiększyło udział białka o 0,3 punktu procentowego. Dopiero dodatek 50 g suszonej plazmy krwi powiększył różnicę w ilości białka ogólnego między testowanymi grupami do 1,9 punktu procentowego. Jeszcze większy udział białka ogólnego uzyskano dodając do wędliny 100 i 200 g suszonej plazmy krwi wieprzowej oraz plazmę płynną. Znikomo mała różnica pomiędzy próbkami wędliny

do której dodano 100 g suszonej plazmy krwi i wodę oraz próbką z dodatkiem 100 g suszonej plazmy krwi i plazmy płynnej świadczy, że udział białka w plazmie płynnej jest na tyle niski (6,9-9,0%), że ostatecznie tylko nieznacznie modyfikuje ilość białka w produkcie końcowym. Uzyskane wyniki badania wydają się być zgodne z wcześniejszym doświadczeniem przeprowadzonym przez Hurtado i in. [7], którzy wykazali, że dodając płynną plazmę krwi można uzyskać wędlinę, w której udział białka wyniósł 11,32% i był nieznacznie wyższy niż udział białka w wędlinie, do której nie dodano plazmy krwi (10,11%). Również badania Caldironi i Ockerman [25] wykazały, że dodatek plazmy krwi zwiększył udział białka w wędlinie. Podobne wyniki uzyskali Rodriguez Furlán i in. [26]. Wykazali, że dodatek suszonej plazmy krwi bydłowej znacząco zwiększył udział białka ogólnego w mięsie mielonym. W badaniach wykorzystywano suszoną plazmę krwi bydłowej o udziale białka (76 ±5%). Wartość ta była zbliżona do udziału białka (74,9%) w suszonej plazmie krwi wieprzowej wykorzystanej w opisywanych badaniach. Sumując uzyskane wyniki można przypuszczać, że w celu podniesienia udziału białka w wędlinie należy dodać na 1 kg mielonego mięsa minimum 50 g suszonej plazmy krwi. Uzyskane wyniki wskazują, że dodawanie płynnej plazmy krwi do farszu nie zwiększa znacząco udziału białka w produkcie końcowym.

W związku z faktem, że celem eksperymentu było wytworzenie wędliny o podwyższonej zawartości białka, która będzie mogła zostać wprowadzona na rynek, nieodzowne jest przeprowadzenie badania jakości produktu metodą organoleptyczną. Badania takie umożliwią optymalizację receptury ze względu na poziom akceptacji konsumenckiej. Następnym jeszcze ważniejszym aspektem wdrożenia produkcji wędlin o podwyższonej zawartości białka jest zapewnienie bezpieczeństwa mikrobiologicznego wyrobu i dobór sposobu utrwalania. W tym przypadku niezbędne są badania trwałości przechowalniczej uwzględniające m.in. zmiany jakości produktu na skutek różnych technik utrwalania produktu gotowego. Uzyskane wyniki pozwolą określić długość okresu przydatności do spożycia oraz warunki przechowywania.

## Literatura

1. Mullen A.M., Álvarez C., Zeugolis D.I., Henchion M., O'Neill E., Drummond L., *Alternative uses for co-products: Harnessing the potential of valuable compounds from meat processing chains*, Meat Science, 132, 2017, s. 90-98.
2. Fu Y., Chen J., Bak K.H., Lametsch R., *Valorisation of protein hydrolysates from animal by-products: perspectives on bitter taste and debittering methods*, International Journal of Food Science and Technology, 54, 2019, s. 978-986.
3. Fu Y., Bak K.H., Liu J., De Gobba C., Tøstesen M., Hansen E.T., Petersen M.A., Ruiz-Carrascal J., Bredie W.L.P., Lametsch R., *Protein hydrolysates of porcine hemoglobin and blood: Peptide characteristics in relation to taste attributes and formation of volatile compounds*, Food Research International, 121, 2019, s. 28-38.
4. Fu Y., Liu J., Zhang W., Wæhrens S.S., Tøstesen M., Hansen E.T., Bredie W.L.P., Lametsch R., *Exopeptidase treatment combined with Maillard reaction modification of protein hydrolysates derived from porcine plasma: Structure-taste relationship*, Food Chemistry, 306, 2000, 125613.
5. Fu Y., Liu J., Hansen E.T., Bredie W.L.P., Lametsch R., *Structural characteristics of low bitter and high umami protein hydrolysates prepared from bovine muscle and porcine plasma*, Food Chemistry, 257, 2018, s. 163-171.
6. Sungho K., Sangkeun J., Jungseok C., *Effects of the addition of blood plasma proteins on physico-chemical properties of emulsion-type pork sausage during cold storage*, Journal of the Science of Food and Agriculture, 97(13), 2017, s. 4501-4507.

7. Hurtado S., Dagà I., Espigulé E., Parés D., Sagner, E., Toldrà M., Carretero C., *Use of porcine blood plasma in "phosphate-free frankfurters"*, *Procedia Food Science*, 1, 2011, s. 477-482.
8. Ozturk-Kerimoglu B., Uргу-Ozturk M., Serdaroglu M., Koca N., *Chemical, technological, instrumental, microstructural, oxidative and sensory properties of emulsified sausages formulated with microparticulated whey protein to substitute animal fat*, *Meat Science*, 184, 2022, 108672.
9. Ulu H., *Effect of wheat flour, whey protein concentrate and soya protein isolate on oxidative processes and textural properties of cooked meatballs*, *Food Chemistry*, 87, 2004, s. 523-529.
10. Ockerman H.W., Hansen C.L., *Animal by-product processing and utilization*, CRC Press. Lancaster Technomic Publishing company Inc, 2000, s. 325-353.
11. Duarte R.T., Carvalho Simões M.C., Sgarbieri V.C., *Bovine blood components: fractionation, composition, and nutritive value*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 1999, s. 231-236.
12. Liu X.Q., Yonekura M., Tsutsumi M., Sano Y., *Physicochemical properties of aggregates of globin hydrolysates*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 1996, s. 2957-2961.
13. Yang J.H., Lin C.W., *Functional properties of porcine blood globin decolourized by different methods*, *International Journal of Food Science and Technology*, 33, Fourth edition, 1998, s. 419-427.
14. Nowak B., von Mueffling T., *Porcine blood cell concentrates for food products: hygiene, composition, and preservation*, *Journal of Food Protection*, 69(9), 2006, s. 2183-2192.
15. Slinde E., Martens M., *Changes in Sensory Properties of Sausages When Small Amounts of Blood Replace Meat*, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 33, 1982, s. 760-762.
16. Autio K., Kiesvaara M., Mälkki Y., *The effect of processing method on the functional behavior of globin protein*, *Journal of Food Science*, 49, 1984, s. 369-370.
17. Hayakawa S., Matsuura Y., Nakamura R., Sato Y., *Effect of Heat Treatment on Preparation of Colorless Globin from Bovine Hemoglobin Using Soluble Carboxymethyl Cellulose*, *Journal of Food Science*, 51, 1986, s. 786-796.
18. Houlier B., *A process of discolouration of slaughter house blood: some technical and economical results*, *Proceedings of 32nd European meeting of meat research workers*, Ghent, Belgium 1986, s. 91-94.
19. Sato Y., Hayakawa S., Hayakawa M., *Preparation of blood globin through carboxymethyl cellulose chromatography*, *Journal of Food Technology*, 16, 1981, s. 81-91.
20. Tybor P.T., Dill C.W., Landmann W.A., *Functional Properties of Proteins Isolated from Bovine Blood by a Continuous Pilot Process*, *Journal of Food Science*, 40, 1975, s. 155-159.
21. Yang J.H., Lin C.W., *Effects of Various Viscosity Enhancers and pH on Separating Haem from Porcine Red Blood Cells*, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 70, 1996, s. 364-368.
22. Sungho K., Sangkeun J., Jungseok C., *Effects of the addition of blood plasma proteins on physico-chemical properties of emulsion-type pork sausage during cold storage*, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(13), 2017, s. 4501-4507.
23. PPI (Processing and Product Innovation), *Restructured meat using bovine plasma products*, *Meat and Livestock Australia*, Sydney 2001, s. 1-4.
24. Gómez-Juárez C., Castellanos R., Ponce-Noyola T., Calderon V., *Protein recovery from slaughterhouse wastes*, *Bioresource Technology*, 70, 1999, s. 129-133.
25. Caldironi H.A., Ockerman H.W., *Incorporation of Blood Proteins into Sausage*, *Journal of Food Science*, 47, 1982, s. 405-408.
26. Rodriguez Furlán L.T., Pérez Padilla A., Campderrós M.E., *Development of reduced fat minced meats using inulin and bovine plasma proteins as fat replacers*, *Meat Science*, 96, 2014, s. 762-768.

## **Wykorzystanie plazmy krwi wieprzowej w produkcji wędlin o podwyższonej zawartości białka**

### **Streszczenie**

Celem przeprowadzonych badań było sprawdzenie wpływu dodatku plazmy krwi wieprzowej do wędlin na udział białka ogólnego w gotowym produkcie. Na rynku często pojawiają się produkty wędliniarskie określane jako „wysokobiałkowe”. Do produkcji wędlin zazwyczaj wykorzystuje się mięso wieprzowe, a krew z kolei w produkcji wyrobów mięsnych dość często traktowana jest jako odpad. Jej składowanie oraz utylizacja są kosztowne. Krew wieprzowa może być jednak wykorzystywana jako jeden z komponentów wędlin. Z uwagi na ciemne zabarwienie krew może być wykorzystywana do produkcji wyrobów mięsnych, które naturalnie są ciemne. Ponadto komórkowa frakcja krwi może być niestabilna mikrobiologicznie. W przemyśle zatem wykorzystuje się plazmę krwi wieprzowej, która nie nadaje wyrobom ciemnego koloru i nie zawiera frakcji szczególnie podatnych na działanie mikroorganizmów. Z kolei suszona plazma krwi może charakteryzować się udziałem białka ogólnego na poziomie przekraczającym 70%. Z tego względu może być wykorzystywana do produkcji wędlin o podwyższonej zawartości białka. Przeprowadzone badania były bezpośrednio związane z tworzeniem wysokobiałkowej wędliny, która może być w przyszłości wprowadzona na polski rynek. Badania przeprowadzone zostały w Zakładach Mięsnych „Świderscy” Kazimierz Świderski w Kosowie Lackim. Materiał badawczy w postaci gotowych wyrobów mięsnych wyprodukowany został z szynki wieprzowej bez kości. W zależności od partii badawczej do produktów dodawano suszoną plazmę krwi wieprzowej (0-200 g/1 kg mięsa) i plazmą płynną (0-125 g/1 kg mięsa). Wykazano, że ilość białka ogólnego wzrasta wraz z ilością użytej suszonej plazmy krwi na 1 kg mięsa. Największy przyrost ilości białka o 5,2 punktu procentowego stwierdzono w wędlinie, do której dodano 200 g suszonej plazmy krwi wieprzowej oraz 125 g płynnej plazmy krwi wieprzowej. Dodatek płynnej plazmy krwi tylko nieznacznie modyfikował ilość białka. Produkt przed wprowadzeniem na rynek wymaga badań trwałościowych i akceptacji konsumenckiej. Słowa kluczowe: wędlina wysokobiałkowa, plazma krwi wieprzowej

## **Usage of pork blood plasma in the production of sausages with increased protein content**

### **Abstract**

The aim of the study was to check the effect the addition of pork blood plasma to sausages on the content of total protein in the finished product. On the market there are often sausages referred to as "high protein". Pork meat is usually used for the production of sausages, and blood, in turn, is often treated as waste in the production of meat products. Its storage and disposal are expensive. However, pork blood can be used as one of the components of sausages and other cold meats. Due to its dark color, blood can be used to produce meat products that are naturally dark. In addition, the cellular blood fraction may be microbiologically unstable. Therefore, the industry uses pig blood plasma, which does not give the products a dark color and does not contain fractions that are particularly susceptible to the action of microorganisms. On the other hand, dried blood plasma may have a total protein content exceeding 70%. For this reason, it can be used to produce sausages with increased protein content. The research carried out was directly related to the creation of high-protein sausage, which may be introduced to the Polish market in the future. The research was carried out at Zakłady Mięsne "Świderscy" Kazimierz Świderski in Kosów Lacki. The research material in the form of ready-made meat products was made of boneless pork ham. Depending on the test batch, dried porcine blood plasma (0-200 g/1 kg of meat) and liquid plasma (0-125 g/1 kg of meat) were added to the products. It was shown that the amount of total protein increases with the amount of dried blood plasma used per 1 kg of meat. The largest increase in the amount of protein by 5.2 percentage points was found in the sausage to which 200 g of dried pork blood plasma and 125 g of liquid pork blood plasma were added. The addition of liquid blood plasma only slightly modified the amount of protein. The product requires consumable tests and consumer acceptance before being launched on the market.

