



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

RAPORT Z BADAŃ NAUKOWYCH OPERACJI

pt.:

„Wzrost konkurencyjności spółki na rynku drobiarskim poprzez wdrożenie innowacyjnej organizacji produkcji, marketingu oraz technologii lęgu piskląt indyków”

realizowanych w ramach DZIAŁANIA 16 „Współpraca”

programu PROW 2014-2020

Celem zaplanowanej operacji było wprowadzenie i wdrożenie innowacyjnego systemu technologii lęzenia piskląt indyków i ich transportu prowadzącego do uzyskania piskląt indyckich o wysokiej jakości biologicznej w warunkach ograniczonego stresu oraz zwiększenia zysków związanych z ich hodowlą.

Badania naukowe związane z projektem „Wzrost konkurencyjności spółki na rynku drobiarskim poprzez wdrożenie innowacyjnej organizacji produkcji, marketingu oraz technologii lęgu piskląt indyków” podzielone były na dwa główne etapy:

I. Badania przeprowadzone w zakładzie wylęgu drobiu w Skwierzynie obejmowały:

1. Opracowanie oraz wdrożenie optymalnych parametrów lęgowych
2. Ocenę rozwoju przewodu pokarmowego oraz jego możliwych uszkodzeń w warunkach stresu
3. Ocenę rozwoju narządów limfatycznych oraz odporności
4. Oszacowanie ryzyka zakażenia mikrobiologicznego zarodków i lęzonych piskląt
5. Ocenę wpływu innowacyjnego oraz tradycyjnego systemu lęzenia na częstotliwość zamierania określonej płci zarodków

II. Badania przeprowadzone na fermach obejmowały:

1. Ocenę hematokrytu oraz wybranych parametrów biochemicznych (glukoza, białko całkowite, cholesterol, trójglicerydy, kwas moczowy, jony: Na^+ , K^+ , Cl^-) w surowicy krwi piskląt z oraz bez dostępności do hydrożeli podczas transportu na gospodarzkę wodno-elektrolitową i cukrowo-tłuszczową.
2. Ocenę parametrów produkcyjnych (przyrosty wagowe, ilość spożytej paszy, śmiertelność) oraz aspektu ekonomicznego podczas tuczu indyków z obu technologii.



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

Lokalna Komisja Etyczna do spraw doświadczeń na zwierzętach w Lublinie uchwałą nr 121/2022 z dnia 28 listopada 2022r wyraziła zgodę na przeprowadzenie zaplanowanych doświadczeń w ww. projekcie.

WYNIKI BADAŃ PRZEPROWADZONYCH W ZAKŁADZIE WYLĘGU DROBIU W SKWIERZYNIE

1. Opracowanie oraz wdrożenie optymalnych parametrów lęgowych

W aparatach innowacyjnej technologii lęzenia zadawana jest temperatura maksymalna i minimalna. Oprócz temperatury aparatu, monitorowana jest także temperatura jaj. Wobec tego, wartości temperatury w aparacie dostosowywane są automatycznie do temperatury jaj. Ponadto, w obu typach aparatów różnie rozmieszczone są czujniki temperatury. W aparatach lęgowych starszego typu (tradycyjna technologia) czujnik temperatury znajduje się przy suficie nad pierwszym wózkiem, natomiast w nowego typu aparatach zamontowany jest w pobliżu drzwi na wysokości ok. 110cm. Dodatkowo, nowej generacji aparaty wyposażone są w czujnik temperatury jaj, który znajduje się na tylnym, lewym wózku. Nowym rozwiązaniem jest też sterowanie wilgotnością względną i sprzężenie jej z procesem wentylacji i poziomem CO₂. Stąd najprawdopodobniej wynikają różnice wartości temperatury w aparatach w poszczególnych dniach inkubacji w tradycyjnej (Tabela 1) i innowacyjnej technologii (Tabela 2).

Temperatura w inkubatorze w trakcie rozwoju zarodków jest wypadkową ciepła emitowanego z urządzeń grzewczych, ciepła metabolicznego zarodków, parowania wody przez skorupy i ochładzającego ruchu powietrza. W przypadku zbyt wysokiej temperatury w inkubatorze, zarodki mają trudność z wydalaniem nadmiaru ciepła poza skorupę. Dla przykładu, duże jaja wylęgowe wydzielają więcej ciepła i mają większe problemy z obniżeniem ciepłoty, w przeciwieństwie do jaj pochodzących ze stad młodych.

Ponadto, system operacyjny wykorzystujący sztuczną inteligencję we współpracy z systemem monitorującym parametry lęgu w nowej generacji aparatach podpowiada, jak należy rozmieścić wózki z jajami wylęgowymi w maszynie dla uzyskania najlepszych warunków dla rozwijających się zarodków. System informuje także, które jaja wylęgowe znajdujące się już w wylęgarni, mają być zestawione do procesu lęzenia (termin zniesienia, wiek stada rodzicielskiego).

Rozwiązania w nowej generacji aparatach niewątpliwie wpływają na polepszenie parametrów klimatu podczas inkubacji jaj, stwarzając optymalne środowisko dla rozwijających się zarodków, co znalazło odzwierciedlenie w jakości wyklutych indycząt oraz wylęgowości w grupach N1 i N3 w porównaniu do grup S1 i S3 (Tabela 3). Jedynie w powtórzeniu II odnotowano niższy odsetek



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”
wylęgowości w grupie N2 w porównaniu do grupy S2 spowodowany wyższą zamieralnością zarodków we wczesnym okresie inkubacji. Zamieranie zarodków w pierwszym okresie rozwoju może być skutkiem złego żywienia stada reprodukcyjnego, niewłaściwym przetrzymywaniem jaj przed nakładem lub nieodpowiednich warunków transportu do zakładu wylęgowego. Mimo to, w grupie N2 odsetek piskląt kalekich i słabych był niższy niż w grupie S2.

Tabela 1. Parametry klimatyczne lęgu jaj indyckich w tradycyjnej technologii (aparatusz starszej generacji).

Doba Inkubacji	Temperatura (F)	Wilgotność (F)	Wentylacja	Nawilżanie
Preinkubacja 14 godzin				
0	100	91	0	ON
1	100	91	0	ON
2	100	91	0	ON
3	99,8	91	0	ON
4	99,8	91	0	ON
5	99,6	91	0	ON
6	99,6	91	0	ON
7	99,6	91	0	ON
8	99,3	91	0	ON
9	99,3	86	0	ON
10	99,3	83	1,5	ON
11	99	80	1,5	OFF
12	99	80	4	OFF
13	99	80	4	OFF
14	99	78	4	OFF
15	99	78	4	OFF
16	99	76	4	OFF
17	98,6	76	4	OFF
18	98,5	74	4	OFF
19	98,5	74	4	OFF
20	98,1	74	4	OFF
21	98,1	74	4	OFF
22	98,1	74	4	OFF
23	98	74	2,4	ON
24	98	74	2,4	ON
25	98	74	2,4	ON
26	98	86	1	ON
27.08	97,7	86	1-1,5	ON
27.12	97,5	86	1,5-2	ON
27.14	97,2	86	2-2,5	ON



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

27.17	97	86	2,5-3	ON
27.20	97	86	3	ON

Ostatniego dnia po kropce umieszczono godzinę dla doby, w której następują zmiany warunków lęgu.

Skala wentylacji waha się między 1 a 4, gdzie 1 odpowiada 25%, a 4 – 100%; ON/OFF – włączone/wyłączone

Tabela 2. Parametry klimatyczne lęgu jaj indyckich w innowacyjnej technologii (aparatu nowej generacji).

Preinkubacja (h) /Doba inkubacji	Temperatura (F)	Temperatura jaja (F)	Wilgotność (F)	CO ₂ (%)	Wentylacja (%)
-12	75	-	93	-	15
-6	77	-	93	-	0
0	100,2	100,2	93	0,15	0-50
1	100,2	100,2	93	0,15	0-50
2	100,2	100,2	93	0,15	0-50
3	100	100,1	93	0,5	0-50
4	100	100,1	93	0,5	0-50
5	100	100	93	0,6	0-50
6	100	100	93	0,6	0-50
7	100	99,8	93	0,8	0-50
8	100	99,8	93	0,8	0-50
9	99,6	99,8	93	0,6	5-100
10	99,6	99,8	93	0,6	5-100
11	99,6	99,8	93	0,6	5-100
12	99,6	99,8	85	0,6	15-60
13	99,6	99,8	85	0,6	15-60
14	99	99,7	80	0,45	25-60
15	99	99,7	80	0,45	25-60
16	99	99,7	80	0,45	25-60
17	99	99,7	80	0,45	25-60
18	99	99,5	77	0,3	25-100
19	99	99,5	77	0,3	25-100
20	98,3	99,3	76	0,3	25-100
21	98,3	99,3	76	0,3	25-100
22	98,1	99,2	76	0,3	25-100
22.00	98	-	76	0,3	5-100
23.00	98	-	76	0,3	5-100
24.00	98	-	76	0,3	5-100
25.18	98	-	80	0,5	5-100
26.18	98	-	88	1	5-100

Operacja pt. „Wzrost konkurencyjności spółki na rynku drobiarskim poprzez wdrożenie innowacyjnej organizacji produkcji, marketingu oraz technologii lęgu piskląt indyków” realizowana w ramach działania 16 „Współpraca” Programu Rozwoju Obszarów Wiejskich 2014-2020. Operacja współfinansowana ze środków Europejskiego Funduszu Rolnego na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich.



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

26.21	97,7	-	88	0.8	20-100
27.03	97,5	-	86	0.5	30-100
27.06	97,2	-	84	0,5	30-100
27.10	97.0	-	84	0.5	30-100

W ostatnich trzech dniach po kropce umieszczono godzinę/godziny dla danej doby, w której/których następują zmiany warunków lęgu.

Tabela 3. Wyniki lęgu indycząt w trzech powtórzeniach w innowacyjnej i tradycyjnej technologii.

Grupa indycząt - technologia lęgu	Ilość jaj nałożonych do aparatów	Pisklęta kalekie, słabe (szt.)	Pisklęta kalekie, słabe (%)	Jakość piskląt gatunek I	Jakość piskląt gatunek II (po selekcji)	Piskląt łącznie	Wylęgowość (%)
S1	12600	220	1,7%	10642	68	10710	85,00%
N1	26208	310	1,2%	22871	114	22985	87,70%
S2	14106	354	2,5%	11164	489	11653	82,61%
N2	28224	488	1,7%	21667	1051	22718	80,49%
S3	13084	407	3,1%	10034	225	10259	78,41%
N3	26188	504	1,9%	20322	767	21089	80,53%

2. Ocena rozwoju przewodu pokarmowego oraz jego możliwych uszkodzeń w warunkach stresu

Podczas okresu embriogenezy istotnym czynnikiem stresowym dla zarodków ptaków jest stres cieplny. Różnice parametrów lęgu i ich monitorowania w tradycyjnej i innowacyjnej technologii podano w poprzednim punkcie. Odmienne jest również postępowanie z jajami niezapłodnionymi i z zamarłymi zarodkami w obu systemach technologicznych, W tradycyjnej technologii, prześwietlanie jaj w celu usunięcia jaj niezapłodnionych lub z zamarłymi zarodkami odbywa się w 12 dobie inkubacji. Wiąże się to z manipulacją jajami (dotykaniem i prześwietlaniem każdego jaja przez człowieka), co niekorzystnie wpływa na rozwój zarodka. Natomiast w innowacyjnym systemie lęgu, nie wykonuje się tych czynności. Oddzielenie jaj zapłodnionych i niezapłodnionych ma miejsce w momencie przekładu jaj z inkubatorów do klujników za pomocą automatycznej maszyny do przekładu. Skraca to proces manipulacji jajami oraz eliminuje czynnik ludzki z procesu. Zastosowanie automatycznego systemu przekładu pozwala na delikatniejsze obchodzenie się z jajami wylęgowymi i znacznie redukuje czas przebywania zarodka poza optymalnymi warunkami panującymi w aparatach lęgowym i klujnikowym,



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

- a) Badanie histologiczne i analiza morfometryczna. Badanie przeprowadzono na 12 sztukach piskląt indyckich z każdej technologii lęzenia. Badania powtórzono trzykrotnie. Losowo wybrane pisklęta ważono, a następnie po humanitarnym uśmierceniu, do badań pobrano trzy odcinki jelita cienkiego: dwunastnicę, jelito czcze [część proksymalna (25%), środkowa (50%), odcinek końcowy (75%)] oraz biodrowe. Po wykonaniu standardowej procedury histologicznej, odcinki jelita poddano ocenie morfologicznej w mikroskopie świetnym Olympus BX43 oraz wykonano analizę morfometryczną z wykorzystaniem oprogramowania Olympus CellSense Standard. Analizie morfometrycznej poddano kosmki jelitowe, gruczoły jelitowe, błonę śluzową oraz głębokość krypt jelitowych. Za pomocą parametrów morfometrycznych określano: wysokość (μm); pole powierzchni (μm^2); obwód i średnicę (μm) kosmków jelitowych; grubość błony śluzowej (μm) oraz głębokość krypt jelitowych (μm). Uzyskane wyniki opracowano statystycznie stosując jednoczynnikową analizę wariancji z wykorzystaniem programu ANOVA używając testu Tukeya-Kramera (InStat® v.3.06, GraphPad Software Inc., USA). Istotność różnic między grupami wykazano na poziomie istotności statystycznej $p < 0,05$.

Nie wykazano różnic statystycznych masy ciała indycząt lęzonych w dwóch różnych technologiach. Mimo to odnotowano nieznacznie wyższą masę ciała piskląt w grupach N1 i N2 w stosunku do odpowiednio grup S1 i S2. Ponadto, we wszystkich grupach N masa ciała indycząt była bardziej wyrównana. Podobnie nie stwierdzono statystycznie istotnych zmian masy żołądka gruczołowego, wątroby oraz trzustki u indycząt we wszystkich trzech powtórzeniach. Stwierdzono wzrost masy żołądka mięśniowego u samców lęzonych w innowacyjnej technologii. Zaobserwowano statystycznie istotny wzrost masy żołądka mięśniowego u indycząt z grupy N3 oraz z obu grup N1 i N3 (samce) łącznie (Tabela 4).

Tabela 4. Masa ciała indycząt po wylęgu oraz masa ich narządów wewnętrznych (żołądka gruczołowego, żołądka mięśniowego, trzustki i wątroby). Wartości średnie oraz SEM.

Płeć indycząt (powtórzenie)	Grupa indycząt - technologia lęgu	Masa ciała (g)	Żołądek gruczołowy (g)	Żołądek mięśniowy (g)	Wątroba (g)	Trzustka (g)
Samice (powtórzenie 2)	N2	58,09 $\pm 0,89$	0,302 $\pm 0,019$	2,101 $\pm 0,039$	1,585 $\pm 0,049$	0,07 $\pm 0,011$
	S2	55,38 $\pm 1,45$	0,315 $\pm 0,007$	2,167 $\pm 0,045$	1,524 $\pm 0,026$	0,08 $\pm 0,01$
Samce (powtórzenie 1)	N1	55,9 $\pm 0,86$	0,33 $\pm 0,013$	2,003 $\pm 0,076$	1,52 $\pm 0,04$	0,07 $\pm 0,0058$
	S1	54,85	0,338	1,866	1,57	0,068

Operacja pt. „Wzrost konkurencyjności spółki na rynku drobiarskim poprzez wdrożenie innowacyjnej organizacji produkcji, marketingu oraz technologii lęgu piskląt indyków”
realizowana w ramach działania 16 „Współpraca” Programu Rozwoju Obszarów Wiejskich 2014-2020.
Operacja współfinansowana ze środków Europejskiego Funduszu Rolnego na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich.



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

		±1,23	±0,014	±0,043	±0,049	±0,0089
Samce (powtórzenie 3)	N3	61,06 ±0,8	0,341 ±0,012	2,565 ±0,086	1,751 ±0,050	0,103 ±0,0057
	S3	63,49 ±1,38	0,326 ±0,028	2,294* ±0,179	1,746 ±0,046	0,098 ±0,0049
Samce razem (powtórzenie 1+3)	N1+N3	58,48 ±0,96	0,336 ±0,009	2,284 ±0,081	1,642 ±0,040	0,089 ±0,0054
	S1+S3	59,17 ±1,51	0,332 ±0,015	2,08* ±0,055	1,659 ±0,038	0,0857 ±0,0057

Na podstawie przeprowadzonej analizy morfometrycznej wykazano wyższe wartości badanych parametrów morfometrycznych jelit w grupie N w porównaniu do grupy S we wszystkich trzech powtórzeniach (Tabele 5-7), jednakże nie wszystkie z nich różniły się statystycznie istotnie. Brak różnic statystycznych pomiędzy grupami S i N w poszczególnych powtórzeniach zaznaczono wytłuszczoną wartością P value.

Tabela 5. Wpływ technologii lęzenia na parametry morfometryczne dwunastnicy, części proksymalnej, środkowej i dystalnej jelita cienkiego oraz jelita biodrowego u indycząt (powtórzenie I - samce).

