

*Nauka nie jedno ma imię...*

**TOM I**



Wydawnictwa Uczelniane  
Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego  
w Bydgoszczy

*Nauka nie jedno ma imię...*

**TOM I**



Wydawnictwa Uczelniane  
Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego  
w Bydgoszczy

## OPINIODAWCY

prof. dr hab. Andrzej Bereszyński  
dr hab. Krzysztof Frączek  
dr hab. inż. Magdalena Gantner  
dr hab. n. med. Grzegorz Grzešek, prof. UMK  
prof. dr hab. Piotr Guliński  
prof. dr hab. Zbigniew Jaworski, prof. zw.  
dr hab. n. med. Grażyna Jurkowska, prof. UM  
dr hab. Elżbieta Karska, prof. UKSW  
prof. zw. dr hab. Elżbieta Kalisińska  
dr n. o zdr. inż. Jerzy Kasprzak  
prof. dr hab. Alicja Kosakowska  
dr hab. Danuta Kozak, prof. nadzw. UP  
prof. dr hab. Stefan Kruszewski  
prof. dr hab. Andrzej Myczko  
dr hab. Arkadiusz Pietruszka  
dr hab. Wiesław Szulc, prof. SGGW  
prof. dr hab. Czesław Rzekanowski, prof. zw. UTP

Opracowanie redakcyjne i techniczne  
mgr Aleksandra Górską, mgr Dorota Ślachciak, mgr inż. Tomasz Szałajda

Projekt okładki  
mgr inż. Sebastian Sendel

Projekt logo  
mgr inż. Andrzej Filipiak, mgr inż. Sebastian Sendel

© Copyright  
Wydawnictwa Uczelniane Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego  
Bydgoszcz 2014

Utwór w całości ani we fragmentach nie może być powielany ani rozpowszechniany za pomocą urządzeń elektronicznych, mechanicznych, kopiujących, nagrywających i innych bez pisemnej zgody posiadacza praw autorskich.

ISBN 978-83-64235-22-1

Wydawnictwa Uczelniane Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego  
Redaktor Naczelny  
prof. dr hab. inż. Józef Flizikowski  
ul. Ks. A. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz, tel. 52 3749482, 52 3749426  
e-mail: [wydawucz@utp.edu.pl](mailto:wydawucz@utp.edu.pl) <http://www.wu.utp.edu.pl>

---

Wyd. I. Nakład 70 egz. Ark. aut. 11,5. Ark. druk. 11,5.  
Zakład Małej Poligrafii UTP Bydgoszcz, ul. ks. A. Kordeckiego 20

## Spis treści

|                                                                                                                                         |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Mateusz Borkowski                                                                                                                       |     |
| Optyczne rezonanse Feshbacha w zderzeniach ultrazimnych atomów iterbu .....                                                             | 5   |
| Aleksandra Brochocka, Hanna Szczukowska                                                                                                 |     |
| Występowanie pasożytów jelitowych człowieka na terenie<br>województwa kujawsko-pomorskiego w latach 2001-2008 .....                     | 15  |
| Alicja Czajkowska, Dariusz Piwczyński                                                                                                   |     |
| Wybrane zagadnienia dotyczące rozrodu bydła .....                                                                                       | 25  |
| Joanna Dróždź-Afelt, Karolina Bombolewska, Piotr Kamiński,<br>Maria Bogdzińska, Roman Makarewicz, Andrzej Lebioda                       |     |
| Genetyczne i środowiskowe uwarunkowania nowotworu szyjki macicy<br>– projekt badawczy .....                                             | 35  |
| Andrzej Wojciech Filipiak                                                                                                               |     |
| Preparaty mikroorganizmów efektywnych (EM) .....                                                                                        | 43  |
| Jarosław Kowalski                                                                                                                       |     |
| Biologia i ekologia bobra europejskiego <i>Castor fiber</i> L. ....                                                                     | 53  |
| Dariusz Kulus                                                                                                                           |     |
| Zastosowanie kultur tkankowych w mikrorozmnażaniu chryzantem .....                                                                      | 63  |
| Ariel Liebert, Maria Kłopocka                                                                                                           |     |
| Nowe spojrzenie na marker nowotworowy CA-125 .....                                                                                      | 73  |
| Joanna Marć-Pieńkowska, Paulina Topolińska, Katarzyna Mitura,<br>Jan Mikołajczak                                                        |     |
| Wstępne badania wpływu bliskości siłowni wiatrowych<br>na zwierzęta gospodarskie i ich produkcyjność .....                              | 81  |
| Katarzyna Mitura, Karolina Lipińska, Joanna Marć-Pieńkowska,<br>Paulina Topolińska, Ewa Spychaj-Fabisiak                                |     |
| Biostymulatory jako preparaty wspomagające uprawę roślin .....                                                                          | 91  |
| Wojciech Pawłowicz, Piotr Kaczorowski                                                                                                   |     |
| Biologiczny model aktywności ruchowej nabłonka –<br>metodyka i zastosowanie .....                                                       | 101 |
| Adam Piasecki                                                                                                                           |     |
| Analiza zmian liczby i powierzchni oczek wodnych w zlewni rzeki Mieni .....                                                             | 111 |
| Adam Piasecki                                                                                                                           |     |
| Różnicowanie poziomu rozwoju infrastruktury wodno-kanalizacyjnej<br>gmin powiatów mogileńskiego i żnińskiego .....                      | 119 |
| Monika Próbka                                                                                                                           |     |
| Rozkład ciężaru dowodu w tzw. sprawach czeczeńskich na podstawie<br>wybranego orzecznictwa Europejskiego Trybunału Praw Człowieka ..... | 127 |



|                                                                                                                  |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Sebastian Sendel, Dariusz Piesik                                                                                 |     |
| Związki lotne a porozumiewanie się roślin z otoczeniem .....                                                     | 137 |
| Sylvia Śliwińska, Adam Latała                                                                                    |     |
| Wpływ intensywności światła na wzajemne oddziaływanie allelopacyjne<br>wybranych gatunków bałtyckich sinic ..... | 145 |
| Paulina Topolińska, Joanna Marć-Pieńkowska, Katarzyna Mitura                                                     |     |
| Efektywność wybranych substratów w produkcji biogazu rolniczego .....                                            | 157 |
| Anna Wilkanowska, Artur Mazurowski, Anna Frieske                                                                 |     |
| Metody poprawy jakości mięsa uzyskiwanego od różnych gatunków<br>zwierząt gospodarskich .....                    | 167 |
| Urszula Żurek, Janusz Danek                                                                                      |     |
| Wczesne oswojanie koni – założenia, korzyści i wątpliwości .....                                                 | 177 |

# OPTYCZNE REZONANSE FESHBACHA W ZDERZENIACH ULTRAZIMNYCH ATOMÓW ITERBU

Mateusz Borkowski<sup>1</sup>

## 1. WPROWADZENIE

Pojawienie się technik laserowego chłodzenia i pułapkowania atomów wywarło wielki wpływ na współczesną fizykę [Philips i in. 1985, Lett i in. 1989, Weiss i in. 1989, Metcalf i in. 2003]. Ultrazimne atomy umożliwiają badania podstawowe z dziedzin takich, jak podstawy fizyki kwantowej, fizyka molekularna (zimne molekuly), jak również z zakresu fizyki ciała stałego (sieć optyczna jako model kryształu). Badania oddziaływań międzyatomowych w ultrazimnych gazach również stały się ważną dziedziną. W pracy opisano badania nad oddziaływaniami atomów iterbu oraz iterbu z rubidem.

Warto uzmysłowić sobie skale temperaturowe występujące w fizyce zimnych atomów. Temperatura w słoneczny dzień to ok. 300 K i w takiej, co do rzędu wielkości, temperaturze żyjemy. Dla porównania, temperatura wrzenia azotu to 77 K (-194 stopnie Celsjusza), a helu to już 4 K. Niższe temperatury uzyskuje się w wiązkach atomowych (rzędu dziesiątek milikelwinów, czyli tysięcznych części kelwina). Uzyskanie niższych temperatur gazu atomowego jest możliwe za pomocą technik chłodzenia laserowego. Tzw. chłodzenie dopplerowskie wykorzystuje ciśnienie światła do spowalniania atomu poruszającego się w kierunku źródła wiązki laserowej. Ponieważ szerokości atomowych linii widmowych są małe, laser można tak dostroić, by ten spowalniał tylko szybko poruszające się atomy. Jeżeli zastosuje się sześć takich wiązek, po dwie przeciwbieżne wiązki na każdy wymiar, można uzyskać spowalnianie, a więc chłodzenie atomów za pomocą światła. Taki układ nazywa się melasą optyczną, zaś proces – chłodzeniem dopplerowskim. Ten sposób chłodzenia umożliwia zejście z temperaturą, w zależności od wybranego atomu i linii widmowej, do poziomu od kilku milikelwinów (np. na linii  $^1S_0$ - $^1P_1$  wapnia lub strontu) do nawet kilku mikrokkelwinów (np. interkombinacyjna linia  $^1S_0$ - $^3P_1$  strontu). Dalsze obniżenie temperatury jest możliwe w pułapkach optycznych lub magnetycznych. Te pierwsze wykorzystują tzw. siłę dipolową, która sprawia, że atomy są przyciągane (lub odpychane, zależnie od odstrojenia) do silnie skupionych wiązek laserowych. Pułapki magnetyczne wykorzystują naturalny magnetyczny moment dipolowy atomu do tego, by utrzymać go blisko minimum pola magnetycznego wytwarzanego przez tzw. cewki anty-helmholtzowskie. Jeżeli spułapkuje się atomy, istnieje możliwość przeprowadzenia chłodzenia przez odparowanie. W procesie takim najgorętsze (relatywnie) atomy z próbki powoli usuwa się poprzez zmniejszanie głębokości pułapki. Dzięki termalizacji, czyli wyrównywaniu się temperatury w gazie atomowym wskutek zderzeń międzyatomowych, temperatura całej próbki się obniża. O ile termalizacja zachodzi odpowiednio szybko, można uzyskać szybki spadek temperatury przy relatywnie powolnym spadku liczby atomów próbki i zejście do poziomu kilkudziesięciu nanokelwinów, a więc kilkudziesięciu miliardowych części stopnia Celsjusza od zera absolutnego.

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Instytut Fizyki, ul. Grudziądzka 5, 87-100 Toruń,  
e-mail: mateusz@fizyka.umk.pl

Opisane wyżej techniki umożliwiły w 1995 roku uzyskanie świętego Graala fizyki współczesnej, tj. kondensatu Bosego-Einsteina (BEC) [Anderson i in. 1995, Davis i in. 1995]. Kondensat Bosego-Einsteina to taki stan skupienia materii, w którym ruch atomów staje się całkowicie kwantowy. Możliwe np. jest zaobserwowanie nadciekłości (podobnie jak w helu poniżej punktu lambda), jak i efektów falowych, np. interferencji dwóch chmur kondensatu, czy nawet tzw. mieszania czterech fal.

W pracy opisano wyniki badań nad oddziaływaniami ultrazimnych atomów iterbu. Badanie oddziaływań międzyatomowych, poza tym, że jest interesującym celem samym w sobie, jest także niezwykle ważne dla eksperymentów z ultrazimnymi atomami czy BEC. Podstawową wielkością pozwalającą opisać efektywne oddziaływania pomiędzy cząstkami w granicy małych energii zderzenia jest tzw. długość rozpraszania w fali  $s$  [Jones i in. 2006]. Jeżeli przypisać radialnemu ruchowi względemu funkcję falową, to można zauważyć, że na dużych odległościach międzyatomowych jest to sinusoida o zależnej od względnego pędu długości fali. Na krótkich odległościach zachowanie się tej funkcji falowej jest skomplikowane i zależne od potencjału molekularnego opisującego oddziaływanie międzyatomowe. W granicy małych energii (odpowiadających temperaturze gazu poniżej ok. 1 mikrokelwina) wpływ tego potencjału można zredukować do przesunięcia dalekozasięgowej funkcji falowej o stałą wartość – wyżej wymienioną długość rozpraszania. Przesunięcie do przodu odpowiada efektywnemu odpychaniu się atomów i dodatniej długości rozpraszania. Ujemna wartość z kolei oznacza „cofnięcie” funkcji falowej do wewnątrz i efektywne przyciąganie się atomów.

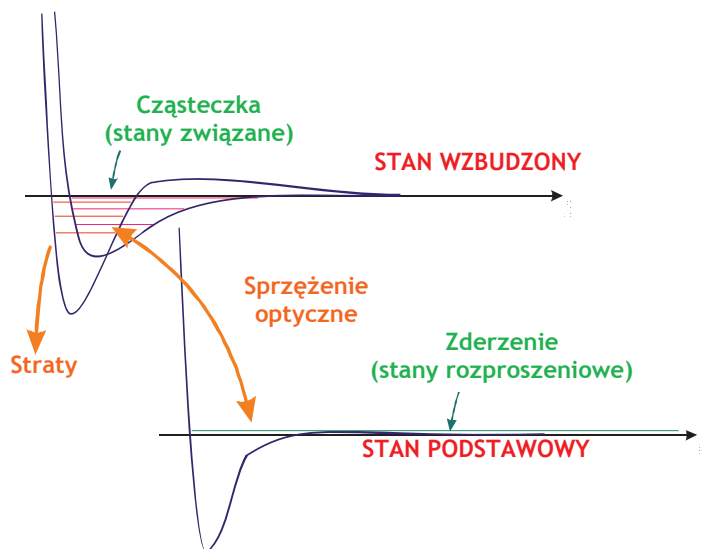
Długość rozpraszania jest integralną częścią tzw. równania Grossa-Pitaevskiego opisującego dynamikę kondensatu Bosego-Einsteina [Dalfovo i in. 1999]. Konsekwencje oddziaływań w kondensacie stały się przedmiotem wielu badań między innymi z zakresu fizyki nieliniowej. Przede wszystkim jednak długość rozpraszania determinuje w ogóle możliwość uzyskania BEC. Dodatnia długość rozpraszania sprawia, że atomy efektywnie odpychają się i równoważą się ze „zgniatającym” potencjałem pułapkującym kondensat. Taki kondensat jest stabilny praktycznie niezależnie od liczby atomów w kondensacie i ma to miejsce w przypadku BEC atomów rubidu-87 i iterbu-174. Sytuacja odwrotna – ujemna długość rozpraszania – oznacza kondensat niestabilny. Jeżeli długość rozpraszania jest silnie ujemna, kondensat spontanicznie się zapada. Przykładem takiej sytuacji są atomy iterbu-172. Możliwe jest jednak uzyskanie kondensatu przy małej ujemnej długości rozpraszania, lecz dla ograniczonej liczby atomów. Ma to miejsce w przypadku atomów litu-7 i iterbu-176.

## 2. SPEKTROSKOPIA FOTOASOCJACYJNA ULTRAZIMNYCH ATOMÓW ITERBU

Iterb jest atomem z grupy tzw. ziem rzadkich i ma dwa elektrony walencyjne. Sprawa to, że pod względem spektroskopowym jest on podobny do atomów pierwiastków grupy II, takich jak wapń i stront. Jego stanem podstawowym jest niemagnetyczny stan  $^1S_0$ . Cecha ta odróżnia te atomy od atomów alkalicznych, sprawia, że są one niewrażliwe na pole magnetyczne (np. ziemskie), z drugiej strony sprawia też, że nie jest możliwe magnetyczne pułapkowanie ich w stanie podstawowym. Iterb ma silną linię  $^1S_0-^1P_1$ , która może służyć np. do spowalniania zeemanowskiego i obrazowania optycznego. Ponadto, poniżej stanu  $^1P_1$  znajdują się stany trypletowe – metastabilne  $^3P_0$  i  $^3P_2$ , oraz relatywnie krótko żyjący (869 ns)  $^3P_1$ . Linia interkombinacyjna  $^1S_0-^3P_1$  jest na tyle szeroka (181 kHz), że możliwe jest zbudowanie z jej wykorzystaniem pułapki magneto-optycznej. Z drugiej

strony jest ona też na tyle wąska, że umożliwia spektroskopię fotoasocjacyjną o wysokiej (w stosunku do fotoasocjacji atomów alkalicznych) rozdzielczości.

Fotoasocjacja (rys. 1) to proces, w którym dwa zderzające się atomy łączą się we wzbudzoną cząsteczkę pod wpływem światła laserowego. Jest to proces rezonansowy, ma miejsce wtedy, gdy energia fotonu odpowiada różnicy energii kinetycznej zderzających się atomów i energii molekularnego stanu związanego w stanie wzbudzonym. W efekcie możliwy jest niemal bezpośredni (z dokładnością do kształtu linii) pomiar energii stanów związanych cząsteczki względem granicy dysocjacji. Obserwacja linii fotoasocjacyjnych jest możliwa ze względu na krótki w porównaniu z czasem trwania eksperymentu czas życia wzbudzonej molekuly. Z powodu emisji spontanicznej molekula rozpada się, a atomy tworzące je uzyskują znaczną energię kinetyczną i tracą ją z pułapki. Część ze wzbudzonych molekul może zostać przekonwertowana na cząsteczki w stanie podstawowym, jeżeli wypromieniowany foton ma większą energię niż ten pochłonięty w procesie fotoasocjacji. Pomiar liczby atomów w pułapce po naświetleniu ich laserem próbkującym pozwala znaleźć linie fotoasocjacyjne odpowiadające stanom związanym cząsteczki wzbudzonej.



Rys. 1. Schemat działania spektroskopii fotoasocjacyjnej (objaśnienia w tekście) [opracowanie własne]

Przy asymptocie  $^1S_0+^3P_1$  cząsteczki  $Yb_2$  znajdują się cztery stany molekularne: rzut elektronowego momentu pędu  $|\Omega|=0,1$  i dla każdego rzutu mamy stany o symetrii *gerade* i *ungerade*. Ponieważ stan podstawowy ma symetrię *gerade*, reguła Laporte'a ogranicza dostępne spektroskopowo stany molekularne do stanów  $0_u$  i  $1_u$ . Dotychczas eksperymentalnie fotoasocjacja atomów iterbu była przeprowadzana przez grupę prof. Y. Takahashiego [Tojo i in. 2006, Borkowski i in. 2009]. W tym eksperymencie laser próbkujący można było odstroić o nie więcej niż 2 GHz od atomowej linii interkombinacyjnej, a więc zbadać położenia stanów tylko 2 GHz od granicy dysocjacji. Na dużych odległościach międzyatomowych w stanie wzbudzonym dominuje rezonansowe oddziaływanie dipolowe typu  $C_3/R^3$ , które w stanie  $0_u$  jest przyciągające, lecz w stanie  $1_u$

jest odpychające, przez co stany przy granicy dysocjacji występują co ok. 25 GHz. W związku z tym w eksperymencie obserwowane były tylko stany związane wspierane przez potencjał  $0_u$ .

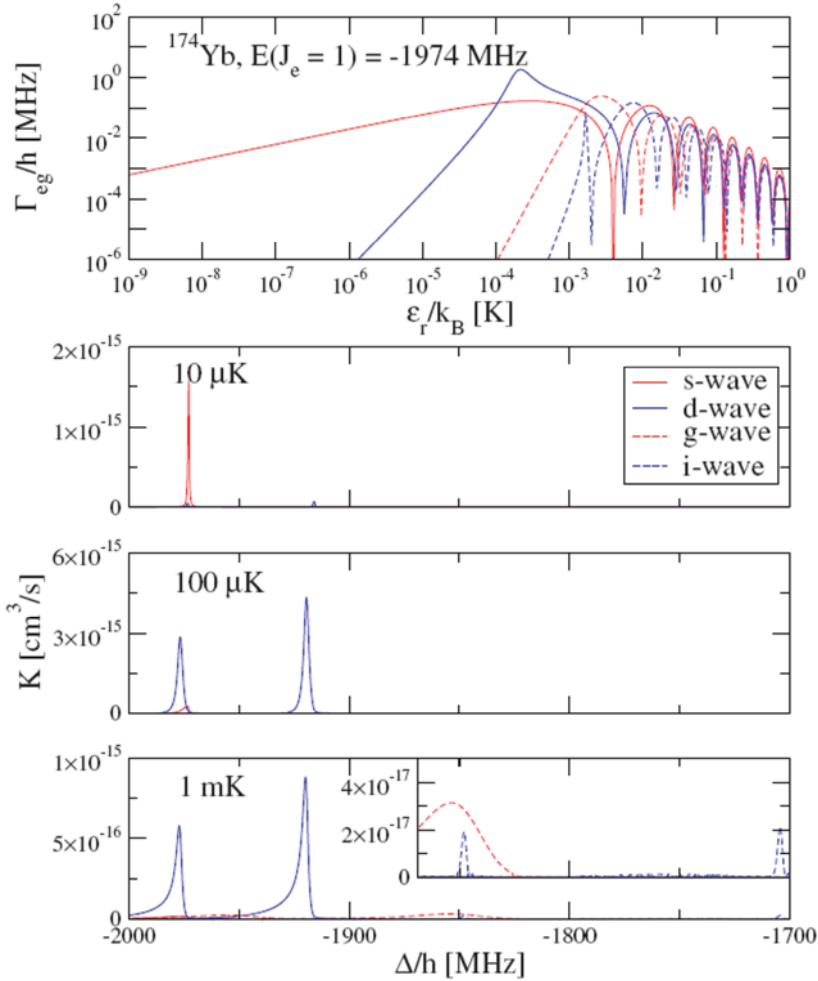
Zmierzonych zostało w sumie ok. 40 energii stanów związanych dla czterech izotopów iterbu i dla całkowitego momentu pędu  $J=1$  i  $J=3$ . Do opisu teoretycznego położenia stanów został przygotowany potencjał modelowy postaci  $V_0 = C_{12}/R^{12} - C_8/R^8 - C_6/R^6 - C_3/R^3$ . Pierwszy z wyrazów służy do ustalenia właściwej głębokości potencjału oraz liczby wspieranych przezeń stanów związanych. Parametry  $C_8$  i  $C_6$  to standardowe wyrazy van der Waalsa, zaś  $C_3$  opisuje wcześniej wspomniane oddziaływanie dipolowe. Parametry potencjału zostały dopasowane do danych doświadczalnych metodą najmniejszych kwadratów. Głębokość potencjału została tak dobrana, by umożliwiała używanie tego samego potencjału pomiędzy izotopami iterbu 174 i 176. Potencjał taki nazywany jest skalowanym masą. Jednocześnie okazuje się, że potencjał ten w sposób zadowalający opisuje większość energii stanów związanych również w przypadku izotopów 170 i 172.

Celem prac [Borkowski i in. 2009, Borkowski 2010] było zbadanie wpływu oddziaływań międzyatomowych na widma i kształty linii fotoasocjacyjnych. Natężenie linii fotoasocjacyjnej jest zależne od współczynnika Francka-Conдона pomiędzy funkcjami falowymi w stanie podstawowym i wzbudzonym. Pierwsza z nich zależy bardzo silnie od długości rozpraszania – w fali  $s$  długość rozpraszania wyznacza położenia węzłów funkcji falowej; w wyższych falach parcjalnych z kolei pojawiają się rezonanse kształtu. Z kolei funkcja falowa w stanie wzbudzonym ma silne maksimum przy zewnętrznym punkcie zwrotu. Oznacza to, że fotoasocjacja próbkuje rozproszeniową funkcję falową w punkcie zależnym od wybranego stanu związanego.

Na rysunku 2 (u góry) pokazana jest przykładowa zależność współczynnika Francka-Conдона od energii zderzenia dla wybranego stanu związanego w iterbie-174. Ten izotop iterbu ma rezonans kształtu w fali  $d$ , co objawia się silnym zdominowaniem spektrum fotoasocjacyjnego w tym izotopie przez wkład od tej fali parcjalnej. Staje się on szczególnie widoczny w temperaturach (rys. 2, u dołu) 100 mikrokelwinów i 1 mikrokelwina. W temperaturze 10 mikrokelwinów energia zderzenia jest zbyt mała, by trafić w rezonans kształtu i spektrum jest tworzone niemal wyłącznie przez wkład pochodzący od fali  $s$ . Dla porównania, iterb 172 ma dużą ujemną długość rozpraszania i rezonans kształtu dopiero w fali  $g$ , przez co widma fotoasocjacyjne w tym izotopie mają widma zdominowane przez linie pochodzące od tych dwóch fal parcjalnych.

### 3. HETERONUKLEARNE CZĄSTECZKI ITERBU

W pracy Borkowskiego i in. [2011] został opisany przypadek fotoasocjacji atomów iterbu dwóch różnych izotopów: zostały uzyskane zimne wzbudzone molekuly  $^{170}\text{Yb}^{174}\text{Yb}$  oraz  $^{174}\text{Yb}^{176}\text{Yb}$ . Dodatkową komplikacją w stosunku do opisanego wyżej przypadku homonuklearnego jest pojawienie się przesunięcia izotopowego stanu wzbudzonego – w zależności od izotopu inna jest energia stanu wzbudzonego. Ma to znaczące konsekwencje dla oddziaływań w takiej cząsteczce. Dotychczasowa asymptota  $^1S_0 + ^3P_1$  dzieli się na dwie, w zależności od tego, który atom jest wzbudzony. Zburzenie w ten sposób symetrii układu sprawia, że na dużych odległościach międzyatomowych nie można mówić o czystych stanach *gerade* i *ungerade*.



Rys. 2. Współczynniki Francka-Condon i widma fotoasocjacyjne w iterbie [opracowanie własne]

Na krótkich odległościach międzyatomowych oddziaływanie międzyatomowe jest znacznie silniejsze energetycznie od przesunięcia izotopowego, przez co symetria *gerade* i *ungerade* jest zachowana. W ten sposób można do opisu oddziaływania międzyatomowego wykorzystać wcześniejsze krzywe potencjalne wykorzystywane w przypadku homonuklearnym i dodać do hamiltonianu przesunięcie izotopowe, które *explicite* powoduje mieszanie pomiędzy stanami *gerade* i *ungerade*.

Tak zbudowany model pozwolił bez dodatkowych poprawek odtworzyć zmierzone w eksperymencie energie stanów związanych. Oprócz spodziewanych stanów związanych wspieranych przez potencjał  $0_u$ , zaobserwowane zostały także dwa stany pochodzące z przyciągającej krzywej  $1_g$ . W tym przypadku reguła Laporte'a jest częściowo zniesiona przez wspomniane mieszanie pomiędzy stanami *gerade* i *ungerade* wywołane efektem izotopowym. Ma to miejsce dla stanów blisko granicy dysocjacji, które mają

dużą część swojej funkcji falowej na dużych odległościach międzyatomowych. W szczególności dotyczy to stanów o energii wiązania mniejszej od wielkości efektu izotopowego, na przykład przesunięcie izotopowe dla pary  $^{174}\text{Yb}$ - $^{176}\text{Yb}$  ok. 954 MHz. Stany związane  $1_g$ , położone niżej, mogą być nieobserwowalne w eksperymencie, ich szerokości naturalne bardzo szybko maleją do zera.

#### 4. STANY PODPROMIENISTE (SUBRADIANTNE)

Wspomniana w poprzednich rozdziałach reguła Laporte'a zabrania przejść optycznych pomiędzy stanami o tej samej symetrii, tj. pomiędzy dwoma stanami *gerade* lub dwoma stanami *ungerade*. Jest ona jednak ściśle obowiązująca tylko w przybliżeniu dipolowym, które wymaga m.in. żeby wzbudzany układ był o wiele mniejszy niż długość fali światła. W pracy [Takasu i in. 2012] opisana jest fotoasocjacja bezpośrednia do stanów  $1_g$  w homonuklearnym iterbie. Eksperyment był prowadzony w kondensacie Bosego-Einsteina (w odróżnieniu od poprzednich wykonywanych w zwykłym gazie termicznym) znajdującym się w stanie tzw. izolatora Motta. W tym stanie gęstości atomowe są silnie zwiększone, dzięki czemu jest większe prawdopodobieństwo zajścia fotoasocjacji dwóch atomów.

Powodem, dla którego przejście takie może zajść, jest relatywnie duży rozmiar tworzonych cząsteczek. Wyobraźmy sobie, że fala elektromagnetyczna wytwarzana przez laser biegnie wzdłuż osi cząsteczki. Jeżeli odległość pomiędzy atomami jest duża, to pole elektryczne „odczuwane” przez atomy różni się w fazie. To przesunięcie fazy powoduje, że „łamana” jest reguła Laporte'a. Po uśrednieniu po wszystkich kierunkach okazuje się, że dla małych w porównaniu z długością fali lasera odległości międzyatomowych prawdopodobieństwo przejścia jest proporcjonalne do kwadratu tej odległości. W przypadku zmierzonych w tym eksperymencie stanów szerokości naturalne linii fotoasocjacyjnych są rzędu 200 Hz, co wynika z destruktywnej interferencji światła emitowanego przez atomy w cząsteczce. Dla porównania, ta sama szerokość w przypadku wcześniej opisywanych stanów  $0_u$  wynosi 362 kHz. W eksperymencie zostały zmierzone szerokości linii rzędu 100 kHz, ograniczone przede wszystkim przez szerokość spektralną samego lasera. Mimo to, szerokość ta jest mniejsza od szerokości naturalnej przejścia atomowego, co potwierdza, że zostały utworzone cząsteczki w stanie subradiantnym.

#### 5. DŁUGOŚCI ROZPRASZANIA W UKŁADZIE RUBID-ITERB

Dotychczas opisywane były badania dotyczące oddziaływań tylko atomów rubidu. Jednak we współpracy z grupą prof. A. Goerlitza z Uniwersytetu w Duesseldorfie przeprowadzona została także dwukolorowa spektroskopia fotoasocjacyjna w podwójnej pułapce zawierającej atomy iterbu i rubidu [Borkowski i in. 2013]. Rubid jest prawdopodobnie najpopularniejszym spośród atomów alkalicznych wykorzystywanych w fizyce zimnych atomów, przede wszystkim ze względu na dostępność tanich laserów diodowych pracujących na długościach fal odpowiadających przejściom optycznym w rubidzie.

Dwukolorowa spektroskopia fotoasocjacyjna polega na wykorzystaniu dwóch laserów do pomiaru energii stanów w stanie podstawowym cząsteczki dwuatomowej. Pierwszy laser ustawia się na znaną jednokolorową linię fotoasocjacyjną, tak by obserwować straty z pułapki. Drugi laser odstraja się od pierwszego w kierunku wyższych



częstości tak, by możliwe było sprzężenie wzbudzonego stanu związanego z poszukiwanym stanem związanym w stanie podstawowym. Jeżeli takie sprzężenie nastąpi, to wskutek tzw. zjawiska Autlera-Townesa zmniejszona zostanie szybkość tworzenia się molekuł w stanie wzbudzonym, a co za tym idzie, straty z pułapki. Oprócz tego następuje rozszczepienie linii fotoasocjacyjnej i tworzenie się tzw. dubletów Autlera-Townesa. W przypadku eksperymentu na Uniwersytecie w Duesseldorfie lasery próbujące pracowały w sposób ciągły w podwójnej pułapce magneto-optycznej dla atomów rubidu i iterbu. Obserwowana była fluorescencja atomów iterbu, która jest proporcjonalna do liczby samych atomów. Włączenie wiązek próbkujących powodowało zmniejszenie liczby atomów iterbu w pułapce, chyba że drugi spośród laserów trafił na stan związanych w stanie podstawowym cząsteczki  $\text{RbYb}$ . Energia stanu związanego w stanie podstawowym odpowiada odstrojeniu od siebie wiązek próbkujących.

Zmierzone w sumie 52 energie stanów związanych dla czterech izotopów iterbu: 170, 172, 174 i 176 parowanych z izotopem rubidu 87. Został przygotowany potencjał opisujący oddziaływanie pomiędzy atomem rubidu i atomem iterbu, w którym część krótkozasięgową została obliczona metodami *ab initio* i została w sposób gładki połączona z dalekozasięgowym potencjałem van der Waalsa typu  $-C_8/R^8 - C_6/R^6$ . Parametry potencjału dalekozasięgowego oraz głębokość części krótkozasięgowej dopasowano metodą najmniejszych kwadratów do danych doświadczalnych. Zbudowano w ten sposób 10 potencjałów o różnych głębokościach i różniących się liczbą wspieranych stanów związanych. Potencjałem, który najlepiej opisywał dane doświadczalne dla wszystkich zbadanych par izotopów (tzn. był najlepiej skalowany masą), był ten wspierający  $N=66$  stanów związanych.

Uzyskany potencjał następnie został wykorzystany to obliczenia długości rozpraszania dla wszystkich 14 możliwych par izotopów iterbu i rubidu. Zawierają one w sobie długości rozpraszania w całym zakresie od  $-\infty$  do  $+\infty$ . Wartości rezonansowe występują dla pary  $^{87}\text{Rb}^{173}\text{Yb}$  (silnie ujemna) oraz  $^{87}\text{Rb}^{174}\text{Yb}$  (bardzo duża i dodatnia). W przypadku drugiej pary jest ona odpowiedzialna za rozdzielenie chmur atomów rubidu i iterbu w pułapce. Z kolei para  $^{87}\text{Rb}^{170}\text{Yb}$  ma bardzo bliską zeru ujemną długość rozpraszania, co tłumaczy bardzo słabą termalizację w przypadku tej pary.

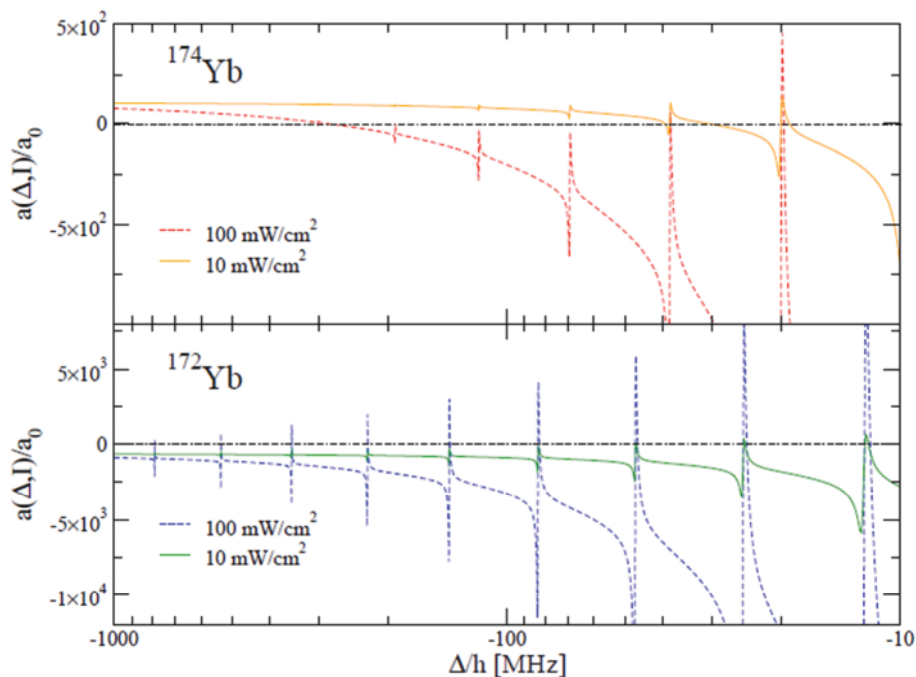
## 6. OPTYCZNA KONTROLA ODDZIAŁYWAŃ

Fotoasocjacja jest szczególnym przypadkiem szerszego zjawiska, jakim są optyczne rezonanse Feshbacha. Rezonanse Feshbacha ogólnie oznaczają dowolne sprzężenie pomiędzy stanem rozproszonym a stanem związanym, którego konsekwencją jest rezonansowa zmiana własności zderzenia. W przypadku optycznych rezonansów Feshbacha ustawienie lasera na rezonansie powoduje opisywaną wcześniej fotoasocjację. Jednak odstrojenie lasera powoduje zmniejszenie strat atomów z pułapki przy jednoczesnej zmianie długości rozpraszania. Zmiana ta jest proporcjonalna do natężenia światła, a w zależności od odstrojenia lasera może być dodatnia lub ujemna.

Rysunek 3 pokazuje prostą symulację teoretyczną długości rozpraszania w iterbie 172 oraz w iterbie 174 w funkcji odstrojenia lasera od przejścia atomowego  $^1\text{S}_0\text{-}^3\text{P}_1$ . Symulacja została wykonana w oparciu o modele oddziaływań w stanie podstawowym i wzbudzonym z wcześniejszych prac [Kitagawa i in. 2008, Borkowski i in. 2009]. Jak widać, w obydwu izotopach iterbu możliwa jest zmiana długości rozpraszania w szerokim zakresie (rzędu setek jednostek atomowych). W praktyce dotychczas w atomach o dwóch elektronach walencyjnych udało się tylko pokazać kontrolę oddziaływań



w iterbie i stroncie [Enomoto i in. 2008, Blatt i in. 2011], jednak jest to temat intensywnie badany, szczególnie w kontekście optycznej kontroli oddziaływań w kondensacie Bosego-Einsteina.



Rys. 3. Symulacja długości rozpraszania w funkcji odstrojenia lasera od linii atomowej [opracowanie własne]

## 7. PODSUMOWANIE

W pracy opisano badania nad optycznymi rezonansami Feshbacha w zderzeniach atomów iterbu, jak również pomiędzy atomami rubidu i iterbu. Oprócz standardowej spektroskopii fotoasocjacyjnej służącej do pomiaru oddziaływań we wzbudzonej cząsteczce iterbu przedstawiono przypadek heteronuklearny dwóch atomów iterbu różnych izotopów oraz fotoasocjację do długo żyjących stanów subradiannych dimera iterbu. Wskazano możliwości wykorzystania optycznych rezonansów Feshbacha do kontroli oddziaływań w gazie ultrazimnych atomów iterbu.

## LITERATURA

- Anderson M.H., Ensher J.R., Matthews M.R., Wieman C.R., Cornell E.A., 1995. Science 269, 198-201.
- Blatt S., Nicholson T.L., Bloom B.J., Williams J.R., Thomsen J.W., Julienne P.S., 2011. Physical Review Letters 107, 073202.
- Borkowski M., 2010. Praca magisterska, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu.

- Borkowski M., Ciuryło R., Julianne P.S., Tojo S., Enomoto K., Takahashi Y., 2009. *Physical Review A* 80, 012715.
- Borkowski M., Ciuryło R., Julianne P.S., Yamazaki R., Hara H., Enomoto K., Taie S., Sugawa S., Takasu Y., Takahashi Y., 2011. *Physical Review A* 84, 030702(R).
- Borkowski M., Żuchowski P., Ciuryło R., Julianne P.S., Kędziera D., Mentel Ł., Tecmer P., Munchow F., Bruni C., Gorlitz A., 2013. *arxiv*, 1309.3131.
- Dalfovo F., Giorgini S., Pitaevskii L. P., Stringari S., 1999. *Reviews of Modern Physics* 71, 463-512.
- Davis K., Mewes M.O., Andrews M.R., Van Druten N.J., Durfee D.S., Kurn D.S., Ketterle W., 1995. *Physical Review Letters* 75, 3969-3973.
- Enomoto K., Kasa K., Kitagawa M., Takahashi Y., 2008. *Physical Review Letters* 101, 203201.
- Jones K.M., Tiesinga E., Lett P.D., Julianne P.S., 2006. *Reviews of Modern Physics* 78, 483-535.
- Lett P.D., Phillips W.D., Rolston S.L., Tanner C.E., Watts R.N., Westbrook C.I., 1989, *Journal of the Optical Society of America, B Optical Physics* 6, 2084-2107.
- Metcalf H., Van Der Straten P., 2003. *Journal of the Optical Society of America, B Optical Physics* 20, 887-908.
- Phillips W.D., Prodan J., Metcalf H., 1985. *Journal of the Optical Society of America, B Optical Physics* 2, 1751-1767.
- Takasu Y., Saito Y., Takahashi Y., Borkowski M., Ciuryło R., Julianne P.S., 2012. *Physical Review Letters* 108, 173002.
- Tojo S., Kitagawa M., Enomoto K., Kato Y., Takasu Y., Kumakura M., Takahashi Y., 2006. *Physical Review Letters* 96, 153201.
- Weiss D., Riis E., Shevy Y., Ungar P.J., Chu S., 1989. *Journal of the Optical Society of America, B Optical Physics* 6, 2072-2083.



# WYSTĘPOWANIE PASOŻYTÓW JELITOWYCH CZŁOWIEKA NA TERENIE WOJEWÓDZTWA KUJAWSKO-POMORSKIEGO W LATACH 2001-2008

Aleksandra Brochocka<sup>1</sup>, Hanna Szczukowska

## 1. WSTĘP

Choroby pasożytnicze towarzyszą ludzkości od początku narodzin życia aż po dzień dzisiejszy. Stanowią dość istotny problem epidemiologiczny. W Polsce człowiek może być żywicielem kilkudziesięciu gatunków zwierząt, w tym przeszło 40 z nich to endopasożyty. Jedną z największych ekstensywności wykazują inwazje pasożytów przewodu pokarmowego. Zakażenie tymi pasożytami odbywa się zwykle *per os*. Postacie dorosłe, bytujące w jelicie cienkim lub grubym, mogą być przytwierdzone torebką gębową do jego błony śluzowej (*Ancylostoma*), zagłębione przednią częścią ciała w śluzówce (*Trichuris*), pogrążone w gruczołach Lieberkühna (*Strongyloides*) i tkankach ściany jelita lub mogą utrzymywać się luźno w jego świetle (*Ascaris*). Gatunki te wykształciły także różne techniki zdobywania pokarmu, tzn. wysysają krew żywiciela (*Ancylostoma*), dokonują lizy tkanek krwi (*Trichuris*) lub czerpią pokarm z treści jelita (*Ascaris*) [Kadłubowski i in. 1988, Deryło 2002]. Formą inwazyjną jest zazwyczaj larwa powodująca lokalne i ogólnoustrojowe reakcje związane z rozwojem i wędrówkami w organizmie żywiciela, w wyniku czego dochodzi do uszkodzenia narządów i tkanek.

Wśród typowych pasożytów jelitowych dominują: owsik (*Enterobius vermicularis*), glista ludzka (*Ascaris lumbricoides*) oraz tasieniec nieuzbrojony (*Teania saginata*) [Kassura 1978].

Owsik (*Enterobius vermicularis*) jest pasożytem jelita grubego człowieka, szczególnie często spotykanym u dzieci w przedziale wiekowym pomiędzy piątym a trzynastym rokiem życia. Wywołuje chorobę inwazyjną zwaną owsicą, występującą najczęściej w przebiegu przewlekłym. Chorobie sprzyja przebywanie w żłóbkach, przedszkolach, szkołach, internatach i domach dziecka. Wśród zakażonych dzieci 30-40% należy do rasy białej, a 10-15% do czarnej. Dorośli są mniej podatni na zakażenia, co tłumaczy się wzrostem odporności z wiekiem [Dymowska 1989]. Owsik dostaje się do organizmu człowieka przez połknięcie, wdychanie jaj lub nawet w skutek wniknięcia larw w fałdy skóry, które znajdują się wokół odbytu. Drogą pokarmową najczęściej przedostają się jaja, dzieje się tak po zjedzeniu skontaminowanego pokarmu (niemytych warzyw i owoców) lub przez wkładanie brudnych rąk do ust (np. po kontakcie ze skażonym piaskiem, ziemią lub po wyjściu z toalety) [Kassura 1978].

Owsica bardzo rzadko przebiega bezobjawowo i pozostaje niezauważalna. Oczywiście jak w przebiegu wielu innych inwazji pasożytniczych, objawy chorobowe uzależnione są od intensywności zakażenia i wrażliwości osobniczej żywiciela. Choroba ta może utrzymywać się długo, głównie ze względu na fakt samozarażania się. Obecność nicieni w okrężnicy bądź w jelicie ślepym powoduje łagodne zmiany nieżytowe błony śluzowej, a w przypadkach głębszej penetracji nicieni do warstwy mięśniowej ściany jelita – drobne wybroczyny, ubytki nabłonka i przerost grudek chłonnych. Jeśli

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy, Katedra Zoologii i Kształtowania Krajobrazu, ul. ks. A. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz, e-mail: a.brochocka83@wp.pl

owsiki umiejscowia się w wyrostku robaczkowym, mogą powodować zmiany zapalne i martwicze oraz otorbione ropnie wokół nicieni i ich jaj [Kadłubowski i in. 1988]. Szczególnie dotkliwy jest jednak uporczywy świąd związany z wędrówką pasożytów oraz odczynem alergicznym. U dzieci owsica może być przyczyną niepokoju ruchowego, trudności w skupieniu uwagi, zgrzytania zębami oraz zaburzeń snu, wywołanymi wędrówką samic w okolice odbytu. Samice owsików mogą wnikać również do żeńskiego układu płciowego, wywołując podrażnienie łechtaczki i podniecenie płciowe, nie rzadko połączone z onanią, odczyn zapalny sromu, pochwy, a nawet macicy. Wokół wnikających tą drogą samic tworzą się ziarniniaki z infiltracją eozynofików i zmianami martwiczymi. Owsikom przypisuje się również drażnienie zakończeń nerwów współczulnych w błonie śluzowej jelita i toksyczne działanie produktów przemiany materii pasożyta, które przejawia się wzmożoną pobudliwością nerwową żywiciela [Kassura 1978, Kadłubowski i in. 1988, Deryło 2002].

Innym nicieniem pasożytującym w jelicie cienkim człowieka jest glista ludzka (*Ascaris lumbricoides*). Podobnie jak w przypadku owsików, człowiek zakaża się przez spożycie wody lub pokarmów zanieczyszczonych inwazyjnymi jajami. Niemale znaczenie ma również fakt, że samice glist wykazują się dużą płodnością, a ich jaja są bardzo odporne na działanie czynników zewnętrznych środowiska, a także na działanie czynników chemicznych i dezynfekcyjnych [Gundlach i Sadzikowski 2004]. Mogą przetrwać przez długi czas zarówno w niskiej, jak i w wysokiej temperaturze. Giną dopiero w 50°C, a odporność na niskie temperatury umożliwia zimowanie jaj w glebie, przez co mogą stanowić one zagrożenie przez wiele lat. *Ascaris* jest największym nicieniem pasożytującym w jelicie cienkim człowieka zarówno w postaci dojrzałej, jak i larwalnej, przez co jest często przyczyną wielu dolegliwości. Zespoły objawowe zależą głównie od umiejscowienia się pasożyta oraz od wieku i stanu wydolności układu immunologicznego żywiciela. Najogólniej przyczyny zaburzeń chorobowych spowodowanych przez glisty można sprowadzić do: działania mechanicznego, związanego z migracją larwy i bytowaniem postaci dojrzałych, zaburzenia wartości odżywczych pożywienia człowieka i działania toksycznego wydalanych przez glisty produktów przemiany materii [Kadłubowski i in. 1988].

Inną glistą wywołującą u człowieka odzwierzęcą chorobę – toksokarozę – jest glista kocia/psia (*Toxocara cati/canis*). Źródłem zarażenia *Toxocara canis* są także wolno żyjące lisy, które jako nosiciele tych nicieni jelitowych często stanowią zagrożenie dla ludzi [Stefański i Żarnowski 1971, Balicka-Ramisz i in. 2003]. Do zakażenia dochodzi przez zjedzenie jaj zawierających inwazyjne larwy. Jest to więc podobnie jak w przypadku *Ascaris lumbricoides* tzw. „choroba brudnych rąk”. W związku z tym, że dzieci nie mają jeszcze utrwalonego nawyku mycia rąk, częściej niż dorośli padają ofiarą inwazji. Nie bez znaczenia jest też zjawisko geofagii, które obserwuje się u dzieci w wieku od 2 do 5 lat [Kassura 1978, Deryło 2002]. Inwazja pasożyta może przebiegać bezobjawowo bądź w postaci uogólnionej (zespół larwy wędrującej trzewnej – VLM), ocznej (larwa wędrująca oczna – OLM) lub mózgowej [Kadłubowski i in. 1988].

Kolejną zoonozą pasożytniczą jest tasiemczyca. W Polsce najczęściej powodują ją płazińce, tj. tasiemiec nieuzbrojony (*Taenia saginata*) oraz tasiemiec uzbrojony (*Taenia solium*), rzadziej bruzdogłowiec szeroki (*Diphyllobothrium latum*) i tasiemiec bąbłowiec (*Echinococcus granulosus*) [Kassura 1978, Fijałkowska 1983, Deryło 2002]. Tasiemiec nieuzbrojony pasożytuje w górnym odcinku jelita cienkiego człowieka, gdzie może osiągnąć do 12 metrów. Charakteryzuje się długowiecznością, przeżywa w przewodzie pokarmowym nawet ponad 25 lat. Do zakażenia dochodzi drogą pokarmową,

poprzez spożycie mięsa wołowego zawierającego postacie przetrwalnikowe pasożyta – tak zwane wągry. Obecność tasiemca przyczynia się do osłabienia organizmu, spadku wagi, pojawiania się nudności, biegunki i wymiotów. Natomiast otorbione larwy mogą powodować ból i upośledzenie pracy mięśni, a także uszkodzenie narządów, do których zawędrują [Kadłubowski i in. 1988, Deryło 2002].

Celem pracy jest analiza występowania pasożytów jelitowych człowieka z terenu województwa kujawsko-pomorskiego na podstawie rejestrów zachorowań w badanym okresie.

## 2. MATERIAŁ I METODY

Analizę występowania chorób pasożytniczych na terenie województwa kujawsko-pomorskiego w latach 2001-2008 przygotowano na podstawie biuletynów o chorobach zakaźnych i zatruciach oraz meldunków o zachorowaniach na choroby zakaźne Państwowego Zakładu Higieny.

W celach porównawczych posłużono się natomiast danymi pochodzącymi z rocznych sprawozdań o zachorowaniach na choroby zakaźne, zakażenia i zatrucia z Państwowej Inspekcji Sanitarnej oraz danymi z rocznych sprawozdań o zachorowaniach na choroby zakaźne ze stacji sanitarno-epidemiologicznych poszczególnych województw, które ujęto w podsumowaniu.

## 3. WYNIKI

Wszystkie przypadki odzwierzcących chorób pasożytniczych zarejestrowane w latach 2001-2008 na terenie województwa kujawsko-pomorskiego zestawiono w tabeli 1.

Spośród czterech jednostek chorobowych zdecydowanie największą liczbę odnotowanych przypadków stanowiła owsica. W analizowanym okresie czasu na chorobę tę zapadły aż 5194 osoby, czyli ok. 79% wszystkich zgłoszonych zoonoz pasożytniczych. Co więcej, w każdym roku badanego przedziału 2001-2008 zachorowalność na owsicę była zdecydowanie najwyższa w porównaniu z pozostałymi parazytozami. Przewaga choroby była tak duża, że w jednym tylko roku 2004 zapadło na nią więcej osób niż na glistnicę, tasiemczycę i toksokarozę we wszystkich badanych latach łącznie.

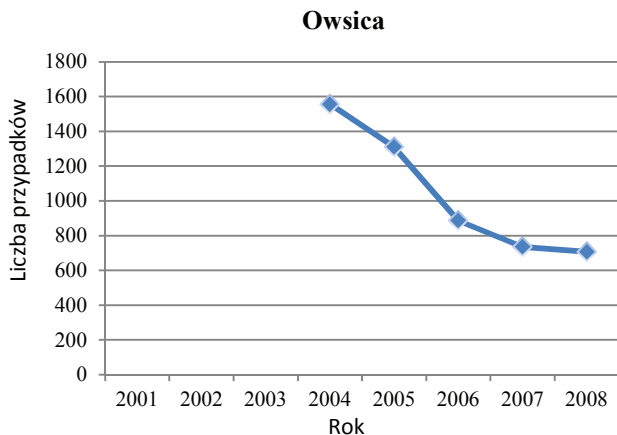
Tabela 1. Wybrane choroby układu pokarmowego w województwie kujawsko-pomorskim

| Jednostka chorobowa | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 | 2007 | 2008 | Suma |
|---------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| Glistnica           | *    | *    | *    | 289  | 176  | 182  | 223  | 307  | 1177 |
| Owsica              | *    | *    | *    | 1556 | 1310 | 886  | 735  | 707  | 5194 |
| Tasiemczycza        | 25   | 17   | 15   | 11   | 5    | 8    | 6    | 7    | 94   |
| Toksokaroza         | *    | *    | *    | 13   | 30   | 10   | 11   | 39   | 103  |

\* nie prowadzono rejestru w PSSE w województwie kujawsko-pomorskim  
opracowanie własne na podstawie danych PZH i PIS

Liczba odnotowanych przypadków owsicy w ciągu pięciu lat nie zmalała poniżej 700 zgłoszeń. Na rysunku 1 można zaobserwować jednak wyraźną tendencję spadkową tej choroby. I tak najwyższą liczbę zachorowań (1556) stwierdzono w pierwszym roku badanego okresu, a najniższą (707) w roku 2008. Największy spadek zapadalności na

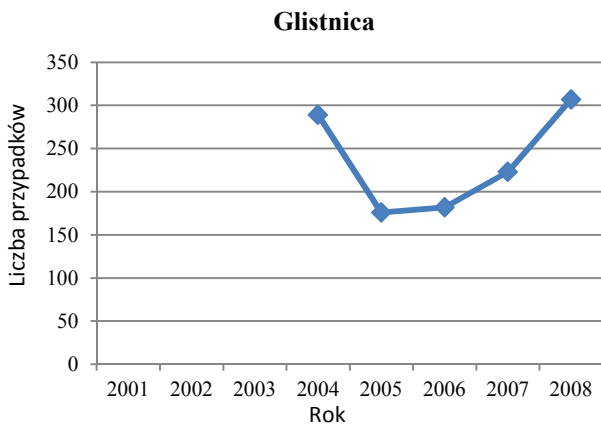
owsicę zanotowano między 2005 a 2006 rokiem, gdy zachorowało o 33% mniej osób w porównaniu z rokiem poprzednim.



opracowanie własne na podstawie danych PZH i PIS

Rys. 1. Występowanie owsicy w województwie kujawsko-pomorskim

Drugą pod względem liczby zachorowań zoonozą była glistnica, której zgłoszone w ciągu pięciu lat przypadki stanowiły ok. 18%. W ostatnich latach analizowanego okresu zaobserwowano niewielką tendencję wzrostową tej choroby (rys. 2).

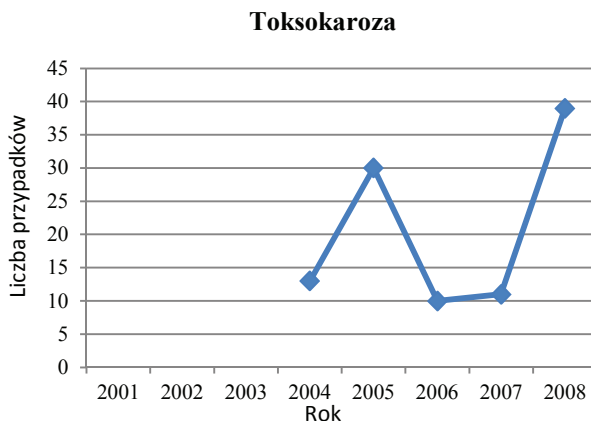


opracowanie własne na podstawie danych PZH i PIS

Rys. 2. Występowanie glistnicy w województwie kujawsko-pomorskim

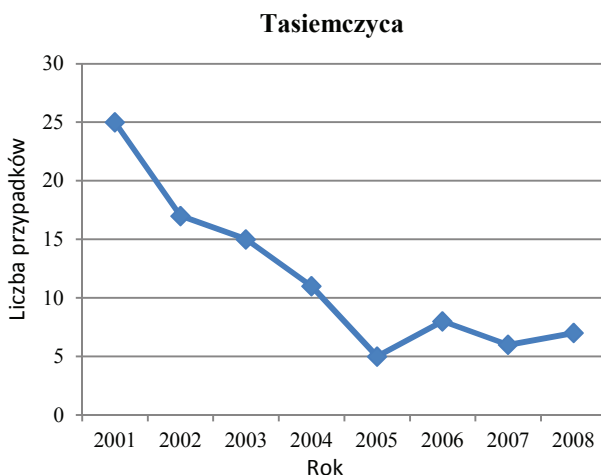
Znacznie rzadziej od ww. występowały choroby wywołane przez larwy glisty kociej i psiej (1,6%) oraz tasiemczyce powodowane inwazją tasiemca nieuzbrojonego (1,4%). Toksokaroza pojawiała się z różną intensywnością (rys. 3). Natomiast obecność teniozy rejestrowano w całym analizowanym okresie z niewielką tendencją spadkową (rys. 4).





opracowanie własne na podstawie danych PZH i PIS

Rys. 3. Występowanie toksokarozy w województwie kujawsko-pomorskim



opracowanie własne na podstawie danych PZH i PIS

Rys. 4. Występowanie tasiemczycy w województwie kujawsko-pomorskim

#### 4. DYSKUSJA I WNIOSKI

Średnia częstość zakażeń pasożytami w Polsce – ok. 29% według danych stacji sanitarno-epidemiologicznej – od lat utrzymuje się na zbliżonym poziomie. O ile sporadycznie tylko stwierdza się obecność *Salmonelli*, o tyle jaja pasożytów jelitowych występują dość często w próbkach nawozów organicznych, nierzadko w ilości kilkudziesięciu do kilkuset sztuk na kilogram. Dlatego też zagrożenie glistnicą oraz innymi pasożytami układu pokarmowego człowieka jest nadal tak duże [Januszkiewicz 1994].

Niestety, na przestrzeni ostatnich dziesięciu lat wykaz chorób podlegających nadzorowi zmieniał się wraz ze zmianą przepisów prawnych i obecnej sytuacji epidemiolo-

gicznej. Pierwsza lista chorób odzwierzęcych z 2001 roku w kolejnych latach ulegała wielu modyfikacjom. Przykładowo rejestrację chorób, tj. owsicy, glistnicy oraz toksokarozy, wprowadzono dopiero w 2005 roku i ponownie usunięto je z wykazu w roku 2009, stąd też analiza zawarta w pracy odnosi się tylko do tych lat, w których prowadzono rejestr.

Pomimo niepełnych danych, powyższe wyniki wskazują, iż najczęstszą chorobą wywołaną przez pasożyty jelitowe okazała się owsica, która stanowiła 79% wszystkich zgłoszonych przypadków. Choroba ta osiągnęła także wysoki poziom na terenie całego kraju. Zgodnie z doniesieniami Państwowego Zakładu Higieny w Polsce w badanym okresie zakażeniu owsicą uległo 25041 osób, dając jej pierwsze miejsce jako najczęstszej robaczycy człowieka. Szacuje się, że na świecie inwazja tego nicienia dotyczy aż 400 milionów ludzi. Stwierdza się go u 18 milionów mieszkańców Stanów Zjednoczonych i Kanady, a zakażenie różnych grup ludności kształtuje się na poziomie od 3 do nawet 80% [Deryło 2002]. Tak duża liczba zachorowań związana jest zapewne z cyklem życiowym tego pasożyta. Mimo iż pojedynczy osobnik żyje około jednego miesiąca, choroba potrafi utrzymywać się często latami, dzięki łatwo następującej autoinwazji (w tym retroinwazji) lub stałemu dokażaniu się z zewnątrz. Nicień przenosi się bardzo łatwo drogą pokarmową oraz inhalacyjną, stąd też środowisko zewnętrzne, jak mieszkanie, klasy szkolne, przedszkola, można traktować jako rezerwuar zarazka [Kassura 1978].

Kolejnym pasożytem jelitowym jest glista ludzka (*Ascaris lumbricoides*), poziom zakażenia w województwie kujawsko-pomorskim w latach 2004-2008 stanowił prawie 18% (1177 osób) wszystkich zgłoszeń. Przyjmuje się, że ¼ części ludności świata jest zakażona tym nicieniem. W wielu rejonach choroba występuje endemicznie, np. w Afryce Środkowej, Azji Południowo-Wschodniej czy Ameryce Południowej i Środkowej, jest tam zakażone nawet 50-80% populacji [Kassura 1978, Deryło 2002]. Trzeba jednak zaznaczyć, że społeczności te mają często obniżone standardy sanitarne oraz używają niekompostowanego kału ludzkiego jako nawozu. Jednak wraz z powiększającą się populacją ludzką rozprzestrzenianie pasożytów uległo znacznemu przyspieszeniu, czego przykładem jest właśnie kosmopolityczna glista ludzka [Doligalska i Borowik 2004]. W Polsce występowanie glistnicy w latach 2004-2008 utrzymywało się na wysokim poziomie. Inwazji uległo aż 22016 mieszkańców kraju. Co ciekawe zauważono także dość znaczną tendencję wzrostową choroby. W 2008 roku liczba zakażeń wzrosła o 60,91% w stosunku do roku 2004. Na terenie województwa kujawsko-pomorskiego tendencji takiej nie stwierdzono.

Liczba zakażeń glistą kocią i psią na terenie analizowanego województwa była znacznie niższa. W latach 2004-2008 odnotowano 103 przypadki. Na świecie zakażenie psów i kotów kształtuje się na poziomie od 3 do 80%. Glisty występują u zwierząt z różnych środowisk, zarówno bezpańskich, jak i mających właścicieli. Wprowadzenie zwierząt futerkowych do hodowli oraz zwiększanie liczby psów sprzyja synantropizacji cyklu rozwojowego *Toxocara canis* [Doligalska i Borowik 2004]. Przyjmuje się, że ponad 90% szceniąt i kociąt rodzi się z tymi pasożytami, stąd konieczne jest w tak wczesnym wieku odrobaczanie. Występowanie pasożytów jelitowych u psów i kotów w schroniskach dla zwierząt stwierdza się niezależnie od regionu Polski, pomimo opieki weterynaryjnej, odpowiedniego żywienia, regularnego czyszczenia klatek, kojców, usuwania odchodów itd. [Patyk 1978]. U większości bezdomnych psów w schronisku wykryto zakażenie glistą *Toxocara canis*, a u kotów najczęściej stwierdza się – *Toxocara cati* [Romaniuk i in. 2004]. Odchody chorych zwierząt doprowadzają do skażenia

gleby jajami nicieni [Deryło 2002]. Badania prowadzone na terenie Krakowa, Poznania, Lublina oraz pobliskich wsi wykazały znaczne skażenie gleby jajami *Toxocara* spp. Spośród przebadanych prób aż 23-37% zawierało jaja pasożytów [Luty i Mizgajski 1999, Borecka i Gawor 2002].

W Polsce w latach 2004-2008 liczba diagnozowanych przypadków toksokarozy była wysoka (1855 osób) i z roku na rok wzrastała. Z uwagi na skrytość i niespecyficzność objawów należy jednak sądzić, że liczba zgłoszeń była mniejsza niż rzeczywista liczba zakażonych [Mizgajski 1998]. Niezależnie od faktu, iż w roku 2008 toksokaroza została skreślona z listy chorób podlegających zgłaszaniu, w latach 2008-2009 w Instytucie Matki i Dziecka w Warszawie diagnozowano kolejne przypadki toksokarozy u dzieci w wieku od 4 miesięcy do 14 lat [Raport Głównego Inspektora Sanitarnego – Stan sanitarny kraju w roku 2010].

Jedyną chorobą, która podlegała obowiązkowi rejestracji w ciągu całego analizowanego okresu, była tasiemczyca. W latach 2001-2008 w województwie kujawsko-pomorskim odnotowano jednak najmniej, bo 94 przypadki zakażenia tą chorobą. Ocenia się jednak, że ¼ nosicieli tasiemca nieuzbrojonego nie zgłasza objawów związanych z inwazją. Ma ona zazwyczaj przebieg łagodny i przewlekły, gdyż po częściowym wydalaniu strobili dolegliwości mogą na pewien czas ustąpić. Tasiemczyca jest chorobą kosmopolityczną, częstą w krajach, w których spożywa się surowe mięso, m.in. na Bliskim Wschodzie, w Afryce, a także w Europie [Kassura 1978]. Szacuje się, że na świecie inwazja tasiemców dotyczy około 70 milionów ludzi z dość zróżnicowaną częstością występowania. *T. saginata* występuje np. u 0,3% mieszkańców Szwajcarii, 0,5% mieszkańców USA, 1,4% Filipińczyków i u 4,5% ludności Meksyku.

W Polsce, w ostatnich latach, notuje się rocznie kilkadziesiąt przypadków teniozy, potwierdzonych badaniem laboratoryjnym, z wyraźną tendencją zniżkową. W ostatnich dziesięciu latach na terenie naszego kraju odnotowano 1063 przypadki tej choroby. Przy czym inwazje tasiemca nieuzbrojonego stanowią ponad 90% spośród wszystkich stwierdzonych tasiemczyc [Deryło 2002, Patyk 1978]. Do podobnych wniosków w swojej pracy doszła Waloch, która na terenie województwa kujawsko-pomorskiego w 2001 roku wymienia 286 przypadków inwazji tasiemców jelitowych, wśród których zdecydowanie dominował *T. saginata* (195 stwierdzeń) [Waloch 2003]. Sporadyczne występowanie *T. solium* pojawia się głównie na terenach, gdzie hodowla trzody chlewnej prowadzona jest w nieodpowiednich warunkach higieniczno-sanitarnych, a wśród ludzi utrzymuje się zwyczaj spożywanie surowego lub półsurowego mięsa wieprzowego [Fijałkowska 1983, Furmaga 1983]. Częstość występowania zakażeń tasiemcem uzbrojonym była znacząca w ubiegłym stuleciu, jednak poprawa warunków sanitarnych i wprowadzenie obowiązku badania mięsa na obecność wągry spowodowały spadek zakażeń. W latach 1996-1997 wągryca trzody chlewnej kształtowała się na poziomie średnio 0,0003% [Anusz 1978, Deryło 2002], podczas gdy zakażenie bydła wągrymi *T. saginata* stanowi w Polsce nadal dość poważny problem. Krowy ulegają zakażeniu podczas wypasu na terenach zanieczyszczonych odchodami człowieka, niemałe znaczenie ma tutaj zjawisko zalewania pastwisk w czasie powodzi oraz rozprzestrzenianie się ścieków [Januszkiewicz 1994]. W latach 1988-1995 stwierdzono u zwierząt rzeźnych na terenie kraju aż 100000 przypadków tej pasożytozy [Deryło 2002]. Ze sprawozdań Powiatowych Stacji Sanitarno-Epidemiologicznych (PSSE) o zachorowaniach na choroby zakaźne, zakażenia i zatrucia można wnioskować, że na glistnicę, toksokarozę oraz tasiemczycę częściej choruje ludność wiejska niż miejska. Mieszkańcy wsi, a w szczególności hodowcy, rolnicy, pracownicy służb weterynaryjnych i ich rodziny, stanowią

grupę podwyższonego ryzyka, w związku z tym, iż mają częstszy kontakt ze zwierzętami niż mieszkańcy miast. Poza tym szybsze diagnozowanie i leczenie mieszkańców miast wynika z łatwiejszego niż na terenach wiejskich dostępu do placówek medycznych.

Nasuwa jednak wniosek, że rozwój cywilizacji, wiążący się z poprawą warunków socjalno-bytowych, większym rozwojem wiedzy, a także świadomości ludności, nie potrafi nas jednak uchronić przed parazytozami. Stała rozbudowa technosfery powoduje skażenie wód powierzchniowych, gleby i powietrza wytworami przemysłu oraz zmiany właściwości fizycznych środowiska, co wpływa na zaburzenia struktury i czynności ekosystemów. Należy się także liczyć ze złożonym oddziaływaniem czynników chemicznych (np. leków, pierwiastków toksycznych, pestycydów) zarówno na podatność człowieka, jak i na zjadliwość jego pasożytów. To samo odnosi się do czynników fizycznych technosfery, takich jak: wzrost natężenia promieniowania jonizującego i fal dźwiękowych, podniesienie temperatury wód powierzchniowych. Ponadto postęp agrotechniki, rozwój przemysłowy chowu zwierząt, technologia przetwarzania żywności czy nawet używanie bielizny z włókien syntetycznych wpływają na ekstensywność niektórych inwazji pasożytniczych człowieka [Stefański 1963, Kadłubowski i Kurnatowska 1988]. Utrzymywaniu, a nawet rozprzestrzenianiu się inwazji pasożytów człowieka mogą sprzyjać także czynniki współczesnej socjofery, takie jak: ogniskowy wzrost gęstości zaludnienia, ułatwienia komunikacyjne, masowa turystyka i zwiększenie kontaktów także między odległymi krajami, zmiany obyczajowe, żywieniowe, a nawet moda.

Sytuacja epidemiologiczna w chwili obecnej nie jest znana, ponieważ brak danych uniemożliwia dokonanie takiej analizy. Tym samym zasadne wydaje się postulowanie o przywrócenie rejestracji ww. chorób.

## LITERATURA

- Anusz Z., 1978. Mikrobiologia i parazytologia lekarska. Wyd. 3 popr., Państw. Zakł. Wydaw. Lekarskich Warszawa.
- Balicka-Ramisz A., Ramisz A., Pilarczyk B., Bieńko R., 2003. Parazytofauna przewodu pokarmowego lisów wolno żyjących na terenie Polski zachodniej. Med. Wet. 10(59), 922-925.
- Borecka A., Gawor J., 2002. Inwazje nicieni jelitowych u psów i kotów. Mag. Wet. 11(29), 29-30.
- Deryło A., 2002. Subregnum: *Metazoa* – Podkrólestwo: Wielokomórkowce zwierząt. Parazytologia i akaroentomologia medyczna. Wyd. Nauk. PWN Warszawa.
- Doligalska M., Borowik M.M., 2004. Prognozowanie transmisji parazytoz wywołanych przez helminty. Med. Wet. 3(60), 227-231.
- Dymowska Z., 1989. Zarys parazytologii lekarskiej dla techników analityki medycznej. Wyd. Państw. Zakł. Wydaw. Lekarskich Warszawa.
- Fijałkowska W., 1983. O chorobach odzwierzęcych szczegółowo. Czym mogą zarazić nas zwierzęta? – czyli o chorobach odzwierzęcych. PWRiL Warszawa.
- Furmaga S., 1983. Choroby świń. Choroby zwierząt mięsożernych. Choroby pasożytnicze zwierząt domowych. PWRiL Warszawa.

- Gundlach J.L., Sadzikowski A.B., 2004. Inwazje u różnych gatunków zwierząt. Parazytologia i pasożytozy zwierząt. PWRiL Warszawa.
- Januszkiewicz J., 1994. Zarys kliniki chorób zakaźnych. Wyd. Lekarskie PZWL Warszawa.
- Kadłubowski R., Kurnatowska A. (red.), 1988. Zarys parazytologii lekarskiej. Wyd. Państw. Zakł. Wydaw. Lekarskich Warszawa.
- Kassura B., 1978. Zarys chorób inwazyjnych. Choroby zakaźne i inwazyjne. Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich Warszawa.
- Luty T., Mizgajka H., 1999. Występowanie *Toxocara spp.* oraz innych pasożytów jelitowych u psów i kotów. Med. Wet. 55(759), 759-761.
- Mizgajka H., 1998. Rola czynników środowiskowych w biologii nicieni z rodzaju *Toxocara*. AWF Poznań.
- Patyk S., 1978. Choroby wywołane przez tasiemce. Choroby wywołane przez nicienie. Choroby inwazyjne zwierząt domowych. PWRiL Warszawa.
- Raport Głównego Inspektora Sanitarnego-Stan sanitarny kraju w roku 2010. <http://www.gis.gov.pl>
- Romaniuk K., Sokół R., Michalski M., 2004. Występowanie pasożytów wewnętrznych u psów i kotów w schronisku dla bezdomnych zwierząt. Med. Wet. 8(60), 839-840.
- Stefański W., 1963. Parazytologia weterynaryjna. T. 1. Protozoologia i helmintologia. PWRiL Warszawa.
- Stefański W., Żarnowski E., 1971. Rozpoznawanie pasożytów i chorób inwazyjnych zwierząt mięsożernych (psy, koty, lisy). Rozpoznawanie inwazji pasożytniczych u zwierząt. PWRiL Warszawa.



# WYBRANE ZAGDANIENIA DOTYCZĄCE ROZRODU BYDŁA

Alicja Czajkowska<sup>1</sup>, Dariusz Piwczyński

## 1. WSTĘP

Cielenie się krów jest naturalnym zjawiskiem mającym na celu wydanie potomstwa oraz przedłużenie gatunku. Pozwala na zwiększenie liczebności populacji. Troska hodowcy o prawidłowy rozród przekłada się na opłacalność produkcji. Optymalna płodność, obok żywienia, należy bezspornie do czynników warunkujących ekonomiczne wyniki gospodarstw mlecznych. Wszelkie zabiegi mające na celu poprawę reprodukcji są niezwykle pożądane, bowiem ograniczone możliwości rozrodcze bydła są jednym z zasadniczych czynników limitujących postęp hodowlany [Januś 2008].

Najlepszym okresem wycielenia ze względu na wydajność mleka są miesiące jesienno-zimowe (listopad), a najmniej korzystne – wiosenno-letnie (kwiecień). Wykazano, że przy tradycyjnym żywieniu różnice w wydajności mlecznej krów wycielonych w tych sezonach wynosiły od 200 do 1000 kg mleka w ciągu laktacji. Dzieje się tak dlatego, że u krów wycielonych w okresie jesienno-zimowym okres żywienia letniego przypada na drugą połowę laktacji. Żywienie to z reguły zwiększa wydajność mleczną, a więc spadki udojów są mniejsze. Natomiast u krów, które wycieliły się na wiosnę, druga połowa laktacji przypada na okres żywienia zimowego, gdy brakuje tego czynnika pobudzającego wytwarzanie mleka, jakim są pasze zielone, więc obniżanie się wydajności jest większe i szybsze [Januś 2008].

## 2. GOTOWOŚĆ DO ROZRODU

Samica jest gotowa do rozrodu (do kopulacji i zajścia w ciążę) po wystąpieniu u niej pierwszych objawów rui (estrus). Te charakterystyczne zachowania płciowe pojawiają się u bydła cyklicznie przez cały rok. W związku z tym krowy zaliczane są do zwierząt poliestralnych lub wielorujowych. Czynnikiem, który determinuje zdolność jałówki do reprodukcji, jest wiek osiągnięcia przez nią dojrzałości płciowej. Pierwsze objawy rui u bydła występują już w 6. miesiącu życia. Wcześniej mogą pojawić się krótkie cykle rujowe połączone z owulacją, którym nie będą towarzyszyły objawy rui. Jałówka może zostać skutecznie zapłodniona w pierwszym normalnym cyklu rujowym. Osiągnięcie dojrzałości płciowej przez jałówkę nie jest równoznaczne z osiągnięciem dojrzałości hodowlanej. Występuje ona później i jest związana z rozwojem całego organizmu. Zapewnia odpowiednie warunki do zapłodnienia, prawidłowego przebiegu ciąży, porodu i laktacji, bez zahamowania rozwoju osobniczego zwierzęcia [Majchrzak i Gołębiowski 2008].

Jałowice zdolne są do rozplodu po osiągnięciu wieku 14-18 miesięcy przy jednoczesnej masie ciała około  $\frac{3}{4}$  dorosłej krowy. Buhaje można używać do rozplodu w wieku 12-14 miesięcy – w początkowym okresie niezbyt intensywnie. Jałówki w 15. miesiącu życia powinny uzyskać masę ciała około 360-380 kg. Bydło mięsne, szczególnie rasy o dużym kalibrze, np. charolaise lub belgianblue, dojrzałość hodowlaną (roz-

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy, Zakład Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt, ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz, e-mail: czajkowska.ala@gmail.com

plodową) osiąga dopiero w wieku około 20-24 miesięcy [Majchrzak i Gołębiowski 2008].

Okres użytkowania rozplodowego bydła zależy od jego wydajności mlecznej. Spadek ilości produkowanego mleka następuje o wiele wcześniej niż zmniejszenie się zdolności do rozrodu. Przeciętny okres użytkowania krów wynosi około 8 lat (tj. 5-6 laktacji). Natomiast płodne krowy rodzące zdrowe cielęta w wieku 15-20 lat nie są rzadkością [Majchrzak i Gołębiowski 2008].