Keywords: high protein sausage, pork blood plasma

# Możliwości identyfikacji miodu w produktach w produktach spożywczych na podstawie mtDNA

## 1. Wstęp

### 1.1. Przyczyny identyfikacji miodu

Wiarygodność określenia składu gatunkowego dostępnych na rynku produktów spożywczych pozostaje od dawna w centrum zainteresowania konsumentów. Potrzeba ta wynika głównie z kwestii zdrowotnych, przekonań konsumentów lub wiąże się z czynnikami ekonomicznymi. Miód jest jednym z silnych alergenów mogących objawiać się zmianami skórnymi, dolegliwości ze strony układu pokarmowego, kaszlem, dusznością, a w skrajnych przypadkach nawet wstrząsem anafilaktycznym. Uczulenie na miód często pojawia się u ludzi, którzy są uczuleni na pyłki roślin (trawy, kwiaty, drzewa) oraz jad owadów [1]. Brak jest jednoznacznych danych dotyczących częstości występowania alergii na miód w całej populacji w Polsce, ale wiadomo, że wśród pszczelarzy występuje na poziomie 0,002% [2]. Z kolei na podstawie raportu opublikowanego w 2019 roku przez Roślinniejemy [3] wynika, że 2,5 mln Polaków deklaruje się jako wegetarianie albo weganie.

Zatem znajomość składu gatunkowego nabywanych produktów często okazuje się niezbędna dla wielu konsumentów. Stanowi to ważny bodziec do kontroli rzeczywistego składu żywności. Wiadomo, że skład produktów żywnościowych powinien być deklarowany zgodnie z dyrektywami krajowymi i europejskimi [4-6]. Niemniej jednak, jak uczy doświadczenie, nie brakuje przykładów kiedy podany skład jest niezgodny z rzeczywistością w celu uatrakcyjnienia produktu, umotywowania wyższej ceny czy sprzedaży na nowych rynkach zbytu [7]. Zafałszowania mogą również dotyczyć niezadeklarowanej obecności miodu lub rozbieżności między zadeklarowaną, a rzeczywistą jego ilością w produkcie. Aby móc prowadzić kontrolę potencjalnej zawartości miodu w produktach żywnościowych potrzebna jest znajomości metod skutecznych do tego celu.

Celem niniejszej pracy było przedstawienie wstępnych wyników badań nad identyfikacją zafałszowań miodem produktów spożywczych na podstawie DNA.

### 1.2. Definicja miodu i różnicowanie pszczół miodnych

Zgodnie z definicją przedstawioną przez Organizację Narodów Zjednoczonych do spraw Wyżywienia i Rolnictwa, miód jest naturalną słodką substancją wytwarzaną przez pszczoły miodne [8]. Definicja ta została doprecyzowana przez Unię Europejską w Dyrektywie 2014/63/UE [9] zgodnie z którą miód powinien być produkowany z nektaru roślin lub wydzielin żywych części roślin, lub wydzielin owadów wysysających żywe części roślin, zbieranych, gromadzonych i pozostawionych w plastrach miodu do dojrzewania przez pszczoły miodne (*Apis mellifera*).

---

<sup>1</sup> Instytut Zootechniki PIB, Zakład Biologii Molekularnej Zwierząt.

<sup>2</sup> Instytut Zootechniki PIB, Zakład Biologii Molekularnej Zwierząt.



W obrębie gatunku pszczoły miodnej, naturalnie występującej w Europie, Afryce i na Bliskim Wschodzie [10] można wyróżnić ponad 27 różnych podgatunków pogrupowanych w trzy główne linie ewolucyjne (afrykańską, zachodnioeuropejską i wschodnioeuropejską) różniące się między sobą morfologicznie oraz genetycznie np sekwencją mitochondrialną DNA (mtDNA) [11].

Miód możemy podzielić ze względu na pochodzenie (np. miód kwiatowy lub spadziowy), ze względu na sposób produkcji (np. plaster, miód wyciskany, miód piekarniczy, itp.) czy genetyczne zróżnicowanie związane bezpośrednio z podgatunkiem pszczoł przez które został wyprodukowany.

### 1.3. Sposoby identyfikacji miodu

#### 1.3.1. Ekstrakcja DNA

Pierwszym etapem analizy jest pozyskanie dobrej jakości DNA w ilości co najmniej wystarczającej do dalszej analizy. Publikacje ukazują kilka sposobów pozyskiwania DNA głównie z wykorzystaniem wstępnego ogrzewania w buforach lub wodzie mającego na celu usunięcie polisacharydów. Najprostszym sposobem podniesienia jakości DNA zawartego w miodzie i pochodzącego od produkujących go pszczoł jest ogrzanie go w stosunkowo dużej ilości wody (2,25 ml wody /1g miodu) i mocne wirowanie przez 25 min. Ekstrakcję DNA następną prowadzi się z otrzymanego pelletu przy zastosowaniu zestawów komercyjnych (np. DNasy-Qiagen; Wizard – Promega) osobnymi buforami (np. Fenol / izopropanol; kolumny krzemionkowe) [12].

Innym sposobem pozbycia się substancji obniżających jakość DNA jest wstępne ogrzewanie z buforem PBS (2 ml/1g miodu) [13].

Opisane izolacje umożliwiają ekstrakcje DNA o stężeniu w zakresie od 2,3 do 303,9 ng/μl i czystości w zakresie od 1,1 do 2,6 [12].

Jak widać zakres ilości oraz jakości DNA jest dość szeroki i zależy od rodzaju miodu, jednak we wszystkich przypadkach wstępne ogrzanie próbek gwarantuje powodzenie dalszej analizy.

#### 1.3.2. Markery obecności miodu i startery stosowane do ich identyfikacji

Zwykle markerami genetycznymi miodu są fragmenty mtDNA kodujące cytochrom b (cytb) lub podjednostkę I oksydazy cytochromu c (COI) należących do pszczoły miodnej [14]. Ze względu na dużą ilość podgatunków różniących się sekwencją mtDNA najczęściej proponowane są markery identyfikujące najpopularniejsze podgatunki dla danego obszaru. Do obu fragmentów zaprojektowano dwa zestawy starterów: Apis2-F (TGTACTACCATGAGGACAAATATCA) i Apis2-R (ATTAATTGAGAACCCACC TCAGAT) kompatybilne z cytb i dające fragment DNA o wielkości 121 bp; oraz Aml5-F (AGGATCATGAATTAGCAATG) i Aml5-R (GAATGCTATATCAGGTGATC) homologiczne z genem COI I ograniczające fragment o wielkości 151 pz [14]. Region COI został wybrany ponieważ jest on preferowany wśród genów kodujących białka mitochondrialne jako podstawowy do diagnostyki molekularnej w identyfikacji gatunków zwierząt [15] również pszczoły miodnej [14, 16]. Drugi z preferowanych fragmentów (cytb) wybrano ze względu na przydatność wykazaną w różnicowaniu gatunkowym zwierząt [14, 17, 18].

Z danych literaturowych [14] wynika, że startery Apis2 umożliwiają powielenie jedynie DNA należącego do podgatunku pszczoły hiszpańskiej pochodzącej z Półwyspu Iberyjskiego (*Apis mellifera iberiensis*). Nieobecność amplifikacji dla pozostałych pod-

gatunków dowiodły specyficzności tych starterów jedynie dla tego podgatunku co ogranicza możliwości jego zastosowania jedynie do miodów o znanym pochodzeniu entomologicznym natomiast uniemożliwia szerokie zastosowanie takiej metody. Natomiast startery homologiczne z fragmentem genu COI (Aml5) dały pozytywny wynik reakcji z DNA większości podgatunków pszczoły miodnej [14].

W obrębie COI znane są również inne startery, jednak o wiele mniej uniwersalne ze względu na ograniczony nimi długi fragment DNA (1064 pz) COI: ATAATTTTTTTT TATAGTTATAC/GATATTAATCCTAAAAAATGTTGAGG [19] lub specyficzność do niewielu podgatunków COI-300:GGATTTATTGTCTGAGCACATC/TTGCGAAT ACTGCTCCTATT.

Autorzy podają też fragment genu dużej podjednostki rybosomalnego RNA (16S rRNA) jako użyteczny do badań identyfikacyjnych przy zastosowaniu starterów – 16SWb: CACCTGTTTATCAAAAACAT/TATAGATAGAAACCAATCTG ograniczający fragment o wielkości 574 pz dla większości podgatunków pszczoły miodnej [20] i 16S-300: GGACGATAAGACCCTATAGAA/TTGTTAAAAGTCGAACAGAC ograniczające nieco krótsze fragmenty DNA (296 – 307 pz w zależności od podgatunku pszczoły) [21].

Ważnym aspektem badań było sprawdzenie homologii proponowanych starterów z DNA roślin, których pyłki mogą znajdować się w miodzie. Brak homologii jest warunkiem koniecznym do akceptacji starterów ze względu na ryzyko wystąpienia reakcji fałszywie pozytywnej.

### **1.3.3. Techniki wykorzystywane w badaniach identyfikacji genetycznej miodu**

Najszerze zastosowanie do oznaczania miodu w produktach żywnościowych ma reakcja PCR w tradycyjnej odmianie, a następnie rozdział otrzymanego produktu w żelu agarozowym. Metoda pozwala na identyfikacje zarówno czystego miodu [14] jak również miodu zawartego w produktach żywnościowych (badania własne nie ujęte w prezentowanej pracy). Przedstawione wcześniej startery są specyficzne gatunkowo, powielające jedynie DNA pszczoły miodnej lub wybranych jej podgatunków. Czulość takich metod wynosi około 1% niezależnie od wcześniejszego przetworzenia termicznego i fizycznej postaci produktu czy obecność rozpuszczalnika np wody (badania własne).

Wyższą czulość wykazują metody oparte na reakcji PCR w czasie rzeczywistym. Najczęściej reakcje te są przeprowadzane w obecności barwnika SybrGreen. Przeprowadzenie reakcji real-time PCR zwiększa czulość do 0,01% co znacznie zwiększa wykrywalność śladowych ilości miodu [badania własne, 12, 14].

Nachylenie (-3,541) i współczynnik korelacji (0,981) dla krzywej wyznaczonej z szeregu rozcieńczeń mieszczą się w kryteriach akceptacji dla tego typu metod [22] co dodatkowo jest dowodem na specyficzność biologiczną metody.

## **2. Materiał i metody**

Materiałem badawczym było 8 próbek miodu pochodzącego z wiarygodnego źródła. Na bazie miodów wykonano próbki referencyjne zawierające w swoim składzie mięso kilku gatunków zwierząt, ryż, miód w proporcji 10:80:10 (2 próbki) oraz 10:89:1 (2 próbki), komercyjne próbki żywności dla wegan fortyfikowane miodami (2 próbki fortyfikowane do stężenia 10% miodu i 2 próbki do stężenia 1% miodu) oraz kontrole negatywne: roślinna (złożona z DNA pszenicy, jabłka, fasoli, jęczmienia, pomidora, słonecznika, sezamu, siemienia lnianego, ryżu, soi) oraz zwierzęca (DNA bydła, świni, owcy, kury, indyka).