DWUNASTNICA		GRUPA N	GRUPA S	P value
wysokość błony śluzowej		7.098 ± 0.1828	2.823 ± 0.0534	< 0.0001
GRUCZOŁY	obwód	11.097 ± 0.1656	5.920 ± 0.0667	< 0.0001
	pole powierzchni	7.568 ± 0.2334	2.071 ± 0.0417	< 0.0001
	wysokość	3.579 ± 0.06075	1.629 ± 0.03144	< 0.0001
	szerokość	3.434 ± 0.05979	2.215 ± 0.03307	< 0.0001
KOSMKI	wysokość	16.795 ± 0.5330	18.957 ± 0.5251	0.0043
	szerokość	5.691 ± 0.2059	4.407 ± 0.0966	< 0.0001
	obwód	51.308 ± 1.187	45.019 ± 1.216	0.0003
	pole powierzchni	87.333 ± 4.151	83.481 ± 2.781	0.4285
WSZYSTKIE BŁONY		11.320 ± 0.2994	6.998 ± 0.1483	< 0.0001
CZEŚĆ PROKSYMALNA		GRUPA N	GRUPA S	P value
wysokość błony śluzowej		5.661 ± 0.065	5.634 ± 0.098	0.8099
GRUCZOŁY	obwód	9.639 ± 0.095	8.389 ± 0.142	< 0.0001
	pole powierzchni	5.583 ± 0.083	4.174 ± 0.146	< 0.0001
	wysokość	3.014 ± 0.053	2.845 ± 0.034	0.0065
	szerokość	3.013 ± 0.042	2.181 ± 0.0417	< 0.0001
KOSMKI	wysokość	23.138 ± 0.5008	11.79 ± 0.191	< 0.0001
	szerokość	6.045 ± 0.095	5.713 ± 0.099	0.0189
	obwód	64.571 ± 1.17	34.428 ± 0.408	0.0003



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

	pole powierzchni	130.75±3.5	55.601 ± 0.9687	0.4285
WSZYSTKIE BŁONY		12.392 ±0.1852	10.640 ± 0.1427	< 0.0001
CZEŚĆ ŚRODKOWA		Grupa N	Grupa S	P value
wysokość błony śluzowej		6.43 ± 0.0825	5.65 ± 0.0658	< 0.0001
GRUCZOŁY	obwód	10.045 ± 0.13	9.467±0.11	0.0018
	pole powierzchni	5.823± 0.1385	5.234± 0.1245	0.0031
	wysokość	2.904 ±0.045	2.588 ± 0.039	< 0.0001
	szerokość	3.245 ± 0.052	3.175 ±0.0448	0.3424
KOSMKI	wysokość	18.486±0.43	17.795±0.363	0.2174
	szerokość	5.031 ± 0.091	4.298 ±0.076	< 0.0001
	obwód	64.501 ± 1.525	52.303 ±1.07	0.0126
	pole powierzchni	76.424 ± 2.876	74.325 ± 2.041	0.5446
WSZYSTKIE BŁONY		13.478 ±0.223	10.594 ± 0.177	< 0.0001
CZEŚĆ DYSTALNA		GRUPA N	GRUPA S	P value
wysokość błony śluzowej		7.827 ± 0.1821	6.266 ± 0.0812	< 0.0001
GRUCZOŁY	obwód	13.408± 0.16	12.623 ± 0.15	0.0004
	pole powierzchni	9.146 ± 0.193	8.961 ± 0.188	0.5009
	wysokość	4.515 ±0.074	4.171± 0.072	0.0011
	szerokość	3.83 ±0.088	3.019 ± 0.042	< 0.0001
KOSMKI	wysokość	22.078 ±0.499	18.486±0.43	< 0.0001
	szerokość	4.53 ± 0.0599	4.298 ±0.076	0.0147
	obwód	54.23 ± 1.082	52.303 ±1.076	0.2064
	pole powierzchni	90.825 ± 2.64	76.424 ± 2.876	0.0002
WSZYSTKIE BŁONY		15.030 ± 0.172	16.29 ±0.355	0.0006
JELITO BIODROWE		GRUPA N	GRUPA S	P value
wysokość błony śluzowej		8.651 ± 0.1529	6.266 ± 0.0812	< 0.0001
GRUCZOŁY	obwód	13.614 ± 0.152	11.432 ± 0.120	< 0.0001
	pole powierzchni	8.954 ± 0.22	6.476 ± 0.124	< 0.0001
	wysokość	4.165 ± 0.072	3.367 ± 0.065	< 0.0001
	szerokość	4.069 ± 0.068	3.514 ± 0.052	< 0.0001
KOSMKI	wysokość	17.063 ± 0.289	15.042 ± 0.425	< 0.0001
	szerokość	4.379 ± 0.088	3.951 ± 0.073	0.0002
	obwód	45.991 ± 0.593	43.203 ± 1.016	0.0117
	pole powierzchni	56.475 ± 2.619	50.659 ±1.048	0.0200
WSZYSTKIE BŁONY		17.813 ± 0.288	15.816 ± 0.178	< 0.0001



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

Tabela 6. Wpływ technologii lęzenia na parametry morfometryczne dwunastnicy, części proksymalnej, środkowej i dystalnej jelita cienkiego oraz jelita biodrowego u indycząt (powtórzenie II - samice).

DWUNASTNICA		GRUPA N	GRUPA S	P value
wysokość błony śluzowej		4.247 ± 0.05831	3.129 ± 0.0552	< 0.0001
GRUCZOŁY	obwód	9.669 ± 0.0938	7.422 ± 0.0631	< 0.0001
	pole powierzchni	6.359 ± 0.1302	3.503 ± 0.0644	< 0.0001
	wysokość	3.161 ± 0.0422	2.387 ± 0.03199	< 0.0001
	szerokość	3.167 ± 0.04576	2.533 ± 0.03332	< 0.0001
KOSMKI	wysokość	14.715 ± 0.415	12.729 ± 0.337	0.0002
	szerokość	15.034 ± 0.4032	13.662 ± 0.3871	0.0144
	obwód	50.366 ± 1.007	42.315 ± 0.9869	< 0.0001
	pole powierzchni	96.679 ± 2.494	65.919 ± 2.309	< 0.0001
WSZYSTKIE BŁONY		8.227 ± 0.0876	8.385 ± 0.0972	0.2261
CZEŚĆ PROKSYMALNA		GRUPA N	GRUPA S	P value
wysokość błony śluzowej		3.389 ± 0.038	3.116 ± 0.0507	< 0.0001
GRUCZOŁY	obwód	7.223 ± 0.073	4.328 ± 0.062	< 0.0001
	pole powierzchni	2.945 ± 0.062	1.265 ± 0.049	< 0.0001
	wysokość	2.148 ± 0.035	1.383 ± 0.027	< 0.0001
	szerokość	2.586 ± 0.042	1.538 ± 0.0246	< 0.0001
KOSMKI	wysokość	10.018 ± 0.279	9.535 ± 0.319	0.2535
	szerokość	10.715 ± 0.328	8.488 ± 0.296	< 0.0001
	obwód	33.782 ± 0.740	30.980 ± 0.732	0.0074
	pole powierzchni	38.575 ± 1.153	35.753 ± 1.308	0.1049
WSZYSTKIE BŁONY		10.376 ± 0.173	8.289 ± 0.136	< 0.0001
CZEŚĆ ŚRODKOWA		GRUPA N	GRUPA S	P value
Wysokość błony śluzowej		4.15 ± 0.0525	3.29 ± 0.0549	< 0.0001
GRUCZOŁY	obwód	7.964 ± 0.109	7.468 ± 0.104	0.0011
	pole powierzchni	3.940 ± 0.112	3.604 ± 0.117	0.0423
	wysokość	2.537 ± 0.052	2.485 ± 0.049	0.4751
	szerokość	2.698 ± 0.046	2.416 ± 0.0381	< 0.0001
KOSMKI	wysokość	33.237 ± 0.875	21.978 ± 0.755	< 0.0001
	szerokość	47.642 ± 1.96	13.561 ± 0.64	< 0.0001
	obwód	61.406 ± 1.61	32.993 ± 0.87	< 0.0001
	pole powierzchni	103.88 ± 3.77	47.227 ± 1.95	< 0.0001



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

WSZYSTKIE BŁONY		13.49 ± 0.261	8.85 ± 0.228	< 0.0001
CZEŚĆ DYSTALNA		Grupa N	Grupa S	P value
Wysokość błony śluzowej		4.735 ± 0.0822	4.533 ± 0.0662	0.0582
GRUCZOŁY	obwód	14.457 ± 0.14	10.977 ± 0.095	< 0.0001
	pole powierzchni	11.314 ± 0.207	6.844 ± 0.129	< 0.0001
	wysokość	5.470 ± 0.085	3.563 ± 0.054	< 0.0001
	szerokość	3.753 ± 0.068	3.548 ± 0.062	0.0275
KOSMKI	wysokość	15.170 ± 0.614	13.404 ± 0.538	0.0344
	szerokość	10.901 ± 0.458	10.379 ± 0.387	0.3945
	obwód	43.754 ± 1.425	40.146 ± 1.179	0.0574
	pole powierzchni	76.020 ± 3.949	63.139 ± 3.074	0.0095
WSZYSTKIE BŁONY		18.036 ± 0.326	14.535 ± 0.297	< 0.0001
JELITO BIODROWE		Grupa N	Grupa S	P value
Wysokość błony śluzowej		4.215 ± 0.062	3.653 ± 0.054	< 0.0001
GRUCZOŁY	obwód	12.456 ± 0.1575	8.476 ± 0.0643	< 0.0001
	pole powierzchni	8.943 ± 0.228	4.111 ± 0.072	< 0.0001
	wysokość	4.33 ± 0.0848	2.81 ± 0.0384	< 0.0001
	szerokość	2.593 ± 0.096	2.85 ± 0.081	0.0418
KOSMKI	wysokość	11.041 ± 0.280	10.654 ± 0.308	0.3523
	szerokość	10.029 ± 0.265	8.165 ± 0.209	< 0.0001
	obwód	34.474 ± 0.667	32.428 ± 0.525	0.0161
	pole powierzchni	50.901 ± 1.668	40.832 ± 1.066	< 0.0001
WSZYSTKIE BŁONY		20.846 ± 0.4163	11.82 ± 0.1358	< 0.0001

Tabela 7. Wpływ technologii lęzenia na parametry morfometryczne dwunastnicy, części proksymalnej, środkowej i dystalnej jelita cienkiego oraz jelita biodrowego u indycząt (powtórzenie III - samce).

DWUNASTNICA		GRUPA N	GRUPA S	P value
wysokość błony śluzowej		4.27 ± 0.0659	3.828 ± 0.0502	< 0.0001
GRUCZOŁY	obwód	9.662 ± 0.125	9.700 ± 0.1334	0.8441
	pole powierzchni	6.11 ± 0.164	5.503 ± 0.147	0.0076
	wysokość	3.489 ± 0.058	2.801 ± 0.0579	< 0.0001
	szerokość	3.587 ± 0.0633	2.86 ± 0.0617	< 0.0001
KOSMKI	wysokość	26.833 ± 1.141	22.358 ± 1.003	0.0035
	szerokość	25.46 ± 1.112	17.055 ± 1.284	< 0.0001
	obwód	79.215 ± 2.69	72,44 ± 2.70	0.0809



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

	pole powierzchni	123,73±5.949	76.121 ± 3.247	< 0.0001
WSZYSTKIE BŁONY		12.774 ± 0.2244	5.763 ± 0.0746	< 0.0001.
CZEŚĆ PROKSYMALNA		GRUPA N	GRUPA S	P value
Wysokość błony śluzowej		3.474 ± 0.0613	3.296 ± 0.051	0.0297
GRUCZOŁY	obwód	6.25 ± 0.077	6.88± 0.129	< 0.0001
	pole powierzchni	2.85±0.1287	2.43± 0.0728	0.0029
	wysokość	2.098 ± 0.0599	1.999 ± 0.0386	0.1520
	szerokość	2.480 ± 0.056	2.187 ± 0.039	< 0.0001
KOSMKI	wysokość	25.909 ± 0.981	21.978 ± 0.7545	0.0015
	szerokość	18.292 ± 0.93	13.561 ± 0.64	< 0.0001
	obwód	72.399 ± 2.413	54.033 ± 3.222	< 0.0001
	pole powierzchni	91.523 ± 6.720	53.404 ± 2.633	< 0.0001
WSZYSTKIE BŁONY		10.376 ± 0.173	6.346 ± 0.074	< 0.0001
CZEŚĆ ŚRODKOWA		GRUPA N	GRUPA S	P value
wysokość błony śluzowej		4.15 ± 0.0525	3.29 ± 0.0549	< 0.0001
GRUCZOŁY	obwód	7.964 ± 0.109	7.468± 0.104	0.0011
	pole powierzchni	3.940± 0.112	3.604± 0.117	0.0423
	wysokość	2.537 ± 0.052	2.485 ± 0.049	0.4751
	szerokość	2.698 ± 0.046	2.416 ± 0.0381	< 0.0001
KOSMKI	wysokość	21.98 ± 0.7545	10.487 ± 0.829	< 0.0001
	szerokość	13.561 ± 0.64	9.307 ± 0.816	< 0.0001
	obwód	61.406 ± 1.611	30.806 ± 1.392	< 0.0001
	pole powierzchni	72.384 ± 2.698	41.049 ± 2.991	< 0.0001
WSZYSTKIE BŁONY		8.845 ± 0.228	5.763 ± 0.0746	< 0.0001
CZEŚĆ DYSTALNA		GRUPA N	GRUPA S	P value
wysokość błony śluzowej		4.735 ± 0.0822	4.533 ± 0.0662	0.0582
GRUCZOŁY	obwód	14.457 ± 0.14	10.977± 0.095	< 0.0001
	pole powierzchni	11.314 ± 0.207	6.844 ± 0.129	< 0.0001
	wysokość	5.470 ± 0.085	3.563± 0.054	< 0.0001
	szerokość	3.753 ± 0.068	3.548 ± 0.062	0.0275
KOSMKI	wysokość	16.44 ± 0.752	15.17 ± 0.614	0.1878
	szerokość	14.651 ± 0.694	10.901± 0.458	< 0.0001
	obwód	52.054 ± 1.901	43.754 ± 1.425	0.0004
	pole powierzchni	63.139 ± 3.074	50.271± 1.887	0.0007
WSZYSTKIE BŁONY		18.343 ± 0.301	14.535 ± 0.297	< 0.0001
JELITO BIODROWE		GRUPA N	GRUPA S	P value
wysokość błony śluzowej		4.215 ± 0.062	3.653 ± 0.054	< 0.0001
GRUCZOŁY	obwód	12.456 ± 0.1575	8.476 ± 0.0643	< 0.0001

Operacja pt. „Wzrost konkurencyjności spółki na rynku drobiarskim poprzez wdrożenie innowacyjnej organizacji produkcji, marketingu oraz technologii lęgu piskląt indyków”
realizowana w ramach działania 16 „Współpraca” Programu Rozwoju Obszarów Wiejskich 2014-2020.
Operacja współfinansowana ze środków Europejskiego Funduszu Rolnego na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich.



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

	pole powierzchni	8.943 ± 0.228	4.111 ± 0.072	< 0.0001
	wysokość	4.33 ± 0.0848	2.81 ± 0.0384	< 0.0001
	szerokość	2.85 ± 0.081	2.593 ± 0.096	0.0418
KOSMKI	wysokość	11.776 ± 0.454	10.654 ± 0.308	0.0345
	szerokość	10.03 ± 0.265	9.79 ± 0.308	0.5677
	obwód	35.819 ± 1.018	34.474 ± 0.667	0.2494
	pole powierzchni	57.018 ± 3.208	50.901 ± 1.67	0.0670
WSZYSTKIE BŁONY		20.846 ± 0.4163	12.953 ± 0.2345	< 0.0001

b) Badanie aktywności przewodu pokarmowego oraz poziomu stresu

Stres cieplny negatywnie wpływa na rozwój narządów wewnętrznych, resorpcję woreczka żółtkowego i stan zdrowia piskląt. Przyczynia się również do zaburzeń wydzielania enzymów trawiennych. Ponadto, stres w okresie embriogenezy, na skutek zmniejszonej wymiany gazowej, może niekorzystnie wpływać na masę ciała i wzrost piskląt po wylęgu.

Materiał pobrano od 12 indycząt z każdej technologii lęzenia (tych samych piskląt, od których pobierano próbki do badań histologicznych). Badania powtórzone trzykrotnie. Ocenie poddano aktywność proteolityczną błony śluzowej żołądka gruczołowego używając albuminy oraz hemoglobiny jako substratów. Ponadto, badano aktywność proteolityczną, amylolityczną i lipolityczną trzustki przy użyciu komercyjnych testów. Badanie aktywności enzymów rąbka szczoteczki dwunastnicy i jelita czczego wykonano na mikroplątkach używając odpowiednich substratów. Określano także zawartość białka ogólnego w poszczególnych odcinkach przewodu pokarmowego na mikroplątkach z 96 płaskodennymi dołkami używając albuminy bydlęcej - BSA (Bovine Serum Albumin, Sigma) jako standardu. Uzyskane wyniki opracowano statystycznie stosując jednoczynnikową analizę wariancji z wykorzystaniem programu ANOVA używając testu Tukeya-Kramera (InStat® v.3.06, GraphPad Software Inc., USA). Istotność różnic między grupami wykazano na poziomie istotności statystycznej $p < 0,05$.

Zawartość białka oraz aktywność pepsyny w homogenatach żołądka gruczołowego

Żołądki gruczołowe zamrożono w temperaturze -80°C . Następnie pobrano błonę śluzową żołądków gruczołowych i dokonano homogenizacji próbek w buforze fosforanowym o pH 7,4 w proporcji 1:10. Homogenaty następnie poddano analizie biochemicznej. Oznaczono całkowitą zawartość białka oraz aktywność pepsyny. Zawartość białka ogólnego w homogenatach błony śluzowej żołądka gruczołowego oznaczono przy użyciu metody Lowry z użyciem odczynnika Folin-



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

Cioalteau w modyfikacji na mikroplatytki titracyjne. Aktywność pepsyny w homogenatach błony śluzowej żołądków gruczołowych oznaczono używając hemoglobiny jako substratu.

Stwierdzono wzrost zawartości białka ogólnego w grupie N2. Ponadto, zaobserwowano statystycznie istotny wzrost zawartości białka w grupie N1 oraz w grupach N1 i N3 łącznie w porównaniu do analogicznych grup S (tabela 8).

U wszystkich indycząt w grupach N zaobserwowano wzrost aktywności pepsyny w homogenatach błony śluzowej żołądka gruczołowego w porównaniu do grup S. Jednakże statystycznie istotny wzrost aktywności pepsyny stwierdzono w grupach N1 i N3 łącznie (samców) w porównaniu do grup S1 i S3 łącznie (tabela 8).

Tabela 8. Zawartość białka oraz aktywność pepsyny w homogenatach żołądka gruczołowego indycząt. Wartości średnie oraz SEM.