### 3. RUJA

Długość cyklu rujowego wynosi średnio u krów około 21 dni (średnie odchylenie 3,68 dnia). U jałówek jest nieco krótszy, trwa około 20 dni (średnie odchylenie 2,33 dnia). Czas trwania cyklu rujowego jest cechą dziedziczną, zależną od utrzymywania się ciała żółtego. Powinno się eliminować z hodowli krowy mające skrajnie krótkie lub długie cykle, aby nie utrzymywać niepożądanego genotypu. Określenie „cykl rujowy” nie powinno być używane jako synonim „cyklu płciowego”. Cykl płciowy ma szersze znaczenie. Jest to czas aktywności płciowej samicy od dojrzewania do momentu zaprzestania pracy jajników. Przebieg cyklu rujowego warunkowany jest zmianami, jakie zachodzą w jajnikach, tzn. dojrzewaniem pęcherzyka jajnikowego, owulacją i istnieniem ciała żółtego. W czasie cyklu rujowego wyróżnia się dwa okresy krótki (ruja) i długi (bezrujowy).

Niezależnie od cyklu rujowego możemy mówić o cyklu jajnikowym, który dzieli się na fazę pęcherzykową (dojrzewania pęcherzyka) i lutealną (ciała żółtego). Równoległe z cyklem jajnikowym przebiega cykl błon śluzowych. W fazie pęcherzykowej rozrasta się błona śluzowa macicy i wydzielany jest intensywnie śluz [Majchrzak i Gołębiowski 2008].

Ruja jest zespołem zachowań, które informują o gotowości do kopulacji. W fazie tzw. rui właściwej u krów występuje odruch tolerancji, czyli akceptacja buhaja, pozwolenie na obskakiwanie. Wargi sromowe są obrzmiałe, silnie zaczerwienione, pozbawione pofałdowań. Ze szpary sromowej wycieka duża ilość ciągliwego, przeźroczystego śluzu. Po upływie średnio 18 godzin objawy ustępują. Zaobserwowanie pierwszych objawów rui ma bardzo duże znaczenie praktyczne. Krowa lub jałowka muszą zostać pokryte lub inseminowane około 30 godzin od pierwszych objawów rui. W tym czasie następuje owulacja. Niezauważenie tego momentu może przynieść ogromne straty gospodarcze [Majchrzak i Gołębiowski 2008].

Do typowych faz rui zalicza się:

- wczesną fazę rui – dojrzała płciowo i niezacielona krowa ma ruję co 18-24 dni. Ruja zaczyna się jednocześnie z rozwojem jajeczka w jajniku. W okresie tym, trwającym od 6 do 24 godzin, w zachowaniu krowy można zauważyć wczesne oznaki rui. Jest to najczęściej próba wspinania się na inne krowy, ich obwąchiwanie, niepokój i ryczenie;
- stojącą fazę rui – długość tej fazy waha się od 6 do 18 godzin. Oznaki to najczęściej pojawianie się odruchu tolerancji – krowa stoi, gdy jest obskakowana i obskakuje inne krowy, strzyże uszami i często ryczy;
- późną fazę rui – po fazie rui tzw. stojącej w zachowaniu niektórych krów nadal występują oznaki rui. Okres ten nazywany jest późną fazą rui i może trwać od 12 do 24 godzin. Najczęstsze objawy to czysty śluz na sromie oraz obwąchiwanie krowy przez inne.



Ważnym elementem rozpoznawania rui u krów jest regularna obserwacja. Dobre wyniki w wykrywaniu rui uzyskuje się, obserwując krowy trzy razy dziennie, najlepiej w okresach: rano (przed udojem i po), po południu (przed udojem i po) oraz wieczorem, koło godziny 22.

Istotnym elementem wykrywania rui jest rzetelna rejestracja danych. Dobrym przykładem rejestracji danych dotyczących płodności są kalendarze stada, karta kontroli zdrowia i płodności oraz indywidualne karty krów. Dane o funkcjonowaniu układu rozrodczego krowy można prowadzić również np. w kalendarzu, w którym należałoby zaznaczyć między innymi datę ocielenia i łatwość ocielenia, datę rui i inseminacji, nazwę buhaja reproduktora, zaburzenia płodności i jej leczenie. Informacje takie pozwolą również podejmować decyzje, kiedy należy spodziewać się rui u poszczególnych krów i które krowy wymagają szczególnej uwagi, a które powinny być inseminowane (rys. 1). Można również wykorzystywać do tego komputerowe programy zarządzania stadem i rejestracji danych. Programy takie są pomocne w bieżącym zarządzaniu stadem, przygotowują dzienny plan pracy, monitorują wyniki produkcyjne i pomagają w analizie problemów. Do wykrywania rui można wykorzystywać także urządzenia elektroniczne. Dobrym, praktycznym sygnałem jest także objaw nagłego spadku produkcji mleka lub spożycia paszy, co może świadczyć o tym, że wyraźne objawy wizualne są najbardziej wiarygodnym wskaźnikiem przy wykrywaniu rui [Jasiński 2013].

Przyczyny odchyień od normalnych objawów rui:

- brak witamin i składników mineralnych w paszy, szczególnie w zimie,
- brak ruchu, światła i świeżego powietrza, co zdarza się zwykle w chowie alkierzowym (występuje wtedy tzw. cicha ruja),
- zmiana pomieszczenia,
- niedostateczne żywienie,
- przekarmianie, zwłaszcza paszami wysokobiałkowymi.



Rys. 1. Obserwacja krów w oborze ułatwia wykrycie rui [fot. A. Czajkowska]

Powyższe przyczyny nietypowych objawów rui należą do grupy czynników zależnych od hodowcy. W związku z tym każdy hodowca może przeciwdziałać zakłóceniom w występowaniu rui [Szymańska 2002].

#### 4. NATURALNE KRYCIE KRÓW

Najskuteczniejsze jest krycie krów po upływie około 8-12 godz. od wystąpienia pierwszych objawów rui. W tym czasie komórka jajowa znajduje się już w jajowodzie, gdzie może nastąpić jej zapłodnienie przez plemnik. Zbyt wczesne lub zbyt późne pokrycie krowy może być powodem jej niezapłodnienia. Rozróżnia się 3 systemy krycia krów. Najczęściej stosowane jest krycie nadzorowane, nazywane też kryciem z ręki. Polega ono na tym, że do oddzielonego od stada buhaja, utrzymywanego zwykle w tzw. punkcie kopulacyjnym, doprowadza się latującą się krowę. Dzięki temu znana jest data przyszłego wycielenia oraz rodzice cielęcia. Przy tym systemie buhaj może pokryć 80 do 120 krów rocznie. Krycie haremowe polega na stałym trzymaniu buhaja z grupą około 30 krów. Pokrywa on latujące się krowy nieraz nawet kilkakrotnie, wskutek czego nie można dokładnie przewidzieć daty wycielenia. U nas ten system nie jest stosowany. Trzeci system to krycie wolne, polegające na trzymaniu dużej liczby buhajów w wielkim stadzie krów; nie jest znana ani data wycielenia, ani ojciec rodzących się cieląt [Litwińczuk i Szulc i in. 2006].

#### 5. INSEMINACJA

Inseminacja bydła ma w Polsce już ponad 50-letnią tradycję i dziś trudno wyobrazić sobie hodowcę, który byłby skłonny zrezygnować z usług inseminatora.

Zasięg i znaczenie inseminacji szczególnie wzrosły z chwilą wprowadzenia do praktyki metody przechowywania nasienia w temperaturze  $-196^{\circ}\text{C}$ . Czas i odległość dzielące kojarzonych ze sobą partnerów przestały odgrywać jakąkolwiek rolę.

Inseminator dysponuje nasieniem różnych buhajów ras mlecznych oraz mięsnych, zapewniając możliwość doboru buhaja do indywidualnych kojarzeń. Polskie firmy inseminacyjne proponują wysokiej jakości nasienie, oferowane w katalogach, które są wydawane dwa razy w roku po każdej wycenie szacowanej wartości hodowlanej buhajów.

Sztuczne unasienianie jest to wprowadzenie do dróg rodnych samicy za pomocą specjalnego przyrządu odpowiednio rozcieńczonego nasienia pobranego od samca. Jest to metoda bardzo nowoczesna, szeroko rozpowszechniona w wielu krajach. W Polsce też unasienia się już około 90% krów. Inseminacja daje wiele różnorodnych korzyści. Dzięki inseminacji zapobiega się przenoszeniu chorób zakaźnych narządów rodnych, jak brucelloza czy zaraza rzęsistkowa, oraz jałowości krów.

Korzyści hodowlane to o wiele lepiej wykorzystywane cenne rozplodniki, ponieważ nasieniem jednego buhaja unasienia się około 2000 krów, a przy kryciu naturalnym około 120 rocznie. Łatwiej też podnieść ogólny poziom hodowli bydła, ponieważ nasienie pobierane jest w zakładach unasieniania od najlepszych, wyselekcjonowanych buhajów. Zarówno matka, jak i ojciec przekazują potomstwu swe cechy użytkowe, które są uwarunkowane genetycznie. Ponieważ jednak po buhaju otrzymuje się więcej potomstwa niż od krowy, jego oddziaływanie na poziom hodowli jest bardzo duże – dobry rozplodnik przyczynia się do szybkiego podnoszenia wartości użytkowej pogłowia masowego.

Dzięki inseminacji zapobiega się przenoszeniu chorób zakaźnych narządów rodnych. Ponadto prowadzi do zmniejszenia liczby potrzebnych buhajów i zwolnienia stanowisk w pomieszczeniach, a uzyskaną paszę można przeznaczyć dla krów i opasów, co zapewnia korzyści ekonomiczne [Litwińczuk i Szulc i in. 2006].

## 6. CIAŻA

Fizjologiczny czas trwania ciąży u bydła zależy od rasy, płci płodu, liczby płodów żywienia, oraz możliwości ruchu ciężarnej samicy i trwa od 270 do 300 dni (średnio 280).

U krów rasy jersey długość ciąży wynosi 277 dni, u simentaler 286 dni, natomiast u hereford 285 dni. Buhajki rodzą się o jeden dzień później niż jałówki. Cięża bliźniacza, zdarzająca się u bydła mlecznego rzadko, trwają o 5-6 dni krócej niż pojedyncze. W przypadku pierwiastek ciąża są na ogół o 1 dzień krótsze niż u wieloródek. Należy zaznaczyć, że ciąża wydłuża się wraz z wiekiem krów. Ponadto z ocieleń zimowych (styczeń, luty, marzec) ciąża są na ogół dłuższe o jeden dzień niż ciąża krów cielących się w pozostałych miesiącach roku. Na długość trwania ciąży ma również wpływ usytuowanie budynku względem wysokości nad poziomem morza. U krów chowanych na większych wysokościach ciąża trwa krócej.

W pierwszych miesiącach ciąży rozwój płodu przebiega wolno. Z czasem płód pobiera coraz więcej pokarmów, a jego największy przyrost następuje w drugiej połowie ciąży.

Szybka diagnoza ciąży u bydła zapewnia utrzymanie w stadzie optymalnego okresu reprodukcyjnego, pozwala na ustalenie terminu porodu i optymalnego terminu zaszczenia krowy, umożliwia tworzenie grup technologicznych oraz związanych z tym zmian żywieniowych, umożliwia wykrycie ciąży bliźniaczej. Ponadto szybko zdiagnozowany brak ciąży przy braku objawów rui pozwala na interwencję lekarza weterynarii, dzięki czemu można wcześniej usunąć ze stada samice nieplodne oraz leczyć jałowice.

Szybka diagnoza ciąży pozwala również na wyszukanie krów, które przejawiają ruję podczas ciąży. Dzięki temu hodowca może uniknąć kosztów związanych z niepotrzebnym unasienianiem takich sztuk [Neja 2011].

Badanie *per rectum* jest badaniem klinicznym przez prostnicę, które pozwala na stwierdzenie obecności ciąży pomiędzy 5. a 7. tygodniem (u wieloródek później niż u pierwiastek). Badanie to oparte jest na dotyku rogów macicy i stwierdzeniu w nich asymetrii oraz cieńszej ściany macicy w miejscu obecności pęcherza płodowego. Bardzo przydatnym podczas tego badania jest pojawiający się efekt podwójnej ściany macicy, uzyskany przez tzw. „chwyt na obecność błon płodowych” – przesunięcie pęcherza płodowego, a w drugiej kolejności wyczuwalność ściany macicy. Badanie *per rectum* w późniejszej ciąży (od 4. miesiąca) pozwala ocenić położenie macicy, która opuszcza się poza spojenie łonowe. Może być jednak niebezpieczne dla ciąży, ponieważ wykrywanie obecności błon płodowych przypada w krytycznym okresie ciąży, jakim jest łożyskowanie (implantacja). Duża precyzja diagnozy, mała inwazyjność, możliwość uzyskania natychmiastowego wyniku i niski koszt badania zapewniają metodzie *per rectum* do chwili obecnej szerokie wykorzystanie w diagnostyce klinicznej w warunkach praktyki terenowej [Jankowska i Mamadou Mousa Bah 2011].

Badanie ultrasonograficzne wykonuje się rutynowo między 27.-28. a 30.-32. dniem po inseminacji (długość zarodka wówczas wynosi około 12 mm, około 35. dnia 15 mm, a w 40.- 20 mm). Wraz z rozwojem ciąży zwiększa się liczba wykrywanych

elementów, będących podstawą diagnozy. Około 32.-35. dnia obecność ciąży diagnozowana jest prawie zawsze na podstawie obecności trzech elementów (zwiększona ilość płynu wewnątrz ciążarnego rogu, obecność „nitek” błon płodowych i zarodka), których liczba wzrasta wraz z rozwojem ciąży. Fale dźwiękowe emitowane przez głowicę ultrasonografu nie są szkodliwe dla płodu [Jankowska i Mamadou Mousa Bah 2011].

Do rozpoznawania ciąży u krów można również zastosować test ciążowy oparty na oznaczaniu stężenia progesteronu w surowicy lub mleku w próbkach pobieranych w dniach od 20. do 22. po zabiegu unasieniania lub krycia. Stężenie progesteronu oznaczane może być metodami radiologicznymi lub immunoenzymatycznymi. Obecnie na rynku dostępny jest automatyczny test progesteronu Multilyser FT. Dzięki urządzeniu można zbadać jednocześnie maksymalnie 42 próbki mleka. Według producentów poziom progesteronu na poziomie  $< 7$  ng/ml wskazuje na brak cielenia, 7-10 ng/ml to wynik niepewny (po dwóch dniach test należy powtórzyć),  $> 10$  ng/ml oznacza, że istnieje duże prawdopodobieństwo ciąży – 80%. Wszystkie testy obarczone są pewnym marginesem błędów, wynikającym z zaburzeń funkcji i chorób w obrębie narządów rozrodczych [Neja 2011].

O zacieleniu krowy można również wnioskować po jej zachowaniu. W okresie ciąży jest ona spokojna i jakby rozleniwiona. Charakteryzuje się dużym apetytem. Najczęściej w trzech pierwszych miesiącach ciąży stwierdza się poprawę kondycji krowy, która pogarsza się trzech ostatnich miesiącach. W niedługim czasie po zacieleniu następuje również stopniowy spadek produkcji mleka. U jałówek o ciąży mogą świadczyć zmiany w wymieniu, polegające na charakterystycznym wydłużaniu się strzyków w 5. miesiącu ciąży. Od 6. miesiąca u jałówek gruczoł mleczny ma konsystencję bardziej zbitą, co można wyczuć dotykiem. Znaczny wzrost wymienia następuje jednak w ostatnim miesiącu ciąży [Neja 2011].

## 7. ŻYWIENIE W OKRESIE OKOŁOPORODOWYM I ZASUSZANIA

Zasuszanie jest czynnością pielęgnacyjno-hodowlaną, która musi być prawidłowo oraz terminowo przeprowadzana przez hodowców. Wymaga od nich zasobu wiedzy i doświadczenia. Nieumiejętne postępowanie w tym okresie wpływa ujemnie na zdrowie krowy i decyduje o jej przyszłej wydajności.

Okres zasuszenia jest konieczny przed następną laktacją dla wypoczynku oraz regeneracji organizmu przed porodem. Szczególnie wrażliwe i narażone na zakażenia bakteryjne są wymiona, gdyż w tym okresie krowa ma niską odporność komórkową wymienia. Dotyczy to głównie krów o wysokiej wydajności mlecznej. Niewłaściwe postępowanie może doprowadzić do stanów zapalnych wymienia, niedrożności przewodów strzykowych oraz innych zmian, które prowadzą do obniżenia wydajności mlecznej.

W drugiej połowie okresu zasuszenia zachodzą istotne zmiany fizjologiczne w organizmie krowy, związane z przygotowaniem wymienia do produkcji mleka w kolejnej laktacji oraz z intensywnym rozwojem i przyrostem masy płodu. W tym czasie przyrost masy płodu stanowi ok. 75% masy urodzonego cielęcia. Między 20. a 7. dniem przed ocieleniem następuje również bardzo duży przyrost mięszu gruczołu mlekowego, dzięki czemu ciężar wymienia wzrasta z 14 do 20 kg (przyrost dobowy wynosi około 460 g). Zaleca się, aby na około 3 tygodnie przed wycieleniem krowa zasuszona otrzymywała dodatkowo 1 kg paszy treściwej, na 2 tygodnie – 2 kg i w ostatnim tygodniu przed ocieleniem – 3 kg. Również na 3 tygodnie przed ocieleniem należy zwiększyć

w dawce ilość kiszonki z kukurydzy, która jest podstawową paszą w okresie laktacji. Bardzo wysoko wydajne krowy powinny w ostatnim tygodniu przed ocieleniem otrzymywać nawet do 4-4,5 kg paszy treściwej. Należy przestrzegać zasady, aby dawka pokarmowa w okresie ostatnich 3 tygodni przed ocieleniem zawierała te same komponenty, które będą wchodziły w skład dawki pokarmowej w okresie laktacji, ponieważ okres adaptacji mikroflory żwacza do nowej paszy trwa 2-3 tygodnie. Nieprzestrzeganie tej zasady będzie prowadzić do zmniejszenia strawności dawki pokarmowej i tym samym do pogłębienia istniejącego w momencie rozpoczęcia laktacji znacznego deficytu energetycznego. Równolegle z pokryciem zapotrzebowania energetycznego krowy zasuszonej należy zadbać o dostarczenie odpowiedniej ilości białka. Jeśli w okresie zasuszenia będzie wyraźny niedobór tego składnika, może dojść do występowania poważnych schorzeń, przede wszystkim gorączki poporodowej, zatrzymania łożyska, utrudnionego porodu, pogorszenia wskaźników rozrodu (ciche ruje) oraz zapalenia gruczołu mlekowego [Krzyżewski 2012].

Niewłaściwe żywienie krów po wycieleniu może doprowadzić do :

- słabej jakości siary,
- zaburzeń w rozrodzie,
- trudności w osiągnięciu przewidywanej wydajności,
- licznych przypadków chorób metabolicznych,
- kwaśnicy żwacza po wycieleniu.

Krowy zasuszone powinny być żywione umiarkowanie (rys. 2). Okresu zasuszenia nie wolno traktować jako czasu do poprawy kondycji zwierzęcia. Krowy zasuszone powinny być oddzielone od krów dojnych, ponieważ utrudniają hodowcy przestrzeganie zasad prawidłowego żywienia [Nowak i Mikula 2007] .



Rys. 2. Sposób podania pokarmu ma znaczenie dla optymalnego żywienia  
[fot. D. Piwczyński]

Podstawowym problemem w hodowli bydła mlecznego jest uzyskanie wysokiej produktywności i dobrej płodności krów.



## 8. PORÓD

Do objawów informujących o zbliżającym się porodzie zaliczyć można nabrzmiałość wymienia, w którym zaczyna gromadzić się siara, obrzmienie sromu, wypływ bezbarwnego śluzu z pochwy czy pojawienie się siary w gruczole mlecznym. U podstawy ogona ulegają rozluźnieniu więzadła, jednocześnie tworzą się charakterystyczne zagłębienia w okolicy krzyżowej części kręgosłupa. Krowa staje się nadpobudliwa i niespokojna, co przejawia się wydawaniem specyficznych odgłosów, które przypominają porykiwania. Naprzemiennie kładzie się i wstaje, jest to zwiastun rozpoczęcia się parć porodowych.

Poród jest zjawiskiem naturalnym i większość wycieleń odbywa się bez ingerencji człowieka. Najwięcej błędów popełnia się w wyniku przedwczesnej, niecierpliwej i niefachowej pomocy w pierwszej fazie porodu – rozwierania dróg rodnych. Faza ta trwa od 2 do 3 godzin, a u pierwsiastek wydłużyć się może nawet do 4 godzin. Jedynie powolne wypieranie cielęcia gwarantuje poprawną akcję porodową. Poważnym błędem jest przerywanie pęcherza z wodami płodowymi. Interwencja powoduje, że poród normalny staje się porodem ciężkim i powikłanym, którego następstwem może być zatrzymanie łożyska i opóźniona regeneracja macicy. Również krycie jałówek lub krów ras małych nasieniem buhajów ras dużych może prowadzić do komplikacji w trakcie porodu – dzieje się tak ze względu na dużą masę rodzących się cieląt lub małą miednicę – wąskie drogi rodne [Adamski i Greiss 2012].

Ostatnim etapem porodu jest wypieranie przez matkę łożyska. Cykl ten trwa maksymalnie do 12 godzin. Istotną sprawą jest sprawdzenie, czy łożysko zostało wydalone w całości z macicy. Pozostawione części łożyska mogą doprowadzić do powikłań chorobowych, a nawet niepłodności krowy. Po porodzie należy cielę położyć na czystej słomie, oczyścić ze śluzu nozdrza i pysk oraz zdezynfekować pępowinę. W przypadku stwierdzenia, że cielę jest opite wodami płodowymi należy podnieść za tylne nogi i potrzymać w tej pozycji. Istotne jest, aby cielę napiło się siary. Podwyższona temperatura (powyżej 39°C) i biegunka u nowo narodzonego cielaka powinny zaniepokoić hodowcę.

### 8.1. Skala oceny porodu

Informacja dotycząca przebiegu porodu jest ważna dla oceny skuteczności wyboru buhaja. Udział porodów ocenianych na powyżej 3 punkty w ogólnej liczbie porodów może być również podstawą do oceny prawidłowości przygotowania krów do porodu, a zwłaszcza ich kondycji. Istnieje bardzo istotna zależność pomiędzy stopniem otluszczenia krów (jałówek) a zwiększeniem stopnia trudności porodu.

Dobrze więc, gdy hodowca notuje również trudność porodu ocenianą według skali: 1 – bez pomocy, 2 – z lekką pomocą, asysta, 3 – z dużą pomocą, ciągnięcie, 4 – poród przez cesarskie cięcie, 5 – poród nienormalny [Kowalski 2003].

## 9. ZAKOŃCZENIE

Duże znaczenie dla hodowli bydła ma prawidłowe wycielenie, a w konsekwencji przyjsię na świat zdrowego cielęcia (rys. 3). Jest ono gwarancją wznowienia i wzrostu produkcji mlecznej, zapewnia dobrą reprodukcję, a przy odpowiedniej selekcji i doborze genetycznym umożliwia postęp hodowlany. Dla prawidłowego przebiegu porodu bardzo ważne jest żywienie krów w okresie zasuszania, zapewnienie dobrej

kondycji hodowlanej i dostarczenie odpowiedniej ilości ruchu. Problemy podczas wycielenia mogą być spowodowane dostarczaniem źle zbilansowanej dawki pokarmowej, brakiem ruchu oraz niezapewnieniem prawidłowego dobrostanu zwierząt.

Należy podkreślić, że hodowcy, którzy zapewnią krowom życie w komfortowych warunkach, właściwą pielęgnację i racjonalne żywienie w końcowym etapie osiągną zadowalające wyniki produkcyjne, które przełożą się na sukces ekonomiczny.



Rys. 3. Ciele ssące matkę [fot. A. Czajkowska]

## LITERATURA

- Adamski M.R., 2010. Analiza okresu okołoporodowego. Kondycja krów w okresie okołoporodowym a poziom wybranych parametrów krwi i płodności. UWP 2010, 67-76.
- Adamski M., Greiss J., 2012. <http://www.portalhodowcy.pl/hodowca-bydla/268-numer-32012/2562-uzytkowosc-rozplodowa-krow-ras-miesnych>
- Jankowska K., Mamadou Mousa Bah, 2011. <http://www.portalhodowcy.pl/hodowca-bydla/207-numer-22011/1927-metody-diagnostyki-ciazy-u-krow>
- Januś E., 2008. Podstawowe wskaźniki płodności krów i ich związek z wydajnością. Hod. Bydła 13(11), 28-37.
- Jasiński R., 2013. <http://www.anonse.pl/teksty/czynniki-wplywajace-na-poziom-plodnosci-i-wydajnosci-krow-mlecznych,487,522.html>
- Kowalski Z., 2003. [http://www.apra.pl/archiwum/hoduj\\_swini/archiwum/hzg\\_050422.htm](http://www.apra.pl/archiwum/hoduj_swini/archiwum/hzg_050422.htm)
- Krzyżewski J., 2012. <http://www.portalhodowcy.pl/hodowca-bydla/260-numer-12012/2458-zywienie-krow-w-okresie-okoloporodowym-i-wczesnej-laktacji>
- Kwaśnicki R.R., 2007. Ocena cech mleczności w kolejnych fazach laktacji, sezonach roku i latach badań. Środowiskowe uwarunkowanie cech mleczności w stadzie bydła rasy czerwono-białej użytkowanego systemem alkiezowo-pastwiskowym w rejonie Podsudecia. WUP 2007, 32-34.

- Litwińczuk Z, Szulc T. (red.), 2006. Hodowla i użytkowanie bydła. PWRiL Warszawa.
- Majchrzak B., Gołębiowski M., 2008.<http://www.portalhodowcy.pl/hodowca-bydla/62-numer-9-2008/233-fizjologia-cyklu-rujowego-u-bydla>
- Neja W., 2011, <http://www.portalhodowcy.pl/hodowca-bydla/258-numer-122011/2423-wczesnie-zdiagnozowac-ciaze>
- Nowak W., Mikuła R., 2008.<http://www.agrosukces.pl/zywienie-krow-mlecznych-w-okresie-zasuszenia,78,hodowla,artykul.html>
- Pasternak A., Krzywiecki S., Iwanicka J., Osięgłowski S.R., 2005. Wpływ ilości paszy treściwej w dawkach w okresie okołoporodowym na wyniki produkcyjne i zdrowotność krów. Zesz. Nauk. AR Wrocław 529, 109-114.
- Szarek J., Kwaśnicki R., Adamczyk K., 2004. Rozród bydła dziś i jutro. Prz. Hod. 9.
- Szymańska A., 2002. Użytkowanie krów holsztyńsko-fryzyjskich w warunkach polskich.
- Węglarz A., 2003, Hodowla bydła. Wydawnictwo AR Kraków.



# GENETYCZNE I ŚRODOWISKOWE UWARUNKOWANIA NOWOTWORU SZYJKI MACICY – PROJEKT BADAWCZY

**Joanna Drózdź-Afelt<sup>1</sup>, Karolina Bombolewska<sup>1</sup>, Piotr Kamiński<sup>1</sup>,  
Maria Bogdzińska<sup>2</sup>, Roman Makarewicz<sup>3</sup>, Andrzej Lebioda<sup>3</sup>**

## 1. WPROWADZENIE

Ze względu na wzrost różnych zaburzeń w układzie rozrodczym człowieka prowadzone są obecnie liczne badania wyjaśniające przyczyny leżące u podstaw tego społecznego problemu. Wiele prac poświęcono sprawdzaniu hipotezy zakładającej wpływ czynników środowiskowych na funkcjonowanie ludzkich organów płciowych. Brane są pod uwagę aspekty zarówno bezpośredniego oddziaływania ksenobiotyków, jak i tła genetycznego, na który owe czynniki oddziałują.

Uważa się, że czynniki środowiskowe, takie jak nadmierne zanieczyszczenie metalami ciężkimi, wpływ ksenohormonów i nadmierny stres oddziałują na układ rozrodczy człowieka. Badania dotyczące kobiet wskazują na możliwą rolę środowiskowych kancerogenów w powstawaniu nowotworów, w tym raka szyjki macicy. Powszechnie zakłada się, że ten typ nowotworu jest wywoływany przez wirus HPV (Human Papilloma Virus), jednak tylko u niewielkiej części kobiet nim zainfekowanych rozwija się rak szyjki macicy. Z tego powodu podejrzewa się, że w jego etiologii mogą mieć znaczenie inne czynniki, w tym te środowiskowe [Nunobiki i in. 2011]. Oprócz wpływu możliwych kancerogenów bada się status enzymów antyoksydacyjnych oraz polimorfizmy genów odpowiedzialnych za naprawę uszkodzeń spowodowanych np. stresem środowiskowym.

Etiologia raka szyjki macicy mimo rozległej wiedzy dotyczącej jego zależności od zakażeń wirusem HPV wciąż nie jest wystarczająco poznana. Pod uwagę bierze się także status socjoekonomiczny, wczesne rozpoczęcie współżycia płciowego, palenie papierosów oraz stopień urbanizacji miejsc zamieszkania kobiet [Manoharan i in. 2004, Gonçalves i in. 2005, Ferreira da Silva i in. 2010, Nunobiki i in. 2011].

## 2. WPŁYW POSZCZEGÓLNYCH CZYNNIKÓW NA WYSTĘPOWANIE NOWOTWORU SZYJKI MACICY

### 2.1. Rola substancji kancerogennych

W badaniach raka szyjki macicy do tej pory nie koncentrowano się na konkretnych pierwiastkach czy związkach mających możliwy wpływ na zwiększanie podatności na nowotwór.

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Zakład Ekologii i Ochrony Środowiska, ul. M. Curie-Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz, e-mail: joannadr@doktorant.umk.pl

<sup>2</sup> Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Zakład Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt, ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz

<sup>3</sup> Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Katedra i Klinika Onkologii i Brachyterapii, ul. dr J. Romanowskiej 2, 85-796 Bydgoszcz

Betenia i in. [2011] przeanalizowali wielostronność uwarunkowań i prawdopodobną rolę substancji kancerogennych zawartych w płynach z obróbki metali na raka szyjki macicy u kobiet ekspozowanych. Nie uzyskano jednoznacznych rezultatów, lecz autorzy sugerują możliwą rolę tych czynników w etiologii nowotworu.

Inne prace dotyczące związku ekspozycji zawodowej z rakiem szyjki macicy dostarczają sprzecznych danych. Niektóre wskazują na możliwość zwiększonego ryzyka rozwoju choroby u kobiet pracujących przy produkcji odzieży, urządzeń elektrycznych, obróbce drewna i produkcji silników samochodowych, a inne – na brak związków z wykonywanym zawodem, a więc i narażeniem na pewne substancje uznawane za rakotwórcze [Betenia i in. 2011].

## 2.2. Aktywność enzymów antyoksydacyjnych

W przypadku raka szyjki macicy prowadzono także analizy dotyczące funkcjonowania mechanizmów odpowiedzialnych za unieczynnienie i wydalanie z organizmu toksycznych substancji uznawanych za ksenobiotyki. Od dawna wiadomo, że stres oksydacyjny, któremu sprzyjają pewne czynniki środowiskowe, wywołuje wzmożone działanie antyoksydantów, a od nich zależy stan wewnątrzkomórkowej homeostazy. Gdy to działanie jest zaburzone, organizm traci odpowiednią obronę i może być narażony na rozmaite uszkodzenia, w tym zmiany w materiale genetycznym, skutkujące powstawaniem nowotworów [Agarwal i in. 2006].

Wskaźniki statusu antyoksydacyjnego analizowano w odniesieniu do raka szyjki macicy i stwierdzono istotne różnice w aktywności enzymów antyoksydacyjnych, gdy porównywano pacjentki ze zdrowymi kobietami z grupy kontrolnej. Mukundan i in. [1999] zauważyli, że u kobiet z rakiem szyjki macicy poziom peroksydazy glutationowej był znacząco niższy niż w grupie kontrolnej. Analogiczne wyniki przedstawiali Sharma i in. [2007], dodatkowo wskazując na niższe poziomy katalazy (CAT) i transferazy S-glutationowej (GST) w przypadku chorych osób przed chemioterapią [Manoharan i in. 2004]. Ponadto Woźniak i in. [2007] wykazali, że po przeprowadzeniu leczenia poziom enzymów wrócił do wartości porównywalnych ze zdrową populacją, co świadczy o skuteczności terapii [Manoharan i in. 2004]. Demirci i in. [2011] sugerują, że takie zaburzenia poziomów enzymów antyoksydacyjnych towarzyszące nowotworom szyjki macicy mogą powodować nagromadzenie wolnych rodników i rozpoczęcie procesu nowotworzenia. Niewykluczone, że to proces kancerogenezy zaburza syntezę enzymów, co w konsekwencji jeszcze silniej wpływa na upośledzenie możliwości obrony chorej przed negatywnym wpływem ksenobiotyków [Demirci i in. 2011].

Badania poziomu enzymów antyoksydacyjnych w raku szyjki macicy często dają sprzeczne wyniki, na co wskazują różne doniesienia o aktywności dysmutazy ponadtlenkowej. Jednak większość prac wskazuje na zaburzony status antyoksydacyjny u chorych pacjentek [Arsova-Sarafinovska i in. 2009]. Dlatego naukowcy sugerują potrzebę dalszych studiów, jak również włączenie badań genetycznych polimorfizmów odpowiedzialnych za działanie enzymów, co dostarczyłoby ważnych informacji określających rolę antyoksydacyjnych mechanizmów w patogenezie raka szyjki macicy [Demirci i in. 2011, Manoharan i in. 2004].

### 2.3. Wpływ czynników genetycznych

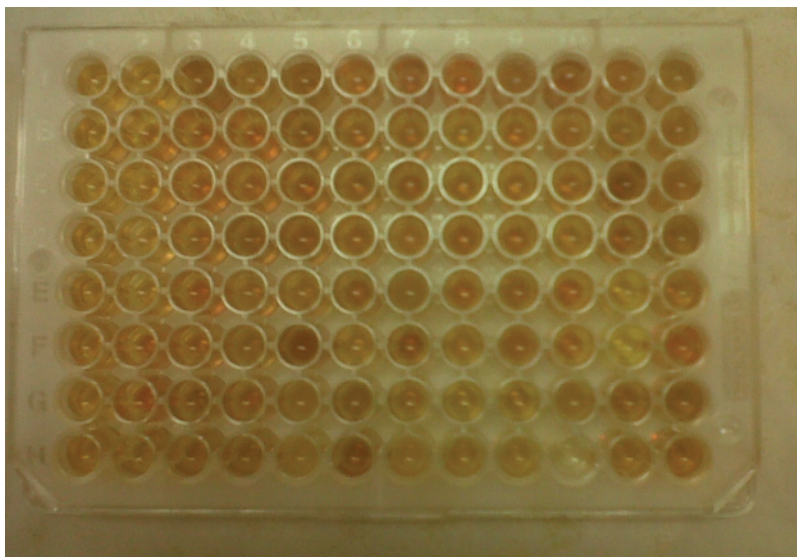
Niewiele publikacji skupia się na genetycznie uwarunkowanej podatności kobiet na raka szyjki macicy zarówno w obecności zakażenia wirusem HPV, jak i bez jego udziału.

Nunobiki i in. [2011] w artykule przeglądowym wśród najczęściej badanych polimorfizmów wymieniają zmiany genów izoform transferazy S-glutationowej, genu białka p53, genu MDM2 i genu promotora FAS-670. W wymienionej pracy przeanalizowano delecje występujące w izoformach GSTM1 i GSTT1 transferazy S-glutationowej, które mogą powodować wzmożone oddziaływanie stresu oksydacyjnego oraz powstawanie adduktów DNA. Wykazano, że zmiany w GSTT1 są ściśle związane z kancerogenezą w obrębie szyjki macicy, a także z wysokim ryzykiem zakażenia wirusem HPV [Nunobiki i in. 2011].

W przypadku badań polimorfizmów genu białka p53 u pacjentek z rakiem szyjki macicy pojawiają się rozbieżne dane dotyczące tych związków. Ferreira da Silva i in. [2010], analizując częstość polimorfizmu kodonu 72, wykazali, że wariant Arg/Pro jest istotnym czynnikiem rozwoju raka w porównaniu z wariantem genetycznym Pro/Pro, dla którego takich związków nie wykazano. Z kolei Nunobiki i in. [2011] nie wykazali występowania znaczących związków, co sugerują także inne dostępne publikacje. Niejednoznaczne wyniki stanowią asumpt do dalszych badań, mających na celu jasne określenie ewentualnych związków między polimorfizmami określonych genów a występowaniem raka szyjki macicy.

## 3. OPIS PLANOWANEGO BADANIA

Mając na uwadze powyżej wymienione przesłanki, postanowiono zbadać możliwe środowiskowe aspekty uwarunkowań raka szyjki macicy, co ma przybliżyć wyjaśnienie związku czynników środowiskowych z rozwojem tego nowotworu. Metodyka badania obejmować będzie analizę molekularną wybranych polimorfizmów genetycznych związanych z zaburzeniami naprawy uszkodzeń wywołanych m.in. wpływem środowiska, które mogą mieć znaczenie w zwiększaniu podatności na raka szyjki macicy. W tym celu przeprowadzona zostanie izolacja DNA, reakcja PCR-RFLP z użyciem odpowiednich starterów i enzymów restrykcyjnych rozpoznających dany polimorfizm (genów transferazy S-glutationowej oraz genu białka p53). Ponadto zamierzane jest oznaczenie wybranych pierwiastków we krwi za pomocą spektrometru z indukcyjnie sprzężoną plazmą. Spektrometry emisyjny (ICP-OES) i masowy (ICP-MS) umożliwiają oznaczenie różnych pierwiastków w jednej analizie. Planowane też jest oznaczenie poziomu wybranych enzymów antyoksydacyjnych w surowicy krwi za pomocą gotowych zestawów testowych ELISA, które pozwolą na ilościowe oznaczenie enzymów antyoksydacyjnych w materiale pobranym od pacjentów (rys. 1).



Rys. 1. Płytką testową do badania aktywności enzymów antyoksydacyjnych, np. katalazy lub dysmutazy ponadtlenkowej [fot. autorka]

Badania prowadzone będą z udziałem osób chorych: ok. 80 pacjentek Oddziału Klinicznego Onkologii i Brachyterapii w Centrum Onkologii im. prof. Franciszka Łukaszczyka w Bydgoszczy ze zdiagnozowanym rakiem szyjki macicy (jest to grupa pacjentów wyselekcjonowanych na podstawie wieku, miejsca pracy, środowiska życia, nałogów, diety, innych chorób, wywiadu rodowodowo-klinicznego i wypełnionych ankiet). Grupę kontrolną stanowić będą zdrowe pacjentki (80 kobiet) z SP ZOZ w Mogilnie, w tym zamieszkujące tereny wiejskie (mniej zanieczyszczone) przez co najmniej 10 lat.

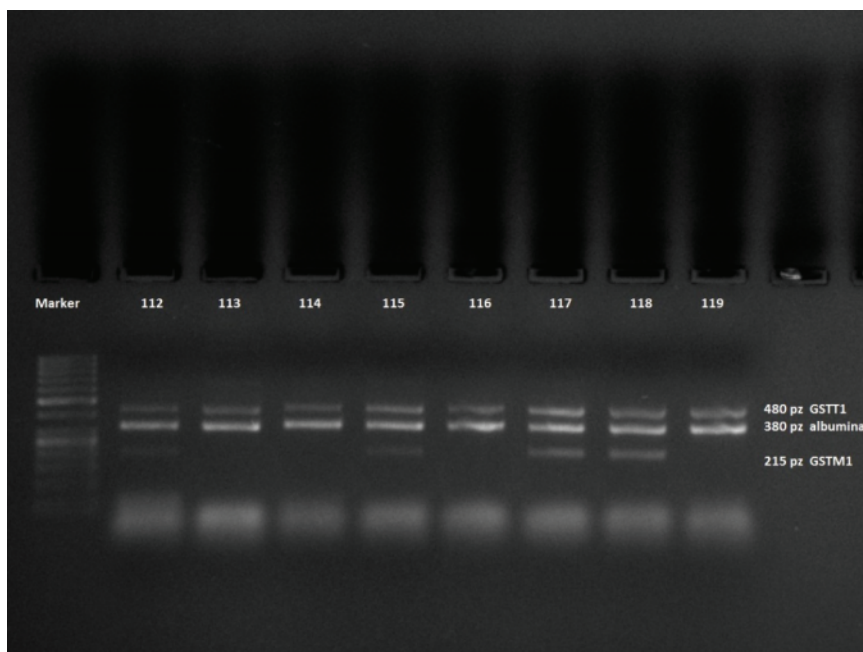
Na podstawie uzyskanych wyników przeprowadzona zostanie statystyczna analiza porównawcza, która być może przyczyni się do jednoznacznego wyjaśnienia, czy czynniki środowiskowe uczestniczą w rozwoju raka szyjki macicy. Oczekiwane jest wykazanie wielostronnych interakcji pomiędzy narażeniem na stresory środowiskowe a zwiększoną zapadalnością na nowotwory układu rozrodczego. Istotne znaczenie w środowiskowych uwarunkowaniach nowotworów układu rozrodczego u człowieka mogą odgrywać niektóre pierwiastki, wprowadzane z aktywnymi grupami chemicznymi do organizmu z zanieczyszczonym powietrzem, wodą i pożywieniem, a także te przyjmowane jako suplementy diety. Pacjenci ze zmianami nowotworowymi być może będą mieli zaburzony status enzymów antyoksydacyjnych (równowagę pro-antyoksydacyjną), co może stanowić pierwotne podłoże ich zmniejszonej zdolności obronnej przed czynnikami kancerogennymi lub być efektem zaburzonej homeostazy organizmu w wyniku przebiegu procesu nowotworowego. Ponadto analiza polimorfizmów genów naprawczych być może wykaże istniejące zaburzenia syntezy i metabolizmu białek istotnych w obronie organizmu przed ksenobiotykami. W wyniku przeprowadzenia proponowanych badań spodziewane jest uzyskanie istotnych pod względem medycznym danych, rozstrzygających, w jakim stopniu wpływ czynników środowiskowych ma znaczenie w inicjacji i powstawaniu procesów kancerogennych szyjki macicy.

#### 4. DOTYCHCZASOWE WYNIKI

Do tej pory przeprowadzono analizę polimorfizmów transferazy S-glutationowej u 19 kobiet z nowotworem szyjki macicy oraz zbadano aktywność katalazy u 16 kobiet z grupy nowotworowej, a także u 16 zdrowych kobiet z grupy kontrolnej. Ponadto przeprowadzono analizę aktywności dysmutazy ponadtlenkowej u 18 kobiet z nowotworem i analogicznie u 18 kobiet zdrowych.

Wyniki analizy wariantów genetycznych GSTT1 i GSTM1 (rys. 2) pozwalają jedynie na stwierdzenie, że wśród grupy badanej występuje polimorficzność badanych fragmentów DNA. Jest to jak na razie zbyt mało liczna grupa, aby móc pokusić się o bardziej skonkretyzowane wnioski, a uzyskane rezultaty wymagają porównania z odpowiednio liczną grupą kontrolną. Wyniki umożliwiają stwierdzenie, że wśród 19 kobiet z nowotworem szyjki macicy odpowiednie genotypy rozkładają się w sposób następujący:

- GSTM1+/GSTT1+ → 58% (oba warianty genetyczne występują),
- GSTM1-/GSTT1+ → 42% (delecja GSTM1, obecność GSTT1),
- GSTM1+/GSTT1- → brak (obecność GSTM1, delecja GSTT1),
- GSTM1-/GSTT1- → brak (jednoczesna delecja GSTM1 i GSTT1).



Rys. 2. Obraz elektroforetycznego rozdziału fragmentów uzyskanych w reakcji Multiplex PCR, umożliwiającej wykazanie obecności bądź delecji wariantów genetycznych GSTT1 i GSTM1 u pacjentek z nowotworem szyjki macicy [fot. autorka]

Analiza aktywności enzymów antyoksydacyjnych pozwala jedynie na wstępne przedstawienie możliwości istnienia różnic między badaną grupą nowotworową a grupą kontrolną. Jednak są to zbyt mało liczne grupy, aby przeprowadzić zaawansowaną analizę statystyczną.

W dalszym toku badań planowane jest uzyskanie danych pochodzących od 60 pacjentek z nowotworem szyjki macicy oraz 60 kobiet z grupy kontrolnej, co umożliwi ocenę ewentualnych różnic w badanym zakresie.

## 5. PODSUMOWANIE

Rak szyjki macicy, który jest drugim najczęstszym nowotworem występującym u kobiet na świecie, stanowi przyczynę śmierci prawie 2 tys. Polek rocznie [Bedkowska i in. 2009].

Jednym z głównych czynników etiologicznych raka szyjki macicy jest infekcja wirusem brodawczaka ludzkiego HPV. Jednak mając na uwadze, iż wirusem tym jest zainfekowana większa część populacji ludzkiej, a nowotwór dotyczy jedynie niewielkiego odsetka nosicieli, powinno się zwrócić uwagę na możliwe dodatkowe czynniki wywołujące rozwój nowotworu.

Badania sugerują, że można włączyć czynniki środowiskowe w patogenezę raka szyjki macicy [Ferreira da Silva i in. 2010], co być może pozwoli na lepsze poznanie nowotworu, a w przyszłości umożliwi działania prewencyjne.

## LITERATURA

Agarwal A., Gupta S., Sikka S., 2006. The role of free radicals and antioxidants in reproduction. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 18, 325-332.

Arsova-Sarafinovska Z., Eken A., Matevska N., Erdem O., Sayal A., Savaser A., Banev S., Petrovski D., Dzikova S., Georgiev V., Sikole A., Özgök Y., Suturkova L., Dimovski A.J., Aydin A., 2009. Increased oxidative/nitrosative stress and decreased antioxidant enzyme activities in prostate cancer. *Clin. Biochem.* 42, 1228-1235.

Bedkowska G.E., Ławicki S., Szmitkowski M., 2009. Molecular markers of carcinogenesis in the diagnostics of cervical cancer. *Post. Hig. Med. Dośw.* 63, 99-105.

Betenia N., Costello S., Eisen E.A., 2012. Risk of cervical cancer among female auto-workers exposed to metalworking fluids. *Scand. J. Work Environ. Health* 38(1), 78-83.

Demirci S., Ozsaran Z., Celik H.A., Aras A.B., Aydin H.H., 2011. The interaction between antioxidant status and cervical cancer: a case control study. *Tumori* 97, 290-295.

Ferreira da Silva I., Koifman R.J., Quinto Santos Souza C., Ferreira de Almeida Neto O., Koifman S., 2010. TP53 genetic polymorphisms and environmental risk factors associated with cervical carcinogenesis in a cohort of Brazilian women with cervical lesions. *J. Toxicol. Environ. Health A73*, 888-900.

Gonçalves T.L., Erthal F., Corte C.L., Müller L.G., Piovezan C.M., Nogueira C.W., Rocha J.B., 2005. Involvement of oxidative stress in the pre-malignant and malignant states of cervical cancer in women. *Clin. Biochem.* 38, 1071-1075.

Mukundan H., Bahadur A.K., Kumar A., Sardana S., Naik S.L., Ray A., Sharma B.K., 1999. Glutathione level and its relation to radiation therapy in patients with cancer of uterine cervix. *Indian J. Exp. Biol.* 37, 859-864.



Manoharan S., Kolanjiappan K., Kayalvizhi M., 2004. Enhanced lipid peroxidation and impaired enzymic antioxidant activities in the erythrocytes of patients with cervical carcinoma. *Cell Mol. Biol. Lett.* 9, 699-707.

Nunobiki O., Ueda M., Toji E., Yamamoto M., Akashi K., Sato N., Izuma S., Torii K., Tanaka I., Okamoto Y., Noda S., 2011. Genetic Polymorphism of Cancer Susceptibility Genes and HPV Infection in Cervical Carcinogenesis. *Patolog. Res. Int.*, <http://dx.doi.org/10.4061/2011/364069>.

Sharma A., Rajappa M., Saxena A., Sharma M., 2007. Antioxidant status in advanced cervical cancer patients undergoing neoadjuvant chemoradiation. *Br. J. Biomed. Sci.* 64, 23-27.

Woźniak B., Mila-Kierzenkowska C., Kędziora-Kornatowska K., Drewa T., Drewa G., Woźniak A., Krzyżyńska-Malinowska E., Makarewicz R., 2007. Influence of the management of cervical carcinoma on the activity of catalase and glutathione peroxidase in erythrocytes. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* 28, 461-463.





# PREPARATY MIKROORGANIZMÓW EFEKTYWNYCH (EM)

Andrzej Wojciech Filipiak<sup>1</sup>

## 1. WSTĘP

W ostatnich dziesięcioleciach obserwuje się zjawisko ograniczenia chemizacji rolnictwa kosztem wdrażania metod biologicznych w uprawie roślin i chowie zwierząt [Janas i Grzesik 2006]. Dzięki temu dużą popularność zdobyły preparaty zawierające niepatogenne lub hipowirulentne mikroorganizmy o pozytywnym działaniu na środowisko [Okorski 2007, Małuszyńska i in. 2012]. W wielu krajach stosuje się szczepionkę mikrobiologiczną efektywnych mikroorganizmów (zwaną EM) [Iwaishi 2000, Janas 2009]. Aktualnie w praktyce rolniczej stosowane są preparaty EM w celu: ograniczenia rozwoju patogenów i szkodników, ograniczenia procesów gnilnych, zwiększenia zawartości próchnicy, poprawy przyswajalności trudno dostępnych związków [Czaban i in. 2004, Tomalak 2007, Stępień i Adamiak 2009, Lipa i Pruszyński 2010] oraz stymulacji wzrostu i plonowania roślin [Vessey 2003, Dahm i in. 2010]. Podejmowane są także próby wykorzystania działania tych domieszek w innych gałęziach rolnictwa, np. gospodarce komunalnej [Breza-Boruta i in. 2010].

## 2. PREPARATY MIKROORGANIZMÓW EFEKTYWNYCH (EM)

Na rynku dostępnych jest wiele środków, które nazywane są preparatami biologicznymi. Zawierają oprócz mikroorganizmów pożytecznych także inne substancje (tabela 1) [Truba i in. 2012]. Do takich preparatów należą m.in.: ekstrakty z humusu (Humistar, HumiPlant) [Truba i in. 2012], biostymulatory (Asahi SL, Atonik SL) [Maciejewski i in. 2007], szczepionki bakteryjne/użyźniacze glebowe (UGmax) [Bernat 2007, Zarzecka i Gugała 2012], stymulatory odporności (Bion 50 WG, Com-Cat) [Koziera i in. 2006], ekstrakty z alg (HumiPlant, AlgaminoPlant) [Dobrzański in. 2008], (Bio-Algeen S90, Goëmar Goteo) [Truba i in. 2012], preparaty EM zawierające mikroorganizmy efektywne [Boliłłowa 2007, Boliłłowa i Gleń 2008].

Technologia wytwarzania mikroorganizmów efektywnych została opracowana w latach 80. przez japońskiego prof. Teruo Higa z Uniwersytetu Ryukyus w Okinawie [Higa i Parr 1994, Badura 2004, Higa 2005, Singh 2007]. Preparaty EM to mieszanina 80 organizmów, w skład których wchodzi pięć grup (bakterie fotosyntetyzujące, bakterie fermentacji mlekowej i propionowej, promieniowce, drożdże, grzyby) charakteryzujących się odmiennym działaniem [Higa i Parr 1994, Higa 1998, 2003, Badura 2004, Grabas i in. 2010] (tabela 2). Preparaty mikroorganizmów efektywnych to mieszanina kultur mikroorganizmów autochtonicznych, bezpiecznych i nie stanowiących zagrożenia dla ekosystemów [Higa 2003]. Odnacza się ona niskim pH (ok. 3,5) i wykazuje duże możliwości adaptacyjne do zróżnicowanych warunków środowiskowych [Dach i in. 2009].

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy, Wydział Rolnictwa i Biotechnologii, Katedra Mikrobiologii i Technologii Żywności, ul. Bernardyńska 6/8, 85-029 Bydgoszcz, e-mail: andrzej.filipiak@o2.pl

Wraz ze zwiększającą się liczbą gospodarstw ekologicznych i wzrostem zainteresowania naturalnymi metodami uprawy roślin i hodowli zwierząt zwrócono uwagę na możliwość szerokiego wykorzystania preparatów EM zarówno w gospodarstwach ekologicznych, jak i tradycyjnych [Truba i in. 2012].

Tabela 1. Skład wybranych preparatów biologicznych [Truba i in. 2012]

| Preparat biologiczny | Makro- i mikroelementy |   |   |    |    |    | Inne składniki                                       | Mikroorganizmy |
|----------------------|------------------------|---|---|----|----|----|------------------------------------------------------|----------------|
|                      | N                      | P | K | Mg | Ca | Mn |                                                      |                |
| Bactofil A           | +                      | + | + | +  | +  | -  | As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Se                   | +              |
| Bio-Algeen           | +                      | + | + | +  | +  | +  | glony morskie i wodorosty, B, Fe, Cu, Zn, Mo, Se, Co | -              |
| EM                   | -                      | - | - | -  | -  | -  | -                                                    | +              |
| Goëmar Go-teo        | -                      | + | + | -  | -  | -  | <i>Ascophyllum nodosum</i>                           | -              |
| HumiPlant            | -                      | - | + | +  | +  | +  | kwasy huminowe i fulwowe, Fe, S, B, Mo, Zn, Cu       | -              |
| Phylazonit M         | -                      | - | - | -  | -  | -  | Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Se                       | +              |
| UGmax                | +                      | + | + | +  | -  | +  | Na                                                   | +              |

Objaśnienia: brak składnika/brak danych (-), obecny składnik (+)

Tabela 2. Składowe preparatów mikroorganizmów efektywnych EM [Higa i Parr 1994, Higa 1998, 2003, 2005, Schlege 2001, Badura 2004, Kraszewska i in. 2005, Grabas i in. 2010, Salyers 2010]

| Grupa bakterii             | Rodzaj bakterii                                                                    | Działanie                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Bakterie fotosyntetyzujące | purpurowe bakterie bezsiarkowe ( <i>Rhodopseudomonas</i> , <i>Rhodospirillum</i> ) | <ul style="list-style-type: none"> <li>bakterie z rodzaju <i>Rhodopseudomonas</i> mają możliwość degradacji w warunkach beztlenowych związków aromatycznych, w warunkach tlenowych czerpią energię z degradacji cukrów, metanolu i ligniny</li> <li>bakterie z rodzaju <i>Rhodospirillum</i> charakteryzują się zdolnością degradowania chlorowanych kwasów organicznych poprzez usuwanie z nich chloru i tym samym przyswajanie kwasu organicznego</li> </ul> <p>Bakterie z rodzaju <i>Rhodopseudomonas</i> i <i>Rhodospirillum</i> mają zdolność wiązania azotu atmosferycznego</p> |
|                            | purpurowe bakterie siarkowe ( <i>Chromatium</i> )                                  | charakteryzują się możliwością rozkładu siarkowodoru, który jest wykorzystywany w procesie fotosyntezy)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|                            | zielone bakterie siarkowe ( <i>Chlorobium</i> )                                    | wykazują zdolność wykorzystywania siarkowodoru, siarki i tiosiarczuanu w procesach chemicznych                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |

|                                             |                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|---------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Bakterie fermentacji mlekowej i propionowej | <i>Lactobacillus, Pediococcus, Streptococcus, Propionobacterium</i>  | bakterie fermentacji mlekowej posiadają zdolność produkcji diacetylu i nadtlenku wodoru oraz obniżają pH poprzez produkcję kwasu mlekowego, octowego i propionowego, ale także wytwarzają niskocząsteczkowe produkty przemiany materii, np. reuterinę                                                                                                                                                                                                                                                   |
| Promieniowce                                | <i>Streptomyces, Streptocoverticillium, Nocardia, Micromonospora</i> | wykorzystują jako źródło energii: kwasy tłuszczowe, aminokwasy, węglowodory oraz cukry złożone. W przypadku substratów trudno rozkładalnych, tj.: chityna, lignina i celuloza, promieniowce umożliwiają wprowadzenie produktów rozkładu tych związków w dalszy obieg przemian biologicznych. Promieniowce charakteryzują się zdolnością antagonizmu wobec bakterii rozwijających się odpadach (produkują wobec nich substancje antybiotyczne) lub przyspieszają wiązanie azotu przez <i>Azotobacter</i> |
| Drożdże                                     | <i>Aspergillus, Mucor</i>                                            | mają zdolność produkcji hormonów i enzymów, które wykazując pozytywny efekt na podział komórek, poprzez ich aktywację                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| Grzyby                                      | <i>Saccharomyces, Candida</i>                                        | uczestniczą w rozkładzie materii organicznej poprzez wydzielanie enzymów lipolitycznych i hydrolitycznych. Grzyby pleśniowe produkują, jako wtórne metabolity, antybiotyki, które mogą redukować liczbę niepożądanych mikroorganizmów                                                                                                                                                                                                                                                                   |

### 3. ZASTOSOWANIE PREPARATÓW EM

Gospodarowanie w produkcji roślinnej i zwierzęcej oparte na środkach pochodzenia biologicznego wyklucza używanie środków chemicznych [Mazur i Ciećko 2000, Tyburski 2004, Szwed 2009]. Stosowanie dużych ilości nawozów mineralnych i środków ochrony roślin może powodować różne zaburzenia w obrębie równowagi mikrobiologicznej gleby oraz obniżać wielkość uzyskiwanych plonów. Jednym ze sposobów odbudowy naturalnej aktywności biologicznej gleby stało się stosowanie preparatów mikrobiologicznych [Barabasz i in. 2002]. Według Boligłowy i in. [2008], Kaczmarek i in. [2007] oraz Stielowa [2003] ich stosowanie korzystnie wpływa na poprawę właściwości fizycznych i chemicznych gleby. Ograniczają one procesy gnilne w glebie, powodują wzrost poziomu próchnicy. Biorą ponadto udział w bioremediacji skażonej gleby przez pestycydy, poprawiają zdolność przyswajalności związków trudno dostępnych przez rośliny i hamują rozwój fitopatogenów [Iwaishi 2000, Yamada i Xu 2000, Stielow 2003, Kaczmarek i in. 2007, Singh 2007, Boligłowa i Gleń 2008]. W badaniach Kołodziejczyka i in. [2012a, b] wykazano, że stosowanie preparatów EM istotnie wpły-

nęło na gęstość ziarna pszenicy jarej w stanie usypowym oraz na wielkość plonu ziarna i obsady kłosów. Zaobserwowano pozytywne efekty w zakresie wzrostu wartości parametrów biometrycznych pszenicy ozimej w różnych fazach rozwojowych zboża oraz pozytywne rezultaty podczas stosowania nalistnego i doglebowego w przypadku uprawy rzepaku ozimego [Klama i in. 2010]. Podobne efekty odnotowano podczas stosowania obornika ze szczepionką EM w uprawie kukurydzy [Shah i in. 2001]. Preparaty EM przyczyniają się do wzrostu liczebności bakterii właściwych, promieniowców i grzybów w efekcie stosowania doglebowego [Kaczmarek i in. 2008]. Preparaty EM są szeroko stosowane w ogrodnictwie i w warzywnictwie [Cóndor Golec i in. 2007]. W przypadku uprawy pelargonii uzyskano korzystne efekty w zakresie liczby pąków i kwiatów, a także wczesności kwitnienia [Wolna-Maruwka i in. 2010].

W ostatnich latach zainteresowanie wzbudziła możliwość wykorzystania preparatów EM do ograniczenia uciążliwości zapachowej w osadach (odwodnionych, przetwarzanych i stabilizowanych), skratkach i odpadach ściekowych, co potwierdziły badania Grabas [2010]. Pozytywne efekty w postaci poprawy parametrów charakteryzujących ścieki po zastosowaniu kompozytu EM przedstawiono w badaniach Dacha i in. [2009], Breza-Boruty i in. [2010] oraz Namsivayama i in. [2011]. Według doniesień wyłącznego dystrybutora preparatów EM w Polsce (firmy EM-WORLD) stosowanie preparatów EM u zwierząt stało- i zmiennocieplnych (trzoda chlewna, drób, kozy, konie, pszczoły, psy, koty, ptaki, chomiki, ryby) przyniosło zadowalające skutki w obrębie utrzymania prawidłowej flory i fauny bakteryjnej w pomieszczeniach inwentarskich i klatkach [Biuletyn informacyjny EM-WORLD Polska]. Preparaty EM znalazły zastosowanie również w procesach technologii żywności; są używane do usuwania tłuszczu z produktów żywnościowych [Siripornadulsil i Labteephanao 2008].

#### 4. ISTOTA DZIAŁANIA PREPARATÓW EM

Poszczególne grupy mikroorganizmów wchodzących w skład preparatów EM wykazują działanie antagonistyczne wobec drobnoustrojów patogennych i szkodników roślin. Składowe kompozytu EM cechuje także synergia, np. bakterie fotosyntetyzujące wpływają korzystnie na działanie promieniowców. Również wydzieliny grzybów *Saccharomyces* i *Candida* są pożytecznymi substratami dla bakterii kwasu mlekowego i promieniowców [Higa 1995, 1998, Schlegel 2001, Grabas i in. 2010, Salyers 2010].

Antagonistyczne działanie mieszanek EM polega na:

- produkcji bakteriocyn – białkowych metabolitów wytwarzanych zarówno przez bakterie gramdodatnie (G+), jak i gramujemne (G-), wykazujących działanie przeciwdrobnoustrojowe, do których zaliczane są:
  - ✓ tioniny (rodzina homologicznych peptydów otrzymane z roślin różnych gatunków) [Garcia-Olmedo i in. 1998],
  - ✓ defensyny (małe (3-5 kDa) – peptydy przeciwdrobnoustrojowe o strukturze  $\beta$ -harmonijki, zawierające zwykle sześć reszt cysteinowych, które są połączone trzema mostkami dwusiarczkowymi) [Żyłowska i in. 2011],
  - ✓ magaininy (antybakteryjne peptydy produkcji zwierzęcej o kształcie  $\alpha$ -helisy) [Smolarczyk i in. 2009],
  - ✓ cekropiny (antybakteryjne peptydy produkcji zwierzęcej o kształcie  $\alpha$ -helisy [Mader i Hoskin 2006].

Bakteriocyny charakteryzują się dwoma sposobami działania: bakteriobójczym (dominujący charakter) lub bakteriostatycznym. Mechanizm działania bakteriocyn polega na:

- destabilizacji błony cytoplazmatycznej bakterii poprzez tworzenie w niej kompleksów przejściowych poracyjnych i kanałów jonowych, co w konsekwencji prowadzi do zaburzenia potencjału membranowego, gradientu pH oraz zahamowania funkcji pompy proteinowej [Moll i in. 1999, Brogden 2005]
- poprzez lizę komórki w momencie, gdy bakteriocyna wchodzi w reakcję z kwasem tejchajowym lub tejchuronowym [González i in. 1994, Jack i in. 1995].

W przypadku bakterii mlekowych zwrócono uwagę również na inne sposoby działania przeciwdrobnoustrojowego. Bakterie z tej grupy dodatkowo – oprócz produkcji bakteriocyn (np. reuteryny) – również mają zdolność do:

- obniżania pH w przewodzie pokarmowym poprzez wytwarzanie metabolitów kwasu mlekowego, octowego i propionowego (antybakteryjny wpływ kwasów organicznych jest efektem nagłego obniżenia pH, co powoduje inhibicję aktywności biochemicznej mikroorganizmów poprzez niezdysocjonowane cząsteczki kwasu), etanolu, CO<sub>2</sub>,
- syntezy nadtlenu wodoru (hamuje i zabija te bakterie, które nie wytwarzają enzymów, tj.: katalaza lub peroksydaza) [Sinha 1986, Eschebanch i in. 1989, El-Ziney i in. 1994, Dorsa i in. 1997, Hartnett i in. 2002, Soomoro i in. 2002, Biniek i in. 2004]

Mechanizmy działania bakterii kwasu mlekowego są złożone, ale u podłoża ich skuteczności leży konkurencja o składniki pokarmowe oraz współzawodnictwo w zasiedlaniu obszaru bytowania bakterii w stosunku do organizmów patogennych (*Salmonella* sp., *Vibrio* sp., *Escherichia coli*, *Candida*). Pałeczki kwasu mlekowego oraz gatunki pokrewne produkują metabolity, które mają właściwości antagonistyczne wobec bakterii patogennych [Kot i in. 2000, Bednarski i Kuczkowski 2006]. Związki syntetyzowane przez bakterie fermentacji mlekowej hamują rozwój bakterii G<sup>+</sup> (*Micrococcus*, *Staphylococcus*) poprzez produkcję bakteriocyn oraz bakterii G<sup>-</sup> (*Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiela*, *Escherichia*) poprzez produkcję kwasów organicznych [Abee i in. 1995, Ogunbanwo i in. 2003].

## 5. PODSUMOWANIE

Trwają ciągle prace nad udoskonalaniem preparatów EM. Akceptacja ze strony zwykłych konsumentów daje dowody na możliwości wykorzystania ich w praktyce, jakkolwiek niekiedy brak w pełni potwierdzonych naukowo dowodów ich działania.

## LITERATURA

- Abee T., Krockel L., Hill C., 1995. Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. *Int. J. Food Microbiol.* 28, 169-185.
- Badura L., 2004. Czy znamy wszystkie uwarunkowania funkcji mikroorganizmów w ekosystemach lądowych? *Kosmos. Prob. Nauk Biol.* 53(3-4), 264-265; 373-379.
- Barabasz W., Albińska D., Jaśkowska M., 2002. Biological effects of mineral nitrogen fertilization on soil microorganisms. *Pol. J. Environ. Stud.* 11(3), 193-198.

Bednarski M., Kuczkowski M., 2006. Antagonistyczne działanie bakterii zawartych w preparatach probiotycznych w odniesieniu do *S. enteritidis* i enteropatogennych szczepów *E. coli*. Acta Sci. Pol., Med. Vet. 5(2), 83-90.

Bernat E., 2007. Wpływ stosowania użyźniacza glebowego na plonowanie i zdrowotność ziemniaków. Mat. Konf. Nauk. Szkol. Nasiennictwo i ochrona ziemniaka, Kołobrzeg, 43-46.

Biniak M., Błaszczak B., Kizerwetter-Świda M., 2004. Badania ukierunkowane w zakresie regularnych gramdodatnich pałeczek. [W:] Zarys klinicznej bakteriologii weterynaryjnej, K. Malicki, M. Biniak (red.), SGGW Warszawa, 279-293.

Biuletyn informacyjny EM-WORLD Polska, <http://www.probiotics.pl/stosowanie-probio-emow/zwierzeta.html>

Boligłowa E., 2007. Ochrona ziemniaka przy użyciu Efektywnych Mikroorganizmów (EM). Magazyn Farmerski 4, 60-62.

Boligłowa E., Gleń K., 2008. Assessment of effective microorganism activity (EM) in winter wheat protection against fungal diseases. Ecol. Chem. Eng. 15(1-2), 23-27.

Breza-Boruta B., Herman J., Paluszak Z., Troczyński M., Borowski S., Gutarowska B., Wojewódzki P., 2010. Prognozowanie i zapobieganie emisji odorów i bioaerozoli do środowiska w przemyśle rolno-spożywczym i gospodarce komunalnej. [W:] Współczesna problematyka odorów, M.J. Szykowska, J. Zwoździak (red.), WNT Warszawa, 408-418.

Brogden K.A., 2005. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria? Nat. Rev. Microbiol. 3, 238-250.

Cóndor Golec A.F., Pérez González P., Lokare Chinamy, 2007. Effective Microorganisms: Myth or reality? Rev. Peru. Boil. 14(2), 315-319.

Czaban J., Księżniak A., Paszkowski W., 2004. An attempt to protect winter wheat against *Fusarium culmorum* by the use of rhizobacteria *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus mycodies*. Pol. J. Microbiol. 53, 175-182.

Dach J., Wolna-Maruwka A., Zbytek Z., 2009. Wpływ dodatku efektywnych mikroorganizmów (EM) na przebieg procesu kompostowania i wielkość emisji gazowych. J. Res. App. Agric Eng. 54(3), 49-55.

Dahm H., Wrótniak-Drzewiecka W., Pauter A., 2010. Microbial biofertilizers. [W:] Physical, chemical and biological processes in soils. L.W. Szajdak, A.K. Karabanow (red.), Prodrak Poznań, 537-547.

Dobrzański A., Anyszka Z., Elkner K., 2008. Reakcja marchwi na ekstrakty pochodzenia naturalnego z alg z rodzaju *Sargassum* – Algaminoplant i z leonardytu – Humiplant. J. Res. App. Agric Eng. 53(3), 53-58.

Dorsa W.J., Cutter C.N., Siragusa G.R., 1997. Effects of acetic acid, lactic acid and trisodium phosphate on the microflora of refrigerated beef carcass surface tissue inoculated with *Escherichia coli* 0157-H7, *Listeria innocua* and *Clostridium sporogenes*. J. Food Protect. 60(6), 619-624.



- El-Ziney M.G., van dem Tempel T., Debevere J., Jakobsen M., 1994. Application of reuterin produced by *Lactobacillus reuteri* 12002 for meat decontamination and preservation. *J. Food Protect.* 62(3), 257-261.
- Eschebanch D.A., Davick P.R., Williams B.L., Klebanoff S.J., Young-Smith K., Critchlow C.M., Holmes K.K., 1989. Prevalence of Hydrogen Peroxide-Producing *Lactobacillus* Species in Normal Women and Women with Bacterial Vaginosis. *J. Clin. Microbiol.* 27, 251-256.
- Garcia-Olmedo F., Molina A., Alamillo J. M., Rodriquez-Palenzuela P., 1998. Peptides, Biopolymers. *Peptide Science* 47, 479-492.
- González B., Arca P., Mayo B., Suárez J.E., 1994. Detection, purification, and partial characterization of plantaricin C, a bacteriocin produced by a *Lactobacillus plantarum* strain of dairy origin. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 2158-2163.
- Grabas M., Tomaszek J.A., Czerwieniec E., Zamorska J., Kukula E., Masłoń A., Łuczyszyn J., 2010. Stosowanie biopreparatu EM-BIO w celu ograniczenia uciążliwości zapachowej odpadów ściekowych. Współczesna problematyka odorów, M.J. Szykowska, J. Zwoździak (red.), WNT Warszawa, 479-502.
- Hartnett D.J., Vaughan A., Van Sinderen S., 2002. Antimicrobial-producing lactic acid bacteria isolated from raw barley and sorghum. *J. Inst. Brew.* 108(2), 169-177.
- Higa T., 1998. Microbiological method for disposing of organic waste materials. United States Patent nr 5, 707, 865.
- Higa T., 2003. Rewolucja w ochronie naszej planety. Fundacja Rozwój SGGW Warszawa.
- Higa T., 2005. Efektywne mikroorganizmy – technologia XXI wieku. *Technologie*, 20-24.
- Higa T., Parr J.F., 1994. Beneficial and effective microorganisms for a sustainable agriculture and environment. International Nature Farming Research Center Atami, Japan.
- Iwaishi S., 2000. Effect of organic fertilizer and effective microorganisms on growth, yield and quality of paddy rice varieties. *J. Crop. Prod.* 3, 269-273.
- Jack R.W., Tagg J.R., Raz B., 1995. Bacteriocins of Gram-positive Bacteria. *Microbiol. Rev.* 6, 171-200.
- Janas R., 2009. Możliwości wykorzystania efektywnych mikroorganizmów w ekologicznych systemach produkcji roślin uprawnych. *Probl. Inż. Rol.* 3, 111-119.
- Janas R., Grzesik M., 2006. Proekologiczne metody poprawy jakości nasion roślin ogrodnich. *Zesz. Nauk. Post. Nauk Rol.* 510, 213-221.
- Kaczmarek Z., Owczarzak W., Mrugalska L., Grzelak M., 2007. Wpływ efektywnych mikroorganizmów na wybrane właściwości fizyczne i wodne poziomów orno-próchnicznych gleb mineralnych. *J. Res. Appl. Agric. Eng.* 52(3), 73-77.
- Kaczmarek Z., Wolna-Maruwka A., Jakubus M., 2008. Zmiany liczebności wybranych grup drobnoustrojów glebowych oraz aktywności enzymatycznej w glebie inokulowanej efektywnymi mikroorganizmami (EM). *J. Res. Appl. Agric. Eng.* 53(3), 122-127.

- Klama J., Jędryczka M., Wiśniewska H., Gajewski P., 2010. Ocena stopnia rozwoju kondycji fizjologicznej ozimych roślin pszenicy i rzepaku w uprawie z zastosowaniem efektywnych mikroorganizmów. *Nauka Przyr. Technol.* 4(6), 1-8.
- Kołodziejczyk M., Szmigiel A., Kulig B., 2012a. Plonowanie pszenicy jarej w warunkach zróżnicowanego nawożenia azotem oraz stosowania mikrobiologicznych preparatów poprawiających właściwości gleby. *Fragm. Agron.* 29(1), 60-69.
- Kołodziejczyk M., Szmigiel A., Oleksy A., 2012b. Wpływ nawożenia azotem oraz mikrobiologicznych preparatów poprawiających właściwości gleby na zawartość białka i wybrane cechy fizyczne ziarna pszenicy jarej. *Fragm. Agron.* 29(2), 68-76.
- Kot B., Jakubczak A., Bukowski K., 2000. Antagonistyczne działanie bakterii fermentacji mlekowej w stosunku do wybranych drobnoustrojów. *Med. Wet.* 56, 53-57.
- Koziara W., Sulewska H., Panasiewicz K., 2006. Effect of resistance stimulator application to some agricultural crops. *J. Res. Appl. Agric. Eng.* 51(2), 82-87.
- Kraszewska J., Wzorek J., Sztando E., Raczyńska-Cabaj A., 2005. Aktywność antagonistyczna bakterii fermentacji mlekowej z gatunku *Lactobacillus Plantarum*. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 4(1), 39-52.
- Lipa J., Pruszyński S., 2010. Stan wykorzystania metod biologicznych w ochronie roślin w Polsce i na świecie. *Prog. Plant Prot./ Post. Ochr. Roślin.* 50, 1033-1043.
- Maciejewski T., Szukała J., Jarosz A., 2007. Wpływ biostymulatora Asahi SL na cechy jakościowe bulw ziemniaków. *J. Res. Appl. Agricult. Eng.* 52(3), 109-112.
- Mader J.S., Hoskin D.W., 2006. Cationic antimicrobial peptides as novel cytotoxic agents for cancer treatment. *Expert. Opin. Investig. Drugs.* 15, 933-946.
- Małuszyńska E., Szydłowska A., Martyniak D., Dziamba S., Dziamba J., 2012. Wpływ preparatów zawierających efektywne mikroorganizmy na zdolność kiełkowania nasion z upraw ekologicznych. *Biuletyn IHAR* 263, 33-42.
- Mazur T., Ciećko Z., 2000. Nawożenie organiczne w zintegrowanym rolnictwie. *Folia Univ. Agric. Stetin., Agricultura* 84, 285-288.
- Moll G.N., Konings W.N., Driessen A.J.M., 1999. Bacteriocins: mechanism of membrane insertion and pore formation. *Antonie van Leeuwenhoek*, 76, s. 185-198.
- Namsivayam K.R., Narendrakumar G., Kumar A., 2011. Evaluation of Effective Microorganisms (EM) for treatment of domestic sewage. *J. Exp. Sci.* 2, 30-32.
- Ogunbanwo S.T., Sanni A.I., Onilude A.A., 2003. Influence of cultural conditions on the production of bacteriocin by *Lactobacillus brevis* OG1. *Afr. J. Biotechnol.* 2(7), 179-184.
- Okorski A., 2007. Biologiczna ochrona roślin przed chorobami – mechanizmy i perspektywy rozwoju. *Post. Nauk Rol.* 5, 21-36.
- Salyers A.A., 2010. *Mikrobiologia. Różnorodność, chorobotwórczość i środowisko.* PWN Warszawa.
- Schlegel H.G., 2001. *Mikroobiologia ogólna.* PWN Warszawa.