Dokładny skład badanych próbek znajduje się w tabeli przedstawiającej otrzymane wyniki badań (tab. 1).

W celu opracowania metody identyfikacji miodu przeprowadzono analizę proponowanych starterów pod względem ich homologii do podgatunków (*Apis mellifera adami*, *Apis m. adansonii*, *Apis m. anatoliaca*, *Apis m. capensis*, *Apis m. carnica*, *Apis m. carpatica*, *Apis m. caucasica*, *Apis m. cecropia*, *Apis m. cypria*, *Apis m. iberica*, *Apis m. iberiensis*, *Apis m. intermissa*, *Apis m. jemenitica*, *Apis m. lamarckii*, *Apis m. ligustica*, *Apis m. ligustica*, *Apis m. litorea*, *Apis m. macedonica*, *Apis m. meda*, *Apis m. m.*, *Apis m. monticola*, *Apis m. pomonella*, *Apis m. ruttneri*, *Apis m. sahariensis*, *Apis m. scutellata*, *Apis m. siciliana*, *Apis m. sicula*, *Apis m. simensis*, *Apis m. sinisxinyuan*, *Apis m. syriaca*, *Apis m. unicolor*) pszczoły miodnej (*Apis m.*) przy zastosowaniu narzędzia BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Otrzymane wyniki wskazywały, że homologia z największą ilością badanych podgatunków występowała dla starterów Apis i ApisAml5 – 21 na 32 analizowanych podgatunków. Ponadto oba startery wykazują homologię do podgatunków żyjących w Polsce (środkowoeuropejska, kaukaska, kraińska, oraz z 6 na 7 podgatunkami z których wywodzi się pszczoła buckfast) co było dodatkowym atutem.

Do ekstrakcji DNA zastosowano komercyjny zestaw AxFood (A&A Biotechnology) wraz z jego dwoma wcześniej opisanymi modyfikacjami opartymi na ogrzewaniu w temperaturze 60°C przez 10 min z wytrzasaniem badanej próbki z wodą (modyfikacja 1) oraz buforem PBS (modyfikacja 2) i późniejszym wirowaniu (10 000 g przez 10 min). Ilość oraz jakość otrzymanych ekstraktów z tak otrzymanego osadu przedstawiono w tabeli 1. Ostatecznie do badań została wybrana modyfikacja z buforem PBS.

Otrzymany DNA amplifikowano w reakcji PCR i real-time PCR w obecności starterów Apis i ApisAml5. Mieszanina reakcyjna PCR (HotStarTaq DNA Polymerase; Qiagen) zawierała polimerazę DNA HotStarTaq, 1x bufor PCR, 1x bufor Q, 1,33 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,67 pM każdego startera. dla obu starterów. Otrzymane produkty PCR rozdzielono w 3% żelu agarozowym. Natomiast reakcja Real-Time PCR została przeprowadzona w obecności SybrGreen/Rox (Sensitive RT HS-PCR mix Sybr; A&A Biotechnology) i zawierała 50% obj Sensitive SYBR, 1 pM każdego startera. Temperatura hybrydyzacji w każdym przypadku wynosiła 52°C.

W reakcji PCR wszystkie analizy wykonano w dwukrotnych powtórzeniach, a w reakcji w czasie rzeczywistym w trzykrotnych. W reakcji real-time PCR dla wszystkich próbek określono cykl w którym linia progowa amplifikacji (threshold) przecina wykres zależności fluorescencji od cyklu reakcji. Wartość ta zwana cyklem granicznym (C<sub>T</sub>) jest skorelowana z obecnością i pierwotną ilością materiału biologicznego o DNA kompatybilnym z wykorzystywanymi w teście starterami.

W celu sprawdzenia działania metody sprawdzono specyficzność molekularną stosując DNA wyekstrahowane z badanych próbek. Przeprowadzenie reakcji krzyżowych PCR i real-time PCR z DNA roślinnym i zwierzęcym pozwala potwierdzić brak produktów PCR niespecyficznych gatunkowo. Każdy izolat DNA analizowano przy stężeniu 50ng/μl. Kontrolę negatywną izolacji DNA (KN) oraz PCRu (NTC) stanowiła woda wolna od nukleaz. Dla potwierdzenia specyficzności starterów wykonano krzywą topnienia.

### 3. Wyniki

Zebrane wyniki przedstawia tabela 1. Stężenie DNA wahało się od 12,90 do 754,80 ng/μl przy absorbancji A<sub>260/280</sub> między 1,30 a 1,95. Otrzymane wyniki obrazują, że DNA o najlepszej czystości i wydajności otrzymano dla modyfikacji z buforem PBS, który umożliwił otrzymanie ekstraktu o czystości powyżej 1,54 dla próbek miodu. Dla próbek o złożonym składzie jakość uzyskanego DNA było jeszcze lepsza, powyżej 1,7. Dlatego też ostatecznie taki sposób izolacji został wybrany do dalszej analizy.

Dla wszystkich próbek miodu przeprowadzono reakcje PCR, która dała prążek w żelu o odpowiedniej długości 577 pz (starter Apis) i 150-165 pz w zależności od rasy (startery ApisAml5). Jednocześnie nie odnotowano wyników fałszywie pozytywnych dla kontroli negatywnych.

Otrzymane wyniki reakcji real-time PCR wskazywały na zachodzenie reakcji między 25. a 30. cyklem. Utrudnieniem w analizie jest fakt, że część próbek negatywnych, np. DNA zwierzęce również daje sygnał. Wynik fałszywie pozytywnym od prawdziwie pozytywnego można rozróżnić dzięki krzywej topnienia. We wszystkich prawdziwie pozytywnych reakcjach krzywa topnienia miała jeden, ostry pik. Natomiast dla reakcji fałszywie pozytywnych krzywa topnienia charakteryzowała się zaokrąglonym, często nierównym pikiem.

Podane w tabeli 1 wartości  $c_{T\_sr}$  są średnimi wartościami progowymi ( $c_T$ ), w których fluorescencja przekracza poziom tła. Dla wartości tych wyznaczono również odchylenie standardowe (SD). Widać, że wszystkie reakcje pozytywne miały  $c_T$  pomiędzy 25 a 30 cyklem. Otrzymane wyniki wskazywały na możliwość badania w zakresie 1-100% zawartości miodu w próbce. Sygnał otrzymanego produktu real-time PCR jest jednak na tyle mocny, że prawdopodobnie istnieje szansa na zwiększenie czułości metody. Wszystkie wyniki dla poszczególnych powtórzeń są porównywalne, SD < 1,34; RSD < 5,05%.

Tabela 1. Skład badanych próbek, otrzymane wyniki

Badana próbka / skład	Jakość otrzymanego DNA			Wynik reakcji Real-time PCR		Wynik reakcji PCR
	mod. izol. DNA	c [ng/μl]	A <sub>260/280</sub>	$c_{T\_sr}$	SD	
miód wielokwiatowy 1	I	19,6	1,48	35,89	1,34	+
	II	51,6	1,66			
	III	144,3	1,95			
miód spadziowy 1	I	25,6	1,48	21,49	0,41	+
	II	12,9	1,41			
	III	23,9	1,55			
miód lipowy	I	23,1	1,34	25,18	0,15	+
	II	18,3	1,49			
	III	33,8	1,54			
miód spadziowy 2	I	17,7	1,50	27,37	0,35	+
	II	19,6	1,48			
	III	34,0	1,70			
miód wielokwiatowy 2	I	21,0	1,45	23,32	0,34	+
	II	25,4	1,63			
	III	26,3	1,64			
miód spadziowy 3	I	18,6	1,42	31,22	0,07	+
	II	18,3	1,40			
	III	27,0	1,58			

miód akacjowy	I	21	1,46	32,25	1,63	+
	II	18,2	1,30			
	III	41,1	1,77			
miód rzepakowy	I	21,1	1,52	31,18	0,19	+
	II	16,7	1,43			
	III	31,2	1,55			
próbka referencyjna 10:80:10 (mięso/ ryż/ miód)	I	84,2	1,60	25,34	0,42	+
	II	58,4	1,53			
	III	509,9	1,84			
próbka referencyjna 10:80:10 (mięso/ ryż/ miód)	I	62,1	1,59	24,28	0,18	+
	II	45,0	1,54			
	III	124,9	1,77			
próbka referencyjna 10:89:1 (mięso/ ryż/ miód)	I	719,8	1,86	27,58	0,94	+
	II					
	III	747,3	1,84			
próbka referencyjna 10:89:1 (mięso/ ryż/ miód)	I	576,1	1,85	26,35	0,27	+
	II					
	III	87,1	1,60			
próbka komercyjnej żywności dla wegan fortyfikowana miodami 90:10	I	47,9	1,66	26,42	0,34	+
	II					
	III	398,0	1,84			
próbka żywności dla wegan fortyfikowana miodami 90:10	I	256,6	1,89	25,67	0,52	+
	II					
	III	754,84	1,81			
próbka żywności dla wegan fortyfikowana miodami 99:1	I	290,5	1,88	28,12	0,11	+
	II					
	III	627,9	1,85			
próbka żywności dla wegan fortyfikowana miodami 99:1	I			29,31	0,08	+
	II					
	III	637,7	1,78			
kontrola negatywna roślinna (DNA pszenicy, jabłka, fasoli, jęczmienia, pomidora, słonecznika, sezamu, siemienia lnianego, ryżu, soi)				-		-
kontrola negatywna zwierzęca (DNA bydła, świni, owcy, kury, indyka)				-		-

mod. izol. DNA – modyfikacja izolacji DNA: izolacja bez modyfikacji (I), modyfikacja z zastosowaniem wody (II), z zastosowaniem buforu PBS (III)  $c_T$   $\bar{s}$ r – średnia wartości progowych dla trzech powtórzeń badań tej samej próbki, SD – odchylenie standardowe między nimi.

#### 4. Podsumowanie

Dotychczasowe badania nad identyfikacją genetyczną miodów wykazują, że metody oparte na DNA dostarczają potężnych narzędzi do oznaczania pozostałości miodu w produktach żywnościowych. Ze względu na duże zroznicowanie genetyczne między kolejnymi podgatunkami pszczoły miodnej nie istnieje wiele metod umożliwiających identyfikację genetyczną miodu. Metody, które dotychczas zostały opracowane są specyficzne gatunkowo dla większości podgatunków pszczoły miodnej (*Apis mellifera*) (w tym podgatunków występujących w Polsce) oraz i użyteczne w szerokim zakresie zawartości miodu w produktach żywnościowych. Wstępne badania własne pokazują działanie metody w zakresie 1-100% miodu. Natomiast dane literaturowe wskazują na większą czułość – granica oznaczalności (LOD) dla rozcieńczeń DNA miodu wynosiła 0,01%

[14]. Czulość, specyficzność biologiczna, przedstawionej metody oraz powtarzalność otrzymanych wyników i szerokie spectrum jej działania wskazują, że nadaje się do oznaczania obecności miodu w produktach spożywczych.