Płeć indycząt (powtórzenie)	Grupa indycząt - technologia lęgu	Zawartość białka	Zawartość pepsyny
Samice (powtórzenie II)	N2	287,04 ± 10,45	3,513 ± 0,17
	S2	278,46 ± 16,49	3,056 ± 0,24
Samce (powtórzenie I)	N1	322,83* ± 21,25	3,38 ± 0,109
	S1	287,4 ± 10,72	3,068 ± 0,138
Samce (powtórzenie III)	N3	286,67 ± 11,39	3,293 ± 0,146
	S3	261,48 ± 15,20	3,049 ± 0,129
Samce razem (powtórzenie I+III)	N1+N3	304,75* ± 12,49	3,344* ± 0,098
	S1+S3	277,03 ± 9,16	3,058 ± 0,093

Zawartość białka ogólnego w homogenatach błony śluzowej jelit

Zawartość białka ogólnego oznaczono metodą Lowry w modyfikacji do wykonania na mikroplatytkach z 96 płaskodennymi dołkami. Używano jako standardu albuminy bydlęcej, BSA (Bovine Serum Albumin, Sigma). Absorbancję odczytywano przy długości fali 540 nm.

Szczegółowe wyniki zawartości białka ogólnego w homogenatach błony śluzowej badanych jelit przedstawiono w tabeli 9. Zaobserwowano statystycznie istotny wzrost zawartości białka



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”
ogólnego w homogenatach początkowego i środkowego odcinka jelita w grupie N3. W grupach N1 i N3 (oraz N1 i N3 łącznie) wzrost białka całkowitego był widoczny w homogenatach dwunastnicy. Ponadto widoczny był również wzrost zawartości białka ogólnego w homogenatach błony śluzowej końcowego odcinka jelita cienkiego w grupie N2 (samice).

Tabela 9. Zawartość białka w błonie śluzowej poszczególnych odcinków jelit. Wartości średnie oraz SEM.

Płeć indycząt (powtórzenie)	Grupa indycząt - technologia lęgu	Dwunastnica	Odcinek początkowy jelita	Odcinek środkowy jelita	Odcinek końcowy jelita
Samice (powtórzenie II)	N2	1650,23 ± 98,08	1114,3 ±122,13	1099,04 ±116,24	1456,15 ±106,25
	S2	1690,23 ±111,59	1350,4 ±109,09	1175,86 ±92,45	1250,17 ±73,96
Samce (powtórzenie I)	N1	1540,59 ±189,07	1223,58 ±81,85	1309,86 ±109,19	1300,47 ±132,93
	S1	1390,79 ±197,74	1390,93 ±106,73	1306,09 ±101,22	1442,99 ±45,44
Samce (powtórzenie III)	N3	1138,67 ±90,35	1390,67* ±81,17	1479,92* ±79,35	1461,47 ± 142,02
	S3	1085,64 ±66,85	1116,56 ±92,21	1198,09 ±115,45	1430,89 ±117,6
Samce razem (powtórzenie I+III)	N1+N3	1327,8 ±109,7	1302,2 ±59,7	1399,9 ±64,68	1397,1 ±99,42
	S1+S3	1250,0 ±115,39	1262,9 ±74,77	1252,1 ±74,98	1436,9 ±59,47

Badanie aktywności enzymów rąbka szczotczkowego jelita czczego

Aktywność aminopeptydazy A (Amp. A) oraz dwupeptydazy mierzono przy użyciu spektrofotometru stosując syntetyczne substraty: 1,5 mM P-nitroaniliny kwasu L-glutaminowego (GAN, H-Gly-pNA, C₁₁H₁₃N₃O₅, L-1540, Bachem, Bubendorf, Szwajcaria) dla Amp. A 21,5 mM glikolo-L-propylo P-nitroalaniny kwasu toluenosulfonowego (H-Gly-Pro-pNA.p-tosylate, C₁₃H₁₆N₄O₄*C₇H₈O₃S, L-1295, Bachem) dla dwupeptydazy.

Wszystkie próbki, najpierw inkubowano przez 5 minut w temperaturze 37°C w komorze spektrofotometru, a następnie mierzono ich absorbancję (przy długości fali 410 nm) w temperaturze 37°C. Uzyskane wyniki podano w jednostkach aktywności enzymu (U). Jedna U oznacza zdolność hydrolizy 1 μmola substratu w ciągu 1 minuty.



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

Stwierdzono wzrost aktywności aminopeptydazy A w dwunastnicy, początkowym, środkowym i końcowym odcinku jelita czczego w grupie N2 w porównaniu do grupy S2 (tabela 10). W początkowym i środkowym odcinku jelita czczego wzrost aktywności aminopeptydazy A był statystycznie istotny. Podobnie, tendencję wzrostu aktywności aminopeptydazy A w poszczególnych odcinkach jelita cienkiego obserwowano w grupie N1 i N3 (samce) w stosunku do odpowiednio grup S1 i S3. Jednakże statystycznie istotny wzrost aktywności aminopeptydazy A wykazano w końcowym odcinku jelita w grupie N3 oraz N1 i N3 łącznie.

Tabela 10. Aktywność aminopeptydazy A w homogenatach błony śluzowej jelit (dwunastnicy, początkowego, środkowego i końcowego odcinka jelita cienkiego). Wartości średnie oraz SEM.

Płeć indycząt (powtórzenie)	Grupa indycząt - technologia lęgu	Dwunastnica	Odcinek początkowy jelita	Odcinek środkowy jelita	Odcinek końcowy jelita
Samice (powtórzenie II)	N2	0,694 ±0,14	0,74 * ±0,057	0,64 * ±0,024	0,559 ±0,054
	S2	0,587 ±0,049	0,635 ±0,019	0,48 0,052±	0,508 ±0,064
Samce (powtórzenie I)	N1	0,705 ±0,094	0,568 ±0,03	0,715 ±0,06	0,589 ±0,066
	S1	0,643 ±0,096	0,455 ±0,05	0,612 ±0,08	0,509 ±0,032
Samce (powtórzenie III)	N3	0,77 ±0,094	0,542 ±0,035	0,697 ±0,061	0,72 ** ±0,038
	S3	0,728 ±0,045	0,439 ±0,069	0,639 ±0,072	0,54 ±0,041
Samce razem (powtórzenie I+III)	N1+N3	0,746 ±0,067	0,556* ±0,022	0,649 ±0,043	0,664 ** ±0,039
	S1+S3	0,693 ±0,047	0,449 ±0,039	0,67 ±0,052	0,525 ±0,025

Analizując aktywność dwupeptydazy stwierdzono wzrost jej aktywności w błonie śluzowej wszystkich odcinków jelita cienkiego (dwunastnicy, początkowego, środkowego i końcowego odcinka jelita czczego) zarówno u samic, jak również samców (z wyjątkiem grupy N1 – początkowy odcinek jelita czczego) lęzonych w innowacyjnej technologii (N) w porównaniu do indycząt z tradycyjnej technologii (S) (tabela 11). W grupie N2 statystycznie istotny wzrost aktywności dwupeptydazy stwierdzono w końcowym odcinku jelita czczego. Natomiast w grupie N1, a także w grupach N1 i N3 (po zsumowaniu wyników) istotny statystycznie wzrost tego enzymu zaobserwowano w dwunastnicy oraz końcowym odcinku jelita czczego. Ponadto, statystycznie



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”
istotną różnicę w aktywności dwupeptydazy odnotowano pomiędzy grupami N3 i S3 w początkowym odcinku jelita czczego.

Tabela 11. Aktywność dwupeptydazy w homogenatach błony śluzowej jelit (dwunastnicy oraz początkowego, środkowego i końcowego odcinka jelita czczego). Wartości średnie oraz SEM.

Płeć indycząt (powtórzenie)	Grupa indycząt - technologia łęgu	dwunastnica	Odcinek początkowy jelita czczego	Odcinek środkowy jelita czczego	Odcinek końcowy jelita czczego
Samice (powtórzenie II)	N2	0,133 ± 0,046	0,1903 ±0,017	0,215 ±0,08	0,226 * ±0,015
	S2	0,128 ± 0,020	0,162 ± 0,006	0,182 ±0,012	0,172 ± 0,009
Samce (powtórzenie I)	N1	0,195*** ±0,011	0,157 ±0,07	0,273 ±0,028	0,22* ±0,013
	S1	0,114 ±0,011	0,174 ±0,015	0,200 ±0,018	0,185 ±0,012
Samce (powtórzenie III)	N3	0,185 ±0,007	0,169* ±0,012	0,163 ± 0,007	0,221 ±0,024
	S3	0,177 ±0,011	0,139 ±0,005	0,155 ±0,008	0,1822 ±0,009
Samce razem (powtórzenie I+III)	N1+N3	0,189*** ±0,0067	0,163 ±0,007	0,206 ±0,016	0,22* ±0,016
	S1+S3	0,1454 ±0,010	0,155 ± 0,008	0,1788 ±0,011	0,183 ±0,005

Zawartość białka ogólnego w homogenatach trzustki

Pobrane próbki trzustki poddano homogenizacji (1g śluzówki w 5 ml buforu fosforanowego o pH 7,6). Następnie próbki wirowano przez 5 minut w 4°C, 3000xg, a supernatant delikatnie rozdzielano pipetą do probówek eppendorf na porcje wystarczające do pojedynczych oznaczeń i mrożono w temp. -80°C do czasu analizy zawartości białka ogólnego oraz aktywności enzymów (amylazy i trypsyny).

Stwierdzono statystycznie istotny wzrost zawartości białka ogólnego w homogenatach trzustki w grupie N3 (samców) oraz w grupach N1 i N3 (obu grup po zsumowaniu wyników) w porównaniu do analogicznych grup S (tabela 12). Podobnie, w grupie N1 (samców) zaobserwowano wzrost zawartości białka w porównaniu z grupą S1, jednakże różnice te nie były statystycznie istotne. W przeciwieństwie do samców, większą zawartość białka w trzustce wykazano w grupie samic (S2) w porównaniu z grupą N2.

Tabela 12. Zawartość białka w homogenatach trzustki. Wartości średnie oraz SEM.



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

Płeć indycząt (powtórzenie)	Grupa indycząt - technologia lęgu	Zawartość białka
Samice (powtórzenie II)	N2	1959,8 ± 105,89
	S2	2054,8 ± 131,72
Samce (powtórzenie I)	N1	1724,1 ± 114,87
	S1	1612,02 ± 85,92
Samce (powtórzenie III)	N3	2139,9** ± 151,06
	S3	1706,3 ± 61,38
Samce razem (powtórzenie I+III)	N1+N3	1908,92* ±102,8
	S1+S3	1669,65 ± 19,89

Aktywność amylazy i trypsyny w homogenatach trzustki

Aktywność amylazy analizowano przy użyciu zestawu Alpha-Amylase Activity Assay Kit (Colorimetric) firmy BioVision, Inc, Milpitas, CA, USA. Aktywność trypsyny oznaczano przy użyciu zestawu Trypsin Activity Assay Kit (Colorimetric) firmy BioVision, Inc, Milpitas, CA, USA.

Zaobserwowano wzrost aktywności amylazy w homogenatach trzustki u indycząt z grup N w porównaniu do odpowiednich grup S (tabela 13).

Podobnie jak w przypadku amylazy, również aktywność trypsyny była wyższa w homogenatach trzustki u indycząt lęzonych w innowacyjnej technologii (grupy N) w porównaniu do piskląt lęzonych w tradycyjnej technologii (grupy S). Jednakże statystycznie istotny wzrost aktywności trypsyny odnotowano w grupach N1 i N3 łącznie (obie grupy samców).

Tabela 13. Aktywność enzymów trzustki (amylazy i trypsyny). Wartości średnie oraz SEM.

Płeć indycząt (powtórzenie)	Grupa indycząt - technologia lęgu	Aktywność amylazy U/g tkanki	Aktywność trypsyny U/g tkanki
Samice (powtórzenie II)	N2	8,625 ± 0,64	3,34 ±0,24
	S2	7,787 ± 0,47	2,87 ±0,19
Samce (powtórzenie I)	N1	9,47 ± 0,8	3,21 ±0,10



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

	S1	7,919 ± 0,44	2,77 ± 0,14
Samce (powtórzenie III)	N3	7,48 ± 0,72	3,14 ± 0,23
	S3	6,8 ± 0,32	2,72 ± 0,13
Samce razem (powtórzenie I+III)	N1+N3	8,59 ± 0,58	3,179 * ± 0,12
	S1+S3	7,29 ± 0,29	2,746 ± 0,09

Określenie poziomu stresu u indycząt

Istnieje wiele sposobów określających poziom stresu u zwierząt, w tym ptaków. W przeprowadzonych badaniach wykonano ocenę stężenia hormonu stresu (kortykosteronu) oraz markerów stresu oksydacyjnego takich jak: dysmutazy nadtlenkowej – SOD, peroksydazy - POD i peroksydazy lipidowej - MDA. Ponadto, wykonano ocenę leukogramów i wyliczenie tzw. indeksu H/L (heterofile/limfocyty) – jako wskaźnika stresu u ptaków.

a) Badanie stężenia kortykosteronu i markerów stresu oksydacyjnego

Glikokortykoidy to hormony kory nadnerczy, które regulują przemianę białek, węglowodanów i tłuszczów. Zalicza się do nich kortyzol, kortykosteron i kortyzon. U ptaków głównym glikokortykoidem jest kortykosteron. Poziom tego hormonu zwiększa się w sytuacjach stresowych.

Ponadto, stres determinuje istotne zaburzenia w układzie antyoksydacyjnym przyczyniając się do uszkodzeń błony śluzowej jelit i zmian mikroflory.

Dysmutaza nadtlenkowa (SOD) jest ważnym elementem obrony komórek przed toksycznym działaniem wolnych rodników tlenowych. Przyspiesza ona rozkład rodnika nadtlenkowego. Peroksydaza (POD) jest rodzajem oksydoreduktazy obecnym w krwi i innych płynach tkankowych. Przeprowadza reakcję redukcji nadtlenku wodoru i wodoronadtlenków. Peroksydacja lipidów to typowy łańcuchowy proces wolnorodnikowy. Dotyczy on głównie reszt wielonienasyconych kwasów tłuszczowych (WNKT), posiadających wiązania podwójne przedzielone mostkami metylenowymi. Fosfolipidy są składnikami błon biologicznych. Głównym produktem peroksydacji WNKT uznawanym za biologiczny marker stresu oksydacyjnego jest dialdehyd malonowy (MDA). Związek ten (MDA) modyfikuje właściwości fizyczne błon komórkowych, powoduje zaburzenie funkcji komórek, w konsekwencji prowadząc do dysfunkcji



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie” poszczególnych organów. Oznaczenie to wykonywane jest w diagnostyce i profilaktyce zaburzeń wiążących się ze stresem oksydacyjnym.

Badania przeprowadzono na grupach po 12 indycząt (tych samych piskląt, od których pobierano próbki do badań histologicznych i określenie aktywności enzymów przewodu pokarmowego) lęzonych w innowacyjnej i tradycyjnej technologii. Badania powtórzono trzykrotnie. Bezpośrednio po pobraniu krew odwirowywano w temperaturze 4°C, a następnie surowicę frakcjonowano do małych probówek typu eppendorf i zamrażano w temperaturze -80 °C.

Powyższe badania wykonano przy użyciu komercyjnych zestawów. Poziom kortykosteronu oznaczano przy użyciu zestawu Brid corticosterone Elisa kit firmy BT LAB Bioassay Technology Laboratory. Aktywność dysmutazy ponadtlenkowej oznaczano używając zestawu Total Superoxidase Dismutase (T-SOD) Assay Kit (hydroxylamine method) firmy Elabscience Biotechnology Inc. Aktywność peroksydazy oznaczono zestawem Peroxidase (POD) Activity Assay Kit firmy Elabscience Biotechnology Inc. Aktywność peroksydazy lipidowej oznaczano zestawem Lipid Peroxidation (MDA) Assay Kit firmy Sigma-Aldrich.

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie stosując jednoczynnikową analizę wariancji z wykorzystaniem programu ANOVA używając testu Tukeya-Kramera (InStat® v.3.06, GraphPad Software Inc., USA). Istotność różnic między grupami wykazano na poziomie istotności statystycznej $p < 0,05$.

Analizując poziom kortykosteronu stwierdzono obniżenie poziomu hormonu stresu w surowicy krwi indycząt z grup N (z innowacyjnej technologii) w porównaniu do grup S (z tradycyjnej technologii). Zmiany te były obserwowane zarówno u samic, jak i u samców.

Aktywność peroksydazy POD u samic w grupie N2 była na nieco wyższym poziomie niż w grupie S2, w przeciwieństwie do samców. W grupach samców N1 oraz N1 i N3 łącznie obserwowano statystycznie istotne zmniejszenie aktywności peroksydazy.

Aktywność dysmutazy T-SOD wykazywała spadek u indycząt w grupach N we wszystkich powtórzeniach w porównaniu do grup S, ale różnice nie były statystycznie istotne.

Analizując poziom peroksydazy lipidowej nie zaobserwowano statystycznie istotnych różnic w poziomie tego enzymu zarówno u samic, jak również u samców w obu systemach lężenia. Niemniej jednak, wyższa aktywność tego enzymu występowała w grupach indycząt lęzonych w innowacyjnej technologii. Wyniki badań poziomu kortykosteronu i markerów stresu oksydacyjnego przedstawiono w tabeli 14.



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

Tabela 14. Poziom kortykosteronu oraz aktywność enzymów stresu oksydacyjnego (peroksydazy POD, dysmutazy ponadtlenkowej oraz peroksydazy lipidowej) u indycząt.

