Behaviour and performance assessment in Felin Pony
Summary

The study included assessment of mental traits' quality, movement and physiological efficiency in 16 mares and 5 stallions of Felin Pony. Mental traits were evaluated using fearfulness test by Budzyński method. During tests the heart rate (beats/min) was measured using electronic monitor apparatus Hippocard-Polar Sport Tester PEH 4000. High level of nervous balance in the examined horses was found that allows for their versatile, safe and effective performance. Total mean point score of fearfulness test in optic scheme was 19.00 ±1.79 in mares and it was higher by 0.80 points in comparison with stallions (18.20 ±2.05 points). Quite high Felin Pony movement efficiency in walk and trot expressed by length and frequency of step as well as movement speed is similar to movement traits found in Hucul and Polish Konik horses. The dependences between mental traits' quality, walk efficiency and heart rate can be employed for more extended and objective assessment of horse behaviour.

KEY WORDS: nervous irritability, movement efficiency, Felin Pony

Czy hodowlane zwierzęta futerkowe różnią się od dziko żyjącej norki, lisa pospolitego i jenota? – wstępne wyniki badań*

Grażyna Jeżewska-Witkowska, Iwona Rozempolska-Rucińska, Brygida Ślaska, Kornel Kasperek, Andrzej Jakubczak, Beata Horecka, Sylwia Nisztuk

Katedra Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej UP w Lublinie

Zwierzęta futerkowe utrzymywane są w chowie fermowym od ponad 100 lat. Z faktem tym wiąże się stopniowy proces ich udomowienia, z którego wynika szereg zmian zarówno w fizjologii, morfologii, jak i behawiorze poszczególnych gatunków. Typowymi zmianami obserwowanymi w procesie domestykacji jest zwiększenie zmienności wielu cech – umaszczenia, wielkości zwierzęcia, jego budowy, zanik sezonowości w rozrodzie, czy też zmniejszenie mózgu i skrócenie części twarzowej czaszki. Istotnym elementem jest też wygaśnięcie instynktu ucieczki przed człowiekiem i uzależnienie pokarmowe od niego. Widoczne zmiany są zwykle wynikiem dryfu genetycznego, mutacji, selekcji i stopnia zinbredowania. Bardzo ważną rolę w procesie udomowienia odgrywa człowiek, poprzez świadomie prowadzoną pracę hodowlaną i związane z tym zmiany w genotypie zwierząt. W ostatnich latach hodowla zwierząt futerkowych budzi znaczne kontrowersje. Uwzględniając zarówno dobro zwierząt, jak również ich rolę i znaczenie w ekosystemie, należałoby obecnie dokładnie zweryfikować, jak bardzo zaawansowany jest proces domestykacji mięsożernych zwierząt futerkowych. Tym bardziej, iż można się spotkać z opinią, że dziko żyjące populacje tworzone są przez zwierzęta wydostające się z ferm. Natomiast pilotażowe badania wskazują, że proces udomowienia sięga na tyle głęboko, że populacje dziko żyjące i fermowe są już od siebie znacznie różne. Obecnie konieczna jest odpowiedź na pytanie, w jakim stopniu proces udomowienia wpłynął na biologię i behawior tych zwierząt. Próbę opracowania tych zagadnień podjęto w projekcie rozwojowym kierowanym przez prof. dr hab. Grażynę Jeżewską-Witkowską z Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie, przy współudziale wielu jednostek naukowych: Instytutu Zootechniki PIB, Zachodniopomorskiego Uniwersytetu Technologicznego w Szczecinie, Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP w Lublinie, Uniwersytetu Rzeszowskiego.