## Literatura

1. Kedzia B., Holderna-Kedzia E., *Alergenne działanie miodu pszczelego*, Acta Agrobotanica, 59(1), 2006, s. 257-263.
2. Matysiak J., Kokot Z. J., Matysiak J., *Alergia na jad pszczoły u pszczelarzy*, Alergia Astma Immunologia-przegląd kliniczny, 22(1), 2017, s. 5-11.
3. <https://roslinniejemy.org> [data dostępu: 10.03.2023].
4. Ustawa z dnia 20 grudnia 2001r - Dyrektywa Rady (2001/110/WE).
5. Ustawa z dnia 25 października 2011r - Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego I Rady (UE/1169/2011).
6. Ustawa z dnia 3 października 2003 r. -. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi (Dz.U. 2003 nr 181 poz. 1773).
7. Bielecki E., Bertrand J., *Falszowanie żywności w Polsce w latach 2015-2018*, Hygeia, 55(2), 2020, s. 56-62.
8. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Revised codex standard for honey (No. CODEX STAN 12-1981), Rev. 1, 2021.
9. Ustawa z dnia 15 maja 2014r. - Dyrektywa Parlamentu Europejskiego ( 2014/63/UE).
10. Ruttner F., *Geographic variability*, Biogeography and Taxonomy of Honeybees, 1, 1988, s. 37-56.
11. Garnery L., Cornuet J.M., Solignac M., *Evolutionary history of the honey bee Apis mellifera inferred from mitochondrial DNA analysis*, Molecular ecology, 1(3), 1992, s. 145-154.
12. Soares S., Grazina L., Mafra I., Costa J., Pinto M.A., Duc H.P., Amaral J.S., *Novel diagnostic tools for Asian (Apis cerana) and European (Apis mellifera) honey authentication*, Food Research International, 105, 2018, s. 686-693.
13. Zhang X., Diao Q., Wan Y., Jin W., *PCR detection method for genetically modified ingredient in honey*, Genomics and Applied Biology, 55(3), 2010, s. 584-587.
14. Soares S., Grazina L., Mafra I., Costa J., Pinto M.A., Oliveira, M.B.P., Amaral J.S., *Towards honey authentication: Differentiation of Apis mellifera subspecies in European honeys based on mitochondrial DNA markers*, Food chemistry, 283, 2019, s. 294-301.
15. Hebert P.D., Cywinska A., Ball S.L., DeWaard J.R., *Biological identifications through DNA barcodes*, Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences, 270(1512), 2003, s. 313-321.
16. Prosser S.W.J., Hebert P.D.N., *Rapid identification of the botanical and entomological sources of honey using DNA metabarcoding*, Food Chemistry, 214, 2017, s. 183-191.
17. Chen R., Jiang L.Y., Qiao G.X., *The effectiveness of three regions in mitochondrial genome for aphid DNA barcoding*, A case in Lachninae, 2012.
18. Fernandes T.J., Costa J., Oliveira M.B.P., Mafra I., *DNA barcoding coupled to HRM analysis as a new and simple tool for the authentication of Gadidae fish species*, Food Chemistry, 230, 2017, s. 49-57.
19. Tanaka H., Roubik D.W., Kato M., Liew F., Gunsalam G., *Phylogenetic position of Apis nuluensis of northern Borneo and phylogeography of A.cerana as inferred from mitochondrial DNA sequences*, Insectes Sociaux, 48, 2001, s. 44-51.
20. Dowton M., Austin A.D., *Molecular phylogeny of the insect order Hymenoptera: Apocritan relationships*, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 91, 1994, s. 9911-9915.

21. Kek S.P., Chin N.L., Tan S.W., Yusof Y.A., Chua L.S., *Molecular identification of honey entomological origin based on bee mitochondrial 16S rRNA and COI gene sequences*, Food Control, 78, 2017, s. 150-159.
22. [https://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/doc/MPR%20Report%20Application%2020\\_10\\_2015.pdf](https://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/doc/MPR%20Report%20Application%2020_10_2015.pdf) [data dostępu: 02.03.2023].

## Możliwości identyfikacji miodu w produktach spożywczych na podstawie mtDNA

### Streszczenie

Skład produktów żywnościowych jest deklarowany zgodnie z dyrektywami krajowymi i europejskimi. Nie brakuje jednak przykładów, kiedy podany skład jest niezgodny z rzeczywistością. Zafałszowania mogą również dotyczyć miodu, zarówno tam gdzie jego zawartość jest deklarowana, jak również w produktach deklarowanych jako produkt wegański. Aby móc prowadzić kontrolę zawartości miodu w żywności, potrzebna jest znajomość metod skutecznych do tego celu. Celem niniejszej pracy był przegląd dostępnych w literaturze metod molekularnych umożliwiających wykrycie miodu oraz przedstawienie wstępnych wyników badań nad identyfikacją zafałszowań miodem produktów dla wegan. Miód jest naturalną słodką substancją wytwarzaną przez pszczoły miodne *Apis mellifera* występujące w ponad 32 różnych podgatunkach pogrupowanych w trzy główne linie ewolucyjne, co z kolei przekłada się na różnicowanie genetyczne miodów produkowanych przez poszczególne podgatunki. Opracowanie metody obejmuje ekstrakcję DNA i powielenie sekwencji mtDNA charakterystycznej dla pszczoł w reakcji PCR i real-time PCR. Przegląd literatury dotyczących omawianego problemu oraz wyniki badań własnych wskazują, że metody oparte na DNA dostarczają potężnych narzędzi do oznaczania pozostałości miodu w produktach żywnościowych. Chociaż dotychczas znanych jest jedynie kilka metod umożliwiających identyfikację genetyczną miodu, to wszystkie one są specyficzne gatunkowo i można je stosować w szerokim zakresie zawartości miodu w produktach żywnościowych. Wstępne badania własne pokazują działanie metody w zakresie 1-100%, natomiast dane literaturowe wskazują na większą czułość (LOD= 0,01%). Dzięki specyficzności biologicznej oraz dużej czułości opisane metody mogą być stosowane do oznaczania zawartości pozostałości miodu w produktach dla wegan.

Słowa kluczowe: identyfikacja genetyczna miodów, oznaczanie miodu w produktach spożywczych, real-time PCR

## Possibilities of honey identification based in food products on base of mtDNA

### Abstract

The composition of food products is declared in accordance with national and European directives. However, there are many examples when the given composition is inconsistent with reality. Adulteration may also apply to honey, both where its content is declared and in products declared as vegan. To be able to control the content of honey in food, you need to know the methods that are effective for this purpose. The aim of this study was to review the molecular methods available in the literature to detect honey and to present the preliminary results of research on the identification of adulteration of vegan products with honey. Honey is a natural sweet substance produced by *Apis mellifera* honey bees found in over 32 different subspecies grouped into three main evolutionary lines, which in turn translates into genetic diversity of honeys produced by individual subspecies. The development of the method includes DNA extraction and amplification of the bee-specific mtDNA sequence in PCR and real-time PCR. The analysis of the existing literature on the discussed problem and the results of own research indicate that DNA-based methods provide powerful tools for the determination of honey residues in food products. Although only a few methods for genetic identification of honey are known so far, they are all species-specific and can be used in a wide range of honey content in food products. Preliminary own research shows the effectiveness of the method in the range of 1-100%, while literature data indicate greater sensitivity (LOD= 0.01%). Thanks to their biological specificity and high sensitivity, the described methods can be used to determine the content of honey residues in vegan products.

Keywords: genetic identification of honey, determination of honey in food products, real-time PCR

# Adaptacja do zimna: białka histerezy termicznej i białka stresowe

## 1. Wprowadzenie

Badanie mechanizmów adaptacyjnych do zmian temperatury otoczenia od lat cieszy się niesłabnącym zainteresowaniem. Jak dotąd nie zbadano wszystkich aspektów adaptacji, zwłaszcza że różne organizmy wykorzystują odrębne strategie umożliwiające im przetrwanie znacznych spadków temperatury otoczenia. Przeżycie w skrajnym chłdzie jest wynikiem wielu adaptacyjnych zmian na różnych poziomach organizacji organizmu. Dwie główne to tolerancja zamarzania i odporność na zamarzanie. Pierwsza umożliwia przeżycie nawet wówczas, gdy płyny ustrojowe ulegną częściowemu zamarznięciu, z jednoczesną ochroną struktury komórki przed potencjalnym uszkodzeniem lub śmiertelnymi skutkami tworzenia się lodu w płynach pozakomórkowych. Druga charakteryzuje się utrzymywaniem płynów ustrojowych w stanie tak zwanego przechłodzenia, polegającego na zdolności obniżania temperatury zamarzania, czyli temperatury, w której dochodzi do spontanicznego zaszczepiania kryształów lodu. Wartość temperatury krystalizacji, jest znacznie niższa niż punkt zamarzania wody, często sięga poniżej  $-10^{\circ}\text{C}$ . Obie wyżej wspomniane strategie związane są z akumulacją niskocząsteczkowych węglowodanów, wykazujących właściwości krioprotekcyjne, których główną rolą jest ochrona komórek przed szokiem osmotycznym i eliminowanie ryzyka powstawania lodu we wnętrzu komórki, zwłaszcza w okresach topnienia i ponownego zamarzania.

## 2. Białka histerezy termicznej

Białka, które odgrywają niezwykle istotną rolę w procesie adaptacji do chłodu nazywane są ogólnie białkami wiążącymi lód (ang. *Ice Binding Proteins*, IBPs). Wśród tych białek wyróżnia się trzy kategorie (i) białka pełniące rolę czynników zaszczepiających lód (ang. *Ice Nucleating Proteins*, INPs) w czasie, gdy istnieje ryzyko zamarznięcia płynów ustrojowych, (ii) białka, które przeciwdziałają zamarzaniu (ang. *Antifreeze Proteins*, AFPs) oraz (iii) białka hamujące rekrytalizację (ang. *Recrystallization-Inhibiting Proteins*, RIPs) [1]. Niezależnie od przyjętej klasyfikacji tych białek ich rola jest nie do przecenienia w kontekście zdolności przeżycia zwierząt w warunkach, w których bez nich nie byłoby to możliwe, czyli w temperaturze, w której dochodzi do spontanicznego powstawania kryształów lodu w płynach ustrojowych. Tego typu białka są też nazywane białkami histerezy termicznej (ang. *Thermal Hysteresis Proteins*, THPs), gdyż ich rolą jest utrzymanie różnicy między temperaturą zamarzania i topnienia płynów ustrojowych, co nazywane jest właśnie histerezą termiczną [2]. Jest to możliwe dzięki temu, że białka histerezy termicznej obniżają punkt krzepnięcia roztworów wodnych na drodze niekoligacyjnej (czyli niezależnie od stężenia a od rodzaju substancji krioprotekcyjnej), ale nie wpływają na punkt topnienia [3]. W normalnych warunkach (bez udziału białek histerezy ter-

---

<sup>1</sup> noann@umk.pl, Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Wydział Nauk Biologicznych i Weterynaryjnych, Katedra Fizjologii Zwierząt i Neurobiologii



micznej) woda topi się i zamarza w tej samej temperaturze, która jest równa 0°C. Histeresa termiczna jest różnicą pomiędzy punktem topnienia i zamarzania spowodowana przez mikrokrzywizny na powierzchni kryształu lodu. Cząsteczki wody trudniej przylączają się do krzywizny lodu niż do powierzchni płaskiej. Tę właściwość opisuje efekt Kelvina [4]. Białka histerazy termicznej, przyklejając się do ścianek kryształów lodu, zapobiegają ich wzrostowi, a ponadto tak osłabiają strukturę kryształu, że powodują topnienie. Obecność tych białek w płynach ustrojowych powoduje przesunięcie punktu zamarzania w dół, poniżej punktu zamarzania wody. Wartość histerazy termicznej jest różna u różnych organizmów [5].

Historia badań nad białkami AFPs sięga lat pięćdziesiątych ubiegłego stulecia, kiedy odkryto czynniki antyzamarzające, które miały charakter protein (AFPs) lub glikoprotein (AFGPs) u ryb wód polarnych [6]. Jak dotąd białka histerazy termicznej znaleziono nie tylko w surowicy krwi ryb arktycznych, ale także u ryb żyjących sezonowo w północnych akwenach strefy umiarkowanej (śledzie, sardynki, głowacze, miętusy, flądry) [7-9]. Białka te są obecne u niektórych mięczaków strefy międzyoptywowej *Mytilus edulis* [10], a także u licznych owadów, między innymi u stawonogów, pajaków, kleszczy, roztoczy, i skoczogonków [11, 12]. Po raz pierwszy zidentyfikowano je u chrząszczy *Tenebrio molitor* w 1971 roku, choć roli tych białek nie wiązano wówczas z ich aktywnością przeciwdziałającą zamarzaniu [13].