- Shah S.H., Saleem S.F., Shahid M., 2001. Effect of Different Fertilizers and Effective Microorganisms on growth, yield and quality of maize. *Int. J. Agric. Biol.* 3-4, 378-379.
- Sinha R.P., 1986. Toxicity of organic acids for repair – deficient strain of *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 51, 1364-1366.
- Singh A., 2007. Effective Microorganisms. *The Canadian Organic Grower*, 35-36.
- Siripornadulsil S., Labteephanao W., 2008. The efficiency of effective microorganisms (EM) on oil and grease treatment of food debris wastewater. *KKU Sci. J.* 36, 27-35.
- Smolarczyk R., Cichoń T., Szala S., 2009. Peptydy – nowa klasa leków przeciwnowotworowych. *Post. Hig. Med.* 63, 360-368.
- Soomoro A.H., Masaud T., Anwaar K., 2002. Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health-a review. *Pak. J. Nutr.* 1(1), 20-24.
- Stępień A., Adamiak E., 2009. Efektywne mikroorganizmy (EM-1) i ich wpływ na występowanie chorób zbóż. *Progr. Plant Prot.* 49(4), 2017-2030.
- Stielow G., 2003. Żyzna gleba nie wymaga nawożenia. *J. Res. Appl. Agric. Eng.* 48(1), 20-22.
- Szwed A., 2009. Próby kompostowania odpadów organicznych z wykorzystaniem szczepionki mikrobiologicznej. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.* 535, 435-444.
- Tomalak M., 2007. Rejestracja biologicznych środków ochrony roślin w Europie – nowe perspektywy. *Progr. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 47, 233-240.
- Truba M., Jankowski K., Sosnowski J., 2012. Reakcja roślin na stosowanie preparatów biologicznych. *Och. Środow. Zasob. Nat.* 53, 41-52.
- Tyburski J., 2004. Nawożenie i żyzność gleby w gospodarstwie ekologicznym. Materiały dla rolników. Krajowe Centrum Rolnictwa Ekologicznego – Regionalne Centrum Doradztwa Rozwoju Rolnictwa i Obszarów Wiejskich w Radomiu.
- Vessey J.K., 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant and Soil* 255, 571-586.
- Wolna-Maruwka A., Schroeter-Zakrzewska A., Borowiak K., 2010. Wpływ preparatu EM na stan mikrobiologiczny podłoża przeznaczonego do uprawy pelargonii (*Pelargonium × Hortorum*). *Nauka Przyr. Technol.* 4(6), 1-12.
- Yamada K., Xu H., 2000. Properties and applications of an organic fertilizer inoculated with Effective Microorganisms, The Haworth Press. Inc. All Right reserved, s. 255-268
- Zarzecka K., Gugala M., 2012. Plonotwórcze działanie użyźniacza glebowego UGmax w uprawie ziemniaka. *Inż. Ekol.* 28, 144-148.
- Żyłowska M., Wyszyńska A., Jagusztyn-Krynicka E.K., 2011. Defensyny – peptydy o aktywności przeciwbakteryjnej. *Post. Mikrob.* 50(3), 223-234.



# BIOLOGIA I EKOLOGIA BOBRA EUROPEJSKIEGO

## *Castor fiber* L.

Jarosław Kowalski<sup>1</sup>

### 1. POCHODZENIE BOBROWATYCH *Castoridae*

Bóbr europejski należy do gryzoni o średniej wielkości ciała, żyjących w środowisku ziemno-wodnym. Ma krępy, nieco walcowaty, lekko grzbietobrzusznie spłaszczony tułów. Część tylna jest bardziej rozwinięta niż przednia, na krótkiej szyi jest osadzona lekko spłaszczona i krótka głowa. Pysk jest delikatnie zaokrąglony, nozdrza mogą być zamykane podczas nurkowania. Sferą izolującą ciało zwierzęcia od utraty ciepła i przemoknięcia jest gęste futro. Cała rodzina bobrowatych *Castoridae* ma duże i szerokie siekacze niezbędne do pozyskiwania pokarmu czy budulca do wznoszenia swoich budowli. Do dziś przetrwały dwa gatunki z rodziny *Castoridae*, bóbr kanadyjski *Castor canadensis* Kuhl i bóbr europejski *Castor fiber* L.

Przodkiem współczesnych bobrów zamieszkujących tereny Europy i Azji był pochodzący z oligocenu *Steneofiber* (Lavrov 1983). Można powiedzieć, że rodzaj *Castor* rozwinął się na terenach Europy, z której w pliocenie nastąpiła migracja ówczesnych bobrów do Ameryki Północnej, gdzie rozwinął się dzisiejszy bóbr kanadyjski. Również pod koniec pliocenu wymarły prawie wszystkie podrodziny i zachował się tylko rodzaj *Castor* (Linnaeus 1758). Prawdopodobnym przodkiem bobra współczesnego był żyjący w plejstocenie na terenach zachodnich dzisiejszego Kaukazu bóbr tamański *Castor tamanensis* (Verestchagin 1951), od którego wywodzi się typowy *Castor fiber* (Linnaeus 1758), nazywany bobrem zwyczajnym, jak i również rzeczny czy wschodnim.

### 2. MORFOLOGIA I ANATOMIA BOBRA EUROPEJSKIEGO

#### 2.1. Rozmiar i waga ciała

Bóbr europejski *Castor fiber* jest największym obecnie żyjącym gryzoniem zasiedlającym Europę. Dymorfizm płciowy praktycznie nie występuje pod względem wymiarów, jednak wartości różnią się między poszczególnymi populacjami. Samice z reguły są większe i masywniejsze niż samce, osiągają masę do 36 kg i długość ciała do 140 cm. Waga dorosłych samców dochodzi do 28,5 kg, a długość ciała do 134 cm [Dzięciołowski 1996]. Młode bobry po urodzeniu ważą ok. 0,5 kg, po pół roku ok. 6 kg, a półtoraroczne 12 kg [Aszyk 1997].

#### 2.2. Wygląd zewnętrzny, futro i gruczoły zapachowe

Bóbr jest zwierzęciem o krępej budowie tułowia. Brzuch jest obwisły, a grzbiet lekko wysklepiony do góry. Głowa jest osadzona na silnej, lekko zarysowanej na tle tułowia szyi. Głowa ma pokrój nieco okrągławy, z wysoko osadzoną parą małych uszu i oczu, które z reguły są brunatne. Wysokie usytuowanie uszu i oczu umożliwia pływa-

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Zakład Ekologii, ul. Ks. A. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz, e-mail: jt.kowalski@o2.pl

nie w dużym zanurzeniu i jednocześnie prowadzenie obserwacji obszaru znajdującego się nad powierzchnią wody. Głowa z przodu jest zakończona lekko zaokrąglonym pyskiem z małymi nozdrzami. Od tułowia odchodzą dwie pary kończyn. Kończyny przednie są krótsze w stosunku do tylnych, ale za to mają zdolność chwytania. Zwierzęta te potrafią chwytać różne przedmioty począwszy od pokarmu, a skończywszy na materiałach budowlanych. Kończyny przednie są także używane do kopania, pielęgnacji futra i zabawy. Kończyny tylne, o pięciu palcach spiętych błoną i zakończonych pazurami, są silne i masywne. Na końcu tułowia umieszczony jest duży grzbietobrzusnie spłaszczony ogon zaokrąglony na końcu, z ostrymi krawędziami bocznymi. Jego szerokość średnio równa się 15 cm [Dzięciołowski 1996]. Bóbr używa go głównie jako swoisty napęd w pływaniu. Służy on również do porozumiewania się z innymi osobnikami.

Bóbr ma warstwę futra chroniącego go przed wpływem czynników środowiskowych. Ze względu na to, że jest zwierzęciem ziemno-wodnym, jego futro musi stanowić strefę zapobiegającą przemakaniu. Miejscem najczęściej narażonym na kontakt z wodą jest brzuch i dlatego jest obszarem ciała o najgęstszej okrywie włosowej [Dezkin i in. 1986], która dochodzi do 23000 włosów na  $\text{cm}^2$  [Djoshkin i Safonov 1972]. Ciało bobra jest pokryte futrem lub przynajmniej pojedynczymi włosami (np. na ogonie, gdzie między łuskami występują krótkie szczeciniaste włoski skierowane do tyłu). Pozostałe części ciała są okryte gęstym i błyszczącym futrem. W skład futra wchodzi różne rodzaje włosów – od puchowych (krótkie, zabarwione na brązowo, o szarosiwym odcieniu) do włosów ościstych (ich długość dochodzi do 60 mm, a barwa jest zróżnicowana od czarnej po ciemnobrązową i żółto-brunatną) [Dzięciołowski 1996]. Barwa owłosienia jest zmienna. Na głowie i brzuchu nieco jaśniejsza niż na pozostałych partiach ciała. Futro bobra, jak i innych ssaków, podlega sezonowym zmianom. Wyróżnia się dwie szaty: zimową i letnią. Okrywa zimowa charakteryzuje się zwiększonym zagęszczeniem włosów okrywowych i puchowych, co niewątpliwie wiąże się z przystosowaniem do przetrwania okresu o niskich temperaturach. Natomiast szata letnia jest bogatsza o włosy ościste, ale jest uboższa o pozostałe włosy o ok. 9000 jednostek na  $\text{cm}^2$ . By takie futro spełniało właściwie swoje funkcje, potrzebuje odpowiednich zabiegów pielęgnacyjnych, toteż bóbr niezwykle troskliwie dba o jego stan. Bóbr ma rozdwojony pazur na drugim palcu, za pomocą którego pielęgnuje swoje odzienie. Uważa się, że wydzielina gruczołu przyodbytowego jest stosowana przez bobry do czyszczenia futra jako repelent wilgoci [Bollinger i in. 1983].

### 2.3. Budowa anatomiczna

Bóbr jest zwierzęciem roślinożernym. Przyswajanie pokarmu umożliwia mu dobrze do tego przystosowany układ pokarmowy i budowa czaszki. Przewód pokarmowy jest bardzo długi w stosunku do ciała, jelito cienkie jest sześciokrotnie od niego dłuższe, a mimo to bobry wykorzystują 32-33% spożytej celulozy [Nolet i in. 1994]. Układ pokarmowy rozpoczyna się masywną czaszką z mocnymi i silnymi mięśniami. W czaszce od środka znajduje się zestaw dwudziestu zębów o wzorze 1 0 1 3 [Dzięciołowski 1996]. „Górne siekacze mają po 10-12 cm długości, a pokrywające je szkliwo jest brązowo-czerwonej barwy na swej przedniej powierzchni” [Dzięciołowski 1996]. Z kolei zęby przedtrzonowe mają szkliwo popręplatanie poprzecznie niczym wstążką, są pobawione korzeni, a ich wzrost jest ograniczony.

Układ rozrodczy jest specyficzny. Bobry nie mają moszny, co wiąże się z umieszczeniem jąder w jamie ciała, a prącie w swojej wolnej części ma kość prąciową. Jajniki

są usytuowane w jamie brzusznej i zróżnicowane pod względem rozmiaru i kształtu „ich maksymalne rozmiary wynoszą  $15 \times 25 \text{ mm}$ ” [Dzięciołowski 1996].

U bobrów występują jeszcze gruczoły przyodbytowe i prepulcjalne (worki strojowe). Gruczoły przyodbytowe zwiększają swoją masę i objętość wraz z wiekiem zwierząt, ponadto są wyścielone większą liczbą komórek wydaliniczych i kontrolę nad nim sprawują mięśnie. Ich oleista wydzielina wykorzystywana jest przy rozpoznawaniu się osobników oraz jako repelent wilgoci [Dzięciołowski 1996, Czech 2000]. Worki strojowe są u bobra dobrze rozwinięte: osiągają 8 cm długości, szerokość 5 cm i grubość 2,5 cm. Ich nabłonek wydziela brunatną substancję, tak zwany strój bobrowy (*Castoreum*), o charakterystycznym zapachu, który służy zwierzętom do znakowania terytorium rodzinnego [Dzięciołowski 1996]. Narządy rozrodcze wraz z odbytem, gruczołami przyodbytowymi oraz workami strojowymi mają swoje ujście w nibysteku.

Bóbr europejski charakteryzuje się innym kariotypem niż bóbr kanadyjski. Kariotyp bobra europejskiego *Castor fiber*  $2N = 48$  chromosomów.

### 3. BIOLOGIA BOBRA EUROPEJSKIEGO

#### 3.1. Tryb życia i komunikacja

Bobry są zwierzętami ziemno-wodnymi, więc cały okres życia spędzają w środowisku bezpośrednio związanym z wodą i lądem. By móc przetrwać w tym środowisku, zwierzęta te musiały wykształcić szereg przystosowań i zachowań, które wynikają z ich uwarunkowań, budowy ciała czy z procesu przystosowywania się do panujących warunków środowiskowych.

Ważną zdolnością, która decyduje lub przynajmniej ma wpływ na tryb życia bobrów, jest porozumiewanie się. Bóbr jest zwierzęciem prowadzącym z reguły nocny tryb życia. Nastąpił u niego proces osłabiania się zmysłu, jakim jest wzrok. Natomiast wystrzyżł się słuch i węch, które są wykorzystywane do komunikacji (wzrok oczywiście również). Bobry komunikują się między sobą za pomocą wydawanych dźwięków, odpowiednich pozycji ciała (można zaryzykować stwierdzenie, że za pomocą gestykulacji), a także za pomocą sygnałów zapachowych, zapewne wszystkim znanych uderzeń ogonem o powierzchnię wody.

Dźwięk jest jedną z form porozumiewania się, szczególnie preferowaną przez bobrzęta. Wykorzystują różnego rodzaju popiskiwanie podczas proszenia o pokarm. Dźwięki są również wykorzystywane w sytuacji odwrotnej, gdy młode nie chcą oddać pokarmu innemu osobnikowi. Piski wydawane przez bobrzęta służą ponadto do łagodzenia negatywnych nastawień dorosłych w stosunku do młodych. Wydawanie dźwięków towarzyszy również zabawom i pieszczotom, a także zwiększaniu kontaktu między członkami rodziny. W relacjach antagonistycznych bobry syczą i zgrzytają na siebie. Kolejny sygnał dźwiękowy związany jest z uderzaniem ogonem o powierzchnię lustra wody. Sygnał ten ma charakter alarmu ostrzegającego przed niebezpieczeństwem inne bobry. „Zaniepokojony bóbr unosi nos nad wodę i kieruje go w stronę źródła niepokoju. Jeżeli uzna sygnał za groźny, uderza gwałtownie kielnią o wodę i nurkuje” [Dzięciołowski 1996]. Warto też nadmienić, że alarm wywołany uderzeniem „kielnią” pociąga za sobą pożądaną reakcję, gdy jest wydawany przez dorosłego osobnika i podobnie jest z odbiorem tego sygnału, na który reagują bardziej dorosłe.

Koleiną metodą porozumiewania się jest stosowanie znaków zapachowych. Bobry z resztek roślinnych i błota budują małe kopce, mniej więcej metr do brzegu wody.



Następnie kopce są znakowane zapachową wydzieliną z gruczołów prepucjalnych i przyodbytowych. Jak podają Hodgdon i Lancii [1983], kopce mają różne zadania do spełnienia. W przypadku osobników osiadłych znakowanie własnego terytorium ma na celu wzbudzenie pewności siebie, nie ma służyć natomiast odstraszaniu wędrujących bobrów od terytorium osiadłych bobrów, co sugerują Muller-Schwarze i Heckman [1980]. Ma zakomunikować intruzowi, by zmienił motywację i ograniczył zachowanie rozpoznawcze. Zapach ma także za zadanie informować inne bobry o wieku, płci, a także o stanie reprodukcyjnym czy nawet o stanie odżywiania się. Znakowanie zapachem terytorium rozpoczyna się wczesną wiosną, a osiąga swoje apogeum w połowie i późną wiosną. Zazwyczaj w oznaczaniu zapachem ma udział każdy z członków rodziny, ale najwięcej znakują dojrzałe samce.

Najogólniej ujmując, aktywność bobrów jest uzależniona od warunków pogodowych panujących w cyklu pór roku. W okresie zimowym, gdy zbiornik wodny nie jest jeszcze zamrożony, temperatura ciała bobrów wykazuje 24-godzinną okresowość. Najniższa aktywność objawia się w południe. Po zamrożeniu wody zwierzęta przedstawiają się na cykl przedłużony (26-29-godzinny), który nie jest powiązany z porą dnia. Objawia się on skróceniem fazy aktywności i wydłużonym snem do 20 godzin [Jenkins i Busher 1979]. Wiosną latem i jesienią bobry wykazują 12-godzinną aktywność w okresie doby. Zimą, przy zamrożonej powierzchni wody, dorosłe osobniki wychodzą przez dziury w lodzie, by żerować na pobliskiej roślinności, zazwyczaj podczas dni z dodatnią temperaturą. W miarę postępu wiosny, topnienia lodu i śniegu zaczynają częściej wychodzić na powierzchnię i dodatkowo rozpoczynają znakowanie pobliskiego terytorium. Postępujące ocieplenie powoduje, że bobry coraz dalej zapuszczają się w głąb swojego terytorium, co wiąże się z oznaczaniem zapachem większego obszaru. Pojawianie się nowej roślinności sprawia, że dieta ulega zmianie. W okresie wczesnej wiosny, po ustąpieniu lodów, dwuletnie osobniki zazwyczaj podejmują samodzielny tryb życia.

Po ustąpieniu zimy i wczesnym latem bobry skupiają się na naprawie i budowie tam. Wykorzystują do tego niezjedzone zapasy w postaci ogryzionych pędów i gałęzi. Natomiast wczesnym latem, gdy poziom wód zazwyczaj jest niższy, budują nowe i poprawiają stare kanały. W miarę postępu pór roku i spadku temperatury u bobrów następuje zmiana składników diety. Stopniowo rezygnują z roślin zielonych, a w ich pokarmie zaczynają dominować rośliny drzewiaste, co wiąże się ze zwiększoną intensywnością ścinania drzew. W tym samym okresie zaczynają się odbywać prace naprawcze istniejącego żeremia lub budowa nowego. W zależności od właściwości środowiska budowane są żeremia lub kopane nory. Jesienią intensywność ścinania drzew jest bardzo duża. Wiaże się to z gromadzeniem zapasów na zimę oraz z budową, powiększaniem istniejących lub nowych tam. Prace budowlane i zbieranie zapasów są prowadzone aż do zamrożenia wody.

Młode rodzą się zazwyczaj późną wiosną. Cała rodzina po narodzeniu się bobrząt otacza je opieką, a młode nie są izolowane od innych członków rodziny. Po urodzeniu młodych dorosłe osobniki wykazują dużą aktywność w otoczeniu miejsca narodzin. Samica karmi młode mlekiem, a samiec jest bardzo zaangażowany w znoszeniu pokarmu roślinnego dla młodych.

### 3.2. Rozród

Bóbr jest gatunkiem monogamicznym. W wieku 3-4 lat samice bobrów uzyskują dojrzałość rozrodczą jednak u około  $\frac{1}{3}$  populacji zdarzają się porody w wieku 2 lat. Samice mają ruję od grudnia do maja ze szczytem w drugiej i trzeciej dekadzie stycznia [Doboszyńska i Żurowski 1983]. Kopulacja zazwyczaj odbywa się w wodzie, ale również w żeremiu czy norze. Ciąża trwa u obu gatunków bobrów około 107 dni. Młode rodzą się w ciągu dnia. W Polsce młode rodzą się od kwietnia do sierpnia, a na maj i czerwiec przypada największa liczba urodzeń.

### 3.3. Pokarm

Ścisły roślinożerca należący do grupy roślinożerców ziemno-wodnych, zamieszkujących brzegi jezior i cieków, tak najogólniej można scharakteryzować bobra pod względem rodzaju spożywanego pokarmu. Zakres rodzajów obszaru, w jakim żerują bobry, jest duży. Żerują one głównie w strefie litoralu, jedzą rośliny wodne i nie gardzą roślinnością ruderalną. Nieodłącznym i dominującym składnikiem w diecie są krzewy i drzewa. Bobry preferują wierzby i osiki, ale także w ich diecie zdarzają się drzewa owocowe.

Według szacunków Noleta [1992] bóbr o wadze 15 kg potrzebuje na dobę 1,48 kg świeżej masy pokarmu (oczywiście w okresie ciąży i laktacji samic to zapotrzebowanie jest zwiększone). Warto wspomnieć, że aby dieta była zrównoważona i kompletna w składniki odżywcze, bobry stosują dietę mieszaną. Z tego też powodu eliminacja ze środowiska jednego gatunku roślinności przez te zwierzęta jest teoretycznie niemożliwa. Oczywiście, jeżeli roślina ta reprezentowana jest przez dużą populację. Bobry zjadają rośliny wodne, ale są dość wybredne w doborze pokarmu; preferują drzewa liściaste, a wśród nich szczególnie upodobały sobie topole osikę *Populus tremula* i wierzby *Salix* sp. Drzewa iglaste są traktowane jako mało atrakcyjne pokarmowo. Ze ściętych drzew zjadają korę, liście oraz gałązki. Zazwyczaj okorowana i pozbawiona gałęzi kłoda (rys. 1) jest używana jako materiał budowlany.



Rys. 1. Gałąź okorowana przez bobra europejskiego *Castor fiber* kłoda [fot. J. Kowalski]

Bobry decyzję o wyborze pokarmu podejmują nie tylko w oparciu o preferowane gatunki. Sugerują się również odległością od wody, a także wielkością danego okazu. Bóbr, dzięki swoim mocnym siekaczom, potrafi bez trudu ściąć drzewo o średnicy około 70 cm, ponadto bez większego wysiłku przegryza kilkucentymetrowe gałęzie. Drzewa są ścinane w taki sposób, by podczas upadku znalazły się w wodzie. Nacięcia pnia zazwyczaj są od strony wody lub równomiernie rozmieszczone wokół pnia. Drzewo po ścięciu jest pozbawiane najpierw gałęzi. W miarę wzrostu odległości od wody bobry ścinają mniejsze drzewa. Z kolei ścięte w znacznej odległości od wody duże drzewa są cięte na części, przenoszone do wody i najczęściej magazynowane. Nierzadko zdarza się, że drzewo zostaje nadgryzione i pozostawione.

Spośród preferowanych przez bobry gatunków drzew można wymienić wierzbowe *Salicaceae*, które prawdopodobnie są cenione ze względu na małą zawartość żywicy [Nolet i in. 1994]. Bobry preferują też brzozy *Betula* sp., leszczynę *Corylus* sp., dąb *Quercus* sp., jesion *Fraxinus* sp., topole – zwłaszcza osikę *Populus tremula*, a także czerechę *Prunus* sp. „Spośród roślin zielnych bobry żerują zarówno na lądowych (np.: *Chenopodium*, *Polygonum*, *Rumex* i *Rorippa* spp.), jak i wodnych (np. *Nymphaea alba* i *Nuphar lutea*). Za pomocą siekaczy bobry wykopują korzenie jednoliściennych, takich jak *Iris pseudacorus* i *Phragmites australis*” [Dzięciołowski 1996].

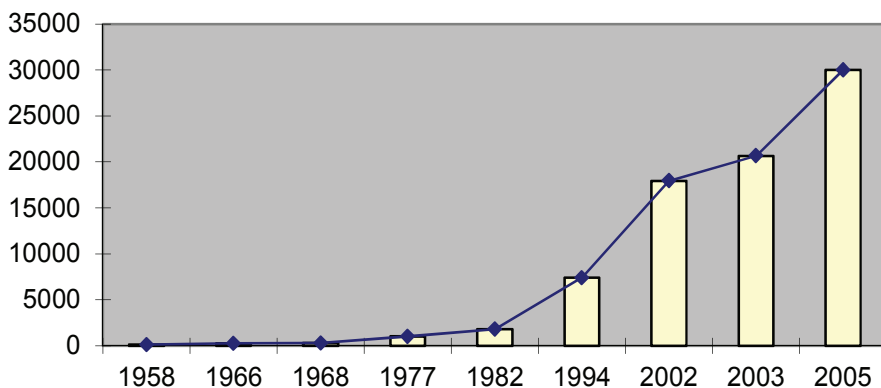
Dieta bobrowatych podlega sezonowej zmianie. W okresie wiosenno-letnim żerują na roślinności zielnej, tj. na trawach i roślinach wodnych [Żurowski 1989]. Ułamek pokarmu stanowi w tym okresie kora drzew (jeżeli dostępna, jest to kora wierzb). U bobra europejskiego rośliny zielne w tym okresie stanowią od 70 do 90% [Klenner-Frings 1992]. W miarę nastawiania jesieni bobry zaczynają żerować na drzewach i krzewach. Jest to już okres, w którym zaczynają zbierać zapasy na zimę. Od późnej jesieni do wczesnej wiosny w jądłospisie bobrów dominuje kora i kambium oraz liście krzewów i drzew. Zimą pokarm jest pozyskiwany z podwodnego magazynu usytuowanego w pobliżu żeremia lub nory. Jednak bobry mimo to wychodzą zimą na ląd, by pozyskać kolejne drzewa. Oprócz zapasów w jądłospisie borów ważną rolę odgrywają rośliny wodne, z których są zjadane pędy, korzenie i kłącza. W miarę nastawiania wiosny bobry stopniowo wracają do roślin zielnych i cykl się zamyka.

## 4. POPULACJA BOBRA EUROPEJSKIEGO

### 4.1. Liczebności i produktywności populacji bobra europejskiego w Polsce

Prawdopodobnie w okresie wczesnohistorycznym, tj. około 18. wieku, bobry na terenach Polski były licznie reprezentowane. Jednak intensywne polowania skutecznie powodowały kurczenie się istniejącej populacji. Przez kilkadziesiąt lat populacja bobra w Polsce utrzymywała się na niskim poziomie, dopiero w latach 1937-1939 odnotowano niewielki wzrost jej liczebności [Dehnel 1948, Graczyk 1990]. „Druga wojna światowa i zmiana granic zmniejszyła jednak ich populacje do około 130 osobników w 1958 roku oraz 270 osobników w 1966 roku. W dwa lata później stwierdzono około 70 czynnych stanowisk bobra, a jego liczebności w kraju oszacowano na około 300 osobników. W 1977 roku liczba wzrosła do około 350” [Dzięciołowski 1996]. Natomiast wedle danych Żurowskiego [1979] w 1977 roku liczebność populacji bobrów w Polsce wyniosła 254 rodzin, co stanowi około 1000 osobników. Podtrzymujący się wzrost liczebności bobra w Polsce (rys. 2) owocował 456 rodzinami, tj. około 1800 osobnikami w 1982 roku [Graczyk 1990]. W połowie lat dziewięćdziesiątych XX wieku

bóbr występował niemal na całej powierzchni kraju [Goździewski 1994]. W tym okresie Polski Związek Łowiecki przeprowadził w okresie od jesieni 1993 roku do wiosny 1994 roku inwentaryzację czynnych stanowisk bobrów, w wyniku której określono, że na terenie kraju istnieje 1796 stanowisk bobra. Należy zaznaczyć, że powyższe dane pochodzą w znacznej mierze z obwodów dzierzawionych, a dane dla obwodów włączonych i parków narodowych są niepełne. „Biorąc to pod uwagę, można założyć, że w kraju występuje (...) około 2000 stanowisk bobrowych. Przyjmując za Żurowskim [1984] średnia liczebność 3,7 osobników w rodzinie (...) otrzymujemy oszacowanie krajowej populacji bobrów – około 7400 zwierząt” [Dzięciołowski 1996]. W 2003 roku Instytut Nauk o Środowisku UJ przeprowadził w nadleśnictwach całego kraju ankietę, na podstawie której określono średnią liczbę bobrów w latach 2002-2003, populacja wynosiła kolejno 17931 i 20661 osobników.



[źródło: Dehnel 1948, Graczyk 1990, Dzięciołowski 1996, Czech 2005, Polski Związek Łowiecki]

Rys. 2. Liczebność bobra europejskiego *Castor fiber* w Polsce w latach 1958-2003

Pod względem rozrodczości bobry są zwierzętami o małym tempie reprodukcji. Ich potencjał reprodukcyjny zależy od kilku czynników, otóż „(...) stosunek liczbowy płci, wiek osiągnięcia dojrzałości płciowej, wielość miotu, odstępy pomiędzy kolejnymi miotami” [Dzięciołowski 1996]. Biorąc pod uwagę te czynniki, można określić teoretyczny wskaźnik urodzeń. Żurowski i Kasperczyk [1988] oszacowali, że przy wskaźniku urodzeń 1,9 w miocie przyrost stanowisk bobrowych osiąga 20% w skali roku dla północnej Polski. Jednak ten proces ma inny wymiar, jeżeli pod uwagę wziąć osobniki reintrodukowane. W początkowych latach po przesiedleniu osobniki te wykazywały, jak podaje Dzięciołowski [1996], przyrost w granicach od 41-150% rocznie. Po kilku latach uległ on obniżeniu i sytuował się na poziomie 20, 15 a także 7%. Ale, wedle poglądów Dzięciołowskiego [1996], rzeczywistość jest zupełnie inna niż wskazywałyby potencjalne możliwości pod względem rozrodu. Przy założeniu, że 20% populacji to dojrzałe płciowo samice, spośród których 75% bierze udział w rozmnażaniu, populacja powinna wzrastać nawet o 40%, jeżeli liczebność miotu wyniesie średnio 2,8 bobrząt. Ponadto, jeżeli procent samic biorących udział w rozmnażaniu uległby zwiększeniu, populacja byłaby w stanie przyrastać nawet o 50%. W rzeczywistości przyrost populacji plasuje się na znacznie niższym poziomie. W wyniku oddziaływania różnych czynników rocznie nie realizuje się ponad połowa przyrostu z populacji bobrów. Do czynników tych

zalicza się między innymi położenie geograficzne populacji i jej zagęszczenie oraz udział samic jednorocznych, które pod nieobecność starszych samic przejmują ich rolę.

## 4.2. Rodzina, jej struktura i zachowanie terytorialne

Podstawową komórką w populacji bobrów jest rodzina, w skład której wchodzi spokrewnione osobniki zasiedlające własne terytorium. Jak już wspomniano, bobry są zwierzętami terytorialnymi, które znakują zasiedlany obszar wydzieliną worków strojowych. Rodzina podchodzi bardzo niechętnie do osobników zapuszczających się na zajęty przez nią obszar. Można powiedzieć, że wykazują silny behavior terytorialny, a obcych traktują jak wrogów.

Struktura rodziny w okresie zimowym składa się z pary dorosłych osobników oraz z 2 do 4 tegorocznych młodych. Mogą występować także osobniki półtoraroczne oraz 2,5-letnie. Młode osobniki, które osiągnęły wiek około 3 lat, opuszczają rodzinne terytorium i zaczynają wędrówkę w poszukiwaniu nowego siedliska i partnerów.

W Polsce według Żurowskiego i Kasperczyka [1986] liczebność rodziny w suwalskiej populacji wynosi około 3,7 osobników, a dla całej polskiej populacji liczba ta wynosi średnio 4 osobniki [Żurowski 1989].

## 5. EKOLOGIA BOBRA EUROPEJSKIEGO

Bobry jako zwierzęta ziemno-wodne preferują środowiska dolin na terenach nizinnych, jary, a także bardzo dobrze się czują na niedużych bagnach oraz torfowiskach, jeśli tylko jest dostępna odpowiednia ilość i różnorodność pokarmu. Bobry podczas dokonywania wyboru miejsca pod zasiedlenie kierują się pojemnością środowiska w skład, której wchodzi „(...) korzystne warunki hydrologiczne i topograficzne terenu oraz dostępność do odpowiednich zasobów pokarmowych” [Brzuski i Kulczycka 1999]. Pod względem warunków hydrologicznych siedliska zasiedlane wody powinny charakteryzować się odpowiednią głębokością, szerokością zbiornika czy cieku i prędkością przepływu wody (prędkość poniżej  $0,3 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ , głębokość od 1m do optymalnie 2-4 m).

Bobry potrafią wznosić budowle o bardzo dużych rozmiarach, których powstanie wiąże się z istotnym oddziaływaniem na środowisko. Zwierzęta te, w zależności od zaistniałych potrzeb, wznoszą różnego rodzaju konstrukcje, począwszy od pojedynczych tam spiętrzających wodę, do nor i żeremi zapewniających miejsce odpoczynku schronienia oraz narodzin i rozwoju młodych. W miarę budowania, kopania nowych elementów, bobry tworzą skomplikowane systemy zapór, korytarzy, a także podziemnych komór. Tym samym odgrywają istotną rolę w kształtowaniu środowiska, które zajmują. Mają wpływ na organizmy je zasiedlające. Transformacja siedliska powoduje, że następuje wzbogacenie różnorodności gatunkowej. Zmiana dotyczy zwierząt wodnych lub preferujących tereny podmokłe. Przekłada się to na ilość, dostępność nowego pokarmu, co przyciąga inne niezwiązane bezpośrednio z tym środowiskiem zwierzęta. Powstają trudno dostępne enklawy, zasiedlane przez min. ptaki.

Wszystkie zabiegi „inżynieryjne” prowadzone są w trosce o bezpieczeństwo podczas żerowania, wychowania młodych. Bobry ze względu na swoje rozmiary i specyfikę środowiska, w którym żyją, nie mają wielu wrogów naturalnych. Dorosłe osobniki narażone są na ataki rysia i wilka oraz bezpańskich psów. Młode natomiast mogą paść ofiarą mniejszych drapieżców. Zwykle borzęta pozostawione bez opieki padają ofiarą wydry, jenota, kuny, a także ptaków drapieżnych – puchacza czy rybołowa.



## LITERATURA

Aszyk K., 1997. Bóbr europejski. Maszynopis.

Bollinger K.S., Hodgdon H.E., Kennelly J.J., 1983. Factors affecting Wright and volume of Castor anal glands of beaver (*Castor canadensis*). Acta Zool. Fennica 174, 115-116.

Brzuski P., Kulczycka A., 1999. Bóbr – symbol powrotu do natury. Polski Związek Łowiecki Warszawa.

Czech A., 2000. Bóbr. Wyd. Lubuskiego Klubu Przyrodników Świebodzin.

Czech A., 2005. Analiza dotychczasowych rodzajów i rozmiaru szkód wyrządzanych przez bobry oraz stosowanie metod rozwiązywania sytuacji konfliktowych. Instytut Ochrony Przyrody PAN Kraków.

Dehnel A., 1948. Wykaz stanowisk bobra *Castor fiber vistulanus* Matschie w dorzeczu górnego i środkowego Niemna oraz górnej Prypeci w latach 1937-1939. Fragm. Faunistica Musei Zoologii Polonici 5(13), 199-224.

Dezkin V.V., Djakov I.V., Safono V.G., 1986. Bobr. Agropromizdat Moskva.

Doboszyńska T., Żurowski W., 1983. Reproduction of the European beaver. Acta Zool. Fennica 174, 123-126.

Dojshkin W.W., Safono W.G., 1972. Die Biber der Alten und Neuen Welt. Die Neue Brem Bucherei, No 437, Wittenberg.

Dzięciołowski R., 1996. Bóbr Wydawnictwo Łowieckie Polski. Warszawa.

Goździewski J., 1994. Wyniki inwentaryzacji i odłowów bobra europejskiego. Maszynopis.

Graczyk R., 1990. Procesy adaptacyjne u ptaków ssaków w aspekcie ekologiczno-etologicznym i łowieckim. Postępy techniki w Leśnictwie. Problematyka gospodarki łowieckiej 47, 6-23.

Hodgdon H. E., Lancii R. A., 1983. Behavior of the North American beavers, *Castor canadiensis*. Acta Zool. Fennica 174, 99-103.

Jenkins S.H., Busher P.E., 1979. *Castor canadensis*. Mammalia Species 120, 1-8.

Klenner-Fringes B., 1992. Uferrenaturierung durch Elbebier (*Castor fiber albicus* Matschie, 1907) – ein Forschungsprojekt. Semiaquatische Säugetiere, Wiss. Beitr. Univ. Halle.

Muller-Schwarze D., Heckman S., 1980. The social role of scent marking in beaver. J. Chem. Ecol. 6, 81-96.

Nolet B.A., 1992. Reintroduction of beaver In the Rhine and Mouse estuary. Semiaquatische Säugetiere, Wiss. Beitr. Univ. Halle.

Nolet B.A., Hoekstra A., Ottenheim M.M., 1994. Selective foraging on wood species by the beaver *Castor fiber*, and its impact on a riparian willow forest. Biological Conservation 70, 117-128.

Polski Związek Łowiecki, [www.pzlow.pl](http://www.pzlow.pl)

Żurowski W., 1979. Preliminary results of European beaver reintroduction in the tributary streams of the Vistula River. *Acta Theriologica* 24(7), 85-91.

Żurowski W., 1989. Bóbr europejski – *Castor fiber*. [W:] Łowiectwo, J. Krupka (red.), PWRiL Warszawa.

Żurowski W., Kasperczyk B., 1986. Characteristics of a European beaver population in the Suwałki Lakeland. *Acta Theriologica* 31(24), 311-325.

Żurowski W., Kasperczyk B., 1988. Effects of reintroduction of European beaver in the lowlands of the Vistula basin. *Acta Theriologica* 33(24), 325-338.



# **ZASTOSOWANIE KULTUR TKANKOWYCH W MIKROROZMNAŻANIU CHRYZANTEM**

**Dariusz Kulus<sup>1</sup>**

## **1. CHRYZANTEMY – CHARAKTERYSTYKA I ZNACZENIE**

Wśród wielu kwiatów rzadko który przewyższa chryzantemy pod względem urody oraz różnorodności barw i kształtów. Roślina ta jest symbolem jesieni. Niebanalny wygląd zapewnił chryzantemie wysoką pozycję na rynku ogrodniczym. Jest ona obecnie drugą po róży najczęściej sprzedawaną rośliną ozdobną [Zhao i in. 2009, Yoshioka i in. 2010]. Jednakże prognozy ogrodników i florystów przewidują wysunięcie się chryzantemy na miejsce lidera w nieodległej przyszłości.

Chryzantemy poza zastosowaniem ogrodniczym wykorzystywane są także w gastronomii (np. do produkcji herbat oraz napojów alkoholowych), a jak wykazały najnowsze badania, mają też szerokie potencjalne zastosowanie w medycynie, m.in. w leczeniu wielu rodzajów nowotworów oraz AIDS [Ukiya i in. 2002, Xie i in. 2009, Lin i Harnly 2010, Yang i in. 2011]. Chryzantemy stanowią ponadto cenne źródło metabolitów o silnym działaniu owadobójczym, bezpiecznych dla człowieka [Beninger i in. 2004, Ahmed i in. 2010].

Komercyjna produkcja chryzantem ogranicza się jednak do rozmnażania wegetatywnego [May i Trigiano 1991, Zalewska i in. 2010a]. Podyktowane jest to wysokim poziomem allopoloidalności, heterozygotycznością oraz samoniezgodnością ograniczającymi możliwość pozyskiwania nasion [Lema-Rumińska i Zalewska 2002]. Te właściwości chryzantem, a także poligeniczna kontrola wzrostu i kwitnienia roślin przekładają się także na problemy z klasycznymi metodami hodowlanymi – krzyżowaniem i selekcją. Wiele odmian chryzantem jest ponadto chimerami – organizmami o niejednorodnej strukturze genetycznej, mającymi więcej niż jeden genom [Marcotrigiano 1990, Shibata i in. 1998]. Zaburzenia tej struktury spowodowane zastosowaniem niewłaściwych metod rozmnażania i/lub przechowywania sprzyjają separacji komponentów genotypowych chimery i zmianie (całkowitej lub częściowej) barwy lub kształtu kwiatów, czego konsekwencją są poważne straty finansowe przedsiębiorstw. Kolejnym problemem jest ponadto przechowywanie ciągle zwiększającej się liczby odmian. Nowoczesnych narzędzi przydatnych w rozwiązywaniu problemów, związanych z klasycznymi metodami rozmnażania, przechowywania i hodowli chryzantem, dostarcza biotechnologia.

## **2. KULTURY TKANKOWE I MIKROROZMNAŻANIE CHRYZANTEM**

Produkcja roślinna obejmuje dwie główne gałęzie rozmnażania: generatywną (z nasion) oraz wegetatywną. Ta druga bazuje na zjawisku totipotencji – unikatowej zdolności roślin do odtwarzania całego organizmu z pojedynczego, odizolowanego fragmentu bez fuzji gamet. W przypadku chryzantem sadzonkowanie jest najczęściej

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy, Wydział Rolnictwa i Biotechnologii,  
Katedra Roślin Ozdobnych i Warzywnych – Pracownia Biotechnologii, ul. Bernardyńska 6,  
85-029 Bydgoszcz, e-mail: dkulus@gmail.com

stosowaną metodą rozmnażania *in vivo* [Martin i Gonzalez-Benito 2009]. Pomimo że ten sposób rozmnażania jest bardzo prosty, nie jest jednak wolny od wad: zwykle wymaga dużych powierzchni lub specjalnie przystosowanych do tego celu pomieszczeń (szklarni, tuneli foliowych itp.) oraz ciągłego prowadzenia zabiegów pielęgnacyjnych [Ilczuk i in. 2013]. Kolejnym minusem tej metody jest ponadto jej ograniczona wydajność. Problemy związane z tradycyjnymi metodami rozmnażania rozwiązują kultury tkankowe *in vitro*. Technologia ta polega na uprawianiu niewielkich fragmentów roślin – eksplantatów – na syntetycznych pożywkach w sterylnych warunkach. Kultury *in vitro* stanowią podstawowe narzędzie pracy biotechnologów [Waseem i in. 2011]. Dzięki nim możliwe jest dokładne określenie roli komórek, tkanek i organów, a także regulatorów wzrostu w procesach rozwojowych roślin [Orlikowska 1997] oraz uwalnianie roślin od wirusów [Ram i in. 2005, Milošević i in. 2012], tworzenie nowych odmian i hybryd międzygatunkowych, a także pozyskiwanie cennych metabolitów i biofarmaceutyków [Allan 1981, Zalewska i in. 2011b]. Znajdują poza tym zastosowanie w przechowywaniu cennych genotypów w warunkach spowolnionego wzrostu [Mani i Senthil 2011]. Najintensywniej eksploatowanym zastosowaniem kultur tkankowych jest jednak mikro-rozmnażanie [Szopa i Kościń 2006]. Jest to szczególny typ rozmnażania wegetatywnego, polegający na klonowaniu roślin w sterylnych i ściśle kontrolowanych warunkach laboratoryjnych na specjalnie skomponowanych pożywkach [Jerzy i Krzyżmińska 2005]. Konsekwencją zastosowania tej technologii jest udoskonalenie i unowocześnienie metod reprodukcji roślin oraz umożliwienie całorocznej produkcji, niezależnej od czynników klimatycznych i atmosferycznych. Do jej największych zalet można zaliczyć: dużą wydajność uzyskaną na małej powierzchni przy jednoczesnej redukcji kosztów (mikro-propagacja pozwala na uzyskanie nawet miliona roślin potomnych w ciągu jednego roku), a także poprawę tempa wzrostu oraz jakości uzyskanych mikrosadzonek, wolnych od patogenów [Hohe i in. 1999, Prevati i in. 2008].

## 2.1. Inicjacja kultur tkankowych

Zarówno powierzchnię, jak i wewnątrz roślin pochodzących z warunków *ex-vivo* zamieszkują liczne mikroorganizmy: grzyby, bakterie itp. Gdy zakłada się kulturę *in vitro*, konieczna jest dezynfekcja eksplantatów, gdyż drobnoustroje, zużywając cukier i inne składniki odżywcze, stanowią konkurencję dla roślin i uniemożliwiają im wzrost [Ilczuk i in. 2013]. W przypadku chryzantem jako eksplantaty inicjalne najczęściej wykorzystuje się młode wierzchołki pędu, które po płukaniu pod bieżącą wodą oraz krótkotrwałym (1-2 s) zanurzeniu w 70% etanolu poddaje się działaniu właściwego środka odkażającego: 0,4% podchlorynu sodu ( $\text{NaOCl}$ , 10 min). Zakładając kulturę *in vitro*, warto pamiętać także, że mimo iż pozwala ona na całoroczną produkcję roślin, to istnieją okresy, gdy współczynnik namnażania jest większy. W przypadku chryzantem są to lato i jesień [Zalewska i in. 2011a].

## 2.2. Morfogeneza *in vitro*

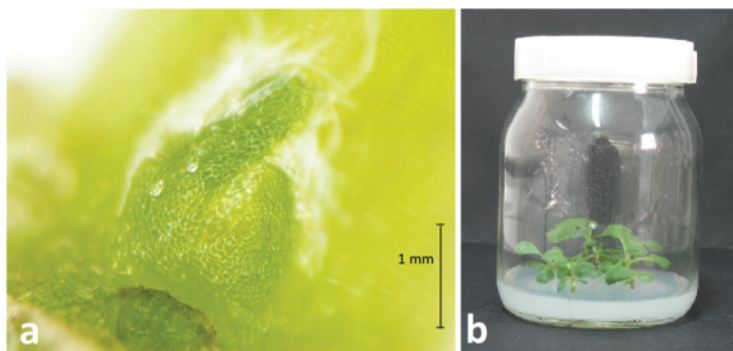
Wielu autorów dowiodło dużej efektywności namnażania chryzantem (różnych gatunków i odmian) w kulturach *in vitro*, uzyskując regenerację roślin z fragmentów pędów (węzłów i międzywęźli), pąków bocznych i wierzchołkowych, merystemów apikalnych, korzeni, liści, płatków, załączni czy nawet protoplastów na pożywkach o różnorodnym składzie [Teixeira da Silva 2003a, Teixeira da Silva i Fukai 2003, Waseem i in. 2009, 2011, Barakat i in. 2010, Kereša i in. 2012]. Mikro-rozmnażanie chry-

zantem prowadzi się zazwyczaj na standardowej pożywce stosowanej w kulturach *in vitro* roślin – MS [Murashige i Skoog 1962], zestalonej agarą z dodatkiem sacharozy [Kaul i in. 1990], przy 16-godzinnej długości dnia [Kurilčik i in. 2008]. Obecność cukru w pożywce oraz niższe niż naturalne natężenie oświetlenia powodują jednak zaburzenia w fotosyntezie mikrosadzonek. Cristea i in. [1999] uzyskali lepszy wzrost, wydajność multiplikacji oraz lepszej jakości mikrosadzonki poprzez zastosowanie fotoautotroficznych kultur, w których cukier zastąpiony został dodatkiem 2% CO<sub>2</sub> do atmosfery naczynia. Koszty związane z prowadzeniem kultur *in vitro* chryzantem można w przyszłości zredukować, stosując oświetlenie diodami LED [Kurilčik i in. 2008] oraz tańsze od agaru zestalacze (np. sago, isubgol) lub podłoża. Bhattacharya i in. [1994] przetestowali efektywność kilku z nich, dowodząc wysokiej skuteczności waty szklanej.

W zależności od założonego celu stosowanych jest kilka metod mikropropagacji: pobudzanie do rozwoju pędów bocznych lub przybyszowych oraz embriogeneza somatyczna.

### 2.3. Metoda jednowęzłowych pędów

Najprostszą metodą mikrorozmnażania jest tzw. metoda jednowęzłowych pędów, która polega na wykładaniu pozbawionych liści fragmentów pędów zawierających po jednym węźle na pożywkę pozbawioną regulatorów wzrostu [Jerzy i Krzysińska 2005]. Powoduje to uaktywnienie znajdujących się normalnie pod silną dominacją wierzchołkową merystemów kątowych do tworzenia pędów (rys. 1).



Rys. 1. Kultura *in vitro* chryzantemy wielkokwiatowej (*Chrysanthemum* × *grandiflorum* /Ramat./Kitam.): a) pąk boczny w pachwinie liścia; b) wzrost roślin z jednowęzłowych fragmentów pędu na pożywce MS bez regulatorów wzrostu [fot. autor]

Technika ta jest bardzo prosta. Jej zaletę stanowi również fakt, że ze względu na brak cytokinin w pożywce możliwe jest samoczynne ukorzenianie mikrosadzonek bez konieczności pasażu na dodatkową pożywkę ukorzeniającą. W celu zainicjowania kultury wykorzystuje się eksplantat merystematyczny, dlatego uzyskane rośliny stanowią klon mateczników (są wiernymi kopiami genetycznymi roślin, z których pochodzą) i nie są narażone na wystąpienie zmienności somaklonalnej, obserwowanej w przypadku innych metod rozmnażania [Jerzy i Krzysińska 2005]. Jest to więc cenna technika namnażania elitarnego materiału. Istotną wadą tej metody jest natomiast jej wydajność, ograniczona liczbą węzłów na roślinie macierzystej (zazwyczaj kilku, kilkunastu). Wy-

dajność metody można podnieść przez dodatek cytokinin do pożywki (0,4  $\mu\text{M}$  benzyloadeniny – BA). Elongację pędów stymuluje natomiast dodatek kwasu gibberelowego (1,4  $\mu\text{M}$  GA<sub>3</sub>) [Kereša i in. 2012].

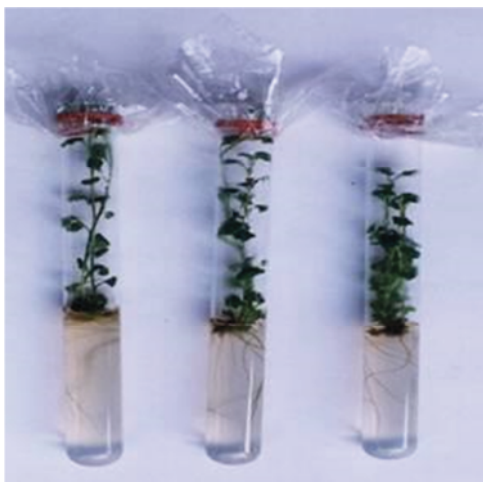
## 2.4. Organogeneza przybyszowa

Problem ograniczonej wydajności może zostać wyeliminowany po zastosowaniu metody pędów przybyszowych. Obecnie jest ona najczęściej stosowaną metodą mikro-rozmnażania chryzantem. Ogromną zaletą tej techniki, umożliwiającą osiągnięcie dużej efektywności namnażania, jest możliwość wykorzystania praktycznie każdego, niemerystatycznego organu rośliny (lub jego fragmentu) jako źródła eksplantatu. Należy jednak pamiętać, że wydajność regeneracji niektórych odmian zależy od położenia eksplantatu na roślinie macierzystej (tzw. zjawiska topofizy) [Zalewska i Miler 2010, Zalewska i in. 2010b]. W przypadku tych odmian eksplantaty pochodzące z centralnych i proksymalnych części pędów są bardziej efektywne.

W trakcie organogenezy przybyszowej następuje odróżnicowanie komórek i wytworzenie tzw. centrów merystatycznych – merystemoidów (skupisk intensywnie dzielących się komórek, które jednak od merystemów różnią się uproszczoną strukturą, pozbawioną warstw histogenowych). Organogeneza *in vitro* może przebiegać bezpośrednio lub pośrednio, jeśli poprzedza ją regeneracja kalusa. W przypadku chryzantemy zaobserwowano, że generalnie eksplantaty pędowe cechują się większym potencjałem regeneracyjnym niż liściowe, chociaż to na tych drugich częściej uzyskuje się bardziej pożądaną regenerację bezpośrednią [Kaul i in. 1990, Teixeira da Silva 2003a]. Pędy przybyszowe tworzą się z centrów merystatycznych endogennie z głębszych warstw parenchymy (w przypadku pędowych eksplantatów) lub egzogennie – z epidermy (jeżeli eksplantatami są płatki kwiatowe – te są najczęstszym źródłem chimera) [Teixeira da Silva 2003a]. Do ich rozwoju niezbędna jest obecność w pożywce cytokininy, na ogół BA. Jednakże stężenie większe niż 5  $\mu\text{M}$  ogranicza wydajność regeneracji pędów chryzantem [de Jaramillo i in. 2008]. W przypadku chryzantem regeneracja pędów przebiega równocześnie z ryzogenezą przybyszową [Jerzy i Krzywińska 2005]. Równoległa regeneracja kalusa, korzeni, pędów i zarodków wynika z heterogenicznej struktury eksplantatów. Problem ten może być rozwiązany przez zastosowanie kultury cienkowarstwowej (Thin Cell Layers – TCLs) [Teixeira da Silva 2003b]. Organogeneza przybyszowa ma ogromne znaczenie dla hodowli mutacyjnej oraz transgenicznej, gdyż pędy przybyszowe często regenerują się z pojedynczej komórki. Nie ma więc wówczas ryzyka tworzenia się chimera [Zalewska 2010]. Ponadto zjawisko to może być wykorzystane w separacji chimera. Często zdarza się bowiem, że w efekcie hodowli mutacyjnej tworzą się chimery meryklinalne lub sektorialne, w których tylko pewien obszar merystemu ulega pożądanej mutacji. Dzięki regeneracji rośliny z tego niewielkiego fragmentu możliwe jest uratowanie cennego genotypu, którego nie można by odseparować *in vivo*. Ponadto organogeneza przybyszowa może przebiegać przez kalus, dlatego może towarzyszyć jej wystąpienie zmienności somaklonalnej (zmienności w kulturze *in vitro*). Wynika to z faktu, że kalus jest tkanką niestabilną genetycznie. W rezultacie możliwe jest uzyskanie wielu nowych, ciekawych odmian [Zalewska i in. 2007, Jevremović i in. 2012].

## 2.5. Ukorzenianie *in vitro*

Uzyskane mikrosadzonki przenosi się na pożywkę ukorzeniającą z dodatkiem auksyn (rys. 2). Skuteczna ryzogeneza może skrócić czas, jaki musi minąć od wysadzenia do zakwitnięcia roślin [Gadea i in. 2011]. Jak dowiedli Kereša i in. [2012], kwas indolilomasłowy (IBA) stymuluje rozwój większej liczby korzeni, za to kwas indoliloctowy (IAA) – lepsze ich wydłużanie. W praktyce na ogół stosuje się pożywkę z dodatkiem 11,4  $\mu\text{M}$  IAA. Często na tym etapie wykorzystuje się pożywkę ze zredukowaną do połowy zawartością makroelementów ( $\frac{1}{2}$  MS) w celu zahartowania roślin przed przeniesieniem do warunków *in vivo*.

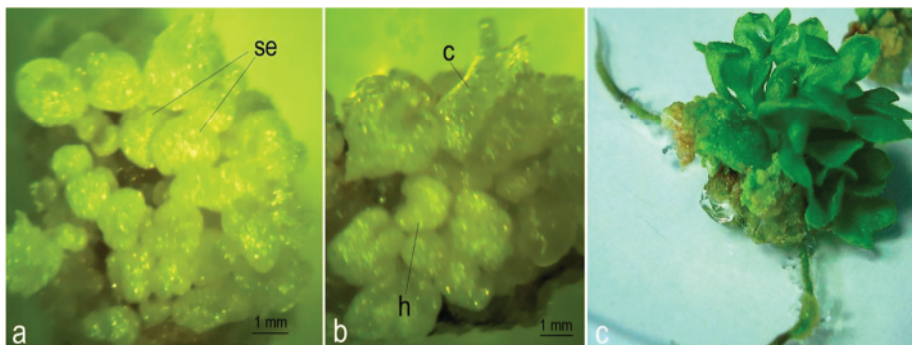


Rys. 2. Ukorzenianie mikrosadzonek chryzantemy wielkokwiatowej na pożywce  $\frac{1}{2}$  MS + 1,07  $\mu\text{M}$  NAA [Waseem i in. 2011]

## 2.6. Embriogeneza somatyczna

Embriogeneza somatyczna – po optymalizacji warunków prowadzenia kultury (głównie składu pożywki i warunków świetlnych) – uważana jest powszechnie za najbardziej wydajną metodę mikrorozmnażania roślin. Polega ona na tworzeniu zarodków z komórek somatycznych bez fuzji gamet i zapłodnienia (rys. 3). Zarodki somatyczne mogą mieć pochodzenie jedno- lub wielokomórkowe i podobnie jak pędy przybyszowe powstawać bezpośrednio lub pośrednio – przez kalus. Od pędów przybyszowych odróżnia je jednak dwubiegunowa struktura z wyraźnie zamkniętym biegunem korzeniowym (nie wymagają transferu na pożywkę ukorzeniającą) oraz brakiem połączeń waskularnych z tkanką macierzystą, co ułatwia także ich izolację. Zarodki somatyczne są morfologicznie bardzo zbliżone do swoich zygotycznych analogów, chociaż nie są identyczne. Nie mają suspensora, są z reguły większe oraz magazynują substancje zapasowe w hypokotylach. Ponadto merystem wierzchołkowy pędu zarodków somatycznych jest słabiej rozwinięty, co może powodować utrudnienia w konwersji roślin.





Rys. 3. Regeneracja zarodków somatycznych z eksplantatów liściowych chryzantemy wielokwiatowej: (a) zarodki somatyczne – se; w stadium globularnych po 35 dniach kultury; (b) zarodki somatyczne w stadium sercowatym – h oraz liścieniowym – c, po przeniesieniu na pożywkę bez regulatorów wzrostu; (c) zregenerowane z zarodków somatycznych mikrosadzonki [Kereša i in. 2012]

Niewiele jest doniesień na temat embriogenezy somatycznej u chryzantem. Jak dowodzą Kereša i in. [2012], eksplantatem najbardziej podatnym na indukcję embriogenezy są liście, następnie płatki kwiatów, najmniej zaś fragmenty pędów (międzywęzła). Jednakże największy współczynnik konwersji zarodków do roślin uzyskano z zarodków zregenerowanych z płatków (52%).

Indukcja embriogenezy wiąże się ze zmianą programu rozwojowego komórki. Po to, aby uaktywnić kompetencję komórek, należy wyłożyć eksplantaty na pożywkę suplementowaną wysokim stężeniem auksyn i mniejszym cytokinin. Jak donoszą Tanaka i in. [2000], najlepiej sprawdza się wysokie stężenia IAA ( $5,4 \mu\text{M}$ ) z dodatkiem kinetyny ( $0,5 \mu\text{M}$  KIN). Kwas naftylocotowy (NAA) jest mniej skuteczny. IBA oraz kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy (2,4-D), mimo iż efektywne u innych gatunków, nie sprawdzają się w przypadku chryzantemy. Także dodatek innych cytokinin (BA i tidiazuronu – TDZ) mniej sprzyja indukcji embriogenezy. Konwersja zarodków wymaga natomiast ich transferu na pożywkę z dodatkiem  $\text{GA}_3$  i/lub proliny.

### 3. AKLIMATYZACJA I DALSZY UPRAWA W PODŁOŻU

Mimo iż aklimatyzacja nie jest etapem mikrorozmnażania *sensu stricto*, to jednak jest ona konieczna dla przeniesienia roślin z kultur w szkle do warunków *ex vitro*. Wynika to z faktu, że warunki panujące w pokoju wzrostowym znacząco odbiegają od tych w szklarni. Intensywność promieniowania świetlnego jest zdecydowanie niższa, a wilgotność w naczyniu – o wiele wyższa (bliska 100%). Mikrosadzonki mają cienką kutykulę i dysfunkcyjne aparaty szparkowe. W związku z tym przez pierwsze 2-3 tygodnie wyjęte z naczynia rośliny muszą być odpowiednio zabezpieczone przed nadmierną utratą wody i poparzeniami słonecznymi. W tym celu okrywa się je folią perforowaną i agrowłókniną, a także odpowiednio często zrasza [Kulus 2014]. Na etapie aklimatyzacji zalecana jest zbiorcza uprawa chryzantem w kuwetach wypełnionych torfem i perlitem w stosunku 2:1 (potraktowanych wcześniej środkiem grzybobójczym).

Następnie rośliny można przesadzić do docelowych pojemników wypełnionych torfem i uprawiać w warunkach naturalnych lub sterowanych [Jerzy 2000].

#### 4. PODSUMOWANIE

Efektywność mikrorozmnażania chryzantem zależy od wielu czynników, takich jak: skład pożywki, rodzaj eksplantatu, genotyp itp. Do najczęściej stosowanych metod mikrorozmnażania chryzantem zaliczyć można pobudzenie pąków kątowych oraz organogenezę przybyszową. Pierwsza metoda gwarantuje zachowanie stabilności genetycznej. Może być więc wykorzystana w klonalnym namnażaniu szczególnie cennych genotypów. Organogeneza, mimo iż bardziej wydajna, może powodować wystąpienie zmienności. Po opracowaniu wydajnych metod konwersji somatycznych zarodków embriogeneza somatyczna i bioreaktory mogą pozwolić w przyszłości na produkcję roślin na dużą skalę przy niewielkich nakładach finansowych.

#### LITERATURA

- Ahmed M.J., Naeem M.M., Yaqoob A., Jilani M.S., Saeed M., 2010. Explants modulates growth characteristics of *in vitro*-propagated chrysanthemum cultivars. *Sarhad J. Agric.* 26(4), 527-532.
- Allan P., 1981. Plant propagation through tissue culture. *S. Afr. Avocado Growers' Assoc. Yearb.* 4, 22-26.
- Barakat M.N., Abdel Fattah R.S., Badr M., El-Torky M.G., 2010. *In vitro* culture and plant regeneration derived from ray florets of *Chrysanthemum morifolium*. *Afr. J. Biotechnol.* 9(8), 1151-1158.
- Beninger W.C., Abou-Zaid M.M., Kistner L.E.A., Hallett H.R., Iqbal J.M., Grodzinski B., Hall C.J., 2004. A flavanone and two phenolic acids from *Chrysanthemum morifolium* with phytotoxic and insect growth regulating activity. *J. Chem. Ecol.* 30(3), 589-606.
- Bhattacharya P., Dey S., Bhattacharyya B.C., 1994. Use of low-cost gelling agents and support matrices for industrial scale plant tissue culture. *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 37, 15-23.
- Cristea V., Dalla Vecchia F., La Rocca N., 1999. Development and photosynthetic characteristics of a photoautotrophic *Chrysanthemum* culture. *Photosynthetica* 37(1), 53-59.
- De Jaramillo E.H., Frero A., Cancino G., Mureno A.M., Monsalve L.E., Acero W., 2008. *In vitro* regeneration of three chrysanthemum (*Dendranthema grandiflora*) varieties 'via' organogenesis and somatic embryogenesis. *Univ. Sci.* 13(2), 118-127.
- Gadea S., Sorin V., Bogdan I., 2011. Influence of growth substances on rooting cuttings of *Chrysanthemum*. *Bull. Univ. Agric. Sci. Vet.* 68(1), 132.
- Hohe A., Winkelmann T., Schwenkel H.G., 1999. Cell growth in and differentiation of somatic embryos from suspension cultures of *Cyclamen persicum* Mill. in bioreactors. [W:] *Reproduction of Cyclamen persicum* Mill. through somatic embryogenesis using suspension culture systems, ed. H.G. Schwenkel, European Commission Directorate Brussels, 62-71.
- Ilczuk A., Jacygrad E., Jagiełło-Kubiec K., Pacholczak A., 2013. Rozmnażanie *in vitro* roślin drzewiastych – perspektywy i problemy. [W:] *Ogrodnictwo Ozdobne Sektorem Gospodarki Narodowej*, red. J. Rabiza-Świder, E. Skutnik, SGGW Warszawa, 41-48.



Jerzy M., 2000. Chryzantemy. Odmiany i uprawa. PWRiL Warszawa.

Jerzy M., Krzysińska A., 2005. Rozmnażanie wegetatywne roślin ozdobnych. PWRiL Poznań.

Jevremović S., Subotić A., Miljković D., Trifunović M., Petrić M., Cingel A., 2012. Clonal fidelity of *Chrysanthemum* cultivars after long-term micropropagation by stem segments culture. *Acta Hort.* 961, 211-216.

Kaul V., Miller R.M., Hutchinson J.F., Richards D., 1990. Shoot regeneration from stem and leaf explants of *Dendranthema grandiflora* Tzvelev (syn. *Chrysanthemum morifolium* Ramat.). *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 21(1), 21-30.

Kereša S., Mihovilović A., Barić M., Židovec V., Skelin M., 2012. The micropropagation of chrysanthemums via axillary shoot proliferation and highly efficient plant regeneration by somatic embryogenesis. *Afr. J. Biotechnol.* 11(22), 6027-6033.

Kulus D., 2014. Biotechnologiczne metody reprodukcji roślin ozdobnych. [W:] Jakość życia w badaniach młodych naukowców, red. E. Mucha-Szajek, Wyd. WSHiU Poznań, 87-104.

Kurilčik A., Dapkūnienė S., Kurilčik G., Zilinskaitė S., Zukauskas A., Duchovskis P., 2008. Effect of the photoperiod duration on the growth of *Chrysanthemum* plantlets *in vitro*. *Sodininkystė ir Daržininkystė* 27(2), 39-46.

Lema-Rumińska J., Zalewska M., 2002. Ocean ploidalności mutantów chryzantemy wielkokwiatowej (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev) uzyskanych w wyniku mutageny indukowanej *in vitro* i *in vivo* promieniowaniem jonizującym. *Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus* 1(2), 43-48.

Lin L.Z., Harnly J.M., 2010. Identification of the phenolic components of chrysanthemum flower (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.). *Food Chem.* 120, 319-326.

Mani T., Senthil K., 2011. Multiplication of *Chrysanthemum* through somatic embryogenesis. *Asian J. Pharm. Technol.* 1(1), 13-16.

Marcotrigiano M., 1990. Genetic mosaics and chimeras: implications in biotechnology. [W:] *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, vol. 11: Somaclonal Variation in Crop Improvement I, ed. Y.P.S. Bajaj, Springer-Verlag Berlin, 85-111.

Martin C., Gonzalez-Benito E., 2009. Cryopreservation and genetic stability of *Dendranthema grandiflora* Tzvelev *in vitro* cultures. *Agric. Food Sci.* 18, 129-135.

May R.A., Trigiano R.N., 1991. Somatic embryogenesis and plant regeneration from leaves of *Dendranthema grandiflora*. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116(2), 366-371.

Milošević S., Cingel A., Jevremović S., Stanković I., Bulajić A., Krstić B., Subotić A., 2012. Virus elimination from ornamental plants using *in vitro* culture techniques. *Pestic. Phytomed.* 27(3), 203-211.

Murashige T., Skoog F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plantarum* 15, 473-497.

Orlikowska T., 1997. Regulatory roślinne w kulturach *in vitro*. [W:] *Regulatory wzrostu i rozwoju roślin*. T. 2, red. L. Jankiewicz, Wyd. Nauk. PWN Warszawa, 219-242.

- Previati A., Benelli C., Da Re F., Giannini M., 2008. *In vitro* propagation of virus-free chrysanthemum stock plants for cut flowers. *Propag. Ornament. Plants* 8(3), 167-169.
- Ram R., Verma N., Singh A.K., Singh L., Hallan V., Zaidi A.A., 2005. Indexing and production of virus-free chrysanthemums. *Biol. Plantarum* 49(1), 149-152.
- Shibata M., Kishimoto S., Hirai M., Aida R., Ikeda I., 1998. Analysis of the periclinal chimeric structure of chrysanthemum sports by random amplified polymorphic DNA. *Acta Hort.* 454, 347-353.
- Szopa J., Kościyń K., 2006. Kultury komórkowe i rośliny transgeniczne w biotechnologii. *Biotechnologia* 4(75), 7-17.
- Tanaka K., Kanno Y., Kudo S., Suzuki M., 2000. Somatic embryogenesis and plant regeneration in chrysanthemum (*Dendranthema grandiflorum* (Ramat.) Kitamura). *Plant Cell Rep.* 19, 946-953.
- Teixeira da Silva J.A., 2003a. Chrysanthemum: advances in tissue culture, cryopreservation, postharvest technology, genetics and transgenic biotechnology. *Biotechnol. Adv.* 21, 715-766.
- Teixeira da Silva J.A., 2003b. Thin Cell Layer technology in ornamental plant micropropagation and biotechnology. *Afr. J. Biotechnol.* 2(12), 683-691.
- Teixeira da Silva J.A., Fukai S., 2003. Chrysanthemum Organogenesis Through Thin Cell Layer Technology and Plant Growth Regulator Control. *Asian J. Plant Sci.* 2, 505-514.
- Ukiya M., Akihisa T., Tokuda H., Suzuki H., Mukainaka T., Ichiishi E., Yasukawa K., Kasahara Y., Nishino H., 2002. Constituents of *Compositae* plants III. Anti-tumor promoting effects and cytotoxic activity against human cancer cell lines of triterpene diols and triols from edible chrysanthemum flowers. *Cancer Lett.* 177, 7-12.
- Waseem K., Jilani M.S., Khan M.S., 2009. Rapid plant regeneration of chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* L.) through shoot tip culture. *Afr. J. Biotechnol.* 8(9), 1871-1877.
- Waseem K., Jilani M.S., Khan M.S., Kiran M., Khan G., 2011. Efficient *in vitro* regulation of chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* L.) plantlets from nodal segments. *Afr. J. Biotechnol.* 10(8), 1477-1484.
- Xie Y.Y., Yuan D., Yang J.Y., Wang L.H., Wu C.F., 2009. Cytotoxic activity of flavonoids from the flowers of *Chrysanthemum morifolium* on human colon cancer Colon 205 cells. *J. Asian Nat. Prod. Res.* 11(9), 771-778.
- Yang J., Kim J.S., Jeong H.J., Kang H.H., Cho J.C., Yeom H.M., Kim M.J., 2011. Determination of antioxidant and  $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities and luteolin contents of *Chrysanthemum morifolium* Ramat extracts. *Afr. J. Biotechnol.* 10(82), 19197-19202.
- Yoshioka S., Sumitomo K., Fujita Y., Yamagata A., Onozaki T., Shibata M., Ohmiya A., 2010. Significance of CmCCD4a orthologs in apetalous wild chrysanthemum species, responsible for white coloration of ray petals. *Euphytica* 171, 295-300.

- Zalewska M., 2010. *In vitro* adventitious bud techniques as a tool in creation of new chrysanthemum cultivars. [W:] Floriculture: role of tissue culture and molecular techniques, ed. S.K. Datta, D. Chakrabarty, Pointer Publishers Jaipur, 189-218.
- Zalewska M., Lema-Rumińska J., Miler N., 2007. *In vitro* propagation using adventitious buds technique as a source of new variability in chrysanthemum. Sci. Hort. 113, 70-73.
- Zalewska M., Lema-Rumińska J., Miler N., Gruszka M., Dąbal W., 2011a. Induction of adventitious shoot regeneration in chrysanthemum as affected by the season. In Vitro Cell. Dev. Biol. – Plant 47, 375-378.
- Zalewska M., Miler N., 2010. Topophysis in adventitious shoots regeneration *in vitro* in chrysanthemum. Biotechnologia 2(89), 89-95.
- Zalewska M., Miler N., Tymoszek A., Drzewiecka B., Winiecki J., 2010a. Results of mutation breeding activity on *Chrysanthemum* × *grandiflorum* /Ramat./ Kitam. in Poland. EJPAU 13(4), #27, [www.ejpau.media.pl/volume13/issue4/art-27.html](http://www.ejpau.media.pl/volume13/issue4/art-27.html)
- Zalewska M., Miler N., Wenda-Piesik A., 2010b. Effect of *in vitro* topophysis on the growth, development, and rooting of chrysanthemum explants (*Chrysanthemum* × *grandiflorum* /Ramat./ Kitam). J. Hort. Sci. Biotechnol. 85(4), 362-366.
- Zalewska M., Tymoszek A., Miler N., 2011b. New chrysanthemum cultivars as a result of *in vitro* mutagenesis with the application of different explant types. Acta Sci. Pol., Hortorum Cultus 10(2), 109-123.
- Zhao E.H., Liu Z.H., Hu X., Yin J.L., Li W., Rao G.Y., Zhang X.H., Huang C.L., Anderson N., Zhang Q.X., Chen J.Y., 2009. Chrysanthemum genetic resources and related genera of *Chrysanthemum* collected in China. Genet. Res. Crop Evol. 56, 937-946.

## 1. MARKERY NOWOTWOROWE

Nowotwory złośliwe to druga (po chorobach układu krążenia) z najczęstszych przyczyn zgonów. Na całym świecie można obecnie zaobserwować wzrost częstości zachorowań na różnego rodzaju choroby nowotworowe. Niestety mimo ciągłego doskonalenia metod diagnostycznych oraz terapeutycznych stale rosną również wskaźniki umieralności spowodowane tą grupą jednostek chorobowych. Tendencja ta jest szczególnie wyraźnie widoczna w krajach wysoko rozwiniętych. Można to tłumaczyć wydłużeniem średniej długości życia populacji, a także wyższym poziomem rozwinięcia metod umożliwiających szybszą i dokładniejszą diagnostykę medyczną w tych krajach. Nie bez znaczenia z pewnością pozostaje także większy stopień chemizacji środowiska, uważany obecnie za jeden z bardziej znaczących czynników etiologicznych nowotworów złośliwych [Kulpa 2009, Duffy 2013]. Wczesne wykrycie zmian patologicznych, gdy choroba jest w początkowym stadium rozwoju, zwiększa nie tylko arsenał metod terapeutycznych służących walce z nowotworem, ale także przede wszystkim realnie wpływa na szanse całkowitego wyleczenia oraz długość życia pacjenta. Badacze na całym świecie próbują znaleźć wskaźniki, które w szybki i tani sposób pozwoliłyby na rozpoznanie nowotworu przed kliniczną manifestacją choroby. Mimo znaczącego postępu medycznego, który miał miejsce w ostatnich latach, nadal brak jest takich metod, których diagnostyczna czułość i swoistość byłyby odpowiednio wysokie. Substancjami, które w sposób pośredni umożliwiają przedkliniczne stwierdzenie choroby nowotworowej, są markery nowotworowe. Niestety w bardzo wielu przypadkach nie spełniają wszystkich wymagań klinicznych i analitycznych wobec nich stawianych. Jednak szybkość i łatwość ich oznaczania spowodowały, że są one obecnie bardzo często wykorzystywane jako dodatkowe narzędzie w procesie diagnostycznym [Dobryszczycka 2000, Ziółkowska-Seta i in. 2001, Kulpa 2009].

Zgodnie z definicją markery nowotworowe to związki, których podwyższone stężenie w różnego rodzaju płynach ustrojowych czy tkankach wynika z toczącego się w organizmie pacjenta procesu nowotworowego. Najczęściej są to substancje wielkocząsteczkowe. Pod względem budowy chemicznej są one bardzo zróżnicowane. Mogą być białkami z różnej wielkości komponentą lipidową czy węglowodanową lub też glikolipidami. Mogą pełnić określone funkcje w organizmie człowieka i być hormonami wydzielanymi przez różne narządy czy enzymami biorącymi udział różnych reakcjach biochemicznych. Często również są to związki biologicznie nieczynne [Mazurek i in. 1998, Ziółkowska-Seta i in. 2001].