Celem badań zaplanowanych w projekcie jest porównanie poziomu wybranych cech fenotypowych, cytogenetycznych i genetycznych w populacjach hodowlanych i dziko żyjących norek amerykańskich, jenotów i lisów pospolitych, w tym:

- określenie różnic w budowie przewodu pokarmowego, jego poszczególnych odcinków u zwierząt hodowlanych i dziko żyjących;
- wykazanie, w jakim stopniu hodowle fermowe wybranych gatunków spowodowały zmiany w funkcjonowaniu ich przewodu pokarmowego w porównaniu do dziko żyjących protoplastów;
- ocena liczebności populacji zwierząt dziko żyjących metodą całorocznej obserwacji oraz ich zagęszczenia i penetracji w terenie;
- wybór markerów chromosomowych u norek, lisów pospolitych i jenotów hodowlanych oraz dziko żyjących, ocena ich polimorfizmu oraz porównanie obserwowanych form polimorficznych w celu odróżnienia zwierząt hodowlanych i dziko żyjących;
- określenie różnic w sekwencjach nukleotydowych wybranych genów oraz podobieństw i różnic genetycznych pomiędzy populacjami zwierząt dziko żyjących i hodowlanych na podstawie analizy wybranych sekwencji mikrosatelitarnych i polimorfizmu genów;
- porównanie poziomu wybranych cech układu powłokowego u zwierząt hodowlanych i dziko żyjących, określenie zależności i różnic między parametrami skór futrzarskich, które pozwoli stwierdzić, w jakim kierunku przebiegał proces przekształcenia cech układu powłokowego w wyniku domestykacji.

Tak szeroki zakres badań i ocena zwierząt pozwoli w przyszłości na opracowanie zestawu norm umożliwiających klasyfikację zwierząt na hodowlane lub wolno żyjące.

Na obecnym etapie badań nie można jeszcze uzyskać jednoznacznych odpowiedzi na wszystkie postawione pytania, jednak pewne elementy domestykacji zaznaczają się wyraźnie. Jedną z najbardziej złożonych struktur w organizmie jest czaszka. Istnieją zależności pomiędzy jej budową a pozostałymi elementami organizmu. Jest to także struktura, która ulega zmianom właśnie w procesie domestykacji, a różnice w jej budowie są podstawą w taksonomii gatunków. Stąd też jako jeden z pierwszych elementów przebadano różnice w budowie czaszki zwierząt dziko żyjących i fermowych. Wykazano, że czaszki zwierząt hodowlanych charakteryzowały się znacznie większymi rozmiarami. Jednak najciekawszym spostrzeżeniem było stwierdzenie zmian w ich kształcie. Stwierdzono zmniejszanie się mózgoczaszki i trzewioczaszki, co wskazuje na postępujący proces udomowienia. Wyniki badań przeprowadzonych w ramach projektu wykazały również zmiany zachodzące w obrębie żuchwy, długości przewodu pokarmowego, a także jego funkcjonowaniu. Selekcja w kierunku wyższej produkcyjności zaowocowała zmianą metabolizmu i podwyższeniem strawności składników pokarmowych u zwierząt hodowlanych [3].

Jednym z priorytetowych zagadnień jest ocena zmienności genetycznej populacji hodowlanych i dziko żyjących. Selekcja prowadzona w kolejnych pokoleniach przyczyniła się do zmian fenotypowych zwierząt, między innymi zwiększenia rozmiarów ciała, poprawy jakości okrywy włosowej, czy też pojawienia się licznych odmian barwnych nie występujących w środowisku naturalnym. Odzwier-

ciedleniem tych zmian mogą być różnice w genotypie zwierząt. Określenie różnic genetycznych między zwierzętami utrzymywanymi na fermach a dziko żyjącymi pozwoli odpowiedzieć na pytanie: czy proces domestykacji dotyczy również genotypu zwierząt, a także, czy ewentualne ucieczki zwierząt fermowych do środowiska naturalnego wpływają na zmiany struktury genetycznej populacji dziko żyjących. Zagadnienie to jest opracowywane przez zespół prof. dr hab. Grażyny Jeżewskiej-Witkowskiej: dr hab. Brygidę Ślaską, prof. nadzw. UP, dr hab. Iwonę Rozempolską-Rucińską, dr hab. Beatę Seremak, dr. Andrzeja Jakubczaka oraz dr. Kornela Kasperka w Katedrze Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej UP w Lublinie. W badaniach wykorzystywane są markery mikrosatelitarne oraz geny mitochondrialne i jądrowe. Przydatnym narzędziem do badania różnic genetycznych pomiędzy populacjami są punktowe mutacje DNA, powstające w wyniku takich zmian, jak: insercja, delecja, tranzycja lub transwersja – SNP (Single Nucleotide Polymorphism). Zaletą tego podejścia jest analizowanie amplifikowanych stosunkowo krótkich fragmentów, co jest szczególnie przydatne w przypadku silnie zdegradowanego materiału biologicznego. Dzięki znajomości różnic w sekwencjach nukleotydowych wybranych genów możliwe jest opracowanie testów molekularnych do identyfikacji zwierząt dziko żyjących i fermowych. Ustalenie molekularnych różnic pomiędzy dziko żyjącymi i hodowlanymi populacjami może być szczególnie przydatne w ocenie zagrożenia, jakim może skutkować ewentualna ucieczka zwierząt fermowych. Dzięki temu możliwa jest odpowiedź na kontrowersyjne i nurtujące wiele środowisk pytanie: czy zwierzę fermowe wydostające się na wolność ma możliwość adaptacji w środowisku naturalnym, a w szczególności możliwość krzyżowania się z dzikimi przedstawicielami swojego gatunku?