Płeć indycząt (powtórzenie)	Grupa indycząt - technologii a lęgu	Kortykosteron	Peroksydaza POD	Dysmutaza ponadtlenkowa T-SOD	Peroksydaza lipidowa MDA
Samice (powtórzenie II)	N2	4,101 ± 0,372	11,84 ±0,78	11,637 ±0,637	3,09 ±0,21
	S2	4,639 ± 0,418	11,75 ±0,66	11,702 ±0,375	2,67 ±0,59
Samce (powtórzenie I)	N1	4,944 ±0508	13,13 ±0,60	12,281 ±1,024	3,31 ±0,19
	S1	5,502 ± 0,393	16,94* ±1,38	12,674 ±1,157	3,07 ±0,09
Samce (powtórzenie III)	N3	3,903 ± 0,541	12,18 ±0,68	12,478 ±0,482	3,47 ±0,27
	S3	5,933 ± 0,593	12,68 ±0,76	13,634 ±0,852	3,46 0,97
Samce razem (powtórzenie I+III)	N1+N3	4,523 ±0,320	12,58 ±0,47	12,388 0,29	3,39 ±0,16
	S1+S3	5,071 ± 0,295	15,008* ±0,94	13,154 ±0,46	3,27 ±015

b) Stosunek liczby heterofili do limfocytów (H:L)

Obraz białokrwinkowy zależy od gatunku ptaków oraz ich wieku. Heterofile są dominującą populacją krwinek białych ptaków, szczególnie u kilkudniowych piskląt. Wraz z wiekiem we krwi wzrasta liczba limfocytów. Uważa się, że proporcja heterofili do limfocytów (H:L) odzwierciedla sprawność układu odpornościowego i indywidualny stan zdrowia ptaków. Proporcja ta uznawana jest za wiarygodny wskaźnik poziomu stresu i infekcji. Poziom stresu manifestuje się wzrostem liczby heterofili i spadkiem liczby limfocytów.

W celu obliczenia stosunku liczby heterofili do limfocytów (H:L) oraz określenia wzoru odsetkowego krwinek białych wykonywano rozmazy krwi natywnej, które barwiono metodą May-Grünwalda i Giemsy. Rozmazy oceniano w mikroskopie świetlnym przy powiększeniu 1000×. W każdym z rozmazów różnicowano i zliczano od 100 do 200 komórek. Wynik podawano w postaci ułamkowej. Analizę statystyczną przeprowadzano przy użyciu arkusza kalkulacyjnego Excel 2013 oraz kalkulatora statystycznego online Social Science Statistics (<https://www.socscistatistics.com/>). Wyznaczano podstawowe statystyki opisowe, badano normalność rozkładu uzyskanych wyników (test Kołmogorowa-Smirnowa), istotność różnic średnich w poszczególnych grupach oraz



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”
sprawdzano istnienie ewentualnych korelacji między uzyskanymi wynikami (współczynnik R Pearson'a).

U badanych ptaków wskaźnik H:L był znacznie wyższy niż u ptaków starszych, co jest zgodne z obserwacjami innych autorów. Najbardziej zróżnicowane wyniki H:L stwierdzono u piskląt z grupy S2. Wartości tego wskaźnika były także wyższe, zarówno w grupie N2, jak i S2 niż w pozostałych grupach. Jedynie w powtórzeniu III piskląta z grupy N cechowały się wyraźnie niższym stosunkiem H:L niż grupa S, choć nie była to różnica statystycznie istotna. Zmiany w stosunku H:L rozpoczynają się jeszcze przed wykluciem się piskląt i zachodzą z większą intensywnością po wylęgu. Brak istotnych statystycznie różnic pomiędzy grupami N oraz S przy jednocześnie zróżnicowanym poziomie kortykosteronu nie są zaskoczeniem, ponieważ mogą pojawiać się z pewnym opóźnieniem w odpowiedzi na zadziałanie bodźca stresowego.

Statystyki opisowe dla wyników stosunku heterofili do limfocytów w powtórzeniu I zestawiono w tabeli 15. Uzyskane wyniki miały rozkład normalny. W teście Kołmogorowa-Smirnowa na poziomie $\alpha=0,05$ uzyskano w grupach N1 i S1 wyniki p równe odpowiednio 0,79791 i 0,95833. Test t-Studenta na poziomie istotności $\alpha=0,05$ nie wykazał różnic statystycznych pomiędzy obiema grupami ($p=0,218965$).

Tabela 15. Statystyki opisowe dla wyników H:L u piskląt w grupach N1 i S1.

	N1	S1
<i>Średnia</i>	2,59493	2,594061
<i>SD</i>	0,573063	0,694807
<i>Min</i>	1,631579	1,702703
<i>Max</i>	3,545455	3,545455
<i>Mediana</i>	2,637566	2,452381

Statystyki opisowe dla H:L w powtórzeniu II zebrano w tabeli 16. Rozkład wyników badanego parametru odbiegał od normalnego ($p=0.00875$ dla N2 i $p=0.01911$ dla S2). Obserwowane różnice średnich nie były istotne statystycznie, co wykazano w teście U-Whitney-Manna ($p=0,78716$).

Tabela 16. Statystyki opisowe dla wyników H:L u piskląt w grupach N2 i S2.

	N2	S2
<i>Średnia</i>	4,393562	4,255401
<i>SD</i>	0,973206	1,874778
<i>Min</i>	3	2,448276



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

<i>Max</i>	6,142857	9
<i>Mediana</i>	4,263158	4,255401

Statystyki opisowe dla H:L w powtórzeniu III zebrano w tabeli 17. Ze względu na nierównoliczność badanych grup do weryfikacji hipotezy o różnicy statystycznej średnich użyto testu U-Whitney-Manna odstępując od badania rozkładu. Test nie potwierdził istotności obserwowanej różnicy ($p=0,50926$).

Tabela 17. Statystyki opisowe dla wyników H:L u piskląt w grupach N3 i S3.

	N3	S3
<i>Średnia</i>	3,248783	3,359016
<i>SD</i>	0,390769	0,633831
<i>Min</i>	2,571429	2,333333
<i>Max</i>	3,761905	4,555556
<i>Mediana</i>	3,347826	3,347826

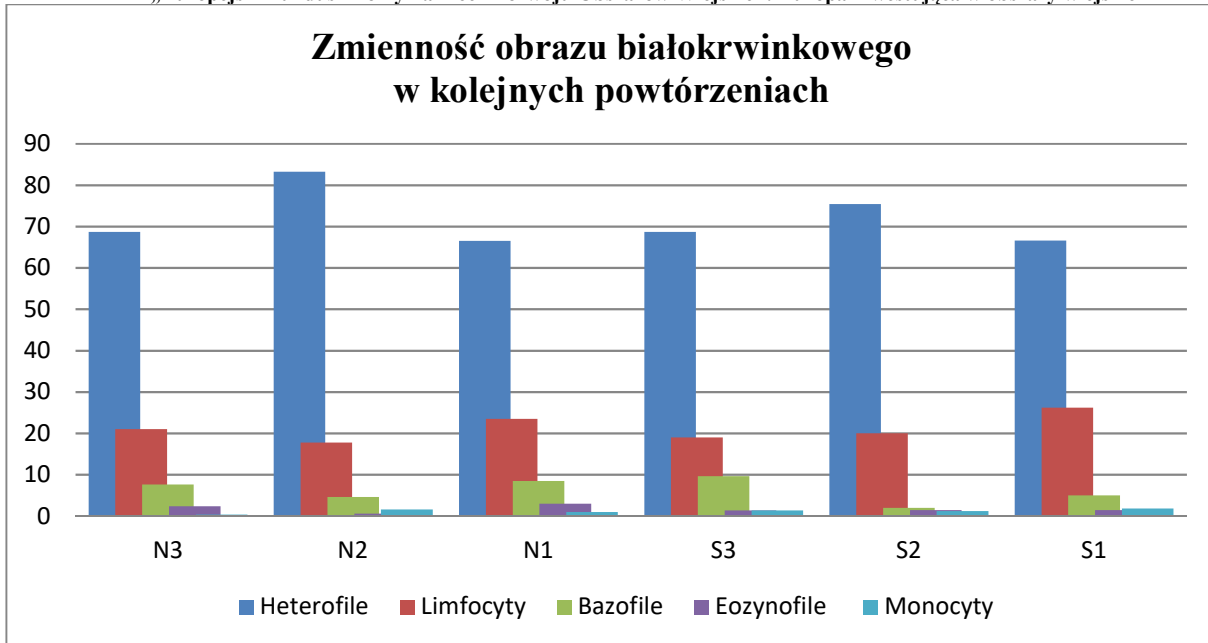
c) Wzór odsetkowy krwinek białych

Dwie wyżej wymienione linie komórkowe stanowią najliczniejszą subpopulację krwinek białych ptaków. Trzecią pod względem liczebności subpopulacją leukocytów są bazofile. Na kilka dni przed wykluciem odsetek bazofilów wynosi około 5%. Wydaje się, że u ptaków bazofile odgrywają ważną rolę we wczesnych reakcjach zapalnych i natychmiastowych reakcjach nadwrażliwości. W przeciwieństwie do ssaków ptasie bazofile nie biorą udziału w reakcjach nadwrażliwości opóźnionej. Bazofile uczestniczą także w reakcji stresowej. Ostry stres wyraża się wzrostem odsetka bazofilów. Ostatnie dwie subpopulacje leukocytów, czyli eozynofile i monocyty, są najmniej liczne. Stosunkowo duże zróżnicowanie grupy S pod względem odsetka bazofilów może świadczyć o większej podatności piskląt z tej grupy na bodźce stresowe. Średnie wartości odsetka poszczególnych subpopulacji krwinek białych zilustrowano na Rycinie 1.

Rycina 1. Zmienność wzoru odsetkowego krwinek białych w kolejnych pobraniach w grupach N i S.



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”



3. Ocena rozwoju narządów limfatycznych oraz odporności

- a) Określanie indeksów narządów limfatycznych grasicy, bursy Fabrycjusza i śledziony (stosunek masy narządu do masy ciała).

Właściwy rozwój narządów limfatycznych jest niezwykle istotny dla prawidłowego rozwoju i zdrowia ptaków. Grasica i bursa Fabrycjusza zaliczane są do pierwotnych organów limfatycznych, w których zachodzą procesy podziałów i różnicowania limfocytów. Natomiast śledziona jest magazynem limfocytów. W narządzie tym odbywa się różnicowanie komórek T i B oraz usuwanie uszkodzonych i starych limfocytów.

Układ immunologiczny ocenia się na podstawie wielkości narządów limfatycznych ze względu na korelację wielkości do funkcjonalności narządów. Dowiedziono, że dla grasicy i bursy Fabrycjusza liczba komórek limfatycznych pozostaje w dodatniej korelacji z wielkością organu. W związku z tym, większy indeks grasicy przekłada się na podwyższoną wydolność immunologiczną oraz większą odporność organizmu na infekcje oraz stres. Aby wykluczyć różnice osobnicze wynikające np. z różnic w wielkości ptaków, do oceny stosuje się indeksy narządów limfatycznych obliczane na podstawie stosunku masy narządu do masy ciała ptaka.

Analizę indeksu limfatycznego narządów przeprowadzono na 18 losowo wybranych indyczątkach leżonych w innowacyjnej i tradycyjnej technologii. Badania powtórzono trzykrotnie. Po zważeniu, pisklęta humanitarnie uśmiercano i pobierano od każdego narządy: grasicę, śledzionę i bursę Fabrycjusza. Następnie narządy limfatyczne ważono. Uzyskana masa służyła wyliczeniu



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”
indeksu masowego danego narządu limfatycznego, będącego procentowym udziałem masy danego narządu w całkowitej masie ciała danego osobnika. Indeksy masowe narządów limfatycznych obliczono według wzoru:

$$\text{masa narządu [g]} / \text{masa ciała [g]} \times 100$$

Uzyskane wyniki opracowano statystycznie stosując jednoczynnikową analizę wariancji z wykorzystaniem programu ANOVA używając testu Tukeya-Kramera (InStat® v.3.06, GraphPad Software Inc., USA). Istotność różnic między grupami wykazano na poziomie istotności statystycznej $p < 0,05$.

Indeksy masowe narządów limfatycznych przedstawiono w tabeli 18. Zaobserwowano wyższe indeksy masowe narządów limfatycznych u indycząt lęzonych w innowacyjnej technologii (grupy N), jednakże różnice statystyczne wykazano w wartościach indeksu masowego grasicy w I powtórzeniu oraz śledziony w I i II powtórzeniu.

Tabela 18. Indeksy masowe narządów limfatycznych badanych indycząt.

Grupa indycząt – technologia lęgu	Indeks grasicy	Indeks śledziony	Indeks bursy Fabrycjusza
S1	0,498 ±0,139	0,041 ±0,012 ^b	0,088 ±0,010
N1	0,541 ±0,077	0,034 ±0,011 ^b	0,091 ±0,009
S2	0,088 ±0,010	0,657 ±0,135 ^c	0,036 ±0,006
N2	0,091 ±0,009	0,727 ±0,093 ^c	0,040 ± 0,005
S3	0,638 ±0,116 ^a	0,035 ±0,004	0,085 ±0,020
N3	0,742 ±0,130 ^a	0,037 ±0,009	0,088 ±0,016

b) Ocena poziomu przeciwciał IgY w surowicy jednodniowych piskląt oraz żółtkach jaj

Odporność nabyta charakteryzuje się swoistością, różnorodnością oraz pamięcią immunologiczną. Podobnie jak u ssaków, system ten dzieli się na gałąź komórkową i humoralną. Odporność humoralna obejmuje immunoglobuliny (przeciwciała) i komórki, które je wytwarzają. Główna klasa immunoglobulin obecna w ptasiej surowicy i żółtku jaja określana jest jako IgY. Surowicze IgY są selektywnie przenoszone z układu krążenia nioski do dojrzewającego oocyty w pęcherzyku jajnikowym. Transfer ten zachodzi poprzez specyficzny receptor na powierzchni błony woreczka żółtkowego, który umożliwia selektywny transport wszystkich subpopulacji IgY obecnych we krwi nioski. Przeciwciała matczyne IgY obecne w żółtku jaja trafiają do krwioobiegu pisklęcia przez endoderme woreczka żółtkowego.



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

Materiał do badań stanowiły próbki żółtka pobrane z 18 sztuk jaj indyczych (B.U.T.6) pobrane przed nałożeniem do aparatów lęgowych oraz 36 próbek krwi pobranych od jednodniowych piskląt indyczych lęzonych w tradycyjnej i innowacyjnej technologii w ZWD w Skwierzynie (po 18 próbek z każdego systemu lęzenia – krew pobierano od tych samych ptaków, u których określano indeksy narządów limfatycznych). Próbki do badań pobierano w trzech powtórzeniach. Łącznie przebadano 54 próbki żółtka oraz 108 próbek surowicy. Całkowitą koncentrację IgY w próbkach surowicy oraz żółtkach jaj mierzono przy zastosowaniu kanapkowego protokołu ELISA. W tym celu wykorzystano komercyjny zestaw Chicken Immunoglobulin of Yolk (IgY) ELISA Kit (Qayee-Bio, Shanghai, China) zgodnie z zaleceniami producenta. Uzyskane wyniki opracowano statystycznie stosując jednoczynnikową analizę wariancji z wykorzystaniem programu ANOVA używając testu Tukeya-Kramera (InStat® v.3.06, GraphPad Software Inc., USA). Istotność różnic między grupami wykazano na poziomie istotności statystycznej $p < 0,05$.

Wartości absorbancji OD450 w próbkach żółtka ekstrahowanych przy użyciu chloroformu mieściły się w zakresie od 0,211 do 0,340 (próba I), od 0,132 do 0,530 (próba II) i od 0,209 do 0,522 (próba III). Wartości absorbancji OD50 w próbkach żółtka ekstrahowanych przy użyciu soli fizjologicznej mieściły się w zakresie od 0,052 do 0,081 (próba I), od 0,066 do 0,112 (próba II) i od 0,062 do 0,102 (próba III). Wartości absorbancji OD450 w próbkach surowicy piskląt lęzonych w innowacyjnej technologii mieściły się w zakresie od 0,055 do 0,106 (powtórzenie I), od 0,053 do 0,110 (powtórzenie II) i od 0,047 do 0,089 (powtórzenie III).

Wartości absorbancji OD450 w próbkach surowicy piskląt lęzonych w starej technologii mieściły się w zakresie od 0,069 do 0,110 (powtórzenie I), od 0,048 do 0,114 (powtórzenie II) i od 0,044 do 0,170 (powtórzenie III). Wartości absorbancji OD450 oraz średnie poziomy przeciwciał IgY ($\mu\text{g/ml}$), w próbkach żółtka i surowicy indycząt z trzech powtórzeń, obliczone równaniem regresji krzywej standardu dla poszczególnych płytek ELISA przedstawiono w tabeli 19. Na rycinie 2 przedstawiono wykresy średnich geometrycznych poziomów przeciwciał ($\mu\text{g/ml}$), w próbkach żółtka i surowicy w trzech kolejnych powtórzeniach.

Tabela 19. Wartości OD oraz poziomy przeciwciał IgY w żółtkach i surowicach jednodniowych piskląt indyczych

Powótze nienia	Nr próbki	WARTOŚCI ODCZYTU OD/ $\mu\text{g/ml}$ przeciwciał							
		Żółtko ekstrakcja chloroform		Żółtko ekstrakcja sól fizjologiczna		Surowica Innowacyjna technologia		Surowica Tradycyjna technologia	
		OD	$\mu\text{g/ml}$	OD	$\mu\text{g/ml}$	OD	$\mu\text{g/ml}$	OD	$\mu\text{g/ml}$
Pro wót	1/1	0,258	114	0,074	33	0,055	24,4	0,107	34,2
	1/2	0,320	142	0,060	26,5	0,055	24,4	0,101	32,3



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

3/10	0,382	121,5	0,080	25,4	0,081	25,7	0,067	20,7
3/11	0,301	95,7	0,100	31,8	0,066	21	0,065	20,1
3/12	0,275	87,4	0,085	27	0,074	23,5	0,045	14
3/13	0,291	92,5	0,082	26	0,066	21	0,056	17,3
3/15	0,266	84,6	0,097	30,8	0,050	16	0,055	17
3/15	0,343	109	0,062	19,7	0,073	23,2	0,052	16
3/16	0,390	124	0,102	32,4	0,064	20,3	0,076	23,5
3/17	0,345	109,7	0,094	29,9	0,089	28,3	0,049	15,1
3/18	0,522	166	0,098	31,1	0,068	21	0,170	52,5
		104,02 ± 5,998				20,739 ± 0,834		20,872 ± 2,006
Procentowy transfer przeciwciał						23%		23,5%
W stosunku do średniego poziomu przeciwciał w żółtku chloroform								

Rycina 2. Średnie poziomy IgY w żółtku oraz surowicy jednodniowych piskląt indyjskich.