W zależności od właściwości danego markera może być on oznaczany w różnym celu. Potencjalnie można je wykorzystywać w badaniach przesiewowych populacji oraz ocenie ryzyka wystąpienia choroby nowotworowej. Mimo dużej liczby obecnie poznanych markerów nowotworowych diagnostyczna czułość i swoistość żadnego z nich nie

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Zakład Pielęgniarstwa Gastroenterologicznego, ul. Ujejskiego 75, 85-168 Bydgoszcz, e-mail: liebert@doktorant.umk.pl

pozwalają na realizację tego zastosowania w praktyce. W postawieniu diagnozy oraz ocenie stopnia zaawansowania choroby wynik pomiaru stężenia takiego wskaźnika stanowi informację dodatkową i jest narzędziem wspomagającym i uzupełniającym proces diagnostyczny. Podstawowym zastosowaniem oznaczania poziomu tych substancji jest monitorowanie przebiegu choroby nowotworowej. Markery nowotworowe odgrywają również istotną rolę w ocenie skuteczności prowadzonego postępowania terapeutycznego, w tym również w wykrywaniu odległych od pierwotnego miejsca występowania guza przerzutów. Bardzo ważna jest także zdolność do wykrycia przetrwałej tkanki nowotworowej pozostającej w organizmie po zabiegach chirurgicznych mających na celu całkowite usunięcie struktur patologicznych [Szutowicz i Bielarczyk 2011, Duffy 2013].

Związek, który można uznać za marker nowotworowy, musi spełniać szereg wymagań. Najważniejszymi są wspomniane już wcześniej wysoka czułość i swoistość. Czułość wskaźnika definiuje się jako stosunek liczby wyników pozytywnych do liczby wszystkich badanych chorych na określony typ nowotworu. Mówiąc prościej: jest to prawdopodobieństwo otrzymania wyniku pozytywnego u osoby chorej na daną jednostkę chorobową. Z kolei swoistość diagnostyczna to stosunek wyników prawdziwie ujemnych do liczby wszystkich badanych osób, u których nie stwierdzono występowania danej choroby. Jest to prawdopodobieństwo wyniku ujemnego u osoby zdrowej. Wysoka wartość tych cech świadczy o dużej zdolności wiarygodnego odróżnienia na podstawie wyniku badania stężenia wskaźnika osób chorych na dany nowotwór od pozostałych osób, w których organizmie brak tkanki nowotworowej określonego rodzaju. Bardzo pożądaną cechą jest również swoistość narządowa markera. Wysoki poziom biomarkera charakteryzującego się tą cechą umożliwia nie tylko potwierdzenie istnienia choroby, ale również określenie jej narządowego umiejscowienia. Wielkość stężenia danego wskaźnika powinna również korelować ze stopniem zaawansowania procesu nowotworowego czy wielkością lub masą guza [Mazurek i in. 1998, Ziółkowska-Seta i in. 2001, Kulpa 2009]. Ważna jest także porównywalność wyników pomiędzy wynikami pomiarów uzyskiwanymi za pomocą różnych metod. Obecnie coraz częściej dąży się do standaryzacji metod pomiarowych. Idealny marker nowotworowy, poza wyżej wymienionymi cechami, powinien odznaczać się też wysoką dodatnią i ujemną wartością predykcyjną. Oznacza to, że na podstawie danego stężenia wskaźnika prawdopodobieństwo wykluczenia czy potwierdzenia choroby nowotworowej powinno być stosunkowo wysokie. Wysoka wartość prognostyczna pomiaru z kolei umożliwia trafne oszacowanie czasu całkowitego oraz bezobjawowego przeżycia pacjentów. Aktualnie „marker idealny” spełniający wszystkie te kryteria na odpowiednio wysokim poziomie nie jest znany [Dobryszczyka 2000, Szutowicz i Bielarczyk 2011, Duffy 2013].

Mimo że wzrost stężenia poszczególnych markerów może być obserwowany w różnych płynach ustrojowych, najczęściej wartość tę oznacza się w surowicy krwi. Jest to stosunkowo proste, tanie i, co bardzo istotne, mało inwazyjne rozwiązanie. Wzrost stężenia indykatora w surowicy może następować w dwojaki sposób. Ze względu na pochodzenie związków uznanych za biomarkery można je pogrupować na te bezpośrednio produkowane przez komórki nowotworu i uwalniane do krwiobiegu oraz na substancje produkowane przez komórki prawidłowe w wyniku reakcji organizmu na toczący się proces nowotworowy. W praktyce jednak częściej dzieli się wskaźniki na markery pochodzenia komórkowego (związane w sposób stały ze strukturami komórki) oraz krążące markery nowotworowe (uwalniane do płynów ustrojowych zarówno przez

komórki prawidłowe, jak i zmienione nowotworowo) [Kulpa 2009, Szutowicz i Bielarczyk 2011].

## 2. ANTYPEN NOWOTWOROWY CA-125

CA-125 (mucyna 16) to wysokocząsteczkowa glikoproteina, będąca jednocześnie najdokładniej przebadanym oraz jednym z najczęściej wykorzystywanych markerów. Przeciwciała dla tej cząsteczki zostały odkryte w 1981 roku przez zespół dr. Roberta Basta. To antypenowe mucynopochodne białko jest kodowane przez gen MUC16 (gen mucyny 16) zlokalizowany na chromosomie 19. Różni się on jednak strukturalnie od genów innych mucyn (takich jak antypen karcynoembrionalny CEA czy antypen CA19.9), które są zazwyczaj zlokalizowane na chromosomach 7. i 11. Prawdopodobnie w cząsteczce CA-125 znajduje się mniej węglowodanów niż w cząsteczkach innych mucyn. Najczęściej przyjmuje się, że związek ten jest mieszaniną cząsteczek o zróżnicowanej masie: od 200 do 1000 kDa. Powodem tego są najprawdopodobniej bardzo duże różnice w stopniu glikolizacji. Jednak sama wielkość masy związku jest wśród badaczy przedmiotem sporów i wciąż pozostaje kwestią nie do końca wyjaśnioną [Kaneke i in. 2009, Sikaris 2011, Weiland i in. 2012]. Jest to obecnie najlepszy biochemiczny wskaźnik dla nieszluzowych raków jajnika. Według różnych źródeł literaturowych czułość i swoistość pomiaru tego biomarkera w tym typie raków jajnika sięgają odpowiednio ok. 82 i 85%. Podobnie jak inne markery nowotworowe nie jest on w pełni swoisty dla określonego rodzaju nowotworu i jego stężenie może być podwyższone również w innych stanach klinicznych. Biologiczna rola tej glikoproteiny nie jest obecnie całkowicie określona i nadal jest przedmiotem badań. W kilku pracach wskazywano na związek pomiędzy CA-125 a układem odpornościowym. Powszechnie uznaje się, że związek ten pełni rolę bariery mającej na celu nawilżenie i zabezpieczenie komórek nabłonkowych przed różnymi czynnikami infekcyjnymi, obcymi cząsteczkami czy urazem fizycznym. Obecnie wydaje się, że nawet w przypadku raków jajnika antypen CA-125 pochodzi z produkcji komórek mezotelialnych, a nie jest, jak dawniej przypuszczano, produktem komórek nowotworowych [Moss i in. 2005, Bahat i in. 2008, Szutowicz i Bielarczyk 2011, Weiland i in. 2012]. W kilku pracach zwracano również uwagę na zdolność wiązania się cząsteczki CA-125 z glikoproteinami znajdującymi się na powierzchni komórek mezotelialnych. Może to wskazywać na potencjalną rolę analizowanej glikoproteiny w procesach adhezji komórkowej zarówno w stanach chorobowych, jak i fizjologicznych. Należy bowiem pamiętać, że mucyna ta według obecnego stanu wiedzy może być produkowana stale w niewielkich ilościach przez różne komórki organizmu, a proces nowotworowy często staje się czynnikiem wpływającym na wzrost tej produkcji. Jak już wcześniej wspomniano, stężenie omawianego antypenu nowotworowego nie musi być związane z toczącym się aktywnym procesem karcenogenezy [Yin i Llyod 2001, Kalantri i in. 2007, Wilczak i in. 2007, Sikaris 2011, Weiland i in. 2012].

### 2.1. Zastosowanie CA-125 w kardiologii

Przez ponad 20 lat marker nowotworowy CA-125 służy onkologom do diagnostyki oraz monitorowania odpowiedzi na leczenie w przypadkach nowotworów jajnika. Od kilku lat w literaturze można spotkać doniesienia o wykorzystaniu pomiaru stężenia tego wskaźnika w kardiologii. W pracy opublikowanej w 2006 roku przez Julio Núñez



i in. oceniano, czy wartość stężenia CA-125 może być wykorzystywana jako czynnik prognostyczny w ostrej niewydolności serca. Okazało się, że ilość krążącego CA-125 mierzona u pacjentów hospitalizowanych z powodu zdiagnozowanej ostrej niewydolności serca może być interpretowana i wykorzystywana jako niezależny predyktor zgonu w tej grupie pacjentów. Przebadano 529 chorych – okres ich obserwacji od momentu hospitalizacji trwał do 6 miesięcy. Według autorów źródłem antygenu mogą być komórki mezotelialne znajdujące się w opłucnej, otrzewnej i osierdziu. Został podkreślony także fakt, że najprawdopodobniej mezotelium może być zdolne do syntezy mucyny 16 również bez akumulacji płynów w tych błonach. Powodem takiego zjawiska może być stymulacja cytokinami lub innymi biomarkerami zapalnymi, których stężenie wzrasta w przypadku niewydolności serca [Núñez i in. 2007]. W opublikowanej 3 lata później pracy Monteiro i in. również oceniali wartość prognostyczną stężenia CA-125 w ostrej niewydolności serca. Grupa badana była dużo mniej liczna (88 pacjentów), jednak uzyskano bardzo podobne rezultaty. Za punkt końcowy obserwacji uznawano także konieczność wykonania przeszczepu serca. Zwrócono również uwagę na to, że pacjenci z podwyższonym poziomem CA-125 mają znacząco niższe ciśnienie krwi, wskaźnik masy ciała, stężenie sodu w surowicy oraz maksymalne zużycie tlenu, podczas gdy poziom peptydu natriuretycznego B (uznanego wskaźnika nasilenia choroby oraz niepomysłnego rokowania w niewydolności serca) był z reguły znacznie podwyższony. Istotne jest także to, że w analizowanej grupie pacjentów u większości nie zaobserwowano wysięku do opłucnej. W wielu pracach wykazano również dodatnią korelację pomiędzy stopniem zaawansowania niewydolności a ilością markera w surowicy krwi [Monteiro i in. 2010]. W pracy opublikowanej w 2011 roku Sikaris również potwierdza możliwość zastosowania pomiaru omawianego markera jako czynnika rokowniczego. Jednak zwraca też uwagę na konieczność dalszych badań w tym obszarze [Sikaris 2011]. W roku 2012 Vizzardi wraz z zespołem opublikowali pracę, w której przedstawili badania nad długoterminową prognostyczną wartością poziomu CA-125 w surowicy u pacjentów z niewydolnością serca o łagodnym i średnim nasileniu. Według autorów CA-125 może być wykorzystywany jako długoterminowy marker prognostyczny zdarzeń sercowo-naczyniowych i hospitalizacji wynikających z niewydolności serca różnego stopnia. Czas obserwacji grupy badanej 102 pacjentów wynosił średnio 43 miesiące. Według wielu źródeł literaturowych CA-125 jest związany praktycznie z wszystkimi przyczynami niewydolności serca. Badacze wymieniają między innymi: niedomykalność zastawki mitralnej, zwężenie zastawki trójdzielnej, kardiomiopatię przerostową, nadczynność tarczycy, tamponadę osierdzia czy naczyniakomiesaka. Wydaje się, że rutynowe wykorzystywanie oznaczeń stężenia mucyny 16 w ocenie stratyfikacji ryzyka w grupie pacjentów narażonych na incydenty natury kardiologicznej jest już tylko kwestią czasu [Sikaris 2011, Vizzardi i in. 2012].

## 2.2. CA-125 a nowotwory płuca

W ubiegłym roku opublikowano wyniki badania mającego na celu ocenę przydatności diagnostycznej wybranych markerów nowotworowych w raku płuca; jednym z analizowanych związków była mucyna 16. Przebadano grupę 46 osób ze złośliwymi chorobami rozrostowymi płuc oraz analogiczną liczbę pacjentów z chorobami łagodnymi, którzy byli traktowani jako grupa kontrolna. Stężenia biomarkerów oznaczano w surowicy krwi oraz w popłucznach oskrzelowo-pęcherzykowych. Kilka lat wcześniej zostały opublikowane wyniki podobnie zaprojektowanego badania, jednak pomia-



rów dokonywano tylko w surowicy krwi. Wykazano, że stężenia wskaźników nowotworowych w grupie badanej uzyskane z popłuczyn są znacząco wyższe niż otrzymane z surowicy krwi. Jednak w obu rodzajach badanych płynów były one statystycznie istotnie wyższe niż w grupie kontrolnej. Wyznaczone przez badaczy czułość i swoistość dla CA-125 wynosiły odpowiednio dla oznaczeń wykonywanych w popłuczynach 89 i 75%, zaś dla pomiarów w surowicy 91 i 62%. W roku 2013 opublikowana została praca dotycząca retrospektywnego przeglądu 277 pacjentów ze zdiagnozowanym niedrobnokomórkowym rakiem płuca. Wykazano statystycznie istotne podwyższenie poziomu CA-125 u chorych z zaawansowaną klinicznie chorobą w stosunku do wartości wyjściowej [Tarro i in. 2005, Ghosh i in. 2013].

### **2.3. CA-125 w pozostałych jednostkach chorobowych i stanach klinicznych**

Wzrost CA-125 zaobserwowano również w bardzo wielu innych schorzeniach. W zależności od analizowanego problemu zdrowotnego były to pojedyncze przypadki kliniczne lub też obserwacje prowadzone na dużej grupie pacjentów. Już przed rokiem 2000 donoszono o możliwości zastosowania pomiarów tego markera jako silnego predyktora przerzutów do otrzewnej u chorych na raka żołądka. Nakata i in. ocenili czułość tego pomiaru na ponad 39%, a jego swoistość na bliską 96%. Mimo niskiej czułości diagnostycznej dokładność diagnostyczna wyniosła blisko 91% i była według autorów wyższa niż w przypadku zastosowania tradycyjnych technik obrazowania, w tym również tomografii komputerowej czy ultrasonografii. Grupa badana liczyła 384 pacjentów. Co ciekawe, podwyższony poziom biomarkera utrzymywał się do 2 miesięcy od momentu resekcji żołądka, najprawdopodobniej z powodu trwającego zapalenia otrzewnej [Nakata i in. 1998]. Z kolei 4 lata temu opublikowano pracę, w której oceniano kliniczną użyteczność pomiaru stężenia CA-125 u pacjentów poddanych radykalnej cystektomii z powodu przejściowokomórkowego raka pęcherza moczowego. Analizowana grupa badanych liczyła 92 osoby. Podobnie jak w poprzednich pracach również w tej autorzy wskazują na możliwość zastosowania pomiaru stężenia antygenu w surowicy jako predyktora odpowiedzi na leczenie poprzez cystektomię w tym typie raka pęcherza. Podkreślają oni konieczność prowadzenia dalszych badań w tej dziedzinie, w tym również przeprowadzenia długoterminowych obserwacji [Kouba i in. 2009]. W literaturze można spotkać doniesienia o wzroście CA-125 spowodowanym chorobami rozrostowymi także innych narządów, niekoniecznie związanych z onkologią ginekologiczną. Wymienia się poza wyżej wymienionymi między innymi: chłoniaki, czerniaka, nowotwory trzustki, wątroby, piersi, jelita grubego czy odbytnicy [Camera 2000, Bahat i in. 2008, Boss i in. 2011, Weiland i in. 2012, Yerushalmi i in. 2012, Duffy 2013].

Wzrost stężenia analizowanego wskaźnika odnotowano również w przypadku wielu zaburzeń o innym niż nowotworowe podłożu. Wymienia się między innymi: przewlekłą niewydolność nerek, ostre zapalenie trzustki, sarkoidozę, choroby infekcyjne opłucnej i otrzewnej czy też stany zapalne miednicy mniejszej [Moss i in. 2005, Szekanez i in. 2007, Bahat i in. 2008, Wang i in. 2009, Lee i in. 2012, Weiland i in. 2012]. Od ponad 20 lat wiadomo, że poziom biomarkera będącego przedmiotem tej pracy rośnie również w zwłóknieniu wątroby. Początkowo sądzono, że może to być spowodowane żółtaczką. Późniejsze badania wykazały, że podobny wzrost można zaobserwować w każdej nieskompensowanej chorobie wątroby, bez względu na to, czy jest to ostry epizod choroby czy schorzenie przewlekłe. Szczególnie wysokie stężenia badanej

mucyny zaobserwowano w marskości wątroby powikłanej wodobrzuszem. Obecnie uważa się, że stężenie CA-125 w surowicy może być podwyższone w praktycznie każdej jednostce chorobowej, która może spowodować rozwój wodobrzusza. Jednakże dane literaturowe mogące potwierdzić tę teorię nadal są niekompletne [Silberstein i in. 2001, Moss i in. 2005, Kalantri 2007, Bahat i in. 2008, Sikaris 2011, BouKhalil i in. 2013].

Wartym zauważenia jest fakt, że wzrost stężenia mucyny 16 w surowicy może również nastąpić w warunkach fizjologicznych. Stanami takimi mogą być menstruacja czy wczesna ciąża. Zaobserwowano, że na zmiany stężeń poza płcią wpływa również wiek pacjenta. Powyższe czynniki dodatkowo komplikują wybór wartości odcięcia, które można by uznać za wartości diagnostycznie istotne [Mazurek i in. 1998, Dobryszczyńska 2000, Ziółkowska-Seta i in. 2001, Kulpa 2009].

### 3. PODSUMOWANIE

Mimo przeprowadzenia wielu lat badań nadal nie poznano roli oraz nie wyjaśniono mechanizmów działania CA-125 (mucyny 16). Nie wiadomo również, dlaczego następuje wzrost stężenia tej substancji w różnych płynach ustrojowych w tak wielu jednostkach chorobowych oraz co tak naprawdę powoduje to zjawisko. Prawdopodobnie jest ono związane z uczestnictwem opisywanego antygenu w procesach adhezji komórkowej lub w ochronie komórek nabłonkowych. Możliwe, że jest to też wynik stymulacji czynnikami zapalnymi czy też aktywacji sekrecji zwykłym bodźcem fizycznym. Według literatury biomarker ten może również przyczyniać się do szybszej progresji choroby nowotworowej poprzez wpływ na ruchliwość komórek, osłabienie układu immunologicznego (hamowanie komórek *natural killers*), a także w pewnym stopniu działać na patologicznie transformowane komórki cytoprotekcyjne. Część jednak z powyższych stwierdzeń wysnuto w mniejszym lub większym stopniu poprzez analogię do roli i mechanizmów działania innych lepiej poznanych mucyn. Z całą pewnością dalsze badania cząsteczki antygenu CA-125 pomogą lepiej zrozumieć rolę tego związku w procesach zachodzących w organizmie człowieka i być może też przełożą się na wzrost liczby jego diagnostycznych zastosowań [Moss i in. 2005, Bahat i in. 2008, Kaneko i in. 2009, Sikaris 2011, Szutowicz i Bielarczyk 2011, Weiland i in. 2012].

### LITERATURA

- Bahat G., Coşan F., Saka B., Uzun S., Öztürk S., Erten N., Karan M.A., Taşcıoğlu C., 2008. The Meaning of Increased CA125 in Internal Medicine Practice. Nobel Med. 4, 32-36.
- Boss D.S., Glen H., Beijnen J.H., de Jong D., Wanders J., Evans T.R., Schellens J.H., 2011. Serum  $\beta$ -HCG and CA-125 as tumor markers in a patient with osteosarcoma: case report. Tumori 97, 109-114.
- Bou Khalil R., El Rassi P., Chammas N., Obeid J., Ghabach M., Sakr C., Itani T., Farhat S., 2013. Myxedema ascites with high CA-125: Case and a review of literature. World J. Hepatol. 5, 86-89.
- Camera A., Villa M.R., Rocco S., De Novellis T., Costantini S., Pezzullo L., Lucania A., Mariano A., Macchia V., Rotoli B., 2000. Increased CA 125 Serum Levels in Patients with Advanced Acute Leukemia with Serosal Involvement. Cancer 88, 75-78.

- Dobryszczycka W., 2000. Molekularne markery raka jajnika. *Post. Hig. Med. Dośw.* 54, 495-518.
- Duffy M.J., 2013. Tumor Markers in Clinical Practice: A Review Focusing on Common Solid. *Med. Princ. Pract.* 22, 4-11.
- Ghosh I., Bhattacharjee D., Das A.K., Chakrabarti G., Dasgupta A., Dey S.K., 2013. Diagnostic Role of Tumors Markers CEA, CA15-3, CA19-9 and CA125 in Lung Cancer. *Indian J. Clin. Biochem.* 28, 24-29.
- Kalantri Y., Naik G., Joshi S.P., Jain A., Phatak S., Chavan R., Hemvani N., Chitnis D.S., 2007. Role of cancer antigen-125 from pleural & ascetic fluid samples in non malignant conditions. *Indian J. Med. Res.* 125, 25-30.
- Kaneko O., Gong L., Zhang J., Hansen J.K., Hassan R., Lee B., Ho M., 2009. A Binding Domain on Mesothelin for CA125/MUC16. *J. Biol. Chem.* 284, 3739-3749.
- Kouba E.J., Lentz A., Wallen E.M., Pruthi R.S., 2009. Clinical use of serum CA-125 levels in patients undergoing radical cystectomy for transitional cell carcinoma of the bladder. *Urol. Oncol.* 27, 486-490.
- Kulpa J., 2009. Diagnostyka biochemiczna chorób nowotworowych. [W:] Diagnostyka laboratoryjna z elementami biochemii klinicznej, red. A. Dembińska-Kieć, J.W. Naskalski, Wyd. Elsevier Urban & Partner Wrocław, 853-874.
- Lee I.S., Kim S.B., Moon C.S., Jung S.M., Kim S.Y., Kim E.Y., Jung J.Y., Kang Y.A., Kim Y.S., Kim S.K., Chang J., Park M.S., 2012. Sarcoidosis Presenting with Massive Pleural Effusion and Elevated Serum and Pleural Fluid Carbohydrate Antigen-125 Levels. *Tuberc. Respir. Dis.(Seoul)* 73, 320-324.
- Mazurek A., Łapuć G., Laudański T., 1998. Markery nowotworowe w ginekologii. *Medipress Ginekologia* 4, 12-19.
- Monteiro S., Franco F., Costa S., Monteiro P., Vieira H., Coelho L., Oliveira L., Providência L.A., 2010. Prognostic value of CA125 in advanced heart failure patients. *Int. J. Cardiol.* 140, 115-118.
- Moss E.L., Hollingworth J., Reynolds T.M., 2005. The role of CA125 in clinical practice. *J. Clin. Pathol.* 58, 308-312.
- Nakata B., Hirakawa Y., Chung K., Kato Y., Yamashita Y., Maeda K., Onoda N., Sawada T., Sowa M., 1998. Serum CA 125 Level as a Predictor of Peritoneal Dissemination in Patients with Gastric Carcinoma. *Cancer* 83, 2488-2492.
- Núñez J., Núñez E., Consuegra L., Sanchis J., Bodí V., Martínez-Brotons A., Bertomeu-González V., Robles R., Bosch M.J., Fácila L., Darmofal H., Llàcer A., 2007. Carbohydrate antigen 125: an emerging prognostic risk factor in acute heart failure? *Heart* 93, 716-721.
- Sikaris K., 2011. CA125-A Test with a Change of Heart. *Heart Lung Circ.* 20, 634-640.
- Silberstein L., Rosenthal A., Coppack S., Noonan K., Jacobs I., 2001. Ascites and raised serum Ca 125 – confusing combination. *Journal of the Royal Society of Medicine* 94, 581-589.

Szekanecz E., Sándor Z., Antal-Szalmás P., Soós L., Lakos G., Besenyei T., Szentpétery A., Simkovics E., Szántó J., Kiss E., Koch A.E., Szekanecz Z., 2007. Increased Production of the Soluble Tumor-Associated Antigens CA19-9, CA125, and CA15-3 in Rheumatoid Arthritis. *Ann. NY Acad. Sci.* 1108, 359-371.

Szutowicz A., Bielarczyk H., 2011. Laboratoryjne wskaźniki chorób nowotworowych. [W:] Diagnostyka laboratoryjna. T. II, red. A. Szutowicz, A. Raszei-Specht, Gdański Uniwersytet Medyczny, 107-119.

Tarro G., Perna A., Esposito C., 2005. Early Diagnosis of Lung Cancer by Detection of Tumor Liberated Protein. *J. Cell. Physiol.* 203, 1-5.

Vizzardi E., D'Aloia A., Pezzali N., Bugatti S., Curnis A., Dei Cas L., 2012. Long-Term Prognostic Value of CA 125 Serum Levels in Mild to Moderate Heart Failure Patients. *J. Card. Fail.* 18, 68-73.

Wang M., Huang Q., Yang T., 2009. IgE myeloma with elevated level of serum CA125. *J. Zhejiang Univ. Sci. B* 10, 559-562.

Weiland F., Martin K., Oehler M.K., Hoffmann P., 2012. Deciphering the Molecular Nature of Ovarian Cancer Biomarker CA125. *Int. J. Mol. Sci.* 13, 10568-10582.

Wilczak M., Rzymiski P., Strykowska K., Stanek R., Opala T., 2007. Highly elevated levels of the antigen Ca-125 associated with inflammatory abdominal masses. *Arch. Med. Sci.* 3, 278-280.

Yerushalmi R., Tyldesley S., Kennecke H., Speers C., Woods R., Knight B., Gelmon K.A., 2012. Tumor markers in metastatic breast cancer subtypes: frequency of elevation and correlation with outcome. *Ann. Oncol.* 23, 338-345.

Yin B.W., Lloyd K.O., 2001. Molecular Cloning of the CA125 Ovarian Cancer Antigen. *J. Biol. Chem.* 29, 27371-27375.

Ziółkowska-Seta I., Drabik M., Lindner B., Pietrzak K., 2001. Markery nowotworowe – przydatność w diagnostyce i monitorowaniu leczenia guzów jajnika. *Onkol. Pol.* 4, 147-150.

# **WSTĘPNE BADANIA WPŁYWU BLISKOŚCI SIŁOWNI WIATROWYCH NA ZWIERZĘTA GOSPODARSKIE I ICH PRODUKCYJNOŚĆ**

**Joanna Marć-Pieńkowska<sup>1</sup>, Paulina Topolińska<sup>1</sup>,  
Katarzyna Mitura<sup>2</sup>, Jan Mikołajczak<sup>1</sup>**

## **1. WSTĘP**

Siłownie wiatrowe umożliwiają uzyskanie energii bez zanieczyszczeń powietrza i bez innych form degradacji środowiska, związanych z wytwarzaniem energii przez elektrownie konwencjonalne [Nelson i Curry 1995]. W ciągu najbliższych kilku lat przewiduje się rozwój energetyki wiatrowej w Polsce. Zgodnie z dokumentem „Polityka energetyczna Polski do 2030” [2009], przyjętym przez Radę Ministrów 10 listopada 2009 roku, udział odnawialnych źródeł energii, w tym energetyki wiatrowej, w całkowitym zużyciu w Polsce ma wzrosnąć do 15% w 2020 roku i 20% w roku 2030. Rozwój siłowni wiatrowych wynika nie tylko z troski o środowisko i z zobowiązań akcesyjnych, lecz również z konieczności, bowiem konwencjonalne źródła energii ulegają stopniowemu wyczerpaniu. Ocenia się, że globalne zasoby węgla kamiennego przy aktualnym poziomie produkcji wystarczą na ok. 150 lat [World Energy Council 2007].

Pomimo tego, że siłownie wiatrowe wytwarzają energię bez produkcji odpadów i gazów cieplarnianych, nie są pozbawione wad, co powoduje, że energetyka wiatrowa ma zarówno zagorzałych zwolenników, jak i przeciwników. Budowa nowego masztu często poprzedzana jest protestem lokalnych społeczności. Brakuje przepisów regulujących bezpieczną odległość turbiny wiatrowej od miejsc utrzymywania zwierząt i siedzib ludzkich. Konieczne jest zatem wykonanie serii doświadczeń służących określeniu wpływu siłowni wiatrowej na otaczające środowisko i podjęcie próby uregulowania odpowiedniego dystansu.

## **2. WPŁYW SIŁOWNI WIATROWYCH NA OTACZAJĄCE ŚRODOWISKO**

W literaturze przedmiotu wykazano wpływ siłowni wiatrowych na wykorzystanie siedlisk przez zwierzęta [Larsen i Madsen 2000, Tapia i in. 2009] oraz na wzrost śmiertelności ptaków w wyniku ich kolizji z turbinami [Everaert i Stienen 2007].

Obecność siłowni wiatrowych może niestety negatywnie wpłynąć na zachowanie się zwierząt oraz na ich rozmieszczenie. Okazuje się, że już na etapie budowy elektrowni zmieniał się skład gatunkowy zwierząt zamieszkujących tereny wokół nowo powstałego masztu. Stan ten był jednak tymczasowy [Wallin 1998, Walter i in. 2006, Arnett i in. 2007, Álvares i in. 2011].

Częstym argumentem przeciwników siłowni wiatrowych jest zwiększona śmiertelność ptaków w wyniku ich kolizji z turbinami. Fakt ten został potwierdzony naukowo

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Katedra Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej, ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz, e-mail: marc.pienkowska@o2.pl

<sup>2</sup> Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy, Wydział Rolnictwa i Biotechnologii, Zakład Chemii Rolnej, ul. Seminaryjna 5, 85-326 Bydgoszcz

[Everaert i Stienen 2007, de Lucas i in. 2012], jednak nie można zapomnieć że konwencjonalne źródła energii także stanowią zagrożenie dla ptaków. Badanie wykonane w Stanach Zjednoczonych w 2006 roku wykazało, że wyprodukowanie gigawatogodziny (GWh) energii elektrycznej przez farmy wiatrowe wiąże się ze śmiertelnością 0,3-0,4 ptaka, podczas gdy w przypadku wytworzenia kilowatogodziny w elektrowni konwencjonalnej śmiertelność wynosi 5,2 ptaka. Wstępny szacunek udowodnił zatem, że farmy wiatrowe zabiły 7 000 ptaków, natomiast elektrownie napędzane paliwami kopalnianymi – 14 500 000 osobników. Można więc stwierdzić, że elektrownie konwencjonalne stanowią znacznie większe zagrożenie dla ptaków i dzikich zwierząt niż elektrownie wiatrowe [Sovacool 2009].

Wpływ farm wiatrowych na ptaki dotyczy nie tylko śmiertelności bezpośredniej w wyniku ich zderzeń z obiektami elektrowni wiatrowych, ale także trzech innych aspektów: odstraszenia, zmian tras przelotów wymuszonych unikaniem siłowni (tzw. efektu bariery) oraz bezpośredniej utraty lęgówisk lub żerowisk wskutek przekształceń terenu wywołanych budową farmy [Drewitt i Langston 2006].

Oprócz wyżej wspomnianego negatywnego oddziaływania farm wiatrowych na zwierzęta należy wspomnieć o emitowanych przez elektrownię infradźwiękach.

### 3. INFRADŹWIEKI

Siłownie wiatrowe mogą być źródłem infradźwięków, czyli dźwięków lub hałasu, których widmo zawarte jest głównie w paśmie częstotliwości od 1 do 20 Hz [Augustyńska 2009], mogących wywołać wiele negatywnych skutków fizjologicznych u organizmów żywych [Landström i in. 1983, Huang Qibay i Shi 2004]. Pod wpływem ekspozycji na infradźwięki i hałas niskoczęstotliwościowy mogą pojawić się zaburzenia pracy układów: krążenia, oddechowego, pokarmowego i hormonalnego [Pawlas 2009]. W warunkach laboratoryjnych u zwierząt poddanych działaniu infradźwięków zaobserwowano negatywne zmiany w układzie sercowo-naczyniowym [Alekseev 1985], w mózgu [Nekhoroshev i Glinchikov 1992], w płucach [Svidovy i Glinchikov 1987] oraz zmiany w narządzie słuchu [Johnson 1980]. Wielkość i charakter zmian zależały od natężenia hałasu, a także od czasu ekspozycji [Pawlas 2009].

W warunkach naturalnych infradźwięki mogą negatywnie wpływać na zachowanie oraz zdrowie i zdolność przeżycia ptaków [Barber i in. 2010], zakłócając ich komunikację i zdolność rozpoznawania drapieżników [Rabin i in. 2006]. Dźwięki zwierząt wydawane w celu ustanowienia terytorium lub znalezienia partnera mogą być maskowane [Helldin i in. 2012]. Hałas może spowodować zmianę składu ptasiej społeczności i zmniejszenie różnorodności gatunków podczas gniazdowania [Francis i in. 2009].

W przypadku zwierząt żyjących za ogrodzeniem, utrzymywanych bez możliwości swobodnego poruszania się, hałas z turbin wiatrowych może być przyczyną przyspieszenia oddechu, szybszego tętna, zwiększonej czujności i skrócenia czasu wypasu [Ames i Arehart 1972]. Hałas infradźwiękowy może być źródłem stresu dla zwierząt [Flydal i in. 2004] i powodować wzrost stężenia kortykosteronu i kortyzolu we krwi, będący odpowiedzią na stres wywołany ekspozycją na infradźwięki [Nishimura 1987].



#### 4. CEL BADAŃ

Niestety długoletnia selekcja drobiu rzeźnego spowodowała przytłumienie mechanizmów adaptacyjnych ustroju, w konsekwencji czego ptaki wykazują zmniejszoną odporność na działanie czynników środowiska oraz większą podatność na stres, co wpływa niekorzystnie na ich produktyjność i zdrowotność [Fortomaris i in. 2007]. Jak już wspomniano, infradźwięki emitowane przez siłownie wiatrowe mogą być poważnym źródłem stresu dla zwierząt. Stres drobiu wpływa na pogorszenie wyników produkcyjnych [Mendl 1999], a także stymuluje powstawanie wad mięsa, obniżając jego jakość oraz wartość technologiczną, co jest przyczyną strat dla hodowców drobiu.

Obecnie brakuje przepisów ustalających bezpieczną odległość siłowni wiatrowych od miejsc utrzymywania zwierząt gospodarskich, a także badań obrazujących wpływ emitowanych przez siłownię wiatrową infradźwięków na stres zwierząt oraz na ich wyniki produkcyjne.

Dlatego też podjęto badania, których celem było określenie wpływu odległości od siłowni wiatrowej i generowanych przez turbinę infradźwięków na parametry stresu, wykorzystanie paszy oraz na jakość mięsa gęsiego.

#### 5. WPŁYW SIŁOWNI WIATROWYCH NA PARAMETRY STRESU I PRZYROSTY MASY CIAŁA GĘSI (2010)

Grupa naukowców Uniwersytetu Technologiczno-Przyrodniczego w Bydgoszczy pod kierownictwem prof. dr. hab. inż. Jana Mikołajczaka wykonała serię eksperymentów. Pierwszy z nich – o charakterze pilotażowym – miał miejsce w 2010 roku. Badanie obejmowało 40 5-tygodniowych osobników gęsi domowej (*Anser anser f. domestica*), podzielonych na 2 stada po 20 ptaków z równym udziałem płci. Jedno stado pozostawiało w odległości 50 m od masztu siłowni o mocy 2 MW w Rypałkach pod Rypinem (woj. kujawsko-pomorskie), drugie – w odległości 500 m od turbiny. Zwierzęta z obu grup miały stały dostęp do paszy oraz wody i były żywione identycznie. Ptaki były utrzymywane w zagrodach, składających się z pomieszczenia dla zwierząt zapewniającego swobodę poruszania się. Eksperyment trwał 12 tygodni, w trakcie doświadczenia co 4 tygodnie ważono gęsi i pobierano od nich krew w celu określenia stężenia kortyzolu. Zwierzęta przez cały czas trwania eksperymentu pozostawały pod opieką lekarza weterynarii.

Dodatkowo za pomocą analizatora dźwięku i drgań klasy I – Svantek SVAN 912 AE – wykonano pomiar emisji hałasu w zakresie słyszalnym (skala A) i w zakresie infradźwięków (skala G) w punktach wyznaczonych zgodnie z wymaganiami określonymi w PN-EN 61400-11 [2013]. Uzyskane wyniki pomiarów zostały skorygowane z uwzględnieniem referencyjnej prędkości wiatru i szorstkości terenu.

Wyniki analizy krwi gęsi były zdumiewające. Wykazano, że we krwi zwierząt przebywających w bezpośrednim sąsiedztwie siłowni (w odległości 50 m) stężenie kortyzolu – parametru stresu – było znacznie wyższe ( $p < 0,001$ ) niż w grupie ptaków oddalonych od turbiny o 500 m (tab. 1). Można zatem wnioskować, iż infradźwięki mogą być poważnym źródłem stresu dla gęsi. Z uwagi na ich endokrynną odmienność u ptaków powszechnie badane jest stężenie kortykosteronu w odpowiedzi na czynnik stresowy. Wobec tego niewiele jest prac dotyczących zmian stężenia kortyzolu we krwi ptaków pod wpływem działania stresora [Tokarzewski i in. 2006, Sohail i in. 2010], stąd też decyzja o oznaczeniu właśnie tego hormonu we krwi rosnących gęsi. Wszystkie



uzyskane wyniki stężeń kortyzolu, nawet te we krwi zwierząt utrzymywanych w odległości 500 m od turbiny, były wyższe od przedstawionych w literaturze. Można zatem stwierdzić, że odległość 500 m od turbiny może nie być odległością bezpieczną, co potwierdziły również wyniki pomiaru hałasu, bowiem poziom jego natężenia w odległości 50 i 500 m od siłowni był zbliżony. Istotne zmniejszenie hałasu nastąpiło dopiero w przypadku oddalenia 1000 m od turbiny.

Tabela 1. Zawartość kortyzolu we krwi gęsi z obu grup ( $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) [opracowanie własne]

| Grupa                     | Wiek              |                  |                   |                  |                   |                   |
|---------------------------|-------------------|------------------|-------------------|------------------|-------------------|-------------------|
|                           | 5. tydzień        |                  | 10. tydzień       |                  | 17. tydzień       |                   |
|                           | 50 m              | 500 m            | 50 m              | 500 m            | 50 m              | 500 m             |
| ♂                         | 10,3              | 9,0              | 29,1              | 7,9              | 54,0              | 12,12             |
|                           | 13,4              | 8,1              | 33,0              | 10,6             | 25,8              | 2,3               |
|                           | 12,1              | 7,6              | 34,6              | 11,4             | 35,0              | 4,3               |
|                           | 14,3              | 2,1              | 40,21             | 9,6              | 21,5              | 26,2              |
|                           | 11,9              | 3,1              | 19,6              | 8,7              | –                 | –                 |
|                           | $\bar{x} - 12,4$  | $\bar{x} - 6,14$ | $\bar{x} - 31,3$  | $\bar{x} - 9,64$ | $\bar{x} - 34,08$ | $\bar{x} - 11,23$ |
| ♀                         | 9,6               | 7,4              | 32,1              | 6,1              | 36,6              | 13,4              |
|                           | 6,9               | 10,9             | 30,7              | 7,7              | 32,5              | 18,7              |
|                           | 12,3              | 8,0              | 37,4              | 10,2             | 34,15             | 23,4              |
|                           | 13,3              | 6,1              | 31,3              | 9,8              | 34,15             | 0,45              |
|                           | 10,1              | 5,2              | 29,1              | 9,1              | –                 | –                 |
|                           | $\bar{x} - 11,24$ | $\bar{x} - 6,72$ | $\bar{x} - 34,12$ | $\bar{x} - 8,58$ | $\bar{x} - 34,35$ | $\bar{x} - 13,99$ |
| $\bar{x}$ dla całej grupy | 11,92*            | 6,43*            | 32,71*            | 9,11*            | 34,12*            | 12,61*            |
| SD dla całej grupy        | 1,63              | 2,13             | 6,3               | 1,65             | 8,9               | 9,10              |

\* średnie różnią się między sobą bardzo wysoko istotnie statystycznie ( $p < 0,001$ )

$\bar{x}$  – średnia, SD- odchylenie standardowe

Odnotowano również negatywny wpływ bliskości siłowni na uzyskiwaną przez zwierzęta masę ciała. W ostatnim tygodniu doświadczenia różnice w masie ciała pomiędzy ptakami z obu stad były istotne ( $p < 0,05$ ). Gęsi utrzymywane bliżej (50 m) turbiny wiatrowej uzyskały o ok. 10% niższą masę ciała w porównaniu z osobnikami bytującymi 500 m od masztu siłowni (tab. 2). Niższa masa ciała zwierząt pozostających w bezpośrednim sąsiedztwie turbiny była spowodowana tym, że ptaki mniej chętnie jadły, co najprawdopodobniej wynikało ze stresu. Dodatkowo zaobserwowano negatywne zmiany w behawiorze gęsi. Ptaki ze stada umieszczonego 50 m od siłowni przez większość czasu pozostawały zbite w grupę i wykazywały mniejszą aktywność ruchową (rys. 1), podczas gdy gęsi z drugiego stada poruszały się swobodnie.

Tabela 2. Masa ciała gęsi z obu grup doświadczalnych (kg) [opracowanie własne]

| Grupa                     | Wiek             |                  |                  |                  |                 |                  |
|---------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-----------------|------------------|
|                           | 5. tydzień       |                  | 10. tydzień      |                  | 17. tydzień     |                  |
|                           | 50 m             | 500 m            | 50 m             | 500 m            | 50 m            | 500 m            |
| ♂                         | 3,08             | 2,95             | 4,52             | 4,79             | 7,4             | 10,0             |
|                           | 2,97             | 3,05             | 4,78             | 4,83             | 7,6             | 8,4              |
|                           | 3,24             | 3,09             | 4,51             | 4,84             | 8,8             | 9,1              |
|                           | 3,29             | 2,96             | 4,43             | 4,78             | 7,4             | 8,4              |
|                           | 2,93             | 2,94             | 4,51             | 4,76             | –               | –                |
|                           | $\bar{x} - 3,1$  | $\bar{x} - 2,99$ | $\bar{x} - 4,55$ | $\bar{x} - 4,8$  | $\bar{x} - 7,8$ | $\bar{x} - 8,98$ |
| ♀                         | 2,76             | 2,82             | 4,38             | 4,61             | 7,2             | 7,8              |
|                           | 2,68             | 2,83             | 4,32             | 4,48             | 6,7             | 7,4              |
|                           | 2,74             | 2,79             | 4,29             | 4,47             | 6,9             | 7,3              |
|                           | 2,64             | 2,80             | 4,44             | 4,53             | 7,6             | 8,1              |
|                           | 2,52             | 2,87             | 4,12             | 4,52             | –               | –                |
|                           | $\bar{x} - 2,67$ | $\bar{x} - 2,82$ | $\bar{x} - 4,31$ | $\bar{x} - 4,52$ | $\bar{x} - 7,1$ | $\bar{x} - 7,65$ |
| $\bar{x}$ dla całej grupy | 2,89             | 2,91             | 4,43             | 4,66             | 7,45*           | 8,31*            |
| SD dla całej grupy        | 260,18           | 104,74           | 173,61           | 153,83           | 0,59            | 0,84             |

\* średnie różnią się między sobą istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ )



Rys. 1. Gęsi utrzymywane w odległości 50 m od siłowni wiatrowej [fot. J. Mikołajczak]

## 6. WPŁYW SIŁOWNI WIATROWYCH NA WYNIKI PRODUKCYJNE GĘSI ORAZ NA JAKOŚĆ MIĘSA GĘSIEGO I JEGO SKŁAD CHEMICZNY (2011)

W 2011 roku z uwagi na fakt, iż zwierzęta z obu grup doświadczalnych pozostały w zasięgu oddziaływania infradźwięków, wykonano badanie obejmujące 3 grupy doświadczalne: pierwsze stado umieszczono w odległości 50 m od masztu siłowni, drugie – 500 m, trzecie natomiast – 1000 m od turbiny, gdzie odnotowano znaczne zmniejszenie natężenia hałasu. Badanie obejmowało 60 5-tygodniowych osobników gęsi domowej, podzielonych na 3 stada po 20 sztuk z równym udziałem płci. Oprócz przeprowadzonych wcześniej analiz wykonano także między innymi analizę zużycia i wykorzystania paszy oraz ocenę jakości mięsa i jego składu chemicznego. Eksperyment trwał również 12 tygodni, w trakcie doświadczenia co 4 tygodnie ważono gęsi i codziennie kontrolowano spożycie paszy. Ostatniego dnia doświadczenia wybrano z każdej grupy doświadczalnej 10 osobników o masie ciała zbliżonej do średniej masy ciała grupy. Zwierzęta te poddano 12-godzinnej głodówce, a następnie ubito. Na pobranym 24 godziny po uboju mięśniu piersiowym *m. pectoralis major* zbadano podstawowy skład chemiczny mięsa gęsiego oraz wykonano analizę fizykochemiczną i sensoryczną mięsa, oceniając następujące parametry: pH<sub>k</sub>, jasność mięsa (L\*), parametr barwy a\*, parametr barwy b\*, wodochłonność, swobodny wyciek soku, plastyczność, kruchość, zawartość tłuszczu śródmięśniowego i indeks nacieku.

Wprawdzie jak wspomniano wcześniej, stres drobiu może powodować pogorszenie jakości tuszek i powstawanie wad mięsa, to jednak analiza statystyczna wykazała, że stres generowany przez infradźwięki emitowane przez siłownię wiatrową nie wpłynął na jakość mięsa gęsiego. Odnotowano wpływ odległości od turbiny na wartość parametru barwy a\* w mięsie i na zawartość tłuszczu śródmięśniowego, jednak w obu przypadkach istotne różnice pojawiły się pomiędzy grupami ptaków odległymi o 500 m i 1000 m od masztu siłowni, a zatem bezpośrednia bliskość (50 m) nie wpłynęła negatywnie na cechy fizykochemiczne i sensoryczne mięsa (tab. 3). Nie stwierdzono ponadto wpływu odległości siłowni wiatrowej na podstawowy skład chemiczny mięsa gęsi.

Zatem stres powstały w wyniku przewlekłego narażenia na infradźwięki w przeciwieństwie do na przykład stresu przedubojowego nie wpływał na jakość mięsa i nie był przyczyną strat dla hodowców. Niemniej jednak analiza zużycia i wykorzystania paszy wykazała negatywną tendencję wywołaną wpływem sąsiedztwa siłowni wiatrowej na ekonomikę odchovu gęsi (tab. 4). W miarę zmniejszania się odległości bytowania gęsi od siłowni wiatrowej przyrosty ich masy ciała ulegały obniżeniu, a zużycie paszy rosło. Wyraźny wzrost zużycia paszy na 1 kg przyrostu masy ciała powoduje spadek rentowności produkcji zwierzęcej, a w konsekwencji – jej nieopłacalność.

Tabela 3. Jakość gęsiny (cechy fizykochemiczne i sensoryczne) w zależności od odległości siłowni wiatrowej [opracowanie własne]

| Parametr              |           | Grupa  |        |        |
|-----------------------|-----------|--------|--------|--------|
|                       |           | 50 m   | 500 m  | 1000 m |
| pH                    | $\bar{x}$ | 5,97   | 5,88   | 6,05   |
|                       | SD        | 0,14   | 0,17   | 0,18   |
| L*                    | $\bar{x}$ | 38,77  | 38,18  | 39,63  |
|                       | SD        | 1,25   | 1,42   | 1,26   |
| a*                    | $\bar{x}$ | 16,99  | 16,57* | 18,04* |
|                       | SD        | 0,92   | 0,82   | 1,16   |
| b*                    | $\bar{x}$ | 2,10   | 2,30   | 3,13   |
|                       | SD        | 1,04   | 1,40   | 0,75   |
| Wyciek termiczny      | $\bar{x}$ | 16,29  | 16,81  | 16,89  |
|                       | SD        | 1,63   | 2,06   | 1,46   |
| Kruchość              | $\bar{x}$ | 42,38  | 42,58  | 44,99  |
|                       | SD        | 5,44   | 4,60   | 4,69   |
| Tłuszcz śródmięśniowy | $\bar{x}$ | 4,61   | 3,62*  | 5,26*  |
|                       | SD        | 1,60   | 0,58   | 1,17   |
| Barwniki              | $\bar{x}$ | 241,40 | 260,44 | 232,73 |
|                       | SD        | 23,82  | 42,65  | 24,86  |
| Swobodny wyciek soku  | $\bar{x}$ | 1,24   | 1,38   | 1,54   |
|                       | SD        | 0,50   | 0,57   | 0,70   |
| Wodochłonność         | $\bar{x}$ | 10,89  | 12,75  | 1066   |
|                       | SD        | 2,49   | 3,10   | 4,16   |
| Indeks nacieku        | $\bar{x}$ | 0,49   | 0,45   | 0,50   |
|                       | SD        | 0,08   | 0,09   | 0,13   |
| Plastyczność          | $\bar{x}$ | 3,01   | 2,87   | 2,92   |
|                       | SD        | 0,23   | 0,25   | 0,30   |

\* średnie różnią się między sobą istotnie statystycznie ( $p < 0,05$ ), SD – odchylenie standardowe

Tabela 4. Średnie zużycie i wykorzystanie paszy przez rosnące gęsi [opracowanie własne]

| Wyszczególnienie                                   |  | Grupa  |        |        |
|----------------------------------------------------|--|--------|--------|--------|
|                                                    |  | 50 m   | 500 m  | 1000 m |
| Liczba ptaków (n)                                  |  | 20     | 20     | 20     |
| Masa ciała (g)                                     |  |        |        |        |
| początkowa                                         |  | 110    | 115    | 113    |
| końcowa                                            |  | 6890   | 7090   | 7500   |
| Przyrost masy ciała w trakcie badań                |  |        |        |        |
| g·szt. <sup>-1</sup>                               |  | 6780   | 6975   | 7387   |
| grupa 1000 m = 100%                                |  | 91,78  | 94,42  | 100,00 |
| Zużycie paszy przez 17 tygodni                     |  |        |        |        |
| mieszanek pasz treściwych (kg·szt. <sup>-1</sup> ) |  | 25,52  | 21,98  | 21,76  |
| ziarna owsa (kg·szt. <sup>-1</sup> )               |  | 10,04  | 9,50   | 9,32   |
| razem pasz (kg·szt. <sup>-1</sup> )                |  | 35,56  | 31,49  | 31,08  |
| Zużycie paszy                                      |  |        |        |        |
| na 1 kg przyrostu                                  |  | 5,24   | 4,51   | 4,20   |
| grupa 1000 m = 100%                                |  | 124,76 | 107,38 | 100,00 |
| Dobowy przyrost masy ciała                         |  |        |        |        |
| g·doba <sup>-1</sup>                               |  | 56,90  | 58,60  | 62,00  |
| grupa 1000 m = 100%                                |  | 91,80  | 94,50  | 100,00 |

## 7. KIERUNEK BADAŃ

Planowane są doświadczenia mające określić wpływ odległości siłowni wiatrowej i generowanych przez turbinę infradźwięków na parametry stresu oraz jakość mięsa kurcząt brojlerów i wyniki produkcyjne. Obecnie kurczęta brojlery, charakteryzujące się bardzo szybkimi przyrostami przy bardzo dobrym wykorzystaniu paszy na 1 kg masy ciała, stały się bardziej wymagające w zakresie warunków utrzymania, żywienia i obsługi. Aktualnie zwraca się coraz większą uwagę na możliwości wykorzystania ziół w przeciwdziałaniu sytuacjom stresowym podczas odchowu zwierząt [Wójcik 2007]. Dlatego też planuje się wykonać ocenę możliwości wprowadzenia ziół do paszy w celu wzmocnienia odporności ptaków na ewentualne obciążenie czynnikiem stresowym, jakim jest hałas infradźwiękowy. W profilaktyce antystresowej u drobiu ze względu na działanie hipoglikemiczne można zastosować pokrzywę zwyczajną i szalwię lekarską [Samochowiec 2002] oraz melisę lekarską, która wykazuje działanie uspokajające, a dodatkowo może mieć korzystny wpływ na przyrosty masy ciała, zużycie paszy i na poprawę smaku mięsa ptaków rzeźnych [Barowicz i Pieszka 2011]. Stąd pomysł na dodatek mieszanki tych ziół do diety kurcząt brojlerów utrzymywanych w różnych odległościach od siłowni wiatrowej. Do pomiaru poziomu stresu i dobrostanu u ptaków może posłużyć wielkość stosunku heterofili do limfocytów (H:L) [Elston i in. 2000, Campo i in. 2008], a także stężenie kortykosteronu [Elston i in. 2000] oraz stężenie glukozy i cholesterolu [Puvadolpirod i Thaxton 2000], dlatego w zaplanowanym doświadczeniu zdecydowano się na wykonanie powyższych analiz.

## LITERATURA

- Alekseev S.V., 1985. Myocardial ischemia in rats exposed to infrasound. *Gigiena Truda i Prof. Zaboлевania* 8, 34-38.
- Álvares F., Rio-Maior H., Roque S., Nakamura M., Cadete D., Pinto S., Petrucci-Fonseca F., 2011. Assessing ecological responses of wolves to wind power plants in Portugal: methodological constraints and conservation implications. *Proceedings, Conference on Wind Energy and Wildlife Impacts*, Trondheim.
- Ames D.R., Arehart L.A., 1972. Physiological response of lambs to auditory stimuli. *J. Anim. Sci.* 34(6), 994-998.
- Arnett E.B., Inkley D.B., Johnson D.H., Larkin R.P., Manes S., Manville A.M., Mason R., Morrison M., Strickland R., Thresher R., 2007. Impacts of wind energy facilities on wildlife and wildlife habitat. Special issue by The Wildlife Society, *Technical Review* 7-2.
- Augustyńska D., 2009. Wartości graniczne ekspozycji na infradźwięki – przegląd piśmiennictwa. *Podst. Met. Oceny Środ. Pr.* 2(60), 5-15.
- Barber J.R., Crooks K.R., Fristrup K.M., 2010. The costs of chronic noise exposure for terrestrial organisms. *Trends Ecol. Evol.* 25(3), 180-189.
- Barowicz T., Pieszka M., 2011. Fitogenne stymulatory produktywności drobiarskiej. *Hodowca Drobiu* 9, [www.portalhodowcy.pl/hodowca-drobiu/238-numer-92011/2205-fitogenne-stymulatory-produkcyjnosci-drobiarskiej](http://www.portalhodowcy.pl/hodowca-drobiu/238-numer-92011/2205-fitogenne-stymulatory-produkcyjnosci-drobiarskiej)

- Campo J.L., Prieto M.T., Davila S.G., 2008. Effect of housing system and cold stress on heterophil-to-lymphocyte ratio, fluctuating asymmetry and tonic immobility duration of chickens. *Poult. Sci.* 87, 621-626.
- De Lucas M., Ferrer M., Janss G.F.E., 2012. Using Wind Tunnels to Predict Bird Mortality in Wind Farms: The Case of Griffon Vultures, [www.plosone.org](http://www.plosone.org)
- Drewitt A.L., Langstron R.W.H., 2006. Assessing the impact of wind farms on birds. *Ibis* 148, 29-42.
- Elston J.J., Beck M., Alodan M.A., Vega-Murillo V., 2000. Laying hen behavior. 2. Cage type preference and heterophile to lymphocyte ratios. *Poult. Sci.* 79, 477-482.
- Everaert J., Stienen E., 2007. Impact of wind turbines on birds in Zeebrugge (Belgium). Significant effect on breeding tern colony due to collisions. *Biodivers. Conserv.* 16, 3345-3359.
- Flydal K., Eftestol S., Reimers E., Colman J., 2004. Effects of wind turbines on area use and behaviour of semi-domestic reindeer in enclosures. *Rangifer* 24, 55-66.
- Fortomaris P., Arsenos G., Tserveni-Gousi A., Yannakopoulos A., 2007. Performance and behaviour of broiler chickens as affected by the housing system. *Arch. Geflügelkd.* 71(3), 97-104.
- Francis C.D., Ortega C.P., Cruz A., 2009. Noise Pollution Changes Avian Communities and Species Interactions. *Curr. Biol.* 19(16), 1415-1419.
- Helldin J.O., Jung J., Neumann W., Olsson M., Skarin A., Widemo F., 2012. The impacts of wind power on terrestrial mammals. A synthesis. The Swedish Environmental Protection Agency, [www.naturvardsverket.se](http://www.naturvardsverket.se)
- Huang Qibay C.Y., Shi H., 2004. An investigation on the physiological and psychological effects of infrasound on persons. *J. Low Freq. Noise Vib.* 23(1), 71-76.
- Johnson D.L., 1980. The effects of high level infrasound. *Proceed of Conference on Low Frequency Noise and Hearing*, eds. H. Møller, P. Rubak, Aalborg, 1-14.
- Landström U., Lundström R., Byström M., 1983. Exposure to infrasound. Perception and changes in wakefulness. *J. Low Freq. Noise Vib.* 2(1), 1-11.
- Larsen K.J., Madsen J., 2000. Effects of wind turbines and other physical elements on field utilization by pink-footed geese (*Anser brachyrhynchus*): A landscape perspective. *Landscape Ecol.* 15, 755-764.
- Mendl M., 1999. Performing under pressure: stress and cognitive function. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 65, 221-224.
- Nekhoroshev A.S., Glinchikov V.V., 1992. Effects of infrasound on change in the auditory cortex. *Gig. Sanit.* 7-8, 62-64.
- Nelson H.K., Curry R.C., 1995. Assessing avian interactions with windplant development and operation. *Trans. 60<sup>th</sup> N. Am. Wildl. Natur. Resour. Conf.*, 266-277.
- Nishimura K.K., 1987. The pituitary adrenocortical response in rats and human subjects exposed to infrasound. *J. Low Freq. Noise Vib.* 6(1), 18-28.

Pawlas K., 2009. Wpływ infradźwięków i hałasu o niskich częstotliwościach na człowieka – przegląd piśmiennictwa. Podst. Met. Oceny Środ. Pr. 2(60), 27-64.

PN-EN 61400-11:2013-07. Turbozespoły wiatrowe – Część 11: Procedury pomiaru hałasu.

Polityka energetyczna Polski do 2030 roku, 2009. Załącznik do uchwały nr 202/2009 Rady Ministrów z dnia 10 listopada 2009, 4-5.

Puvadolpirod S., Thaxton J.P., 2000. Model of physiological stress in chickens. Temporal patterns of response. J. Food Eng. 79, 377-382.

Rabin L.A., Coss R.G., Owings D.H., 2006. The effects of wind turbines on antipredator behaviour in California ground squirrels (*Spermophilus beecheyi*). Biol. Conserv. 131(3), 410-420.

Samochowiec L., 2002. Kompendium ziołolecznictwa. Elsevier Urban & Partner Wrocław.

Sohail M.U., Ijaz A., Yousaf M.S., Ashraf K., Zaneb H., Allem M., Rehman H., 2010. Alleviation of cyclic heat stress in broilers by dietary supplementation of mannan-oligosaccharide and *Lactobacillus*-based probiotic: Dynamics of cortisol, thyroid hormones, cholesterol, C-reactive protein, and humoral immunity. Poult. Sci. 89(9), 1934-1938.

Sovacool B.K., 2009. Contextualizing avian mortality: A preliminary appraisal of bird and bat fatalities from wind, fossil-fuel, and nuclear electricity. Energy Policy 37(6), 2241-2248.

Svidovyi V.I., Glinchikov V.V., 1987. Action of infrasound on the lung structure. Noise Vib. Bull. 18, 153-154.

Tapia L., Dominguez J., Rodriguez L., 2009. Using probability of occurrence to assess potential interaction between wind farm and a residual population of golden eagle *Aquila chrysaetos* in NW Spain. Biodivers. Conserv. 18, 2033-2041.

Tokarzewski S., Wernicki A., Kankofer M., Urban-Chmiel R., Arciszewski M., 2006. Transport jako czynnik wzmagający reakcje stresowe u brojlerów kurzych. Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska LXI(15), 127-134.

Wallin J.A., 1998. A movement study of black bears in the vicinity of a wind turbine project, Searsburg. Rapport till Green Mountain Power Corporation South Burlington, Vermont.

Walter W.D., Leslie D.M. Jr., Jenks J.A., 2006. Response of Rocky Mountain elk (*Cervus elaphus*) to wind-power development. Am. Midl. Nat. 156, 363-375.

World Energy Council, 2007. [www.worldenergy.org/documents/ser2007\\_final\\_online\\_version\\_1.pdf](http://www.worldenergy.org/documents/ser2007_final_online_version_1.pdf)

Wójcik A., 2007. Wpływ podawania kurczętom brojlerom chromu lub ziół na ograniczenie niekorzystnych skutków obrotu przedubojowego. UWM Olsztyn, Rozprawy i Monografie 125.



# BIOSTYMULATORY JAKO PREPARATY WSPOMAGAJĄCE UPRAWĘ ROŚLIN

Katarzyna Mitura<sup>1</sup>, Karolina Lipińska, Joanna Marć-Pieńkowska,  
Paulina Topolińska, Ewa Spychaj-Fabisiak

## 1. WSTĘP

Konsekwencją stale zwiększającej się liczby ludności na świecie jest wzrost odsetka głodujących ludzi. W związku z tym szuka się rozwiązań, które miałyby zaradzić problemowi głodu poprzez uzyskanie coraz wyższych plonów z 1 ha upraw. Z drugiej strony konsumenci są coraz bardziej zainteresowani zdrową żywnością. Zastosowanie lepszych jakościowo nasion, ziarna czy zielonki skutkuje uzyskaniem korzystniejszych walorów technologicznych i prozdrowotnych produktów finalnych, np. mąki, mleka czy mięsa. Współczesna agrotechnika dąży do sprostania tym wymaganiom. Obecnie obok środków takich jak nawozy i pestycydy stosuje się szereg preparatów o działaniu biostymulującym (regulatory wzrostu, odżywki, aktywatory), które są przyjazne dla środowiska. W literaturze polskiej i światowej z roku na rok pojawia się coraz więcej publikacji dotyczących tej problematyki, o czym świadczy zorganizowany w 2012 roku w Strasburgu Pierwszy Światowy Kongres poświęcony tylko i wyłącznie preparatom biostymulującym. Zainteresowanie tymi środkami wynika również z narastającej troski społeczeństwa o ochronę środowiska, a tym samym – z obawy przed nadmierną chemizacją rolnictwa [Grzyś 2012].

Znaczenie preparatów w uprawie roślin stale wzrasta, dlatego też na podstawie literatury podjęto próbę opracowania ich krótkiej charakterystyki z uwzględnieniem roli, jaką pełnią w uprawie roślin.

## 2. CHARAKTERYSTYKA PREPARATÓW BIOSTYMULUJĄCYCH

Preparaty biostymulujące to środki wspomagające uprawę roślin, których znaczenie wzrasta z roku na rok. Zgodnie z Ustawą o Ochronie Roślin [2013] zaliczane są do grupy regulatorów rozwoju roślin. W ich składzie są: wyciągi z alg morskich, owoców cytrusowych, witaminy, organizmy żywe, kwasy humusowe, fenole, kwas salicylowy oraz hormony roślinne. Niemniej jednak w skład większości preparatów biostymulujących wchodzi wyciągi z alg morskich, a badania nad ich wykorzystaniem w uprawie roślin prowadzi się już od ponad 20 lat [Verkleij 1992, Zodape 2001, Ferreira i Lourens 2002, Khan i in. 2009, Matysiak i in. 2010, 2012, Ilczuk i in. 2012, Matysiak i Kaczmarek 2012, Wrona i Tomala 2012]. Środki, w skład których wchodzi wyciągi z alg morskich (zawierające cytokininy i polifenole), wykazują bardzo silne działanie biostymulujące. Najsilniejsze oddziaływanie na wzrost i rozwój roślin mają brunatnice, a wśród nich gatunki takie, jak: *Ascophyllum nodosum*, *Laminaria hyperborea*, *Laminaria Digitata*, *Fucus vesiculosus*, *Durvillea potatorum* i *Eclonia maxima* [Grzyś 2012]. Oprócz tego z organizmów morskich pozyskiwana jest substancja zwana chitozanem,

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy, Wydział Rolnictwa i Biotechnologii,  
Katedra Chemii Środowiska – Zakład Chemii Rolnej, ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz,  
e-mail: katarzyna.mitura@wp.pl

która otrzymywana jest z pancerzyków krewetek. Wykazuje ona silną aktywność biologiczną i jest substancją aktywną środka o nazwie Biochikol 020 PC [Stępniewska-Jarosz i in. 2008, Ilczuk i in. 2012]. Na rynku preparatów biostymulujących dostępny jest również preparat o nazwie handlowej ASAHI, znany także pod nazwą Atonik. Substancją aktywną tego środka jest mieszanina soli sodowych, w skład których wchodzi: para-nitrofenolan sodu (0,3%), orto-nitrofenolan sodu (0,2%) oraz 5-nitroguajakolan sodu. W praktyce rolniczej coraz częściej zauważyć można ponadto stosowanie biopreparatów zwanych efektywnymi mikroorganizmami (EM). Ich twórcą jest Teruo Higa, wykładowca ogrodnictwa Akademii Rolniczej na Okinawie w Japonii. Na rynku środków stymulujących wzrost i rozwój roślin dostępnych jest również sporo preparatów zawierających śladowe ilości pierwiastków, np. tytanu (Ti), krzemu (Si) czy seleniu (Se). Niektóre z odżywek zawierają nawet jony srebra (Nano-Gro). Nieuregulowana sprawa nazewnictwa powoduje, że preparaty te zwane są również środkami o działaniu biostymulującym, aczkolwiek z uwagi na ich charakter nawozowy powinny być nazywane raczej odżywkami niż biostymulatorami. Niemniej jednak ich stosowanie wpływa pozytywnie na wielkość i jakość plonu, czego dowody przedstawiono w literaturze [Dobromilska 2007, Kovacik i in. 2012]. Obserwuje się również zainteresowanie ALA jako czynnikiem wpływającym na wzrost i rozwój roślin [Zhang i in. 2008]. Nie brakuje także literatury poświęconej wykorzystaniu takich substancji czynnych, jak: kwas salicylowy [Panchewa i in. 1996, Kaydan i in. 2007], jasmonidy [Norastehnia i in. 2007] i strobiluryny [Gooding i in. 2000]. Stosuje się również preparaty zawierające kwasy huminowe [Zhang i Ervin 2004, Dergham 2012, Matysiak i Kaczmarek 2012]. W zależności od typu preparatu i jego składu można uzyskać: zwiększenie plonu, poprawę jego jakości, polepszenie struktury gleby, kondycji i zdrowotności roślin, pobudzenie pobierania składników pokarmowych z gleby, stymulowanie biosyntezy substancji wzrostowych czy też zwiększenie wytrzymałości roślin na niską temperaturę. W podrozdziale „Znaczenie preparatów biostymulujących” na podstawie dostępnej literatury bardziej szczegółowo omówiono wykorzystanie preparatów biostymulujących w uprawie roślin.

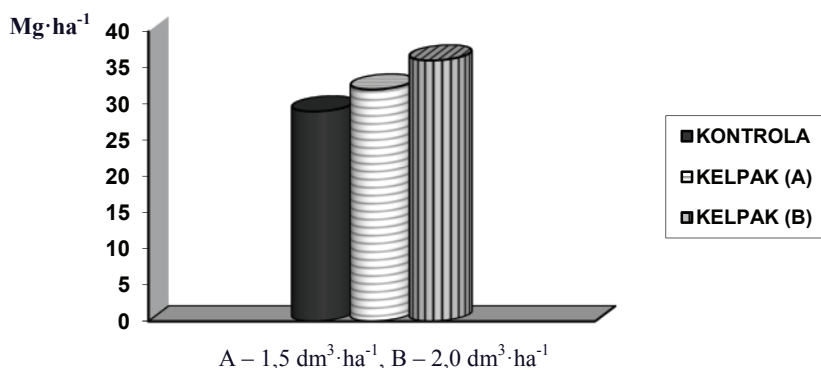
### 3. SPOSÓB APLIKACJI, DAWKA I CZĘSTOŚĆ ZABIEGÓW

Preparaty biostymulujące stosuje się zarówno dolistnie, jak i doglebowo. Prowadzone są również badania nad wykorzystaniem tych preparatów do zaprawiania nasion. Badania takie prowadziła m.in. Nowakowska [2005], która sprawdzała efekt zaprawiania nasion buraka cukrowego na późniejszą zdrowotność roślin. Niektóre z preparatów wymagają kilkakrotnego stosowania w czasie wegetacji, inne stosuje się tylko jednorazowo. W przypadku dolistnego aplikowania środka bardzo istotny jest kilkudniowy brak opadów. W przeciwnym przypadku preparat może zostać spłukany z rośliny, przez co oprysk okaże się nieskuteczny. Na powierzchniach, na których używano biostymulator, nie należy ponadto stosować zbyt intensywnego nawadniania, aby uniknąć spływania i wypłukiwania wprowadzanych mikroskładników bądź mikroorganizmów [Kowalska i in. 2010]. Ferreira i Lourens [2002] udowodnili, że działanie wyciągów z alg uzależnione jest od dawki, częstości zabiegu i gatunku rośliny. Zdaniem Kowalskiej i in. [2010] wprowadzanie preparatów do systemu korzeniowego roślin jest skuteczniejsze od zabiegów opryskiwania, które wymagają wielokrotnych powtórzeń. Z kolei Zhang i Ervin [2004] zalecają stosowanie kwasów huminowych w małych dawkach, ale z większą częstotliwością – od 3 do 6 oprysków. Na rynku dostępne są jednak i takie

preparaty (na bazie kwasów huminowych), w przypadku których producenci zalecają jeden oprysk w sezonie wegetacyjnym.

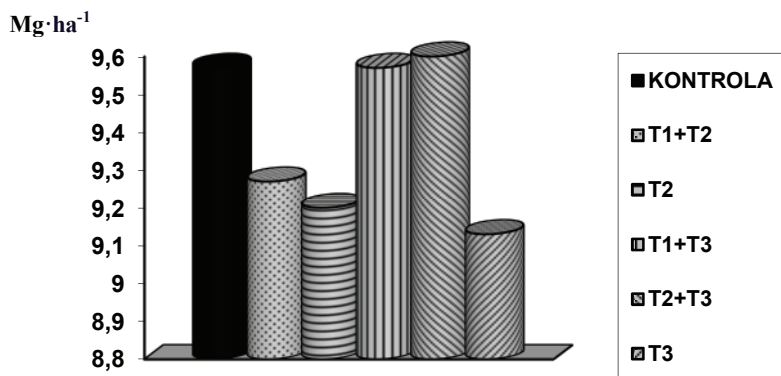
#### 4. ZNACZENIE PREPARATÓW BIOSTYMULUJĄCYCH

W ostatnich latach zaobserwowano wzrost zainteresowania substancjami wykazującymi działanie biostymulujące u roślin. Substancje te, będące głównymi składnikami preparatów wspomagających uprawę roślin, znalazły zastosowanie w rolnictwie i ogrodnictwie. Cieszą się coraz większą popularnością, o czym świadczą powiększająca się stale baza literatury z tego zakresu oraz wspomniana konferencja poświęcona tylko i wyłącznie tym środkom. Poza tym w roku 2015 planowana jest II Światowa Konferencja dotycząca stosowania biostymulatorów, która odbędzie się tym razem we Florencji. Świadczy to o dużym zainteresowaniu preparatami biostymulującymi. W związku z tym prowadzi się szereg doświadczeń nad preparatami o charakterze biostymulującym, mających na celu zbadanie ich wpływu na wyniki plonowania, poprawę jakości produktów rolnych oraz kondycję roślin. Jednym z głównych zadań wyżej opisywanych preparatów jest przeciwdziałanie negatywnym skutkom czynników stresowych takich jak: susza, przymrozki, a tym samym ułatwienie roślinom pobierania składników pokarmowych z gleby oraz przyspieszenie ich metabolizmu. Rolnictwo należy do tego sektora gospodarki, który zależny jest w dużym stopniu od warunków pogodowych [Grzyś 2012]. W związku z tym preparaty powinny chronić rośliny przed stresem, ułatwić im regenerację oraz odzyskanie wigoru utraconego w trakcie niekorzystnych warunków. Preparaty te zatem podnoszą tolerancję roślin na niesprzyjające czynniki, a tym samym wspomagają rośliny w trakcie ich wegetacji [Khan i Sarvajeet 2007, Matysiak i Adamczewski 2009, Ertani i in. 2012, Grzyś 2012]. Skutkować to może zwiększeniem wielkości plonu i poprawą jego jakości, co potwierdzają liczne dane literaturowe [Matysiak i Adamczewski 2006, Maciejewski i in. 2008, Przybysz i in. 2008]. Najwięcej jednak prac poświęconych jest wielkości plonu. Z badań Matysiak i Kaczmarek [2008] przeprowadzonych na ziemniaku wynika, że po zastosowaniu preparatu Kelpak (z wyciągu z alg morskich *Eclonia maxima*) otrzymać można wyższy plon bulw. Autorzy po zastosowaniu preparatu w dawce  $2 \text{ dm}^3 \cdot \text{ha}^{-1}$  uzyskali plon wyższy o blisko  $6 \text{ t} \cdot \text{ha}^{-1}$  w stosunku do kontroli (rys. 1).



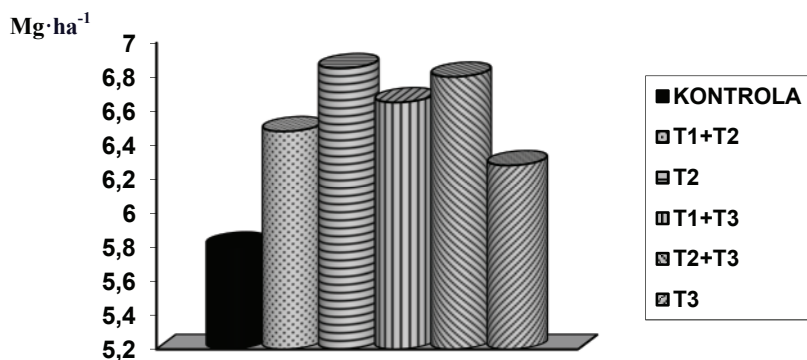
Rys. 1. Wpływ bioregulatora KELPAK na plon ziemniaków [Matysiak i Kaczmarek 2008]

Z kolei badania Matysiak i in. [2012] przeprowadzone na pszenicy ozimej wskazują na poprawę plonowania tego gatunku, jednakże tylko w jednym roku badań (rys. 2, 3). W przypadku sprzyjających warunków meteorologicznych nie zauważono poprawy plonowania pszenicy, a niektóre terminy zadawania preparatu spowodowały nawet nieznacznie niższy plon (rys. 2). Różnice te nie były jednak istotne statystycznie. Z kolei w drugim roku badań autorzy otrzymali plony wyższe od kontroli, przy czym warunki pogodowe w tym sezonie były niesprzyjające. Kelpak determinował istotnie gęstość ziarna, zawartość białka, skrobi i glutenu (tab. 1). Podobnie było w przypadku plonowania, które było uwarunkowane warunkami pogodowymi, a wyniki istotne statystycznie uzyskano tylko w sezonie wegetacyjnym 2010/2011, w którym panowały niesprzyjające warunki meteorologiczne. Duże znaczenie miał termin stosowania preparatu. Tendencję do zwiększenia zawartości białka stwierdzono po zastosowaniu preparatu w fazach BBCH 28-30 i BBCH 39, jak i podwójnie w fazach BBCH 20 + BBCH 39 i BBCH 28-30 + BBCH 39. Stosowany środek nie wpływał istotnie na wartość wskaźnika sedymentacji oraz twardość ziarna.