Badania prowadzone z użyciem markerów molekularnych umożliwiły określenie bioróżnorodności i stwierdzenie odrębności genetycznej jenotów hodowlanych i dziko żyjących. Otrzymane wyniki wskazują, że praca hodowlana prowadzona w fermach może prowadzić do wyodrębnienia innej filogenetycznej linii, w porównaniu z jenotami dzikimi. Dystans genetyczny między zwierzętami utrzymywanymi w różnych fermach był mniejszy w porównaniu z odległościami między zwierzętami fermowymi i dziko żyjącymi [8, 10].

Wyniki badań zróżnicowania genetycznego lisów pospolitych polskiej populacji hodowlanej oraz dwóch populacji wolno żyjących (z Polski i Kanady) wskazały na ich odrębność genetyczną [6]. Analizy przeprowadzone z wykorzystaniem 16 markerów mikrosatelitarnych (Ren01E05, Ren02K21, Ren06C11, Ren13J22, Ren37H09, Ren39L15, Ren41D20, Ren44K10, Ren67C18, Ren02C20, Ren02P03, Ren04M22, INU013, INU014, INU019, INU020) pozwoliły na identyfikację 24 specyficznych alleli w populacji lisów dziko żyjących. Określono także w 6 *loci* allele wspólne dla lisów hodowlanych i dziko żyjących lisów kanadyjskich. Wyższymi wartościami indeksu stopnia polimorfizmu oraz heterozygotyczności obserwowanej i oczekiwanej charakteryzowały się obie grupy osobników dziko żyjących, w porównaniu ze zwierzętami hodowlanymi. Autorzy stwierdzili, że lisy pospolite hodowane na polskich fermach i lisy dziko żyjące zamieszkujące tereny Polski stanowią dwie grupy zwierząt wysoce odrębne pod względem genetycznym [6]. Okazuje się, że polska populacja hodowlana lisów wykazuje większe podobieństwo genetyczne do populacji dzikiej żyjącej w Kanadzie, w porównaniu ze zwierzętami wolno żyjącymi z Polski. Potwierdza to tym samym historyczne dane o kanadyjskim pochodzeniu zwierząt utrzymywanych na fermach w Polsce. Istotnym faktem jest również to, że pula alleli w populacji hodowlanej lisów jest znacznie mniejsza, w stosunku do zwierząt dziko żyjących. Prawdopodobnie jest to wynik selekcji i preferencji osobników o określonych genotypach, ze względu na poziom cech użytkowych. Dobór naturalny będzie preferował cechy, które nie są uwzględniane w selekcji, a nawet eliminowane przez selekcję [6].