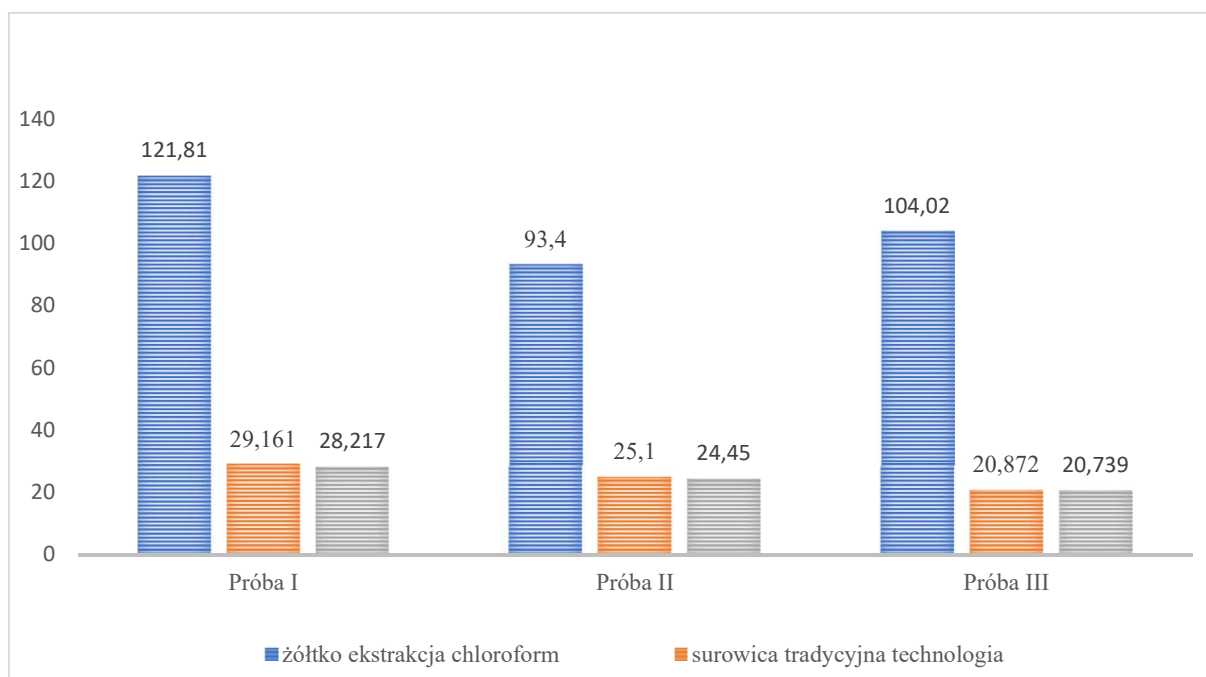


Tabela 20. Analiza statystyczna średnich poziomów przeciwciał IgY w żółtkach i surowicy jednodniowych piskląt indyjskich

	Średni poziom przeciwciał IgY			Średni poziom przeciwciał IgY z trzech powtórzeń
	(powtórzenie I)	powtórzenie II	powtórzenie III	
Żółtko ekstrakcja ¹ chloroform	121,81 ± 3,967*	93,4 ± 6,468*	104,02 ± 5,998	106,41 ± 3,549 ^{ab}
Surowica tradycyjna technologia	29,161 ± 0,9445**	25,100 ± 1,652	20,872 ± 2,006**	25,044 ± 1,017 ^a
Surowica innowacyjna technologia	28,217 ± 1,485***	24,450 ± 1,139	20,739 ± 0,834***	24,469 ± 0,7905 ^b

¹ W analizie uwzględniono poziomy przeciwciał w żółtkach ekstrahowanych z użyciem chloroformu.

Operacja pt. „Wzrost konkurencyjności spółki na rynku drobiarskim poprzez wdrożenie innowacyjnej organizacji produkcji, marketingu oraz technologii lęgu piskląt indyków” realizowana w ramach działania 16 „Współpraca” Programu Rozwoju Obszarów Wiejskich 2014-2020. Operacja współfinansowana ze środków Europejskiego Funduszu Rolnego na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich.



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

* Istotne statystycznie różnice pomiędzy kolejnymi pobraniami (próbami), dla żółtko ($P < 0.01$)

** Istotne statystycznie różnice pomiędzy kolejnymi pobraniami (próbami), dla surowica tradycyjna technologia ($P < 0.01$)

*** Istotne statystycznie różnice pomiędzy kolejnymi pobraniami (próbami), dla surowica innowacyjna technologia ($P < 0.001$)

^a Istotne statystycznie różnice pomiędzy średnim poziomem przeciwciał w żółtko i surowica tradycyjna technologia ($P < 0.0001$)

^b Istotne statystycznie różnice pomiędzy średnim poziomem przeciwciał w żółtko i surowica innowacyjna technologia ($P < 0.0001$)

Jak wynika z danych zawartych w tabeli 20 w surowicach jednodniowych piskląt leżonych w tradycyjnej i innowacyjnej technologii nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic poziomu przeciwciał IgY. Średni poziom przeciwciał dla powtórzenia I, II i III (surowica piskląt z innowacyjnej technologii leżenia) wynosił odpowiednio: 28,217 ($\mu\text{g/ml}$), 24,450 ($\mu\text{g/ml}$) i 20,739 ($\mu\text{g/ml}$). Zaobserwowano istotne statystycznie różnice ($P < 0.001$), w średnim poziomie przeciwciał pomiędzy pierwszym (powtórzenie I) i trzecim (powtórzenie III) pobraniem. Średnie poziomy przeciwciał u piskląt leżonych w tradycyjnej technologii dla powtórzeń I, II i III wynosiły odpowiednio: 29,161 ($\mu\text{g/ml}$), 25,100 ($\mu\text{g/ml}$) i 20,872 ($\mu\text{g/ml}$). Zaobserwowano istotne statystycznie różnice ($P < 0.01$) w średnim poziomie przeciwciał pomiędzy pierwszym (powtórzenie I) i trzecim (powtórzenie III) pobraniem. Średni arytmetyczny poziom przeciwciał w żółtkach ekstrahowanych przy użyciu chloroformu w trzech kolejnych pobraniach kształtował się na poziomie: 121,81 ($\mu\text{g/ml}$), 93,4 ($\mu\text{g/ml}$) i 104,02 ($\mu\text{g/ml}$). Zaobserwowano istotne statystycznie różnice ($P < 0.01$), w średnim poziomie przeciwciał w żółtkach pomiędzy pierwszym (powtórzenie I) i drugim (powtórzenie II) pobraniem.

Analiza średnich poziomów przeciwciał z trzech kolejnych powtórzeń w żółtkach ekstrahowanych chloroformem oraz w surowicy piskląt leżonych w innowacyjnej technologii wykazała istotnie statystycznie wyższy ($P < 0.0001$) poziom przeciwciał IgY w żółtkach. Średni procentowy transfer IgY z żółtka jaja (ekstrakcja żółtka przy użyciu chloroformu) do piskląt leżonych w innowacyjnej technologii w kolejnych trzech powtórzeniach wynosił odpowiednio: 23,2%, 26,2% i 23%.

Analiza średnich poziomów przeciwciał z trzech kolejnych powtórzeń w żółtkach ekstrahowanych chloroformem oraz w surowicy piskląt leżonych w tradycyjnej technologii wykazała istotnie statystycznie wyższy ($P < 0.0001$) poziom przeciwciał IgY w żółtkach.

Średni procentowy transfer IgY z żółtka jaja (ekstrakcja żółtka przy użyciu chloroformu) do piskląt leżonych w tradycyjnej technologii w kolejnych trzech pobraniach wynosił odpowiednio: 24%, 26,9% i 23,5%.

c) Monitorowanie zmian w układzie immunologicznym obejmujące immunofenotypowanie wybranych subpopulacji leukocytów



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

Limfocyty CD4+ i CD8+ biorą udział w procesach nabytej odpowiedzi immunologicznej. Są one kluczowymi elementami odporności komórkowej. Rolą limfocytów Th CD4+ jest działanie pomocnicze w stosunku do limfocytów T jak i B w inicjowaniu odpowiedzi immunologicznej. Z kolei limfocyty T cytotoksyczne CD8+, które posiadają cząsteczki powierzchniowe MHC-I, działają cytotoksycznie i zabijają komórki poprzez zapoczątkowanie procesu apoptozy. Główne komórki docelowe dla limfocytów Tc to komórki zakażone wirusem, komórki zakażone wewnątrzkomórkowo bakteriami oraz komórki nowotworowe.

Z krwi (od tych samych piskląt, u których określano poziom IgY oraz indeks narządów limfatycznych) pobranej do próbek z heparyną wyizolowano leukocyty metodą powolnego wirowania na gradiencie Histopaque-10775, a następnie przemyto roztworem PBS. Następnie wykonano immunofenotypowanie leukocytów. Optymalne stężenia wszystkich użytych przeciwciał ustalono metodą titracji przed wykonaniem badań. W celu immunofenotypowania leukocytów indyków, zastosowano znakowanie jednostopniowe. 100 μ L zawiesiny komórek o gęstości 1×10^6 inkubowano z dodatkiem ustalonej uprzednio ilości przeciwciała (CD4, CD8) przez 30 min, w ciemności. Następnie komórki te przemyto roztworem PBS, utrwalono 1% formaldehydem i analizowano za pomocą cytometru przepływowego FACSVerse firmy BD Biosciences. Przed każdym pomiarem cytometr poddano rutynowym procedurom walidacji i kalibracji. Bramkowanie limfocytów wykonano na podstawie ich charakterystyki komórek na cytogramie FS/SS. Do analizy zebrano każdorazowo minimum 20 000 komórek. Cytometryczną analizę wyników wykonano w programie FACS Suite (BD Biosciences). Wyniki przedstawiono w postaci odsetka limfocytów pozytywnych pod względem ekspresji antygenów CD4 oraz CD8. Analizy statystyczne przeprowadzono przy użyciu programu StatisticaPL. Analizę rozkładu normalnego przeprowadzono przy użyciu testu Shapiro-Wilka. Porównanie dwóch grup dla zmiennych niezależnych przeprowadzono za pomocą analizy testem T-studenta na poziomie istotności $\alpha=0,05$. Wyniki zostały przedstawione w postaci średniej i odchylenia standardowego.

Na podstawie analizy cytometrycznej wykazano wzrost odsetka limfocytów Th CD4+ w pierwszym i trzecim powtórzeniu (u obydwu grup samców) lęzonych w innowacyjnej technologii w porównaniu z tradycyjną technologią. Zaobserwowany został wzrost odsetka limfocytów CD4+ u indycząt w pierwszym i trzecim powtórzeniu (w obu grupach samców) lęzonych w innowacyjnej technologii, jednakże tylko w jednej z grup był on istotny statystycznie. Średnie wartości wynosiły odpowiednio: $33,06\% \pm 11,04$ i $29,92\% \pm 9,06$ limfocytów CD4+ w pierwszej turze badań oraz $27,3\% \pm 8,31$ i $15,7\% \pm 5,27$ limfocytów CD4+ w drugim powtórzeniu. W pierwszym i trzecim



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”
powtórzeniu (obie grupy samców) zaobserwowany został istotny wzrost odsetka limfocytów Tc CD8+. W pierwszym powtórzeniu odsetek limfocytów CD8+ wynosił odpowiednio 12,5%±3,8 w grupie lęzonej w innowacyjnej technologii i 7,75%±3,22 w grupie lęzonej w tradycyjnej technologii. W drugim powtórzeniu odsetek ten wyniósł odpowiednio 8,71%±3,6 w innowacyjnej technologii oraz 7,28%±2,6 w tradycyjnej technologii.

W przeciwieństwie do samców, w przypadku samic lęzonych w innowacyjnej technologii nie zostały odnotowane istotnie statystycznie różnice odnośnie odsetka limfocytów CD8+ (9,65%±5,35) w porównaniu z tradycyjną technologią lężenia (12,29%±5,06). Podobnie w przypadku limfocytów Th CD4+, odsetek tych komórek w przypadku tradycyjnej technologii lężenia (26,34%±8,34) nie różnił się statystycznie istotnie od odsetka limfocytów oznaczonego w drugim powtórzeniu (u samic) u indyków lęzonych w innowacyjnej technologii (31,24%±9,36).

Tabela 21. Zestawienie statystyk opisowych dla indycząt lęzonych w tradycyjnej (S) i innowacyjnej (N) technologii.

Subpopulacje limfocytów T	Grupa/pleć/technologia	średnia	MED	SD	Min	Max
CD4% (n=16)	N1 samce innowacyjna technologia	33,06	34,95	11,09	16,43	62,16
	S1 samce tradycyjna technologia	29,92	30,73	9,06	13,07	46,45
CD8%* (n=16)	N1 samce innowacyjna technologia	12,50	12,53	3,8	5,65	16,63
	S1 samce tradycyjna technologia	7,75	8,39	3,21	2,81	14,52
CD4% (n=18)	N2 samice innowacyjna technologia	31,24	30,71	9,36	17,39	54,35
	S2 samice tradycyjna technologia	26,34	26,28	8,34	7,25	40
CD8% (n=18)	N2 samice innowacyjna technologia	9,65	8,99	5,06	1,02	18,15
	S2 samice tradycyjna technologia	12,29	12,65	5,34	1,64	22,12
CD4%* (n=14)	N3 samce innowacyjna technologia	27,30	28,21	8,31	14,8	43,62
	S3 samce tradycyjna technologia	15,70	15,31	5,27	6,23	28,81
CD8%* (n=14)	N3 samce innowacyjna technologia	8,91	8,87	2,52	3,64	12,23



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

	S3 samce tradycyjna technologia	7,28	6,38	1,66	5,43	11,23
--	------------------------------------	------	------	------	------	-------

* - różnica istotna statystycznie pomiędzy grupami; N1 – powtórzenie I innowacyjna technologia; S1 – powtórzenie tradycyjna technologia; N2 – powtórzenie II innowacyjna technologia, S2 – powtórzenie II tradycyjna technologia; N3 – powtórzenie III innowacyjna technologia, S3 – powtórzenie III tradycyjna technologia

4. Oszacowanie ryzyka zakażenia mikrobiologicznego zarodków i lęzonych piskląt

Zakażenia bakteryjne jaj są przyczyną wysokich strat ekonomicznych w czasie lęgu i hodowli drobiu, związanych ze zwiększoną zamieralnością zarodków, spadkiem wylęgowości oraz wysoką śmiertelnością bądź zachorowalnością piskląt po wylęgu. Ponadto, bezpośrednie kontakty w klujniku zakładu wylęgowego piskląt zakażonych ze zdrowymi przyczyniają się do dalszego rozprzestrzeniania zakażeń. Zanieczyszczone środowisko lęgu, szczególnie niefizjologiczną florą bakteryjną, może w znacznej mierze wpłynąć na nieprawidłowy skład mikroflory przewodu pokarmowego wyklutych piskląt.

Materiał do badań pobierano z dwóch okresów inkubacji jaj (12 dnia inkubacji w tradycyjnej technologii – prześwietlenie jaj i 22 dnia inkubacji w tradycyjnej i innowacyjnej technologii – przekład jaj do klujników). Z pobranych wymazów z jaj wylęgowych wykonywano posiewy na agar Columbia z dodatkiem 5% krwi baraniej, agar MacConkey, podłoże Chapmana’a, podłoże Słanetz-Bartleya. Płytki inkubowano 24 godz. w temp. 36°C w warunkach tlenowych, a w przypadku braku wzrostu bakterii inkubację przedłużano do 48 godz. W celu izolacji bakterii z rodzaju *Salmonella* z każdej próbki pobierano po 100 ml materiału i dodawano do 900 ml podłoża Rappaport Vasidalis; próbki inkubowano w 42°C przez 24 godz. w warunkach tlenowych, a następnie materiał wysiewano na agar SS (*Shigella Salmonella*); płytki inkubowano w 36°C przez 24 godz. Ponadto, badania mykologiczne wykonano z użyciem podłoża Sabouranda, a posiewy inkubowano w temperaturze 35°C przez 7 dni. Czyste kultury drobnoustrojów wyrosłych na agarze tryptozowo sojowym identyfikowano za pomocą spektrometrii mas typu MALDI-TOF przy wykorzystaniu metody z ekstrakcją białek. W przypadku kiedy izolaty nie zostały zidentyfikowane lub zostały zidentyfikowane tylko do rodzaju, wykonano identyfikację z zastosowaniem techniki molekularnej (sekwencjonowanie produktu amplifikacji z użyciem genu 16S rDNA). W przypadku enterokoków do identyfikacji zastosowano gen *rpoA*

Bakterie wykryto w 258 jajach na 359 przebadanych, co stanowi 71,9% (Tabela 22). Kontaminacje mikrobiologiczne błony podskorupowej potwierdzono dla 198 jaj, białka – dla 111 jaj,



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”
a żółtka – dla 141 jaj; jednoczesna kontaminacja błony podskorupowej, białka i żółtka występowała w 51 jajach.

Tabela 22. Zanieczyszczenie bakteriologiczne jaj wylęgowych podczas embriogenezy w tradycyjnej i innowacyjnej technologii.