T1 – BBCH 20; T2 – BBCH 28-30; T3 – BBCH 39

Rys. 2. Wpływ bioregulatora KELPAK na plonowanie pszenicy ozimej (sezon 2009-2010) [Matysiak i Kaczmarek 2008]



T1 – BBCH 20; T2 – BBCH 28-30; T3 – BBCH 39

Rys. 3. Wpływ bioregulatora KELPAK na plonowanie pszenicy ozimej (sezon 2010-2011) [Matysiak i Kaczmarek 2008]

Tabela 1. Wpływ preparatu KELPAK SL na niektóre cechy jakościowe ziarna pszenicy ozimej w zależności od terminu stosowania zabiegu [Matysiak i in. 2012]

| Obiekt              |       | Gęstość ziarna<br>(kg·hl <sup>-1</sup> ) |       | Białko<br>(%) |        | Skrobia<br>(%) |        | Gluten<br>(%) |       |
|---------------------|-------|------------------------------------------|-------|---------------|--------|----------------|--------|---------------|-------|
|                     |       | termin zabiegu                           |       |               |        |                |        |               |       |
|                     |       | 09/10                                    | 10/11 | 09/10         | 10/11  | 09/10          | 10/11  | 09/10         | 10/11 |
| Kontrola            | -     | 77,30                                    | 78,43 | 12,93         | 11,68  | 69,48          | 71,00  | 30,05         | 26,60 |
| KELPAK              | -     | 77,30                                    | 78,43 | 12,93         | 11,68  | 69,48          | 71,00  | 30,05         | 26,60 |
|                     | T1+T2 | 76,73*                                   | 79,09 | 12,83         | 11,53  | 69,38          | 71,50  | 29,65         | 26,30 |
|                     | T2    | 76,73*                                   | 79,18 | 13,03         | 11,90* | 69,45          | 70,60* | 29,65         | 27,20 |
|                     | T1+T3 | 76,30*                                   | 79,10 | 12,93         | 11,83* | 69,20          | 70,90* | 29,73         | 27,10 |
|                     | T2+T3 | 76,80*                                   | 78,91 | 12,83         | 11,95* | 69,68          | 70,20* | 29,35         | 27,10 |
| NIR <sub>0,05</sub> |       | ni                                       | 0,543 | ni            | 0,150  | ni             | 0,791  | ni            | 1,441 |

T1 – BBCH 20; T2 – BBCH 28-30; T3 – BBCH 39; ni – różnice nieistotne

Z przedstawionych danych wynika, że skuteczność działania preparatów biostymulujących uzależniona jest od warunków pogodowych. W warunkach stresowych, takich jak: susza lub przymrozki, rośliny opryskane preparatem wykazują większą odporność na niesprzyjające warunki, co skutkuje uzyskaniem wyższego plonu, poprawą jego jakości czy też lepszą kondycją roślin. Dotychczasowe badania oprócz wpływu na plonowanie udowodniły pozytywne oddziaływanie wyciągów z alg morskich na rozwój masy korzeniowej, kiełkowanie, zwiększenie zawartości mikroelementów, wielkość owoców czy kondycję roślin [Reitz i Trumble 1996, Koziara i in. 2006, Jankowski i in. 2007, Matysiak i in. 2010, 2012, Matysiak i Kaczmarek 2012]. Fitohormony wchodzące w skład brunatnic, takie jak: auksyny, cytokiny, polifenole, stymulują system korzeniowy, przez co przystosowują roślinę do warunków stresowych. Ich pozytywny wpływ na wyniki plonowania podaje wielu autorów [Matysiak i Adamczewski 2006, Dobromilska i Gubarewicz 2008, Matysiak i Kaczmarek 2012, Matysiak i in. 2012]. Przykładowe zestawienie danych literaturowych przedstawiono w tabeli 2.

Tabela 2. Wzrost plonowania roślin uprawnych w % po zastosowaniu preparatu KELPAK [źródło: opracowanie własne na podstawie literatury]

| Gatunek rośliny | Dawka<br>(dm <sup>3</sup> ·ha <sup>-1</sup> ) | Pozycja literatury            | Plon     |              | Wzrost plonu (%) |
|-----------------|-----------------------------------------------|-------------------------------|----------|--------------|------------------|
|                 |                                               |                               | kontrola | po aplikacji |                  |
| Pszennica ozima | 2,0                                           | Matysiak i in. [2012]         | 5,80     | 6,63         | 14               |
| Kukurydza       | 1,5                                           | Matysiak i Adamczewski [2006] | 30,50    | 38,50        | 26               |
|                 | 2,0                                           |                               | 30,50    | 36,50        | 20               |
| Jęczmień        | 1,5                                           | Matysiak i Kaczmarek [2008]   | 4,4      | 4,7          | 7                |
|                 | 2,0                                           |                               | 4,4      | 4,9          | 11               |

Joubert i Lefranc [2008] wykazali, że homogenaty uzyskiwane z brunatnic działają jak fizjoaktywatory, zwiększając aktywność niektórych enzymów oraz korzystnie wpływając na odżywianie roślin. Innym przykładem preparatu o działaniu biostymulującym jest KRIO-FLOR, którego działanie polega na okresowym zwiększaniu odporności rośliny na mrozy [Grzyś 2012]. Coraz większą uwagę zwraca się również na prepa-

raty, w skład których wchodzi kwas huminowy, fulwowy, huminy. Jak wskazują liczne doniesienia [Dergham 2012, Matysiak i Kaczmarek 2012, Verlinden i in. 2012], preparaty tego typu skutkują poprawą struktury gleby i jej właściwości. Liczni badacze wykazują również pozytywny wpływ biostymulatorów na rozwój systemu korzeniowego roślin [Koziała i in. 2006, Jankowski i in. 2007, Matysiak i in. 2010]. Bardziej rozwinięty system korzeniowy to dla rośliny możliwość lepszego wykorzystania makro- i mikroelementów z gleby.

## 5. PODSUMOWANIE

Z przedstawionych danych wnioskować można o dużym zainteresowaniu środkami biostymulującymi. Ich pozytywne działanie udowodniono w licznych doniesieniach i publikacjach. Najwięcej pozycji literaturowych poświęconych jest wpływowi wyżej wymienionych środków na wzrost plonowania. Prowadzone są również badania nad wykorzystaniem preparatów biostymulujących, zawierających m.in. kwasy huminowe, do poprawy struktury gleby i jej właściwości. W dobie intensywnej uprawy roślin wydaje się to być skutecznym sposobem przeciwdziałania degradacji gleb, a przede wszystkim ochrony jej warstwy próchniczej, która – jak powszechnie wiadomo – świadczy o jej urodzajności. Poza tym stosowanie preparatów biostymulujących wydaje się być korzystne ze względów ekonomicznych – skutkuje zwiększeniem plonowania, a koszt preparatu jest względnie niski. Nie mniej ważny jest również fakt, że preparaty tego typu są przyjazne dla środowiska, a z uwagi na stale wzrastającą liczbę ludności mogą być jednym z czynników stabilizujących plon uprawianych gatunków roślin, zapewniających tym samym dostarczenie takiej ilości płodów rolnych, które zaspokoją zapotrzebowanie całej ludzkości na żywność. Uzasadnione są zatem dalsze badania nad preparatami o działaniu biostymulującym, zwiększającymi plony, poprawiającymi jakość płodów rolnych, jak również właściwości fizyczne i chemiczne gleby.

## LITERATURA

- Dergham Y., 2012. The influences of Humic Substances (Humic and Fulvic Acids) on Soil fertilities and plant growth. 1<sup>st</sup> World Congress on the use of Biostimulants in Agriculture, Strasbourg Congress Center, 138.
- Dobromilska R., 2007. Wpływ stosowania Tytanitu na wzrost i plon pomidora drobnoowocowego. Rocz. AR w Poznaniu, Ogrodnictwo 41, 451-454.
- Dobromilska R., Gubarewicz K., 2008. Influence of BIO-ALGEEN S-90 on the yield and quality of small-sized tomato. [W:] Biostimulators in modern Agriculture. Solanaceous Crops, ed. Z.T. Dąbrowski, Wieś Jutra Warszawa, 7-12.
- Ertani A., Altissimo A., Nardi S., 2012. Use of *fabaceae* plant derived biostimulant to alleviate salt stress in *Zea mays* L. 1<sup>st</sup> World Congress on the use of Biostimulants in Agriculture, Strasbourg Congress Center, 114.
- Ferreira M.I., Lourens A.F., 2002. The efficacy of liquid seaweed extract on the yield of canola plants. S. Afr. J. Plant Soil 19(3), 159-161.
- Gooding M.J., Dimmock J.P.R.E., France J., Jones S.A., 2000. Green leaf area decline of wheat flag leaves: the influence of fungicides and relationships with mean grain weight and grain yield. Ann. Appl. Biol. 136, 77-84.



- Grzyś E., 2012. Wpływ wybranych substancji biologicznie czynnych na kukurydzę uprawianą w warunkach stresu. Wyd. UWP Wrocław.
- Ilczuk A., Jacygrad E., Jagiello-Kubiec K., Świtłaga P., 2012. Effects of biostimulants: AlgaminoPlant and Biochikol 020 PC on acclimatization of microplantlets of *Begonia × rex* Putz. 'Fairy' to ex vitro conditions. 1<sup>st</sup> World Congress on the use of Biostimulants in Agriculture, Strasbourg Congress Center, 28.
- Jankowski K., Deska J., Truba M., Jankowska J., 2007. Wpływ stymulatora nano-gro na kiełkowalność nasion oraz kinetykę wzrostu siewek wybranych gatunków traw oraz roślin motylkowatych. Environ. Prot. Nat. Res. 24(1), 23-26.
- Joubert J.M., Lefranc G., 2008. Seaweed phyostimulants in agriculture: recent studies on mode of action two types of products from algae: growth and nutrition stimulants and stimulants of plant defence reactions. Book of abstracts of Conference: Biostimulators in modern Agriculture, Warsaw, 16.
- Kaydan D., Yagmur M., Okut N., 2007. Effects of salicylic acid on the growth and some physiological characters in salt stressed wheat (*Triticum aestivum* L.). Tarim Bilimleri Dergisi 13(2), 114-119.
- Khan N.A., Sarvajeet S., 2007. Abiotic Stress and Plant Responses. Narosa Publishing House New Delhi.
- Khan W., Rayirath U.P., Subramanian S., Jithesh M.N., Rayorath P., Hodges D.M., Critchley A.T., Craige J.S., 2009. Seaweed Extracts as Biostimulants of Plant Growth and Development. Plant Growth Regul. 28, 386-399.
- Kovacik P., Skawiński M., Vician M., 2012. Growth and yield stimulation of winter wheat (*Triticum aestivum* L.) and winter oilseed rape (*Brassica napus* L.) by Mg-Titanit fertilizer. 1<sup>st</sup> World Congress on the use of Biostimulants in Agriculture, Strasbourg Congress Center, 147.
- Kowalska J., Remlein-Starosta D., Drożdżyński D., 2010. Warunki meteorologiczne jako jeden z ważnych czynników warunkujących działanie preparatów mikrobiologicznych. EkoTechProdukt Newsletter 5, 2-3.
- Koziara W., Sulewska H., Panasiewicz K., 2006. Efekty stosowania stymulatorów odporności w wybranych roślinach rolniczych. J. Res. Appl. Agric. Eng. 51(2), 82-87.
- Maciejewski T., Michalski T., Bartos-Spychała M., Cieśllicki W., 2008. Effect of ASAHI SL Biostimulator on yield of potato tubers and their quality. [W:] Biostimulators in modern Agriculture. Solanaceous Crops, Z.T. Dąbrowski (ed.), Wieś Jutra Warszawa, 52-60.
- Matysiak K., Adamczewski K., 2006. Wpływ bioregulatora KELPAK na plonowanie roślin uprawnych. Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin 46(2), 102-108.
- Matysiak K., Adamczewski K., 2009. Regulatory wzrostu i rozwoju roślin – kierunki badań w Polsce i na świecie. Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin 49(4), 1810-1816.
- Matysiak K., Kaczmarek S., 2008. Potential advantages of Kelpak bioregulator applied to some field crops. [W:] Biostimulators in modern agriculture. Field crops, Z.T. Dąbrowski (ed.), Wieś Jutra Warszawa, 99-106.



Matysiak K., Kaczmarek S., 2012. Effect of seaweed extracts and humic and fulvic acids on germination and early growth of *Zea mays* L. and *Brassica napus* var. *oleifera* L. 1<sup>st</sup> World Congress on the use of Biostimulants in Agriculture, Strasbourg Congress Center, 56.

Matysiak K., Kaczmarek S., Kierzek R., Kardasz P., 2010. Ocena działania ekstraktów z alg morskich oraz mieszaniny kwasów huminowych i fulwowych na kiełkowanie i początkowy wzrost rzepaku ozimego (*Brassica napus* L.). J. Res. Appl. Agric. Eng. 55(4), 28-33.

Matysiak K., Kaczmarek S., Leszczyńska D., 2012. Wpływ ekstraktu z alg morskich *Eclonia maxima* na pszenicę ozimą odmiany Tonacja. J. Res. Appl. Agric. Eng. 57(4), 44-47.

Norastehnia A., Sajedi R.H., Nojavan-Asghari M., 2007. Inhibitory effects of methyl jasmonate on seed germination in maize (*Zea mays*): Effect on  $\alpha$ -amylase activity and ethylene production. Gen. Appl. Plant Physiol. 33(1-2), 13-23.

Nowakowska H., 2005. Antagonistyczna działalność grzybów i promieniowców przeciw czynnikom chorobotwórczym obumierania siewek czy rozsady buraka cukrowego. Plant Breed. Seed Sci. 52, 69-78.

Panchewa T.V., Popova L.P., Uzunova A.N., 1996. Effects of salicylic acid in growth and photosynthesis in barley plants. J. Plant Physiol. 149, 57-63.

Przybysz A., Małecka-Przybysz M., Słowiński A., Gawrońska H., 2008. Wpływ ASahi SL na wzrost, wydajność aparatu fotosyntetycznego oraz plon rzepaku ozimego uprawianego w warunkach polowych. [W:] Biostimulators in modern agriculture. Field crops, ed. Z.T. Dąbrowski, Wieś Jutra Warszawa, 107.

Reitz S.R., Trumble J.T., 1996. Effects of cytokinin-containing seaweed extract on *Phaseolus lunatus* L. Influence of nutrient availability and apex removal. Bot. Mar. 39, 33-39.

Stępniewska-Jarosz S., Pukacka A., Tyrakowska M., 2008. Wpływ wybranych preparatów na wzrost *in vitro* grzyba *Rhizoctonia solani*. Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin 48(3), 1111-1115.

Ustawa z dnia 8 marca 2013 roku o Środkach Ochrony Roślin.

Verkleij F.N., 1992. Seaweed extracts in agriculture and horticulture: a review. Biol. Agric. Hort. 8, 309-324.

Verlinden J., Bries J., Baert G., Debersaques F., de Neve S., Haesaert G., 2012. Humic substances as tool to optimize crop production. 1<sup>st</sup> World Congress on the use of Biostimulants in Agriculture, Strasbourg Congress Center, 125.

Wrona D., Tomala K., 2012. Effect of seaweed extract application on yield and quality of apples. 1<sup>st</sup> World Congress on the use of Biostimulants in Agriculture, Strasbourg Congress Center, 40.

Zhang W.F., Zhang F., Raziuddin R., Gong H.J., Yang Z.M., Ye Q.F., Zhou W.J., 2008. Effects of 5-amino levulinic acid on oilseed rape seedling growth under herbicide toxicity stress. J. Plant Growth Regul. 27(2), 159-169.

Zhang X., Ervin E.H., 2004. Cytokinin-containing seaweed and humic acid extracts associated with creeping bentgrass leaf cytokinins and drought resistance. *Crop Sci.* 44, 1737-1745.

Zodape S., 2001. Seaweeds as a biofertilizers. *J. Sci. Ind. Res.* 60(537), 8-82.



# BIOLOGICZNY MODEL AKTYWNOŚCI RUCHOWEJ NABŁONKA – METODYKA I ZASTOSOWANIE

Wojciech Pawłowicz<sup>1</sup>, Piotr Kaczorowski

## 1. WSTĘP

### 1.1. Ogólne kryteria doboru organizmów modelowych w modelach biologicznych

Powszechną metodą służącą do znalezienia w badaniach punktu odniesienia do procesów zachodzących w ludzkim organizmie jest wykorzystanie modeli zwierzęcych. Zróżnicowanie problemów badawczych zainspirowało poszukiwania coraz to nowych organizmów modelowych, w doborze których kierowano się kryteriami podobieństw fizycznych, biochemicznych, behawioralnych lub fizjologicznych, a także ekonomicznej opłacalności. Mimo coraz bardziej wydajnych modeli komputerowych, umożliwiających przeprowadzanie wstępnych symulacji i analiz reakcji chemicznych, złożoność procesów zachodzących w organizmach żywych powoduje, że organizmy modelowe ciągle są wykorzystywane [National Research Council 1985]. Według danych opublikowanych przez California Biomedical Research Association spośród zwierząt, które stanowią modele biologiczne, 95% to myszy i szczury.

Szczegółowe kryteria doboru organizmów modelowych są zróżnicowane, jednak jako najważniejsze (na podstawie opracowania LLSU – Institutional Animal Care & Use Committee) można wyróżnić:

- podobieństwo modelu do analizowanego procesu zachodzącego w żywym organizmie – istnienie analogii między modelem a rzeczywistym zjawiskiem jest niezbędne do prawidłowego doboru organizmów modelowych i merytorycznej oceny badania. Dotyczy to przede wszystkim znajomości anatomii, fizjologii i genetyki w wybranym modelu biologicznym;
- zasadność zastosowania modelu biologicznego – w zależności od złożoności problemu badawczego wykorzystanie organizmów modelowych może być ograniczone, zastąpione badaniem, w którym używa się narządów, tkanek, hodowli komórkowych, wyizolowanych substancji chemicznych lub komputerowych symulacji. Ma to kluczowe znaczenie nie tylko ze względu na dążenie do jak największej dokładności i wiarygodności uzyskiwanych wyników, ale także ze względów etycznych;
- długość życia i tempo rozrodu organizmów modelowych – pomijając ściśle określone przypadki, najbardziej pożądanym jest taki model biologiczny, który umożliwia dobranie licznych grup badanych w krótkim czasie. Zazwyczaj najbardziej pożądane są organizmy o szybkim tempie rozrodu i relatywnie krótkim czasie życia, co ułatwia śledzenie cech dziedzicznych oraz przyspiesza uzyskanie odpowiedniej liczby prób. Jednakże czas życia człowieka jest wielokrotnie dłuższy niż najpopularniejszych organizmów modelowych, należy więc wziąć ten czynnik pod uwagę podczas interpretacji wyników;
- kryteria ekonomiczne – jednym z powodów wykorzystania modeli biologicznych może być ich oszczędność względem innych procedur wymagających drogiej aparatury. Dotyczy to przede wszystkim badań behawioralnych i analizy zmian anatomicznych;

---

<sup>1</sup> Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, UMK w Toruniu, Katedra i Zakład Patobiochemii i Chemii Klinicznej, ul. M. Curie Skłodowskiej 9, 85-094 Bydgoszcz, e-mail: wojciech-pawlowicz@wp.pl

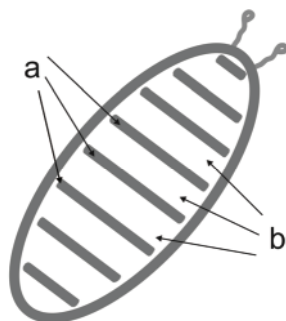
- łatwość hodowli – najczęściej stosuje się organizmy modelowe, których hodowla jest nieskomplikowana i możliwa do prowadzenia w jak najprostszych warunkach. Ma to nie tylko podłoże finansowe, ale też zapewnia dokładną kontrolę nad procesem wzrostu i rozrodu zwierząt, co umożliwia większą regulację występowania pożądanых cech, modyfikacji niechcianych oraz przygotowywania organizmów będących produktem inżynierii genetycznej, np. znokautowanych myszy.

## 1.2. Ślimak *Achatina fulica* jako model biologiczny aktywności ruchowej nabłonka

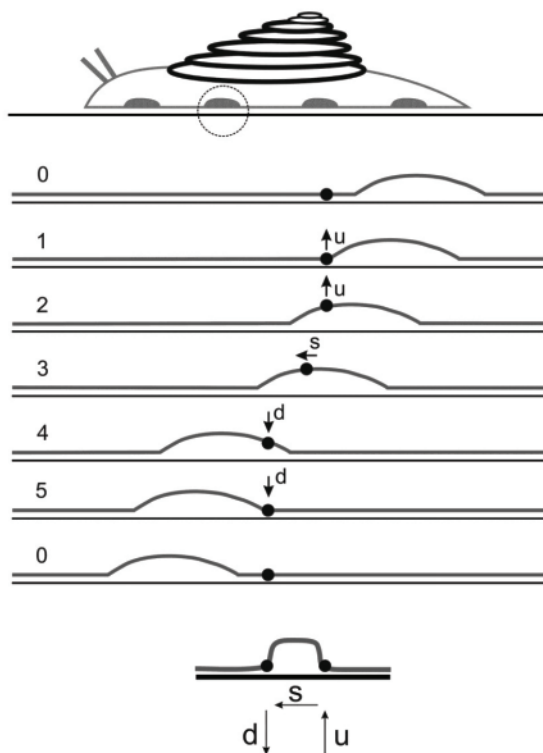
Podczas badania tkanki nabłonkowej podstawowym kryterium ograniczającym możliwości analizy procesów zachodzących w organizmach żywych jest niewielka dokładność metod obrazowania w przypadku obserwacji tkanek nabłonkowych umieszczonych wewnątrz żywego organizmu. Badania na tkankach są stosowane, jednak ze względu na liczne drogi kompensacyjne występujące w żywym organizmie oraz wpływ czynników fizjologicznych nie zawsze stanowią optymalne rozwiązanie.

Z tego względu do badań modelowych tkanki nabłonkowej zaproponowany został w Katedrze i Zakładzie Patobiochemii i Chemii Klinicznej Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy model biologiczny wykorzystujący ślimaka z rodzaju *Achatina*. Model opracowano na podstawie wcześniejszych wyników badań nad wpływem neuroprzekaźników na proces poruszania się ślimaków. Wykazano, że substancje te miały znaczenie w regulacji ruchu [Pavlova 2001, Faccioni-Heuser i in. 2004].

Spośród cech uzasadniających użycie takiego modelu aktywności ruchowej nabłonka należy wyróżnić sposób, w jaki ślimak porusza się po stałej powierzchni. Wykorzystuje w tym celu rytmiczne skurcze mięśni, które podążają wzdłuż stopy od jej tyłu w kierunku głowy i wywołują regularne sfałdowania tkanki nabłonkowej [Lissmann 1945a]. Są to ciemniejsze „fale podeszwowe” na stopie (rys. 1), o różnej szerokości i zmiennej częstotliwości. Nabłonek w miejscu skurczu jest unoszony do góry, sfałdowany i przesuwany o określoną odległość, a następnie opuszczany (rys. 2), co udowodniono, badając między innymi zachowanie pęcherzyków powietrza pod powierzchnią fali [Tyrakowski i in. 2012]. Przebieg zjawiska można odnieść do ruchów tkanki nabłonkowej w drogach pokarmowych (rys. 3) oraz oddechowych, co zasugerowało wykorzystanie go jako modelu biologicznego. W takim układzie stopa ślimaka wraz z falami podeszwowymi stanowi analogię nabłonka jelitowego czy też oskrzeli, natomiast powierzchnia, po której porusza się zwierzę, jest odpowiednikiem treści przesuwanej po nabłonku.

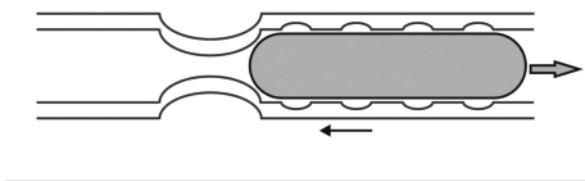


Rys. 1. Schemat ilustrujący rozkład fal podeszwowych (a) na stopie ślimaka, przestrzeń między falami (b) są wyraźnie szersze [opracowanie własne]

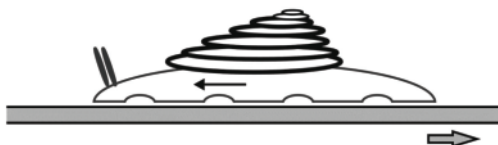


Rys. 2. Proces generowania fali podeszwowej: fragment nabłonka zostaje uniesiony nakreśloną wysokość ( $u$ ) w miejscu skurczu, przesunięty o odległość ( $s$ ), niejednorodną w obrębie szerokości fali, i opuszczony ( $d$ ) [opracowanie własne]

### Jelito



### Ślimak



Rys. 3. Schemat ilustrujący analogię pomiędzy przesuwaniem treści pokarmowej w jelicie a poruszaniem się ślimaka; uwagę zwraca zmiana punktu odniesienia – w jelicie treść pokarmowa jest przesuwana po pokrytej falami skurczu powierzchni, a w drugim przypadku to ślimak porusza się względem nieruchomego podłoża [opracowanie własne]

Kolejnym istotnym podobieństwem między dwoma układami jest występowanie śluzu na powierzchni nabłonka. Jest on wydzielany przez specjalne gruczoły i składa się z płynu zawierającego różną zawartość glikoprotein. U ślimaków śluz pełni rolę substancji zapewniającej przyczepność i jednocześnie mającej znaczenie dla zmian parametrów ruchu, przede wszystkim prędkości poruszania się zwierzęcia [Denny 1980a, b]. Dzieje się tak, ponieważ jest on cieczą nienewtonowską, co oznacza, że jego lepkość może ulegać zmianom w zależności od warunków zewnętrznych, składu aktywnie regulowanego przez organizm ślimaka oraz siły, jaką wywiera przyłożona powierzchnia stopy na podłoże [Denny 1984]. Zmienna lepkość śluzu umożliwia skuteczną regulację ruchu i wydajność generowania napędu przez fale podeszwowe [Lauga i Hosoi 2006]. Nabłonek na stopie ma szereg kanałów jonowych, które pozwalają na regulację potencjału elektrycznego po obu jego stronach, co może mieć wpływ na właściwości śluzu [Tyrakowski i in. 2006].

Dotychczasowe badania sugerowały dwa główne sposoby regulacji prędkości poruszania się ślimaka. Pierwsza interpretacja, zaproponowana przez Lissmanna i współczesnych mu badaczy, koncentrowała się przede wszystkim na motorycznej roli fal podeszwowych i ich zmienności [Lissmann 1945a, b]. W późniejszych latach Denny przeprowadził dokładną analizę właściwości śluzu, sugerując jego udział w regulacji prędkości [Denny 1980a, b, 1981, 1984]. W najnowszych analizach, łączących obie teorie, Lai i in. wykazali jednocześnie występowanie obu zjawisk, podkreślając jednocześnie złożoność tego zjawiska i jego zależność od wielu parametrów – nie tylko samej długości lub częstotliwości fali [Lai i in. 2010].

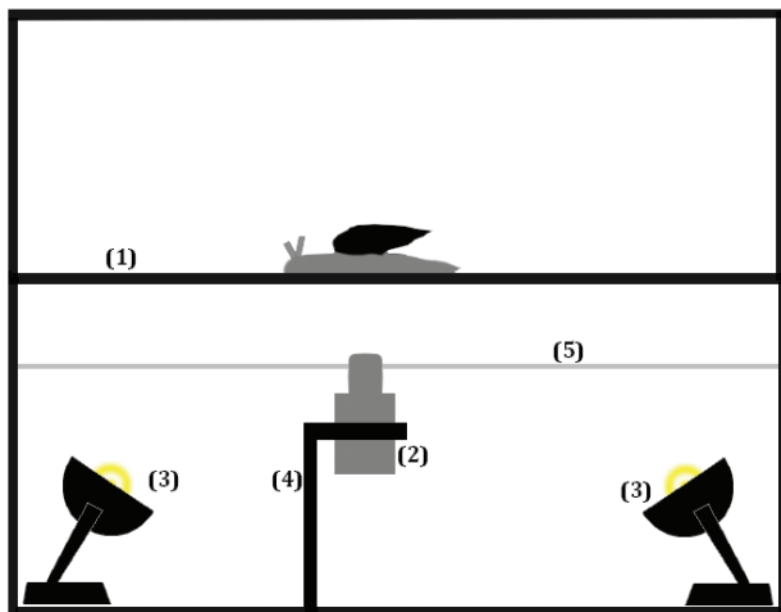
## 2. MATERIAŁ I METODY

### 2.1. Analiza metody

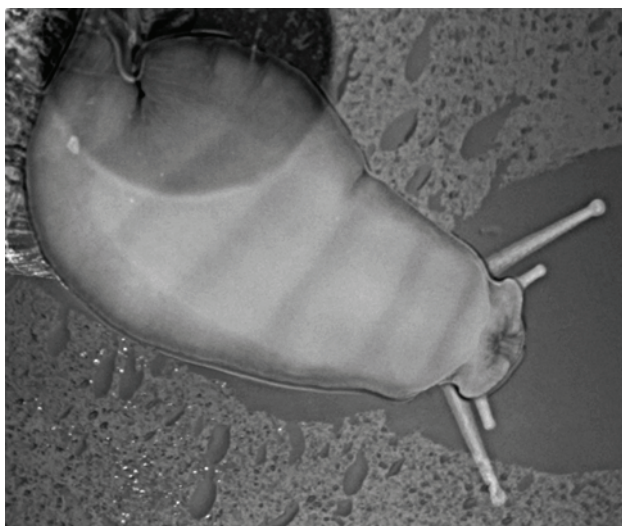
Do badań nad biologicznym modelem aktywności ruchowej nabłonka wykorzystano ślimaki *Achatina fulica*, które poruszały się po płaskiej, oświetlanej od spodu, szklanej powierzchni. Ruch nagrywano za pomocą podłączonej do komputera kamery cyfrowej CCD DFK 41 AV02.AS, wyposażonej w obiektyw CCTV 5-50 mm F/1.8, umieszczonej na statywie pod szkłem. W celu ograniczenia odbłasków i artefaktów użyto matowej kalki rozpiętej wokół obiektywu (rys. 4). Do nagrywania posłużono się oprogramowaniem IC Capture.AS 2.0, natomiast do obróbki materiału filmowego i poszczególnych kadrów programami VirtualDub 1.9.9 oraz GIMP w wersjach 2.6 do 2.8.

Aktywność motoryczną nabłonka rejestrowano jako fale skurczu na stopie ślimaka (rys. 5). Do analizy ilościowej wykorzystano następujące parametry ruchu: średnią długość fali podeszwowej, odległość między poszczególnymi falami, długość stopy, częstotliwość i liczbę fal podeszwowych oraz odległość przebyta przez zwierzę w czasie pomiaru. Wartości te posłużyły następnie do wyznaczenia prędkości ślimaka, przesunięcia przypadającego na jedną falę podeszwową oraz współczynnika wydajności skurczu, będącego odsetkiem powierzchni stopy, efektywnie biorącym udział w jej przesuwaniu.





Rys. 4. Schemat aparatury użytej do filmowania: (1) szklana tafla wraz ze skalą, (2) kamera cyfrowa z obiektywem, (3) źródła oświetlenia, (4) ruchomy statyw, (5) arkusz matowej kalki zapobiegający powstawaniu odbłasków na szkło [opracowanie własne]



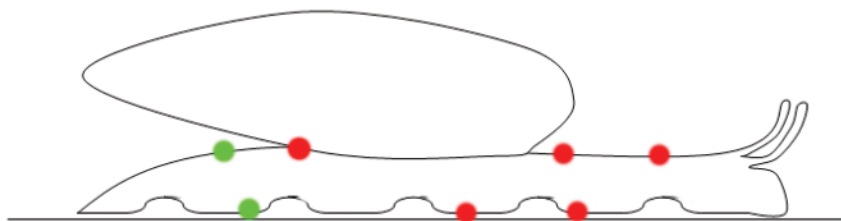
Rys. 5. Fale podeszwowe (ciemne prążki) podczas ruchu ślimaka po szklanej powierzchni; cień w górze zdjęcia jest odbiciem obiektywu od osłony stanowiska pomiarowego [fot. W. Pawłowicz]

Liczebność poszczególnych grupy za każdym razem wynosiła 10 osobników. Dobierano ślimaki o zbliżonych wadze i wielkości, które zawierały się w przedziałach:

15-25 g oraz 40-50 mm długości muszli. Badania zawsze były przeprowadzane w godzinach przedpołudniowych, po wcześniejszym tygodniowym odizolowaniu grupy badanej w osobnym pojemniku hodowlanym.

Początkowo przeprowadzono próby kontrolne i kalibracyjne jedynie podczas spontanicznego ruchu ślimaka po podłożu. Wykazały one, że podczas rejestracji zaproponowanych parametrów za pomocą kamery cyfrowej i przeprowadzenia dokładnych obliczeń zapewniona jest odpowiednia powtarzalność i niewielki błąd względny. Analizując zapis badań kontrolnych, potwierdzono także wcześniejsze literaturowe doniesienia na temat sposobu przemieszczania się ślimaka, a zwłaszcza najnowszy opis według Lai i in. [2010].

Na następnym etapie przeprowadzono pierwsze próby mające na celu analizę farmakologicznej modyfikacji aktywności ruchowej nabłonka. W tym celu wykorzystano substancje chemiczne podawane w formie zastrzyku. Wstrzykiwano je w tylną część stopy ze względów bezpieczeństwa i ograniczenia możliwości uszkodzenia unerwienia lub narządów wewnętrznych (rys. 6). Kontrolę negatywną stanowiły zastrzyki zawierające płyn fizjologiczny dostosowany do ślimaka –  $80 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$  NaCl,  $4 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$  KCl,  $8 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$  CaCl<sub>2</sub>,  $5 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$  MgCl<sub>2</sub>,  $5 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$  Tris, pH 7,8 lub DMSO [Pavlova 2001], stosowane jako rozpuszczalnik dla części substancji. Testowano także inne formy aplikacji badanych substancji, między innymi przez skórę, jednakże nie gwarantowały one dokładnej kontroli nad dawką. Pewnym mankamentem podawania badanych substancji w formie zastrzyku jest otwarty układ krążenia ślimaka, które nie daje pełnej kontroli nad dystrybucją substancji w organizmie, a w konsekwencji – nad dokładnym miejscem ich oddziaływania.



Rys. 6. Potencjalne miejsca wkłucia na stopie ślimaka: na czerwono zaznaczono obszary, których wybór wiąże się z podwyższonym ryzykiem uszkodzenia elementów układu rozrodczego, wola lub nerwów i zwoju mózgowego, na zielono – obszary „bezpieczne” minimalizujące niepożądane efekty zastrzyku [opracowanie własne]

Lista badanych substancji obejmowała serię neuroprzekazników (serotoninę, adrenalinę, noradrenalinę oraz dopaminę), antagonistów oraz agonistów receptorów dla tych neuroprzekazników (między innymi klonidynę, fentolaminę, ondansetron, wardeniklinę). Badano również ambroksol w celu określenia wpływu jego mukolitycznych właściwości na śluz. Substancje podawano w różnych dawkach: od 1 do 100  $\mu\text{g}$  na gram masy ciała, a następnie mierzono zmiany wspomnianych wcześniej parametrów ruchu. Początkowo pomiary przeprowadzane były bezpośrednio po podaniu oraz co godzinę – do pięciu godzin włącznie. Badanie ostatecznie skrócono do pomiaru w przedziale czasowym do 45 min po zastrzyku i między 45 a 75 min ze względu na krótki czas półtrwania większości substancji i brak statystycznie istotnych zmian w późniejszych przedziałach czasowych. Czas pojedynczego nagrania wahał się w granicach od 20 do 35 s. Do

analizy wyników użyto testu U-Manna-Whitneya. Zbadano też korelację pomiędzy wybranymi parametrami ruchu.

## 2.2. Uwarunkowania hodowlane

Ślimaki *Achatina fulica* wykorzystywane w doświadczeniach pochodziły w całości z hodowli zakładowej. Chów odbywał się w szklanych terrariach wypełnionych torfem, utrzymanych w temperaturze pokojowej, z zapewnieniem podwyższonej wilgotności poprzez regularne zraszanie. Zwierzęta karmiono warzywami (przede wszystkim kapustą) oraz uzupełniano substancje mineralne, wykorzystując skorupki jaj kurzych. Wybrane do doświadczeń osobniki były tydzień wcześniej przenoszone do osobnych terrariów, w których panowały identyczne warunki, a następnie zważone, zmierzone i opisane poprzez numerację na powierzchni skorupy. Po przeprowadzeniu doświadczeń zwierzęta przenoszono do terrarium regeneracyjnego. Procedura zastrzyku jest dla ślimaka niegroźna, a po ukończeniu doświadczenia osobniki mogą dożyć starości w hodowli.

## 3. WYNIKI

### 3.1. Charakterystyka ruchu

W przeprowadzonych najpierw próbach kontrolnych zaobserwowano dodatnią korelację pomiędzy częstotliwością fal podeszwowych a prędkością ślimaka, zgodną z literaturowym opisem ruchu i dotychczasowymi obserwacjami [Lai i in. 2010, Tyrakowski i in. 2012]. Nie zaobserwowano dodatniej korelacji pomiędzy długością fali podeszwowej a prędkością ruchu w grupach kontrolnych. Liczba fal podeszwowych była wartością stałą osobniczo, natomiast pozostałe parametry różniły się u poszczególnych osobników (tab. 1, 2).

Tabela 1. Zestawienie korelacji dodatnich (+) oraz ujemnych (–) pomiędzy parametrami ruchu w badaniach kontrolnych (korelacja R-Spearmana przy  $p < 0,05$ ) [opracowanie własne]

| Korelacje | vg | lg | nw | lw | liw | cw | fw | shw | u |
|-----------|----|----|----|----|-----|----|----|-----|---|
| vg        |    |    |    |    |     |    |    | +   | + |
| lg        |    |    |    |    | +   | –  | –  |     |   |
| nw        |    |    |    |    |     |    |    |     |   |
| lw        |    |    |    |    |     |    |    |     |   |
| liw       |    | +  |    |    |     |    |    |     |   |
| cw        |    | –  |    |    |     |    |    |     |   |
| fw        |    | –  |    |    |     |    |    |     |   |
| shw       | +  |    |    |    |     |    |    |     | + |
| u         | +  |    |    |    |     |    |    | +   |   |

Parametry: vg – prędkość ślimaka, lg – długość stopy, nw – liczba fal podeszwowych, lw – długość fali podeszwowych, liw – długość międzyfali, cw – stosunek powierzchni fal stopy do całej stopy, cw – częstotliwość fal, shw – przesunięcie ślimaka przypadające na jedną falę, u – współczynnik efektywności

Tabela 2. Zestawienie przykładowych wartości parametrów ruchu ślimaka w próbie kontrolnej spontanicznego przemieszczania się (n = 15) [opracowanie własne]

| Parametr ruchu                                       | Czas pomiaru (min) |               |              | Całość       |
|------------------------------------------------------|--------------------|---------------|--------------|--------------|
|                                                      | 0                  | 15-45         | 45-75        |              |
|                                                      | x ± SD             | x ± SD        | x ± SD       |              |
| Prędkość ślimaka (mm·s <sup>-1</sup> )               | 0,43 ± 0,15a       | 0,41 ± 0,17b  | 0,55 ± 0,16  | 0,46 ± 0,17  |
| Długość stopy (mm)                                   | 76,04 ± 7,77       | 76,97 ± 7,71  | 75,55 ± 5,10 | 76,19 ± 6,84 |
| Liczba fal stopy                                     | 7,1 ± 0,5          | 7,2 ± 0,6     | 7,0 ± 0,5    | 7,1 ± 0,5    |
| Długość fali stopy (mm)                              | 2,69 ± 0,15a       | 2,65 ± 0,17b  | 2,84 ± 0,30  | 2,73 ± 0,23  |
| Długość międzyfali (mm)                              | 7,35 ± 1,18        | 7,25 ± 0,98   | 7,41 ± 0,99  | 7,33 ± 1,03  |
| Stosunek powierzchni fal stopy do całej stopy (%)    | 25,17 ± 2,47       | 24,95 ± 2,96  | 26,26 ± 2,25 | 25,46 ± 2,59 |
| Częstotliwość fal (Hz)                               | 0,42 ± 0,05        | 0,42 ± 0,06   | 0,47 ± 0,05  | 0,44 ± 0,05  |
| Przesunięcie ślimaka przypadające na jedną falę (mm) | 0,98 ± 0,29a       | 0,96 ± 0,29b  | 1,16 ± 0,30  | 1,03 ± 0,30  |
| Współczynnik efektywności (%)                        | 36,11 ± 9,34       | 36,12 ± 10,64 | 41,68 ± 9,14 | 37,97 ± 9,87 |

### 3.2. Farmakologiczna modyfikacja ruchu

Spośród badanych neuroprzekazników serotonina i adrenalina spowodowały wzrost prędkości ślimaka, natomiast adrenalina i dopamina – jedynie modyfikację poszczególnych parametrów ruchu. Analiza wpływu agonistów i antagonistów receptorów dla tych przekazników jest w dalszym ciągu przedmiotem badań przeprowadzanych w Katedrze i Zakładzie Patobiochemii i Chemii Klinicznej. Wpływ ambroksolu był zróżnicowany w zależności od grupy badanej, powodował on jednak zwiększenie rejestrowanych parametrów ruchu (tab. 3). We wszystkich przypadkach stopień zmian był wprost proporcjonalny do dawki podanych substancji. Szczegółowe przedstawienie części wyników zostało osobno opracowane [Pawłowicz 2013]. Zaobserwowano również niewielkie zmiany behawioralne będące przedmiotem aktualnie trwających analiz.

Tabela 3. Obecność lub brak statystycznie istotnych zmian (test U-Mana-Whitneya, p &lt; 0,05) podstawowych parametrów ruchu oraz prędkości ślimaka po podaniu wybranych substancji [opracowanie własne]

| Substancja                    | Zmiana prędkości ruchu | Zmiana pozostałych parametrów ruchu |
|-------------------------------|------------------------|-------------------------------------|
| Płyn fizjologiczny (kontrola) | -                      | -                                   |
| DMSO (kontrola)               | -                      | -                                   |
| Dopamina                      | -                      | +                                   |
| Adrenalina                    | -                      | +                                   |
| Noradrenalina                 | +                      | +                                   |
| Serotonina                    | +                      | +                                   |
| Fentolamina                   | +                      | +                                   |
| Klonidyna                     | +                      | +                                   |
| Ambroksol                     | +                      | +                                   |

## 4. DYSKUSJA

### 4.1. Analiza wyników z uwagi na merytoryczną ocenę proponowanego modelu biologicznego aktywności ruchowej nablönka

Odpowiedź na próby farmakologicznej modyfikacji ruchu ślimaka wskazuje na istnienie receptorów dla substancji występujących także w organizmie ludzkim i jest pierwszym, niezbędnym kryterium potencjalnego wykorzystania proponowanego modelu biologicznego. Brak statystycznie istotnych zmian w grupie kontrolnej, w przypadku której wykorzystano płyn fizjologiczny i roztwór mogący mieć zastosowanie jako DMSO do rozpuszczania części substancji, jest informacją niezbędną do oceny wpływu potencjalnego źródła niepożądanych zmiennych na wyniki badania, a także świadczy o braku wpływu samego nakłucia na aktywność ruchową organizmu modelowego.

### 4.2. Uwarunkowania techniczne i ekonomiczne proponowanego modelu biologicznego aktywności ruchowej nablönka

Analizowany model biologiczny jest prosty i wydajny. W jednej próbie, trwającej łącznie z przygotowaniem i uprzątnięciem stanowiska pomiarowego od 3 do 4 godzin, można wykorzystać grupę zwierząt o  $n = 10$ , a ograniczenie spowodowane jest jedynie wielkością stanowiska pomiarowego i liczbą kamer, jakie może obsługiwać jedna osoba. Analiza filmu nagranych za pomocą kamery cyfrowej zapewnia wystarczającą dokładność pomiaru, a zapis wideo umożliwia przechowywanie danych z poprzednich eksperymentów i bezproblemową weryfikację każdego doświadczenia.

Ze względu na małe wymagania hodowlane ślimaków *Achatina fulica* możliwe jest uzyskanie licznych grup badanych w krótkim czasie i przy niewielkich kosztach. Ograniczone rozmiary zwierząt pozwalają wykorzystać relatywnie małe dawki analizowanych substancji, co ma istotne znaczenie, ponieważ to właśnie koszt odczynników stanowi ponad 90% wszystkich nakładów finansowych przy zastosowaniu tego modelu biologicznego.

## 5. WNIOSKI

Biologiczny model aktywności ruchowej nablönka, wykorzystujący jako organizm modelowy ślimaka *Achatina fulica*, potencjalnie może być powszechnie używany ze względu na łatwość procedury i niskie koszty. Cechy te czynią z niego konkurencyjną alternatywę lub uzupełnienie dla droższych metod. Analogie do aktywności motorycznej ludzkiej tkanki nablönkowej (ze szczególnym uwzględnieniem dróg oddechowych i przewodu pokarmowego) oraz powtarzalne reakcje na farmakologiczne próby modyfikacji parametrów ruchu spełniają podstawowe warunki doboru modeli biologicznych. Kolejnym krokiem, będącym przedmiotem aktualnie prowadzonych badań, wydaje się być bardziej precyzyjne zidentyfikowanie rodzaju i rozmieszczenia poszczególnych receptorów w organizmie ślimaka, poszerzające wiedzę o organizmie modelowym i pozwalające lepiej zrozumieć zachodzące w nim procesy.

Niewielki koszt doświadczeń z wykorzystaniem proponowanego modelu biologicznego umożliwia przeprowadzanie ich na szerszą skalę, a brak konieczności uśmiercania zwierząt jest pozytywny ze względów etycznych. Stanowią bardziej akceptowalną społecznie alternatywę dla starszych modeli badawczych. Istnieje również możliwość automatyzacji pomiarów i dalszego zwiększenia wydajności.

## LITERATURA

Denny M.W., 1980a. Invertebrate Mucous Secretions: Functional Alternatives to Vertebrate Paradigms. Symp. Soc. Exp. Biol. 43, 337-266.

Denny M.W., 1980b. The Physical Prosperities of the Pedal Mucus of the Terrestrial Slug *Ariolimax columbianus*. J. Exp. Biol. 88, 375-393.

Denny M.W., 1981. A Quantitive Model for the Adhesive Locomotion of The Terrestrial Slug, *Ariolimax columbians*. J. Exp. Biol. 91, 195-217.

Denny M.W., 1984. Mechanical Prosperities of Pedal Mucus and Their Consequences for Gastropod Structure and Performance. Amer. Zool. 24, 23-36.

Faccioni-Heuser M.C., Zancan D.M., Achaval M., 2004. Monoamines in the pedal plexus of the land snail *Megalobulimus oblongus* (Gastropoda, Pulmonata). Braz. J. Med. Biol. Res. 37, 1043-1054.

Lai J.H., del Alamo J.C., Rodriguez-Rodriguez J., Lasheras J.C., 2010. The mechanics of the adhesive locomotion of terrestrial gastropods. J. Exp. Biol. 213, 3920-3933.

Lauga E., Hosoi A.E., 2006. Tuning gastropod locomotion: Modeling the influence of mucus rheology on the cost of crawling. Phys. Fluids 18, 113102.

Lissmann H.W., 1945a. The mechanism of locomotion in gastropod mollusks I. Kinematics. J. Exp. Biol. 21, 58-69.

Lissmann H.W., 1945b. The mechanism of locomotion in gastropod mollusks II. Kinetics. J. Exp. Biol. 21, 37-50.

National Research Council, 1985. Evaluation of Models for Biomedical Research, Models for Biomedical Research: A New Perspective. Washington, 25-28.

Pavlova G.A., 2001. Effects of serotonin, dopamine and ergometrine on locomotion in the pulmonate mollusk *Helix lucorum*. J. Exp. Biol. 204, 1625-1633.

Pawłowicz W., 2013. Model study of epithelial motility. Med. Biol. Sci. 27(2), 27-31.

Tyrakowski T., Hołyńska I., Lampka M., Kaczorowski P., 2006. The Electrical Potential Difference through the Foot Epithelium of the Snail *Achatina achatina*, Lameere during Mechanical and Chemical Stimulation. Fol. Biol. 54, 3-4.

Tyrakowski T., Kaczorowski P., Pawłowicz W., Ziółkowski M., Smuszkiewicz P., Trojanowska I., Marszałek A., Żebrowska M., Stevesandt M., Kopczyńska E., Lampka M., Hołyńska-Iwan I., Piskorska E., 2012. Discrete movements of foot epithelium during adhesive locomotion of land snail. Fol. Biol. 60, 1-2.

## Źródła internetowe

California Biomedical Research Association, 2013. <http://ca-biomed.org/csbr/pdf/fs-whyneccessary.pdf>

LSSU – Institutional Animal Care & Use Comittee, 2013. <http://www.lssu.edu/faculty/jroese/AnimalCare/selecting%20animals.htm#Selecting:32Model>

# ANALIZA ZMIAN LICZBY I POWIERZCHNI OCZEK WODNYCH W ZLEWNI RZECI MIENI

Adam Piasecki<sup>1</sup>

## 1. WSTĘP

Charakterystycznym elementem krajobrazu młodoglacjalnego stanowiącym o jego walorach przyrodniczych i turystyczno-rekreacyjnych są jeziora, a także mniejsze od 1 ha akweny nazywane oczkami wodnymi. Wymienione elementy są bardzo czułe i podatne na wpływ różnych czynników naturalnych i antropogenicznych. Również lokalizacja w zróżnicowanym pod względem rzeźby terenu obszarze i rodzaj podłoża mogą w znacznym stopniu determinować ich istnienie [Dembek i Oświt 1992, Kosturkiewicz i Fiedler 1993, Pieńkowski 2010].

Obecnie bardzo popularny w literaturze jest temat zmian liczby i powierzchni jezior, jak również tempa tych zmian. Najczęściej przedmiotem analiz są powierzchnie jezior w obszarze wybranych regionów fizycznogeograficznych [Choiński 1997, Kaniecki 1997, Marszelewski i Adamczyk 2004, Ptak 2010]. Powstały również prace dotyczące pojedynczych jezior [Głazik i Gierszewski 2001, Kubiak-Wójcicka i Golba 2011]. Temat oczek wodnych jest rzadziej podejmowany w literaturze. Powstałe prace dotyczą głównie zaniku oczek wodnych i przyczyn tego zjawiska [Marszelewski i Podgórski 2004, Koprowski i in. 2012].

Liczba oczek wodnych na Niżu Polskim, wyznaczona na podstawie mapy topograficznej w skali 1:50 000, wynosi 82 176 [Choiński 1999]. Podana wartość wydaje się zaniżona, bowiem według innych autorów na samym tylko Pojezierzu Mazurskim ich liczbę oszacowano na 83 922 [SolarSKI i Nowicki 1988].

Temat zaniku oczek wodnych, chociaż bardzo aktualny, wydaje się wciąż słabo poznany, dlatego też uznano, że warto go podjąć. W pracy przeanalizowano zmiany liczby i powierzchni oczek wodnych zlokalizowanych w zlewni rzeki Mieni. Należy zauważyć, że zgodnie z literaturą za oczka wodne uznaje się zazwyczaj niewielkie naturalne zbiorniki wodne o powierzchni poniżej 1 ha [Choiński 2007]. W prezentowanej pracy pod pojęciem oczek wodnych rozumiano natomiast wszystkie zbiorniki wodne o powierzchni poniżej 1 ha, a więc również i te powstałe wskutek działalności człowieka. Jako główny powód uwzględnienia wszystkich akwenów jest trudność w rozróżnieniu, czy dany zbiornik powstał w wyniku działalności człowieka czy też jest to naturalne zagłębienie. Ponadto uznano, że każdy niewielki zbiornik bez względu na pochodzenie bierze udział w obiegu wody analizowanej zlewni, w związku z czym wywiera na nią określony wpływ. W pracy uwzględniono również ukształtowanie rzeźby terenu, odnoszące się do położenia oczek wodnych w m.n.p.m.

## 2. OBSZAR BADAŃ

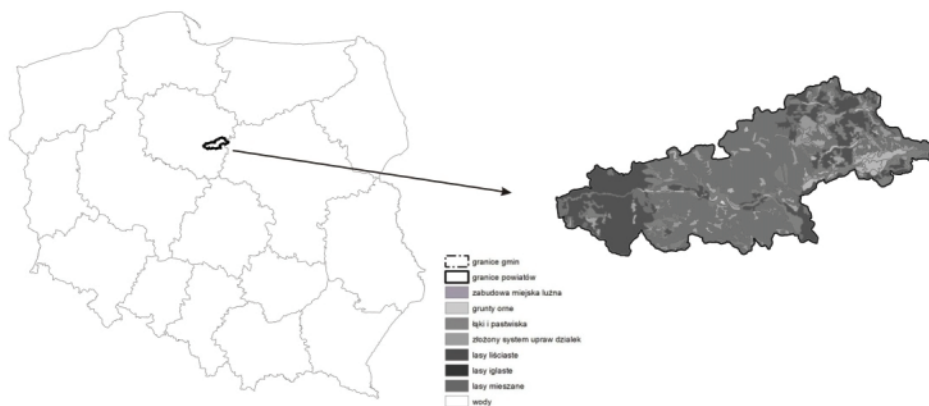
Zlewnia rzeki Mieni położona jest niemalże w całości w obrębie jednostki fizycznogeograficznej Pojezierze Dobrzyńskie. Jedynie jej zachodnia część stanowi fragment

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Wydział Nauk o Ziemi, Katedra Hydrologii i Gospodarki Wodnej, ul. Lwowska 1, 87-100 Toruń, e-mail: piasecki@doktorant.umk.pl



Kotliny Toruńskiej, a krańce wschodnie – Równiny Urszulewskiej. Obszar badań jest dość zróżnicowany pod względem geomorfologicznym, jednak najwyższe wzniesienia nie przekraczają 200 m n.p.m. Jest to przykład obszaru rolniczego, gdzie pierwsza działalność człowieka osiadłego datowana jest na ok. 2500 lat p.n.e. Jednak najbardziej intensywny rozwój osadnictwa nastąpił na początku XIV wieku. W wyniku tego w kolejnych wiekach wystąpiło bardzo znaczne wylesienie [Kwiatkowska 1963]. Obecnie obszar zlewni Mieni wykorzystywany jest głównie w celach rolniczych, grunty orne zajmują ponad 73% powierzchni. Znaczną część (ok. 9%) stanowią również lasy, zlokalizowane przede wszystkim w zachodniej i wschodniej części obszaru, a także w dolinie rzeki Mieni. Jeziorność zlewni wynosi tylko 0,2, a największymi jeziorami są: Skępskie Wielkie i Łąkie położone w zachodniej części (rys. 1).



Rys. 1. Lokalizacja obszaru badań [opracowanie własne na podstawie Corine Land Cover 2006]

### 3. MATERIAŁY I METODY

Liczbę i powierzchnie oczek wodnych wyznaczono na podstawie materiałów kartograficznych i teledetekcyjnych. Najstarszym źródłem danych pochodzącym z początku XX wieku była pruska mapa topograficzna (Topographische Karte), wykonana w skali 1:25 000. Mapa ta uznawana jest powszechnie za jedno z najlepszych opracowań kartograficznych. Opracowywana była na podstawie zdjęć stolikowego przez wysoko wykwalifikowanych kartografów wojskowych. Kolejnym źródłem była polska mapa topograficzna w skali 1:25 000 o aktualności topograficznej z lat 80. XX wieku, wykonana przez Sztab Generalny Wojska Polskiego. Ostatnim materiałem była wykonana w latach 2009-2010 ortofotomapa w skali 1:26 000 pozyskana z geoportalu.

Głównym kryterium przemawiającym za wykorzystaniem wyżej wymienionych materiałów była zbieżność skal oraz pokrycie całego obszaru badań. Dla ułatwienia opracowania wprowadzono oznaczenie aktualności topograficznej materiałów źródłowych następująco: dla map pruskich – 1910 r., dla map topograficznych – 1980 r., dla ortofotomapy – 2010 r.

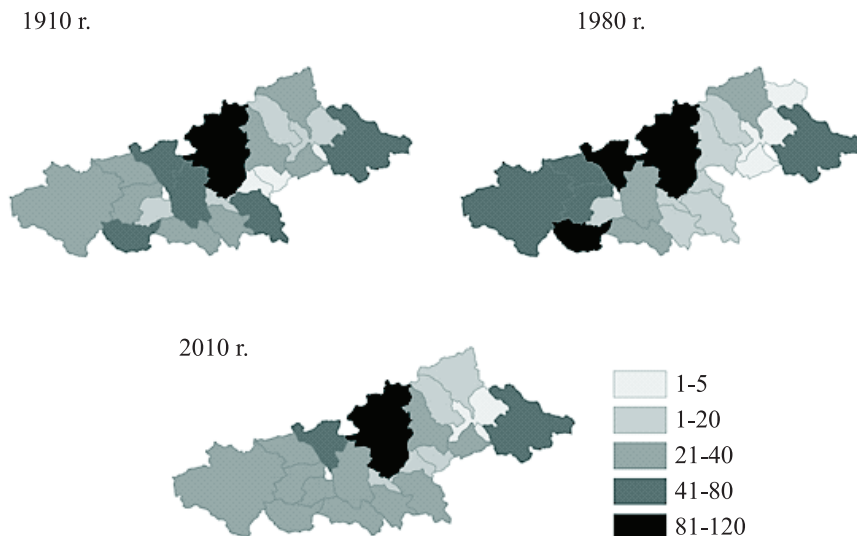
Wymienione materiały w postaci cyfrowej zostały odpowiednio zrektyfikowane do jednostrefowego Państwowego Układu Współrzędnych Geodezyjnych 1992 (PUWG 1992) w oprogramowaniu ArcGIS 9.1. Kolejnym krokiem było zwektoryzowanie linii brzegowej ze zgromadzonych materiałów źródłowych. Analiza polegała następnie na

identyfikacji ilościowej i przestrzennej oczek wodnych. W badaniu uwzględniono również bezwzględną wysokość położenia oczek wodnych, którą wyznaczono na podstawie numerycznego modelu terenu (SRTM).

#### 4. WYNIKI I WNIOSKI

Łączna liczba oczek wodnych w analizowanym okresie na badanym obszarze podlegała znacznym zmianom. Na początku XX wieku wynosiła 689. W latach 80. XX wieku wzrosła do 734, a obecnie wynosi 658. Zmianie ulegała również powierzchnia oczek. W latach 1910-1980 łączna powierzchnia badanych zbiorników zwiększyła się o 21 ha, a w okresie 1980-2010 zmniejszyła o 34 ha. W rezultacie w całym badanym przedziale czasu liczba oczek wodnych zmniejszyła się o 31, a powierzchnia o 13 ha.

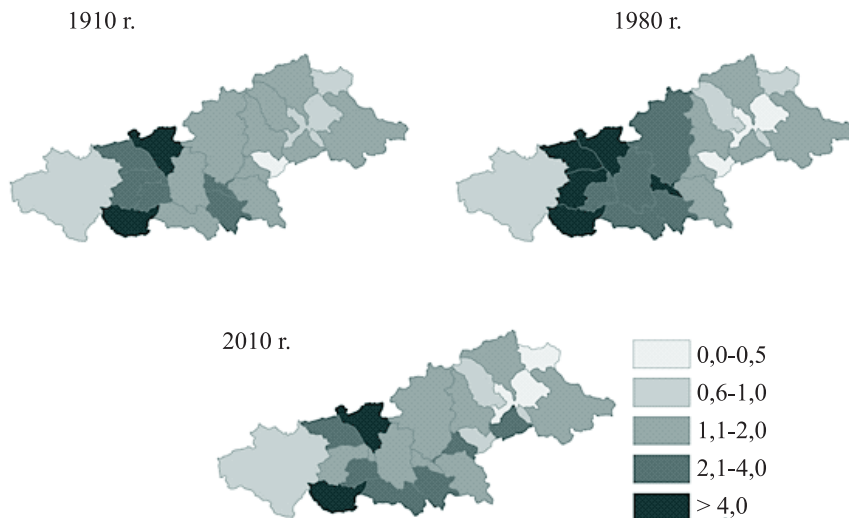
W zlewni Mieni oczka wodne rozmieszczone są bardzo nierównomiernie. Dlatego też dokonano analizy liczby i gęstości występowania oczek w obrębie zlewni elementarnych, wchodzących w skład badanego obszaru. Na początku XX wieku największą liczbę oczek wodnych (powyżej 80) zanotowano na obszarze zlewni elementarnej, znajdującej się w północno-środkowej części analizowanego obszaru. W roku 1980 wraz ze wzrostem liczby oczek zwiększyła się również ich liczebność w poszczególnych zlewniach. Dwie zlewnie elementarne położone w części północno-środkowej i jedna w południowo-zachodniej charakteryzowały się liczebnością największą (ponad 80 oczek). Również zlewnie znajdujące się w źródłowym i ujściowym odcinku Mieni odznaczały się w tym okresie znaczną liczbą oczek (41÷80 obiektów). Zmniejszenie liczby oczek wodnych w kolejnych latach spowodowało wyrównanie ich liczby w poszczególnych zlewniach. Obecnie na obszarze większości z nich ta liczba wynosi od 21 do 40 (rys. 2).



Rys. 2. Liczba oczek wodnych w zlewniach elementarnych [opracowanie własne na podstawie danych GUS]

Poszczególne zlewnie elementarne charakteryzują się zróżnicowaną powierzchnią, dlatego też w celu lepszej ich charakterystyki i możliwości porównania określono gę-

stość występowania oczek wodnych w ich obszarze. W roku 1910 największą liczbą oczek wodnych na 1 km<sup>2</sup> odznaczały się zlewnie zlokalizowane w środkowej części badanego obszaru (powyżej 2 oczek na km<sup>2</sup>; w przypadku dwóch zlewni było to nawet powyżej 4 oczek na km<sup>2</sup>). Naturalną konsekwencją wzrostu liczby oczek wodnych na tym obszarze było zwiększenie gęstości ich występowania w poszczególnych zlewniach. Obecnie największą gęstością charakteryzują się zlewnie położone w północno-środkowej i południowo-środkowej części zlewni Mieni. Należy zwrócić uwagę, że największa gęstość badanych obiektów występowała w zlewniach, które nie charakteryzowały się ich największą liczbą (rys. 3).



Rys. 3. Gęstość oczek wodnych na km<sup>2</sup> w obrębie zlewni elementarnych [opracowanie własne na podstawie danych GUS]

Analiza rozmieszczenia oczek wodnych pod względem ich położenia nad poziomem morza wykazała, że najwięcej oczek wodnych (30%) zlokalizowanych jest na wysokości 180-190 m n.p.m. Znacząca liczba oczek wodnych położona jest także na wysokości 170÷180 i 190÷200 m n.p.m., co stanowi odpowiednio 19 i 14%. Najwyżej położone są obiekty umiejscowione na obrzeżach analizowanej zlewni, a najniżej – w ujściowym odcinku Mieni. Przeprowadzona analiza nie wykazała związku pomiędzy wysokością położenia oczek wodnych a ich zanikiem.

Stwierdzony spadek łącznej liczby oczek wodnych w całym analizowanym okresie zdaje się potwierdzać wyniki uzyskane przez wielu autorów w badanych przez nich obszarach [SolarSKI i Nowicki 1988, Choiński i Madalińska 2002]. Jednak na badanym obszarze odnotowano również lata, których liczba oczek wodnych wzrosła. Powstanie wielu z nich związane jest z działalnością antropogeniczną, co potwierdza ich lokalizacja w pobliżu osad ludzkich. Podobną prawidłowość zauważyli już Marszelewski i Podgórski [2004] na Pojezierzu Chełmińskim. Woda gromadzona w powstałych zagłębieniach przeznaczana jest głównie do celów rolniczych, m.in. do pojenia bydła i nawadniania. Powstanie niektórych zagłębień wypełnionych wodą jest efektem eksploatacji torfu na tym obszarze [Koprowski i in. 2012].

Inne formy działalności ludzkiej związane przede wszystkim z pracami melioracyjnymi przyczyniły się do znaczących zmian w stosunkach wodnych badanego obszaru, a w konsekwencji – spadku liczby i powierzchni oczek wodnych. Potwierdzeniem tego są szczegółowe analizy sieci cieków, kanałów i obszarów podmokłych, przeprowadzone przez Koprowskiego i Łachacza [2012, 2013]. Autorzy, analizując od połowy XVIII wieku plany wybranych obszarów zlokalizowanych na północ od analizowanej zlewni, stwierdzili znaczące zmiany w zakresie badanych elementów.

Jak już wspomniano, badany obszar wykorzystywany jest głównie w celach rolniczych. Intensywna gospodarka rolna związana ze stosowaniem szeregu nawozów i pestycydów w sposób pośredni przyczyniła się również do zmniejszenia liczby oczek. Spowodowane jest to przedostawaniem się substancji zawartych w tych środkach poprzez spływ powierzchniowy lub gruntowy do akwenów. W konsekwencji następuje przyspieszony proces eutrofizacji zbiorników, a w rezultacie – ich zanik.

Należy podkreślić, że znaczący wpływ na istnienie i funkcjonowanie oczek wodnych mają warunki meteorologiczne. W przypadku lat suchych zarówno liczba, jak i powierzchnia wielu oczek uległa zmniejszeniu. Podobne różnice mogą wystąpić w przypadku wykonywania pomiarów wiosną i jesienią, gdy poziom wody w rzekach i jeziorach wyraźnie się różni. Przeprowadzona na podstawie materiałów kartograficznych analiza uniemożliwia uwzględnienie tych czynników, dlatego też wysnute wnioski mogą być obarczone pewnym błędem. Trudno jednak jest objąć systematyczną obserwacją tak znaczny obszar i tak wiele obiektów. Pewnym rozwiązaniem wydaje się możliwość analizy ortofotomap, które dla każdego obszaru są uaktualniane co kilka lat. Dzięki temu istnieje możliwość uzyskania większej liczby obserwacji, jak również dokładnej daty wykonania zdjęcia danego obszaru. Dlatego też szersze wykorzystanie tego źródła danych w dalszych badaniach wydaje się uzasadnione.

## 5. PODSUMOWANIE

Przedstawione wyniki badań wskazały na różnokierunkowe zmiany zarówno liczby, jak i powierzchni oczek wodnych w zlewni Mieni. Od początku XX wieku do lat 80. XX wieku liczba oczek wodnych wzrosła o 45, a powierzchnia zwiększyła się o 21 ha. Jako główny powód tych zmian wskazano czynnik antropogeniczny, związany z eksploatacją torfu i działalnością rolniczą. W kolejnym okresie stwierdzono spadek łącznej liczby badanych obiektów, a w konsekwencji – także ich powierzchni. Głównym powodem zaniku znacznej części zbiorników były naturalne procesy zarastania, spotęgowane w wielu przypadkach przedostawaniem się różnych substancji związanych z nadmiernym nawożeniem pól. W rezultacie proces eutrofizacji tych niewielkich akwenów został znacznie przyspieszony.

Oczka wodne, stanowiące ważny element w lokalnym obiegu wody, warunkują egzystencję wielu roślin i zwierząt. Ich podatność na wszelkie zmiany warunków naturalnych i zanieczyszczenia powoduje, że mogą spełniać funkcję identyfikatora stanu i jakości środowiska naturalnego. Z tych względów uzasadnione wydaje się prowadzenie dalszych obserwacji dotyczących omawianych obiektów. Przeprowadzone badania wskazały ponadto na konieczność zwrócenia większej uwagi na niewielkie zbiorniki wodne pochodzenia antropogenicznego. Jest to związane ze wzrostem ich liczby i odnotowaną na wielu obszarach przewagą nad oczkami pochodzenia naturalnego.

Bez względu na pochodzenie oczek wodnych ważna jest ich ochrona, a w wielu przypadkach rekultywacja. Jedynie dzięki takim działaniom dalsze istnienie oczek wodnych, urozmaicających krajobraz w wielu regionach Polski, będzie możliwe.

## LITERATURA

Choiński A., 1997. Zmiany ilości i powierzchni jezior w dorzeczu Parsęty od schyłku XIX wieku. [W:] Wpływ antropopresji na jeziora, red. A. Choiński, Wyd. Homini Poznań – Bydgoszcz, 18-22.

Choiński A., 1999. Oczka wodne w Polsce w strefie zasięgu zlodowacenia bałtyckiego. *Acta UNC, Geografia* 29, 317-326.

Choiński A., 2007. *Limnologia fizyczna Polski*. Wyd. UAM Poznań.

Choiński A., Madalińska K., 2002. Changes in lake percentage in Pomeranian Lakeland catchments adjacent to the Baltic since the close of the 19<sup>th</sup> century. *Limnol. Rev.* 2, 63-68.

Dembek W., Oświt J., 1992. Rozpoznanie warunków hydrologicznego zasilania siedlisk mokradłowych. [W:] *Hydrologiczne siedliska wilgotnościowe*, Bibl. Wiad. IMUZ 79, 15-38.

Glazik R., Gierszewski P., 2001. Influence of groundwater intakes on water resources of the chosen lakes located within Gostynińsko-Włocławski Landscape Park. *Limnol. Rev.* 1, 95-102.

Kaniecki A., 1997. Wpływ XIX-wiecznych melioracji na zmiany poziomu wód. [W:] *Wpływ antropopresji na jeziora*, red. A. Choiński, Wyd. Homini Poznań – Bydgoszcz, 67-71.

Koprowski J., Łachacz A., 2012. Potorfia w krajobrazie rolniczym Pojezierza Dobrzyńskiego. [W:] *Wybrane problemy ochrony mokradeł*, red. A. Łachacz, *Współczesne Problemy Kształtowania i Ochrony Środowiska, Monografie* 3, Wyd. UWM Olsztyn, 91-110.

Koprowski J., Łachacz A., 2013. Small water bodies formed after peat digging in Dobrzyńskie Lakeland. *J. Water Land Dev.* 18, 37-47.

Koprowski J., Łachacz A., Pieńkowski P., Szpigiel M., 2012. Przekształcenia śródpolnych mokradeł Pojezierza Dobrzyńskiego w świetle archiwalnych materiałów kartograficznych. *Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie* 12(3), 123-138.

Kosturkiewicz A., Fiedler M., 1993. Związki stanów wody w śródpolnych oczkach wodnych ze stanami wód gruntowych. *Zesz. Nauk. PAN, Człowiek i Środowisko* 6, 115-121.

Kubiak-Wójcicka K., Golba R., 2011. Zmiany powierzchni jeziora Kuchnia w świetle materiałów kartograficznych. [W:] *Anthropogenic and natural transformations of lakes*, vol. 5, red. W. Marszelewski, Polish Limnological Society Toruń, 97-104.

Kwiatkowska E., 1963. Osadnictwo wiejskie Ziemi Dobrzyńskiej w świetle planów z XVIII i XIX wieku i jego przemiany pod wpływem uwłaszczenia i parcelacji. *Stud. Soc. Sci. Tor., Sect. C* 4(3), 89.

Marszelewski W., Adamczyk A., 2004. Changes in the area of the mazurian lakes in the light of the cartographic materials at scale 1 : 25 000. *Limnol. Rev.* 4, 167-176.

Marszelewski W., Podgórski Z., 2004. Zmiany ilościowe oczek i jezior na Pojezierzu Chełmińskim w świetle materiałów kartograficznych z XIX i XX wieku. *Przegl. Geogr.* 76(1), 33-50.

Pieńkowski P., 2010. Disappearance of the ponds in the younger pleistocene landscapes of Pomerania. *J. Water Land Dev.* 4, 55-68.

Ptak M., 2010. Zmiany powierzchni jezior na tle zmian lesistości w środkowym i dolnym dorzeczu Warty od końca XIX wieku. [W:] *Woda w badaniach geograficznych*, red. T. Ciupa, R. Suligowski, UJK Kielce, 151-159.

Solarski H., Nowicki Z., 1988. Retencje oczek wodnych i mokradeł na Pojezierzu Mazurskim. [W:] *Naturalne i antropogeniczne przemiany jezior i mokradeł w Polsce*, red. Z. Churski, Wyd. UMK Toruń, 118-120.





# **ZRÓŻNICOWANIE POZIOMU ROZWOJU INFRASTRUKTURY WODNO-KANALIZACYJNEJ GMIN POWIATÓW MOGILEŃSKIEGO I ŻNIŃSKIEGO**

**Adam Piasecki<sup>1</sup>**

## **1. WSTĘP**

Gminy w Polsce charakteryzują się zróżnicowanym poziomem rozwoju infrastruktury wodno-kanalizacyjnej. Najlepiej rozwinięte pod tym względem, co jest zrozumiałe, są gminy miejskie, a zdecydowanie słabiej gminy wiejskie. Jednak to na obszarze tych ostatnich zachodzą w ostatnich latach największe przekształcenia w zakresie omawianej infrastruktury. Duże znaczenie w tym względzie ma polityka Unii Europejskiej (UE) i fundusze pomocowe pochodzące ze środków wspólnotowych przeznaczanych na ten cel. Wymogi UE zawarte w Ramowej Dyrektywie Wodnej określają odpowiedni poziom infrastruktury wodno-kanalizacyjnej dla poszczególnych obszarów, jaki musi zostać osiągnięty do 2015 roku.

Infrastruktura wodno-kanalizacyjna ma znaczący wpływ na poziom życia ludności i środowisko naturalne. Dobrze rozwinięta stanowi podstawę rozwoju terenów miejskich, a przede wszystkim wiejskich, umożliwiając modernizację i wzrost produkcji rolnej oraz kształtowanie się wielofunkcyjnego charakteru wsi [Piszczyk i Biczowski 2010]. Pośrednio wpływa również na wzrost przedsiębiorczości i rozwój gospodarczy danego regionu, pełniąc rolę przyciągającą potencjalnych inwestorów.

W pracy przeanalizowano wyposażenie w infrastrukturę wodno-kanalizacyjną gmin powiatów mogileńskiego i żnińskiego. Uwzględniono również wielkość środków pozyskanych przez poszczególne gminy z funduszy UE na rozwój omawianej infrastruktury.

## **2. OBSZAR BADAŃ**

Jak już wspomniano, badaniu poddano infrastrukturę gmin powiatów mogileńskiego i żnińskiego, położonych w południowo-zachodniej części województwa kujawsko-pomorskiego. Pod względem fizycznogeograficznym obszar badań zlokalizowany jest w obrębie kilku jednostek, m.in. Pojezierza Gnieźnieńskiego, Pojezierza Chodzieskiego, Równiny Inowrocławskiej i Kotliny Toruńskiej. Świadczy to o dość zróżnicowanym charakterze warunków naturalnych tego regionu, które w dominującej części obszaru sprzyjają rozwojowi rolnictwa. Potwierdzeniem tego jest fakt, że głównym elementem pokrycia terenu w obrębie obydwu powiatów są grunty orne, stanowiące ponad 73% powierzchni powiatu mogileńskiego i 67% powiatu żnińskiego. Lasów jest bardzo niewiele (ok. 17% powierzchni obydwu powiatów), a zlokalizowane są głównie w północnej i południowo-zachodniej części powiatu żnińskiego oraz południowej części powiatu mogileńskiego. Charakterystycznym elementem obszaru jest również znacząca liczba jezior polodowcowych (rys. 1).

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Mikołaja Kopernika, Wydział Nauk o Ziemi, Katedra Hydrologii i Gospodarki Wodnej, ul. Lwowska 1, 87-100 Toruń, e-mail: piasecki@doktorant.umk.pl



Rys. 1. Położenie obszaru badań oraz formy pokrycia terenu wg CLC 2006 [opracowanie własne na podstawie danych CLC]

Analizowane powiaty mają bardzo zbliżony charakter sieci osadniczej (brak większych ośrodków miejskich) i podobną, niską gęstość zaludnienia (ok. 70 osób na km<sup>2</sup>). Powiat żniński składa się z 6 gmin, w tym 4 gmin miejsko-wiejskich i 2 wiejskich. Jego łączna powierzchnia wynosi 985 km<sup>2</sup> i jest o 310 km<sup>2</sup> większa od powiatu mogileńskiego. Ludność powiatu żnińskiego liczy ponad 70 tys. mieszkańców, przy czym najgęściej zaludnionymi obszarami są gminy Żnin (96 osób na km<sup>2</sup>) i Barcin (123 osób na km<sup>2</sup>). Powiat mogileński tworzą 2 gminy miejsko-wiejskie i 2 wiejskie. Łączna liczba ludności powiatu wynosi 47 tys., a najgęściej zamieszkałym obszarem jest gmina Mogilno (97 osób na km<sup>2</sup>).