Analogiczne wyniki dotyczące poziomu zmienności genetycznej uzyskano w przypadku norek. Jednak analiza odległości genetycznych pomiędzy kolejnymi populacjami okazała się już odmienna [5]. Badania zmienności międzygrupowej przeprowadzono na licznym materiale (100 norek hodowlanych i 90 dzikich, w tym 37 z Polski i 53 z Kanady) z wykorzystaniem 10 sekwencji mikrosatelitarnych (Mvi1302, Mvi1321, Mvi1843, Mvi4054, Mvi5001, Mer022, Mvi1341, Mvi1354, Mvi4066, Mvi4055). Stwierdzono, że największy dystans genetyczny istnieje pomiędzy zwierzętami hodowanymi w Polsce a dzikimi pochodzącymi z Kanady. Interesujący jest też fakt, że polskie norki dzikie są bliżej spokrewnione z wolno żyjącymi w Kanadzie, aniżeli ze zwierzętami hodowanymi na terenie Polski [5]. Tym samym może to sugerować, że żyjąca obecnie w Polsce dzika norka amerykańska to faktycznie efekt masowego wypuszczania z ferm norki amerykańskiej w latach 50. XX wieku na terenie byłego Związku Radzieckiego [1, 5]. W wyniku ekspansji zwierzęta zdziczałe pojawiły się także w Polsce, zasiedlając tereny w pobliżu zbiorowisk wodnych.

Jednak wstępne badania dotyczące genomu mitochondrialnego zaprzeczają tej hipotezie. Genom mitochondrialny u większości gatunków zwierząt jest niemal zawsze dziedziczony w linii matczynej i rzadko, jeśli w ogóle, podlega rekombinacji. Jest także obecny w wielu kopiach w większości komórek organizmu. U wielu gatunków, w tym także u ssaków, część sekwencji mtDNA ewoluuje bardzo szybko w porównaniu z genami genomu jądrowego, toteż mtDNA może być wykorzystany do analizy struktury oraz niedawnej historii populacji [4].

W realizowanym projekcie badawczym przeanalizowano sekwencję fragmentu genu mitochondrialnego podjednostki drugiej oksydazy cytochromowej – *COII* o długości 453 pz i 322 pz fragmentu genu kodującego cytochrom b – *CYTB*. Analiza tych fragmentów genów wskazuje na bliższe pokrewieństwo dzikich norek z terenu Polski z norkami hodowlanymi, aniżeli z osobnikami dzikimi z Kanady. Daje to podstawy do wnioskowania o trwałym zasilaniu dzikiej populacji osobnikami z ferm. Problem ten jest zauważalny również w innych krajach [2, 7], jednak właściwa profilaktyka może go wyeliminować. Pojawiające się sprzeczności wymagają uściślenia i kontynuacji badań. Obecnie prowadzone są dalsze etapy badań, polegające na analizie przesiewowej (SSCP) oraz sekwencjonowaniu kolejnych fragmentów genów mitochondrialnych, które umożliwią pełne wnioskowanie na temat zasilania dzikiej populacji przez zwierzęta fermowe.

Analiza sekwencji genów mtDNA umożliwiła również ocenę różnorodności haplotypów jenotów. Sekwencje kodujące genów: *CYTB, COI, COII* zostały zdeponowane w GenBank (numer dostępu odpowiednio: JN703387, JN703388, JN703389). Odnotowano różnice dotyczące występowania haplotypów poszczególnych genów jenotów dzikich i hodowlanych. Określono 7 haplogrup mitochondrialnych, przy czym jedynie 3 z nich występowały u jenotów dzikich, a pozostałe 4 u jenotów hodowlanych. Żadna z haplogrup jenotów dzikich nie występowała u hodowlanych. Różnorodność haplogrup mogła być jednym z czynników wpływających na zmianę fenotypu jenotów hodowlanych w stosunkowo krótkim okresie w odniesieniu do selekcjonowanych cech użytkowych. Wystąpienie nowych haplotypów i haplogrup mitochondrialnych u zwierząt hodowlanych, w porównaniu ze zwierzętami dziko żyjącymi, wskazuje na powstawanie u nich mutacji adaptacyjnych [9].

Podsumowując, projekt realizowany w Katedrze Biologicznych Podstaw Produkcji Zwierzęcej przez zespół prof. dr hab. Grażyny Jeżewskiej-Witkowskiej zmierza do opracowania molekularnych norm pozwalających na jednoznaczną identyfikację zwierząt hodowlanych i dziko żyjących. Fakt ten miałby istotne znaczenie zarówno dla ochrony środowiska naturalnego, jak i dla prawidłowej organizacji ferm mięsożernych zwierząt futerkowych.