Wśród białek przeciwdziałających zamarzaniu u ryb wyodrębniono jedną klasę glikoprotein (AFGPs, glikoproteiny zapobiegające zamarzaniu) i cztery klasy białek AFPs (typy I-IV). W badaniach wyróżniono także białka innego pochodzenia, które obejmują białka bakterii, okrzemek i grzybów oraz białka wyizolowane z owadów i roślin.

Glikoproteina (AFGP), o masie cząsteczkowej 2,6-33 kDa, składa się z szeregu powtarzających się jednostek alanina-alanina-treonina oraz bocznego łańcucha, który bierze udział w wiązaniu kryształków lodu. Jak dotąd glikoproteiny podzielono na dwa rodzaje wysokocząsteczkowe (AFGP1-5) i niskocząsteczkowe (AFGP6-8) [14]. Glikoproteiny zapobiegające zamarzaniu, wyizolowane z ryb żyjących w wodach podbiegunowych [15, 16], są najsilniejszymi inhibitorami rekryształizacji lodu [17].

W zależności od właściwości strukturalnych AFPs podzielono na cztery typy [18, 19]. Typ I stanowią białka amfipatyczne (po stronie hydrofilowej cząsteczki leżą reszty treoniny), bogate w alaninę, która ulokowana jest po stronie hydrofobowej. Są to białka o strukturze pojedynczej alfa helisy, która w temperaturze poniżej 0°C stanowi 85%, a jej procentowy udział maleje wraz ze wzrostem temperatury. Ten typ białek zidentyfikowano u flądry, *Pleuronectes americanus* [20] oraz dennego gatunku ryb zasiedlających północny Atlantyk i morza arktyczne, *Myoxocephalus scorpius* [20, 21]. Typ II to białka globularne z pięcioma mostkami dwusiarczkowymi, bogate w cysteinę. Ich masa cząsteczkowa waha się od 11 do 24 kDa [22]. Białka te dzielą się na dwa rodzaje, zależne i niezależne od wapnia (Ca<sup>2+</sup>) [23]. Zależne od Ca<sup>2+</sup> AFP typu II wyizolowano z północno amerykańskiego gatunku ryby *Osmerus mordax* [23], śledzia atlantyckiego *Clupea harengus* [22] oraz japońskich ryb, *Hypomesus nipponensis* [24]. Z kolei typ II niezależny od Ca<sup>2+</sup> został wyizolowany z ryb atlantyckiego wybrzeża Ameryki północnej, *Hemirhamphus americanus* [25] i *Brachyopsis rostratus* [26]. Ten typ białka nie ma miejsc wiążących Ca<sup>2+</sup> [23]. Typ III to białka globularne o małej masie cząsteczkowej, około 6-7 kDa, bez wyraźnej struktury drugorzędowej, które charakteryzuje brak powtarzalności w sekwencjach aminokwasowych, bez wyraźnej przewagi żadnego z nich. Białka

te nie zawierają reszt cysteiny, a w części C-końcowej znajduje się miejsce wiązania lodu [27]. Cząsteczki te dzieli się na dwie grupy ze względu na różnice we właściwościach wiązania z nośnikami jonowymiennymi [28], sekwencji oraz punkcie izoelektrycznym [29]. Zidentyfikowano je u endemicznego, antarktycznego węgorza *Lycodichthys dearborni* i ryb oceanicznych, zasiedlających wybrzeża wschodniej Kanady, *Macrozoarces americanus* i wielu innych gatunków [30, 31]. Typ IV to białka o masie cząsteczkowej 12 kDa, bogate w glutaminę i glutaminian, które strukturą nie są podobne do żadnego z opisanych wyżej typów białek. Pod ich wpływem kryształy lodu przyjmują kształt sześciokątny (heksagonalny), odmienny niż w przypadku działania pozostałych AFPs [32]. Białka te zidentyfikowano w surowicy krwi ryb *Myoxocephalus octodecimspinosus* [20, 33, 34]. Jeszcze inną budowę mają białka przeciwdziałające zamarzaniu u owadów, mianowicie mają strukturę beta-helisy. To właśnie struktura AFPs odpowiada za ukierunkowane tworzenie się różnych kryształów lodu, które przybierają kształty od kolistego, sześciokątnego, bipiramidalnego, po igiełkowaty [35]. Białka AFPs/THPs adsorbują na zarodkach kryształów lodu, które utworzyły się spontanicznie lub wniknęły do wnętrza organizmu, umożliwiając ukierunkowany wzrost kryształów lodu i zmianę kształtu z heksagonalnego na igiełkowaty [3]. Glikoproteiny wykazują słabszą aktywność przeciw zamarzaniu, ale ich pozytywny wpływ może wynikać z tego, iż dłuższa forma ich cząsteczek pokrywa większą powierzchnię lodu [36].

Różne gatunki ryb, u których białka AFPs odgrywają istotną rolę w przeżywaniu ryzyka zaszczepienia lodu w ich płynach ustrojowych, charakteryzują się różną strategią sezonowej regulacji syntezy tych białek [37]. Niektóre gatunki rozpoczynają syntezę THPs z pewnym wyprzedzeniem, zanim wystąpi ryzyko zamrożenia. Inne syntetyzują białka w odpowiedzi na spadek temperatury wody, podczas gdy jeszcze inne gatunki syntetyzują THPs w sposób ciągły [36]. Wykazano, że poziom mRNA dla białek AFP typu I u *Pleuronectes americanus* wzrasta zimą ponad 1000-krotnie, w porównaniu z okresem lata [38]. Jesienny wzrost poziomu mRNA modulowany jest przez skracanie się fazy jasnej dnia [39], z kolei wiosenny spadek wynika ze wzrostu temperatury. Prawdopodobnie te zmiany związane są z zależną od temperatury stabilnością mRNA. Co ciekawe zmiany poziomu AFP I typu w skórze i wątrobie ryb regulowane są oddzielnie. Synteza białek histerezy termicznej u owadów zamieszkujących rejony północne jest zależna od hormonów i fotoperiodu, zaś głównym miejscem syntezy są ciała tłuszczowe [13].

Przypuszczano, że glikoproteiny są syntetyzowane w wątrobie i rozprowadzane przez układ krążenia w taki sposób, aby zapobiec zamarzaniu krwi. Jednak ostatnie badania wykazały, że głównym miejscem syntezy AFGPs u ryb antarktycznych jest trzustka a nie wątroba [40]. Syntetyzowane w trzustce glikoproteiny wchodzą do światła jelita przez przewód trzustkowy, aby zapobiec zarodkowaniu płynu jelitowego przez połknięty lód. Ponowne wchłonięcie AFGPs z płynu jelitowego jest ich źródłem w osoczu. Niektóre gatunki ryb wykazują sezonowe zmiany poziomów AFGPs w osoczu, co odnotowano u artycznych ryb *Eleginus gracilis*, występujących przy północnej granicy zasięgu. Inne gatunki ryb zamieszkujących wody Antarktyki, nie wykazują takich zmian, gdyż temperatura wody w ciągu roku prawie się nie zmienia [16].

Regulacja syntezy AFGPs i AFPs u ryb odbywa się nie tylko pod wpływem zmian temperatury wody, ale także dzięki regulacji hormonalnej. Badania wykazały, że dootrzewnowe podanie prolaktyny zmniejsza poziom białka w osoczu, co sugeruje, iż pro-

laktyna poprzez zwiększenie filtracji kłębuszkowej usuwa AFGPs z osocza. Kłębuszki nerkowe wykazują atrofię zimą w porównaniu z okresem lata [41]. Wyniki te wskazują, że obecność AFGPs w osoczu zależy od sezonowych zmian morfologii kłębuszków nerkowych [15, 42], a redukcja kłębuszków uważana jest za ważny mechanizm zachowania glikoprotein o małej masie cząsteczkowej, niezbędnych do życia w strefie polarnej. Ilość AFP typu I we krwi *Pleuronectes americanus* zmienia się sezonowo [43], ale poziom AFP w osoczu spada przy wzroście stężenia hormonu wzrostu. Z kolei synteza hormonu wzrostu u ryb jest modulowana przez temperaturę wody i jest wyższa w cieplejszych porach roku [44]. Zatem hormon wzrostu jest zaangażowany w proces adaptacji do niskiej temperatury. Jednym z jego działań jest kontrolowanie syntezy AFPs [45]. Synteza hormonu wzrostu jest hamowana zimą, kiedy poziom AFPs jest wysoki [46]. Co więcej, wstrzyknięcie ekstraktów z przysadki, w tym hormonu wzrostu rybam w okresie zimowym spowodowało spadek poziomu AFPs, co jednoznacznie wskazuje, że hormon wzrostu jest jednym z czynników regulujących syntezę białek przeciwdziałających zamarzaniu [45]. Ponieważ nie obserwuje się sezonowych zmian w strukturze nerki zimą u *Pleuronectes americanus* [47], spekuluje się, że wzrost AFPs jest promowany przez zmniejszone wydzielanie hormonu wzrostu w zimie, co w konsekwencji zwiększa tolerancję niskiej temperatury [32]. Pozostałe typu białek AFPs (II, III i IV) syntetyzowane są głównie w wątrobie, ale także w trzustce [40]. Niewiele jednak wiadomo na temat mechanizmu regulującego tę syntezę, w przeciwieństwie do regulacji syntezy AFGPs i AFPs typu I. Ponadto wydaje się, że AFPs typu IV nie mają właściwości przeciwarzarzających we krwi, ponieważ ich poziom we krwi jest zbyt niski [48]. Z drugiej strony AFPs typu IV wykryto tylko u tych gatunków ryb, które mają również AFPs typu I, zatem możliwe jest, że działanie AFPs typu IV jest wspomagane przez AFPs typu I lub, że pełnią one inne funkcje fizjologiczne, poza mechanizmem tolerancji niskiej temperatury [32].

Szok zimna jest stresorem, który wpływa na różne zjawiska fizjologiczne [49]. Podstawową reakcją na szok zimna jest uwolnienie kortykosteroidów i katecholamin poprzez reakcję neuroendokrynną ośrodkowego układu nerwowego [50]. W wyniku ostrego szoku zimna, wraz ze spadkiem temperatury wody, wzrasta w osoczu stężenie epinefryny, noradrenaliny i kortyzolu [51], co wskazuje, że szok zimna sprzyja wydzielaniu hormonów przez oś podwzgórze-przysadka-nadnercza. Brak jednak jednoznacznych dowodów na to, że kortyzol może odgrywać istotną rolę w tolerancji niskiej temperatury u ryb.