### 3. MATERIAŁ I METODY

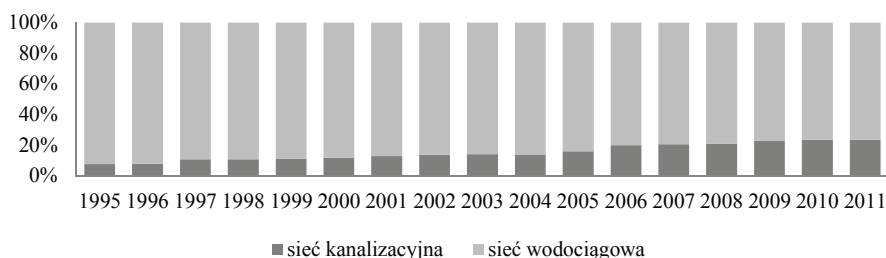
Źródłem danych wykorzystanych w pracy był Bank Danych Lokalnych GUS. Badaniem objęto lata 1995-2011, dla których uzyskano kompletne informacje i dane dotyczące analizowanego tematu. Stan wyposażenia poszczególnych gmin w elementy infrastruktury wodno-kanalizacyjnej opisano wskaźnikami nasycenia sieci wodociągowej i kanalizacyjnej w przeliczeniu na powierzchnię 100 km<sup>2</sup>. W celu określenia średniego tempa zmian długości analizowanych sieci wodno-kanalizacyjnych obliczono łańcuchowy wskaźnik dynamiki [Kwapisz 2005]. W badaniu uwzględniono ponadto informacje dotyczące liczby przyłączy wodociągowych i kanalizacyjnych oraz liczby osób korzystających z sieci wodociągowej i kanalizacyjnej.

### 4. WYNIKI I DISKUSJA

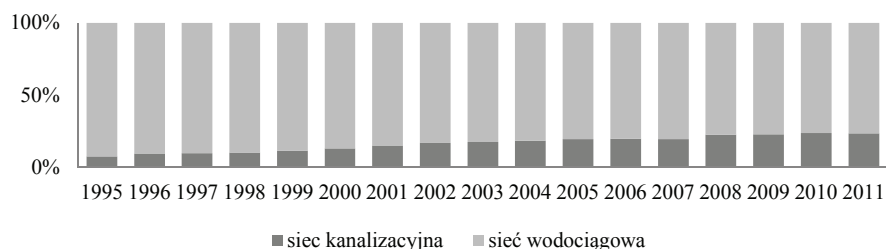
W latach 1995-2011 nastąpił znaczny rozwój sieci wodociągowej i kanalizacyjnej w obydwu analizowanych powiatach. Długość sieci kanalizacyjnej wzrosła ponad czterokrotnie w powiecie mogileńskim (z 48,3 do 213,4 km) i pięciokrotnie w powiecie żnińskim (z 59,8 do 297,7 km). Przyrost długości sieci wodociągowej był zdecydowa-

nie mniejszy i wyniósł jedynie 18% w powiecie mogileńskim i 25% w powiecie żnińskim. Potwierdza to dynamikę zmian długości obu sieci. W przypadku kanalizacji średnie roczne tempo zmian wyniosło 9,7% w powiecie mogileńskim i ponad 10,5% w żnińskim. Analogiczne wartości dla wodociągów to 1,2 i 1,8%. Znacznie większe zróżnicowanie pod względem dynamiki zmian długości sieci wodociągowej i kanalizacyjnej wystąpiło w poszczególnych gminach obydwu powiatów. W powiecie mogileńskim największy przyrost długości sieci kanalizacyjnej odnotowano w gminie Jeziora Wielkie (60,3 km), a sieci wodociągowej – w gminie Mogilno (111,2 km). Gminy te odznaczały się również największym tempem zmian wspomnianych elementów infrastruktury. W powiecie żnińskim najbardziej znaczący wzrost długości sieci zarówno kanalizacyjnej, jak i wodociągowej miał miejsce w gminie Żnin (po ok. 94 km), a największym tempem zmian obu sieci charakteryzowała się gmina Łabiszyn (tab. 1).

Wraz ze wzrostem długości sieci kanalizacyjnej i nieco mniejszym sieci wodociągowej następowała systematyczna zmiana relacji pomiędzy ich długościami. W roku 1995 zależność ta we wszystkich analizowanych gminach wynosiła poniżej 0,2. W kolejnych latach systematycznie się zmieniała, a w 2011 roku osiągnęła wartość ponad 0,5 (w gminach Jeziora Wielkie i Gąsawa). Potwierdza to zmiana udziału badanych sieci w łącznej długości sieci wodno-kanalizacyjnej. Na początku analizowanego okresu w obydwu powiatach udział sieci kanalizacyjnej wynosił poniżej 10%. W kolejnych latach udział sieci wodociągowej malał na rzecz sieci kanalizacyjnej, w konsekwencji czego w roku 2011 udział sieci kanalizacyjnej w łącznej długości sieci wodno-kanalizacyjnej wyniósł 23,4% w powiecie mogileńskim (rys. 2) i 23,7% w powiecie żnińskim (rys. 3).

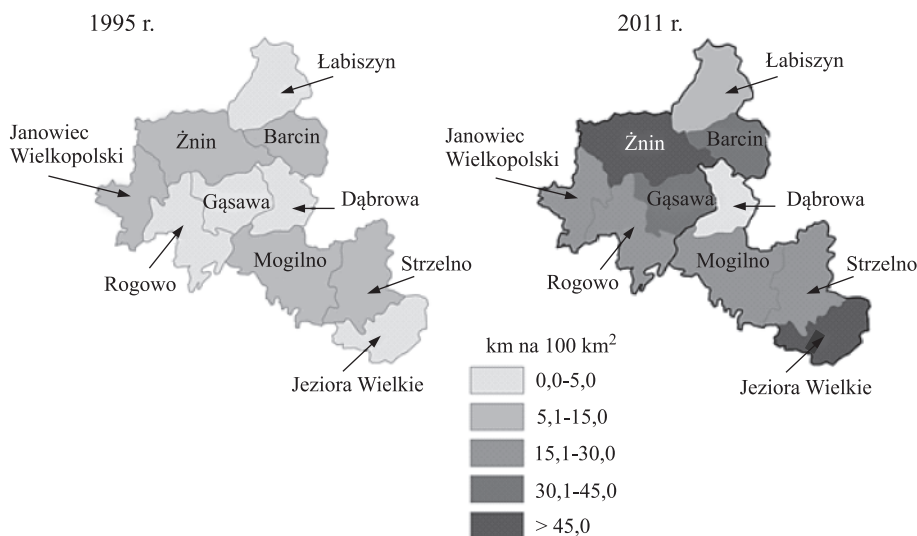


Rys. 2. Udział poszczególnych rodzajów sieci w łącznej długości sieci wodno-kanalizacyjnej w powiecie mogileńskim [opracowanie własne]



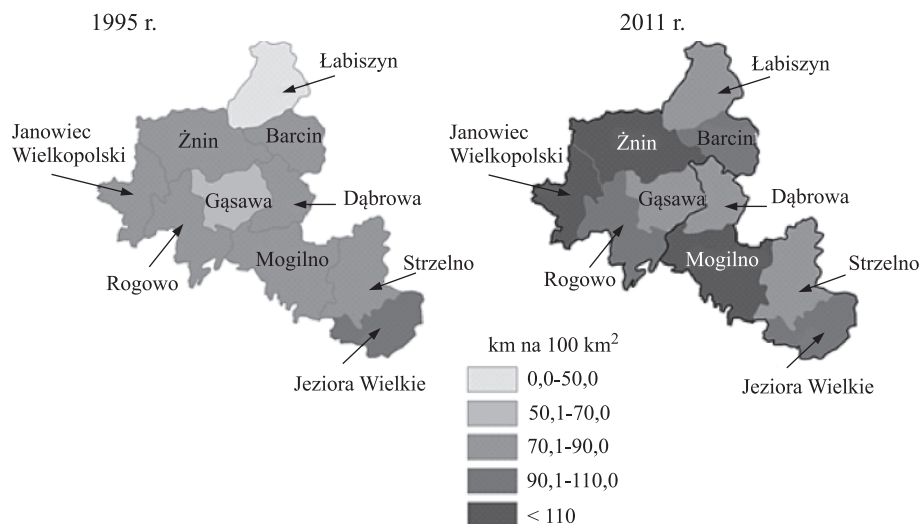
Rys. 3. Udział poszczególnych rodzajów sieci w łącznej długości sieci wodno-kanalizacyjnej w powiecie żnińskim [opracowanie własne]

Zwiększenie długości sieci wodno-kanalizacyjnej spowodowało wzrost nasycenia analizowaną infrastrukturą we wszystkich badanych gminach w różnym stopniu. W roku 1995 największe nasycenie siecią kanalizacyjną odnotowano w gminach położonych w środkowej i zachodniej części powiatu żnińskiego. Do 2011 roku nastąpił znaczący wzrost nasycenia analizowaną infrastrukturą we wszystkich gminach tego powiatu. Jednak największą wartością (powyżej 50 km na 100 km<sup>2</sup>) charakteryzowała się gmina Żnin położona w środkowej części powiatu. W powiecie mogileńskim na początku badanego okresu największym nasyceniem siecią kanalizacyjną odznaczały się gminy zlokalizowane w południowej części. W roku 2011 największym nasyceniem charakteryzowała się gmina Jeziora Wielkie (powyżej 50 km na 100 km<sup>2</sup>) położona w południowej części powiatu oraz gmina Dąbrowa (36 km na 100 km<sup>2</sup>) położna w części północnej (rys. 4).



Rys. 4. Gęstość sieci kanalizacyjnej [opracowanie własne na podstawie danych GUS]

W zakresie nasycenia siecią wodociągową również nastąpiły znaczące zmiany w obu badanych powiatach. W powiecie żnińskim w połowie lat 90. XX wieku większość gmin charakteryzowało nasycenie w przedziale 70-90 km na 100 km<sup>2</sup>. Jedynie w gminie Łabiszyn wartość tego wskaźnika była poniżej 50 km na 100 km<sup>2</sup>. W 2011 roku największą wartość nasycenia (powyżej 110 km na 100 km<sup>2</sup>) miały gminy położone w zachodniej i środkowej części powiatu. Gminy powiatu mogileńskiego w 1995 roku odznaczały się bardzo niewielkim zróżnicowaniem w zakresie nasycenia infrastrukturą wodociągową. Wszystkie, z wyjątkiem gminy Jeziora Wielkie (90-110 km na 100 km<sup>2</sup>), charakteryzowały się wartością nasycenia w przedziale 70-90 km na 100 km<sup>2</sup>. Jednak w kolejnych latach zróżnicowany rozwój w zakresie badanej infrastruktury spowodował, że w roku 2011 stopień nasycenia poszczególnych gmin znacznie się różnił. Największą wartość w tym zakresie (powyżej 110 km na 100 km<sup>2</sup>) miała gmina Mogilno, a najmniejszą – gminy Dąbrowa i Strzelno (poniżej 90 km na 100 km<sup>2</sup>). Dane te przedstawiono na rysunku 5.



Rys. 5. Gęstość sieci wodociągowej [opracowanie własne na podstawie danych GUS]

Konsekwencją rozbudowy sieci wodno-kanalizacyjnej był wzrost liczby przyłączy wodociągowych i kanalizacyjnych. W obu powiatach liczba przyłączy wodociągowych wzrosła o 21%. Wzrost liczby przyłączy kanalizacyjnych był znacznie większy i wyniósł 174% w powiecie mogileńskim i 429% w powiecie żnińskim. W poszczególnych gminach przyrost liczby przyłączy wodociągowych i kanalizacyjnych był bardzo zróżnicowany i zależał głównie od początkowej ich ilości (tab. 1).

Tabela 1. Podstawowe parametry oceny rozwoju infrastruktury komunalnej [opracowanie własne na podstawie danych GUS]

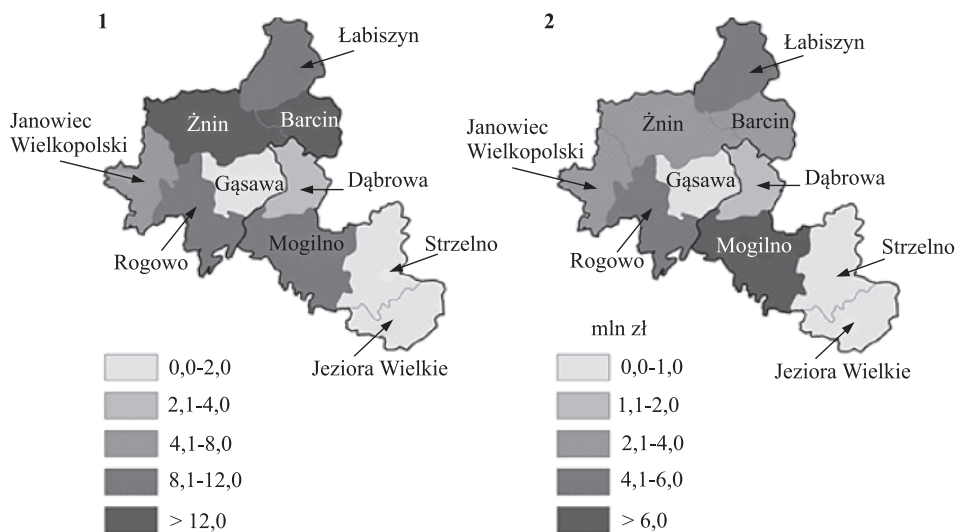
| Obszar                | Długość sieci kanalizacyjnej |       | Średnie roczne tempo zmian | Długość sieci wodociągowej |       | Średnie roczne tempo zmian | Relacja dł. sieci kanalizacyjnej do dł. sieci wodociągowej |      | Przyłącza wodociągowe |       | Przyłącza kanalizacyjne |      |
|-----------------------|------------------------------|-------|----------------------------|----------------------------|-------|----------------------------|------------------------------------------------------------|------|-----------------------|-------|-------------------------|------|
|                       | 1995                         | 2011  |                            | 1995                       | 2011  |                            | 1995                                                       | 2011 | 1995                  | 2011  | 1995                    | 2011 |
|                       | km                           |       |                            | %                          | km    |                            |                                                            | %    | 1995                  | 2011  | 1995                    | 2011 |
| Powiat mogileński     | 48,3                         | 213,4 | 9,7                        | 572,1                      | 695,2 | 1,2                        | 0,08                                                       | 0,31 | 6949                  | 8450  | 1355                    | 3721 |
| Jeziora Wielkie       | 2,7                          | 63    | 21,8                       | 117                        | 122,6 | 0,3                        | 0,02                                                       | 0,51 | 1118                  | 1314  | 30                      | 608  |
| Mogilno               | 19,1                         | 66,5  | 8,1                        | 208,7                      | 319,9 | 2,7                        | 0,09                                                       | 0,21 | 2833                  | 4169  | 564                     | 1734 |
| Strzelno              | 26,5                         | 43,3  | 3,1                        | 156,7                      | 162,5 | 0,2                        | 0,17                                                       | 0,27 | 2090                  | 2031  | 761                     | 836  |
| Dąbrowa               | 0                            | 40,6  | 21,5                       | 89,7                       | 90,2  | 0,0                        | -                                                          | 0,45 | 908                   | 936   | 0                       | 543  |
| Powiat żniński        | 59,8                         | 297,7 | 10,6                       | 722,8                      | 961   | 1,8                        | 0,08                                                       | 0,31 | 8868                  | 10757 | 958                     | 5073 |
| Barcin                | 13,3                         | 39,7  | 7,1                        | 98,3                       | 117,9 | 1,1                        | 0,14                                                       | 0,34 | 1163                  | 1431  | 219                     | 694  |
| Gąsawa                | 2,2                          | 48,2  | 21,3                       | 82,2                       | 87,7  | 0,4                        | 0,03                                                       | 0,55 | 944                   | 1074  | 59                      | 350  |
| Janowiec Wielkopolski | 11,6                         | 38,3  | 7,8                        | 116,8                      | 149,1 | 1,5                        | 0,10                                                       | 0,26 | 1522                  | 1916  | 329                     | 1072 |
| Rogowo                | 4,1                          | 31,4  | 13,6                       | 156,1                      | 167,9 | 0,5                        | 0,03                                                       | 0,19 | 1174                  | 1408  | 45                      | 664  |
| Łabiszyn              | 0,2                          | 17,1  | 32,1                       | 68,8                       | 143,5 | 4,7                        | 0,00                                                       | 0,12 | 1007                  | 1540  | 16                      | 579  |
| Żnin                  | 28,4                         | 123   | 9,6                        | 200,6                      | 294,9 | 2,4                        | 0,14                                                       | 0,42 | 3058                  | 3388  | 290                     | 1714 |

Źródło: opracowanie własne na podstawie danych GUS

Łączna liczba osób korzystających z wodociągów i kanalizacji w obu powiatach wzrosła od 2002 do 2011 roku odpowiednio o 2 i 17,6%. Zwraca uwagę dość niski wzrost liczby osób korzystających z wodociągów. Powodem tego jest fakt najbardziej dynamicznej rozbudowy sieci wodociągowej do początku XXI wieku. Nie dysponowano jednakże danymi na temat zmiany liczby osób korzystających z badanej infrastruktury przed 2002 rokiem. W przypadku sieci kanalizacyjnej najsilniejszy rozwój nastąpił w pierwszym kwartale XXI wieku, czego konsekwencją był wspomniany znaczny przyrost liczby osób korzystających z tej infrastruktury.

Rozwój infrastruktury wodno-kanalizacyjnej w analizowanym okresie był bardzo intensywny, niemniej jednak w poszczególnych gminach wystąpiły znaczące różnice. Szczególną uwagę zwraca wyraźna preferencja wielu samorządów do zapewnienia mieszkańcom najpierw dostępu do wodociągu, a w późniejszym czasie do kanalizacji. Skutkiem tego występuje wyraźna dysproporcja pomiędzy długościami obu sieci. Jest to zjawisko powszechne w całej Polsce, o którym pisało już wielu autorów [Kwapisz 2002, 2005, Piszczek i Biczkowski 2010, Kłos 2011]. Różnica ta w ostatnich latach zmniejsza się, na co wskazuje tempo przyrostu obu sieci.

Przestrzenne zróżnicowanie rozwoju analizowanej infrastruktury może wskazywać zarówno na zamożność określonych samorządów, jak i ich zaradność. Należy podkreślić, że w znacznym stopniu tak dynamiczny rozwój badanej infrastruktury nie byłby możliwy, gdyby nie wsparcie z funduszy UE. Gminy, którym udało się pozyskać najwięcej środków z tych funduszy, poczyniły jednocześnie największy postęp w rozwoju infrastruktury wodno-kanalizacyjnej (rys. 6).



Rys. 6. Wartość środków przeznaczonych na gospodarkę wodno-ściekową w poszczególnych gminach w latach 2004-2012; oznaczenia: 1 – całkowita wartość projektów; 2 – wartość środków pozyskanych z funduszy UE [opracowanie własne na podstawie [www.mapadotacji.gov.pl](http://www.mapadotacji.gov.pl)]

Na uwagę zasługuje bardzo duży rozwój sieci kanalizacyjnej w gminach, w obrębie których zlokalizowane są różne formy ochrony przyrody. Niewątpliwie to na

władzach lokalnych samorządów wspomnianych obszarów spoczywa szczególna odpowiedzialność za ochronę przed niszczeniem i degradacją wartości przyrodniczo-krajobrazowych, tak aby tereny te mogły służyć również innym celom i spełniać np. funkcje turystyczne i rekreacyjne [Biczkowski 2003]. Jednym z przykładów jest gmina Jeziora Wielkie, na obszarze której znajduje się fragment Nadgoplańskiego Parku Tysiąclecia. Podobnie w gminach Gąsawa i Żnin zlokalizowany jest obszar objęty ochroną siedlisk (Ostoja Barcińsko-Gąsawska). Znaczący rozwój wspomnianej infrastruktury w tych gminach z pewnością przyczyni się do zmniejszenia zanieczyszczeń, jakie mogłyby zagrozić tym cennym przyrodniczo obszarom. Z tych też względów prace zrealizowane w tym rejonie należy uznać za szczególnie ważne i pożądane.

Należy podkreślić, że ze względów technicznych i ekonomicznych nie jest możliwe podłączenie wszystkich gospodarstw domowych do kanalizacji. Dotyczy to szczególnie osadnictwa rozproszonego, gdzie z wielu względów budowa sieci kanalizacyjnej jest nieopłacalna. W przypadku tego typu zabudowy często dochodzi do niekontrolowanych zrzutów nieczystości, efektem czego jest zanieczyszczenie środowiska. Szacuje się, że ścieki z ponad połowy indywidualnych gospodarstw rolnych odprowadzane są bez jakiegokolwiek oczyszczania [Degórska 1999]. Rozwiązaniem problemu mogłaby być w takich przypadkach instalacja indywidualnych biologicznych oczyszczalni ścieków [Piszczyk 2008].

## 5. PODSUMOWANIE

W latach 1995-2011 nastąpił znaczny rozwój w zakresie infrastruktury wodno-kanalizacyjnej w gminach powiatów mogileńskiego i żnińskiego. Najdynamiczniej rozwijała się sieć kanalizacyjna, w mniejszym stopniu – sieć wodociągowa. Gminami, na obszarze których nastąpiły największe zmiany w zakresie długości sieci wodociągowej i kanalizacyjnej, były Żnin, Mogilno i Jeziora Wielkie. Gminy te charakteryzowały się względnie największą liczbą mieszkańców oraz dość dużym ich skupieniem. Szczególnie ten drugi element wydaje się mieć największą wagę w przypadku rozbudowy omawianej infrastruktury. Wykazano bowiem, że w przypadku zabudowy rozproszonej budowa obydwu rodzajów analizowanych sieci jest nieopłacalna, a w wielu przypadkach trudna do wykonania z powodów technicznych.

W pracy podkreślono rolę środków pomocowych z funduszy UE w likwidacji luki infrastrukturalnej, która w dużym stopniu została dzięki nim zmniejszona. Obecnie przejawia się ona w zbyt małej gęstości sieci kanalizacyjnej. Wykazano, że dysproporcja pomiędzy siecią wodociągową a kanalizacyjną jest nadal bardzo widoczna mimo kilkakrotnie większego tempa przyrostu sieci kanalizacyjnej w ostatnich kilkunastu latach.

W kolejnych latach konieczny będzie dalszy rozwój omawianej infrastruktury, ze szczególnym uwzględnieniem infrastruktury kanalizacyjnej. W wielu przypadkach będzie się to wiązało z budową przydomowych oczyszczalni ścieków, które na obszarach słabo zaludnionych są rozwiązaniem bardziej optymalnym. Należy jednak podkreślić, że dalszy rozwój infrastruktury wodno-kanalizacyjnej będzie w dużej części uzależniony od środków pozyskanych z zewnątrz, w tym z funduszy UE. Duża liczba obszarów chronionych, znajdujących się w obrębie analizowanych gmin, może z pewnością ułatwić pozyskanie środków na ten cel.



## LITERATURA

Bank Danych Lokalnych GUS, 2013.

[http://www.stat.gov.pl/bdl/app/strona.html?p\\_name=indeks](http://www.stat.gov.pl/bdl/app/strona.html?p_name=indeks)

Biczkowski M., 2003. Problemy kształtowania infrastruktury technicznej na obszarach chronionych. [W:] Mat. seminaryjne Kształtowanie przestrzeni oraz formy zagospodarowania turystycznego i rekreacyjnego parków krajobrazowych w harmonii z przyrodą, red. R. Rudnicki, A. Drozdowski, Zespół Parków Krajobrazowych Brudzeńskiego i Gostynińsko-Włocławskiego, Kowal, 41-52.

Degórska B., 1999. Wybrane problemy przestrzennego zagospodarowania obszarów wiejskich w świetle koncepcji ekorozwoju. [W:] Wpływ zróżnicowań regionalnych na możliwości przekształceń wsi polskiej, red. A. Stasiak, Biuletyn KPZK PAN 188, 47-69.

Kłos L., 2011. Stan infrastruktury wodno-kanalizacyjnej na obszarach wiejskich w Polsce a wymogi ramowej dyrektywy wodnej. Studia i Prace Wydziału Nauk Ekonomicznych i Zarządzania 24, 75-87.

Kwapisz J., 2002. Ocena rozwoju wybranych elementów infrastruktury technicznej województwa śląskiego w latach 1995-2000. Inż. Rol. 3, 111-120.

Kwapisz J., 2005. Ocena stanu infrastruktury wodno-ściekowej w gminach powiatów limanowskiego i nowosądeckiego. Infr. Ekol. Ter. Wiej. 4, 39-46.

Ministerstwo Rozwoju Regionalnego, 2013. <http://www.mapadotacji.gov.pl/projekty>

Piszczyk S., 2008. Rozwój sieci wodno-kanalizacyjnej na obszarze Krajeńskiego Parku Krajobrazowego. Dokumentacja Geograficzna 36, IGiPZ PAN, 115-121.

Piszczyk S., Biczkowski M., 2010. Infrastruktura komunalna jako element planowania i kształtowania rozwoju obszarów wiejskich ze szczególnym uwzględnieniem terenów chronionych. Infr. Ekol. Ter. Wiej. 14, 41-56.

# ROZKŁAD CIĘŻARU DOWODU W TZW. SPRAWACH CZECZEŃSKICH NA PODSTAWIE WYBRANEGO ORZECZNICTWA EUROPEJSKIEGO TRYBUNAŁU PRAW CZŁOWIEKA

Monika Próbka\*

## 1. UWAGI WSTĘPNE

W pracy dokonano analizy wybranych wyroków Europejskiego Trybunału Praw Człowieka (ETPC) w sprawach wynikających z konfliktu czeczeńskiego, w których poruszona została problematyka dowodów i rozkładu ciężaru dowodu. Rozpatrywano część orzecznictwa strasburskiego, w którym stwierdzono naruszenie art. 2 Europejskiej Konwencji Praw Człowieka (EKPC).

Od 2005 roku ETPC orzekał w wielu sprawach przeciwko Rosji wynikających z konfliktu zbrojnego w Czeczenii<sup>1</sup>. Co więcej, Rosja coraz częściej przegrywa jednoznacznie sprawy przed Trybunałem<sup>2</sup>.

Wskazać należy na stanowisko Rosji, która uważa, że nie ma żadnego konfliktu zbrojnego w Czeczenii. „Już w 2000 r. rosyjski minister sprawiedliwości poinformował Wysokiego Komisarza ONZ ds. Praw Człowieka, że Rosja postrzega wydarzenia w Czeczenii nie w kontekście konfliktu zbrojnego, ale jako operację antyterrorystyczną”<sup>3</sup>. Ponadto, nie wdraża ona żadnego stanu nadzwyczajnego, który by pozwolił zastosować unormowania prawa międzynarodowego praw człowieka odnoszące się do derogacji jej zobowiązań w tym obszarze. Tym większe zaskoczenie budzi fakt, że Rosja uchyla się od przedstawienia wyjaśnień dotyczących tragicznych wydarzeń, mających miejsce w Czeczenii, a które obfitują „w przypadki arbitralnych zabójstw i tajemniczych zaginięć, <użyciem siły absolutnie koniecznej> w rozumieniu art. 2 ust. 2 EKPC”<sup>4</sup>.

W większości analizowanych spraw czeczeńskich stany faktyczne są zbliżone do siebie. Grupa uzbrojonych, niezidentyfikowanych mężczyzn, często zamaskowanych, włamywała się do domu i siłą zabierała czy aresztowała osobę krewną skarżącą/ skarżącego<sup>5</sup>. Niejednokrotnie zdarzało się, że osoba taka była później bezprawnie zabijana przez funkcjonariuszy państwowych. Co więcej, skarżący twierdzili, że władze nie przeprowadziły skutecznego i adekwatnego śledztwa co do okoliczności zaginięcia

---

\* Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Wydział Prawa i Administracji, Katedra Praw Człowieka, ul. Władysława Bojarskiego 3, 87-100 Toruń, e-mail: m\_probka@doktorant.umk.pl

<sup>1</sup> W. Abresch, 2005. A Human Rights Law of Internal Armed Conflict: The European Court of Human Rights in Chechnya. The European Journal of International Law 16(4), s. 741.

<sup>2</sup> T. Jasudowicz, M. Szuniewicz, M. Balcerzak, 2008. Wojna i pokój. Prawa człowieka w konfliktach zbrojnych: zbiór materiałów. Wyd. 1, Toruń.

<sup>3</sup> J. Czepek, 2013. Wyroki ETPC w kontekście konfliktu zbrojnego na tle spraw czeczeńskich. [W:] Wpływ Europejskiej Konwencji Praw Człowieka na systemy ochrony praw człowieka oraz międzynarodowe prawo karne i humanitarne, red. E. Karska, UKSW Warszawa, s. 79.

<sup>4</sup> T. Jasudowicz, M. Szuniewicz, M. Balcerzak, op. cit., s. 14.

<sup>5</sup> A. Szpak, 2011. Wymuszone zaginięcia w orzecznictwie Europejskiego Trybunału Praw Człowieka – „sprawy czeczeńskie”. [W:] Europejska Konwencja Praw Człowieka i jej system kontrolny – perspektywa systemowa i orzecznicza, M. Balcerzak, J. Jasudowicz, J. Kapelańska-Pręgowska, wyd. 1, UMK Toruń, s. 236.

krewnego. Ich cierpienie potęgował fakt, że nie mieli żadnych informacji dotyczących losu zaginionych ofiar (zob. np. *Musayev i inni przeciwko Rosji* 2007). Skarżący opierali się na art. 2 EKPC<sup>6</sup>, który jest jednym z najbardziej fundamentalnych postanowień EKPC<sup>7</sup> i zawiera jedną z najbardziej podstawowych wartości (wraz z art. 3 EKPC)<sup>8</sup> społeczeństw demokratycznych tworzących Radę Europy, mianowicie prawo do życia<sup>9</sup>. Warto wskazać również stanowisko Trybunału, który stwierdzał, że: „Art. 2, który gwarantuje prawo do życia i ustala okoliczności, w których pozbawienie życia może podlegać usprawiedliwieniu, należy do najbardziej fundamentalnych postanowień Konwencji, od których nie jest dozwolona żadna derogacja”<sup>10</sup>.

Co więcej, Trybunał często stwierdzał naruszenie art. 2 EKPC (prawo do życia) w wyniku pozasądowych egzekucji, wymuszonych zaginięć, zgonów spowodowanych przez bombardowania lotnicze lub artyleryjskie oraz zgonów spowodowanych przez miny<sup>11</sup>.

Na koniec tych rozważań warto wskazać, że oprócz naruszenia art. 2 EKPC (prawo do życia; zarówno w jego aspekcie materialnym jak i proceduralnym)<sup>12</sup>, skarżący zarzucali naruszenie następujących artykułów EKPC<sup>13</sup>: art. 3<sup>14</sup> (zakaz tortur, niehumanitarnego lub poniżającego traktowania bądź karania w odniesieniu do osoby zaginionej oraz w odniesieniu do osób bliskich zaginionego), art. 5<sup>15</sup> (prawo do wolności i bezpie-

<sup>6</sup> Wyrok ETPC w sprawie *Musayev i inni przeciwko Rosji* z 26.07.2007 r., skarga nr 57941/00 i 60403/00, § 138.

<sup>7</sup> Np. wyrok ETPC w sprawach: *Isayeva przeciwko Rosji* z 24.02.2005 r., skarga nr 57950/00, § 172, 227; *Khashiyev i Akayeva przeciwko Rosji* z 24.02.2005 r., skarga nr 57942/00 i 579445/00, § 131; *Bazorkina przeciwko Rosji* z 27.02.2006 r., skarga nr 69481/01, § 103; *Estamirov i inni przeciwko Rosji* z 12.10.2006 r., skarga nr 660272/00, § 98; *Imakayeva przeciwko Rosji* z 09.11.2006 r., skarga nr 7615/02, § 139-140; *Luluyev i inni przeciwko Rosji* z 09.11.2006 r., skarga nr 69480/01, § 76; *Bitiyeva i X. przeciwko Rosji* z dnia 21.06.2007 r., skarga nr 57953/00 i 37392/03, § 140; *Musayev i inni przeciwko Rosji* z 26.07.2007 r., skarga nr 57941/00 i 60403/00, § 141.

<sup>8</sup> *Ibidem*.

<sup>9</sup> J. Chevalier-Watts, 2010. The phenomena of enforced disappearances in Turkey and Chechnya: Strasbourg's Noble Cause?, *Human Rights Review* 11(4), s. 469-470.

<sup>10</sup> Np. wyrok ETPC w sprawach: *Isayeva przeciwko Rosji* z 24.02.2005 r., skarga nr 57950/00, § 172; *Khashiyev i Akayeva przeciwko Rosji* z 24.02.2005 r., skarga nr 57942/00 i 579445/00, § 131; *Bazorkina przeciwko Rosji* z 27.02.2006 r., skarga nr 69481/01, § 103; *Imakayeva przeciwko Rosji* z 09.11.2006 r., skarga nr 7615/02, § 139; *Luluyev i inni przeciwko Rosji* z 09.11.2006 r., skarga nr 69480/01, § 76; *Musayev i inni przeciwko Rosji* z 26.07.2007 r., skarga nr 57941/00 i 60403/00, § 141.

<sup>11</sup> T. Jasudowicz, M. Szuniewicz, M. Balcerzak, *op. cit.*, s. 14.

<sup>12</sup> Por. J. Czepek J., *Wyroki ETPC...*, s. 80-81.

<sup>13</sup> A. Szpak, *op. cit.*

<sup>14</sup> Np. wyrok ETPC w sprawach: *Khashiyev i Akayeva przeciwko Rosji* z 24.02.2005 r., skarga nr 57942/00 i 579445/00, § 167 i n.; *Bazorkina przeciwko Rosji* z 27.02.2006 r., skarga nr 69481/01, § 126; *Luluyev i inni przeciwko Rosji* z 09.11.2006 r., skarga nr 69480/01, § 102, 103; *Sheydayev przeciwko Rosji* z 07.12.2006 r., skarga nr 65859/01, § 44; *Baysayeva przeciwko Rosji* z 05.04.2007 r., skarga nr 74237/01, § 131; *Bitiyeva i X. przeciwko Rosji* z dnia 21.06.2007 r., skarga nr 57953/00 i 37392/03, § 93; *Alikhadzhiyeva przeciwko Rosji* z 05.07.2007 r., skarga nr 68007/01 § 74.

<sup>15</sup> Np. wyrok ETPC w sprawach: *Bazorkina przeciwko Rosji* z 27.02.2006 r., skarga nr 69481/01, § 143; *Imakayeva przeciwko Rosji* z 09.11.2006 r., skarga nr 7615/02, § 168; *Akhmadova i Sadulayeva przeciwko Rosji* z dnia 10.05.2007 r., skarga nr 40464/02, § 113; *Bitiyeva*

czeństwa osobistego), art. 8<sup>16</sup> (prawo do poszanowania życia rodzinnego i prywatnego) i art. 13<sup>17</sup> (prawo do skutecznego środka odwoławczego, „najczęściej odczytywanego w połączeniu z art. 2 i 3 Konwencji”<sup>18</sup>).

## 2. CIĘŻAR DOWODU

Ciężar dowodu (ang. *burden of proof*, fr. *fardeau de la preuve*) – to „obowiązek udowodnienia prawdziwości twierdzenia przedstawionego przed sądem”<sup>19</sup>.

Jeżeli śmierć nastąpiła w wyniku działań funkcjonariuszy państwowych, to na skarżącym spoczywa obowiązek udowodnienia tego faktu. Ciężar dowodu zostaje przesunięty na pozwane państwo w sytuacji, gdy fakt ten zostanie wykazany w sposób „nie pozostawiający rozsądnych wątpliwości”<sup>20</sup>. Co więcej, jeżeli osoba przebywająca w areszcie umiera, a „państwo nie przeprowadza skutecznego postępowania wyjaśniającego, wówczas ETPC może przyjąć domniemanie, że śmierć nastąpiła w wyniku działania lub zaniechania organów państwa”<sup>21</sup>. W takich sytuacjach ciężar dowodu leży po stronie państwa, które musi zapewnić zadowalające i przekonujące wyjaśnienie, w jaki sposób doszło do zranienia lub śmierci osoby przebywającej w areszcie. Uzasadnia się to faktem, że w takich sytuacjach tylko władze mają wiedzę o zdarzeniu<sup>22</sup>. Przykładowo, w sprawie *Mojsiejew przeciwko Polsce* z dnia 24.03.2009 r.<sup>23</sup>.

*i X. przeciwko Rosji* z dnia 21.06.2007 r., skarga nr 57953/00 i 37392/03, § 110; *Magomadov i Magomadov przeciwko Rosji* z 12.07.2007 r., skarga nr 68004/01, § 122; *Musayeva i inni przeciwko Rosji* z 26.07.2007 r., skarga nr 74239/01, § 122; *Goygova przeciwko Rosji* z 04.10.2007 r., skarga nr 74240/01, § 105.

<sup>16</sup> Np. wyrok ETPC w sprawach: *Bazorkina przeciwko Rosji* z 27.02.2006 r., skarga nr 69481/01, § 154; *Imakayeva przeciwko Rosji* z 09.11.2006 r., skarga nr 7615/02, § 187.

<sup>17</sup> Np. wyrok ETPC w sprawach: *Isayeva przeciwko Rosji* z 24.02.2005 r., skarga nr 57950/00, § 226; *Khashiyev i Akayeva przeciwko Rosji* z 24.02.2005 r., skarga nr 57942/00 i 579445/00, § 182; *Bazorkina przeciwko Rosji* z 27.02.2006 r., skarga nr 69481/01, § 160; *Estamirov i inni przeciwko Rosji* z 12.10.2006 r., skarga nr 660272/00, § 117; *Imakayeva przeciwko Rosji* z 09.11.2006 r., skarga nr 7615/02, § 192; *Luluyev i inni przeciwko Rosji* z 09.11.2006 r., skarga nr 69480/01, § 136; *Baysayeva przeciwko Rosji* z 05.04.2007 r., skarga nr 74237/01, § 155; *Bitiyeva i X. przeciwko Rosji* z dnia 21.06.2007 r., skarga nr 57953/00 i 37392/03, § 156; *Musayev i inni przeciwko Rosji* z 26.07.2007 r., skarga nr 57941/00 i 60403/00, § 173.

<sup>18</sup> J. Czepek, 2013. Czy wymuszone zaginięcia mogą stanowić problem systemowy w kontekście orzecznictwa ETPC? Rozważania na temat wyroku ETPC w sprawie *Aslakhanova i inni przeciwko Rosji*. *Polski Rocznik Praw Człowieka i Prawa Humanitarne* 4, s. 9.

<sup>19</sup> M.A. Nowicki, 2004. *Słownik Europejskiej Konwencji Praw Człowieka: angielsko-francusko-polski, z objaśnieniami, z indeksem haseł francuskich i polskich*. Wyd. 2, Zakamycze, s. 36.

<sup>20</sup> L. Garlicki (red.), 2010. *Konwencja o Ochronie Praw Człowieka i Podstawowych Wolności*. Komentarz do artykułów 1-18. Wyd. 1, Wyd. C.H. Beck Warszawa, s. 80.

<sup>21</sup> E.H. Morawska, K. Gałka, 2011. *Standardy ochrony praw człowieka w prawie Europejskiej konwencji praw człowieka*. Analiza wiodących spraw polskich. Wyd. 1, Warszawa, s. 24.

<sup>22</sup> P. Leach, 2011. *Taking a case to the European Court of Human Rights*. Wyd. 3, Oxford, s. 189.

<sup>23</sup> W sprawie *Mojsiejew przeciwko Polsce* na państwie spoczywał ciężar dostarczenia satysfakcjonującego i wiarygodnego przedstawienia przyczyny zgonu Huberta Mojsiejewa. W tej sprawie Trybunał przyjął domniemanie, że państwo ponosi odpowiedzialność za naruszenie prawa do życia. Nie było bowiem przekonujących wyjaśnień w sprawie osoby zatrzymanej w izbie wytrzeźwień. Wynika z tego, że władze są odpowiedzialne za życie i zdrowie człowieka w sytuacji, gdy jest on pozbawiony wolności, a w przypadku śmierci, to na nich spoczywa ciężar dowodu, aby przedstawić zadowalające i przekonujące wyjaśnienia, że nie ponoszą za to

Warto odnotować, że państwo ma obowiązek udowodnienia, że pozbawienie życia oraz planowanie i przeprowadzenie operacji nie naruszyło standardów wynikających z orzecznictwa strasburskiego. Co więcej, państwo musi wyjaśnić, że pozbawienie życia było rezultatem zgodnego z prawem i absolutnie celowego użycia „śmiertelnej siły”. Chodzi tu przede wszystkim o przeprowadzenie adekwatnego i skutecznego oficjalnego śledztwa, które powinno być wszczęte, gdy doszło do pozbawienia życia przez funkcjonariuszy publicznych. Przykładowo w sprawie *Musayev i inni przeciwko Rosji*, która dotyczyła pozasądowych zabójstw popełnionych przez rosyjskich funkcjonariuszy państwowych w Novye Aldy w Groznm w lutym 2000 r., ETPC potępił postawę Rosji. Prawie 6 lat po krwawej egzekucji ponad 50 osób cywilnych nie osiągnięto żadnego znaczącego rezultatu w zadaniu zidentyfikowania i ścigania osób, które dopuściły się zbrodni. Trybunał stwierdził, że zaskakująca bezskuteczność władz ścigania w tej sprawie może być kwalifikowana jedynie jako przyzwolenie na te zdarzenia<sup>24</sup>.

### 3. WYROKI ETPC W SPRAWACH CZECZEŃSKICH

Jak wcześniej wspomniano, w większości spraw czeczeńskich stan faktyczny przedstawiał się podobnie. Przykładowo, w sprawie *Musayeva przeciwko Rosji* z 2008 r. skarżąca zarzuciła naruszenie art. 2 EKPC. Twierdziła, że jej syn zginął po zatrzymaniu przez rosyjskich funkcjonariuszy oraz że władze krajowe nie przeprowadziły skutecznego i adekwatnego śledztwa w tej sprawie<sup>25</sup>.

Jeśli chodzi o ocenę wydarzeń, ETPC stwierdził, że w sprawach, w których wchodzi w grę sprzeczne fakty, Trybunał przy ich ustaleniu w sposób nieunikniony staje w obliczu pewnych trudności. Gdy władze krajowe dysponują wyłącznym dostępem do informacji mogącej wesprzeć bądź odrzucić twierdzenia skarżącego, wszelki brak współdziałania ze strony władz, bez satysfakcjonującego i przekonującego wyjaśnienia, może prowadzić do wywodzenia wniosków co do zasadności twierdzeń skarżącego<sup>26</sup>.

Odnosnie do oceny dowodów, ETPC wskazuje na swoje wcześniejsze orzecznictwo potwierdzające standard dowodu „ponad rozsądną wątpliwość” (*beyond reasonable doubt*). Dowód taki może wynikać ze zbiegu wystarczająco mocnych, jasnych i zgodnych wniosków albo podobnych niekwestionowanych domniemań faktycznych. W tym kontekście trzeba brać pod uwagę postępowanie stron w czasie pozyskiwania dowodu<sup>27</sup>.

---

odpowiedzialności (w tym przypadku, że nie ponoszą odpowiedzialności za śmierć Huberta Mojsiejewa) – zob. L. Garlicki (red.), *op. cit.* s. 88; J. Czepek, [W:] T. Jasudowicz, J. Bartoszewicz, R. Fordoński, 2012. Orzecznictwo Europejskiego Trybunału Praw Człowieka w sprawach polskich. Wyd. 1, Olsztyn, s. 30.

<sup>24</sup> Wyrok ETPC w sprawie *Musayev i inni przeciwko Rosji* z 26.07.2007 r., skarga nr 57941/00 i 60403/00, § 164.

<sup>25</sup> Wyrok ETPC w sprawie *Musayeva przeciwko Rosji* z dnia 03.07.2008 r., skarga nr 12703/02, § 87.

<sup>26</sup> Np. wyrok ETPC w sprawach: *Musayeva przeciwko Rosji* z dnia 03.07.2008 r., skarga nr 12703/02, § 90; *Imakayeva przeciwko Rosji* z 09.11.2006 r., skarga nr 7615/02, § 111; *Khamil Isayev przeciwko Rosji* z dnia 15.11.2007 r., skarga nr 6846/02, § 107.

<sup>27</sup> Np. wyrok ETPC w sprawach: *Isayeva przeciwko Rosji* z 24.02.2005 r., skarga nr 57950/00, § 177; *Khashiyev i Akayeva przeciwko Rosji* z 24.02.2005 r., skarga nr 57942/00 i 579445/00, § 134; *Bazorkina przeciwko Rosji* z 27.02.2006 r., skarga nr 69481/01, § 106; *Estamirov i inni przeciwko Rosji* z 12.10.2006 r., skarga nr 660272/00, § 100; *Imakayeva przeciwko Rosji* z 09.11.2006 r., skarga nr 7615/02, § 112; *Luluyev i inni przeciwko Rosji* z 09.11.2006 r., skarga nr 69480/01, § 77; *Akhmadova i Sadulayeva przeciwko Rosji* z dnia 10.05.2007 r., skarga nr

Ponadto poziom perswazji niezbędnej do wywiedzenia tego rodzaju wniosku, a w związku z tym ciężar dowodu są nieodłącznie związane ze specyfiką faktów, charakterem postawionego zarzutu oraz wchodzącym w grę prawem konwencyjnym. W tym kontekście należy brać pod uwagę zachowanie się stron przy okazji pozyskiwania dowodów<sup>28</sup>, między innymi odmowę rządu rosyjskiego przedstawienia materiałów śledztwa. Przykładowo w sprawie Khamila Isayeva rząd nie ujawnił żadnych dokumentów. W kilku sprawach władze odmówiły przedstawienia większości akt sprawy, np. w sprawie *Musayeva i inni przeciwko Rosji* władze ujawniły 47 stron z co najmniej 423. Co więcej nie dostarczyły żadnego wyjaśnienia co do braku przedłożenia pozostałych dokumentów, a ich ilość i treść nie zostały oznaczone<sup>29</sup>. W sprawie *Akhmadova i Sadulayeva przeciwko Rosji* rząd odmówił dostarczenia kopii dokumentów z akt sprawy, argumentując, że trwa jeszcze śledztwo oraz że ich ujawnienie naruszałoby art. 161 Kodeksu Postępowania Karnego<sup>30</sup>. Artykuł ten stanowi, że: „materiał dowodowy pochodzący ze wstępnego śledztwa nie może zostać ujawniony, natomiast informacje uzyskane podczas śledztwa mogą zostać ujawnione tylko za zgodą prokuratora lub śledczego, ale tylko w takim zakresie, w jakim nie narusza to prawa i prawnie chronionych interesów uczestników postępowania karnego i nie przeszkadza w śledztwie. Zabronione jest ujawnianie informacji o życiu prywatnym uczestników postępowania karnego bez ich zgody”<sup>31</sup>. Trybunał zauważył, że rząd nie domagał się zastosowania Reguły 33 ust. 2 Regulaminu Trybunału, która pozwala na ograniczenie zasady publicznego charakteru dokumentów przedkładanych Trybunałowi z prawowitych celów, np. ochrony bezpieczeństwa narodowego i życia prywatnego stron, jak też interesów wymiaru sprawiedliwości. Ponadto postanowienia art. 161 Kodeksu Postępowania Karnego nie stoją na przeszkodzie ujawnieniu dokumentów z toczącego się śledztwa, ale raczej określają procedury i granice takiego ujawnienia. Co więcej w szeregu spraw badanych lub zawisłych przed Trybunałem, podobne żądania kierowano do rządu rosyjskiego i dokumenty z toczącego się śledztwa były przedkładane bez powoływania się na art. 161<sup>32</sup>. Dlatego Trybunał uważa wyjaśnienia rządu dotyczące ujawnienia materiałów za niewystarczające, aby usprawiedliwić utajnienie kluczowych informacji wymaganych przez Trybunał<sup>33</sup>.

W sprawie *Bitiyeva przeciwko Rosji* rząd również nie ujawnił różnych ważnych dokumentów, np. zeznań świadków, raportów kryminalistycznych i batalistycznych, informacji o zbadaniu miejsca zbrodni. Rząd twierdził, że ujawnienie dokumentów było

---

40464/02, § 84; *Musayev i inni przeciwko Rosji* z 26.07.2007 r., skarga nr 57941/00 i 60403/00, § 143; *Khamil Isayev przeciwko Rosji* z dnia 15.11.2007 r., skarga nr 6846/02, § 108.

<sup>28</sup> Wyrok ETPC w sprawie *Musayev i inni przeciwko Rosji* z 26.07.2007 r., skarga nr 57941/00 i 60403/00, § 143.

<sup>29</sup> P. Leach, 2008. The Chechen Conflict: Analysing the Oversight of the European Court of Human Rights. *European Human Rights Law Review* 6, s. 743-745.

<sup>30</sup> Zob. wyrok ETPC w sprawie *Akhmadova i Sadulayeva przeciwko Rosji* z dnia 10.05.2007 r., skarga nr 40464/02, § 97.

<sup>31</sup> A. Szpak, *op. cit.*, s. 237.

<sup>32</sup> Zob. wyrok ETPC w sprawie *Khashiyev i Akayeva przeciwko Rosji* z 24.02.2005 r., skarga nr 57942/00 i 579445/00, § 46.

<sup>33</sup> Wyrok ETPC w sprawach: *Estamirov i inni przeciwko Rosji* z 12.10.2006 r., skarga nr 660272/00, § 104; *Imakayeva przeciwko Rosji* z 09.11.2006 r., skarga nr 7615/02, § 123; *Akhmadova i Sadulayeva przeciwko Rosji* z dnia 10.05.2007 r., skarga nr 40464/02, § 97; *Bitiyeva i X. przeciwko Rosji* z dnia 21.06.2007 r., skarga nr 57953/00 i 37392/03, § 125.



niemożliwe, ponieważ zawierały one informacje o lokalizacji i działaniach wojska i jednostek specjalnych oraz osobiste informacje o uczestnikach postępowania; powoływał się przy tym również na art. 161 Kodeksu Postępowania Karnego. ETPC stwierdził, że postanowienia tego artykułu nie mogą być traktowane jako uniemożliwiające ujawnienie dokumentów z akt toczącego się śledztwa. Dlatego uznał wyjaśnienia rządu za niewystarczające dla usprawiedliwienia zatajenia istotnych informacji żądanych przez Trybunał<sup>34</sup>.

Trybunał zauważył również trudności pozyskania przez skarżących dowodów na poparcie twierdzeń w sprawach, w przypadku gdy pozwany rząd znajduje się w posiadaniu istotnych dokumentów, a ich nie przedkłada. Tam, gdzie skarżąca wnosi sprawę *prima facie*, a Trybunał nie ma możliwości osiągnięcia wniosków faktycznych z powodu braku wymaganych dokumentów, to do rządu należy rozstrzygające wyjaśnienie, dlaczego odnośne dokumenty nie mogą służyć do wsparcia twierdzeń skarżącej, bądź zapewnienie satysfakcjonującego i przekonującego wyjaśnienia, jak odnośne wydarzenia przebiegały. Ciężar dowodu przechodzi zatem na rząd i jeżeli brakuje mu argumentacji, powstają zagadnienia na podstawie art. 2 i/lub art. 3 EKPC<sup>35</sup>.

Co więcej, ETPC podkreśla, że w jeżeli fakty dotyczące sprawy pozostają w całości bądź w znacznej części w wyłącznej wiedzy władz, tak jak to jest w przypadkach, w których osoby podlegają ich kontroli w więzieniu, mogą powstawać mocne domniemania faktyczne odnośnie uszkodzeń i śmierci wynikających w toku takiej detencji. Stwierdzał zatem, że w przypadku, gdy dana osoba jest zatrzymywana w dobrym stanie zdrowia, a potem, w chwili zwolnienia, okazuje się, że ma uszkodzenia ciała, wówczas na państwie spoczywa zapewnienie satysfakcjonującego i przekonującego wyjaśnienia, co się wydarzyło. Należy uznać, że ciężar dowodu spoczywa na władzach<sup>36</sup>.

Trybunał stwierdził, że zasady te stosuje się również do przypadków, w których, chociaż nie udowodniono, iż dana osoba została uwięziona przez władze, możliwe jest ustalenie, że weszła ona na miejsce podlegające kontroli władz i odtąd jej nie widziano. W takich okolicznościach na władzach krajowych spoczywa ciężar dostarczenia przekonującego i wiarygodnego wyjaśnienia, co się w tych pomieszczeniach stało oraz wykazania, że dana osoba nie została zatrzymana przez władze, ale opuściła te pomieszczenia i nie była później pozbawiona wolności<sup>37</sup>.

Biorąc pod uwagę powyższe elementy, np. w sprawie *Musayeva przeciwko Rosji*, ETPC zadowala się tym, że skarżąca wniosła sprawę *prima facie*, iż jej syn został zatrzymany przez funkcjonariuszy państwowych. Twierdzenie rządu, że śledztwo nie dostarczyło żadnych dowodów na wsparcie zaangażowania w uprowadzenie sił specjalnych, jest niewystarczające dla zwolnienia go z wyżej wspomnianego ciężaru dowodu. Wywodząc wnioski w braku przedłożenia przez rząd dokumentów, które znajdowały się

<sup>34</sup> P. Leach, op. cit.

<sup>35</sup> Wyrok ETPC w sprawach: *Musayev i inni przeciwko Rosji* z 26.07.2007 r., skarga nr 57941/00 i 60403/00, § 144; Wyrok ETPC w sprawie *Musayeva przeciwko Rosji* z dnia 03.07.2008 r., skarga nr 12703/02, § 100.

<sup>36</sup> Wyrok ETPC w sprawach: *Goncharuk przeciwko Rosji* z dnia 04.10.2007 r., skarga nr 58643/00, § 79; *Musayeva przeciwko Rosji* z dnia 03.07.2008 r., skarga nr 12703/02, § 93; *Makhauri przeciwko Rosji* z dnia 04.10.2007 r., skarga nr 58701/00, § 122; *Khamil Isayev przeciwko Rosji* z dnia 15.11.2007 r., skarga nr 6846/02, § 110.

<sup>37</sup> Wyrok ETPC w sprawach: *Khamil Isayev przeciwko Rosji* z dnia 15.11.2007 r., skarga nr 6846/02, § 111; *Musayeva przeciwko Rosji* z dnia 03.07.2008 r., skarga nr 12703/02, § 94.



w jego wyłącznym posiadaniu albo dostarczenia innego przekonującego wyjaśnienia odnośnych wydarzeń, Trybunał uznał, że Yakub Iznaurov został schwytany 5 lutego 2000 r. w swoim domu w Groznym przez funkcjonariuszy państwowych podczas nieprecyzowanej operacji<sup>38</sup>.

Zważywszy na wcześniejsze sprawy dotyczące zaginięć ludzi w Czeczenii, jakie trafiały do Trybunału, ETPC stwierdził, że – w kontekście konfliktu w Republice Czeczenii – kiedy osoba zostaje zatrzymana przez niezidentyfikowanych funkcjonariuszy bez jakiegokolwiek późniejszego potwierdzenia jej detencji, można to uznawać za sytuację zagrażającą życiu<sup>39</sup>. Przykładowo, w sprawie *Musayeva przeciwko Rosji* z 2008 r., brak jakichkolwiek wieści o Yakubie Iznaurovie przez ponad 8 lat wspiera to założenie. Rząd ponadto nie dostarczył żadnego wyjaśnienia zaginięcia Yakuba Iznaurova, a śledztwo urzędowe dotyczące jego uprowadzenia – trwające od prawie 8 lat – nie przyniosło żadnych istotnych rezultatów<sup>40</sup>. W związku z powyższym, ETPC stwierdził, że dostępne dowody pozwalają mu na ustalenie z wymaganym standardem dowodu, że 5 lutego 2000 r. Yakub Iznaurov został schwytany przez funkcjonariuszy państwowych oraz że należy domniemywać, iż zginął on w następstwie jego ukrytej detencji, zabity przez funkcjonariuszy państwowych<sup>41</sup>.

#### 4. USTALENIE FAKTÓW I DOWODÓW W SPRAWACH CZECZEŃSKICH - PODSUMOWANIE

W sprawach czeczeńskich rozpatrywanych przez ETPC chodzi zasadniczo o ustalenie faktów, które polega na analizie dostępnych dowodów. Jak już wcześniej wspomniano, Trybunał w swoich wyrokach wielokrotnie odwoływał się do standardu dowodu „ponad rozsądną wątpliwość”.

W sprawach rozpatrywanych przez ETPC pojawił się również problem nieujawniania. W sprawach czeczeńskich, które były przedmiotem analizy, bardzo mało było dowodów, którymi dysponowali skarżący, np. uprowadzenie z domu we wczesnych godzinach porannych. W takich przypadkach wszystkie lub większość dowodów znajdowało się w posiadaniu władz krajowych, które dodatkowo odmawiały przedstawiania dokumentów dotyczących śledztwa. W tym miejscu wydaje się uprawniona konstatacja, że niestety cechą spraw czeczeńskich jest powtarzająca się postawa rządu rosyjskiego, który odmawia przedstawienia czy też ujawnienia kopii akt z prowadzonego śledztwa mimo wielokrotnych wniosków składanych przez Trybunał<sup>42</sup>.

ETPC odnotowywał również trudności w pozyskaniu przez skarżących dowodów na wsparcie twierdzeń w sprawach, w których rząd znajduje się w posiadaniu istotnej dokumentacji, a jej nie przedstawia.

<sup>38</sup> Wyrok ETPC w sprawie *Musayeva przeciwko Rosji* z dnia 03.07.2008 r., skarga nr 12703/02, § 101.

<sup>39</sup> Zob. np. wyrok ETPC w sprawie *Imakayeva przeciwko Rosji* z 09.11.2006 r., skarga nr 7615/02, § 141.

<sup>40</sup> Wyrok ETPC w sprawie *Musayeva przeciwko Rosji* z dnia 03.07.2008 r., skarga nr 12703/02, § 103.

<sup>41</sup> *Ibidem*, § 104.

<sup>42</sup> Zob. P. Leach, op. cit., s. 743-745.

Trybunał stwierdził ponadto, że niedostatek po stronie śledztwa nie może zwalniać rządu z jego ciężaru dowodu w stosunku do uzasadnionego twierdzenia skarżących co do naruszenia art. 2 EKPC<sup>43</sup>.

## LITERATURA

Abresch W., 2005. A Human Rights Law of Internal Armed Conflict: The European Court of Human Rights in Chechnya. *The European Journal of International Law* 16(4).

Chevalier-Watts J., 2010. The phenomena of enforced disappearances in Turkey and Chechnya: Strasbourg's Noble Cause? *Human Rights Review* 11(4).

Czepek J., 2012. [W:] *Orzecznictwo Europejskiego Trybunału Praw Człowieka w sprawach polskich*, T. Jasudowicz, J. Bartoszewicz J., Fordoński R., wyd. 1, Olsztyn.

Czepek J., 2013a. Czy wymuszone zaginięcia mogą stanowić problem systemowy w kontekście orzecznictwa ETPC? Rozważania na temat wyroku ETPC w sprawie Aslakhanova i inni przeciwko Rosji. *Polski Rocznik Praw Człowieka i Prawa Humanitarnego*, t. 4.

Czepek J., 2013b. Wyroki ETPC w kontekście konfliktu zbrojnego na tle spraw czecheńskich. [W:] *Wpływ Europejskiej Konwencji Praw Człowieka na systemy ochrony praw człowieka oraz międzynarodowe prawo karne i humanitarne*, red. E. Karska, Warszawa.

Garlicki L. (red.), 2010. *Konwencja o Ochronie Praw Człowieka i Podstawowych Wolności. Komentarz do artykułów 1-18*, wyd. 1, Warszawa.

Jasudowicz T., Szuniewicz M., Balcerzak M., *Wojna i pokój. Prawa człowieka w konfliktach zbrojnych: zbiór materiałów*, wyd. 1, Toruń 2008.

Leach P., 2008. The Chechen Conflict: Analysing the Oversight of the European Court of Human Rights. *European Human Rights Law Review* 6.

Leach P., 2011. *Taking a case to the European Court of Human Rights*. Wyd. 3, Oxford.

Morawska E.H., 2011. Gałka K., *Standardy ochrony praw człowieka w prawie Europejskiej konwencji praw człowieka. Analiza wiodących spraw polskich*. Wyd. 1, Warszawa.

Nowicki M.A., 2004. *Słownik Europejskiej Konwencji Praw Człowieka: angielsko-francusko-polski, z objaśnieniami, z indeksem haseł francuskich i polskich*. Wyd. 2, Warszawa.

Szpak A., 2011. Wymuszone zaginięcia w orzecznictwie Europejskiego Trybunału Praw Człowieka – „sprawy czecheńskie”. [W:] *Europejska Konwencja Praw Człowieka i jej system kontrolny – perspektywa systemowa i orzecznicza*, red. M. Balcerzak, J. Jasudowicz, J. Kapelańska-Pręgowska, wyd. 1, Toruń.

---

<sup>43</sup> *Ibidem*.

**Orzecznictwo strasburskie**

Wyrok ETPC w sprawie *Akhmadova i Sadulayeva przeciwko Rosji* z dnia 10.05.2007 r., skarga nr 40464/02.

Wyrok ETPC w sprawie *Alikhadzhiyeva przeciwko Rosji* z 05.07.2007 r., skarga nr 68007/01.

Wyrok ETPC w sprawie *Baysayeva przeciwko Rosji* z 05.04.2007 r., skarga nr 74237/01.

Wyrok ETPC w sprawie *Bazorkina przeciwko Rosji* z 27.02.2006 r., skarga nr 69481/01.

Wyrok ETPC w sprawie *Bitiyeva i X. przeciwko Rosji* z dnia 21.06.2007 r., skarga nr 57953/00 i 37392/03.

Wyrok ETPC w sprawie *Estamirov i inni przeciwko Rosji* z 12.10.2006 r., skarga nr 660272/00.

Wyrok ETPC w sprawie *Goncharuk przeciwko Rosji* z dnia 04.10.2007 r., skarga nr 58643/00.

Wyrok ETPC w sprawie *Goygova przeciwko Rosji* z 04.10.2007 r., skarga nr 74240/01.

Wyrok ETPC w sprawie *Imakayeva przeciwko Rosji* z 09.11.2006 r., skarga nr 7615/02.

Wyrok ETPC w sprawie *Isayeva przeciwko Rosji* z 24.02.2005 r., skarga nr 57950/00.

Wyrok ETPC w sprawie *Khamil Isayev przeciwko Rosji* z dnia 15.11.2007 r., skarga nr 6846/02.

Wyrok ETPC w sprawie *Khashiyev i Akayeva przeciwko Rosji* z 24.02.2005 r., skarga nr 57942/00 i 579445/00.

Wyrok ETPC w sprawie *Luluyev i inni przeciwko Rosji* z 09.11.2006 r., skarga nr 69480/01.

Wyrok ETPC w sprawie *Magomadov i Magomadov przeciwko Rosji* z 12.07.2007 r., skarga nr 68004/01.

Wyrok ETPC w sprawie *Makhauri przeciwko Rosji* z dnia 04.10.2007 r., skarga nr 58701/00.

Wyrok ETPC w sprawie *Musayev i inni przeciwko Rosji* z 26.07.2007 r., skarga nr 57941/00 i 60403/00.

Wyrok ETPC w sprawie *Musayeva przeciwko Rosji* z dnia 03.07.2008 r., skarga nr 12703/02.

Wyrok ETPC w sprawie *Sheydayev przeciwko Rosji* z 07.12.2006 r., skarga nr 65859/01.



# ZWIĄZKI LOTNE A POROZUMIEWANIE SIĘ ROŚLIN Z OTOCZENIEM

Sebastian Sendel<sup>1</sup>, Dariusz Piesik

## 1. WSTĘP

Od początku lat 90. minionego wieku coraz większą uwagę przywiązuje się do zrównoważonego rozwoju, obserwując przy tym rosnącą liczbę gospodarstw ekologicznych. Działalność gospodarstw ekologicznych wyklucza stosowanie sztucznych środków ochrony roślin, dopuszczając jedynie naturalne metody.

W wyniku stosowania nowych systemów gospodarowania zwraca się coraz większą uwagę na wykorzystywanie nowoczesnych środków ochrony roślin, które nie wywierają toksycznego wpływu na środowisko [Pruszyński 1997, Lipa 2000, 2002]. W minionej dekadzie coraz częściej próbowano używać biologicznych środków ochrony roślin, jednak wysoka cena, pracochłonność zabiegów i nie zawsze efektywne ich działanie spowodowały, że środki te w dużej mierze stosowane są w uprawach wysokowartościowych warzyw i owoców przede wszystkim w uprawach szklarniowych [Lipa i Pruszyński 2010].

Alternatywę w ochronie roślin może stanowić dokładne zbadanie zjawiska komunikowania się roślin oraz ich mechanizmów obronnych. Rośliny w wyniku uszkodzenia mechanicznego czy ataku szkodliwego organizmu wysyłają sygnały chemiczne do wrogów naturalnych, innych roślin, jak i samych roślinożerców [Degenhardt i in. 2003]. Sygnały chemiczne informują o zbliżającym się zagrożeniu i docierając do rośliny są w stanie wywołać podobną reakcję jej mechanizmu obronnego, jaką wywołuje szkodnik na ludzki organizm, przygotowując go do stawienia czoła potencjalnemu zagrożeniu.

## 2. PRZEGLĄD LITERATURY

Organizmy żywe, bez względu na budowę, są w stanie odbierać sygnały z otoczenia, przetwarzać je oraz odpowiadać na nie. U roślin z powodu osiadłego trybu życia oraz braku możliwości ucieczki przed zagrożeniem, w toku ewolucji rozwinął szereg złożonych mechanizmów komunikacyjnych oraz obronnych. Rośliny, ze względu na brak organów mowy, musiały wykształcić swój własny sposób komunikowania się poprzez sygnały chemiczne. Na co dzień wykorzystują w tym celu związki chemiczne określane mianem lotnych związków organicznych (LZO), które syntetyzowane są na drodze pięciu szlaków metabolizmu wtórnego [Maffei 2010]. Od wieków rośliny zachwycały swoim zapachem ludzi na całym świecie, jednak badania dotyczące uwalnianych przez rośliny lotnych związków organicznych są stosunkowo nowe. Pierwsze doniesienia o zidentyfikowaniu roślinnych LZO pochodzą z końca ubiegłego wieku z Holandii i USA [Dicke i in. 1990, Turlings i in. 1990]. Wyniki wielu badań świadczą o tym, że rośliny są w stanie komunikować się nie tylko między sobą, ale i również

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy, Katedra Entomologii i Fitopatologii Molekularnej, ul. ks. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz, e-mail: s.sendel@utp.edu.pl; piesik@utp.edu.pl

z owadami zarówno szkodliwymi, jak i pożytecznymi, a także z innymi organizmami żywymi [Engelberth i in. 2004].

Obecnie szacuje się, że około 12 rodzin roślin w wyniku żerowania owadów wydzielają lotne związki organiczne [Dicke 1999, Shiojiri i in. 2000, Neveu i in. 2002]. W zależności od czasu trwania szlaku syntezy danych związków oraz miejsca ich wydzielania można je podzielić na dwie grupy. Pierwszą stanowią związki syntetyzowane i uwalniane bezpośrednio z uszkodzonej tkanki, tuż po uszkodzeniu, a ilość wydzielanych związków z czasem maleje [Hatanaka 1993, Turlings i in. 1998]. Związki te nazywane są LZOZL (lotne związki organiczne zielonego liścia). LZOZL pod względem budowy molekularnej składają się głównie ze zdegradowanych produktów kwasów tłuszczowych C18, które są transformowane do C12 i C6. W zależności od substratu z C18 tworzą się w efekcie (Z)-3-heksenal lub heksanal. Dalsze procesy acetylacji i izomeryzacji prowadzą do powstania komponentów C6, takich jak (Z)-3-heksenol, octan (Z)-3-heksenyl i ich izomerów: (E)-3-heksanolu i octanu (E)-3-heksenylu [Hatanaka 1993]. Dowiedziono, że komponenty C6 są bezpośrednimi induktorami lotnych związków organicznych [Farag i Paré 2002].

Drugą grupę stanowią związki określane mianem pozostałych LZO, które wydzielane są w pewnym odstępie czasu od zaistniałego uszkodzenia, a ich wydzielanie odbywa się z nieuszkodzonych tkanek [Turlings i in. 1998]. Zarówno LZOZL, jak i LZO pełnią funkcję komunikatorów chemicznych. Niektóre z tych związków wpływają repelentnie na roślinożerców, inne zaś działają jako atraktanty dla wrogów naturalnych oraz innych pożytecznych organizmów, obniżają również płodność niektórych agrofagów [Halitschke i Baldwin 2005]. W wyniku uszkodzeń powstałych na skutek żerowania owadów wydzielane są głównie monoterpény i sekwiterypény. Niektóre z tych związków wydzielane są w odpowiedzi na konkretny rodzaj uszkodzenia, a nawet składanie jaj przez agrofaga [Paré i Tumlinson 1999]. Główny mechanizm działania LZO na rośliny sąsiadujące, jak i pożyteczne owady stanowią sygnały indukowane żerowaniem (SIŻ), które przez naukowców określane są jako pośrednie mechanizmy obronne [Vet i Dicke 1992]. Zmiany fizjologiczne zachodzące w roślinach, będące następstwem stresu lub uszkodzeń, nazywa się natomiast indukowanymi mechanizmami obronnymi (IMO) [Mattiacci i in. 2001]. Indukowane mechanizmy obronne mogą działać dwójako: przez wzmacnianie bezpośredniego wpływu na roślinożercę [Agrawal 1998] lub pośrednio – poprzez wzmożone działanie parazytoidów [Thaler 1999]. Chemiczne mechanizmy obronne roślin skierowane przeciwko agrofagom określa się jako bezpośrednie, wtedy gdy związane są bezpośrednio z produkcją toksyn, lub jako pośrednie, kiedy ich działanie potęguje działanie wrogów naturalnych [Dicke 1999].

Rośliny są w stanie odróżnić żerowanie owadów od uszkodzeń powstałych mechanicznie, które zwykle nie aktywują mechanizmu obronnego [Paré i Tumlinson 1999]. Do wydzielania lotnych związków organicznych dochodzi w wyniku żerowania roślinożerców [Turling i in. 2002], a także składania jaj na powierzchni rośliny [Hilker i in. 2002]. Rozpoznawanie uszkodzeń przez rośliny możliwe jest między innymi dzięki związkom zawartym w wydzielinach owadów, uwalnianych między innymi podczas żerowania, składania jaj, defekacji czy wymiotów. Związki wchodzące w skład wydzielin, które wywołują reakcję obronną roślin, nazwane są HAMPs (ang. herbivore-associated molecular patterns) [Mithöfer i Boland 2008].

W celu opisania percepcji elicytora przez roślinę, a następnie rozpoznania i wywołania reakcji obronnej stworzono dwa modele:

- 1) uniwersalny (ang. non-host manner), który zapoczątkowany jest przez mechaniczne uszkodzenie tkanek i bezpośrednią interakcję elicytor-receptor,
- 2) specyficzny – który polega na interakcji między roślinnym genem odporności a genem awirulencji agrofaga (ang. gen for gen) [Jones i Dangle 2006].

Jak dotąd badaczom udało się wyizolować i scharakteryzować tylko kilka klas związków określanych mianem HAMPs. Pierwszą grupę HAMPs stanowią białka (enzymy lityczne), takie jak:  $\beta$ -glukozydaza gąsienic bielinka kapustnika *Pieris brassicae* L. (*Lepidoptera; Pieridae*) [Mattiacci i in. 1995], oksydaza glukozowa gąsienic *Helicoverpa zea* Boddie [Eichenseer 1999] i fosfataza alkaliczna mączlików [Funk 2001]. Drugą grupę związków stanowią elicytory peptydowe niskocząsteczkowe inceptyny o specyficznej strukturze, które wyizolowano z wydzieliny jelita gąsienic sówki *Spodoptera frugiperda* Smith, żerującej na fasolniku chińskim *Vigna unguiculata* L. lub kukurydzy zwyczajnej *Zea mays* L. [Schmelz i in. 2006]. Na podstawie badań Maischak i in. [2007] stwierdzono, że inceptyna w niskich stężeniach wpływa dodatnio na biosyntezę etylenu, kwasu jasmonowego i salicylowego, co prowadzi do syntezy i emisji homoterpenu (E)-4,8-dimetyl-1,3,7-nonatrienu, uczestniczącego w interakcji roślina-owad. Trzecią klasę elicytorów HAMPs stanowią bruchiny, które pod względem budowy są długołańcuchowymi  $\alpha$ - $\omega$ -diolami, estryfikowane kwasem 3-hydroksypropanowym, wyizolowane z chrząszczy strąkowca fasolowego *Callosobruchus maculatus* Fabricius (*Coleoptera; Chrysomelidae*) i strąkowca grochowego *Bruchus pisorum* L. (*Coleoptera; Bruchidae*). Bruchniny wydzielane przez samicę podczas składania jaj wywołują reakcję obronną rośliny w postaci niezróżnicowanego wzrostu tkanki w miejscu wystąpienia czynnika, utrudniając przez to zasiedlanie strąków przez świeżo wyklute larwy, dodatkowo ekspozując je na działanie czynników środowiskowych oraz wrogów naturalnych [Doss i in. 2000]. Kolejną grupę związków wyizolowano z wymiocin *Schistocerca americana* Drury (*Orthoptera: Caelifera*), które pod względem budowy stanowią nasycone i nienasycone  $\alpha$ -hydroksy-kwasy tłuszczowe  $C_{15-20}$ . Udowodniono, że związki te indukują wydzielanie LZO z roślin kukurydzy [Alborn i in. 2007]. Kolejną klasę HAMPs, a zarazem zidentyfikowaną jako pierwszą i najlepiej poznaną stanowi wolicytyna N-(17-hydroksy-linolenolyl)-L-glutamina, która pod względem budowy jest koniugatem kwasu tłuszczowego i aminokwasów, takich jak L-glutamina lub kwas L-glutaminowy. Koniugaty kwasów tłuszczowych i aminokwasów (z ang. fatty acid-amino acid conjugates – FAC) zbudowane są z kwasów tłuszczowych pochodzących od rośliny oraz aminokwasów pochodzących z organizmu owada [Tumlinson i Lait 2005]. Podobne FAC pełniące rolę elicytorów wyizolowano z układów pokarmowych wielu gatunków gąsienic należących do rodzin sówkowatych (*Lepidoptera; Noctuidae*) i miernikowców (*Lepidoptera; Geometridae*) [Yoshinaga i in. 2007]. FAC indukują odpowiedzi obronne przeciwko roślinożercom [Tumlinson i Lait 2005]. Najnowsze badania wykazały, że elicytory zawarte w ślinie owadów pełnią kluczową rolę w kształtowaniu ilościowej i jakościowej reakcji obronnej rośliny [Howe i Jander 2008, Mithöfer i Boland 2008]. FAC oprócz indukcji pośrednich mechanizmów obronnych wywołują również bezpośrednie odpowiedzi obronne. Powodują między innymi gwałtowny wzrost stężenia kwasu jasmonowego (JA) i indukują mechanizmy obronne od niego zależne [Halitschke i Baldwin 2005].

Jak do tej pory, nie wyjaśniony pozostaje sposób, w jaki roślina rozpoznaje HAMPs, czy bezpośrednio wiążą się z receptorami w błonie komórkowej, czy też są tylko pośrednikami w procesie rozpoznawania szkodnika przez roślinę. Wiadomo jednak, że rośliny w zależności od odbieranego sygnału mogą reagować selektywnie na



ataki różnych agrofagów. Przykładowo w wyniku uszkodzeń powodowanych przez *Bemisia tabaci* Gennadius (*Homoptera: Aleyrodidae*) rośliny nie uruchamiają pośrednich mechanizmów obronnych, natomiast w wyniku żerowania *Spodoptera exigua* Hüner (*Lepidoptera: Noctuidae*) indukują silną reakcję obronną [Rodriguez-Saona i in. 2001]. Ataki roślinożerców na roślinę tytoniu *Nicotina attenuata* Torr. Ex S. Wats wzmagają indukcję i wydzielanie linalolu i (Z)-3-heksen-1-olu. Szczególnie wydzielany linalol w znaczącym stopniu obniża płodność owadów, w wyniku czego rośliny są w stanie zmniejszyć o 90% liczbę osobników na nich żerujących [Kessler i Baldwin 2001].

Wśród wszystkich do tej pory sklasyfikowanych lotnych związków organicznych wydzielanych przez rośliny w wyniku ataków roślinożerców jest kwas jasmonowy (z-jasmon) [Yan i Wang 2006]. Związek ten wchodzi między innymi w skład mieszanin zapachowych kwiatów, o działaniu przywabiającym [Birkett i in. 2000]. Ponadto wydzielany jest z uszkodzonych części roślin i stanowi sygnał alarmowy dla sąsiednich nie uszkodzonych roślin w celu przygotowania linii obronnych [Chamberlain i in. 2000, Pickett i Poppy 2001]. Obecność tego związku w powietrzu może stymulować rośliny do produkcji (E)- $\beta$ -ocimenu (monoterpenu), który wpływa na system obronny roślin, zwiększając stymulowaną aktywność parazytoidów. Kwas jaśminowy ma bezpośredni wpływ na system obronny, stymulując roślinę do produkcji toksyn oraz antyżywniowych protein i enzymów [Baldwin 2001]. Badania przeprowadzone na pszenicy opryskiwanej tym związkiem dowodzą, że rośliny były mniej podatne na ataki mszycy zbożowej [Bruce i in. 2003]. Wyniki badań Birketta i in. [2000] wykazały, że fasola opryskiwana z-jasmonem przywabia zdecydowanie więcej parazytoidów. Dowiedziono również, że związek ten wpływa na wzrost produkcji toksyn, antyżywniowych protein i antyżywniowych enzymów, przez co powoduje znaczące wzmocnienie systemu obronnego roślin [Baldwin 2001].

### 3. PODSUMOWANIE

Lotne związki organiczne stanowią nieodzowny element systemu komunikowania się na poziomie roślina – roślina, jak i roślina – owad. Nie podlega wątpliwości, że wyizolowanie owadzych elicytorów pomogło częściowo zrozumieć sposób, w jaki roślina jest w stanie rozpoznawać rodzaj uszkodzenia czy gatunek szkodnika je powodującego. Jednakże nadal zagadką pozostaje sam proces odbioru sygnału i jego translacji. W porównaniu z syntezą LZO poznano niektóre przyczyny aktywacji syntetyzowania i emisji tych związków, lecz do końca nie są wyjaśnione mechanizmy ich działania na zachowanie owada. Dodatkowe wyzwanie stanowią również słabo poznane indukowane mechanizmy obronne roślin. Poszerzenie wiedzy na temat przedstawionych zagadnień może wpłynąć na rozwój nowych metod oraz środków ochrony roślin.

### LITERATURA

- Agrawal A.A., 1998. Induced responses to herbivory and increased plant performance. *Science* 279, 1201-1202.
- Alborn H.T., Hansen T.V., Jones T.H., Bennett D.C., Tumlinson J.H., Schmelz E.A., Teal P.E.A., 2007. Disulfoxy fatty acids from the American bird grasshopper *Schistocerca americana*, elicitors of plant volatiles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104, 12976-12981.

- Baldwin I.T., 2001. An ecologically motivated analysis of plant-herbivore interactions in native tobacco. *Plant Physiol.* 127, 1449-1458.
- Birkett M.A., Campbell C.A.M., Chamberlain K., Guerrieri E., Hick A.J., Martin J.L., Matthes M., Napier J.A., Pettersson J., Pickett J.A., Poppy G.M., Pow E.M., Pye B.J., Smart L.E., Wadhams G.H., Wadhams L.J., Woodcock C.M., 2000. New roles for cis-jasmone as an insect semiochemical and in plant defense. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97(16), 9329-9334.
- Bruce T.J.A., Martin J.L., Pickett J.A., Pye B.J., Smart L.E., Wadhams L.J., 2003. cis-Jasmone treatment induces resistance in wheat plants against the grain aphid, *Sitobion avenae* (Faricius) (Homoptera: Aphididae). *Pest Manag. Sci.* 59, 1031-1036.
- Chamberlain K., Pickett J.A., Woodcock C.M., 2000. Plant signalling and induced defense in insect attack. *Mol. Plant Pathol.* 1, 67-72.
- Degenhardt J., Gershenzon J., Baldwin I.T., Kessler A. 2003. Attracting friends to feast on foes: engineering terpene emission to make crop plants more attractive to herbivore enemies. *Curr. Opin. Biotech.* 14, 169-176.
- Dicke M. 1999. Evolution of induced indirect defense of plants. [In:] *The Ecology and Evolution of Inducible Defenses*, Tollrian R., Hervell C.D. eds., Princeton University Press, 62-88.
- Dicke M., Van Beek T.A., Posthumus M.A., Ben Dom N., Van Bokhoven H., De Groot A.E., 1990. Isolation and identification of volatile kairomone that affects acarine predator-prey interactions. *J. Chem. Ecol.* 16, 381-396.
- Doss R.P., Oliver J.E., Proebsting W.M., Potter S.W., Kuy S.R., Clement S.L., Williamson R.T., Carney J.R., DeVilbiss E.D., 2000. Bruchins: insect-derived plant regulators that stimulate neoplasm formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 6218-6223.
- Eichenseer H., Mathews M.C., Bi J.L., Murphy J.B., Felton G.W., 1999. Salivary glucose oxidase: Multifunctional roles for *Helicoverpa zea*? *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 42, 99-109.
- Engelberth J., Alborn H.T., Schmelz E.A., Tumlinson J.H., 2004. Airborne signals prime plants against insect herbivore attack. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 101(6), 1781-1785.
- Farag M.A., Paré P.W., 2002. C6-green leaf volatiles trigger local and systemic VOC emission in tomato. *Phytochemistry* 61, 545-554.
- Funk C.J. 2001. Alkaline phosphatase activity in whitefly salivary glands and saliva. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 46, 165-174.
- Halitschke R., Baldwin I.T., 2005. Jasmonates and related compounds in plant-insect interactions. *J Plant Growth Regul* 23, 238-245.
- Hatanaka A., 1993. The biogenesis of green odour by green leaves. *Phytochemistry* 34, 1201-1218.
- Hilker M., Rohfritsch O., Meiners T., 2002. The plant's response towards insect egg deposition, in: *Chemecology of Insect Egg and Egg Deposition*, Hilker M., Meiners T. eds., Blackwell Berlin, 61-90.

- Howe G.A., Jander G., 2008. Plant immunity to insect herbivores. *Annu. Rev. Plant Biol.* 59, 41-66.
- Jones J.D.G., Dangl J.L., 2006. The plant immune system. *Nature* 444, 323-329.
- Kessler A., Baldwin I.T., 2001. Defensive function of herbivore-induced plant volatile emissions in nature. *Science* 291, 2141-2144.
- Lipa J.J., 2000. Obecne i przyszłe miejsce biologicznej i innych nie chemicznych metod ochrony roślin. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 40(1), 62-70.
- Lipa J.J., 2002. Coraz szerszy zakres stosowania biologicznej metody ochrony roślin w Polsce. *Ochrona Roślin* 7, 10-11.
- Lipa J.J., Pruszyński S., 2010. Stan wykorzystania metod biologicznych w ochronie roślin w Polsce i na świecie. *Prog. Plant Prot. /Post. Ochr. Roślin* 50(3), 1033-1043.
- Maffei M.E., 2010. Site of synthesis, biochemistry and functional role of plant volatiles. *S. Afr. J. Bot.* 76, 612-631.
- Maischak H., Grigoriev P.A., Vogel H., Boland W., Mithöfer A., 2007. Oral secretions from herbivorous lepidopteran larvae exhibit ion channel-forming activities. *FEBS Lett.* 581, 898-904.
- Mattiacci L., Dicke M., Posthumus M.A., 1995. Beta-glucosidase—an elicitor of herbivore-induced plant odor that attracts host-searching parasitic wasps. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 2036-2040.
- Mattiacci L., Rocca B.A., Scascighini N., D'Alessandro M., Hern A., Dorn S., 2001. Systemically induced plant volatiles emitted at the time of "danger". *J. Chem. Ecol.* 27(11), 2233-2252.
- Mithöfer A., Boland W., 2008. Recording of herbivory-associated molecular patterns. *Plant Physiol.* 146, 825-831.
- Neveu N., Grandgirard J., Nenon J.P., Cortesero A.M., 2002. Systemic release of herbivore-induced plant volatiles by turnips infested by concealed root-feeding larvae *Delia radicum* L. *J. Chem. Ecol.* 28, 1717-1731.
- Paré P.W., Tumlinson J.H., 1999. Plant volatiles as a defense against insect herbivores. *Plant Physiol.* 121, 325-331.
- Pickett J.A., Poppy G.M., 2001. Switching on plant genes by external chemical signals. *Trends Plant Sci.* 6, 137-139.
- Pruszyński S., 1997. Znaczenie ochrony roślin w rozwoju rolniczych technologii produkcji. *Prog. Plant Prot./Post. Ochr. Roślin* 37(1), 19-26.
- Rodriguez-Saona C., Crafts-Brandner S.J., Cañas L.A. 2003. Volatile emissions triggered by multiple herbivore damage: beet armyworm and whitefly feeding on cotton plants. *J. Chem. Ecol.* 29(11), 2539-2550.
- Schmelz E.A., Carroll M.J., LeClere S., Phipps S.M., Meredith J., Chourey P.S., Alborn H.T., Teal P.E.A., 2006. Fragments of ATP synthase mediate plant perception of insect attack. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103, 8894-8899.

- Shiojiri K., Takabayashi J., Yano S., Takafuji A., 2000. Flight response of para-sitoids toward plantYherbivore complexes: A comparative study of two parasi-toid herbivore systems on cabbage plants. *Appl. Entomol. Zool.* 35, 87-92.
- Thaler J.S., 1999. Jasmonate-inducible plant defences cause increased parasitism of herbivores. *Nature* 399, 686-688.
- Tumlinson J.H., Lait C.G., 2005. Biosynthesis of fatty acid amide elicitors of plant volatiles by insect herbivores. *Arch. Insect. Biochem. Physiol.* 58, 54-68.
- Turlings T.C.J., Gouinguenè S., Degen T., Fritzsche-Hoballah M.E., 2002. The chemical ecology of plant-caterpillar-parasitoid interactions. [In:] *Multitrophic Level Interactions*, Tscharrntke T., Hawkins B. eds., Cambridge University Press, UK, 148-173.
- Turlings T.C.J., Lengwiler U.B., Bernasconi M.L., Wechsler D., 1998. Timing of induced volatile emissions in maize seedlings. *Planta* 207, 146-152.
- Turlings T.C.J., Tumlinson J.H., Lewis W.J., 1990. Exploitation of herbivore in-duced plant odors by host-seeking parasitic wasps. *Science* 250, 1251-1253.
- Vet L.E.M., Dicke M., 1992. Ecology of infochemical use by natural enemies in a trithropic context. *Annu. Rev. Entomol.* 37, 141-172.
- Yan Z.G., Wang C.Z., 2006. Wound-induced green leaf volatiles cause the re-lease of acetylated derivatives and a terpenoid in maize. *Phytochemistry* 67, 34-42.
- Yoshinaga N., Aboshi T., Ishikawa C., Fukui M., Shimoda M., Nishida R., Lait C.G., Tumlinson J.H., Mori N., 2007. Fatty acid amides, previously identified in caterpillars, found in the cricket *Teleogryllus taiwanemma* and fruit fly *Drosophila melanogaster* larvae. *J. Chem. Ecol.* 33, 1376-1381.



# WPŁYW INTENSYWNOŚCI ŚWIATŁA NA WZAJEMNE ODDZIAŁYWANIE ALLELOPATYCZNE WYBRANYCH GATUNKÓW BAŁTYCKICH SINIC

Sylvia Śliwińska<sup>1</sup>, Adam Latała<sup>1</sup>

## 1. WSTĘP

Allelopatia może być jednym z ważniejszych czynników, które powodują dominację słodkowodnych i morskich gatunków, tworzących masowe zakwity w wielu akwenach, w tym również w Morzu Bałtyckim [Granéli i Hansen 2006, Żak i in. 2012]. Gatunki tworzące zakwity są dziś poważnym problemem zarówno ekologicznym, jak i socjoekonomicznym. Każdego roku w zbiornikach wodnych strefy umiarkowanej obserwowane są cykliczne zmiany biomasy i składu taksonomicznego zespołów fitoplanktonu. W zależności od pory roku oraz dostępności substancji biogenicznych mogą pojawiać się zakwity sinicowe (Cyanobacteria), bruzdnicowe (Dinoflagellatae), zielenicowe (Chlorophyceae) i okrzemkowe (Bacillariophyceae) [Błaszczuk i in. 2010].

Zakwity wody definiowane są jako masowy rozwój fitoplanktonu, któremu towarzyszy silne zmętnienie i zabarwienie wody. Wpływ zakwitów na ekosystem przejawia się obniżeniem bioróżnorodności, co jest skutkiem dominacji jednego lub najwyżej kilku gatunków fitoplanktonowych. Masowy wzrost mikroglonów i sinic wpływa negatywnie na jakość wody, powodując pojawienie się siarkowodoru w wodach przydennych. Niektóre sinice produkują związki o negatywnym oddziaływaniu na organizm człowieka, zwierzęta i rośliny [Schagerl i in. 2002, Gross 2003, Suikkanen i in. 2004, Suikkanen i in. 2005]. Objawy chorobowe i dolegliwości, które pojawiają się w wyniku sporadycznego lub chronicznego kontaktu z cyjanobakteriami, są efektem addytywnego lub synergicznego działania produkowanych przez nie związków. Mimo wielu lat badań nad cyjanobakteriami do dziś nie ma jednoznacznej odpowiedzi na pytanie, dlaczego produkują one związki o tak silnie toksycznym działaniu, chociaż niektórzy autorzy przypisują im między innymi rolę w allelopatycznych oddziaływaniach z innymi mikroorganizmami [Sukienik i in. 2002, Błaszczuk i in. 2010].

Głównym celem badań było określenie zakresu występowania zjawiska allelopatii wśród dominujących w okresie letnim bałtyckich szczepów sinic z wykorzystaniem takich metod, jak analizowanie zmian liczebności komórek w hodowlach, fluorescencji chlorofilu *a* i przebiegu tempa wymiany gazowej oraz wpływu na to zjawisko szerokiego zakresu intensywności napromieniowania. Dodatkowo porównano efekt pojedynczego i wielokrotnego dodania przesączu komórkowego uzyskanego z hodowli sinic oraz określono liczebność komórek sinic w kulturach mieszanych. Badania miały na celu wykazanie zakresu tolerancji i wrażliwości analizowanych organizmów na związki allelopatyczne produkowane przez sinice rosnące w warunkach zbliżonych do tych, występujących latem w Morzu Bałtyckim.

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Gdański, Instytut Oceanografii, Zakład Funkcjonowania Ekosystemów Morskich, Pracownia Ekofizjologii Roślin Morskich, al. Marszałka Piłsudskiego 46, 81-378 Gdynia, e-mail: ocessl@ug.edu.pl

## 2. MATERIAŁ I METODY

Materiał wykorzystywany w doświadczeniach stanowiły szczepy bałtyckich sinic pikoplanktonowych z rodzaju *Synechococcus* BA-124 i nitkowatych *Nodularia spumigena* BA-15, które zostały wyizolowane z naturalnych zespołów fitoplanktonowych przybrzeżnych wód Zatoki Gdańskiej. Obecnie szczepy te jako monokultury przetrzymywane są w Kolekcji Kultur Glonów Bałtyckich (CCBA), znajdującej się w Pracowni Ekofizjologii Roślin Morskich na Uniwersytecie Gdańskim [Latała 2003, Latała i in. 2006].

Badane organizmy hodowane były na sterylnej pożywce mineralnej f/2 [Guillard 1975]. Pożywki przygotowywano na bazie wody bałtyckiej o zasoleniu około 8 psu, która po dostarczeniu do laboratorium była sączona przez sączki z bibuły szklanej GF/C Whatman. Hodowle aklimatyzacyjne były każdorazowo przetrzymywane przez okres jednego tygodnia w warunkach odpowiadających warunkom przyszłej inkubacji hodowli właściwej. Po tym okresie aktywnie rosnące kultury, będące w fazie logarytmicznego wzrostu, zostały wykorzystane jako źródło inokulum do założenia hodowli właściwej o znanej początkowej liczebności komórek.

W celu realizacji doświadczeń na uchwycenie zjawiska allelopatii występującego u analizowanych sinic wykorzystano metodę *cross-culturing* [Suikkanen i in. 2004, Żak i in. 2012] oraz metodę polegającą na prowadzeniu hodowli wielogatunkowych [Prince i in. 2008]. W metodzie *cross-culturing* badania określające oddziaływanie allelopatyczne były prowadzone poprzez dodanie do hodowli badanych organizmów przesączu uzyskanego z wybranych szczepów sinic będących w fazie logarytmicznego wzrostu. Przesącz pochodził z przefiltrowania kultur sinic przez sączki z bibuły szklanej Whatman GF/C i dodawany był raz na początku eksperymentu oraz wielokrotnie do 100 ml kolb Erlenmeyera zawierających testowane organizmy. We wszystkich eksperymentach wyjściowe stężenie chlorofilu *a* w kulturach badanych sinic wynosiło  $80 \mu\text{g chl } a \text{ l}^{-1}$ . Próby kontrolne były sporządzane przez dodanie pożywki mineralnej f/2 o objętości równej dodawanego przesączu uzyskanego z hodowli sinic. Po 1, 3 i 7 dniach ekspozycji dla badanych bałtyckich szczepów została określona koncentracja komórek w hodowlach, fluorescencja chlorofilu *a* oraz tempo wymiany gazowej. W przypadku hodowli wielogatunkowych łączone były ze sobą kultury sinic wykazujących oddziaływania allelopatyczne, a ich koncentracja w hodowlach była określana za pomocą komory Bürkera i mikroskopu świetlnego. Hodowle właściwe prowadzono w stałych warunkach temperatury wynoszącej  $20^{\circ}\text{C}$  i zakresie promieniowania fotosyntetycznie czynnego PAR mieszczącego się w przedziale  $10\text{--}190 \mu\text{mol fotonów}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Każdy wariant doświadczenia prowadzono w trzech powtórzeniach, a wyniki eksperymentów zostały przedstawione jako wartość średnia z trzech niezależnych pomiarów.

W doświadczeniach z pojedynczym i wielokrotnym dodaniem przesączu uzyskanego z hodowli analizowanych sinic koncentracja komórek w hodowlach określona została poprzez pomiar liczebności komórek i gęstości optycznej bałtyckich szczepów sinic. Pomiar liczebności komórek badanych organizmów przeprowadzono za pomocą mikroskopu świetlnego firmy Nikon Eclipse 80i z zastosowaniem komory Bürkera. Równolegle mierzona była gęstość optyczna (OD) na spektrofotometrze Thermo Scientific model Multiskan GO dla długości fali 750 nm. Uzyskane wyniki pomiaru liczebności komórek i OD hodowli posłużyły do wyznaczenia zależności między dwoma zmierzonymi parametrami. Tak wyznaczone zależności liniowe dla poszczególnych szcze-



pów sinic były następnie wykorzystane do oszacowania liczebności badanych komórek w hodowlach właściwych już jedynie na podstawie pomiarów OD.

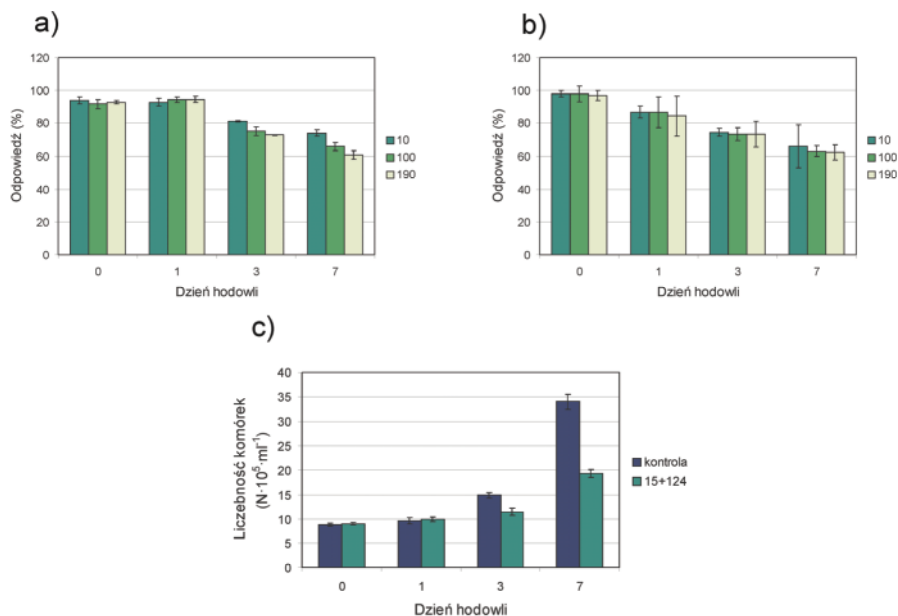
W przeprowadzonych doświadczeniach do pomiaru fluorescencji została zastosowana metoda pulsacyjnej modulacji amplitudy (PAM), do której był użyty fluorometr firmy Hansatech FSM-1 [Campbell i in. 1998]. Przed pomiarami fluorescencji jednakowe ilości roztworu pobrano z hodowli właściwych i przesączono przez sączki z bibuły szklanej Whatman GF/C. Następnie sączki umieszczane były w odpowiednich tip-sach, które dodatkowo zostały pokryte cienką warstwą roztworu pobranego z hodowli w celu zapewnienia środowiska płynnego. Przed rozpoczęciem eksperymentu próby były przetrzymywane w ciemności przez 15 min. Na początku doświadczenia zmierzony został poziom fluorescencji próby adaptowanej do ciemności – F0. Po 30 sekundach ciemności zaaplikowany został błysk wysycający ( $8\,000\ \mu\text{mol fotonów}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  przez  $0,6\ \text{s}^{-1}$ ), aby zmierzyć w ten sposób fluorescencję maksymalną – Fm. Dzięki temu została określona maksymalna kwantowa wydajność fotosystemu II, która wyrażana jest jako stosunek Fv/Fm, gdzie Fv to różnica między F0 a Fm. Po włączeniu światła aktywnego i po okresie adaptacji został zmierzony poziom fluorescencji stałej dla próby adaptowanej do światła – Fs. Następnie został zaaplikowany kolejny błysk światła wysycającego, aby uzyskać w ten sposób maksymalną fluorescencję w próbce zaadaptowanej do światła - (Fm') a to pozwoliło wyliczyć rzeczywistą wydajność PSII na świetle ( $\Phi\text{PS II}$ ) [Campbell i in. 1998].

W przeprowadzanych doświadczeniach pomiary tempa wymiany gazowej zostały wykonane metodą polarograficzną za pomocą elektrody tlenowej Clarka w odpowiednich komorach układu Chlorolab-2, firmy Hansatech. Badany materiał w ilości 2 ml został umieszczony w termostatyзованej komorze DW2/2 z zamocowaną elektrodą i mieszałem magnetycznym. Sygnałem wyjściowym elektrody było natężenie prądu, które jest proporcjonalne do ciśnienia parcjalnego tlenu. Następnie sygnał był przekształcany w zapis cyfrowy przez jednostkę kontrolną elektrody. Tempo wymiany gazowej w różnych natężeniach światła było zmierzone w równych odstępach czasu przez 3 min, a cały pomiar będzie trwał 39 min. Po pomiarach za pomocą spektrofotometru mierzona była wartość OD badanego materiału, a następnie wyliczana liczebność komórek. Tak wykonane pomiary pozwoliły na wyliczenie tempa wymiany gazowej w przeliczeniu na jednostkę biomasy. Na podstawie pomiarów tempa wymiany gazowej w różnych warunkach intensywności napromieniowania ( $0\text{--}1000\ \mu\text{mol fotonów}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), w temperaturze odpowiadającej warunkom hodowli, zostały wykreślone krzywe światła fotosyntezy (P-E). Przebieg krzywych P-E został dopasowany do danych pomiarowych z wykorzystaniem programu komputerowego Statistica i funkcji podanej przez Jassby'ego i Platta [1976].

### 3. WYNIKI

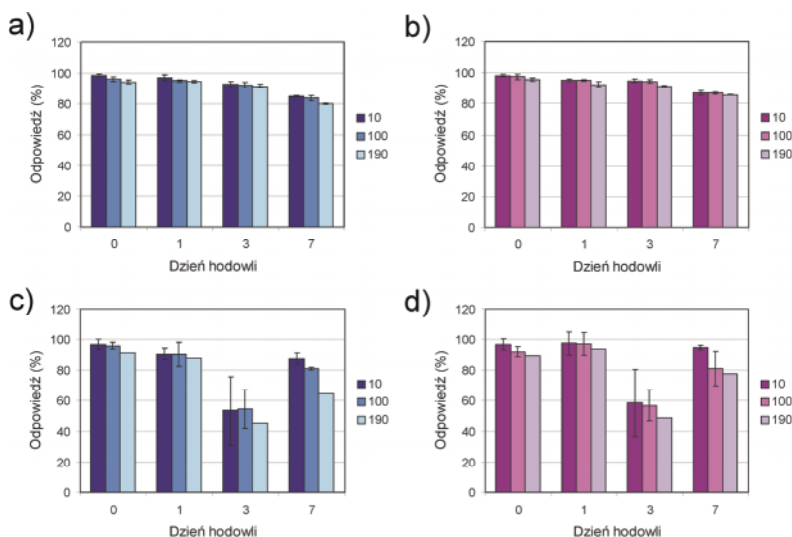
Doświadczenia z pojedynczym i wielokrotnym dodaniem przesączu uzyskanego z kultur sinic z rodzaju *Synechococcus* BA-124 oraz w hodowlach łączonych wykazały istotny hamujący wpływ na liczebność komórek *N. spumigena* (rys. 1). Największą inhibicję wzrostu *N. spumigena* zaobserwowano pod wpływem przesączu uzyskanego z kultur *Synechococcus* sp. hodowanych w intensywności napromieniowania wynoszącej  $190\ \mu\text{mol fotonów}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , najmniejszą zaś w  $10\ \mu\text{mol fotonów}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . Dodatkowo wraz ze wzrostem czasu ekspozycji malała odpowiedź badanych sinic w stosunku do ich kontroli, która 7. dnia hodowli wynosiła około 60% dla hodowli, w których dodany

był zarówno pojedynczy, jak i wielokrotny przesącz komórkowy. Doświadczenia, w których przetrzymywano badane sinice we wspólnej hodowli z *Synechococcus* sp., wykazały również istotny hamujący wpływ na liczebność komórek *N. spumigena*. Największą inhibicję wzrostu tej nitkowatej sinicy zaobserwowano w kulturach mieszanych po 7 dniach hodowli, która była prawie 2-krotnie mniejsza niż w kontroli.



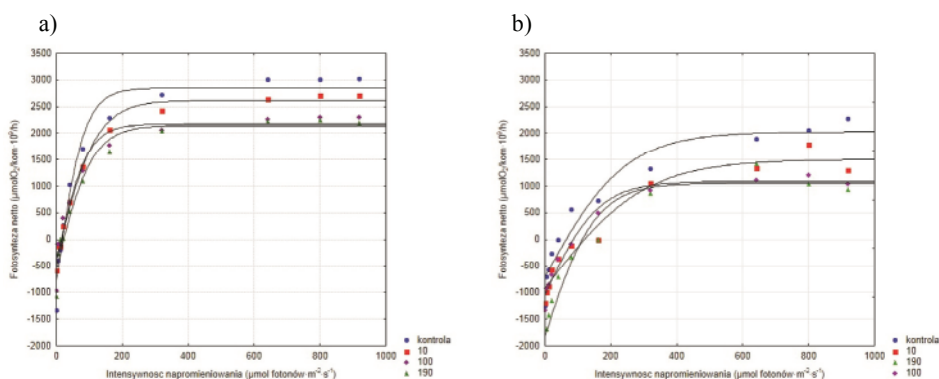
Rys. 1. Liczebność (% kontroli) *N. spumigena* uzyskana w doświadczeniach z: a) pojedynczym, b) wielokrotnym dodaniem przesączu otrzymanego z kultur *Synechococcus* sp. przetrzymywanych w różnych warunkach intensywności napromieniowania (10, 100 i 190  $\mu\text{mol fotonów}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), c) w hodowlach łączonych [opracowanie własne]

Dla *N. spumigena* zbadano również odpowiedź (% w stosunku do kontroli) uzyskaną dla parametrów, charakteryzującą maksymalną wydajność kwantową PSII – Fv/Fm i rzeczywistą wydajność PSII na świetle –  $\Phi\text{PS II}$ , w doświadczeniach z dodatkiem pojedynczego i wielokrotnego przesączu uzyskanego z kultur *Synechococcus* sp. hodowanych w różnych warunkach intensywności napromieniowania (rys. 2). Przeprowadzone doświadczenia dla pojedynczego dodania przesączu wykazały, że najmniejsza odpowiedź badanych parametrów fluorescencji wystąpiła 7. dnia ekspozycji od dodania przesączu uzyskanego z hodowli sinic i wyniosła około 80% dla Fv/Fm i 85% dla  $\Phi\text{PS II}$  w stosunku do kontroli (100%). Z kolei w badaniach, w których analizowano wielokrotnie dodany przesącz, stwierdzono, że dla testowanych *N. spumigena* największe zahamowanie wartości parametrów fluorescencji zaobserwowano 3. dnia eksperymentu, w świetle wynoszącym 190  $\mu\text{mol fotonów}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  i dla parametrów Fv/Fm i  $\Phi\text{PS II}$  odpowiedź wynosiła około 50% w stosunku do ich kontroli.



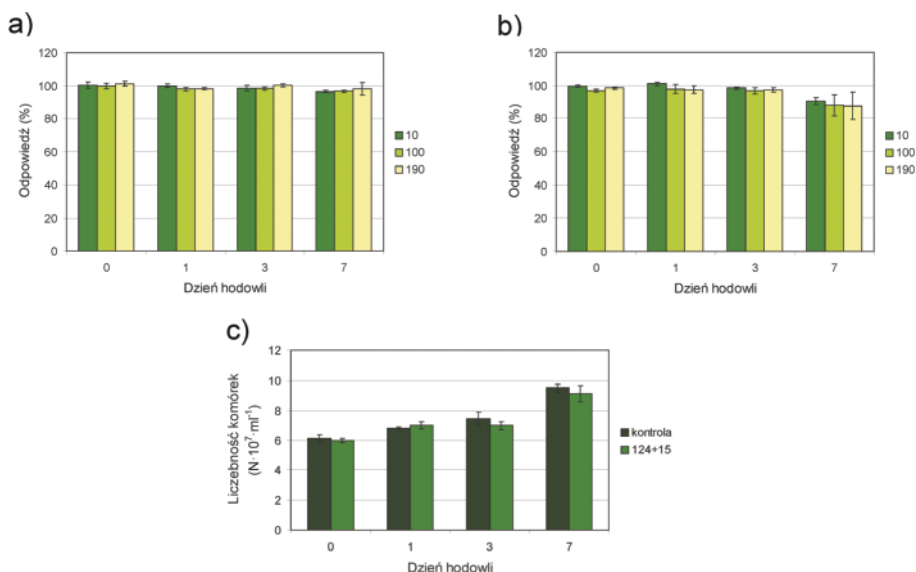
Rys. 2. Odpowiedź parametrów: a) i c)  $F_v/F_m$  oraz b) i d)  $\Phi\text{PSII}$  (%) w stosunku do kontroli dla *N. spumigena* uzyskana w doświadczeniach z: a) i b) jednokrotnym oraz c) i d) wielokrotnym dodaniem przesączu otrzymanego z kultur *Synechococcus* sp. hodowanych w różnych warunkach intensywności napromieniowania (10, 100 i 190  $\mu\text{mol fotonów}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) [opracowanie własne]

Siódmego dnia eksperymentu wykonano również pomiary krzywych świetlnych fotosyntezy (P-E) dla analizowanych sinic w kontroli i dla doświadczeń z pojedynczym i wielokrotnym dodaniem przesączu uzyskanego z kultur *Synechococcus* sp. hodowanych w warunkach intensywności napromieniowania wynoszących 10, 100, 190  $\mu\text{mol fotonów}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (rys. 3). Wraz ze wzrostem intensywności napromieniowania, w której hodowano *Synechococcus* sp., zaobserwowano spadek fotosyntezy maksymalnej  $P_m$  u badanej *N. spumigena*; dla pojedynczego i wielokrotnego dodania przesączu wynosił odpowiednio około 66,6% i 50% w stosunku do kontroli (100%).



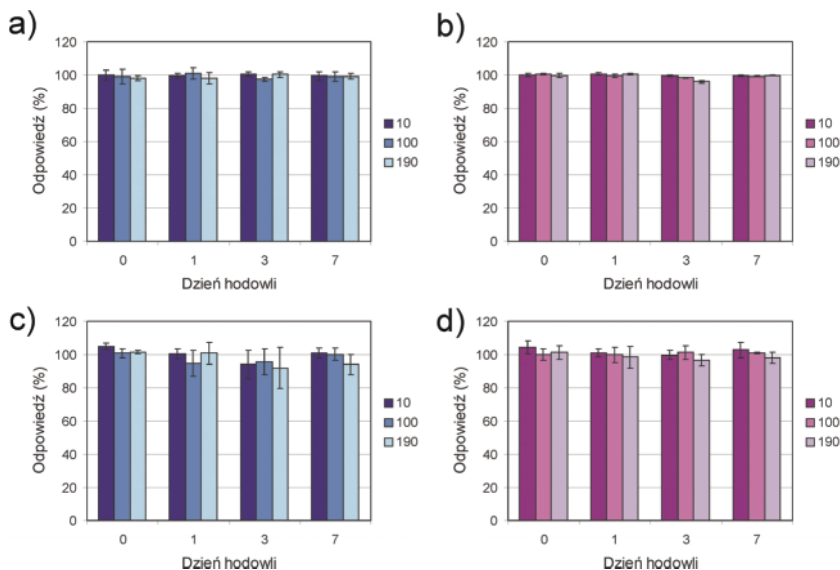
Rys. 3. Krzywe świetlne fotosyntezy (P-E) dla *N. spumigena* uzyskane 7. dnia hodowli dla kontroli i doświadczeń z dodatkiem a) pojedynczego i b) wielokrotnego przesączu otrzymanego z kultur *Synechococcus* sp. hodowanych w różnych warunkach intensywności napromieniowania (10, 100 i 190  $\mu\text{mol fotonów}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) [opracowanie własne]

W przeprowadzonych badaniach określono również oddziaływanie allelopatyczne na pikoplanktonową sinicę *Synechococcus* sp. w doświadczeniach z pojedynczym i wielokrotnym dodaniem przesączu komórkowego uzyskanego z hodowli sinicy *N. spumigena* oraz w hodowlach mieszanych, przetrzymywanych w stałych warunkach intensywności napromieniowania wynoszących  $10 \mu\text{mol fotonów}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ . W pracy wykazano, że pojedyncze dodanie przesączu nie miało wpływu na liczebność komórek *Synechococcus* sp., a odpowiedź sinicy w każdym wariancie doświadczenia wynosiła około 100% (rys. 4). Jedynie w eksperymentach z wielokrotnym dodawaniem przesączu uzyskanym z kultur *N. spumigena* hodowanych w  $190 \mu\text{mol fotonów}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  wykazano nieznaczny hamujący wpływ na liczebność komórek *Synechococcus* sp., który 7 dnia ekspozycji wyniósł około 90% w stosunku do kontroli (100%). Dodatkowo w przeprowadzonych badaniach z wykorzystaniem kultur mieszanych wykazano, że sinica *N. spumigena* powodowała nieznaczny spadek wzrostu u *Synechococcus* sp., lecz był on nieistotny statystycznie ( $P < 0,05$ ).



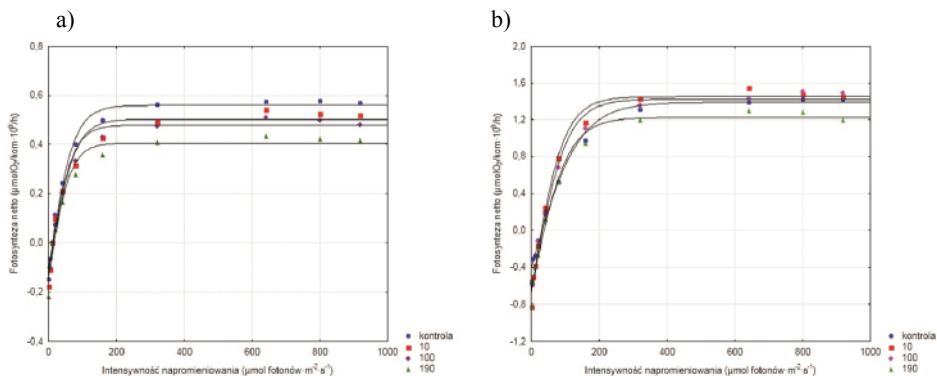
Rys. 4. Liczebność (% kontroli) *Synechococcus* sp. uzyskana w doświadczeniach z: a) pojedynczym, b) wielokrotnym dodaniem przesączu otrzymanego z kultur *N. spumigena* przetrzymywanych w różnych warunkach intensywności napromieniowania (10, 100 i  $190 \mu\text{mol fotonów}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ), c) w hodowlach łączonych [opracowanie własne]

W pracy określono również odpowiedź (% w stosunku do kontroli) *Synechococcus* sp. uzyskaną dla parametrów Fv/Fm i  $\Phi\text{PS II}$ , w doświadczeniach z dodatkiem pojedynczego i wielokrotnego przesączu otrzymanego z kultur *N. spumigena* hodowanych w różnych warunkach intensywności napromieniowania ( $10$ – $190 \mu\text{mol fotonów}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) (rys. 5). Uzyskane wyniki wykazały, że pojedyncze i wielokrotne dodanie przesączu pozyskanego z hodowli *N. spumigena* przetrzymywanych w różnych warunkach intensywności napromieniowania nie wpływało na wartości parametrów fluorescencji u *Synechococcus* sp. We wszystkich dniach eksperymentu parametry fluorescencji Fv/Fm oraz  $\Phi\text{PS II}$  analizowanej sinicy wynosiły około 100% w stosunku do kontroli.



Rys. 5. Odpowiedź parametrów: a) i c)  $F_v/F_m$  oraz b) i d)  $\Phi PSII$  (% w stosunku do kontroli) dla *Synechococcus* sp. uzyskaną w doświadczeniach z: a) i b) jednokrotnym oraz c) i d) wielokrotnym dodaniem przesączu otrzymanego z kultur *N. spumigena* hodowanych w różnych warunkach intensywności napromieniowania (10, 100 i 190  $\mu\text{mol fotonów}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) [opracowanie własne]

W doświadczeniach wykonano również pomiary krzywych świetlnych fotosyntezy (P-E) dla analizowanej sinicy 7. dnia eksperymentu dla doświadczeń z dodaniem pojedynczego i wielokrotnego przesączu uzyskanego z kultur *N. spumigena* hodowanych w warunkach intensywności napromieniowania wynoszących 10-190  $\mu\text{mol fotonów}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  (rys. 6). Nie zaobserwowano wpływu przesączu uzyskanego z *N. spumigena* na przebieg tempa fotosyntezy i parametr  $P_m$  u *Synechococcus* sp., który wynosił około 100% w stosunku do kontroli.



Rys. 6. Krzywe świetlne fotosyntezy (P-E) dla *Synechococcus* sp. uzyskane 7. dnia hodowli dla kontroli i w doświadczeniach z dodatkiem: a) pojedynczego, b) wielokrotnego przesączu otrzymanego z kultur *N. spumigena* hodowanych w różnych warunkach intensywności napromieniowania (10, 100 i 190  $\mu\text{mol fotonów}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ) [opracowanie własne]

#### 4. DYSKUSJA

Dostępne źródła poruszają tematykę oddziaływania allelopatycznego na ograniczonej liczbie gatunków bałtyckiego fitoplanktonu. Przeprowadzone badania pozwoliły na określenie stopnia oddziaływania związków allelopatycznych produkowanych przez dominującą w okresie letnim nitkowatą sinicę *N. spumigena* oraz mniej poznaną, będącą jednak znaczącym komponentem środowiska bałtyckiego, pikoplanktonową sinicę z rodzaju *Synechococcus*. Wcześniejsze badania wykazały, że biomasa fotoautotroficznego pikoplanktonu może stanowić w morzach do 90%, w wodach słodkich do 43%, a w Bałtyku do 85% łącznej biomasy fitoplanktonu [Stal i in. 2003, Jodłowska, wyniki niepublikowane]. Dlatego uzyskane wyniki stanowią istotny wkład w stan wiedzy na temat zjawiska allelopatii u bałtyckich sinic, które nie były wcześniej badane ze względu na oddziaływanie allelopatyczne, a które powszechnie znane są z odgrywania znaczącej roli w bałtyckim fitoplanktonie. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że bałtyckie pikoplanktonowe sinice *Synechococcus* sp. wykazują oddziaływania allelopatyczne na nitkowatą sinicę *N. spumigena*. Wykazano natomiast, że *N. spumigena* nie miała wpływu allelopatycznego na *Synechococcus* sp. Jedynie niewielki spadek wzrostu pikoplanktonowej sinicy zaobserwowano 7. dnia eksperymentu pod wpływem wielokrotnego dodania przesączu uzyskanego z kultur *N. spumigena* przetrzymywanych w najwyższym zadanym świetle. W doświadczeniach zauważono, że efekt allelopatyczny *Synechococcus* sp. zależny jest od dostępności natężenia światła, ilości dodawanego przesączu uzyskanego z hodowli sinic oraz czasu ekspozycji organizmów na zadane związki allelopatyczne. W badaniach nitkowate sinice *N. spumigena* wykazywały największy spadek wzrostu, fluorescencji chlorofilu *a* i tempa wymiany gazowej pod wpływem wielokrotnego dodawania przesączu uzyskanego z hodowli pikoplanktonowych sinic przetrzymywanych w najwyższym zadanym świetle wynoszącym  $190 \mu\text{mol fotonów} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ . Dodatkowo dostrzeżono wzmożony efekt allelopatyczny hamujący wzrost *N. spumigena*, kiedy sinice przetrzymywane były w hodowlach mieszanych wraz z *Synechococcus* sp. W kilku pracach stwierdzono, że światło, temperatura, pH i niedobory związków pokarmowych mogą wpływać na produkowanie i wydzielanie związków allelopatycznych [Gross 2003, Antunes i in. 2012]. Antunes i in. [2012] wykazali, że wydzielanie związków allelopatycznych przez sinice *Cylindrospermopsis raciborskii* było zależne od światła i temperatury. Najwyższe zadane światło ( $90 \mu\text{mol photons} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ) powodowało znaczący spadek wzrostu *Acestrorhynchus falcatus*. Autorzy zaobserwowali również, że oprócz wysokiego światła i temperatury, na aktywność allelopatyczną wpływają także niedobory fosforu, w której przetrzymywano *C. raciborskii*. Zaproponowano, że wzrost aktywności allelopatycznej może wyjaśniać ekologiczną dominację *C. raciborskii* w Odivelas w południowej Portugalii.

Obecnie pojawia się coraz więcej doniesień na temat oddziaływań allelopatycznych, lecz nie ma standardowej metody pozwalającej na uchwycenie tego zjawiska. *Cross-culturing* jest często stosowaną metodą badań oddziaływania allelopatycznego pomiędzy dwoma różnymi gatunkami fitoplanktonu [Granéli i Johansson 2003a, b, Suikkanen i in. 2004, Żak i in. 2012]. Dzięki tej metodzie badane gatunki rosną na pożywce wzbogaconej o przesącz uzyskany z hodowli innego gatunku, w celu zbadania ewentualnego efektu związków allelopatycznych uwalnianych do pożywki [Legrand i in. 2003]. Istnieje również druga metoda, mniej rozpowszechniona i trudniejsza do przeprowadzenia, polegająca na badaniu interakcji pomiędzy organizmami znajdującymi się we wspólnej hodowli. Mechanizm i sposób działania związków allelopatycznych



również nie został dokładnie zbadany, lecz uważa się, że mogą one wpływać na zahamowanie wzrostu i funkcji fizjologicznych lub powodować lizę badanych komórek. Zakres występowania zjawiska allelopatii pomiędzy dominującymi w okresie letnim bałtyckimi szczepami sinic został określony w wyniku analizy zmian liczebności komórek w hodowlach, fluorescencji chlorofilu *a* i przebiegu tempa wymiany gazowej. Dodatkowo w pracy został porównano efekt pojedynczego i wielokrotnego dodania przesączu komórkowego uzyskanego z hodowli sinic oraz określono liczebność komórek sinic w kulturach mieszanych.

W niektórych publikacjach wskazuje się, że związki allelopatyczne mogą wpływać na proces fotosyntezy organizmów targetowych. Smith i Doan [1999] zbadali, że kilka bioaktywnych składników sinic bezpośrednio wpływało na przebieg fotosyntezy organizmów targetowych. Sukenik i in. [2002] opisali możliwy nowy mechanizm działania związków allelopatycznych produkowanych przez sinice. Autorzy wykazali, że sinice *Microcystis* sp. hamowały fotosyntezę słodkowodnych bruzdnic *Peridinium gatunense* przez wpływanie na aktywność anhidrazy węglanowej. Zdaniem niektórych badaczy sinice miały negatywny wpływ na zielenice [Schlegel i in. 1998, Schagerl i in. 2002, Gantar i in. 2008]. Schlegel i in. [1998] odkryli prawie dwieście szczepów sinic, należących głównie do *Fischerella*, *Nostoc* i *Calothrix*, które wydzielają bioaktywne składniki wpływające na zielenice. Kilka lat później Schagerl i in. [2002] opisali hamujący efekt *Anabaena torulosa* przeciwko *Scenedesmus acutus*, *Anabaena cylindrica* i *Pandorina morum*. Dodatkowo autorzy wykazali, że *Nostoc muscorum* hamował *Scenedesmus acutus* i *P. morum*. Gantar i in. [2008] zanotowali, że ekstrakt pochodzący z *Fischerella* sp. hamował zielenicę *Chlorella* sp. Zaobserwowano również stymulujący efekt zielenicy *Chlamydomonas reinhardtii* na sinicę *Anabaena flos-aquae* [Kearns i Hunter 2000]. Żak i in. [2012] z kolei stwierdzili, że bałtyckie sinice *N. spumigena* wykazywały zarówno hamujący, jak i stymulujący efekt na *C. vulgaris* w zależności od fazy wzrostu analizowanych sinic oraz gęstości początkowej organizmów targetowych. Zastępowali, że różna odpowiedź zielenicy na przesącz komórkowy uzyskany z hodowli sinic mogła być spowodowana różną koncentracją związków allelopatycznych wydzielanych do pożywki.

## 5. WNIOSKI

Oddziaływania allelopatyczne, które wykazują gatunki tworzące fitoplankton, mogą stanowić jeden z kluczowych czynników, które wpływają na sezonową zmienność i dominację różnych taksonów, w tym budujących masowe zakwity zarówno w słodkowodnych, brakicznych, jak i morskich ekosystemach na całym świecie. Gatunki tworzące takie zakwity są dziś poważnym problemem zarówno ekologicznym, jak i ekonomicznym, a dodatkowo niektóre gatunki sinic i mikroglonów zdolne są do produkowania i uwalniania wtórnych metabolitów, które mogą być toksyczne dla mikroorganizmów, fito- i zooplanktonu, skorupiaków, ryb, a nawet człowieka. Poznanie mechanizmów i konsekwencji oddziaływania allelopatycznego mikroglonów i sinic jest zatem bardzo ważne. Uzyskane wyniki zachęcają do wykonania dalszych badań nad oddziaływaniem allelopatycznym, ponieważ mogą się przyczynić do lepszego zrozumienia zjawiska pojawiania się masowych zakwitów sinic w Morzu Bałtyckim, szczególnie w okresie letnim.



### Podziękowania

Praca powstała w trakcie realizacji grantu NCN PRELUDIUM 5, numer: 2013/09/N/ST10/01929.

### LITERATURA

Antunes J.T., Leão P.N., Vasconcelos V.M., 2012. Influence of Biotic and Abiotic Factors on the Allelopathic Activity of the Cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii* Strain LEGE 99043. *Microbiol. Ecol.* 64, 584-592.

Błaszczak A., Toruńska A., Kobos J., Browarczyk-Matusiak G., Mazur-Marzec H., 2010. Ekologia toksycznych sinic. *Kosmos* 59, 173-198.

Campbell D., Hurry V., Clarke A.K., Gustafsson P., Öquist G., 1998. Chlorophyll fluorescence analysis of cyanobacterial photosynthesis and acclimation. *Microbiol. Molec. Biol. Rev.* 62(3), 667-683.

Gantar M., Berry J.P., Thomas S., Wang M., Perez R., Rein K.S., 2008. Allelopathic activity among Cyanobacteria and microalgae isolated from Florida freshwater habitats. *FEMS Microbiol. Ecol.* 64(1), 55-64.

Granéli E., Hansen P.J., 2006. Allelopathy in harmful algae: a mechanism to compete for resources? [In:] *Ecology of Harmful Algae*, E. Granéli, J.T. Turner (eds.), *Ecological Studies* 189, Springer-Verlag Berlin Heidelberg Germany, 189-201.

Granéli E., Johansson N., 2003a. Effects of the toxic haptophyte *Prymnesium parvum* on the survival and feeding of a ciliate: the influence of different nutrient conditions. *Marine Ecol. Progress Series* 254, 49-56.

Granéli E., Johansson N., 2003b. Increase in the production of allelopathic substances by *Prymnesium parvum* cells grown under N- or P-deficient conditions. *Harmful Algae* 2, 135-145.

Gross E.M., 2003. Allelopathy of Aquatic Autotrophs. *Critical Rev. Plant Sci.* 22, 313-339.

Guillard R.R.L., 1975. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. [In:] *Culture of Marine Invertebrate Animals*, W.L. Smith, M.H. Chanley (eds.), Plenum Press New York USA, 26-60.

Jassby A.D., Platt T., 1976. Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton. *Limnology and Oceanography* 21, 540-547.

Kearns K.D., Hunter M.D., 2000. Green algal extracellular products regulate antialgal toxin production in a cyanobacterium. *Environmental Microbiol.* 2, 291-297.

Latała A., 2003. Autecological characteristic of some algal strains from Culture Collection of Baltic Algae (CCBA). [In:] *Biological Resource Centers and the Use of Microbes*, N. Lima, D. Smith (eds.), Micoteca da Universidade do Minho Braga Portugal, 323-345.

Latała A., Jodłowska S., Pniewski F., 2006. Culture Collection of Baltic Algae (CCBA) and characteristic of some strains by factorial experiment approach. *Archiv für Hydrobiol.* 165, *Algological Studies* 122, 137-154.

- Legrand C., Rengefors K., Fistarol G.O., Granéli E., 2003. Allelopathy in phytoplankton – biochemical, ecological and evolutionary aspects. *Phycol.* 42(4), 406-419.
- Prince E.K., Myers T.L., Naar J., Kubanek J., 2008. Competing phytoplankton undermines allelopathy of a bloom-forming dinoflagellate. *Proceedings of Royal Society B* 275, 2733-2741.
- Schagerl M., Unterrieder I., Angeler D.G., 2002. Allelopathy among Cyanoprokaryota and Other Algae Originating from Lake Neusiedlersee (Austria). *Int. Rev. Hydrobiol.* 87(4), 365-374.
- Schlegel I., Doan N.T., de Chazal N., Smith G.D., 1998. Antibiotic activity of cyanobacterial isolates from Australia and Asia against green algae and cyanobacteria. *J. Appl. Phycol.* 10, 471-479.
- Smith G., Doan D., 1999. Cyanobacterial metabolites with bioactivity against photosynthesis in cyanobacteria, algae and higher plants. *J. Appl. Phycol.* 11, 337-344.
- Stal L.J., Albertano P., Bergman B., Bröckel K., Gallon J.R., Hayes P.K., Sivonen K., Walsby A.E., 2003. BASIC: Baltic Sea cyanobacteria. An investigation of the structure and dynamics of water blooms of cyanobacteria in the Baltic Sea – responses to a changing environment. *Continental Shelf Res.* 23, 1695-1714.
- Suikkanen S., Fistarol G.O., Granéli E., 2004. Allelopathic effects of the Baltic cyanobacteria *Nodularia spumigena*, *Aphanizomenon flos-aquae* and *Anabaena lemmermannii* on algal monocultures. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 308, 85-101.
- Suikkanen S., Fistarol G.O., Granéli E., 2005. Effects of cyanobacterial allelochemicals on a natural plankton community. *Marine Ecol. Progress* 287, 1-9.
- Sukenik A., Eskhol R., Livne A., Hadas O., Rom M., Tchernov D., Vardi A., Kaplan A., 2002. Inhibition of growth and photosynthesis of the dinoflagellate *Peridinium gatunense* by *Microcystis* sp. (cyanobacteria): a novel Allelopathic mechanism. *Limnology and Oceanography* 47(6), 1656-1663.
- Žak A., Musiewicz M., Kosakowska A., 2012. Allelopathic activity of the Baltic cyanobacteria against microalgae. *Estuarine, Coastal and Shelf Sci.* 112, 4-10.



# EFEKTYWNOŚĆ WYBRANYCH SUBSTRATÓW W PRODUKCJI BIOGAZU ROLNICZEGO

Paulina Topolińska<sup>1</sup>, Joanna Marć-Pieńkowska, Katarzyna Mitura

## 1. WSTĘP

W kontekście dążenia do intensywniejszego wykorzystania odnawialnych źródeł energii, mającego na celu ograniczenie redukcji emisji energetycznych gazów cieplarnianych, w ostatnich latach coraz większe znaczenie zaczyna odgrywać odzyskiwanie i wykorzystywanie biogazu rolniczego. Produkcja biogazu postrzegana jest jako jedno z istotniejszych źródeł energii odnawialnej, które dodatkowo dostarcza korzyści środowiskowych i może zwiększyć dochody rolników [Oslaj i in. 2010]. Rozwój biogazowni rolniczych w warunkach Polski został zarysowany w dokumencie „Kierunki rozwoju biogazowni rolniczych w Polsce w latach 2010-2020” [Ministerstwo Gospodarki 2010]. W rolnictwie polskim stosunkowo łatwo można znaleźć produkty (pochodzące z zamierzonej działalności lub będące pozostałościami po produkcji rolniczej lub leśnej), które mogą być wykorzystane jako odnawialne źródła energii w szczególności do produkcji biogazu [Myczko i Kołodziejczyk 2011]. Biogaz składa się z mieszaniny różnych gazów, wśród których głównymi komponentami są metan ( $\text{CH}_4$ ) i dwutlenek węgla ( $\text{CO}_2$ ). W skład biogazu wchodzi również azot (N) oraz śladowe ilości siarkowodoru ( $\text{H}_2\text{S}$ ) i amoniaku ( $\text{NH}_3$ ) [Węglarzy i Podkówka 2010]. Z punktu widzenia użytkownika instalacji biogazowej w pierwszym rzędzie powinien liczyć się procentowy udział metanu w całej mieszaninie gazów, ponieważ z niego powstaje cała odzyskiwana energia. Do produkcji biogazu można wykorzystać biomasę z różnych źródeł (ścieki, odpady komunalne, gnojowicę, obornik, odpady zwierzęce i roślinne itp.) lub pochodzącą z celowo zakładanych upraw polowych. Podstawowym kryterium doboru roślin jest wydajność suchej masy z jednostki powierzchni, zawartość łatwo fermentujących składników oraz łatwość magazynowania po zbiorze. Poszczególne substraty cechują się zróżnicowanym składem chemicznym i wydajnością biogazu [Myczko i Kołodziejczyk 2011].

W pracy porównano wybrane substraty pod względem wydajności w produkcji biogazu na podstawie danych literaturowych.

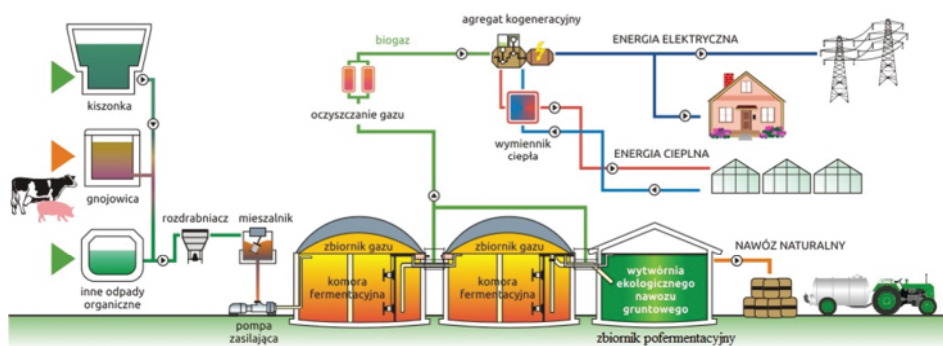
## 2. SUBSTRATY DO PRODUKCJI BIOGAZU ROLNICZEGO

Substratem określić można substancję biorącą udział w reakcji chemicznej, w wyniku której powstają produkty o odmiennych właściwościach. Surowcem, który ulegając biologicznemu rozkładowi beztlenowemu, generuje powstawanie biogazu, jest materiał organiczny. Główne składniki elementarne biomasy to węgiel (C), tlen (O), wodór (H) i azot (N), na które przypada od 87 do 97% suchej masy. Praktycznie do produkcji biogazu można wykorzystać biomasę różnego pochodzenia [Podkówka i Podkówka 2010]. Biogazownie rolnicze, oparte na procesie fermentacji metanowej,

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Katedra Żywienia Zwierząt i Gospodarki Paszowej, ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz, e-mail: topolinskap@wp.pl

występujące coraz powszechniej na całym świecie, wykorzystują biomasę pochodzącą z celowych plantacji roślin energetycznych oraz produkty uboczne i odpady pochodzenia roślinnego i zwierzęcego. System produkcji biogazu NaWaRo (Nachwachsende Rohstoffe), wdrażany w Niemczech, wykorzystuje głównie kiszonki z roślin (kukurydzy, traw, buraków itp.), zaś inne substraty, jak gnojowica, ziarno zbóż czy odpady z rolnictwa, wykorzystywane są w zależności od konkretnych uwarunkowań gospodarstwa [Kowalczyk-Juśko 2008]. Dla użytkownika biogazowni najważniejsza jest procentowa zawartość metanu w pozyskiwanym biogazie, która w sprawnych instalacjach może wahać się w granicach od 45 do 75%, a w skrajnych przypadkach – przy zbilansowanej mieszance, bardzo wysokim hydraulicznym czasie retencji (HRT) i wolnym odpływie biogazu – może wynosić nawet 90%. Ilość gazu, jaką można wyprodukować w instalacji biogazowej, zależy zasadniczo od jakości i rodzaju podawanych podłoży [Myczek i Kołodziejczyk 2011]. Biogazownia rolnicza składa się z komory (lub komór) fermentacyjnej, zbiornika pofermentacyjnego (w postaci komory, laguny itp.) oraz modułu kogeneracyjnego (rys. 1).



Rys. 1. Schemat biogazowni rolniczej [http://bio-power.pl/]

Kosubstraty, zgromadzone uprzednio w zbiornikach wstępnych (np. gnojowica), oraz kiszonki stają się po rozdrobnieniu i homogenizacji wsadem energetycznym dla instalacji. W komorze fermentacyjnej muszą być utrzymywane właściwe warunki biologiczne, zapewniające efektywną produkcję biogazu. Parametry te wynikają z proporcji i stężeń poszczególnych kosubstratów (np. kiszonek, gnojowicy). Ich dobór wynika z analizy fizykochemicznej oraz wstępnej symulacji procesu w warunkach laboratoryjnych. Konfiguracja instalacji zapewnia optymalizację procesu nawet przy zmianach proporcji udziałowych kosubstratów lub zmianach ich rodzaju. Udział poszczególnych substratów zależy od stężenia suchej masy w fermentorze. Utrzymanie właściwego stężenia wsadu w przestrzeni fermentora zapewniają systemy mieszania, zapobiegające wystąpieniu stref przeciążenia ładunkiem organicznym [Cebula 2009].

### 3. ZASADY DOBORU SUBSTRATÓW

Klasyczne technologie oparte na obróbce prostych substratów są stabilne i nie wykazują wahań parametrów procesu. Zaobserwować jednak można ciągły wzrost zainteresowania technologiami zbiogazowywania substratów pochodzenia rolniczego łączonych z odpadami przemysłu spożywczego, które w wielu przypadkach wymagają

stosowania szczegółowych analiz biogazodochodowości, gdyż niestabilny skład i parametry fizykochemiczne muszą być dostosowane do wymogów technologii. Reguły stosowane przy komponowaniu mieszaniny fermentacyjnej z dostępnych substratów to [Kaltschmitt i Hartmann 2001] :

- właściwe dobranie substratów do możliwości technologicznych instalacji,
- właściwe populacje mikroorganizmów w komorach fermentacyjnych,
- stabilne warunki biologiczne, fizyczne i chemiczne w środowisku reakcji,
- stabilna jakość mieszaniny fermentacyjnej,
- stały nadzór nad parametrami strategicznymi.

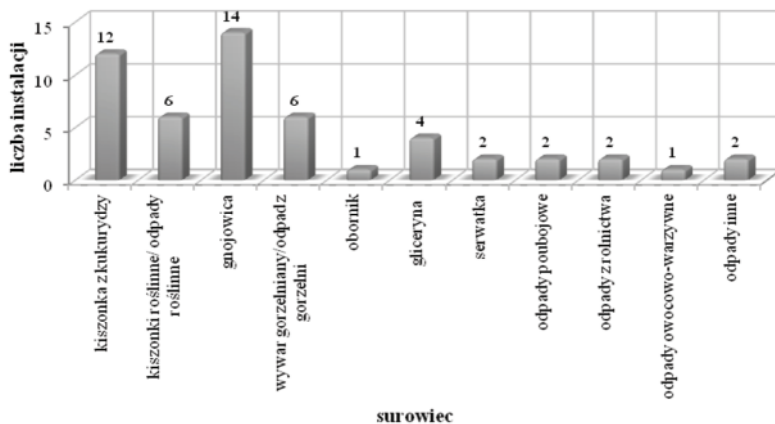
Wyboru substratów dokonuje się wg zasad: im prostsze wyposażenie techniczne instalacji biogazowej, tym prostsze substraty; im mniejsze zaangażowanie w obsługę biogazowni, tym mniej składników w mieszaninie fermentacyjnej. Przydatność poszczególnych surowców do produkcji biogazu jest zróżnicowana, co wynika z różnic w składzie chemicznym. Komponowanie mieszaniny fermentacyjnej wymaga szczegółowej wiedzy o każdym substracie i interakcjach między nimi. Opiera się na kalkulacjach parametrów ważnych dla prawidłowego obciążenia ładunkiem materii organicznej, jak również bilansowaniu chemicznych parametrów procesu, które mogą zmieniać się w każdej kolejnej porcji dokarmiającej fermentator [Węglarzy i Podkówa 2010]. Każda mieszanina powinna spełniać podstawowe warunki:

- zawartość suchej masy w mieszaninie fermentacyjnej 12-15% w przypadku fermentacji mokrej, natomiast dla fermentacji suchej – 16-40%,
- odczyn pH mieszaniny fermentacyjnej w zakresie 4,5-6,3 dla fazy hydrolizy i acidogenezy oraz 6,8-7,5 dla fazy metanogenezy,
- stabilna pojemność buforów,
- bilans składników pokarmowych C:N:P:S w proporcji 600:15:5:1,
- obecność cząsteczek adhezyjnych pozwalających tworzyć się skupiskom i koloniom bakterii,
- skład mieszaniny nie powinien generować i kumulować inhibitorów.

Substraty trudne, obciążone dużą zawartością tłuszczu czy potencjalnie inhibicyjne, wymagają zastosowanych przemysłowo kontrolowanych technologii. Substraty o zmiennych parametrach czy o ciągle zmieniającym się składzie, np. frakcja organiczna z wysypisk śmieci czy przefermentowana żywność, mogą być wartościowymi składnikami mieszaniny tylko w instalacjach podlegających stałemu nadzorowi biotechnologicznemu [Kowalczyk-Juśko 2009].

#### **4. WYDAJNOŚĆ WYBRANYCH SUBSTRATÓW W PRODUKCJI BIOGAZU ROLNICZEGO**

Na terenie Polski funkcjonują 24 biogazownie kwalifikowane jako biogazownie rolnicze (22 instalacje, w tym 1 instalacja przydomowa), rolniczo-utylicacyjne (1 instalacja) oraz utylizacyjne (1 instalacja), które zlokalizowane są zasadniczo na obszarze województw: wielkopolskiego, pomorskiego i zachodnio-pomorskiego. Z danych wynika, iż surowce, które są w nich wykorzystywane, to kiszonki z kukurydzy, kiszonka z sorgo oraz innych roślin, gnojowica, wywar gorzelniany/odpad z gorzelnii, obornik, odpady owocowo-warzywne, serwatka, gliceryna, odpady poubojowe, odpady z rolnictwa oraz odpady inne (rys. 2).



Rys. 2. Zestawienie surowców wykorzystywanych w funkcjonujących polskich biogazowniach [<http://www.portalbiogazowy.pl>]

Biogazownie rolnicze wykorzystują w procesie fermentacji beztlenowej substraty pochodzące z celowych plantacji (jak kukurydza, burak, rośliny motylkowe, trawy) oraz odpady i produkty uboczne powstające w rolnictwie i przemyśle rolno-spożywczym. W tabeli 1 przedstawiono dane dotyczące wydajności wybranych substratów w produkcji biogazu rolniczego.

Podstawowym substratem wykorzystywanym obecnie w biogazowniach rolniczych jest gnojowica. Ze względu na niskie stężenie substancji organicznych w gnojowicy uzasadnione jest uzupełnianie wsadu różnymi substratami organicznymi, dostępnymi na lokalnym rynku. Zastosowanie kosubstratów umożliwia właściwe obciążenie komory fermentacyjnej, optymalizuje kinetykę procesu fermentacji metanowej poprzez lepszą konfigurację proporcji węgla do azotu, podnosząc jej efektywność i opłacalność ekonomiczną. Zaletą stosowania gnojowicy w kofermentacji oprócz utylizacji uciążliwego odpadu jest możliwość produkcji biogazu i ekologicznego nawozu [Weiland 2000]. Uzysk biogazu z gnojowicy bydła z rezultatem od 200 do 500  $\text{Ndm}^3 \cdot \text{kgsmo}^{-1}$  jest nieco niższy niż w przypadku uzysku z gnojowicy świń 300-700  $\text{Ndm}^3 \cdot \text{kgsmo}^{-1}$  (tab. 1). Dodatkowo gaz z gnojowicy bydła w porównaniu z gazem z gnojowicy świń ma wyraźnie mniejszą średnią zawartość metanu, odpowiednio: 50-55% i 50-70% (tab. 1). Jest to spowodowane tym, że żołądek krowy pracuje na podobnej zasadzie co instalacja biogazowa, a więc gnojowica zostaje wstępnie przefermentowana. Wydajność biogazu z gnojowicy owczej kształtuje się na poziomie 180-320  $\text{Ndm}^3 \cdot \text{kgsmo}^{-1}$  i jest stosunkowo niska w porównaniu z uzyskiem biogazu z gnojowicy bydła czy świń. Zawartość procentowa biogazu z gnojowicy owczej jest natomiast porównywalna z gnojowicą bydlęcą i wynosi od 50 do 56% (tab. 1) [Schattauer i Weiland 2005].

Gnojowica bydła i świń ze względu na relatywnie niską zawartość suchej masy dobrze łączy się z innymi podłożami, tzw. kosubstratami (tab. 1) [Romaniuk 2004].



Tabela 1. Wydajność wybranych substratów w produkcji biogazu rolniczego [Myczko i Kołodziejczyk 2011]

| Substrat                                               | Sucha masa<br>sm % śm | Sucha masa<br>organiczna<br>smo % sm | Wydajność<br>biogazu<br>$\text{Ndm}^3 \cdot \text{kgśm}^{-1}$ | Wydajność<br>biogazu<br>$\text{Ndm}^3 \cdot \text{kgsmo}^{-1}$ | % udział<br>metanu | HRT<br>dni |
|--------------------------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|--------------------|------------|
| Nawozy naturalne – pozostałości po produkcji rolniczej |                       |                                      |                                                               |                                                                |                    |            |
| Gnojowica krów                                         | 8-11                  | 75-82                                | 20-30                                                         | 200-500                                                        | 50-55              | 10-15      |
| Gnojowica cieląt                                       | 10-13                 | 80-84                                | 20-25                                                         | 220-560                                                        | 50-57              | 15-20      |
| Gnojowica świń                                         | 4-7                   | 75-87                                | 20-35                                                         | 300-700                                                        | 50-70              | 10-20      |
| Gnojowica owcza                                        | 12-16                 | 80-85                                | 18-30                                                         | 180-320                                                        | 50-56              | 15-20      |
| Obornik krów                                           | 20-26                 | 68-78                                | 40-55                                                         | 210-300                                                        | 55-60              | 25-40      |
| Obornik świń                                           | 20-25                 | 75-80                                | 55-65                                                         | 270-450                                                        | 55-60              | 25-40      |
| Obornik kur                                            | 60-80                 | 70-85                                | 80-140                                                        | 260-400                                                        | 55-65              | 30-50      |
| Pomiot suchy                                           | 80-86                 | 65-70                                | 200-230                                                       | 230-385                                                        | 50-53              | 20-25      |
| Pomiot świeży                                          | 30-32                 | 63-80                                | 70-90                                                         | 240-450                                                        | 57-70              | 20-25      |
| Nieprzetworzone pozostałości po produkcji rolniczej    |                       |                                      |                                                               |                                                                |                    |            |
| Liście buraków<br>cukrowych                            | 19-22                 | 73-80                                | 10-32                                                         | 55-700                                                         | 48-50              | 15-20      |
| Łęty ziemniaków                                        | 22-26                 | 70-80                                | 80-120                                                        | 456-587                                                        | 52-56              | 25-60      |
| Nieprzetworzone uprawy celowe                          |                       |                                      |                                                               |                                                                |                    |            |
| Kiszonka z kukurydzy                                   | 20-36                 | 85-96                                | 170-200                                                       | 450-700                                                        | 50-57              | 25-60      |
| Kiszonka z żyta GPS                                    | 30-35                 | 92-98                                | 170-220                                                       | 550-680                                                        | 50-55              | 25-50      |
| Kiszonka z buraków<br>cukrowych                        | 19-22                 | 94-97                                | 145-180                                                       | 720-780                                                        | 46-52              | 20-40      |
| Kiszonka z sorgo                                       | 18-19                 | 90-95                                | 18-145                                                        | 520-590                                                        | 50-54              | 25-50      |

Inaczej jest w przypadku stałego nawozu organicznego, ponieważ ze względu na wysoką zawartość suchej masy musi on być z reguły rozcieńczony, aby umożliwić jego przepompowanie. Stały nawóz organiczny musi być ponadto jednorodny. W roli kosubstratów występują przede wszystkim podłoża o dużej zawartości wody lub energii, np. wywary gorzelniane, tłuszcze [Romaniuk 2004]. Uzysk biogazu z obornika krowiego, kształtujący się na poziomie  $210\text{--}300 \text{ Ndm}^3 \cdot \text{kgsmo}^{-1}$ , jest nieznacznie niższy niż w przypadku uzysku biogazu z obornika świńskiego:  $270\text{--}450 \text{ Ndm}^3 \cdot \text{kgsmo}^{-1}$  (tab. 1). Udział metanu zarówno w oborniku świńskim, jak i krowim jest taki sam i wynosi 55-60%. Nieznacznie wyższą zawartością metanu cechuje się obornik kurzy (55-65%). Dodatkową zaletą obornika krowiego i świńskiego jest niska zawartość suchej masy w porównaniu z obornikiem kurzym (tab. 1). Wydajność biogazu z obornika kurzego wynosi  $260\text{--}400 \text{ Ndm}^3 \cdot \text{kgsmo}^{-1}$ , podobnie jak w przypadku obornika bydłęcego czy świńskiego. Uzysk biogazu z pomiotu suchego, wynoszący od 230 do  $385 \text{ Ndm}^3 \cdot \text{kgsmo}^{-1}$ , jest nieco niższy niż w przypadku pomiotu świeżego:  $240\text{--}450 \text{ Ndm}^3 \cdot \text{kgsmo}^{-1}$  (tab. 1). Mankamentem nawozów organicznych jest wysoka zawartość suchej masy. W przypadku obornika kurzego wynosi 60-80%, podobnie w pomioście suchym: 80-86%. Zawartość suchej masy w pomioście świeżym jest natomiast znacznie niższa i kształtuje się na poziomie 30-32%, co jest zaletą w produkcji biogazu (tab. 1) [Schattauer i Weiland 2005].

Najczęściej stosowanym w biogazowniach surowcem roślinnym jest kiszonka z kukurydzy zbieranej w różnych fazach dojrzałości ziarna. Popularność ta wynika przede wszystkim z wysokiej wydajności biomasy tego gatunku i dużej plastyczności

ekologicznej. Kukurydza powinna być uprawiana w technologii kiszonkowej, a głównym kryterium doboru odmiany jest plon suchej masy z jednostki powierzchni oraz zawartość w nim cukru i skrobi. Optymalny termin zbioru na biogaz jest wówczas, gdy zawartość suchej masy w całej roślinie wynosi 20-36% (tab. 1). Przechowywanie kiszonki kukurydzy nie sprawia żadnych problemów, ponieważ można ją umieścić w silosie przejazdowym pod przykryciem z folii plastikowej. Po zakończeniu fazy kiszenia (trwającej od 4 do 6 tygodni) kiszonka nadaje się bezpośrednio do użytku w instalacji biogazowej [Myczko 2011].

Kukurydza jako surowiec odnawialny nadaje się do wykorzystania w instalacjach biogazowych zwłaszcza dzięki wysokiemu uzyskowi energii na hektar. Szczególnie w gospodarstwach hodowlanych bydła dotychczasowe zastosowanie kiszonki z kukurydzy jako paszy musi konkurować z wykorzystaniem jej do instalacji biogazowych. Chociaż istnieje możliwość jednoskładnikowego odfermentowania kiszonki kukurydzy, to jednak zaleca się odfermentowanie kiszonki jako kosubstratu z gnojowicą. Powoduje to stabilniejszy przebieg procesu, a podczas kofermentacji możliwe jest także uzyskanie wspólnych efektów, które mogą zwiększyć skuteczność rozkładu, a tym samym – uzysk metanu [Welinger i in. 1991]. Wydajność biogazu z kiszonki z kukurydzy wynosi  $450-700 \text{ Ndm}^3 \cdot \text{kgsmo}^{-1}$ . Wartość ta jest porównywalna z wydajnością kiszonki z żyta GPS:  $550-680 \text{ Ndm}^3 \cdot \text{kgsmo}^{-1}$  (tab. 1) [Schattauer i Weiland 2005].

Kiszonka z żyta GPS, czyli kiszonka z całych roślin zbożowych, jest jednym z najbardziej popularnych surowców do produkcji biogazu. Zawarta w ziarnie zbóż skrobia jest dobrze fermentowana przez bakterie metanowe. Udział metanu w kiszonce z żyta GPS wynosi 50-55% i jest porównywalny z uzyskiwanym z kiszonki z kukurydzy: 55-57% (tab. 1). Żyto ma niskie wymagania odnośnie jakości gleby i warunków klimatycznych i z tego powodu można je uprawiać w zimniejszym klimacie, na mniej żyznych obszarach. Ziarno zboża jest produktem łatwym do magazynowania i transportu. Żyto można zbierać tylko jeden raz w roku, a więc sezonowo, dlatego zakiszenie jest szczególnie uzasadnione – umożliwia utrzymanie podłoża o takich samych właściwościach przez cały rok. Po rozdrobnieniu ziarno dobrze miesza się z innymi składnikami, dając jednolity wsad do komory fermentacyjnej [Dörfler 1990].

Sorgo jest rośliną o cyklu przemiany węgla C4, która znakomicie znosi okresowe niedobory wody dzięki oszczędnej nią gospodarce, a także charakteryzuje się dużym potencjałem produkcyjnym. Sorgo można różnorodnie wykorzystywać, m.in. ma znaczny potencjał bioenergetyczny, więc stosuje się je do produkcji biopaliw stałych (granulatów) oraz biogazu. Roślina ta ze względu na wysoki plon (15-20 t sm z hektara), wilgotność w granicach 25-30%, a także łatwą uprawę, niskie koszty i dużą odporność może zyskać wysoką pozycję wśród roślin energetycznych [Grzesik 2005].

Rośliny zbierane na potrzeby energetyki zawodowej najczęściej pozostają na polu do czasu wysuszenia biomasy do wilgotności 18-22%, po czym zostają zbelowane prasą wysokiego zgniotu (tab. 1). Wysoka zawartość cukru w sorgo powoduje, że zakisza się łatwo. Uzysk biogazu z kiszonki z sorga wynosi  $520-590 \text{ Ndm}^3 \cdot \text{kgsmo}^{-1}$  i jest nieznacznie mniejszy od pozyskanego z kiszonki z ziaren żyta. Udział metanu w kiszonce wynosi natomiast ok. 50-54% (tab. 1) [Schattauer i Weiland 2005].

Burak cukrowy ze względu na zawartość cukru, który łatwo ulega fermentacji, jest wartościowym substratem do produkcji biogazu. W przeciwieństwie do żyta burak ma specjalne wymagania odnośnie gleby i warunków klimatycznych – potrzebuje łagodnego klimatu oraz gleby o dużej miąższości, bogatej w próchnicę [Strachota 2008]. Zbiory są różne w zależności od warunków glebowych i w przypadku buraka cukrowego wy-

noszą od 500 do 600 dt z hektara. Jest to masa o wysokiej koncentracji energii możliwej do przetworzenia w biogazowni. Niestety ze względu na wysoką zawartość wody buraki cukrowe bardzo szybko się psują. Sucha masa buraka cukrowego to w ok. 94% węglowodany ulegające bezpośredniemu i szybkiemu procesowi fermentacji. Kopcowanie okopowych umożliwia ich przechowywanie bez większych strat tylko do początku wiosny. Najbardziej wskazane jest konserwowanie buraków w formie kiszonki, wówczas okres składowania może trwać do następnych zbiorów. Można zakiszać całe korzenie buraków lub rozdrobnione korzenie i liście razem [Malec 2007]. Szczególnie korzystne jest zastosowanie kiszonki mieszanej, zwłaszcza w połączeniu z kukurydzą. Doświadczenia dowiodły, że kiszonka mieszana z udziałem do 50% buraków wykazuje synergizm w konwersji na biogaz, zapewniając wydajny i stabilny przebieg fermentacji. Problemem może być koordynacja pory zbioru obydwu substratów do kiszenia [Łepkowski 2008].

Wydajność biogazu z kiszonki z buraków cukrowych wynosi około 720-780  $\text{Ndm}^3 \cdot \text{kgsmo}^{-1}$  i w porównaniu z uzyskanymi z pozostałych kiszonek jest największa. Zawartość procentowa metanu w kiszonce z buraków cukrowych to ok. 46-52% (tab. 1) [Schattner i Gronauer 2000].

Z nieprzetworzonych pozostałości po produkcji rolniczej tylko niektóre mogą być wykorzystywane do produkcji kiszonki, a tym samym do produkcji biogazu. Szczególnie przydatne są liście buraków cukrowych o zawartości ok. 19-22% suchej masy (tab. 1). Zakiszane w rękawie foliowym są cennym substratem do produkcji biogazu. Występują w znacznej ilości jako pozostałość po zbiorze buraków i w związku z tym racjonalne ich wykorzystanie jest możliwe tylko w postaci kiszonej. Uzysk biogazu z kiszonki kształtuje się na poziomie 55-700  $\text{Ndm}^3 \cdot \text{kgsmo}^{-1}$  i jest bardzo zróżnicowany, natomiast udział metanu w substracie wynosi 48-50% (tab. 1) [Podkowska i Podkowska 2010].

W biogazowniach mogą być wykorzystywane łęty ziemniaczane, ponieważ stanowią dobrze fermentujące podłoże. Na pasze przeznaczana jest tylko niewielka ich część, dlatego należy poszukać alternatywnych możliwości ich zużycia. Zawartość suchej masy stanowi 22-26%. Wydajność biogazu z łętów ziemniaczanych wynosi ok. 456-587  $\text{Ndm}^3 \cdot \text{kgsmo}^{-1}$ , czyli jest mniejsza w porównaniu z wartością uzyskaną z liści buraka cukrowego. Procentowa zawartość metanu w surowcu plasuje się na poziomie 52-56%, więc podobnie jak w przypadku liści buraka cukrowego (tab. 1) [Schattner i Gronauer 2000].

## 5. PODSUMOWANIE

Biogaz to wytworzona z biomasy mieszanina gazów, wśród których dominuje palny metan, dzięki czemu może być on wykorzystywany jako odnawialne źródło energii. Do jego produkcji stosuje się różne surowce organiczne, w tym rośliny i odpady pochodzenia rolniczego. Od kilku lat zaobserwować można wzrost zainteresowania produkcją biogazu w Polsce. W tej sytuacji wskazane jest rozpoznanie innych, alternatywnych surowców, przeznaczanych do beztlenowej fermentacji [Weiland 2000]. Najbardziej dostępne, często wykorzystywane w biogazowniach rolniczych, są odchody zwierząt: obornik, gnojowica czy pomiot kurzy. Jednak produkcja biogazu z wykorzystaniem wyłącznie obornika i gnojowicy bez dodatku wysokowydajnych kosubstratów jest procesem nieefektywnym ze względów ekonomicznych. Z powodu niskiego stężenia substancji organicznych w gnojowicy uzasadnione jest uzupełnianie wsadu różnymi sub-

stratami (kosubstratami) organicznymi, dostępnymi na lokalnym rynku. Mogą to być odpady z produkcji roślinnej i zwierzęcej, przemysłu spożywczego, a także biomasa z celowych upraw [Cebula 2009]. Promowanie i rozwój odnawialnych źródeł energii (OZE) w Polsce jest zadaniem ważnym ze względu na możliwość realizacji podstawowych celów polityki energetycznej kraju. Wzrost wykorzystania OZE zwiększa szansę uniezależnienia się od dostaw energii z importu, jak też dywersyfikacji źródeł dostaw. Obecnie w Polsce funkcjonują 24 biogazownie rolnicze, rolniczo-utylizacyjne i utylizacyjne. Główne substraty, które są w nich wykorzystywane, to kiszonki z kukurydzy oraz innych roślin, a także gnojowica. Kluczowym zagadnieniem związanym z rozwojem sektora biogazowego staje się poszukiwanie nowych i doskonalszych technologii umożliwiających intensyfikację procesu produkcji biogazu, co jest możliwe m.in. przez odpowiednią kompozycję wsadów fermentacyjnych.

## LITERATURA

- Cebula J., 2009. Biogas purification by sorption techniques. *ACCE J.* 2, 95-103.
- Dörfler H., 1990. *Der praktische Landwirt* 4. BLV Verlagsgesellschaft München.
- Grzesik K., 2005. The use of biogas as an energy source. [W:] *Green currents in education, the Polish Society of Environmental Engineering*, Cracow.
- Kaltschmitt M., Hartmann H., 2001. *Energie aus Biomasse – Grundlagen, Techniken und Verfahren*. Springer Verlag Berlin – Heidelberg.
- Kowalczyk-Juśko A., 2008. The influence of substrates choosing for indexes of investment profitability of biogas production. *Rocz. Nauk. SERiA X(6)*, 6-12.
- Kowalczyk-Juśko A., 2009. Efficiency of biogas production from agricultural waste and food processing. *Lett. Sci., South-East, Branch PTIE and PTG* 11, 8-14.
- Łepkowski P., 2008. Cukier w przyrodzie 3. *Poradnik Plantatora Buraka Cukrowego* 4, 14-17.
- Malec J., 2007. Przechowywanie buraków cukrowych. *Poradnik Plantatora Buraka Cukrowego* 4, 37-38.
- Ministerstwo Gospodarki, 2010. *Kierunki rozwoju biogazowni rolniczych w Polsce w latach 2010-2020*. Warszawa.
- Myczko A., 2011. Selection of substrates for biogas plants. *Agricultural biogas plants – myths and facts*. FDPA Warszawa.
- Myczko R., Kołodziejczyk T., 2011. *Budowa i eksploatacja biogazowni rolniczych. Kategorie i zasady doboru substratów do instalacji*. Wyd. ITP w Falentach, Oddział w Poznaniu, 16-23.
- Oslaj M., Murec B., Vindis P., 2010. Biogas production from maize hybrids. *Biom. Bioen.* 34, 1538-1545.
- Podkówka Z., Podkówka W., 2010. *Substraty dla biogazowni rolniczych*. Agro Serwis Warszawa.
- Romaniuk W., 2004. *Ekologiczne systemy gospodarki obornikiem i gnojowicą*. IBMER Warszawa.

Schattauer A., Weiland P., 2005. Biogaz – produkcja i wykorzystanie. Institut für Energetik und Umwelt GmbH Leipzig, 109-114.

Schattner S., Groanuer A., 2000. Methanbildung verschiedener Substrate – Kenntnisstand und offene Fragen: Gülzower Fachgespräche. Energetische Nutzung von Biogas. Stand der Technik und Optimierungspotenzial 15, 28-38.

Strachota R., 2008. Czas na biogaz. Poradnik Plantatora Buraka Cukrowego 3, 30-32.

Weiland P., 2000. Stand und Perspektiven der Biogasnutzung und -erzeugung in Deutschland: Gülzower Fachgespräche. Stand der Technik und Optimierungspotenzial. Energetische Nutzung von Biogas 15, 8-27.

Weiland P., 2001. Grundlagen der Methangärung – Biologie und Substrate. VDIBerichte. [W:] Biogas als regenerative Energie – Stand und Perspektiven, Hannover, 19-32.

Welinger A., Baserga U., Edelmann W., Egger K., Seiler B., 1991. Biogas Handbuch: Grundlagen – Planung – Betrieb landwirtschaftlicher Anlagen. Verlag Wirz Arau, 178.

Węglarzy K., Podkówka W., 2010. Agrobiogazownia. Praca zbiorowa, Zakład Doświadczalny IZ PIB Grodziec Śląski sp. z o.o., 21-23, 32-38.



# METODY POPRAWY JAKOŚCI MIĘSA UZYSKIWANEGO OD RÓŻNYCH GATUNKÓW ZWIERZĄT GOSPODARSKICH

Anna Wilkanowska<sup>1</sup>, Artur Mazurowski<sup>2</sup>, Anna Frieske<sup>2</sup>

## 1. WSTĘP

Mięso, w szczególności pochodzące ze zwierząt łownych, od najdawniejszych czasów było jednym z podstawowych rodzajów pożywienia człowieka. Mięso definiuje się jako mięsne szkieletowe różnych gatunków ssaków i ptaków o naturalnie zwartej lub przynależnej tkance, uznane za odpowiednie do spożycia przez ludzi. Akt prawny zawierający powyższą definicję dodatkowo określa maksymalną zawartość tłuszczu i tkanki łącznej u określonych gatunków zwierząt, aby produkt można uznać za mięso [Dyrektywa Komisji 2001/101/WE z dnia 26 listopada 2001].

Spożycie mięsa na świecie wykazuje jedną z najwyższych dynamik wzrostu spośród wszystkich podstawowych produktów rolnych [FAMMU/FAPA 2013]. Jego popularność jest według ekspertów rezultatem wzrostu gospodarczego i lepszej sytuacji ekonomicznej przeciętnego konsumenta [Kozan i in. 2012]. Poza tym mięso jest również przykładem produktu żywnościowego odgrywającego istotną rolę w żywieniu człowieka, głównie ze względu na zawartość w nim łatwostrawnych i cennych składników odżywczych [Kosicka-Gębska i in. 2010]. Dlatego też jako ceniony artykuł spożywczy jest i będzie uważane przez duże grono konsumentów za niezbędny element codziennej diety.

W 2012 roku globalne spożycie mięsa wyniosło 33,6 kg *per capita* [Wrabec 2013]. Wśród gatunków mięsa konsumowanego na świecie zdecydowanie dominuje wieprzowina, która wyprzedza konsumpcję drobiu, wołowiny i baraniny. Taka struktura spożycia mięsa jest o tyle interesująca, że wśród ogółu ludności świata ponad 2,1 mld osób nie spożywa wieprzowiny wcale, głównie z przyczyn religijnych [Kozera 2010]. W Polsce, jak wynika z raportu Instytutu Ekonomiki Rolnictwa i Gospodarki Żywnościowej, w 2011 roku statystyczny Polak spożył około 74 kg mięsa [Kozan i in. 2012]. Pomimo zmieniających się wzorców konsumpcji i zwyczajów żywieniowych polski konsument jest wciąż zwolennikiem mięsa wieprzowego, którego spożycie w 2011 roku na jednego mieszkańca wyniosło 42,6 kg [Kossakowska 2012]. Jednakże coraz większą popularnością cieszy się mięso drobiowe, którego spożycie w 2011 w Polsce wyniosło 26,5 kg na 1 osobę [IERiGŻ-PIB 2012].

## 2. JAKOŚĆ MIĘSA

Znaczący udział mięsa i jego przetworów w ogólnej strukturze spożywanych produktów rolnych sprawia, że decydującego znaczenia nabiera jakość surowca mięsnego. Pod pojęciem jakości w najszerszym znaczeniu tego słowa rozumie się zespół wszyst-

---

<sup>1</sup> University of Molise, Department of Agricultural, Environmental and Food Science, e-mail: a.wilkanowska@studenti.unimol.it

<sup>2</sup> Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Zakład Genetyki i Podstaw Hodowli Zwierząt, ul. Mazowiecka, ul. Mazowiecka 28, 85-084 Bydgoszcz



kich istotnych dla danego produktu cech, decydujących o jego wartości użytkowej [Stasiak i in. 2006]. Jakość mięsa to pojęcie obejmujące wiele składowych, które odnoszą się do zdrowotności surowca, jego atrakcyjności sensorycznej oraz przydatności technologicznej. Pod względem naukowym o jakości mięsa decydują między innymi: parametry fizyczne (pH, wodochłonność, barwa), wartość odżywcza, wartość biologiczna, soczystość, kruchość, smak czy zapach [Krasnowska i in. 2005]. Z kolei klient przy wyborze i zakupie mięsa kieruje się własną oceną jakości, biorąc pod uwagę takie cechy, jak: barwa mięsa, jego zapach, wyciek naturalny, marmurkowatość [Zymon 2012].

Jakość mięsa jest zdeterminowana przez wiele czynników. Zależy ona między innymi od rasy i płci zwierząt. Ważnym czynnikiem decydującym o jakości mięsa jest także sposób żywienia zwierząt. Dużą uwagę przywiązuje się również do prawidłowego postępowania ze zwierzętami przed ubojem oraz procesów biochemicznych zachodzących w mięsie w czasie przemian poubojowych [Zymon i Strzelski 2010]. Stwierdzono, iż wiele wyróżników jakości mięsa kształtuje się w znacznej mierze właśnie po uboju. Dlatego też stworzenie odpowiednich warunków na każdym etapie produkcji jest podstawą do uzyskania mięsa dobrej jakości [Niedźwiedz i in. 2012].

### 3. METODY POPRAWY JAKOŚCI MIĘSA

Uprzemysłowienie produkcji mięsa w ciągu ostatnich dekad wpłynęło w znacznym stopniu na pogorszenie jego jakości. Jednocześnie rosnące wymagania konsumentów, szeroki asortyment mięsa i jego przetworów oferowanych na rynku wymuszają coraz wyższy standard jakościowy mięsa. W celu uzyskania mięsa atrakcyjnego dla potencjalnych konsumentów niezbędna jest odpowiednia wiedza na temat pozyskiwanego surowca oraz odchyłen jakościowych, jakimi może być on obciążony, a w konsekwencji metod służących poprawie jego jakości.

#### 3.1. Metody genetyczne

Nowoczesna hodowla zajmuje się ciągłym doskonaleniem zwierząt i wprowadzaniem zmian, aby uzyskać określony efekt, czyli organizm jak najbardziej doskonały pod względem cech ilościowych i jakościowych. Kształtowanie wspomnianych cech mięsa może odbywać się genetycznie.

Istotnym czynnikiem potrzebnym do wytworzenia mięsa określonej, pożądanej jakości jest potencjał genetyczny zwierząt, który powinien być w pełni wykorzystany poprzez umożliwienie ekspresji odpowiednich genów. Nowoczesne technologie oparte na analizie DNA pozwalają na identyfikację genów odpowiedzialnych za pojawienie się cech mających znaczenie ekonomiczne przy produkcji wołowiny, wieprzowiny czy też innych gatunków mięsa [Ślusarczyk i Strzetelski 2006]. Jednocześnie, mając do dyspozycji najnowsze techniki identyfikacji genotypów i genów oraz oparty na jej wynikach program krzyżowania, zapobiegający jednoczesnemu wzrostowi częstości występowania wad jakości mięsa, możliwe jest uzyskanie osobników o wysokiej zawartości mięsa i zadowalającej jego jakości [Kmieć i in. 2010].

Literatura naukowa typuje kilka genów, których polimorfizmy mogą zostać powiązane z cechami jakości mięsa. Przykładem takiego genu jest dobrze dziś znany i opisany gen receptora ryanodyny (*RYR1*) związany z występowaniem podatności świn na stres. Świnie obciążone recesywną formą tego genu odznaczają się korzystniejszymi parametrami jakości tuszy, niestety jakość mięsa takich zwierząt pozostawia wiele do ży-

czenia [Natołoczna-Kotara i Jasek 2001]. Znajomość genetycznego podłoża wrażliwości na stres oraz dostępność molekularnych metod identyfikacji genu *RYRI* daje hodowcom możliwość produkcji świń pozbawionych niekorzystnych cech uwarunkowanych występowaniem genotypu *TT/RYRI*, z zachowaniem cech pozytywnych, takich jak zwiększona zawartość mięsa w tuszy i dobra jakość mięsa [Janik i Kamyczek 2001]. Innym genem wpływającym na jakość wieprzowiny jest gen trzeciej podjednostki  $\gamma$  kinazy białkowej aktywowanej przez AMP (*PRKAG3*), potocznie nazywany „genem kwaśnego mięsa”. W przypadku *Sus scrofa domestica* L. zmapowany został na chromosomie piętnastym. Jest to gen o dużym efekcie, oddziałujący na wzrost glikogenu w tkance mięśniowej. Mutacja w 200 kodonie (G→A) tego genu powoduje zmianę argininy w glicynę w łańcuchu polipeptydowym. Forma zmutowana oznaczona jest symbolem *RN<sup>-</sup>* i jest skorelowana ze wzrostem poziomu glikogenu. W przypadku świń obarczonych zmutowanym allelem stwierdzono dwukrotną zawartość glikogenu w mięśniach, zwłaszcza w szynce. Tranzycja ta decyduje o występowaniu mięsa kwaśnego typu ASE. Wpływa na spadek pH, obniża zawartość białka w tkance mięśniowej oraz wydajność technologiczną mięsa [Charon i Świtoński 2009]. Ponadto wykazano istotne oddziaływanie genów na jakość mięsa wieprzowego. Są to: *CAST* (mięso wadliwe PSE), *CYP21* (redukcja mięsa cienkiego) oraz *H-FABP3*, *PKM2*, *GLUT4* (zawartość tłuszczu śródmięśniowego). Poprzez odpowiednią selekcję osobników o pożądanych genotypach można ukierunkować produkcję wieprzowiny do odpowiednich sektorów rynku oraz ograniczyć występowanie wadliwego mięsa [Koćwin-Podsiadła i in. 2004].

Wśród genów, względem których prowadzi się badania w celu potwierdzenia związku tych genów lub mutacji z cechami jakości mięsa, a w konsekwencji jej poprawy, są m.in.: gen hormonu wzrostu (*GH*) [Knorr i in. 1997], geny kodujące kalpainy [Chung i in. 2001], geny z rodziny genów wiążących kwasy tłuszczowe, *A-FABP* [Gao i in. 2011] oraz *H-FABP* [Jankowiak i in. 2010], gen leptyny (*LEP*) [Li Xin 2013], geny z rodziny *MyoD* [Kapełański i in. 2005].

### 3.2. Dieta

Kluczowy wpływ na jakość mięsa ma dobór diety oraz systemu żywienia zwierząt. Współczesne badania wskazują na istnienie ścisłej współzależności między składnikami odżywczymi zawartymi w paszy a zdrowiem zwierząt oraz jakością produktów od nich otrzymywanych. Stosowane obecnie metody żywienia zwierząt rzeźnych mają głównie na celu modyfikację proporcji tłuszczowo-mięsnej, ale również poprawę wartości odżywczej mięsa.

Powszechnie wiadomo jest, iż na walory prozdrowotne mięsa w dużej mierze wpływ ma profil kwasów tłuszczowych [Zymon i Strzelski 2010]. Skład kwasów tłuszczowych, a w konsekwencji stabilność oksydacyjna mięsa odpowiada również za długość okresu przydatności mięsa do spożycia (*shelf life*). Ponadto całkowita zawartość kwasów tłuszczowych uznawana jest za czynnik przyczyniający się do większej delikatności struktury mięsa i jego mniejszej włóknistości [Batkowska i in. 2011]. Strategia w chowie i żywieniu zwierząt rzeźnych powinna być ukierunkowana na ograniczenie w tłuszczu zawartości SFA (Saturated Fatty Acids – nasycone kwasy tłuszczowe) oraz zwiększenie ilości kwasów PUFA (Polyunsaturated Fatty Acids – wielonienasycone kwasy tłuszczowe), zwłaszcza z rodziny n-3.

Na profil kwasów tłuszczowych w tkankach istotny wpływ ma skład dawki pokarmowej. Wzbogacanie pełnodawkowych mieszanek paszowych składnikami o dużej

zawartości PUFA n-3 pozwala na programowanie profilu kwasów tłuszczowych mięsa w wyniku transferu określonych składników z paszy. Pod względem żywieniowym najbardziej odpowiednim olejem stosowanym do natłuszczania pasz jest olej lniany, gdyż zawiera znaczące ilości kwasu  $\alpha$ -linolenowego, który jest formą długołańcuchową PUFA z rodziny n-3 i może być częściowo przekształcony w organizmie do kwasu eikozapentaenowego (EPA), dipikolinowego (DPA) i dokozaheksaenowego (DHA) [Kowalska i in. 2011]. W doświadczeniu przeprowadzonym przez Więcek i in. [2008] badano wpływ dodatku oleju lnianego na parametry tuszy wieprzowej. Zwierzęta, które w diecie otrzymywały 4% dodatek oleju lnianego, charakteryzowały się niższą mięsnością tuszy, natomiast sprężystość mięsa była istotnie wyższa w porównaniu z grupą kontrolną. Poza olejem lnianym cennym dodatkiem do paszy może być także olej rybny. Zaobserwowano, iż zastosowanie w żywieniu królików oleju lnianego i rybnego zmieniło profil kwasów tłuszczowych tłuszczu śródmięśniowego. Jednakże efektywność transformacji kwasów zawartych w dodawanych do paszy tłuszczach do kwasów tkanki mięśniowej wskazywała, że długołańcuchowe kwasy tłuszczowe pochodzące z oleju rybnego w sposób najbardziej wydajny fizjologicznie wpływały na wzbogacenie tkanki w PUFA n-3 [Kowalska i in. 2011]. W doświadczeniach przeprowadzonych na drobiu zaobserwowano, że jednym z czynników modyfikujących skład kwasów tłuszczowych w mięsie jest witamina E, która poprawia jakość tłuszczu, zmniejszając w nim udział kwasów nasyconych i zwiększając polinienasyconych (zwłaszcza grupy n-3). Naturalnym źródłem witaminy E są zielonki. Ich udział w dawce pokarmowej można tłumaczyć zwiększeniem ilości PUFA w mięsie [Batkowska i in. 2011].

Duże znaczenie przypisuje się także skoniugowanemu kwasowi linolowemu (CLA), postrzeganemu jako biologiczny czynnik inhibitujący powstawanie niektórych nowotworów. CLA obniża także poziom cholesterolu w tłuszczu mięsa, a jego koncentracja w mięsie zależy od żywienia zwierząt. Dawki zawierające nasiona roślin oleistych, makuchy, oleje roślinne oraz odpowiednie pasze objętościowe we właściwym stosunku do pasz treściwych wpływają na wzrost zawartości CLA w tłuszczu mięsa [Kinal i in. 2007].

Pietruszka i in. [2009] testowali wpływ dodatku L-karnityny oraz dodatku żelaza na cechy wzrostu, jakość tuszy oraz zawartość metabolitów we krwi u tuczników. Nie zaobserwowali wpływu podawania samego dodatku L-karnityny na cechy wzrostowe i jakość tuszy, natomiast przyczynił się on do obniżenia tłuszczów we krwi. Dodatek ten w połączeniu z suplementem żelaza wywierał korzystny efekt na badane cechy.

W kształtowaniu zadowalającej jakości mięsa istotną rolę odgrywa nie tylko podawanie różnego rodzaju opisywanych dodatków paszowych, ale także ilość skarmianej paszy w poszczególnych fazach tuczu. W badaniu Więcek i in. [2011] określano związek restrykcyjnego żywienia z jakością wieprzowiny oraz jego wpływ na profil kwasów tłuszczowych w mięśniu najdłuższym klatki piersiowej (*longissimus thoracis*) tuczników. Wykazano, iż restrykcyjne żywienie nie miało wpływu na takie cechy, jak: kolor, pH oraz swobodny wyciek soku z mięsa. Stwierdzono natomiast niższą zawartość tłuszczu w analizowanym mięśniu u tuczników objętych surową dietą w porównaniu z grupą zwierząt karmioną *ad libitum*. Inny zespół badawczy testował wpływ krzyżowania ras świń na zawartość kwasów tłuszczowych w mięśniu najdłuższym grzbietu (*longissimus dorsi*). Wykazano, iż rasa, a dokładniej odpowiedni układ krzyżowania wybranych w doświadczeniu ras matecznych i ojcowskich, ma istotne znaczenie dla zawartości cholesterolu oraz profilu kwasów tłuszczowych w mięśniu najdłuższym grzbietu [Jacyno i in. 2002].

Na parametry jakości mięsa wpływa również stosowany system żywienia. Stwierdzono, że żywienie pastwiskowe (system ekstensywny) korzystnie wpływa na tkankę mięśniową, która charakteryzuje się wyższym udziałem kwasów wielonienasyconych niż u zwierząt żywionych koncentratami [Szewczuk i in. 2009]. Potwierdzają to wyniki badania Klewca i in. [2000] nad wpływem tuczu pastwiskowego i alkierzowego na jakość mięsa jagniąt. W doświadczeniu tym wykazano, iż od jagniąt żywionych mlekiem owiec i zieloną pastwiskową uzyskuje się mięso o wyższej jakości dietetycznej niż z jagniąt tuczonych wysokobiałkową mieszanką treściwą w systemie alkierzowym.

Żywienie pastwiskowe może również pozytywnie oddziaływać na inne parametry jakości mięsa – nie tylko na jego wartość odżywczą. Stwierdzono wpływ diety między innymi na barwę mięsa. Zaobserwowano wyraźniejsze zabarwienie i bardziej intensywny kolor mięsa wołowego przy żywieniu pastwiskowym niż przy skarmianiu mieszanek z dużą ilością zbóż [Vestergaard i in. 2000]. Co więcej, żywienie pastwiskowe może mieć także korzystny wpływ na smak i zapach mięsa. Wykazano, że zwierzęta na pastwisku, dzięki selektywnemu pobieraniu paszy i wybieraniu z runi ziół, dostarczają surowców o unikalnym smaku, wysoko cenionych przez konsumentów. Niewątpliwym przykładem pozytywnego wpływu żywienia pastwiskowego na smak mięsa jest to pozyskiwane od wrzosówek, wypasanych na wrzosowiskach. Mięso tych owiec ma smak zbliżony do dziczyzny i jest szczególnie cenione przez smakoszy. Warto nadmienić, iż znaczący udział w kształtowaniu pożądanego smaku mięsa zwierząt żywionych w systemie pastwiskowym mają dziko rosnące zioła aromatyczne [Simińska i in. 2007]. W prowadzonych dotychczas badaniach już kilkakrotnie zaobserwowano, iż obecność ziół w diecie wpływała korzystnie nie tylko na poprawę wskaźników produkcyjnych, ale również na jakość surowca, w tym na poprawę jego walorów dietetycznych i smakowych [Grela 2000, Czaja i Gornowicz 2004]. Ponadto rośliny pastwiskowe spożywane przez zwierzęta, wzbogacając ich mięso w wielonienasycone kwasy tłuszczowe (PUFA), szczególnie n-3, korzystnie oddziałują na zapach mięsa [Simińska i in. 2007]. Według Dewhursta i in. [2003] to właśnie kwasy z rodziny n-3 mają istotny wpływ na poprawę zapachu mięsa przeżuwaczy (tzw. aromat/zapach „pastwiskowy”).

### 3.3. Postępowanie przedubojowe

Jakość mięsa uzależniona jest również od sposobu obchodzenia się ze zwierzętami, a w szczególności od czynników związanych z obrotem przedubojowym oraz warunkami samego uboju. Krótkoterminowe czynniki przedubojowe (głodzenie przedubojowe, chwytywanie, załadunek, transport, wyładunek, zawieszanie na linii ubojowej, ogluszenie), których działanie przypada na ostatnie godziny życia, są groźnym stresorem dla przewożonych zwierząt. Oddziaływanie tych czynników jest na tyle silne, że może pociągnąć za sobą wystąpienie wad mięsa, nawet u zwierząt genetycznie odpornych na stres.

Czynnikiem przedubojowym istotnie wpływającym na jakość mięsa jest wspomniana głodówka przedubojowa, której celem jest opróżnienie przewodu pokarmowego z resztek niestrawionej paszy [Doktor 2007]. Stwierdzono, że przedłużanie głodówki przedubojowej wykazuje pozytywny wpływ na podniesienie wartości pH mięsa oraz jego wodochłonności i na barwę [Barowicz 2008].

Nie sposób także nie wspomnieć o transporcie – istotnym elemencie postępowania przedubojowego. Przeprowadzone badania nad wpływem czasu transportu oraz dystansu między fermą a miejscem uboju wykazały, że wydłużenie czasu, jak i zwiększenie

wspomnianej odległości istotnie wpływają na obniżenie pH mięsa, a także jego wodochłonności [Wójcik i in. 2011]. Stąd też można wnioskować, iż zminimalizowanie stresu wynikającego z niedogodności mających miejsce w czasie transportu zwierząt może zabezpieczyć uzyskiwane od nich mięso przed wadami jakościowymi. Wykazano, iż skrócenie czasu transportu może mieć pozytywny efekt na soczystość i kruchość mięsa. W badaniu Rachwał [2000] przeprowadzonym na kurczętach brojlerach zaobserwowano, iż w zależności od pory roku wskaźnik soczystości w ciągu trzech godzin transportu zmniejsza się w porównaniu z transportem jednogodzinnym o 3,4-4,7% dla mięśni piersiowych i o 3,7-4,5% dla mięśni nóg. Poza tym wykazano wpływ czasu transportu na inny parametr jakości mięsa – kruchość; największą kruchość mięsa brojlerów uzyskano po jednogodzinnym transporcie.

Wśród czynników ubojowych oddziałujących na jakość mięsa należy zwrócić uwagę na oszałamianie i wykrwawianie zwierząt. W minimalizowaniu występowania wad mięsa znaczącą rolę odgrywa czas od momentu oszołomienia do rozpoczęcia procesu wykrwawiania. Optymalizacja długości tego czasu może zapobiec występowaniu przekrwień, wybroczyn, ale także ograniczać działanie czynników stymulujących procesy glikolizy. Właściwe wykrwawienie decyduje w dalszej kolejności o przydatności spożywczej surowców uzyskiwanych z uboju [Barowicz 2008].

### 3.4. Metody poubojowe

Jakość mięsa zależy nie tylko od czynników przyżyciowych, ale także od przebiegu zmian zachodzących w tkance mięśniowej po uboju. W największym stopniu na tworzenie się charakterystycznych cech jakościowych mięsa wpływa proces poubojowego dojrzewania. Cechy jakości mięsa, takie jak: kruchość, smakowitość, barwa, kształtowane są w znacznej mierze właśnie po uboju, w wyniku zachodzących przemian biochemicznych [Niedźwiedz i in. 2012]. Wykazano na przykład, iż soczystość mięsa jest powiązana z szybkością przebiegu procesów poubojowych i tempem obniżania wartości pH, natomiast kruszenie zależy w głównej mierze od aktywności enzymów proteolitycznych i stopnia degradacji białek cytoszkieletowych. Dlatego też, poza czynnościami przedubojowym, również niewłaściwe postępowanie poubojowe może przyczynić się do znaczącego pogorszenia jakości mięsa odznaczającego się potencjalnie korzystnymi cechami ubojowymi. Bardzo nieznaczne różnice w tempie obniżania temperatury czy wartości pH mięśni mogą przyczynić się do powstania znacznych różnic we właściwościach mięsa [Niedźwiedz i in. 2013].

W celu uniknięcia niekorzystnych zmian przebiegających w mięsie *post-mortem* oraz uzyskania mięsa dobrej jakości bardzo ważne jest stworzenie odpowiednich warunków dla przebiegu przemian poubojowych w tkance mięśniowej. Istotne staje się również prawidłowe przeprowadzenie czynności poubojowych, tj. wszelkich zabiegów technologicznych na tuszach lub mięśniach, mających na celu fizyczną, enzymatyczną, chemiczną dezintegrację struktury tkanki mięśniowej oraz zapobieganie skurczowi chłodniczemu czy też ograniczenie stężenia pośmiertnego. Służą temu celowi: elektrostymulacja tusz, zastosowanie wysokiego ciśnienia, ultradźwięków, napinanie tusz i ich części poprzez odpowiednie zawieszanie, nacinanie, wprowadzanie enzymów proteolitycznych, soli wapnia, przechowywanie mięsa w podwyższonej temperaturze w celu przyspieszenia enzymatycznej proteolizy białek włókna mięśniowego i części białek łącznotkankowych, zakwaszenie mięsa [Krzynowek i Cierach 2012].

#### 4. PODSUMOWANIE

Mającą miejsce w ostatnich latach, szczególnie w krajach wysoko rozwiniętych, wyraźna zmiana w poglądach związanych z żywieniem człowieka sprawiła, że coraz częściej zwraca się uwagę na jakość spożywanych artykułów. Mięso jest bardzo cennym źródłem substancji odżywczych dla człowieka, dzięki czemu jest doceniane przez szerokie grono konsumentów. Dlatego producenci coraz większą uwagę zwracają na opracowanie metod poprawy jakości mięsa. Znając czynniki, które wpływają na jakość i mając możliwość ich sterowania, można oczekiwać, że coraz częściej jakość surowca będzie odpowiadała wymaganiom, które będą spełniać w pełni oczekiwania konsumenta.

#### LITERATURA

Barowicz T., 2008. Dobrostan zwierząt a transport oraz postępowanie przed ubojem. *Hod. Trz. Chł.* 6, 30-31.

Batkowska J., Brodacki A., Grodzicki T., 2011. Skład chemiczny oraz profil kwasów tłuszczowych mięsa indyczek rzeźnych utrzymywanych systemem ekstensywnym. *Rocz. Nauk. PTZ* 7(2), 39-51.

Charon K., Świtoński M., 2009. *Genetyka zwierząt*. Wyd. Nauk. PWN Warszawa.

Chung H., Davis M., Hines H., 2001. Effect of calpain and calpastatin genotypes on growth of Angus bulls. Research and reviews: Beef and Sheep. *Bulletin of Animal Sci. Res. and Rev.*, Special Circular 156, Ohio State University, 18-21.

Czaja L., Gornowicz E., 2004. Effect of herb mixture supplement in broiler chicken diet on water holding capacity and chemical composition of muscle. *Rocz. Nauk. Zoot.* 31(1), 77-86.

Dewhurst R.J., Scollan N.D., Lee M.R.F., Ougham H.J., Humphreys M.O., 2003. Forage breeding and management to increase the beneficial fatty acid content of ruminant products. *Proc. Nutr. Soc.* 62(2), 329-336.

Doktor J., 2007. Wpływ postępowania przedubojowego na jakość tuszki i mięsa kurcząt rzeźnych. *Wiad. Zoot.* 3, 25-30.

Dyrektywa Komisji 2001/101/WE z dnia 26 listopada 2001 r. zmieniająca dyrektywę 2000/13/WE Parlamentu Europejskiego i Rady w sprawie zbliżenia ustawodawstwa Państw Członkowskich odnoszących się do etykietowania, prezentacji i reklamy środków spożywczych.

FAMMU/FAPA.2013.[www.ksow.pl/rynki-rolne/news/entry/4503-prognozy-oecd-fao-dla-swiatowego-rynku-miesia-d.html](http://www.ksow.pl/rynki-rolne/news/entry/4503-prognozy-oecd-fao-dla-swiatowego-rynku-miesia-d.html)

Gao Y., Zhang Y.H., Zhang S., Li F., Wang S., Dai L., Liang H., Xiao S., Liu D., Sun B., Zhao Z., Zhang J.B., 2011. Association of A-FABP gene polymorphism in intron 1 with meat quality traits in Junmu No. 1 white swine. *Gene* 487(2), 170-173.

Grela E.R., 2000. Wpływ dodatku ziół na wartość rzeźną tusz oraz wybrane cechy organoleptyczne i chemiczne mięsa tuczników. *Rocz. Nauk. Zoot., Supl.* 6, 167-171.

IERiGŻ-PIB, 2012. Rynek drobiu i jaj, stan i perspektywy 41.



Jacyno E., Pietruszka A., Kołodziej A., Czarnecki R., 2002. Content of lipid components in m. *longissimus dorsi* of progeny of the boars descending from reciprocal crossing of the Pietrain and Duroc breeds. Arch. Tierz. 45(3), 237-245.

Janik A., Kamyczek M., 2001. Częstość występowania genu wrażliwości na stres RYR1<sup>T</sup> (HAL<sup>n</sup>) w rasach świń hodowanych w Polsce. Trz. Chlew. 39(8-9), 45-48.

Jankowiak H., Sielska N., Kapelański W., Bocian M., Zmudzińska A., 2010. The effect of H-FABP polymorphism on carcass and meat quality In the polish native złotnicka spotted pig. J. Cent. Eur. Agric. 11(4), 459-464.

Kinal S., Lubojemska B., Gajewczyk P., 2007. Wpływ żywienia bydła opasowego na kształtowanie się cech jakościowych mięsa wołowego. Roczniki Instytutu Przemysłu Mięsnego i Tłuszczowego XLV(1), 89-100.

Klewiec J., Gruszecki T., Baranowski A., Markiewicz J., Gabryszuk M., 2000. Ocena wartości rzeźnej jagniąt utrzymywanych w systemie alkierzowym i pastwiskowym. Przegł. Hod. 8, 49-50.

Kmieć M., Koćwin-Podsiadła M., Terman A., Krzęcio E., Grzelak T., 2010. Zróżnicowanie cech jakości tuszy tuczników w zależności od polimorfizmu genu hormonu wzrostu (*GH/HaeII*). Acta Sci. Pol., Zootechnica 9(2), 11-20.

Knorr C., Moser G., Muller E., Gelderman H., 1997. Associations of *GH* gene variants with performance traits in F2 generations of European wild boar, Pietrain and Meishan pigs. Anim. Genet. 28, 124-128.

Koćwin-Podsiadła M., Krzęcio E., Kurył J., Pospiech E., Grześ B., Zybert A., Sieczkowska H., Antosik K., Łyczyński A., 2004. Wpływ form polimorficznych wybranych genów na mięsność oraz właściwości fizykochemiczne i funkcjonalne tkanki mięśniowej. [W:] Postępy genetyki molekularnej bydła i trzody chlewnej, praca zbiorowa pod red. M. Świtońskiego, Wyd. AR Poznań, 263-328.

Kosicka-Gębska M., Przeździecka N., Gębski J., 2010. Tendencje zmian w spożyciu mięsa wołowego w Polsce w latach 2000-2009. Zesz. Nauk. SGGW 10(25), 49-59.

Kapelański W., Grajewska S., Kurył J., Bocian M., Wszyńska-Koko J., Urbański P., 2005. Polymorphism in Coding and Non-coding Regions of the *MyoD* Gene Family and Meat Quality in Pigs. Fol. Biol. 53(1), 45-49.

Kossakowska J., 2012. Rynek mięsa – kierunki zmian. Biuletyn Informacyjny ARR, 9-19.

Kowalska D., Bielański P., Chełmińska A., 2011. Wpływ dodatku do paszy oleju lnianego i rybnego na profil kwasów tłuszczowych i utlenienie tłuszczu śródmięśniowego królików. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość 2(75), 148-159.

Kozań K., Guzek D., Lange E., Głowska D., Włodarek D., Wierzbicka A., 2012. Produkty mięsne należące do grupy żywności funkcjonalnej z uwzględnieniem potrzeb chorych na nieswoiste stany zapalne jelit. Zesz. Nauk. Ochrony Zdrowia, Zdrowie Publiczne i Zarządzanie 10(2), 85-71.

Kozera M., 2010. Ekonomiczne uwarunkowania rozwoju produkcji mięsa wieprzowego na świecie. J. Agribus. Rural Dev. 2(16), 85-92.



- Krasnowska G., Sobków B., Dąbrowska M., Pelc M., 2005. Określenie przydatności wybranych preparatów enzymatycznych do poprawy jakości mięsa wołowego. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 2(43), 73-83.
- Krzynówek W., Cierach M., 2012. Metody chłodzenia i dojrzewania poubojowego a kruchość wołowiny kulinarnej. *Gospodarka Mięsna* 12, 5-7.
- Li Xin, 2013. Genetic and ageing effects on beef quality. *Acta Universitatis Agriculturae Sueciae*, praca doktorska.
- Natoloczna-Kotara A., Jasek S., 2001. Fenotyp odzwierciedla genotyp – zajrzyjmy do środka. *Trz. Chlew.* 39(11), 56-58.
- Niedzwiedz J., Ostoja H., Cierach M., 2012. Tekstura mięśnia *Longissimus Thoracis et Lumborum*, mieszańców bydła ras mięsnych, poddawanego dojrzewaniu metodą mokrą. *Acta Agrophys.* 19(3), 631-640.
- Niedzwiedz J., Ostoja H., Żmijewski T., Cierach M., Ziomek A., 2013. Zmiany biochemiczne w mięsie z bydła pozyskiwanego z rynku. *Inżynieria Przetwórstwa Spożywczego* 1/4(5), 42-43.
- Pietruszka A., Jacyno E., Kołodziej A., Kawęcka M., Elzanowski CZ., Matysiak B., 2009. Effects of L-carnitine and iron diet supplementations on growth performance, carcass characteristics and blood metabolites in fattening pigs. *Agr. Food Sci.* 18, 27-34.
- Przybylski W., Jaworska D., Czarniecka-Skubina E., Kajak-Siemaszko K., 2008. Ocena możliwości wyodrębniania mięsa kulinarnego o wysokiej jakości z uwzględnieniem mięsności tuczników, pomiaru barwy i pH z zastosowaniem analizy skupień. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 4(59), 43-51.
- Rachwał A., 2000. Stres ptaków przyczyną znacznych strat ekonomicznych w produkcji drobiarskiej. *Pol. Drob.* 8, 30-32.
- Simińska E., Bernacka H., Grabowicz M., 2007. Zioła w żywieniu zwierząt, z uwzględnieniem owiec. *Zesz. Nauk. UTP w Bydgoszczy, Zootechnika* 37, 89-97.
- Stasiak A., Sałyga M., Babicz M., Kamyk P., Burdzanowski J., 2006. Ocena jakości technologicznej i konsumpcyjnej mięsa świniodzików. *Ann. Univ. Mariae Curie-Skłodowska, Lublin – Polonia* 24(18), 127-136.
- Szewczuk M., Czerniawska-Piątkowska E., Lachowski W., Żychlińska-Buczek J., 2009. Wybrane czynniki warunkujące jakość mięsa jagnięcego. *Wiad. Zoot.* 2, 25-31.
- Ślusarczyk K., Strzelecki J., 2006. Żywieniowe i genetyczne aspekty marmurkowatości mięsa wołowego. *Wiad. Zoot.* 1, 51-54.
- Vestergaard M., Oksbjerg N., Henckel P., 2000. Influence of feeding intensity, grazing and finishing feeding on muscle fibre characteristics and meat colour of *Semitendinosus*, *Longissimus dorsi* and *supraspinatus* muscles of young bulls. *Meat Sci.* 54, 177-186.
- Więcek J., Rekiel A., Batorska M., Skomial J., 2011. Effect of restricted feeding and re-alimentation periods on pork quality and fatty acid profile of *M. longissimus thoracis*. *Meat Sci.* 87, 244-249.

Więcek J., Skomiał J., Rekiel A., Florowski T., Dasiewicz K., Woźniak A., 2008. Compensatory growth of pigs: quantitative and qualitative parameters of pork carcass of fatteners administered a mixture with linseed oil in the re-alimentation period. *Pol. J. Food Nutr. Sci.* 58(4), 451-455.

Wójcik A., Pomianowski J. F., Sowińska J., Mituniewicz T., Witkowska D., Choraży Ł., Piotrowska J., 2011. Wpływ obrotu przedubojowego kurcząt brojlerów na jakość technologiczną mięsa. *Inż. Ap. Chem.* 50(3), 85-86.

Wrabec P., 2013. [www.handelextra.pl/artykuly/166707,spozycie-miesa-na-swiecie-rośnie-w-polsce-spada](http://www.handelextra.pl/artykuly/166707,spozycie-miesa-na-swiecie-rośnie-w-polsce-spada)

Zymon M., 2012. Walory odżywcze i smakowe wołowiny. *Wiad. Zoot.* 4, 93-98.

Zymon M., Strzelecki J., 2010. Sposoby poprawy właściwości prozdrowotnych mięsa bydlęcego. *Wiad. Zoot.* 4, 53-63.

# WCZESNE OSWAJANIE KONI – ZAŁOŻENIA, KORZYŚCI I WĄTPLIWOŚCI

Urszula Żurek<sup>1</sup>, Janusz Danek

## 1. WPROWADZENIE

Zwierzęta gospodarskie w pierwszych chwilach po narodzinach dostosowują się do życia w środowisku pozamacicznym. W okresie poporodowym następuje także nawiązanie szczególnej więzi między matką a noworodkiem oraz utrwalenie w pamięci zwierzęcia informacji niezbędnych dla jego przeżycia, takich jak wizerunek matki oraz szczegóły charakteryzujące jego własny gatunek. Jest to proces wdrukowywania informacji, który został opisany jako tzw. imprinting (pierwsze skojarzenie, wpajanie, wdrażanie). Ten biologiczny mechanizm ma miejsce podczas tzw. okresu krytycznego, czyli w najwcześniejszym okresie życia. Imprinting jest procesem nagłym i zazwyczaj nieodwracalnym, pozostawia trwały ślad w pamięci i rzutuje na społeczne zachowania się zwierząt. Zjawisko wdrukowywania zostało opisane po raz pierwszy w 1935 roku przez Konrada Lorenza, który zaobserwował, iż bodźce wzrokowe odbierane przez pisklęta gęsi rasy Greylag Geese zaraz po wykluciu wywołują u nich odruch podążania za pierwszym dostrzeżonym obiektem ruchomym. Zjawisko wpajania zostało wykorzystane przez człowieka do wczesnego osławajania zwierząt. Dzięki zastosowaniu odpowiednich metod możliwe jest zmniejszenie strachu zwierzęcia przed człowiekiem, co ułatwia obsługę i pozytywnie wpływa na dobrostan zwierząt. Ma to szczególne znaczenie w przypadku chowu i hodowli koni, w których bardzo istotna jest użytkowość tych zwierząt [Bogucka-Ścieżyńska 1998, Miller 2001, Tischner i in. 2002, Spier i in. 2004]. W publikacji przedstawiono podstawowe założenia, korzyści i wątpliwości dotyczące wczesnej obsługi koni ze szczególnym uwzględnieniem tzw. metody imprintingowej.

## 2. WCZESNA OBSŁUGA ZWIERZĄT GOSPODARSKICH

U większości zwierząt gospodarskich (koni, bydła, trzody chlewnej, kóz i owiec) negatywne reakcje wobec ludzi (agresja lub ucieczka) mogą zostać wyeliminowane poprzez powtarzany kontakt z człowiekiem. Główną w nim rolę odgrywają jakość tych kontaktów oraz wiek zwierzęcia, w którym się on rozpoczyna [Henry i in. 2005]. Mechanizm imprintingu u ptaków został dość szeroko opisany, natomiast zjawiska związane z wczesnym wpajaniem i okresem krytycznym u ssaków nie są jeszcze zbyt dobrze poznane. Wiąże się to głównie z trudnościami w tworzeniu grup zwierząt do badań: doświadczalnej i kontrolnej oraz koniecznością izolowania noworodków od matek [Przybyłowicz 2012].

Doświadczenia z początku życia silnie wpływają na zachowanie dorosłych zwierząt. Wczesne osławajanie zmniejsza strach zwierząt gospodarskich w stosunku do ludzi [Williams i in. 2002, Lansade i in. 2004]. Stwierdzono, iż kury, z którymi obchodziła

---

<sup>1</sup> Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy, Wydział Inżynierii Mechanicznej, Zakład Inżynierii Biomedycznej, ul. ks. A. Kordeckiego 20, 85-225 Bydgoszcz,  
e-mail: zurekurszula@gmail.com

się łagodnie tylko jedna osoba, wykazywały mniejszą bojaźliwość w odniesieniu do całej obsługi. Świnie także nie dokonują rozróżnień między osobami – zaobserwowano u nich tendencję do uogólniania swoich zachowań w stosunku do wszystkich ludzi. Z kolei u cieląt zaobserwowano dyskryminację poszczególnych osób z obsługi: zwierzęta zbliżały się do ludzi, którzy obchodzili się z nimi delikatnie, a jednocześnie unikały tych agresywnych [de Passille i in. 1996].

Niezwykle istotne jest poznanie i zrozumienie czynników, które wywołują w zwierzętach strach przed człowiekiem. Liczne badania wykazały, iż zwierzęta nadmiernie bojaźliwe wykazują się także mniejszą produktywnością, np. świnie traktowanie brutalnie charakteryzują się wolniejszym wzrostem i rozwojem, obniżoną płodnością oraz częstszym występowaniem zaburzeń metabolicznych [de Passille i in. 1996]. Można więc śmiało stwierdzić, że intensywny lub przewlekły strach u zwierząt powoduje znaczące zmniejszenie dobrostanu [Lansade i in. 2004].

### **3. WCZESNA OBSŁUGA KONI**

Mimo kilkuset lat selekcji hodowlanej koń nadal pozostaje gatunkiem uciekającym. Oznacza to, że jest zwierzęciem wcześniej dojrzewającym, bardzo spostrzegawczym, o krótkim czasie reakcji i silnie rozwiniętym instynkcie ucieczki od rzeczywistego lub wyimaginowanego niebezpieczeństwa [Miller 1999, Spier i in. 2004]. Konie są w naturalnym środowisku ofiarami drapieżników, dlatego zostały wyposażone w rozwinięte zmysły i zdolność wczesnego uczenia się, które są w stanie zapewnić im przetrwanie na wolności [Miller 2001]. Żrebięta już w godzinę po porodzie są w stanie podążać za matką i swoim stadem [Żurek i Danek 2011]. Mechanizm imprintingu zachodzi u tych zwierząt bardzo szybko. Nie ma jasności odnośnie długości okresu krytycznego u koni, wg Millera [2001] jest to kilka pierwszych dni po porodzie.

Behawioralna reakcja konia na człowieka zależy od czynników genetycznych, ale przede wszystkim od środowiska. Zachowanie konia uwarunkowane jest w dużej mierze charakterem dotychczasowych relacji z ludźmi [Sondergaard i Halekoh 2003]. Wysoki poziom strachu przed człowiekiem u koni jest źródłem problemów dotyczących zdrowia i dobrostanu tych zwierząt oraz bezpieczeństwa obsługi. W związku z tym wypracowanie pozytywnych relacji człowiek – koń jest wysoce istotne [Sondergaard i Halekoh 2003, Henry i in. 2005].

### **4. METODY WCZESNEGO OSWAJANIA KONI**

W ostatnich latach najpopularniejszą metodą wczesnej obsługi koni stało się szkolenie imprintingowe. Jest to forma uwarunkowania noworodków poprzez dotyk oraz bodźce wzrokowe i słuchowe [Spier i in. 2004]. Szkolenie to zostało opracowane przez lekarza weterynarii Roberta Millera. Zauważył on bowiem, iż żrebięta, którymi zajmował się krótko po urodzeniu na skutek problemów poporodowych, są w późniejszych etapach życia spokojniejsze i łagodniejsze w porównaniu ze żrebiętami, które miały minimalny kontakt z człowiekiem. Na podstawie własnych doświadczeń z końmi rozwinął cały system szkoleniowy [Miller 1999]. Celem tej metody jest wytworzenie się więzi między koniem a człowiekiem, odczulenie i uwrażliwienie na określone bodźce oraz zmniejszenie reakcji strachu [Miller 1999, Spier i in. 2004].

Pierwszy etap nauki rozpoczyna się natychmiast po porodzie, zanim żrebię wstanie. Celem tego etapu szkolenia jest odczulenie żrebięcia na różne bodźce dotykowe,

wizualne i słuchowe. W tym czasie zalecane jest dotykanie całego ciała noworodka, podniesienie każdego kopyta i opukiwanie go, a także wkładanie palca do pyska, nozdrzy, uszu i odbytu. Bardzo ważne jest także zginanie głowy z szyją i wszystkich kończyn. Każda czynność powinna być wielokrotnie powtarzana aż do uzyskania akceptacji i rozluźnienia źrebięcia [Miller 1999, 2001, Houpt 2007].

Po pierwszym etapie szkolenia kolejne lekcje powinny być powtarzane co drugi dzień przez 1-2 tygodnie. Podczas tych sesji kładzie się nacisk głównie na kontrolę ruchu i pozycji zwierzęcia. Dotyczy to nauki ruchu naprzód, cofania, ruchu w bok i zwrotów w spokojnym prowadzeniu. Proces ten jest istotny, gdyż konie ustanawiają hierarchię dominacji poprzez sterowanie ruchami innych koni. Właściwe przeprowadzenie tego etapu szkolenia wytworzy w źrebięciu szacunek i posłuszeństwo wobec człowieka [Miller 2001].

Metoda imprintingowa jest dość prosta do przeprowadzenia, jednak niekiedy zdarzają się pewne nieprawidłowości. Najczęstszym błędem popełnianym w trakcie szkolenia jest pośpiech. Jeśli procedura zostanie przeprowadzona zbyt szybko, uzyskany efekt będzie odwrotny od zamierzonego – źrebię uczuli się na dany bodziec, zamiast odczulić. Każda lekcja musi być wykonana cierpliwie i wytrwale, aż do momentu, w którym źrebię odpuści napięcie w poszczególnych partiach ciała. Kolejnym błędem, który często ma miejsce w trakcie treningu, jest pominięcie lub niewłaściwe wykonanie kolejnych sesji. Skupienie się wyłącznie na pierwszym, poporodowym etapie szkolenia może spowodować lekceważenie człowieka przez źrebię. Zwierzę będzie co prawda odczułone na różne bodźce, ale nie będzie przejawiało szacunku do opiekuna [Miller 1999, 2001].

Inną metodę wczesnego osławiania koni zasugerowali Henry i in. [2005]. Zaobserwowali bowiem, iż znaczący wpływ na relacje człowiek – źrebię miał rodzaj więzi między człowiekiem a matką źrebięcia. W badaniach podzielono grupę 41 klaczy wraz ze źrebiętami na część eksperymentalną i kontrolną. W grupie eksperymentalnej źrebięta nie były osławiane w okresie poporodowym (poza niezbędną obsługą poporodową), natomiast ich matki były codziennie łagodnie czyszczone i karmione z ręki przez 15 minut w ciągu pierwszych 5 dni po wyźrebieniu. Z kolei w grupie kontrolnej klacze oraz źrebięta nie otrzymywały żadnego dodatkowego kontaktu z człowiekiem (poza niezbędnymi czynnościami rutynowymi). Badania wykazały, iż źrebięta z grupy eksperymentalnej przejawiały istotnie mniejszy strach wobec ludzi oraz nowych sytuacji niż źrebięta z grupy kontrolnej. Ponadto efekty tej metody utrzymywały się przez co najmniej rok. Procedura ta jest dużo prostsza i mniej czasochłonna od szkolenia imprintingowego [Henry i in. 2005].

## 5. KORZYŚCI WYNIKAJĄCE Z WCZESNEGO OSŁAWIANIA KONI

Zwolennicy metody imprintingu wskazują na szereg korzyści wynikających z zastosowania wczesnego szkolenia i zapewniają, że prawidłowo wykonany trening gwarantuje pełną skuteczność i stałe efekty. Według twórcy metody imprintingowej wskaźnik niepowodzenia oscyluje wokół wartości 1% i spowodowany może być jedynie przez niewłaściwe przeprowadzenie szkolenia [Miller 1999, 2001]. Trening, który rozpoczyna się niemal natychmiast po urodzeniu, umożliwia wytworzenie się szczególnej relacji między źrebięciem a opiekunem. Ponadto młody koń uczy się szybciej, dlatego efekt jest osiągnięty w krótszym czasie niż ze zwierzęciem dorosłym. Nie bez zna-

czenia jest także fakt, że obsługa noworodka jest łatwiejsza i bezpieczniejsza niż dorosłego konia ze względu na mniejszą siłę i masę [Nowicka-Posłuszna 2003].

Wykonanie szkolenia imprintingowego może poprawić zdolność zwierzęcia do przejawiania określonych zachowań podczas wykonywania podobnych czynności w późniejszym życiu (np. w czasie werkowania, zakładania sondy, siodłania) [Miller 1999, Waran i in. 2008]. Ponadto wykorzystując zjawisko habituacji (przywykania), można zneutralizować silną u koni reakcję ucieczki. Podnosi to znacznie bezpieczeństwo obsługi tych zwierząt. Poza tym szkolenie imprintingowe ma także na celu wypracowanie w źrebięciu reakcji automatycznych, co znacznie ułatwia prowadzenie i przesuwanie konia, jak również podnoszenie kończyn. W perspektywie długoterminowej może to wpłynąć pozytywnie na trening dorosłego już konia. Poza tym odpowiednie szkolenie zwiększa zaufanie źrebięcia do ludzi przy jednoczesnym utrwaleniu dominacji człowieka [Miller 1999, Nowicka-Posłuszna 2003].

Badania Spier i in. [2004] dowiodły, iż trzymiesięczne źrebięta poddane po urodzeniu wczesnej obsłudze nie okazywały strachu podczas dotykania i podnoszenia kończyn. Podnosi to znacznie bezpieczeństwo podczas obsługi konia przez opiekuna, kowala czy weterynarza. Z kolei Jezierski i in. [1999] przeprowadzili obserwacje na źrebiętach rasy konik polski. Są to konie rasy prymitywnej, której zachowania nie zmieniły się na skutek selekcji prowadzonej przez człowieka. Badania wykazały, iż codzienne osvajanie źrebiąt pozytywnie wpływa na obsługę i emocjonalność młodych koni. W stosunku do grupy kontrolnej konie te nie wykazywały strachu, charakteryzowały się wyższą zdolnością do nauki oraz normalnym rytmem pracy serca podczas obsługi przez człowieka [Jezierski i in. 1999]. Tischner i in. [2002] także wskazali na mniejsze reakcje stresowe u źrebiąt poddanych wczesnej obsłudze w porównaniu z grupą kontrolną. Ponadto autorzy wskazują również na kolejny pozytywny aspekt stosowania szkolenia, czyli konieczność obserwacji okresu okołoporodowego i możliwość udzielenia koniecznej pomocy klaczy lub noworodkowi [Tischner i in. 2002].

## 6. WĄTPLIWOŚCI DOTYCZĄCE WCZESNEGO OSWAJANIA KONI

Kontrowersje wokół wczesnej obsługi koni dotyczą głównie szkolenia imprintingowego, opracowanego przez R. Millera. W przypadku tej techniki najwięcej wątpliwości budzi czas rozpoczęcia treningu, czyli okres poporodowy. Pierwsze godziny po wyźrebieniu są niezwykle istotne dla noworodka, a wszelkie nieprawidłowości i zakłócenia mają wyraźny wpływ na dalsze życie zwierzęcia [Tischner 1993]. W tym czasie ustala się także specyficzna więź między matką a noworodkiem. Przejawy zachowania matczynego klaczy widoczne są niemal natychmiast po porodzie. Na zachowania matczyne składają się takie czynności, jak pielęgnacja źrebięcia, unikanie nadeptnięcia lub położenia się na noworodka, umożliwienie i pomoc przy pobraniu mleka oraz ochrona źrebięcia przed potencjalnym niebezpieczeństwem poprzez ustawianie się między noworodkiem a zagrożeniem, w ostateczności atak i odpędzanie intruza. Spośród tych zachowań, niezwykle istotne jest lizanie źrebięcia przez klacz. Ma to na celu osuszenie noworodka, stymulację układu krążenia i układu oddechowego, a także zachęcenie źrebięcia do aktywności [Haupt 2002, Żurek i Danek 2011]. Najwięcej czasu na lizanie klacz przeznaczą w pierwszej godzinie po porodzie, w następnych godzinach zachowanie to niemal całkowicie zanika. Uwidacznia to, jak istotny jest zmysł smaku w procesie identyfikacji noworodka. Pozostałe zachowania matczyne są również najbardziej intensywne w pierwszych godzinach. Następnie częstotliwość ich spada pod-



czas pierwszych 3 dni życia noworodka do czasu, gdy specyficzna więź między kłaczą a jej źrebkiem ustabilizuje się [Grogan i McDonnell 2005, Żurek i Danek 2011].

Matczyzna opieka, którą kłacz otacza swoje potomstwo po porodzie, jest niezbędna dla przetrwania źrebka. Dlatego wszelkie czynności człowieka, w trakcie których źrebie jest odseparowane od kłaczki, mogą mieć negatywny wpływ na proces tworzenia się delikatnej więzi kłacz – źrebie. Wielu autorów podaje, iż ingerencja człowieka we wczesnym okresie powstawania tej więzi, czyli zaraz po porodzie, predysponuje kłacz do anormalnych zachowań matczynych, takich jak odrzucenie źrebka [Simpson 2002, Żurek i Danek 2012]. Takie nieprawidłowości zdarzają się u kłaczki stosunkowo rzadko, jednak należy pamiętać, iż odrzucenie źrebka stanowi zagrożenie dla życia i zdrowia noworodka. W przypadku odrzucenia żywieniowe i behawioralne potrzeby źrebka nie mogą zostać spełnione, a wszelkie techniki sztucznego odchowu noworodka są bardzo kosztowne i czasochłonne dla hodowcy [Juarbe-Diaz i in. 1998, Żurek i Danek 2012].

Innym problemem, wynikającym ze szkolenia imprintingowego w pierwszej godzinie po wyźrebieniu, jest możliwe opóźnienie pobierania siary przez noworodka. Badania nad zachowaniem się adaptacyjnym noworodków wykazały, że źrebięta po raz pierwszy podnosiły się między 30. a 130. minutą życia [Tischner i in. 1985, 1996, Żurek i Danek 2011]. Ogólnie przyjmuje się, że źrebięta wstają w pierwszej godzinie po porodzie. Gdy już zaadaptują się do pozycji stojącej, szukają matki i próbują pobrać pierwsze mleko – siarę [Tischner i in. 1985]. Pierwsze pobranie siary ma miejsce między 45. a 200. minutą po porodzie [Tischner i in. 1985, 1996, Żurek i Danek 2011]. Uśredniając te wartości, można stwierdzić, że pierwsze pobranie siary następuje najczęściej w drugiej godzinie po wyźrebieniu. Jak najszybsze pobranie mleka jest niezwykle istotne ze względu na nabywanie odporności przez źrebie. Chociaż noworodek jest zdolny do odpowiedzi immunologicznej, to w momencie porodu jest niemal pozbawiony immunoglobulin [Włodarczyk-Szydlowska i in. 2005]. Dzieje się tak dlatego, iż źrebięta w odróżnieniu od innych gatunków zwierząt rodzą się całkowicie pozbawione odporności biernej, ponieważ nabłonkowo-kosmówkowe łożysko kłaczki nie pozwala na przenikanie przeciwciał odpornościowych z krwiobiegu kłaczki do płodu [Tischner i in. 1985, Włodarczyk-Szydlowska i in. 2005]. Źrebie zaraz po porodzie nie jest w stanie bronić się przed infekcjami, ponieważ rozwijając się w sterylnym środowisku macicy (wolnym od bodźców antygenowych), nie ma możliwości nabycia odporności czynnej na antygeny. W rezultacie jedynym źródłem nabywania biernej odporności jest dla noworodka siara [Tischner i in. 1985, Tischner 1993, Kita 2002]. W pierwszych godzinach po urodzeniu działają mechanizmy chroniące immunoglobuliny przed ich strawieniem w przewodzie pokarmowym. Wchłanianie białek siary dokonywane jest przez komórki nabłonka jelita cienkiego – enterocyty – w procesie pinocytozy. Przebiega on najintensywniej w okresie od 3 do 6 godzin po porodzie, po czym jego efektywność stopniowo maleje [Witkowski i in. 2005, Włodarczyk-Szydlowska i in. 2005]. Następnie enterocyty są wypierane przez dojrzałe formy komórek i po ok. 24 godzinach nie obserwuje się ich w ogóle. Źrebięta, które z różnych względów nie pobrały i nie zaabsorbowały w odpowiednim czasie dobrej jakości siary, narażone są nie tylko na infekcje, ale również na wyczerpanie zapasów energetycznych i zaliczane są do grupy wysokiego ryzyka zachorowania. Obniżona odporność lub jej całkowity brak kończą się prawie zawsze śmiercią źrebka lub przewlekłymi schorzeniami, powodującymi zaburzenia wzrostu i rozwoju [Tischner i in. 1996]. Twórca szkolenia imprintingowego zapewnia, że pierwszy etap treningu, który odbywa się zaraz po wyźrebieniu, trwa tylko godzinę. W związku z tym, nie powinno kolidować to z pierwszym pobraniem siary



przez źrebię [Miller 2001]. Należy jednak pamiętać, że jeśli noworodek będzie opierał się podczas szkolenia, należy przeprowadzać je tak długo, aż źrebię ustąpi. Może to wydłużyć cały proces szkolenia, efektem czego będzie późniejsze pobranie siary [Haupt 2007].

Ponadto wielu autorów podważa samą ideę wdrukowywania zachowań i odruchów źrebięcia przez człowieka natychmiast po porodzie. Szczególnie mylący jest sam termin: „szkolenie imprintingowe”, bowiem imprinting jest utrwaleniem wizerunku matki (lub innego zwierzęcia) w tzw. okresie krytycznym. W szkoleniu imprintingowym źrebię nie przyswaja natomiast człowieka jako społecznej preferencji. Sposób przeprowadzenia szkolenia opracowanego przez Millera nie odpowiada ponadto naturalnemu wdrukowywaniu informacji ze środowiska. Noworodek jest w stanie przyswoić tylko takie zachowania, do których nie jest zmuszany [Spier i in. 2004]. Naukowcy wskazują na negatywne efekty używania siły w kontaktach z noworodkiem, a źrebięta podczas szkolenia często stawiają opór [Henry i in. 2005].

Kolejne wątpliwości dotyczące techniki imprintingowej odnoszą się do skuteczności tej metody. Długotrwałe efekty szkolenia zostały stwierdzone tylko na podstawie niepotwierdzonych doniesień od właścicieli koni, którzy zastosowali te założenia treningowe [Spier i in. 2004]. Na podstawie obserwacji naukowych, prowadzonych na koniach, które poddane zostały procedurze imprintingowej, nie wykazano długofalowych efektów poza zmniejszaniem strachu przed człowiekiem [Mal i in. 1994, Williams i in. 2002, Lansade i in. 2004, Henry i in. 2007]. Należy jednak brać pod uwagę fakt, iż wyniki te trudno porównywać ze sobą, ponieważ w badaniach tych stosowano różne rodzaje wczesnej obsługi. Metody te różniły się między sobą czasem rozpoczęcia oraz zakończenia szkolenia, a także liczbą powtórzeń. Ponadto efekty tych technik sprawdzane były na różnym etapie życia koni [Haupt 2007].

## 7. PODSUMOWANIE

Szkolenie imprintingowe jest metodą budzącą pewne kontrowersje. Wiedza o wczesnej obsłudze koni nie jest jeszcze usystematyzowana [Waran i in. 2008]. Pytania o efektywność wczesnego szkolenia źrebiąt nadal pozostają bez odpowiedzi [Henry i in. 2005]. Nie ulega jednak wątpliwości, że poprzez aktywny i pozytywny kontakt z człowiekiem zwierzęta stają się mniej bojaźliwe w stosunku do ludzi i nowego środowiska [Jezierski i in. 1999]. Pod uwagę należy także brać wpływ więzi człowiek – klacz na relację człowiek – źrebię [Henry i in. 2005]. Istnieje konieczność prowadzenia dalszych badań z zastosowaniem różnych technik szkoleniowych [Williams i in. 2002].

## LITERATURA

- Bogucka-Ścieżyńska A., 1998. Behawior konia wierzchowego – wybrane zagadnienia. *Magaz. Wet.* 3, 206-210.
- De Pasille A.M., Rushen J., Ladewig J., Petherick C., 1996. Dairy calves discrimination of people based on previous handling. *J. Anim. Sci.* 74, 969-974.
- Grogan E.H., McDonnell S.M., 2005. Mare and foal bonding and problems. *Clin. Tech. Equine Pract.* 4, 228-237.
- Hausberger M., Roche H., Henry S., Visser E.K., 2008. A review of the human-horse relationship. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 109, 1-24.

- Henry S., Briefer S., Richard-Yris M.A., Hausberger M., 2007. Are 6-Month-Old Foals Sensitive to Dam's Influence? *Dev. Psychobiol.* 49, 514-521.
- Henry S., Hemery D., Richard-Yris M.A., Hausberger M., 2005. Human-mare relationships and behaviour of foals toward humans. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 93, 341-362.
- Houpt K.A., 2002. Formation and dissolution of the mare-foal bond. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 78, 319-328.
- Houpt K.A., 2007. Imprinting training and conditioned taste aversion. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 76, 14-16.
- Jeziński T., Jaworski Z., Górecka A., 1999. Effects of handling on behaviour and heart rate in Konik horses: comparison of stable and forest reared youngstock. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 62, 1-11.
- Juarbe-Diaz S.V., Houpt K.A., Kusunose R., 1998. Prevalence and characteristics of foal rejection in Arabian mares. *Equine Vet. J.* 30, 424-428.
- Kita J., 2002. Problemy zdrowia źrebiąt w okresie neonatalnym. *Magaz. Wet.* 67, 59-62.
- Lansade L., Bertrand M., Boivin X., Bouissou M.F., 2004. Effects of handling at weaning on manageability and reactivity of foals. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 87, 131-149.
- Mal M.E., McCall C.A., Cummins K.A., Newland M.C., 1994. Influence of preweaning handling methods on post-weaning learning ability and manageability of foals. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 40, 187-195.
- Miller R.M., 1999. Szkolenie żrebaków. [W:] R.M. Miller, *Sekrety końskiego umysłu*, Galaktyka Łódź, 69-77.
- Miller R.M., 2001. Fallacious studies of foal imprint training. *J. Equine Vet. Sci.* 21, 102-105.
- Nowicka-Posłuszna A., 2003. Z zagadnień psychologii – wprowadzenie. *Hodowca i Jeździec* 1, 20-24.
- Przybyłowicz N., 2012. Wczesne szkolenie żrebiąt. *Hodowca i Jeździec* 34, 34-37.
- Simpson B.S., 2002. Neonatal foal handling. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 78, 303-317.
- Sondergaard E., Halekoh U., 2003. Young horses' reaction to humans in relation to handling and social environment. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 84, 265-280.
- Spier S.J., Pusterla J.B., Villarroel A., Pusterla N., 2004. Outcome of tactile conditioning of neonates, or "imprint training" on selected handling measures in foals. *Vet. J.* 168, 252-258.
- Tischner M., 1993. Zdrowie i jego zagrożenia podczas pierwszych 24 godzin życia źrebięcia. *Mat. sympozjum Profilaktyka i terapia w odchowie młodych zwierząt*, Olsztyn, 135-141.
- Tischner M., Fudali J., Kuchejda B., 1985. Obserwacje porodu u kłaczy i pierwszych odruchów żrebiąt. *Med. Wet.* 41, 721-724.

Tischner M., Modzelewska M., Cieślińska B., Tischner M., 2002. Badania nad wczesnym oswajaniem źrebiąt. *Życie Wet.* 77, 301-303.

Tischner M., Niezgoda J., Wieczorek E., Mękarska A., Lisowska A., 1996. Ocena jakości siary klaczy. *Med. Wet.* 52, 381-383.

Waran N.K., Clarke N., Farnworth M., 2008. The effects of weaning on the domestic horse (*Equus caballus*). *Appl. Anim. Behav. Sci.* 110, 42-57.

Williams J.L., Friend T.H., Toscano M.J., Collins M.N., Sisto-Burt A., Nevill C.H., 2002. The effects of early training sessions on the reactions of foals at 1, 2, and 3 months of age. *Appl. Anim. Behav. Sci.* 77, 105-114.

Witkowski M., Max A., Giziński S., Zajac S., 2005. Status immunologiczny źrebięcia. *Życie Wet.* 80, 110-112.

Włodarczyk-Szydlowska A., Gniazdowski A., Gniazdowski M., Nowacki W., 2005. Czynniki warunkujące absorpcję jelitową immunoglobulin siarowych u nowo narodzonych źrebiąt. *Życie Wet.* 80, 631-633.

Żurek U., Danek J., 2011. Maternal behaviour in mares and the condition of foals after parturition. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 55, 451-456.

Żurek U., Danek J., 2012. Foal rejection – characteristics and therapy of inadequate maternal behaviour in mares. *Ann. Anim. Sci.* 12, 141-149.