**Praca finansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, projekt rozwojowy nr 12-0140-10*

Literatura: 1. Birnbaum C., 2006 – NOBANIS – invasive alien species fact sheet – *Mustela vison*. Online Database of the North European and Baltic Network on Invasive Alien Species. www.nobanis.org. **2. Bowman J., Kidd A.G., Gorman R.M., Schulte-Hostedde A.I.**, 2007 – Biological Conservation

139, 12-18. **3. Felska-Błaszczyk L., Baranowski P., Seremak B., Pęzińska K., Nowak P., Lasota B., Stelter O.**, 2013 – Domestication of the red fox (*Vulpes vulpes*) captured in pectoral limb bones. Med. Weter. (w druku). **4. Hartl D.L., Clark A.G.**, 2009 – Podstawy genetyki populacyjnej. Wyd. UW, Warszawa. **5. Horecka B., Jeżewska-Witkowska G., Kasperek K., Jakubczak A., Ślaska B., Bugno-Poniewierska M., Piórkowska M.**, 2012 – Genetic structure of wild and farm-bred American Mink (*Neovison vison*). Genetic Days, Wrocław. **6. Jeżewska-Witkowska G., Horecka B., Jakubczak A., Kasperek K., Ślaska B., Bugno-Poniewierska M., Piórkowska M.**, 2012 – Annals of Animal Science 12 (4), 501-512. **7. Kidd A.G., Bowman J ., Lesbarréres D., Schulte-Hostedde A.I.**, 2009 – Molecular Ecology 18, 1175-1186. **8. Ślaska B.**, 2010 – Genomika strukturalna jenota (*Nyctereutes procyonoides procyonoides*). Rozprawy Naukowe UP w Lublinie, zeszyt 348. **9. Ślaska B., Grzybowska-Szatkowska L.**, 2011 – Mitochondrial DNA 22 (4), 105-110. **10. Ślaska B., Zięba G., Rozempolska-Rucińska I., Jeżewska-Witkowska G., Jakubczak A.**, 2010 – Folia Biologica (Kraków) 58, 3-4, 195-199.

Do breeding fur animals differ from wild-living mink, red fox and raccoon dog? – preliminary results of the studies

Summary

The project which is accomplished in the Department of Biological Backgrounds of Animal Production by a team of prof. Grażyna Jeżewska-Witkowska is aimed at development of the standards allowing for identification by phenotype and genotype of farm-bred and wild animals, including: American mink, red fox and raccoon dog. The obtained results suggest that the domestication process contributed to increase the diversity of farm animals (coat color, body weight), as well as to a number of changes in physiology and anatomy. Domestication is also associated with the formation of a number of mutations and polymorphisms at the molecular level. The differences observed at the phenotypic/DNA level will be used to develop tests enabling the identification of the affiliation of mink, fox and raccoon dog to a group of farm or wild-living animals. This fact will be important both for the environmental protection and also for the proper organization of the carnivorous fur farms.

KEY WORDS: American mink, red fox, raccoon dog, farm animals, wild animals

Zanieczyszczenia mikrobiologiczne powietrza zakładów utylizujących odpady pochodzenia zwierzęcego

Leszek Tymczyna, Anna Chmielowiec-Korzeniowska, Agata Drabik, Łukasz Krzosek

Katedra Higieny Zwierząt i Środowiska UP w Lublinie

Produkty uboczne pochodzenia zwierzęcego (PUPZ) to produkty nieprzeznaczone do spożycia przez ludzi, w tym tusze i części tusz, padłe zwierzęta, surowce odpadowe z rzeźni i odrzucone środki spożywcze zawierające surowce pochodzenia zwierzęcego. Do 2000 roku gospodarka odpadami pochodzenia zwierzęcego opierała się głównie na ich przetwarzaniu na mączki mięsno-kostne przeznaczone na pasze dla zwierząt gospodarskich. Z chwilą wprowadzenia w UE zakazu wykorzystywania ich w żywieniu zwierząt rzeźnych (w Polsce od 1999 r. dla bydła i od 2003 r. dla trzody chlewnej i drobiu) w wielu krajach pojawił się istotny problem z prawidłową i ekonomicznie opłacalną utylizacją odpadów poprodukcyjnych.