Przeciwną rolę to białek AFPs, których zadaniem jest przeciwdziałanie zamarzaniu płynów ustrojowych przez uniemożliwienie rozrastania się kryształów lodu, odgrywają białka INPs. Działają one jako zarodki kryształów lodu w przestrzeniach zewnątrzkomórkowych, chroniąc tym samym środowisko wnętrza komórki przed zamarzaniem [52]. Generalnie białka zarodkujące lód zapobiegają uszkodzeniom, które mogłyby powstać w czasie spontanicznego zamarzania, gdyż inicjują zamarzanie w temperaturze niższej od punktu zamarzania wody, a więc w stanie przechłodzenia, w której kryształy lodu rosną wolniej [53]. Działanie białek INPs może zostać zahamowane przez białka AFPs, które zaczynają je rozpoznawać i traktują tak samo jak kryształ lodu [3], czyli adsorbują na ich powierzchni i zapobiegają łączeniu się kolejnych cząsteczek wody z siecią krystaliczną. Prawdopodobnie jest to możliwe dzięki temu, że strukturalnie białka INPs przypominają powierzchnię kryształów lodu. INPs są dużymi, hydrofilowymi i multimerycznymi białkami, których podjednostki mają od 120 do 150 kDa [54] i najczęściej związane są z błoną komórkową. Białka te składają się z trzech domen: (1) centralnej

powtarzającej się domeny (CRD) obejmującej 81% całej sekwencji, (2) domeny N-końcowej zawierającej ~15% sekwencji i (3) unikalnej domeny C-końcowej (~4%) [55]. Rolę kotwicy białka w błonie komórkowej stanowi hydrofobowa globularna domena N-końcowa, obejmująca tylko 15% sekwencji INP. Uważa się, że domena CRD jest najważniejszą częścią INP gdyż jest miejscem interakcji z lodem. Chociaż całe białko INP jest hydrofilowe, fragmenty CRD są płaskie i względnie hydrofobowe. Rola trzeciej domeny – C-końcowej pozostaje nieznana [54]. Najlepiej opisanymi białkami INPs są białka znalezione na zewnętrznej błonie kilku bakteryjnych patogenów roślin *Pseudomonas syringae* [56]. Białka te różnią się istotnie składem aminokwasowym i powtarzalną sekwencją w regionie CRD. Zdaje się, że wytwarzane przez drobnoustroje białka zarodkujące lód są najskuteczniejszymi katalizatorami powstawania lodu w przyrodzie [57, 58]. Są szeroko rozpowszechnione u wielu bakterii Gram-ujemnych, patogennych i epifitycznych. Interesującym jest fakt, że bakterie te mogą być psychrofilami (żyjącymi w temperaturze 0-15°C) lub mezofilami, zwykle żyjącymi w temperaturze 30-37°C, ale czasami wykazują również zdolność do przeżycia w niższych temperaturach. Bakteryjne INPs wykazują dwie klasy aktywności zarodkowania lodu, które charakteryzują się różną temperaturą zarodkowania [59]. INP klasy C, które zarodkują lód pomiędzy -7°C i -10°C są często obserwowane, podczas gdy INP klasy A, które zarodkują lód w zakresie od -2°C do -5°C, są rzadkie. Ostatnią grupą białek klasyfikowanych jako białka histerezy termicznej stanowią białka hamujące rekrytalizację (RIPs). Występują one u wielu gatunków odpornych na zamrażanie, powodują znacznie mniejszą histerezę termiczną hemolimfy, na ogół poniżej 1°C i zapobiegają szkodliwej rekrytalizacji lodu.

### 3. Białka szoku zimna

Zarówno organizmy prokariotyczne, jak i eukariotyczne, wykazują reakcję na szok zimna po nagłym obniżeniu temperatury. Pewien wspólny adaptacyjny mechanizm polega na syntezie specyficznych białek, które są odpowiedzią na nagły spadek temperatury tzw. Cold Shock Response (CSR). Odpowiedź na szok zimna określa ogół reakcji zachodzących w komórce, koniecznych do odzyskania pełnej fizjologicznej sprawności po szoku termicznym. Reakcje wchodzące w skład CSR, dotyczące adaptacji do niskiej temperatury, zostały bardzo dobrze poznane i udokumentowane u prokariotów, zwłaszcza bakterii mezofilnych *Escherichia coli* [56, 60-63]. Obniżenie temperatury powoduje u tych bakterii przejściowe zahamowanie syntezy większości białek, co w konsekwencji prowadzi do opóźnienia wzrostu. Jednak po pewnym czasie, zwanym również fazą aklimatyzacji, efektem działania niskiej temperatury jest synteza białek szoku zimna (ang. *Cold Shock Proteins*, CSPs) [64]. Ich rola polega na zwiększeniu efektywności replikacji, transkrypcji, i translacji gdyż niska temperatura znacznie spowalnia te procesy [65]. Pierwszą reakcją bakterii na stres zimna jest synteza białek, które noszą miano białek szoku zimna pierwszej klasy. W normalnych warunkach ich synteza zachodzi na minimalnym poziomie, jednak w odpowiedzi na obniżenie temperatury następuje gwałtowny wzrost ich syntezy. To właśnie białka szoku zimna pierwszej klasy odpowiadają za syntezę innych białek charakteryzujących się wysoce konserwatywną domeną wiążącą kwas nukleinowy – domeną szoku zimna (ang. *Cold-shock Domain*, CSD) [66, 67], a działających jako chaperony oraz aktywatory transkrypcji i translacji [65, 68, 69]. CSD zawiera dwa motywy wiążące kwas nukleinowy, rybonukleoproteinę 1 i 2 [70, 71], które ułatwiają wiązanie z docelowym RNA i DNA [65, 72]. Druga klasa białek szoku zimna u *E.coli*

obejmuje między innymi czynnik rekombinacji RecA, czynnik transkrypcyjny TF i czynnik inicjacji translacji IF-2. Prawdopodobnie białka szoku zimna drugiej klasy, których synteza nie jest już tak gwałtowna, odpowiedzialne są za mechanizmy naprawcze. To one odpowiadają za syntezę i fałdowanie białek w niskiej temperaturze oraz przywracanie nieprawidłowo sfałdowanym białkom właściwości funkcjonalnych poprzez powtórne prawidłowe zwiniecie (*refolding*). Jeśli jednak stres zimna się przedłuża synteza białek drugiej klasy odbywa się w sposób ciągły [73].

Głównym białkiem szoku zimna *E. coli* jest CspA [69], jest ono niezbędne do rozpoczęcia i regulacji syntezy innych bakteryjnych białek szoku zimna. Po raz pierwszy zidentyfikowano je w 1987 roku i udowodniono, że jest ono produktem genu, którego ekspresja jest pobudzana obniżeniem temperatury [73]. Rodzina białek CspA bakterii *E. coli* mieści w sobie osiem różnych białek od CspA do CspH, jednak wszystkie z nich są białkami o małej masie cząsteczkowej (około 7kDa), charakteryzującymi się stopniem identyczności w granicach 29-83%. Homologi tych białek znaleziono także u innych organizmów prokariotycznych chociaż nie wszystkie z nich indukowane są szokiem zimna [69]. W rodzinie białek CspA zidentyfikowanej u bakterii zimnem indukowane są tylko białka CspA, CspB i CspG [69, 74]. Białka podobne do CspA zostały również zidentyfikowane w organizmach psychrotroficznych jako białka aklimujące do zimna. Okazuje się jednak, że na ogół poziom tych białek jest stały, a ich wzrost obserwuje się po obniżeniu temperatury. Zatem podobnie jak u *E. coli* białka podobne do rodziny CspA mogą być lub nie być indukowane zimnem. Białka szoku zimna są niezbędne do wznowienia wzrostu komórek w niskiej temperaturze, który po szokiem zimnem został zahamowany. Białka CspA i CspB są indukowane w różnych temperaturach, co oznacza, że wzrost bakterii w niskiej temperaturze może być indukowany w dwóch różnych punktach temperaturowych [75]. Obecność białek szoku zimna potwierdzono u wielu gatunków bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych włączając gatunki psychro- mezo- i termofilne [76]. Co ciekawe istnieją również gatunki, które nie są zdolne do ich syntezy.

O ile białka szoku zimna są dobrze poznane u bakterii, trudno doszukać się ich homologów u organizmów eukariotycznych. Pierwsze małe białko drobnoustrojów eukariotycznych, w pełni homologiczne do rodziny bakteryjnych CspA-podobnych białek szoku zimna, wykryto w 2002 roku u pleśni *Cladosporium herborum* [77]. W przeciwieństwie do bakteryjnych CSPs, ich eukariotyczne odpowiedniki zawierają, oprócz domeny szoku zimna, domeny pomocnicze, i są często określane jako białka wiążące Y-box (YB). Białko Y-box kręgowców zawiera wysoce konserwatywną domenę szoku zimna o strukturze beta-beczulki, o rozmiarze zbliżonym do domeny CspA bakterii *E. coli* z ponad 40% stopniem identyczności sekwencji aminokwasowej z bakteryjnymi CSPs [73, 78]. Struktura domen pomocniczych różni się znacznie w różnych organizmach. Białka Y-box zawierają domenę N-końcową bogatą w alaninę i prolinę (domena A/P), domenę CSD oraz domenę C-końcową z naprzemiennie zlokalizowanymi zasadowymi i kwasowymi resztami aminokwasowymi [79, 80]. Zdaje się, że to właśnie domena C-końcowa wykazuje aktywność wiązania DNA i RNA oraz zdolność wiązania innych białek [68, 81]. Najlepiej scharakteryzowanym białkiem Y-box jest białko YB-1, wykryte u ludzi. Jest ono białkiem wielofunkcyjnym, które bierze udział w regulacji transkrypcji i translacji, lekooporności, proliferacji komórek i adaptacji do stresu [82]. Początkowo funkcje komórkowe białek Y-box kręgowców nie były skorelowane ze stresem nisko-temperaturowym. Wykazano jednak, że obniżenie temperatury hodowli komórek kurzych

pozbawionych YB-1 prowadzi do zatrzymania wzrostu, co wskazuje na zasadniczą funkcję YB-1 w proliferacji komórek w niskich temperaturach [83]. Wyniki tego eksperymentu były pierwszą przesłanką ku temu aby białka Y-box rozpatrywać w kontekście adaptacji do zimna u wyższych kręgowców [72]. Chociaż białka Y-box, nie są indukowane zimnem działają, zarówno jako czynniki transkrypcyjne, jak i białka wiążące RNA. Ogólnie rzecz biorąc, białka Y-box mają tendencję do zwiększonej ekspresji podczas procesów związanych ze wzrostem, co jest interesującym zbiegiem okoliczności z założeniem, że CspA, CspB i CspG są prawdopodobnie niezbędne do wznowienia wzrostu bakterii *E.coli* w niskiej temperaturze [84].

Innym przykładem eukariotycznego białka z pojedynczą domeną szoku zimna (CSD) jest białko LIN-28, które pierwotnie zostało zidentyfikowane jako regulator rozwoju larw *Caenorhabditis elegans* [85]. Białko LIN-28 zidentyfikowano także u ssaków, u których jest niezbędne do wzrostu i różnicowania tkanki mięśniowej [86]. Ponadto wykazano, że LIN-28 odgrywa ważną rolę w przeprogramowywaniu ludzkich komórek somatycznych na pluripotencjalne komórki macierzyste [87, 88]. Wpływa także na wzrost i różnicowanie komórek w komórkach embrionalnych [89, 90]. Zwierzęce białka CSD odgrywają ważną rolę w różnych procesach biologicznych, nie tylko w adaptacji do stresu zimna.

Badania potwierdzają obecność białek szoku zimna u różnych mikroorganizmów a także innych ewolucyjnie odległych gatunków, co świadczy o „prastarym pochodzeniu genów kodujących CSPs”. Ewolucyjnie konserwowaną domenę szoku zimna można znaleźć w ponad 6000 białek u wszystkich organizmów – poczynając od bakterii a na człowieku kończąc, z wyjątkiem drożdży [91]. Dlatego uzasadnione jest spekulowanie, że istnieją mechanizmy adaptacji do niskiej temperatury, które są zachowane przez całą filogenezę.

## Literatura

1. Gharib G., Saeidiharzand S., Sadaghiani A.K., Koşar A., *Antifreeze Proteins: A Tale of Evolution From Origin to Energy Applications*, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 9, 2022, 770588.
2. Lin F.H., Davies P.L., Graham L.A., *The Thr-and Ala-rich hyperactive antifreeze protein from inchworm folds as a flat silk-like  $\beta$ -helix*, *Biochemistry*, 50, 2011, s. 4467-4478.
3. Turkiewicz M., *Białka termicznej histerezy - struktura, funkcja, znaczenie użytkowe*, *Biotechnologia*, 1 (44), 1999, s. 11-33.
4. Knight C.A., *Structural biology. Adding to the antifreeze agenda*, *Nature*, 406, 2000, s. 249-251.
5. Doucet D., Tyshenko M.G., Kuiper M.J., Graether S.P., Sykes B.D., Daugulis A.J., Davies P.L., Walker V.K., *Structure-function relationship in spruce budworm antifreeze protein revealed by isoform diversity*, *European Journal of Biochemistry*, 267, 2000, s. 6082-6088.
6. DeVries A.L., Wohlschlag D.E., *Freezing resistance in some Antarctic fishes*, *Science*, 163, 1969, s. 1073-1075.
7. Davies P., Hew C.L., *Biochemistry of fish antifreeze proteins*, *FASEB Journal*, 4, 1990, s. 2460-2468.
8. Griffith M., Ewart K.V., *Antifreeze proteins and their potential use in frozen foods*, *Biotechnology Advances*, 13, 1995, s. 375-402.
9. Fletcher G.L., Hew H.L., Davies P.L., *Antifreeze Proteins of Teleost Fishes*, *Annual Review of Physiology*, 63, 2001, s. 359-390.