	Etapy badań	Liczba przebadanych jaj	Liczba jaj, w których NIE wykryto obecność bakterii	Liczba jaj, w których wykryto obecność bakterii	Część jaja – liczba jaj	Dominujący rodzaj bakterii – liczba jaj
Powtórzenie I	Tradycyjna technologia po prześwietlaniu	58	24	34/58 (58,6%)	Błona podsk.-23 Białko – 7 Żółtko – 22 Bł.podsk+b+ż – 3 (jednoczesne występowanie bakterii w trzech kompartmentach jaja)	<i>Staphylococcus</i> sp. – 23/34 zainfekowanych (=67,6%)
	Tradycyjna technologia po przekładzie do klujników	30	10	20/30 (66,7%)	Błona podsk. –18 Białko – 11 Żółtko – 12 Bł.podsk+b+ż – 9	<i>Staphylococcus</i> sp. – 12/20 (=60%)
	Innowacyjna technologia (po przekładzie do klujników)	30	4	26/30 (86,7%)	Błona podsk. – 24 Białko – 9 Żółtko – 9 Bł.podsk+b+ż – 4	<i>Staphylococcus</i> sp. – 16/26 (=61,5%)
Powtórzenie II	Tradycyjna technologia po prześwietlaniu	61	23	38/61 (62,3%)	Błona podsk. – 20 Białko – 13 Żółtko – 23 Bł.podsk+b+ż – 3	<i>Staphylococcus</i> sp. – 32/38 (=84,2%)
	Tradycyjna technologia po przekładzie do klujników	30	4	26/30 (86,7%)	Błona podsk. – 22 Białko – 12 Żółtko – 13 Bł.podsk+b+ż – 6	<i>Staphylococcus</i> sp. – 20/26 (76,9%)
	Innowacyjna technologia (po przekładzie do klujników)	30	5	25/30 (83,3%)	Błona podsk. – 16 Białko – 22 Żółtko – 13 Bł.podsk+b+ż – 6	<i>Staphylococcus</i> sp. – 25/25 (100%)
Powtórzenie III	Tradycyjna technologia po prześwietlaniu	60	26	34/60 (56,7%)	Błona podsk. – 26 Białko – 9 Żółtko – 12 Bł.podsk+b+ż – 1	<i>Staphylococcus</i> sp. – 30/34 (88,2%)
	Tradycyjna technologia po przekładzie do klujników	30	3	27/30 (90%)	Błona podsk. – 23 Białko – 16 Żółtko – 23 Bł.podsk+b+ż – 13	<i>Staphylococcus</i> sp. – 24/27 (=88,9%)



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

Innowacyjna technologia (po przekładzie do klujników)	30	2	28/30 (93,3%)	Błona podsk. – 25 Białko – 12 Żółtko – 14 Bł.podsk+b+ż – 5	<i>Staphylococcus</i> sp. – 26/28 (=92,8%)
	359		258/359 (71,9%)		

W jajach wylęgowych potwierdzono obecność bakterii reprezentujących łącznie 55 gatunków, w tym 44 gatunki bakterii gramdodatnich (przynależne do 11 rodzajów) oraz 11 gatunków bakterii gramujemnych (przynależne do 9 rodzajów).

Wśród wyizolowanych bakterii najczęściej identyfikowano gronkowce. Szczepy *Staphylococcus* sp., w tym *S.warneri*, *S.epidermidis*, *S.lentus*, *S.hominis*, *S.pasteuri*, *S.capitis*, *S.equorum*, *S.haemolyticus* i *S.lugdunensis*, wykryto aż w 208 jajach na 258 zanieczyszczonych mikrobiologicznie, co stanowi 80,6%. Z największą częstotliwością występowały szczepy *S.warneri* (obecne w 123 jajach na 208, w których wykryto gronkowce) oraz *S.epidermidis* (obecne w 108 jajach na 208). Szczepy *S.hominis*, *S.lentus* i *S.pasteuri* wykryto w 34, 33 i 28 jajach, odpowiednio. Szczepy pozostałych gatunków gronkowców występowały sporadycznie (1-4 jaja).

Drugim pod względem częstotliwości występowania w jajach wylęgowych rodzajem bakterii był *Enterococcus* sp. reprezentowany przez takie gatunki jak: *E.casseliflavus*, *E.faecalis* i *E.faecium*. Enterokoki wykryto w 73 jajach (na 258 zawierających kontaminacje bakteryjne), co stanowi 28,3%.

Obecność bakterii z rodzaju *Bacillus* potwierdzono w 42/258 jajach (16,3%), a najczęściej identyfikowanym gatunkiem był *B.licheniformis* (bakterie tego gatunku wykryto w 18 jajach), rzadziej *B.cereus*, *B.subtilis*, *B.amyloliquefaciens*, *B.pumilus* i *B.thermoamylovorans*.

Szczepy innych gatunków bakterii gramdodatnich występowały w mniej niż 6% jaj. W tej grupie znalazły się m.in. bakterie przynależne do rzędu *Micrococcales* i rodzaju *Brevibacterium* (15/258 jaj, 5,8%), *Curtobacterium* (6/258, 2,3%), a także *Rothia* (6/258, 2,3%), *Micrococcus* (4/258 jaj, 1,55%) i *Kocuria* (3/258, 1,2%). Z niewielką częstotliwością identyfikowano bakterie z rodzaju *Corynebacterium* (obecne w 11/258 jaj, 4,2%), *Streptococcus* sp. (4/258, 1,55%) i z rodziny *Lactobacillaceae* sp. (2/258, 0,8%).

Wyizolowane szczepy bakterii gramujemnych reprezentowały następujące rodzaje/gatunki: *Pseudomonas* sp. (5/258, 1,9%), *Citrobacter braaki* (2/258), *Enterobacter cloacae* (3/258), *E.coli* (7/258), *Moraxella* (2/258), *Raoultella terrigena* (2/258), *Aeromonas salmonicida* (1/258), *Alcaligenes faecalis* (5/258) i *Achromobacter piechaudii* (2/258).

W żadnym jajku nie wykryto bakterii z rodzaju *Salmonella* oraz grzybów.



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

5. Ocena wpływu innowacyjnego oraz tradycyjnego systemu lęzenia na częstotliwość zamierania określonej płci zarodków

Spośród czynników niezakaźnych, na wylęgowość i jakość biologiczną piskląt mają wpływ m. in.: wiek stada rodzicielskiego, a tym samym wielkość jaj wylęgowych, czas magazynowania jaj, a także warunki środowiskowe podczas inkubacji (temperatura, wilgotność, wentylacja). W średnich temperaturach (optymalnych) inkubacji jaj, stosunek wyklutych piskląt płci męskiej do żeńskiej u ptaków wynosi 1:1. Wykazano, że zarówno niższa, jak i wyższa niż optymalna temperatura lęgu dla danego gatunku drobiu wpływa na wylęgowość. Odnotowano również, iż temperatura inkubacji jaj może wpływać na śmiertelność zarodków określonej płci, mimo że płęć u ptaków uwarunkowana jest genetycznie. W przypadku indyków komercyjnych, istotne znaczenie ma ich płęć, ponieważ indory uzyskują większą masę ciała w porównaniu do indyczki, co przekłada się na ekonomię hodowli.

Utrzymanie jak najlepszych warunków podczas sztucznych lęgów możliwe jest dzięki doskonaleniu urządzeń wykorzystujących najnowszą technologię, w tym opartej na sztucznej inteligencji.

W badaniu wykorzystano łącznie 370 jaj wylęgowych (losowo pobranych) pochodzących ze stada rodzicielskiego indyków B.U.T.6. Analizy przeprowadzono w trzech powtórzeniach dla każdej technologii. Jaja z tego samego stada rodzicielskiego podzielono losowo na dwie części i inkubowano odpowiednio w tradycyjnej oraz innowacyjnej technologii lęzenia indyków (warunki lęgu – tabela 1 i 2 w punkcie I.1). Jaja inkubowane w tradycyjnej technologii (aparaty starszej generacji) pobierano podczas światlenia w 12 dobie oraz w dniu ich przekładu do aparatów klujnikowych tj. w 22 dobie. Jaja inkubowane w aparatach nowej generacji pobierano tylko w 22 dobie podczas ich automatycznego przekładu do aparatów klujnikowych, co miało na celu minimalizowanie stresu dla rozwijających się zarodków związanego z wyjmowaniem jaj poza strefę komfortu, prześwietlaniem i ważeniem. Z każdego jaja pobierano zarodki, które przepłukiwano płynem PBS z płynów płodowych. Następnie cały zarodek homogenizowano z użyciem ciekłego azotu. Tak przygotowaną próbkę użyto do izolacji DNA z wykorzystaniem komercyjnego zestawu GeneMATRIX Bio-Trace DNA Purification Kit (EURx, Polaska). Jako kontroli w reakcjach PCR użyto DNA wyizolowane powyższym zestawem z krwi dorosłej indyczki i indora B.U.T.6 (odpowiednio kontrola dla samic i samców) pobranej do probówek z EDTA podczas uboju.

Uzyskany materiał genetyczny stanowił matrycę w reakcjach multipleks PCR. Wielkość produktów amplifikacji dla syntazy ATP wynosiła 250pz (u samic i samców), a dla *PstI* - 177 pz (tylko u samic). Produkty PCR rozdzielono w 2% żelu agarozowym zawierającym 2,5 µl barwnika



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”
do żelu SimplySafe (EURx, Gdańsk, Polska) na 50 ml, a następnie uwidoczniono w świetle UV za pomocą systemu analizy obrazowania żelu z oprogramowaniem Quantity One (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA).

Uzyskane wyniki przedstawiono w tabeli 23. Z badanych jaj otrzymano łącznie 337 (91%) zarodków. Zaobserwowano statystycznie istotnie niższą zamieralność zarodków indyckich płci męskiej lęzonych w innowacyjnej technologii ($p=0,0225$). Nie wykazano istotnych różnic zamierania zarodków określonej płci lęzonych w tradycyjnej technologii ($p=0,9556$).

Tabela 23. Zamieralność zarodków indyckich płci męskiej i żeńskiej w tradycyjnej oraz innowacyjnej technologii lęzenia.

Technologia	Powtórzenie	Termin pobierania jaj	Samice	Samce
Technologia tradycyjna	Powtórzenie I	prześwietlenie 1 (12 doba)	18	12
		przekład 1 (22 doba)	17	12
	Powtórzenie II	prześwietlenie 2 (12 doba)	9	15
		przekład 2 (22 doba)	22	26
	Powtórzenie III	prześwietlenie 3 (12 doba)	13	22
		przekład 3 (22 doba)	26	19
			$17,5 \pm 2,48^a$	$17,7 \pm 2,32$
Technologia innowacyjna	Powtórzenie I	przekład 1 (22 doba)	19	10
	Powtórzenie II	przekład 2 (22 doba)	33	20
	Powtórzenie III	przekład 3 (22 doba)	26	18
				$26 \pm 4,04$

^a – średnia (odchylenie standardowe); * – różnice istotne statystycznie pomiędzy zamieralnością indycząt płci męskiej i żeńskiej w innowacyjnej technologii



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

WYNIKI BADAŃ PRZEPROWADZONE NA FERMACH

1. Ocena hematokrytu oraz wybranych parametrów biochemicznych w surowicy krwi piskląt z oraz bez dostępności do hydrożeli podczas transportu na gospodarke wodno-elektrolitową i cukrowo-tłuszczową.

Indyczęta pochodzące z innowacyjnej technologii lęzenia otrzymywały pół-wilgotną karmę (hydrożele) podczas transportu w przeciwieństwie do piskląt z systemu tradycyjnego. Podawanie hydrożeli zapobiega utracie wody, energii i witamin oraz pozytywnie wpływa na wchłanianie substancji zawartych w treści woreczka żółtkowego (substancje odżywcze, witaminy, minerały, przeciwciała matczyne). Ponadto zawarta w hydrożelach woda ma na celu ułatwić przyswajanie substancji odżywczych z paszy podawanej na fermie, co pozytywnie wpływa na przyrosty wagowe ptaków.

Po dostarczeniu indycząt na fermę, losowo wybrano po 25 piskląt z obu systemów technologicznych, które najpierw zważono, a następnie pobrano od nich krew. Po odwirowaniu krwi, otrzymana surowica posłużyła do oceny wybranych parametrów biochemicznych (glukoza, białko całkowite, cholesterol, trójglicerydy, kwas moczowy, jony: Na^+ , K^+ , Cl^-) z użyciem suchych sjadów i analizatora biochemicznego Catalyst One (IDEXX). Wskaźnik hematokrytu (Ht) oznaczano metodą mikrohematokrytową używając krwi natywnej i heparynowanych kapilar długości 70mm. Wynik podawano w procentach.

Podczas próbkowania zaobserwowano zainteresowanie otoczeniem i wyższą aktywność piskląt z innowacyjnej technologii, które otrzymywały pół-wilgotną karmę w czasie transportu.

W tabeli 24 zebrano statystyki opisowe dla wartości hematokrytu u ptaków z grup N1 i S1. Test Kołmogorowa-Smirnowa dla normalności rozkładu badanego parametru wykazał, że na poziomie istotności $\alpha=0,05$ w grupach N1 ($p=0.75904$) i S1 ($p=0.18374$) badany wskaźnik miał rozkład normalny. Pomimo iż wskaźnik Ht w grupie S1 był nieznacznie wyższy, to w teście t-Studenta na poziomie istotności $\alpha=0,05$ nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy grupami N1 i S1 ($p=0.186307$).

Tabela 24. Statystyki opisowe dla wyników Ht u piskląt w grupach N1 i S1.

	N1	S1
<i>Średnia</i>	37,39583	37,84
<i>SD</i>	3,145695	2,008582
<i>Min</i>	31,5	32,5
<i>Max</i>	46,5	41
<i>Mediana</i>	37,25	38,5



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

Tabela 25 zawiera podstawowe statystyki opisowe dla wartości Ht w grupach N2 i S2. Test Kołmogorowa-Smirnowa dla normalności rozkładu badanego parametru wykazał, że na poziomie istotności $\alpha=0,05$ w grupach N2 ($p=0.62429$) i S2 ($p=0.95662$) badany wskaźnik miał rozkład normalny. W teście t-Studenta na poziomie istotności $\alpha=0,05$ nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy grupami N2 i S2 ($p=0.102078$) mimo, że w grupie S2 średnia wartość wskaźnika Ht była nieznacznie wyższa.

Tabela 25. Statystyki opisowe dla wyników Ht u piskląt w grupach N2 i S2.

	N2	S2
<i>Średnia</i>	39,15217	38,41667
<i>SD</i>	2,222993	2,167948
<i>Min</i>	34,5	35
<i>Max</i>	42,5	43
<i>Mediana</i>	39,15217	39,70833

Podstawowe statystyki opisowe dla wartości Ht w grupach N3 i S3 przedstawia tabela 26. Test Kołmogorowa-Smirnowa na poziomie istotności $\alpha=0,05$ wykazał normalność rozkładu badanych wartości w obu grupach. Dla N3 $p=0.05129$ a dla S3 $p=0.66413$. Test t-Studenta na poziomie istotności $\alpha=0,05$ nie wykazał istnienia statystycznie istotnych różnic pomiędzy grupami N3 i S3 pod względem wskaźnika Ht ($p=0.05262$).

Tabela 26. Statystyki opisowe dla wyników Ht u piskląt w grupach N3 i S3.

	N3	S3
<i>Średnia</i>	36,68	38,02
<i>SD</i>	3,482877371	1,573213272
<i>Min</i>	25	34,5
<i>Max</i>	41,5	42
<i>Mediana</i>	34,34	38,51

Ponadto, w grupach S2 i S3 stwierdzono wyższe wartości białka ogólnego w porównaniu do grup N2 i N3. U indycząt w grupach S zaobserwowano również wyższe poziomy kwasu moczowego oraz jonów Cl^- w stosunku do grup N. Nie stwierdzono zależności poziomu sodu i potasu u badanych piskląt.

Wyższe wartości hematokrytu, białka ogólnego, kwasu moczowego oraz jonów Cl^- mogą wskazywać na odwodnienie piskląt z tradycyjnego systemu technologicznego.



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

Ponadto, we wszystkich grupach S odnotowano wyższe wartości glukozy w porównaniu do grup N, chociaż różnice statystycznie istotne były tylko w powtórzeniu III. Wyższe poziomy glukozy w surowicy mogą być skutkiem stresu.

Zaobserwowano wyrównany poziom cholesterolu u indycząt z obu systemów technologicznych w trzech powtórzeniach. W przypadku trójglicerydów, nieco wyższe wartości uzyskano w grupach N1 i N3 (samce) w porównaniu do grup S1 i S3. Odwrotną zależność odnotowano u samic, u których poziom trójglicerydów był niższy w grupie N2 w stosunku do grupy S2.

Nie wykazano różnic statystycznych masy ciała indycząt z obu technologii lęzenia, które podczas transportu otrzymywały (innowacyjna technologia) lub nie otrzymywały (tradycyjna technologia) pół-wilgotnej karmy. Mimo to, odnotowano nieznacznie wyższą masę ciała piskląt w grupach N1 i N3 w stosunku do odpowiednio grup S1 i S3. Ponadto, we wszystkich grupach N masa ciała indycząt była bardziej wyrównana.

Tabela 27. Wyniki badań biochemicznych indorów po transporcie (powtórzenie I).

Oceniane parametry	Grupa S1	Grupa N1	P value
masa ciała (po transporcie)	55,367 ±0,8254	56,247 ±0,6629	0,4238
Glukoza	240,43 ±2,015	235,21 ±9,566	0,6028
Kwas moczowy	5,222 ±0,3867	4,729 ±0,2670	0,2967
Sód	154,13 ±0,4675	154,21 ±0,5516	0,9150
Potas	3,822 ±0,1281	3,746 ±0,1452	0,6978
Na:K Ratio	41,261 ±1,389	42,375 ±1,490	0,5879
Chlor	116,30 ±0,5496	115,33 ±0,4988	0,1967
Białko ogólne	2,504 ±0,09335	2,533 ±0,02601	0,7620
Cholesterol	433,00 ±6,345	436,17 ±6,721	0,7339
Trójglicerydy	57,000 ±3,474	64,450 ±2,96	0,1285

Tabela 28. Wyniki badań biochemicznych indyczek po transporcie (powtórzenie II).