Według danych GUS, w Polsce w 2008 roku aż 95% odpadów, tj. ponad 1,5 mln ton odpadów zwierzęcych pochodziło z przemysłu spożywczego, głównie przemysłu mięsnego, z czego ponad 90% zbieranych było w zakładach ubojowych. W 2009 roku w zakładach mięsnych poddano ubojowi ponad 16,5 mln szt. trzody chlewnej, 1,4 mln szt. bydła oraz ponad 1,7 mln t drobiu. Uwzględniając wskaźniki wydajności rzeźnej, masa odpadów powstałych w tych zakładach wyniosła 1,4-1,6 mln ton. Część z nich była wykorzystana do produkcji żywności (tłuszcze jadalne, żelatyna) i paszy, część jako surowiec dla przemysłu garbarskiego, zaś reszta stanowiła odpad wymagający utylizacji. Według danych uzyskanych z biura Głównego Lekarza Weterynarii, ilość odpadowej tkanki zwierzęcej przekazanej w 2009 r. do zakładów utylizacyjnych wyniosła 854 712 ton. Masa ta obejmowała również zwierzęta padłe i ubite z konieczności oraz odpadową tkankę zwierzęcą, stanowiącą materiał szczególnego i wysokiego ryzyka.

Bezpieczne przetwarzanie odpadów pochodzenia zwierzęcego w zakładach utylizacyjnych eliminuje zagrożenia epidemiologiczne, zapewnia ochronę środowiska przyrodniczego przed drobnoustrojami chorobotwórczymi oraz pozwala na uzyskanie takich produktów, jak mączka zwierzęca i tłuszcz. Zatem cały proces utylizacji niejadalnych produktów zwierzęcych, począwszy od zbiórki padłych zwierząt, a skończywszy na procesie ich spalania, spełnia ważną rolę sanitarno-higieniczną, proekologiczną oraz ekonomiczną. Niestety sama działalność tego typu zakładów może być istotnym zagrożeniem dla środowiska naturalnego. Zwłaszcza że, jak donoszą raporty Programu Restrukturyzacji i Modernizacji Przemysłu Utylizacyjnego, prowadzonego przez Komitet Integracji Europejskiej, standard technologiczny i sanitarny polskiego przemysłu utylizacyjnego jest niski. Do podstawowych zagrożeń występujących w tego rodzaju przetwórstwie można zaliczyć zagrożenia chemiczne: pozostałości detergentów, pestycydy, metale ciężkie, zanieczyszczenia organiczne, mykotoksyny, PCB, dioksyny, produkty uboczne procesu technologicznego, w tym organiczne zanieczyszczenia gazowe oraz zagrożenia mikrobiologiczne, a zwłaszcza bakterie z rodzaju *Salmonella* i *Enterobacteriaceae*, oraz grzyby, pleśnie i priony.

Przeprowadzono badania, których celem była analiza składu mikrobiologicznego powietrza w zakładzie utylizującym odpady pochodzenia zwierzęcego.

Oznaczenia wykonano 3-krotnie. Próby powietrza do analiz mikrobiologicznych pobierano w 4 punktach kontrolnych: w sektorze „brudnym" – w hali sekcyjnej, w sektorze „czystym" – w hali destruktorów i magazynie produktów oraz poza obiektem, tj. 100 m od granicy zakładu.

Ocenę zanieczyszczenia mikrobiologicznego przeprowadzono zgodnie z polską normą PN-EN 13098:2007 metodą aspiracyjną, przy zastosowaniu aspiratora GilAir 5 (Sensdidyne, Inc., Clearwater, USA). Filtry z pobranym pyłem zanurzano w jałowym 0,85% NaCl (z dodatkiem 0,05% Tween 80 jako emulgatora) i ekstrahowano przez 1 godzinę. Następnie przygotowano szereg dziesięciokrotnych rozcieńczeń badanych próbek w roztworze soli fizjologicznej. Próby powietrza posiane na podłoże TSA inkubowano przez 7 dni w temperaturze 37°C (1 doba), 22°C (3 doby) i 4°C (3 doby). Po inkubacji wyrosłe kolonie mikroorganizmów oceniano makro- i mikroskopowo. Następnie wyznaczano liczbę poszczególnych typów morfologicznych, wyrażoną zawartością jednostek tworzących ko-