10. Theede H.R., Schneppenheim R.B., Beress L., *Frostschutz-Glykoproteine bei Mytilus edulis?*, Marine Biology, 36, 1976, s. 183-189.
11. Zettel J., *The significance of temperature and barometric pressure changes for the snow surface activity of Isotomahiemalis (Collembola)*, Experientia, 40, 1984, s. 1369-1372.
12. Sinclair B.J., Terblanche J.S., Scott M.B., Blatch G.L., Klok C.J., Chown S.L., *Environmental physiology of three species of Collembola at Cape Hallet, North Victoria Land, Antarctica*, Journal of Insect Physiology, 52, 2006, s. 29-50.
13. Duman J.G., Bennett V., Sformo T., Hochstrasser R., Barnes B.M., *Antifreeze proteins in Alaskan insects and spiders*, Journal of Insect Physiology, 50, 2004, s. 259-266.
14. Harding M.M., Anderberg P., Haymet A.D., *Antifreeze glycoproteins from polar fish*, European Journal of Biochemistry, 270, 2003, s. 1381-1392.
15. DeVries A.L., *Biological antifreeze agents in coldwater fishes*, Comparative Biochemistry and Physiology A, 73, 1982, s. 627-640.
16. Burcham T.S., Osuga D.T., Chino H., Feeney R.E., *Analysis of antifreeze glycoproteins in fish serum*, Analytical Biochemistry, 139, 1984, s. 197-120.
17. Mochizuki K., Molinero V., *Antifreeze Glycoproteins Bind Reversibly to Ice via Hydrophobic Groups*, Journal of American Chemical Society, 140, 2018, s. 4803-4811.
18. Baret J., *Thermal hysteresis proteins*, International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 33, 2001, s. 105-117.
19. Nada H., Furukawa Y., *Antifreeze proteins: computer simulation studies on the mechanism of ice growth inhibition*, Polymer Journal, 44, 2012, s. 690-698.
20. Duman J.G., *Animal ice-binding (antifreeze proteins and glycolipids: an overview with emphasis on physiological function)*, Journal of Experimental Biology, 218, 2015, s. 1846-1855.
21. Hew C.L., Fletcher G.L., Ananthanarayanan V.S., *Antifreeze proteins from the shorthorn sculpin, Myoxocephalus scorpius: isolation and characterization*, Canadian Journal of Biochemistry, 58, 1980, s. 377-383.
22. Liu Y., Li Z., Lin Q., Kosinski J., Seethataman J., Bujnicki J.M., Sivaraman J., Hew C.L., *Structure and Evolutionary Origin of Ca<sup>2+</sup> – Dependent Herring Type II Antifreeze Protein*, PLoS ONE, 2, 2007, e548.
23. Ewart K.V., Rubinsky B., Fletcher G.L., *Structural and functional similarity between fish antifreeze proteins and calcium-dependent lectins*, Biochemical and Biophysical Research Communications, 185, 1992, s. 335-340.
24. Yamashita Y., Miura R., Takemoto Y., *Type II antifreeze protein from a mid-latitude freshwater fish, Japanese smelt (Hypomesus nipponensis)*, Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 67, 2003, s. 461-466.
25. Slaughter D., Fletcher G.L., Ananthanarayanan V.S., Hew C.L., *Antifreeze proteins from the sea raven, Hemitripterus americanus. Further evidence for diversity among fish polypeptide antifreezes*, Journal of Biological Chemistry, 256, 1981, s. 2022-2026.
26. Nishimiya Y., Kondo H., Takamichi M., Sugimoto H., Suzuki M., Miura A., Tsuda S., *Crystal structure and mutational analysis of Ca<sup>2+</sup>-independent type II antifreeze protein from longsnout poacher, Brachyopsis rostratus*, Journal of Molecular Biology, 382, 2008, s. 734-746.
27. Sönnichsen F.D., DeLuca C., Davies P.L., Sykes B.D., *Refined solution structure of type III antifreeze protein: hydrophobic groups may be involved in the energetics of the protein-ice interaction*, Structure, 4, 1996, s. 1325-1337.
28. Li X.M., Trinh K.Y., Hew C.L., Buettner B., Baenziger J., Davies P., *Structure of an antifreeze polypeptide and its precursor from the ocean pout, Macrozoarces americanus*, Journal of Biological Chemistry, 260, 1985, s. 12904-12909.
29. Hew C.L., Wang N.C., Joshi S., Fletcher G.L., Scott G.K., Hayes P.H., Buettner B., Davies P.L., *Multiple genes provide the basis for antifreeze protein diversity and dosage in*

- the ocean pout, Macrozoarces americanus*, Journal of Biological Chemistry, 263, 1998, s. 12049-12055.
30. Hew C.L., Slaughter D., Joshi S.B., Fletcher G.L., Ananthanarayanan V.S., *Antifreeze polypeptides from the Newfoundland ocean pout, Macrozoarces americanus: presence of multiple and compositionally diverse components*, Journal of Comparative Physiology B, 155, 1984, s. 81-88.
  31. Ko T.P., Robinson H., Gao Y.G., Cheng C.H., DeVries A.L., Wang A.H., *The refined crystal structure of an eel pout type III antifreeze protein RD1 at 0.62-Å resolution reveals structural microheterogeneity of protein and salvation*, Biophysical Journal, 84, 2003, s. 1228-1237.
  32. Soyano K., Mushirobira Y., *The mechanism of low-temperature tolerance in Fish*, [w:] Iwaya-Inoue M. (red.), *Survival strategies in extreme cold and desiccation, Advance in Experimental Medicine and Biology*, Springer Nature Singapore Pte Ltd, 2018, s. 149-164.
  33. Deng G., Andrews D.W., Laursen R.A., *Amino acid sequence of a new type of antifreeze protein, from the longhorn sculpin Myoxocephalus octodecimspinosus*, FEBS Letters, 402, 1997, s. 17-20.
  34. Deng G., Laursen R.A., *Isolation and characterization of an antifreeze protein from the longhorn sculpin, Myoxocephalus octodecimspinosus*, Biochimica et Biophysica Acta, 1388, 1998, s. 305-314.
  35. Vance T.D.R., Olijve L.L.C., Campbell R.L., Voets I.K., Davies P.L., Guo S., *Ca<sup>2+</sup>-stabilized adhesin helps an Antarctic bacterium reach out and bind ice*, Bioscience Report, 34, 2014, s. 357-368.
  36. Barrett J., *Thermal hysteresis proteins*, International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 33, 2001, s. 105-117.
  37. Davies P.L., Hew C.L., Fletcher G.L., *Fish antifreeze proteins: physiology and evolutionary biology*, Canadian Journal of Zoology, 66, 1988, s. 2611-2617.
  38. Duncker B.P., Koops M.D., Walker V.K., Davies P.L., *Low temperature persistence of type I antifreeze protein is mediated by cold-specific mRNA stability*, FEBS Letters, 377 (2), 1995, s. 185-188.
  39. Gong Z.Y., King M.J., Fletcher G.L., Hew C.L., *The Antifreeze Protein Genes of the Winter Flounder, Pleuronectes americanus, Are Differentially Regulated in Liver and Nonliver Tissues*, Biochemical and Biophysical Research Communications, 206 (1), 1995, s. 387-392.
  40. Cheng C.H., Cziko P.A., Evans C.W., *Nonhepatic origin of notothenioid antifreeze reveals pancreatic synthesis as common mechanism in polar fish freezing avoidance*, Proceedings of the National Academy of Sciences U S A, 103, 2006, s. 10491-10496.
  41. Kitagawa Y., Ogawa M., Fukuchi M., *On the kidney of the saffron cod, Eleginus gracilis and its cold adaptation*, Proceedings of the NIPR Symposium on Polar Biology, 3, 1990, s. 71-75.
  42. Eastman J.T., DeVries A.L., *Renal glomerular evolution in Antarctic notothenioid fishes*, Journal of Fish Biology, 29, 1986, s. 649-662.
  43. Hew C.L., Fletcher G.L., *The role of pituitary in regulating antifreeze protein synthesis in the winter flounder*, FEBS Letters, 99, 1979, s. 337-339.
  44. Deane E.E., Woo N.Y.S., *Modulation of fish growth hormone levels by salinity, temperature, pollutants and aquaculture related stress: a review*, Review in Fish Biology and Fisheries, 19, 2009, s. 97-120.
  45. Idler D.R., Fletcher G.L., Belkhole S., King M.J., Hwang S.J., *Regulation of antifreeze protein production in winter flounder: a unique function of growth hormone*, General and Comparative Endocrinology, 74, 1989, s. 327-334.
  46. Fletcher G.L., Idler D.R., Vaisius A., Hew C.L., *Hormonal regulation of antifreeze protein gene expression in winter flounder*, Fish Physiology and Biochemistry, 7, 1989, s. 387-393.



47. Boyd R.B., DeVries A.L., *The seasonal distribution of anionic binding sites in the basement membrane of the kidney glomerulus of the winter flounder Pseudopleuronectes americanus*, Cell Tissue Research, 234, 1983, s. 271-277.
48. Gauthier S.Y., Scotter A.J., Lin F.H., Baardsnes J., Fletcher G.L., Davies P.L., *A re-evaluation of the role of type IV antifreeze protein*, Cryobiology, 57, 2008, s. 292-296.
49. Donaldson M.R., Cooke S.J., Patterson D.A., Macdonald J.S., *Review paper, cold shock and fish*, Journal of Fish Biology, 73, 2008, s. 1491-1530.
50. Barton B.A., *Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids*, Integrative and Comparative Biology, 42, 2002, s. 517-525.
51. Chen W.H., Sun L.T., Tsai C.L., Song Y.L., Chang C.F., *Cold-stress induced the modulation of catecholamines, cortisol, immunoglobulin M, and leukocyte phagocytosis in tilapia*, General and Comparative Endocrinology, 126, 2002, s. 90-100.
52. Bar Dolev M., Braslavsky I., Davies P.L., *Ice-Binding Proteins and Their Function*, Annual Review of Biochemistry, 85, 2016, s. 515-542.
53. Chasnitsky M., Braslavsky I., *Ice-binding proteins and the applicability and limitations of the kinetic pinning model*, Philosophical Transaction A, 377, 2019, 20180391.
54. Kawahara H., *Cryoprotectants and ice-binding proteins*, [w:] Margesin R., Schinner F., Marx J.C., Gerday C. (red.), *Psychrophiles: From Biodiversity to Biotechnology*, Springer, Berlin, Germany, 2008, s. 229-246.
55. Lukas M., Schwidetzky R., Eufemio R.J., Bonn M., Meister K., *Toward Understanding Bacterial Ice Nucleation*, Journal of Physical Chemistry B, 126, 2022, s. 1861-1867.
56. Li Q., Yan Q., Chen J., He Y., Wang J., Zhang H., Yu Z., Li L., *Molecular characterization of an ice nucleation protein variant (InaQ) from Pseudomonas syringae and the analysis of its transmembrane transport activity in Escherichia coli*, International Journal of Biological Science, 8, 2012, s. 1097-1108.
57. Kanji Z.A., Ladino L.A., Wex H., Boose Y., Burkert-Kohn M., Cziczko D.J., *Overview of ice nucleating particles*, Meteorological Monographs, 58, 2017, s. 1.1-1.33.
58. Hartmann S., Ling M., Dreyer L.S.A., Zipori A., Finster K., Grawe S., Jensen L.Z., Borck S., Reicher N., Drace T., Niedermeier D., Jones N.C., Hoffmann S.V., Wex H., Rudich Y., Boesen T., Šantl-Temkiv T., *Structure and Protein-Protein Interactions of Ice Nucleation Proteins Drive Their Activity*, Frontiers in Microbiology, 13, 2022, 872306.
59. Budke C., Koop T., *BINARY: An optical freezing array for assessing temperature and time dependence of heterogeneous ice nucleation*, Atmospheric Measurement Techniques, 8, 2015, s. 689-703.
60. Goldstein J, Pollitt N.S., Inouye M., *Major cold shock protein of Escherichia coli*, Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 87, 1990, s. 283-287.
61. Lee S. J., Xie A., Jiang W., Etchegaray J. P., Jones P. G., Inouye M., *Family of the major cold-shock protein, CspA (CS7.4), of Escherichia coli, whose members show a high sequence similarity with the eukaryotic Y-box binding proteins*, Molecular Microbiology, 11, 1994, s. 833-839.
62. Phadtare S., Alsina J., Inouye M., *Cold-shock response and cold-shock proteins*, Current Opinion in Microbiology, 2(2), 1999, s. 175-180.
63. Dziugan P., *Adaptacja niskotemperaturowa mikroorganizmów*, Chłodnictwo XLI, nr 11, 2006, s. 54-59.
64. Thieringer H.A., Jones P.G., Inouye M., *Cold shock and adaptation*, BioEssays, 20, 1998, s. 49-57.
65. Heinemann U., Roske Y., *Cold-Shock Domains-Abundance, Structure, Properties, and Nucleic-Acid Binding*, Cancers, 13, 2021, 190.
66. Keto-Timonen R., Hietala N., Palonen E., Hakakorpi A., Lindström M., Korkeala H., *Cold Shock Proteins: A Mini review with Special Emphasis on Csp-family of Enteropathogenic Yersinia*, Frontiers in Microbiology, 7, 2016, 1151.

67. Graumann P.L., Marahiel M.A., *Some like it cold: response of microorganisms to cold shock*, Archives of Microbiology, 166, 1996, s. 293-300.
68. Hudson W., Ortlund E.A., *The structure, function and evolution of proteins that bind DNA and RNA*, Nature Reviews Molecular Cell Biology, 15, 2014, s. 749-760.
69. Ermolenko D.N., Makhatadze G.I., *Bacterial cold-shock proteins*, Cellular and Molecular Life Science, 59, 2002, s. 1902-1913.
70. Horn G., Hofweber R., Kremer W., Kalbitzer H.R., *Structure and function of bacterial cold shock proteins*, Cellular and Molecular Life Sciences, 64, 2007, s. 1457-1470.
71. Budkina K.S., Zlobin N.E., Kononova S.V., Ovchinnikov L.P., Babakov A.V., *Cold shock domain proteins: structure and interaction with nucleic acids*, Biochemistry (Moscow), 85(1), 2020, s. 1-19.
72. Chaikam V., Karlson D., T. *Comparison of structure, function and regulation of plant cold shock domain proteins to bacterial and Animal cold shock*. BMB Reports, 43(1), 2010, s. 1-8.
73. Kaufman A., Turkiewicz M., *Białka szoku zimna mikroorganizmów*, Postępy Biochemii 50(1), 2004, s. 32-44.
74. Thieringer H.A., Singh K., Trivedi H., Inouye M., *Identification and developmental characterization of a novel Y-box protein from Drosophila melanogaster*, Nucleic Acids Research, 25(23), 1997, s. 4764-4770.
75. Etchegaray J.P., Jones P. G., Inouye M., *Differential thermoregulation of two highly homologous cold-shock genes, cspA and cspB, of Escherichia coli*, Genes Cells, 1, 1996, s. 171-178.
76. Behl A. A., Kumar V., Shevtsov M., Singh S., *Pleiotropic roles of cold shock proteins with special emphasis on unexplored cold shock protein member of Plasmodium falciparum*, Malaria Journal, 19(382), 2020, s.1-14.
77. Falsone S.F., Weichel M., Cramer R., Breitenbach M., Kungl A.J., *Unfolding and Double-stranded DNA Binding of the Cold Shock Protein Homologue Cla h 8 from Cladosporium herbarum*, Journal of Biological Chemistry, 277(19), 2002, s. 16512-16516.
78. Sasaki K., Imai R., *Pleiotropic roles of cold shock domain proteins in plants*, Frontiers in Plant Science, 2(116), 2012, s. 1-6.
79. Wolffe A.P., *Structural and functional properties of the evolutionarily ancient Y-box family of nucleic acid binding proteins*, Bioessays, 16, 1994, s. 245-251.
80. Graumann P.L., Marahiel M.A., *A super family of proteins that contain the cold-shock domain*, Trends in Biochemical Sciences, 23, 1998, s. 286-290.
81. Evdokimova V.M., Ovchinnikov L.P., *Translational regulation by Y-box transcription factor: involvement of the major mRNA-associated protein, p50*, International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 31, 1999, s. 139-149.
82. Kohno K., Izumi H., Uchiumi T., Ashizuka M., Kuwano M., *The pleiotropic functions of the Y-box-binding protein, YB-1*, Bioessays, 25, 2003, s. 691-698.
83. Matsumoto K., Tanaka K.J., Tsujimoto M., *An acidic protein, YBAP1, mediates the release of YB-1 from mRNA and relieves the translational repression activity of YB-1*, Molecular Cell Biology, 25, 2005, s. 1779-1792.
84. Ladomery M., Sommerville J., *A role for Y-box proteins in cell proliferation*, Bioessays, 17, 1995, s. 9-11.
85. Moss E.G., Lee R.C., Ambros V., *The cold shock domain protein LIN-28 controls developmental timing in C. elegans and is regulated by the lin-4 RNA*, Cell, 88, 1997, s. 637-646.
86. Poleskaya A., Cuvellier S., Naguibneva I., Duquet A., Moss E.G., Harel-Bellan A., *Lin-28 binds IGF-2 mRNA and participates in skeletal myogenesis by increasing translation efficiency*, Genes and Development, 21, 2007, s. 1125-1138.

87. Yu J., Vodyanik M.A., Smuga-Otto K., Antosiewicz-Bourget J., Frane J.L., Tian S., Nie J., Jonsdottir G.A., Ruotti V., Stewart R., Slukvin II, Thomson J.A., *Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells*, Science, 318, 2007, s. 1917-1920.
88. Liao J., Wu Z., Wang Y., Cheng L., Cui C., Gao Y., Chen T., Rao L., Chen S., Jia N., Dai H., Xin S., Kang J., Pei G., Xiao L., *Enhance deficiency of generating induced pluripotent stem (iPS) cells from human somatic cells by a combination of six transcription factors*, Cell Research, 18, 2008, s. 600-603.
89. Roush S., Slack F.J., *The let- 7 family of microRNAs*, Trends in Cell Biology, 18, 2008, s. 505-516.
90. Viswanathan S.R., Daley G.Q., Gregory R.I., *Selective blockade of microRNA processing by Lin28*, Science, 320, 2008, s. 97-100.
91. Lindquist J.A., Brandt S., Bernhardt A., Zhu C., Mertens P.R., *The role of cold shock domain proteins in inflammatory diseases*, Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany), 92(3), 2014, s. 207-216.

## Adaptacja do zimna: białka histerezy termicznej i białka stresowe

### Streszczenie

Zmiany temperatury są jednym z najczęstszych stresów abiotycznych, z jakimi borykają się organizmy żywe. Jednak te, które w swoim naturalnym środowisku doświadczają znacznych zmian temperatury otoczenia, są wyposażone w mechanizmy komórkowe umożliwiające reagowanie i adaptację do tych zmian. Ponieważ woda w stanie ciekłym jest niezbędna do wszystkich procesów życiowych, muszą one albo unikać zamrażania płynów ustrojowych w wyniku przechłodzenia, albo być w stanie przeżyć tworzenie się lodu w płynach ustrojowych. Płyny ustrojowe ryb wód polarnych, a także licznych owadów nie zamarzają, mimo iż temperatura otoczenia spada poniżej zera. Jest to możliwe dzięki obecności białek histerezy termicznej (THPs), których rolą jest utrzymanie różnicy między temperaturą zamarzania i topnienia płynów ustrojowych i hamowanie wzrostu kryształów lodu. Dobrze poznaną odpowiedzią komórkową, na spadek temperatury, zarówno u organizmów prokariotycznych, jak i eukariotycznych jest synteza wysoce konserwatywnych białek znanych jako białka szoku zimna (CSPs). Ta specyficzna reakcja jest wspólna dla wszystkich organizmów, od bakterii po ssaki. Białka szoku zimna to rodzina białek o funkcjach plejotropowych, takich jak regulacja transkrypcji, translacji i splicingu. Adaptacja do stresu środowiskowego ma zasadnicze znaczenie dla przetrwania, ponieważ drastyczne zmiany temperatury otoczenia oraz zmiany osmotyczne, są śmiertelne.

Słowa kluczowe: adaptacja do zimna, białka histerezy termicznej, białka szoku zimna

## Adaptation to cold: thermal hysteresis proteins and stress proteins

### Abstract

Changes in temperature are one of the most common abiotic stress factors faced by all living organisms. However, organisms, which encounter significant changes in ambient temperatures in their natural habitats are equipped with cellular mechanisms to respond and adapt to these changes. Because liquid water is necessary for all life processes, they must either avoid freezing their body fluids, as a result of supercooling or be able to endure ice formation in their body fluids. In some fishes and insects body fluids does not freeze even if the ambient temperature drop below zero Celsius degrees. This is possible due to the presence of thermal hysteresis proteins (THPs), which role is to maintain the difference between the temperature of freezing and melting points of body fluids and inhibition of ice crystal growth. A well-known cellular response to temperature drop in both prokaryotes and eukaryotes is the synthesis of highly conserved proteins known as cold shock proteins (CSPs). This specific reaction is common to all organisms, from bacteria to mammals. Cold shock proteins are a family of proteins with pleiotropic functions, such as regulation of transcription, translation, and splicing. Adaptation to environmental stress is essential for survival since drastic changes in ambient temperature and osmotic shocks are lethal for many organisms.

Keywords: adaptation to cold, thermal hysteresis proteins, cold shock proteins

## Indeks Autorów

Barteczka M. ....	140	Milewski S. ....	73, 85
Chwałek W. ....	31	Moczulska M. ....	73, 85
Cwalińska W. ....	189	Natonek-Wiśniewska M. ....	102, 231
Czajkowska J. ....	211	Nowakowska A. ....	113, 239
Fabjanowska J. ....	73, 85	Ogrodnik A. ....	204
Gałęska E. ....	31	Orłowska A. ....	166
Hanzal V. ....	211	Panasiuk-Flak K. ....	7
Idczak P.A. ....	113	Parszewska S. ....	151
Jaksender M. ....	182	Pastuszek J. ....	49
Joya N. ....	64	Piestrzyńska-Kajtoch A. ....	102
Kaleta K. ....	151	Podbielska K. ....	166
Kaliszyk K. ....	175	Prusak A. ....	140
Kiczorowska B. ....	73, 85	Pustuła K. ....	189
Klebaniuk R. ....	73, 85	Sadowska J. ....	15
Klimas A. ....	204	Samolińska W. ....	73, 85
Koseniuk A. ....	102	Schwenzer B. ....	130
Kowal R. ....	41	Siedlecka K. ....	7
Kożuszek R. ....	224	Sowa K. ....	49
Kraśńska K. ....	130	Stokłosińska K. ....	195
Krzyścin P. ....	231	Sykuła J. ....	175
Kurpas K. ....	182	Świdarska E. ....	224
Lewikowski K. ....	7	Wilk M. ....	41, 49, 64
Listos P. ....	7	Wojtaś J. ..	130, 140, 151, 166, 175, 182, 189, 204
Łukomska A. ....	56		