Oceniane parametry	Grupa S2	Grupa N2	P value
masa ciała (po transporcie)	58,379 ±1,004	56,335 ±0,7173	0,1097
Glukoza	237,57 ±2,961	231,70 ±1,874	0,1011
Kwas moczowy	5,048 ±0,3207	4,343 ±0,2618	0,0959
Sód	155,74 ±0,6135	153,30 ±0,3468	0,0012
Potas	3,052 ±0,07799	3,496 ±0,1062	0,0016
Na:K Ratio	50,652 ±2,026	44,435 ,608	0,0205
Chlor	118,74 ±0,6510	116,43 ± 0,3602	0,0034
Białko ogólne	3,174 ±0,07035	3,013 ±0,06233	0,0940
Cholesterol	452,74 ±2,716	451,09 ±4,457	0,7531
Trójglicerydy	67,421 ±3,712	58,938 ±4,125	0,1352

Wytłuszczone wartości P value wskazują na różnice statystycznie istotne



Tabela 29. Wyniki badań biochemicznych indorów po transporcie (powtórzenie III).

Oceniane parametry	Grupa S3	Grupa N3	P value
masa ciała (po transporcie)	58,023 ±0,9562	60,168 ±0,7253	0,0803
Glukoza	241,48 ±2,160	235,40 ±1,814	0,0361
Kwas moczowy	3,992 ±0,1649	3,856 ±0,1716	0,5703
Sód	153,68 ±0,3303	157,64 ±0,7068	< 0,0001
Potas	3,172 ±0,0615	3,288 ±0,0861	0,2784
Na:K Ratio	48,920 ±0,8620	48,560 ±1,204	0,8090
Chlor	120,36 ±0,5941	117,36 ±0,3995	0,0001
Białko ogólne	3,352 ±0,06560	3,012 ±0,04666	0,0001
Cholesterol	457,00 ±3,883	456,6 ±2,208	0,8516
Trójglicerydy	68,278 ±3,669	81,176 ±3,122	0,0119

Wyłuszczone wartości P value wskazują na różnice statystycznie istotne

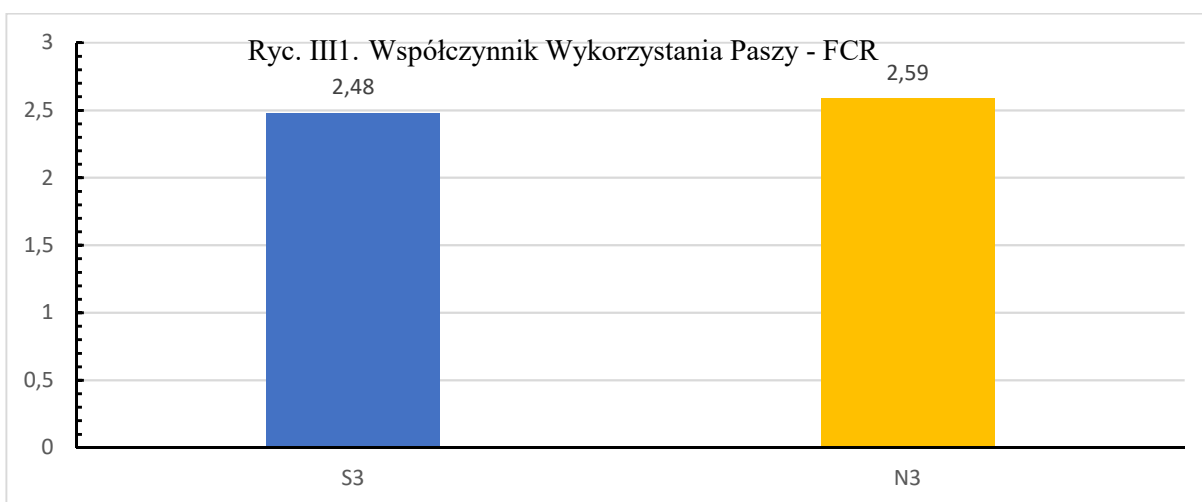
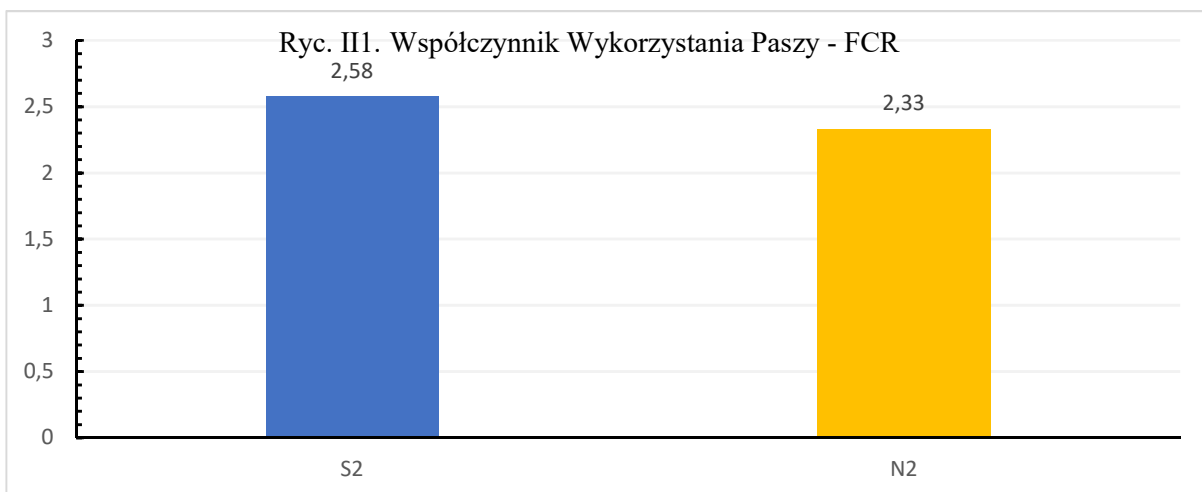
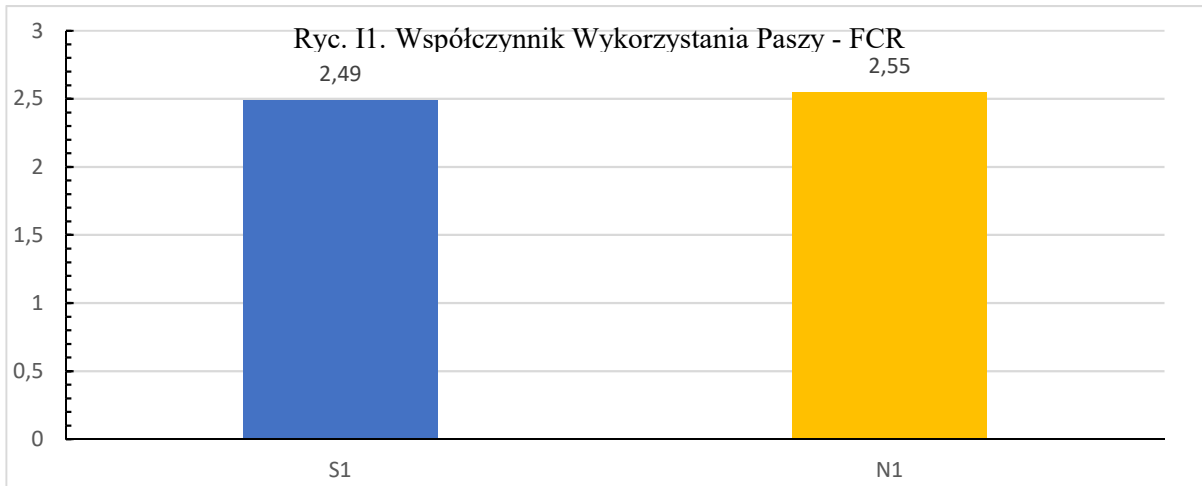
2. Porównanie efektów produkcyjnych piskląt indyckich z innowacyjnego oraz tradycyjnego systemu technologicznego

Indyki były monitorowane przez cały okres tuczu zarówno pod kątem występowania chorób, jak i efektów produkcyjnych. Prowadzono też ocenę parametrów produkcyjnych (przyrosty wagowe, ilość spożytej paszy, śmiertelność indyków). Dodatkowo, po zakończonym chowie indyków, obliczony został wskaźnik zużycia paszy [FCR= pobrana pasza (kg) / przyrost masy ciała (kg)] do porównania efektu produkcyjnego pomiędzy indykami pochodzącymi z innowacyjnego oraz tradycyjnego systemu technologicznego. Ptaki pochodzące z obu technologii otrzymywały tę samą paszę odpowiednią dla gatunku i wieku oraz wodę bez ograniczeń. Prowadzona była rejestracja leczeń określająca powód leczenia, rodzaj i ilość zużytych antybiotyków, co posłużyło do wyliczeń zużytych antybiotyków na kilogram końcowej masy ciała indyków (aspekt ekonomiczny).

Indory utrzymywane były 20 tygodni (powtórzenie I i III), a indyczki 15 tygodni (powtórzenie II). W związku z tym średnia masa ubojowa indorów z innowacyjnej technologii wyniosła 20,8 kg (grupa N1) i 20,9 kg (grupa N3), zaś w grupach z tradycyjnej technologii odpowiednio 20,51 kg (grupa S1) i 20,01 kg (grupa S3). W przypadku indyczek średnia masa ciała w grupie N2 osiągnęła 9,94 kg, natomiast w grupie S2 9,85 kg. Cele wydajnościowe dla linii B.U.T.6 wynoszą odpowiednio: FCR 2,48 i masa ciała 21,33 kg dla indorów w wieku 20 tygodni, natomiast dla indyczek w wieku 15 tygodni FCR 2,36 oraz masa ciała 10,32. Wskaźnik FCR dla grup N1-N3 wynosił odpowiednio: 2,55 (Ryc. II); 2,36 (Ryc. III1) oraz 2,55 (Ryc. III1); podczas gdy dla grup S1-S3 odpowiednio: 2,49 (Ryc. II); 2,58 (Ryc. III1) i 2,48 (Ryc. III1). Wskaźnik FCR w badanych grupach indyków był porównywalny. Chociaż na nieznacznie niższy FCR w stadach indorów z tradycyjnej technologii



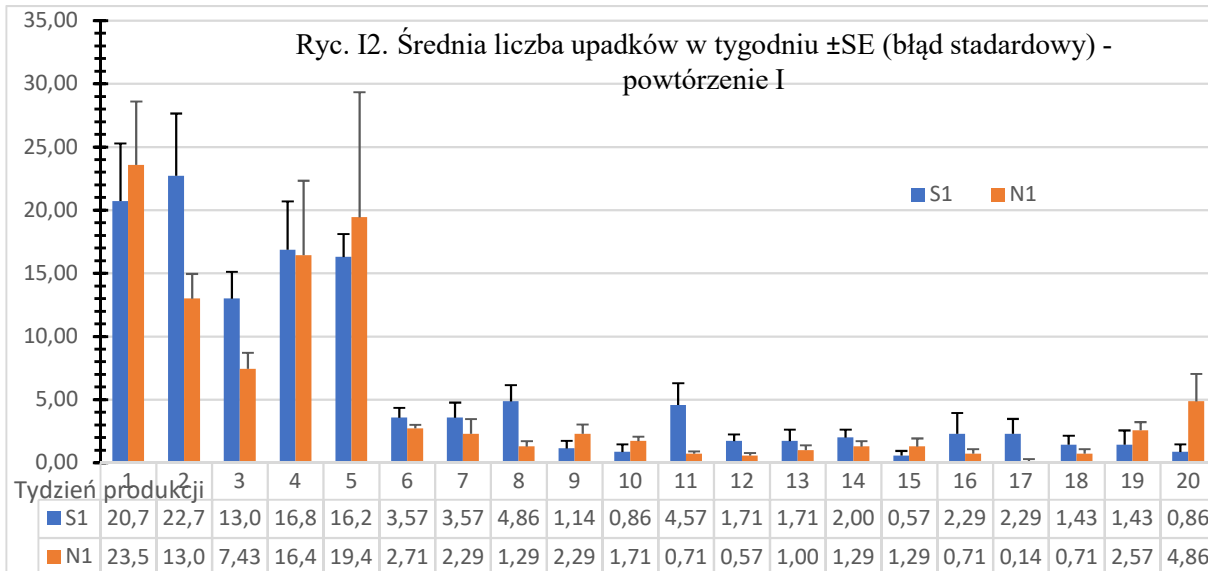
„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie” mogła wpłynąć m.in. wyższa śmiertelność ptaków podczas tuczu. W grupie N2 wskaźnik FCR był niższy w porównaniu do grupy S2 i był równy założeniom wydajnościowym dla 15 tygodniowych indyczek B.U.T.6.



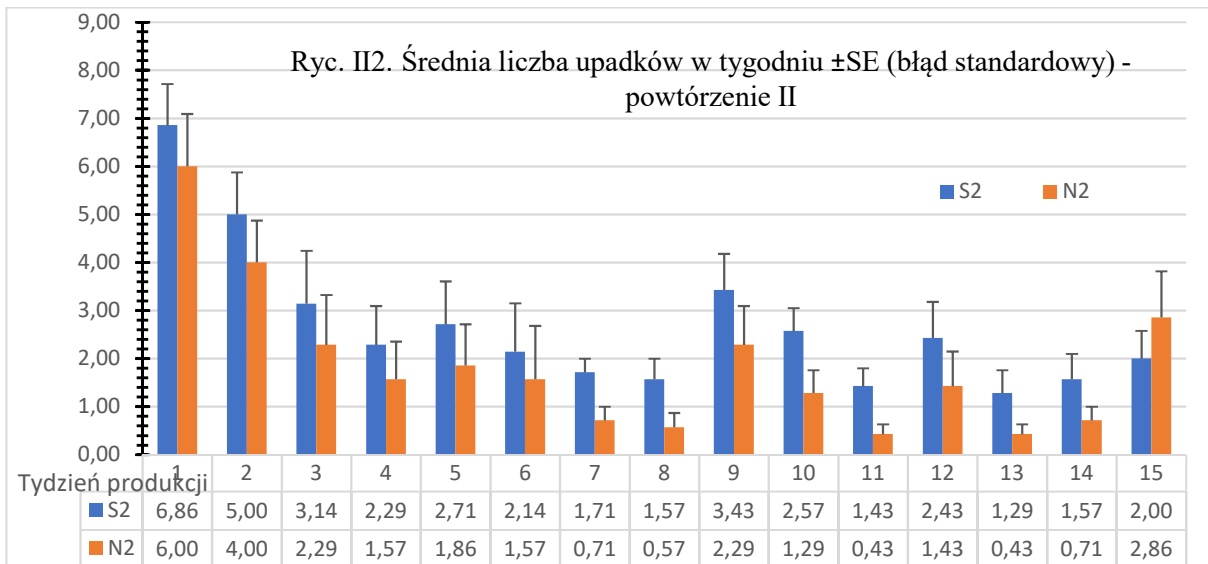


„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

Średnia liczba upadków w tradycyjnej technologii (powtórzenie I) w pierwszych dwóch tygodniach życia indyków wyniosła $20,71 \pm 4,6$ oraz $22,71 \pm 4,9$. Natomiast średnia liczba upadków w innowacyjnej technologii w tym okresie wyniosła odpowiednio $23,57 \pm 5,0$ oraz $13 \pm 2,0$ (Rycina I2).

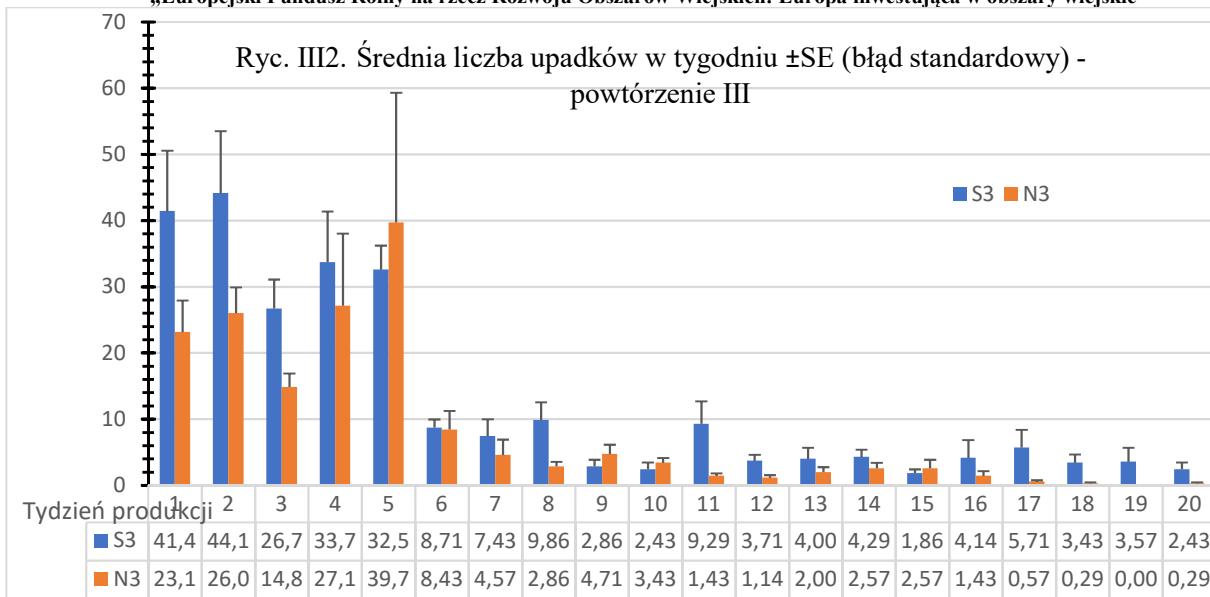


Natomiast w powtórzeniu II (Ryc. II2) i w powtórzeniu III (Ryc. III3), w pierwszych dwóch tygodniach tuczu, średnia liczba upadków była niższa w stadach z innowacyjnej technologii.

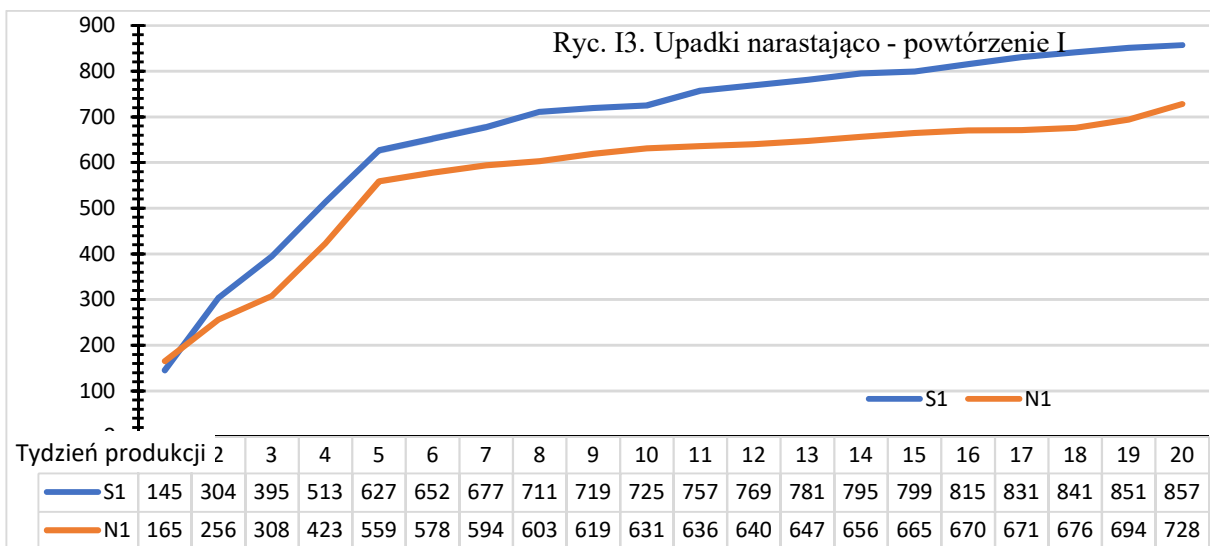




„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

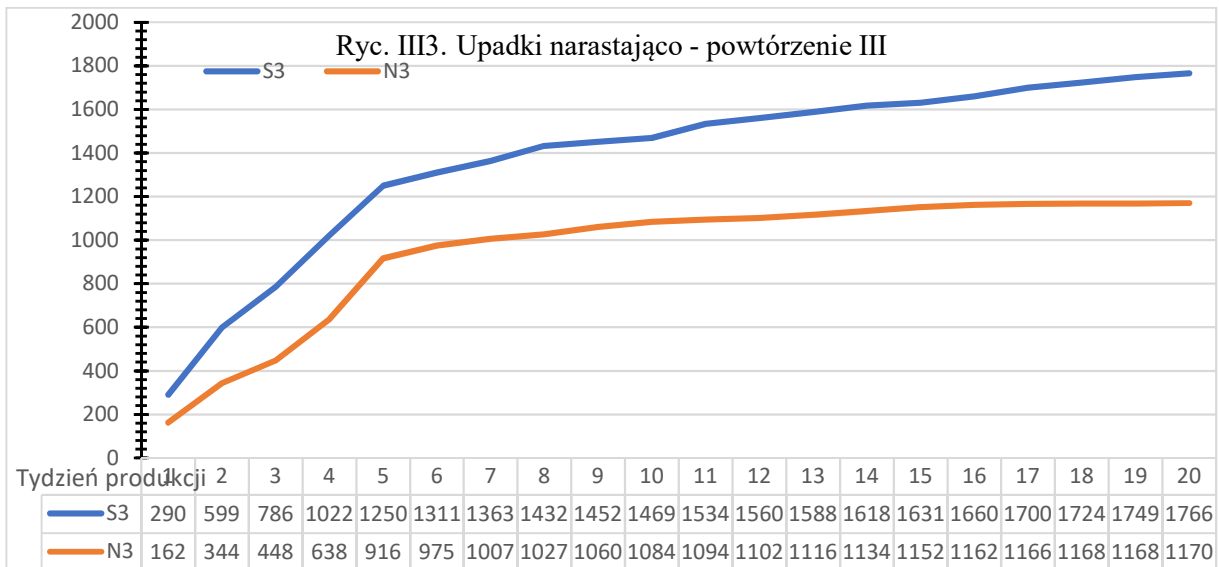
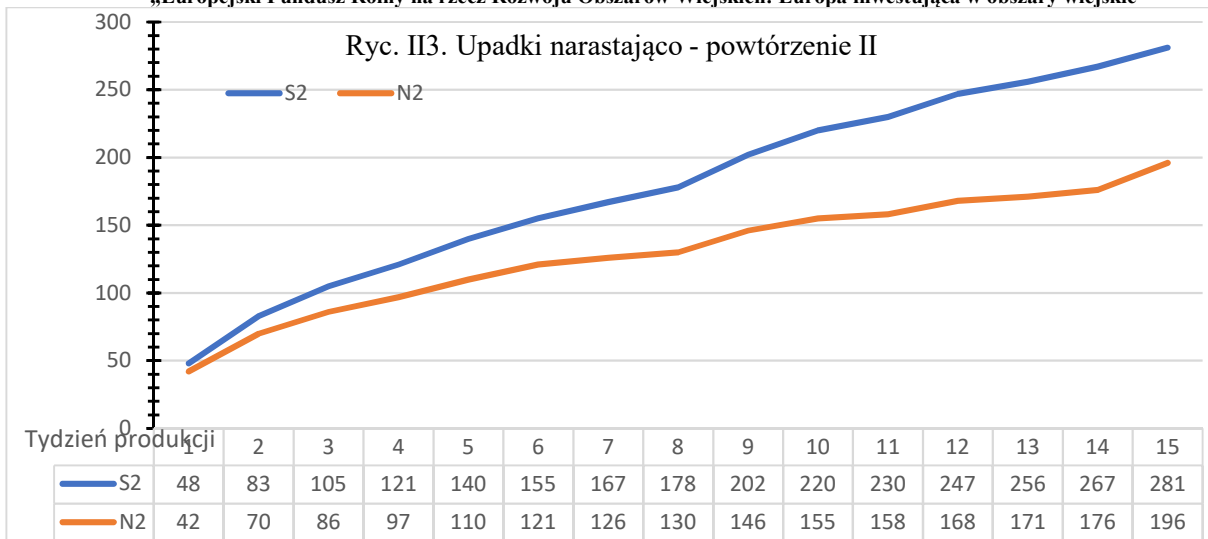


Ponadto, z analizy dynamiki narastania upadków indyków podczas całego okresu tuczu (Ryciny I3, II3 i III3) wynika, że była ona niższa w innowacyjnej technologii, z wyjątkiem pierwszego tygodnia w powtórzeniu I.





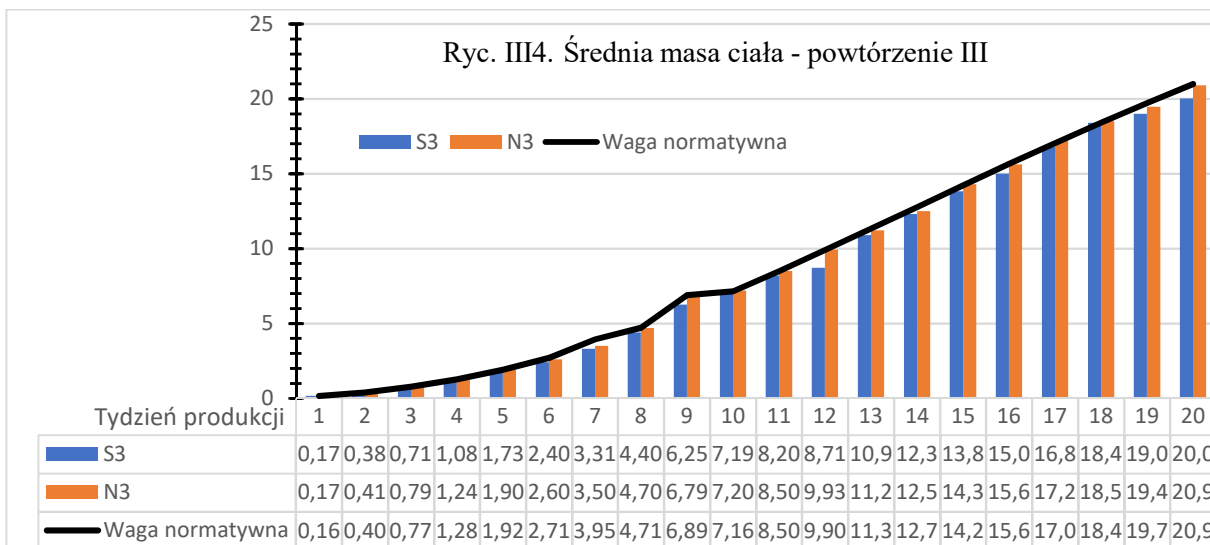
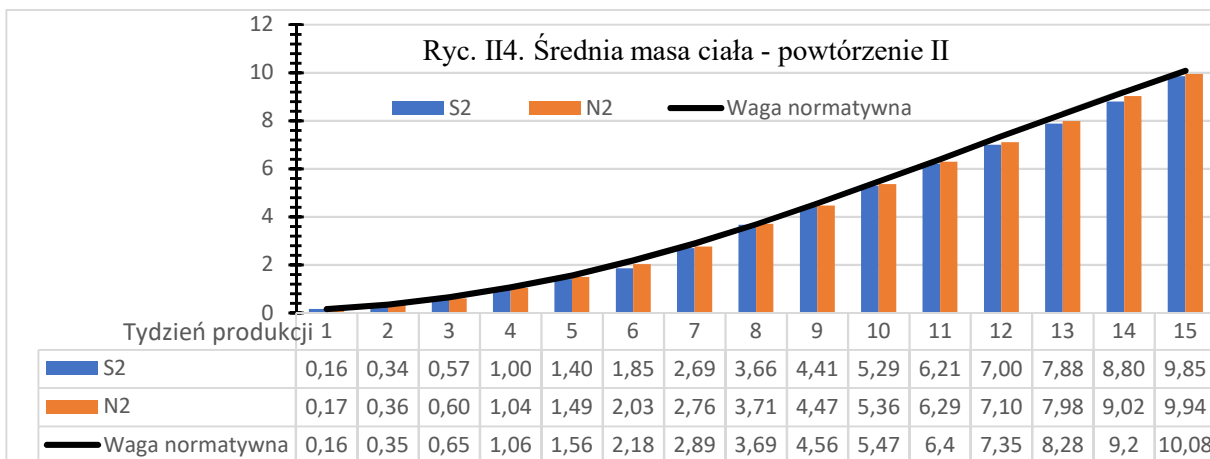
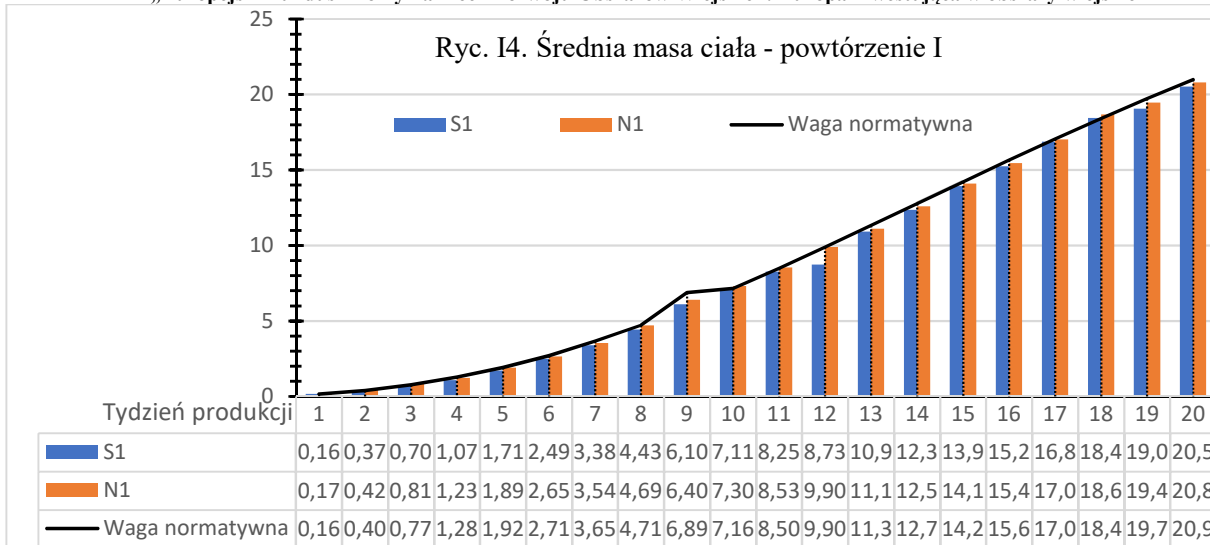
„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”



Dodatkowo, we wszystkich trzech powtórzeniach odnotowano wyższą średnią masę ciała indyków pochodzących z innowacyjnej technologii (Ryciny I4, II4 i III4) (analizę opracowano na podstawie danych udostępnionych przez ALGAMA S.A.).



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”





„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

W trakcie tuczu indyków, w stadach z innowacyjnej technologii (grupy N1-3) zużyto mniej antybiotyków/chemioterapeutyków w przeliczeniu na kilogram końcowej masy ciała w porównaniu do stad z tradycyjnej technologii (grupy S1-3). Dodatkowo, w stadach indyków z innowacyjnej technologii zastosowano mniej substancji czynnych z różnych klas antybiotyków (tabela 30). Antybiotykoterapia podjęta była z powodu zakażeń bakteryjnych (najczęściej powodem leczenia była kolibakterioza).

Tabela 30. Łączne zużycie antybiotyków na kg końcowej masy ciała w poszczególnych grupach indyków.

Klasy antybiotyków	Antybiotyk	Grupa N1	Grupa S1	Grupa N2	Grupa S2	Grupa N3	Grupa S3
Tetracykliny	Oksytetracyklina	2,83 mg	8,27 mg	-	-	-	6,17 mg
Aminoglikozydy	Neomycyna	0,77 mg	6,04 mg	-	-	-	8,64 mg
Chinolony	Enrofloksacyna	-	7,78 mg	-	0,00014 mg	1,53 mg	1,48 mg
Lipopeptydy	Kolistyna	-	0,24 mln j.m.	0,005 mln j.m.	0,012 mln j.m.	0,012 mln j.m.	0,013 mln j.m.
B-laktamy	Amoksycyklina	-	-	1,44 mg	3,63 mg	-	-

Podsumowanie

Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że wdrożenie innowacyjnej technologii lęgu indyków spełnia kryteria produkcji drobiu w warunkach podwyższonego dobrostanu, wpływa na poprawę ekonomii hodowli indyków oraz ochronę środowiska.

Odnotowano wyższy odsetek wylęgowości oraz niższy odsetek piskląt słabych i kalekich w innowacyjnej technologii w porównaniu do tradycyjnej technologii lężenia. Indyczęta z innowacyjnej technologii cechowały się bardziej wyrównaną masą ciała w stosunku do piskląt z tradycyjnej technologii. Nie zaobserwowano wyraźnych różnic w zanieczyszczeniu mikrobiologicznym jaj wylęgowych w obu technologiach. Stwierdzono niższą zamieralność zarodków indyckich płci męskiej w innowacyjnej technologii. Ograniczenie stresu (polepszenie dobrostanu) u rozwijających się zarodków manifestowało się niższymi wartościami kortykosteronu i markerów stresu oksydacyjnego u indycząt po wylęgu w innowacyjnej technologii. Nie zaobserwowano istotnych różnic w proporcji heterofili do limfocytów oraz w obrazie



„Europejski Fundusz Rolny na rzecz Rozwoju Obszarów Wiejskich: Europa inwestująca w obszary wiejskie”

białokrwińskim. Innowacyjne rozwiązania w procesie lęczenia indyków korzystnie wpłynęły na rozwój przewodu pokarmowego i jego funkcji wydzielniczych. Zaobserwowano wyższe indeksy masowe narządów limfatycznych u indycząt lęzonych w innowacyjnej technologii. Wzrost odsetka limfocytów pomocniczych o fenotypie CD4+, w połączeniu z istotnym wzrostem odsetka limfocytów cytotoksycznych o fenotypie CD8+ u badanych indyków, może świadczyć o wzmocnieniu mechanizmów odporności komórkowej u indyków lęzonych w innowacyjnej technologii. Zmiany, które zostały zaobserwowane w krwi obwodowej indyków lęzonych w obu technologiach mogą świadczyć o tym, że warunki w okresie embriogenezy tych ptaków mają wpływ nie tylko na lokalną, ale również na ogólną odporność organizmu. Nie stwierdzono istotnych różnic w poziomie przeciwciał IgY w surowicy piskląt lęzonych w innowacyjnej i tradycyjnej technologii. Nie stwierdzono również istotnych różnic w transferze przeciwciał IgY z żółtka jaj wylęgowych do surowicy indycząt. Odnotowano niższe wartości hematokrytu, białka ogólnego, kwasu moczowego oraz jonów Cl⁻, co wskazywało na lepsze nawodnienie piskląt z innowacyjnego systemu technologicznego otrzymujących pół-wilgotną karmę w czasie transportu. Ponadto, niższe wartości glukozy u piskląt po transporcie mogą wskazywać na niższy poziom stresu w grupach indycząt z innowacyjnej technologii. Nie stwierdzono istotnych różnic oraz zależności cholesterolu i trójglicerydów w badanych grupach indycząt po transporcie. Odnotowano wyższą średnią masę ciała indyków z innowacyjnej technologii po zakończonym tuczu. Wykazano niższe tygodniowe upadki indyków z innowacyjnego systemu technologicznego, co wiąże się z niższymi stratami w hodowli oraz przekłada się na ochronę środowiska związaną z utylizacją ptaków padłych. W grupach indyków z innowacyjnej technologii zużyto mniej antybiotyków w przeliczeniu na kilogram końcowej masy ciała. W terapii indyków zastosowano także mniej substancji przeciwbakteryjnych z różnych klas antybiotyków.

dr hab. Dagmara Stępień-Pyśniak, prof. uczelni
Dagmara Stępień-Pyśniak
Katedra Prewencji Weterynaryjnej i Chorób Ptaków
Wydział Medycyny Weterynaryjnej
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie