
ZAŁĄCZNIK II

AUTOREFERAT
(OPIS OSIĄGNIĘCIA I DOROBKU NAUKOWEGO)

DR INŻ. PAWEŁ GÓRKA

Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie

Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt

Katedra Żywienia i Dietetyki Zwierząt

Al. Mickiewicza 24/28

30-059 Kraków

Tel.: (12) 662 40 84

e-mail: p.gorka@ur.krakow.pl

Kraków 2018

1. Imię i nazwisko: Paweł Górka

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe

5/7/2005 **Magister inżynier zootechniki w zakresie biologii rozrodu zwierząt**, tytuł pracy magisterskiej: *Wpływ preparatu BioPlus 2B na wyniki skróconego odchowu cieląt*, Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt

Promotor: dr hab. Zygmunt M. Kowalski

24/3/2010 **Doktor nauk rolniczych w zakresie zootechniki**, tytuł rozprawy doktorskiej: *Wpływ rodzaju paszy płynnej na rozwój i funkcję przewodu pokarmowego cieląt*, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt

Promotor: prof. dr hab. Zygmunt M. Kowalski

Recenzenci: prof. dr hab. Jan Kowalczyk, prof. dr hab. Juliusz Strzetelski

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych

10/2010 – 9/2011 Asystent, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Katedra Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa

10/2011 – 9/2012 Staż podoktorski (stanowisko typu „post-doc”), Uniwersytet w Saskatchewan, Katedra Nauk o Zwierzętach i Drobiu, Saskatoon, Kanada

10/2012 – obecnie Adiunkt naukowo-dydaktyczny, Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie, Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt, Katedra Żywienia i Dietetyki Zwierząt

4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz o stopniach i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311.):

a) Tytuł osiągnięcia naukowego: Wpływ egzogenego kwasu masłowego oraz jego soli sodowej na budowę i funkcje żołądka oraz jelita cienkiego przeżuwaczy

b) Wykaz publikacji wchodzących w skład osiągnięcia naukowego

L.p.	Publikacja
H1	<p>Kowalski Z.M., Górka P., Flaga J., Barteczko A., Burakowska K., Oprządek J., Zabielski R. 2015. Effect of microencapsulated sodium butyrate in the close up diet on performance of dairy cows in the early lactation period. J. Dairy Sci. 98:3284-3291. doi:10.3168/jds.2014-8688</p> <p>IF¹ = 2,408, punkty MNiSW² = 40, cytowania³ = 10</p> <p><i>Mój wkład w powstanie pracy polegał na: udziale w tworzeniu koncepcji badań, udziale w opracowaniu metodyki badań (układów doświadczeń, procedur pobierania materiału do badań laboratoryjnych), udziale w pobieraniu materiału do badań laboratoryjnych (Doświadczenie I), wykonaniu analizy statystycznej uzyskanych danych, przygotowaniu zestawień tabelarycznych wyników i wykresów, udziale w interpretacji wyników badań, przygotowaniu tekstu publikacji do druku oraz jej przeprowadzeniu przez proces recenzji. Mój wkład w wykonanie pracy szacuję na 30%.</i></p>
H2	<p>Górka P., Śliwiński B., Flaga J., Wieczorek J., Godlewski M.M., Wierchoś E., Zabielski R., Kowalski Z.M. 2017. Effect of butyrate infusion into the rumen on butyrate flow to the duodenum, selected gene expression in the duodenum epithelium, and nutrient digestion in sheep. J. Anim. Sci. 95:2144-2155. doi:10.2527/jas.2016.1218</p> <p>IF = 1,714, punkty MNiSW = 40, cytowania = 2</p> <p><i>Mój wkład w powstanie pracy polegał na: sformułowaniu hipotezy badawczej i stworzeniu koncepcji badań, opracowaniu układu doświadczenia, opracowaniu procedur żywienia zwierząt i składu dawek pokarmowych, opracowaniu procedury biopsji nabłonka jelita cienkiego i wykorzystania markerów zewnętrznych do szacowania strawności w przewodzie pokarmowym, wykonaniu doświadczenia na zwierzętach, pobieraniu materiału do badań laboratoryjnych, zestawieniu numerycznych danych w arkuszach kalkulacyjnych, kalkulacji relatywnej ekspresji</i></p>

genów na poziomie mRNA, wykonaniu analizy statystycznej danych, przygotowaniu zestawień tabelarycznych wyników i ich interpretacji, przygotowaniu tekstu publikacji oraz jej przeprowadzeniu przez proces recenzji, a także kierowaniu projektem badawczym w ramach którego wykonano badania. Mój wkład w wykonanie pracy szacuję na 50%.

- H3** Górka P., Śliwiński B., Flaga J., Olszewski J., Wojciechowski M., Krupa K., Godlewski M.M., Zabielski R., Kowalski Z.M. 2018. Effect of exogenous butyrate on the gastrointestinal tract of sheep. I. Structure and function of the rumen, omasum and abomasum. J. Anim. Sci. (praca przyjęta do druku). doi: 10.1093/jas/sky367

IF = 1,714, punkty MNiSW = 40, cytowania = 0

Mój wkład w powstanie pracy polegał na: sformułowaniu hipotezy badawczej i stworzeniu koncepcji badań, opracowaniu układu doświadczenia, wykonaniu doświadczenia na zwierzętach, pobieraniu materiału do badań laboratoryjnych, opracowaniu procedur wykonania preparatów histologicznych i pomiarów histometrycznych, zestawieniu numerycznych danych w arkuszach kalkulacyjnych, kalkulacji relatywnej ekspresji genów na poziomie mRNA, wykonaniu analizy statystycznej danych, przygotowaniu zestawień tabelarycznych wyników i ich interpretacji, przygotowaniu tekstu publikacji oraz jej przeprowadzeniu przez proces recenzji, a także kierowaniu projektem badawczym w ramach którego wykonano badania. Mój wkład w wykonanie pracy szacuję na 50%.

- H4** Górka P., Śliwiński B., Flaga J., Olszewski J., Nawrocka P., Sobkowiak K., Miltko R., Godlewski M.M., Zabielski R., Kowalski Z.M. 2018. Effect of exogenous butyrate on the gastrointestinal tract of sheep. II. Hydrolytic activity in the rumen and structure and function of the small intestine. J. Anim. Sci. (praca przyjęta do druku). doi: 10.1093/jas/sky368

IF = 1,714, punkty MNiSW = 40, cytowania = 0

Mój wkład w powstanie pracy polegał na: sformułowaniu hipotezy badawczej i stworzeniu koncepcji badań, opracowaniu układu doświadczenia, wykonaniu doświadczenia na zwierzętach, pobieraniu materiału do badań laboratoryjnych,

opracowaniu procedur wykonania preparatów histologicznych i pomiarów histometrycznych, opracowaniu procedur oznaczenia aktywności enzymów rąbka szczoteczki, zestawieniu numerycznych danych w arkuszach kalkulacyjnych, kalkulacji relatywnej ekspresji genów na poziomie mRNA, wykonaniu analizy statystycznej danych, przygotowaniu zestawień tabelarycznych wyników i ich interpretacji, przygotowaniu tekstu publikacji oraz jej przeprowadzeniu przez proces recenzji, a także kierowaniu projektem badawczym w ramach którego wykonano badania. Mój wkład w wykonanie pracy szacuję na 50%.

¹IF = Impact Factor czasopisma; ²MNiSW = punkty Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego; ³ilość cytowań wg bazy Web of Science TM Core Collection.

Przedłożone do oceny osiągnięcie naukowe stanowi cykl czterech powiązanych tematycznie publikacji naukowych. Wszystkie prace ukazały się w czasopismach z bazy JCR (Journal Citation Reports). Sumaryczna wartość bibliometryczna publikacji wynosi:

IF = 7,550

Punkty MNiSW = 120

Liczba cytowań = 12

Do obliczeń przyjęto: wartość IF zgodne z rokiem wydania pracy lub w przypadku prac opublikowanych w roku 2018 IF za rok 2017; punkty MNiSW zgodnie z rokiem ukazania się pracy lub w przypadku prac opublikowanych w roku 2018 punkty przyjęto jak za rok 2016; liczbę cytowań przyjęto wg bazy Web of Science TM Core Collection.

Badania opisane w pracy H1 wykonano ze środków finansowych MNiSW (DS-3217/KŻZiP/2012), badania opisane w pracy H2 i H3 ze środków finansowych Narodowego Centrum Nauki (DEC-2013/11/B/NZ9/01938), a badania opisane w pracy H4 ze środków finansowych Narodowego Centrum Nauki (DEC-2013/11/B/NZ9/01938) oraz funduszu na działalność statutową Instytutu Fizjologii i Żywienia Zwierząt im. J. Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk w Jabłonie.

Oświadczenia określające indywidualny wkład współautorów w powstanie publikacji znajdują się w Załączniku V.

c) Omówienie celu naukowego w/w prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania**I. WPROWADZENIE**

Kwas masłowy jest związkem naturalnie powstającym w przewodzie pokarmowym, w wyniku fermentacji węglowodanów. Związek ten uznaje się za ważny regulator proliferacji, dojrzewania i funkcji komórek nabłonka przewodu pokarmowego (Guilloteau i wsp., 2010). Chociaż jego wpływ na nabłonek przewodu pokarmowego jest dość dobrze poznany (Guilloteau i wsp., 2010; Niwińska i wsp., 2017; Górka i wsp., 2018), to wiedza z tego zakresu jest wciąż pogłębiana. W przypadku gatunków zwierząt przeżuwających dąży się do lepszego poznania zakresu oraz mechanizmów oddziaływania kwasu masłowego na funkcje poszczególnych odcinków przewodu pokarmowego (Foote i wsp., 2017; Herrick i wsp., 2017). Ma to uzasadnienie praktyczne, gdyż stymulowanie powstawania kwasu masłowego w świetle przewodu pokarmowego lub jego dodatek do dawki pokarmowej mogą być wykorzystane w celu „sterowania” funkcjami przewodu pokarmowego. Końcowym wynikiem takiego postępowania może być poprawa efektywności produkcji mleka, mięsa oraz wełny.

W przewodzie pokarmowym kwas masłowy występuje głównie w formie zjonizowanej i w takiej formie, tj. anionu, jest on wchłaniany ze światła większości odcinków przewodu pokarmowego (Guilloteau i wsp., 2010; Aschenbach i wsp., 2011). Stąd też oddziaływanie kwasu masłowego na przewód pokarmowy przypisuje się przede wszystkim anionowi maślanowemu (Guilloteau i wsp., 2010). Niemniej jednak w treści pokarmowej kwas masłowy występuje również w formie niezdysonowanej oraz może występować jako sól. Dokładne określenie różnic w oddziaływaniu tych różnych form kwasu masłowego na przewód pokarmowy jest trudne, a nawet niemożliwe, ze względu na dynamiczne i trudne do kontrolowania „przechodzenie” jednej formy w inną. Dodatkowo, w badaniach naukowych oraz praktycznym żywieniu zwierząt jako źródło kwasu masłowego (a tym samym anionu maślanowego) najczęściej wykorzystuje się sole kwasu masłowego, ze względu na ich stały stan skupienia oraz mniej nieprzyjemny zapach, w porównaniu do kwasu masłowego (Guilloteau i wsp., 2010; Niwińska i wsp., 2017; Górka i wsp., 2018). Dlatego też w celu uproszczenia w niniejszej rozprawie przyjęto, że wszystkie wyżej wymienione formy kwasu masłowego będą określane mianem „maślanu”, pomimo tego,

że w nomenklaturze polskiej określenie to odnosi się do soli kwasu masłowego. W miarę potrzeby różnice pomiędzy oddziaływaniem różnych form maślanu na przewód pokarmowy będą jednakże stosownie omawiane i dyskutowane.

Oddziaływanie maślanu, a dokładnie jego soli sodowej, na rozwój przewodu pokarmowego przeżuwaczy we wczesnym okresie postnatalnym było przedmiotem moich badań prowadzonych w ramach pracy doktorskiej. Badania z tego zakresu wciąż kontynuuję, a ich dotychczasowe wyniki zostały opublikowane (Górka i wsp., 2011a; Górka i wsp., 2011b; Górka i wsp., 2014; Wanat i wsp., 2015) i podsumowane (Górka i wsp., 2018) w uznanych czasopismach naukowych. Niniejsza rozprawa dotyczy wpływu maślanu na budowę i funkcje przewodu pokarmowego dorosłych przeżuwaczy, ze szczególnym uwzględnieniem jego wpływu na budowę i funkcje ksiąg, trawieńca oraz jelita cienkiego. W celu weryfikacji przyjętych hipotez w przeprowadzonych badaniach jako źródło maślanu wykorzystano kwas masłowy oraz jego sól sodową.

Wpływ maślanu na budowę i funkcje żwacza

Ze względu na intensywną fermentację składników pokarmowych w przedżołądkach, szczególnie duże ilości krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (**KKT**), w tym maślanu, postają w górnym odcinku przewodu pokarmowego przeżuwaczy, zwłaszcza w żwaczu. Biorąc pod uwagę nadrzędne znaczenie żwacza w przebiegu procesów trawiennych u przeżuwaczy, zdecydowana większość prowadzonych badań dotyczyła wpływu wybranych czynników na budowę i funkcje tego odcinka przewodu pokarmowego. Warto jednakże nadmienić, że ze względu na swobodny przepływ treści pokarmowej pomiędzy żwaczem a czepcem oraz brak wyraźnej fizycznej granicy pomiędzy tymi przedżołądkami, precyzyjne określenie wpływu badanych czynników na funkcje żwacza jest często trudne. Stąd też wyniki prowadzonych doświadczeń najczęściej dotyczą wpływu oddziaływania wybranych czynników na budowę i funkcje nie samego żwacza, lecz całego żwaczoczepca. Fakt ten – w miarę możliwości – będzie uwzględniony w opisie oraz dyskusji wyników badań prezentowanych w niniejszej rozprawie.

Szczególnie duży wzrost koncentracji maślanu w żwaczoczepcu obserwuje się, gdy w dawce pokarmowej zwiększa się pobranie węglowodanów niestrukturalnych, takich jak monocukry, dwucukry i skrobia (DeFrain i wsp., 2004; Liu i wsp., 2013). Chociaż

wyniki badań w tym zakresie nie zawsze są jednoznaczne (Morvay i wsp., 2011), a koncentracja maślanu w treści pokarmowej niekoniecznie musi odzwierciedlać jego produkcję, to wzrostowi koncentracji KKT w treści żwaczoczepca na ogół towarzyszy wzrost ich produkcji (Sutton i wsp., 2003).

Wzrostowi ilości maślanu w żwaczoczepcu towarzyszy szereg zmian strukturalnych i funkcjonalnych w obrębie nabłonka żwacza, w tym nasilenie proliferacji komórek nabłonka żwacza i wzrost długości brodawek żwaczowych (Mentschel i wsp., 2001; Malhi i wsp., 2013), zwiększenie ekspresji niektórych genów kodujących białka pośredniczące w transporcie KKT przez nabłonek żwacza (Malhi i wsp., 2013; Dengler i wsp., 2014) oraz zwiększenie tempa przepływu krwi przez nabłonek (Storm i wsp., 2011). Stąd też maślan powszechnie uznaje się za jeden z najważniejszych modulatorów rozwoju, dojrzewania i funkcjonowania nabłonka żwacza, a wzrost jego ilości w żwaczu za czynnik zwiększający efektywność wchłaniania i wykorzystania składników pokarmowych przez przeżuwacze (przez oddziaływanie na powierzchnię i mechanizmy wchłaniania składników pokarmowych ze żwacza; Malhi i wsp. (2013), Górka i wsp. (2018)). Wzrostowi ilości maślanu w żwaczu, uzyskanemu przez jego infuzję do żwacza lub wprowadzenie do dawki pokarmowej pasz stymulujących jego mikrobiologiczną produkcję, towarzyszyła również większa strawność składników pokarmowych w całym przewodzie pokarmowym (Huhtanen i wsp., 1993; Chibisa i wsp., 2015), a także szereg zmian w budowie tego odcinka przewodu pokarmowego (np. pogrubienie ściany żwacza oraz powiększenie jego masy; Malhi i wsp. (2013)). W ślad za wykazanim w wielu badaniach stymulującym oddziaływaniem maślanu na przebieg funkcji trawiennych u przeżuwaczy, żywieniowe metody modyfikacji jego produkcji w żwaczu oraz jego dodatek do dawki pokarmowej wykorzystuje się w celu zwiększenia efektywności żywienia tej grupy zwierząt (Cavini i wsp., 2015; Chibisa i wsp., 2015).

O ile zakres oddziaływania maślanu na strukturę i funkcje nabłonka żwacza są dość dobrze poznane, to mechanizm tego oddziaływania nie jest dobrze poznany. Dotychczasowe badania wykazały, że maślan stymuluje proliferację komórek nabłonka żwacza przez aktywację genów regulujących przebieg cyklu komórkowego (Malhi i wsp., 2013). Jednocześnie maślan zmniejsza ilość komórek w obrębie nabłonka, które ulegają apoptozie, czyli programowanej śmierci (Mentschel i wsp., 2001), co w połączeniu z nasileniem procesów proliferacji komórek prowadzi do powiększenia wymiarów brodawek żwaczowych

i powierzchni wchłaniania składników pokarmowych ze żwacza (Malhi i wsp., 2013). Ponadto, po wniknięciu do wnętrza komórek, maślan jest intensywnie przekształcany do ciał ketonowych. Sytuacja taka indukuje stres oksydacyjny (Dengler i wsp., 2014), co może być czynnikiem inicjującym szereg zmian w funkcjonowaniu nabłonka żwacza, takich jak zmiany ekspresji białek pośredniczących we wchłanianiu KKT ze żwacza oraz szybkości przepływu krwi przez nabłonek tego odcinka przewodu pokarmowego (Storm i wsp., 2011; Dengler i wsp., 2014). Lepsze poznanie mechanizmów, a także zakresu oddziaływania maślanu na funkcje żwacza mogą pozwolić na uzyskiwanie jeszcze lepszych efektów produkcyjnych od zwierząt gospodarskich, co uzasadnia kontynuowanie badań w tym zakresie.

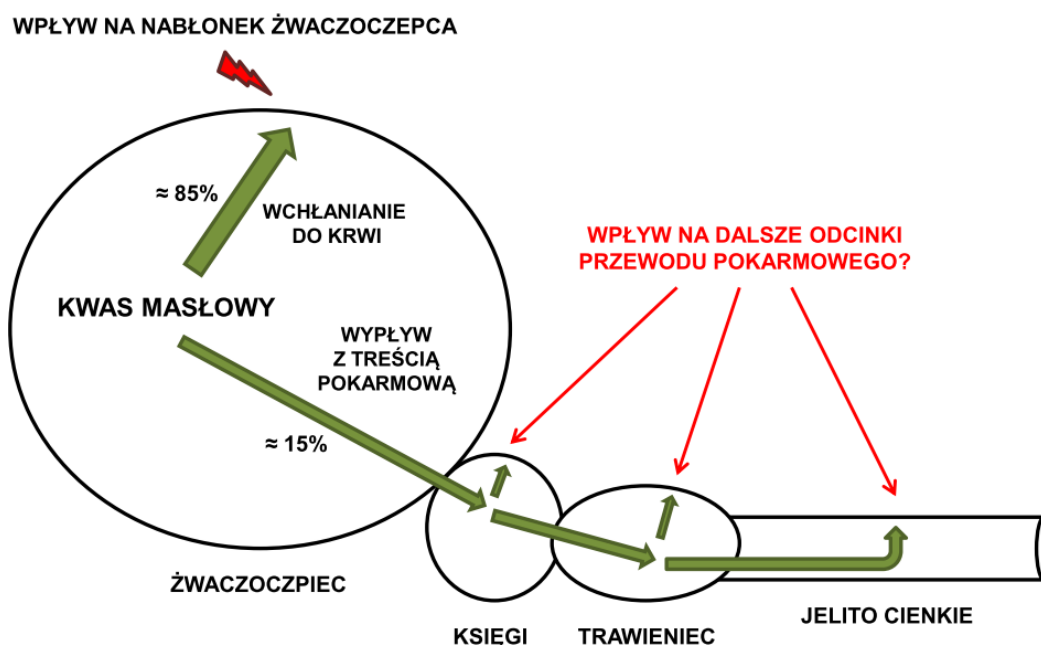
Wpływ maślanu na budowę i funkcje ksiąg, trawieńca i jelit

Chociaż przeważająca pula KKT powstających w żwaczoczepcu (nawet 85-90%) jest wchłaniana do krwioobiegu z tego odcinaka przewodu pokarmowego, to pozostała ilość (\approx 10-15%) przepływa z treścią pokarmową do ksiąg, a następnie dalej do trawieńca i jelita cienkiego (Peters i wsp., 1990; Lopez i wsp., 2003). Zakładając, że dziennie w żwaczoczepcu owiec powstaje 0,6 mola maślanu i że 10% z tej ilości przepływa z treścią pokarmową do dalszych odcinków przewodu pokarmowego, około 0,06 mola maślanu (5,5 g) przepływa do ksiąg, trawieńca i jelita. Ilość ta jest większa niż szacowana produkcja maślanu w jelicie grubym ssaków o zbliżonej masie ciała do owiec, jak np. człowieka (Bergman, 1990), u których jelito grube jest głównym miejscem produkcji tego związku. Dodatkowo ilość ta może zwiększać się nawet dwukrotnie, gdy zwiększa się pobranie łatwo fermentowanych węglowodanów (Ploger i wsp., 2012). Maślan powstający w żwaczoczepcu może więc wpływać nie tylko na budowę i funkcje żwacza, ale także dalszych odcinków przewodu pokarmowego (Rycina 1).

Wyniki badań Rupp i wsp. (1994) wskazują, że większość KKT wpływających z treścią pokarmową ze żwaczoczepca do ksiąg jest wchłaniana w księgach i trawieńcu. U zwierząt monogastrycznych oraz nieprzeżuwających cieląt dodatek maślanu do paszy wpływał na strukturę i funkcje nabłonka żołądka (w przypadku cieląt nabłonka trawieńca) (Kotunia i wsp., 2004; Mazzoni i wsp., 2008; Guilloteau i wsp., 2009). Ze względu na fakt, że pewna ilość maślanu wpływającego ze żwaczoczepca do ksiąg nie jest wchłaniana w księgach (Rupp i wsp., 1994), u przeżuwaczy związek ten może mieć duże znaczenie dla funkcjonowania nabłonka trawieńca. Maślan jest również metabolizowany przez komórki

nabłonka ksiąg (Hird i Symons, 1961). Stąd też jego zwiększona dostępność w treści pokarmowej może modyfikować w dużym zakresie także funkcje nabłonka wyścielającego wewnętrzną powierzchnię ksiąg. Ponadto dobrze udokumentowany jest wpływ maślanu na budowę i funkcje jelita cienkiego u gatunków monogastrycznych. U prosiąt i cieląt dodatek maślanu do paszy wpływał na intensywność proliferacji komórek nabłonka jelita cienkiego, długość kosmków jelitowych i głębokość krypt jelitowych, a w efekcie na powierzchnię wchłaniania składników pokarmowych z jelita cienkiego, a także długość i masę poszczególnych odcinków jelita cienkiego (Kotunia i wsp., 2004; Guilloteau i wsp., 2009; Górka i wsp., 2014). Wykazano również wpływ maślanu na aktywność enzymów rąbka szczoteczkowego u cieląt (Guilloteau i wsp., 2009; Górka i wsp., 2014), a jego infuzja do trawieńca miała wpływ na ekspresję wielu genów w nabłonku dwunastnicy (Foote i wsp., 2017), zapewne w wyniku zwiększonej ilości maślanu jaka przepływała z treścią pokarmową do jelita cienkiego. Maślan może także zwiększać ekspresję białek pośredniczących we wchłanianiu glukozy i peptydów ze światła jelita (Dalmaso i wsp., 2008; Mangian i Tappenden, 2009).

Rycina 1. Wpływ maślanu na przewód pokarmowy przeżuwaczy



Większa efektywność przebiegu procesów trawiennych u przeżuwaczy, w sytuacji zwiększonej dostępności maślanu w żwaczoczepcu, wykazana w niektórych badaniach (Huhtanen i wsp., 1993; Chibisa i wsp., 2015), może więc być wynikiem nie tylko większej efektywności trawienia w żwaczoczepcu, ale także w dalszych odcinkach przewodu pokarmowego. Wpływ maślanu na budowę i funkcje ksiąg, trawieńca oraz jelita cienkiego przeżuwaczy nie był jednakże przedmiotem szczegółowych badań.

II. HIPOTEZA I CEL BADAŃ

Hipoteza badawcza badań zakładała, że u przeżuwaczy maślan wpływa nie tylko na budowę i funkcje żwacza, ale także ksiąg, trawieńca oraz jelita cienkiego.

W celu weryfikacji przyjętej hipotezy badawczej, w przeprowadzonych badaniach wzrost ilości maślanu w treści pokarmowej żwaczoczepca oraz dalszych odcinków przewodu pokarmowego uzyskano poprzez bezpośrednią infuzję kwasu masłowego do żwacza (przez przetokę żwaczową) lub dodatek maślanu sodu do dawki pokarmowej. Stąd też **celem badań** było określenie wpływ egzogenne maślanu na budowę i funkcje żwacza, ksiąg, trawieńca oraz jelita cienkiego przeżuwaczy.

III. SYNTETYCZNE OMÓWIENIE WYNIKÓW BADAŃ

Ze względu na stymulujący wpływ maślanu na proliferację komórek nabłonka żwacza, którego efektem końcowym są dłuższe i szersze brodawki żwaczowe oraz większa efektywność wchłaniania KKT ze żwacza (Malhi i wsp., 2013), dodatek maślanu do paszy może zwiększać efektywność żywienia przeżuwaczy (Górka i wsp., 2011a; Cavini i wsp., 2015). Stymulowanie proliferacji komórek nabłonka żwacza może być szczególnie uzasadnione, gdy podawane zwierzętom dawki pokarmowe prowadzą do niewielkiej produkcji maślanu w żwaczoczepcu. Sytuacja taka ma miejsce w okresie zasuszenia właściwego u krów mlecznych (okres od zasuszenia do około 21 dnia przed porodem). W skład dawek pokarmowych podawanych krowom w tym okresie wchodzi głównie pasze objętościowe, bogate w węglowodany strukturalne, a ubogie w węglowodany niestrukturalne. Taki skład dawek pokarmowych skutkuje dużą produkcją w żwaczoczepcu kwasu octowego, a małą kwasu propionowego i masłowego (Bergman, 1990). Wynikiem pobierania dawek pokarmowych o takim składzie jest zmniejszenie powierzchni wchłaniania składników

pokarmowych w żwaczu krów (Dieho i wsp., 2016), co może prowadzić do gorszej efektywności wykorzystania pasz po porodzie, gdy ich pobranie przez krowy znacznie zwiększa się (Janovick i Drackley, 2010). Z drugiej strony, podawanie krowom mlecznym dawek pokarmowych zawierających duże ilości łatwo fermentowanych w żwaczoczepecu i wysokoenergetycznych pasz w okresie zasuszenia właściwego, w celu stymulowania produkcji maślanu – nie jest wskazane. Może bowiem prowadzić do nadmiernego otluszczenia krów oraz wpływać negatywnie na przebieg niektórych procesów metabolicznych w ich organizmie, a tym samym na produkcję mleka w laktacji (Janovick i Drackley, 2010). Z kolei podawanie dawek pokarmowych prowadzących do dużej produkcji maślanu w żwaczoczepecu w tzw. okresie przejściowym przed porodem, tj. od około 21 dnia przed porodem do dnia porodu, może być mało skutecznym sposobem „przygotowania” błony śluzowej żwacza i brodawek żwaczowych do efektywnego wchłaniania KKT, powstających w żwaczoczepecu w dużych ilościach w okresie poporodowym (Dieho i wsp., 2016).

W pracy **H1** weryfikowano hipotezę badawczą, która zakładała, że dodatek mikrootoczkowanego maślanu do dawki pokarmowej dla krów mlecznych w okresie przejściowym przed porodem wpłynie pozytywnie na powierzchnię wchłaniania składników pokarmowych w żwaczu, a przez to na pobranie pasz przed oraz po wycieleniu i produkcję mleka.

W celu weryfikacji powyższej hipotezy wykonano dwa doświadczenia. W **Doświadczeniu 1** dwadzieścia sześć krów mlecznych rozdzielono do dwóch grup doświadczalnych i żywiono przez okres 30 dni przed spodziewanym porodem dawką pokarmową bez lub z dodatkiem mikrootoczkowanego maślanu sodu (300 g/dzień/krowę; około 71 g maślanu/dzień/krowę). Przed porodem, a następnie przez 60 dni po wycieleniu kontrolowano pobranie pasz przez zwierzęta oraz produkcję mleka. W **Doświadczeniu 2** dwanaście buhajków (404 ± 48 kg masy ciała) rozdzielono do dwóch grup doświadczalnych i żywiono przez okres 21 dni dawką pokarmową bez lub z 2% udziałem mikrootoczkowanego maślanu sodu w suchej masie dawki. W dniu zakończenia doświadczenia buhajki ubito i pobrano próby tkanek ze żwacza do badań histologicznych. W powyższych doświadczeniach mikrootoczkowany maślan sodu wykorzystano jako źródło maślanu. Taka forma maślanu pozwalała, z jednej strony – na spowolnienie uwalniania maślanu

w żwaczoczepcu, a z drugiej – na rozszerzenie jego działania na dalsze odcinki przewodu pokarmowego.

Dodatek mikrootoczkiowanego maślanu do dawki pokarmowej dla krów mlecznych zwiększał pobranie pasz w ostatnich 5 dniach ciąży. Z kolei dodatek tego źródła maślanu do dawki pokarmowej dla buhajków prowadził do wydłużenia brodawek żwaczowych, głównie w worku grzbietowym żwacza. W efekcie dodatek mikrootoczkiowanego maślanu sodu do dawki pokarmowej zwiększał powierzchnię wchłaniania składników pokarmowych w worku grzbietowym żwacza i nie miał istotnego wpływu na ten parametr w worku brzusznym żwacza oraz zwiększał pobranie pasz przez krowy mleczne. Ponadto zwiększał grubość mięśniówki, zarówno w worku brzusznym jak i grzbietowym żwacza. Wyniki przeprowadzanych doświadczeń potwierdziły przyjętą hipotezę badawczą.

Pomimo tego, że dodatek mikrootoczkiowanego maślanu do dawki pokarmowej zwiększał pobranie pasz przed porodem (**Doświadczenie 1**) i powierzchnię wchłaniania składników pokarmowych w żwaczu (**Doświadczenie 2**), to większe pobranie paszy przez krowy mleczne otrzymujące w dawce egzogenny maślan mogło nie być wynikiem jego oddziaływania wyłącznie na nabłonek żwacza. Ze względu na wykorzystanie w badaniach maślanu w formie mikrootoczkiowanej, znaczna jego część mogła przepływać z treścią pokarmową ze żwaczoczepca do ksiąg, trawieńca, a następnie jelit, gdzie była stopniowo uwalniana. O ile podawanie mikrootoczkiowanego maślanu w dawce pokarmowej dla przeżuwaczy najprawdopodobniej znacznie spowalnia uwalnianie maślanu w żwaczu, to równocześnie spora jego ilość może przepływać z treścią pokarmową do dalszych odcinków przewodu pokarmowego, ze względu na generalnie niewielkie uwalnianie maślanu z lipidowej matrycy w żołądku (Górka i wsp., 2018). Biorąc pod uwagę stymulujący wpływ maślanu na funkcje nabłonka jelita cienkiego i efektywność procesów trawiennych w tym odcinku przewodu pokarmowego (Guilloteau i wsp., 2009; Górka i wsp., 2014), obserwowany w pracy **H1** wpływ dodatku mikrootoczkiowanego maślanu do dawki pokarmowej dla krów mlecznych mógł w znaczącym stopniu wynikać z jego oddziaływania na funkcje dalszych odcinków przewodu pokarmowego, w tym jelit. Co więcej, usprawnienie funkcji trawiennych w obrębie jelit mogło również pośrednio przyczynić się do powiększenia wymiaru brodawek żwaczowych, ze względu na większą efektywność trawienia w jelitach

i dostępność składników pokarmowych dla proliferujących komórek nabłonka (Górka i wsp., 2011b).

Podsumowując, wyniki badań przedstawionych w pracy H1 wykazały stymulujący wpływ egzogenego maślanu podawanego w dawce pokarmowej na rozwój brodawek żwaczowych i powierzchnię wchłaniania KKT ze żywca, a także zalety podawania mikrootoczkowanego maślanu w paszy dla krów mlecznych w okresie okołoporodowym. Jednocześnie wykazany pozytywny wpływ dodatku maślanu w formie mikrootoczkowanej do dawki pokarmowej mógł być wynikiem oddziaływania maślanu nie tylko na nabłonek żywca, ale także na nabłonek dalszych odcinków przewodu pokarmowego.

Wyniki badań opisanych w pracy H1 stały się punktem wyjścia do sformułowania kolejnej hipotezy badawczej, która zakładała, że maślan, w tym naturalnie powstający w żwaczoczepcu, może wpływać na budowę i funkcje dalszych odcinków przewodu pokarmowego przeżuwaczy. Przynajmniej część maślanu powstającego w żwaczoczepcu wypływa z treści pokarmową do ksiąg, trawieńca, a następnie jelita cienkiego, gdzie może oddziaływać na budowę i funkcje tych odcinków przewodu pokarmowego (Peters i wsp., 1990; Rupp i wsp., 1994). Hipoteza ta była weryfikowana w badaniach opisanych w pracach H2, H3 i H4.

W pracy H2 badano wpływ wzrostu ilości maślanu w treści żwaczoczepca na jego wypływ z treści pokarmową do ksiąg i przepływ do jelita oraz wybrane funkcje jelita cienkiego. Ze względu na to, że wzrost pobrania łatwo fermentujących węglowodanów w dawce pokarmowej prowadzi do wzrostu ilości powstającego w żwaczoczepcu maślanu, jednocześnie może zwiększać się ilość tego związku jaka przepływa z treści pokarmową do jelita cienkiego. To z kolei może mieć wpływ na funkcjonowanie tego odcinka przewodu pokarmowego. Tym samym wykazany przez innych autorów wzrost efektywności trawienia u przeżuwaczy w sytuacji zwiększonej ilości maślanu w żwaczoczepcu (Huhtanen i wsp., 1993; Chibisa i wsp., 2015), może być wynikiem jego oddziaływania nie tylko na przebieg procesów trawiennych w żywcu, ale także w jelicie cienkim.

Ponieważ uzyskanie wyłącznie wzrostu ilości maślanu w żwaczoczepcu przez podawanie dawek pokarmowych promujących jego mikrobiologiczną produkcję jest trudne do uzyskania, ze względu na równoczesny wzrost produkcji kwasu propionowego (Morvay

i wsp., 2011), w przeprowadzonych badaniach wzrost ilości maślanu w żwaczoczepcu uzyskano przez jego bezpośrednią infuzję do żwacza, przez przetokę żwaczową. Badania wykonano w układzie powtórnego kwadratu łacińskiego na 8 skopach z trwałymi przetokami w żwaczu i dwunastnicy. Za pomocą pompy infuzyjnej do żwacza skopów podawano 0, 15, 30 lub 45 g kwasu masłowego/dzień. Przyjęte dawki maślanu odzwierciedlały dawki stosowane przez innych autorów (Huhtanen i wsp., 1993; Wilson i wsp., 2012) i pozwalały na co najmniej dwukrotne zwiększenie ilości maślanu w żwaczoczepcu owiec, w stosunku do szacowanej dobowej jego produkcji przyjętej na podstawie dostępnych danych literaturowych (Bergman i wsp., 1965; Bergman, 1990). Z wykorzystaniem markerów zewnętrznych oznaczono strawność składników pokarmowych w żołądku (żwaczoczepcu, księgach i trawieńcu) oraz jelitach. Ponadto, w ostatnim dniu każdego okresu doświadczenia pobrano biopsyjnie nabłonek dwunastnicy, w którym oznaczono ekspresję mRNA wybranych transporterów (MCT1, MCT2 i MCT4) oraz receptorów (GPR41 i GPR42) maślanu. Ekspresję mRNA wspomnianych genów wykorzystano jako markery oddziaływania maślanu wpływającego z treścią pokarmową do dwunastnicy na funkcje nabłonka tego odcinka jelita cienkiego. W badaniach prezentowanych w pracy **H2** owca została wykorzystana jako zwierzę modelowe dla zwierząt przeżuwających. Pracę na tym modelu badawczym kontynuowano również w badaniach, których wyniki zaprezentowano w pracach **H3** i **H4**.

Infuzja maślanu do żwacza zwiększała jego koncentrację w treści żwaczoczepca oraz dwunastnicy, a także zwiększała ilość maślanu wpływającego z treścią pokarmową do dwunastnicy. Nie miało to jednak wpływu na strawność składników pokarmowych w jelitach oraz ekspresję transporterów i receptorów maślanu w nabłonku dwunastnicy. Zgodnie z wynikami innych autorów (np. Rupp i wsp., 1994), koncentracja maślanu w treści dwunastniczej była około 10 razy mniejsza, w porównaniu do jego koncentracji w treści żwaczoczepca. Ilość maślanu przepływającego z treścią pokarmową do dwunastnicy była również bardzo mała ($\approx 0,7$ g/dzień), co mogło być przyczyną braku wpływu infuzji nawet największej zastosowanej w doświadczeniu dawki maślanu do żwacza na funkcje jelita cienkiego owiec. Wyniki przeprowadzonych badań mogły sugerować, że zdecydowana większość maślanu wpływającego z treścią pokarmową ze żwaczoczepca jest wchłaniana lub metabolizowana w księgach i/lub trawieńcu. Stąd też, wyniki badań prezentowanych

w pracy **H2** wskazywały na to, że jeżeli maślan wypływający ze żwaczoczepca wpływa na budowę i funkcje dalszych odcinków przewodu pokarmowego przeżuwaczy, to wpływ ten może być spodziewany przede wszystkim w księgach i/lub trawieńcu.

Warto nadmienić, że infuzja maślanu do żwacza w dawce kwasu masłowego wynoszącej 15 i 30 g/dzień zmniejszała strawność węglowodanów strukturalnych w żołądku, najprawdopodobniej głównie w żwaczu. Strawność tych składników w całym przewodzie pokarmowym nie różniła się jednakże pomiędzy grupami doświadczalnymi, co wskazywało na kompensację zmniejszonej ich strawności w przedżołądkach przez zwiększoną strawność w jelitach, w tym najprawdopodobniej w jelicie grubym (Titgemeyer, 1997). Ten nieoczekiwany w świetle wyników badań innych autorów (Huhtanen i wsp., 1993; Chibisa i wsp., 2015), negatywny wpływ egzogenego maślanu na efektywność procesów trawiennych w przedżołądkach badano szczegółowo również w kolejnych doświadczeniach (praca **H4**).

Podsumowując, wyniki badań opisanych w pracy H2 wykazały, że wraz ze wzrostem ilości maślanu w żwaczoczepcu, zwiększa się ilość tego związku jaka przepływa z treścią pokarmową do jelita cienkiego. Wzrost ilości przepływającego do jelita cienkiego maślanu nie miał jednakże wpływu na badane funkcje jelita cienkiego owiec, w tym strawność składników pokarmowych w jelitach. Przeprowadzone badania wskazywały więc na brak lub tylko nikły wpływ maślanu przepływającego ze żwaczoczepca do jelita cienkiego na funkcje tego ostatniego u przeżuwaczy. Z drugiej strony, sugerowały one, że maślan może mieć duży wpływ na funkcje ksiąg i trawieńca, ze względu na możliwe intensywne wchłanianie i/lub metabolizm (np. przez symbiotyczne mikroorganizmy) maślanu wypływającego ze żwaczoczepca w tych odcinkach przewodu pokarmowego.

Wpływ zwiększonej ilości maślanu przepływającego z treścią pokarmową ze żwaczoczepca do ksiąg, a następnie trawieńca, na budowę i funkcję tych dwóch odcinków przewodu pokarmowego badano w doświadczeniu, które opisano w pracy **H3**. W tym celu 18 tryków rasy Wrzosówka ($30,8 \pm 2,1$ kg; 12 do 15 miesięcy życia) żywiono przez 14 dni dawką pokarmową bez lub z dodatkiem egzogenego maślanu sodu (36 g maślanu sodu/kg pobieranej suchej masy; 26 g maślanu/1 kg pobieranej suchej masy). Ilość podawanego maślanu w dawce pokarmowej była zbliżona do ilości tego związku jaką podawano w dawce

pokarmowej lub bezpośrednio do żwacza w innych badaniach (Huhtanen i wsp., 1993; Wilson i wsp., 2012). Przy ustalaniu zastosowanej dawki maślanu brane były również pod uwagę wyniki doświadczenia opisanego w pracy **H2**. Chociaż wyniki tego doświadczenia mogły sugerować zasadność podawania zwierzętom dawki maślanu sodu wynoszącej nawet około 45 g/1 kg pobieranej suchej masy, to próby takiej nie podjęto, ze względu na współtowarzyszący podawaniu maślanu sodu w dawce pokarmowej wzrost pobrania sodu. Jego bardzo duże pobranie mogłoby znacznie zwiększać pobranie wody oraz zmniejszać pobranie suchej masy (Digby i wsp., 2011). To z kolei mogłoby samo w sobie wpływać na badane funkcje przewodu pokarmowego owiec. W doświadczeniu wykorzystano maślan sodu (w formie niechronionej przed uwalnianiem w żołądku), ze względu na jego łatwe rozpuszczanie się w wodzie i szybką dysocjację w początkowych odcinkach przewodu pokarmowego przeżuwaczy (Górka i wsp., 2018). W ostatnim dniu doświadczenia zwierzęta ubito w celu pobrania prób treści pokarmowej i tkanek do dalszych badań. W treści pokarmowej ze żwaczoczepca i trawieńca oznaczono stężenie KKT, natomiast próby tkanek ze żwacza, ksiąg i trawieńca wykorzystano do badań histologicznych, oznaczenia indeksu mitotycznego i apoptotycznego nabłonka (za pomocą technik immunofluorescencyjnych) oraz do badania ekspresji genów na poziomie mRNA. Podobnie jak miało to miejsce w badaniach opisanych w pracy **H2**, w badaniach opisanych w pracy **H3** oznaczono ekspresję mRNA transporterów (MCT1, MCT2 i MCT4) i receptorów (GPR41 i GPR43) kwasu masłowego, a także transporterów glukozy (SGLT1 i GLUT2) i peptydów (PepT1) w nabłonku badanych odcinków przewodu pokarmowego. Ekspresję wymienionych genów wykorzystano jako marker oddziaływania maślanu na nabłonek przewodu pokarmowego owiec. Badano również wpływ maślanu na masę tkanki i treści pokarmowej poszczególnych części żołądka.

Podawanie maślanu w dawce pokarmowej zwiększyło koncentrację tego związku nie tylko w treści żwaczoczepca, ale także w treści trawieńca i początkowego odcinka jelita cienkiego (patrz dalsza część rozprawy i opis wyników prezentowanych w pracy **H4**). **Taki wynik potwierdzał skuteczność zaproponowanego modelu badawczego, którego celem było zwiększenie ilości maślanu w żwaczoczepcu, a jednocześnie potwierdzał, że wzrost ilości tego związku w żwaczoczepcu prowadzi do większej ekspozycji na maślan dalszych odcinków przewodu pokarmowego przeżuwaczy.** Wyniki te były zbieżne z wynikami

badania, które opisano w pracy **H2**. Ponadto wyniki tej części badań wykazały wpływ maślanu podawanego w dawce pokarmowej nie tylko na nabłonek żwaczoczepca, ale także na nabłonek ksiąg i trawieńca. Poza większą masą nabłonka w worku brzusznym żwacza oraz tkanki całego żwaczoczepca, u owiec otrzymujących maślan w dawce pokarmowej odnotowano grubszy nabłonek w księgach oraz trawieńcu, co stanowiło dowód na troficzny wpływ maślanu także na nabłonek dalszych odcinków przewodu pokarmowego przeżuwaczy. W ślad za większą grubością nabłonka w trawieńcu, zwiększała się masa tkanki tej części wielokomorowego żołądka.

Warto nadmienić, że przeprowadzone badania po raz pierwszy dokumentowały wpływ maślanu na nabłonek ksiąg. Chociaż budowa histologiczna nabłonka żwacza i ksiąg jest bardzo podobna (Liu i wsp., 2013; Liu i wsp., 2014), to ich funkcje różnią się dość znacznie. W przeciwieństwie do żwacza, w księgach intensywnie wchłaniane są składniki mineralne, wodorowęglan, a także najprawdopodobniej woda (Martens i Gabel, 1988; Ahvenjarvi i wsp., 2000). Ponadto, mechanizm wchłaniania KKT ze żwacza i ksiąg różni się (Ali i wsp., 2006). Pomimo tych różnic, zarówno w żwaczu jak i księgach wzrost ilości maślanu w treści pokarmowej prowadził do pogrubienia nabłonka. Jednocześnie wzrost ilości maślanu wpływającego z treścią pokarmową ze żwaczoczepca do ksiąg prowadził do mniejszej ekspresji mRNA transportera peptydów (PepT1) w nabłonku ksiąg, co potwierdzało wpływ maślanu na funkcje nabłonka wyściełającego wewnętrzną powierzchnię tego odcinka przewodu pokarmowego. Dodatek egzogenego maślanu zmniejszał również masę treści pokarmowej w księgach, co sugerowało, że maślan zwiększa intensywność procesów fermentacyjnych w tym odcinku przewodu pokarmowego lub przyspiesza jego opróżnianie z treści pokarmowej, a jednocześnie stanowiło kolejny dowód na wpływ maślanu na funkcje ksiąg. Z drugiej strony, pomimo grubszego nabłonka w obrębie blaszek ksiąg u owiec otrzymujących egzogeny maślan, masa tkanki ksiąg nie różniła się pomiędzy grupami doświadczalnymi. Taki wynik badań wskazywał na zmniejszenie wymiarów blaszek księgowych lub grubości mięśniówki ksiąg w wyniku dodatku maślanu do dawki pokarmowej, a w efekcie stanowił dowód na wpływ maślanu na budowę tej części wielokomorowego żołądka.

Troficzny wpływ maślanu podawanego w dawce pokarmowej na nabłonek żołądka został do tej pory wykazany u gatunków monogastrycznych (Kotunia i wsp., 2004; Mazzoni

i wsp., 2008). Wyniki badań przeprowadzonych przez habilitanta (praca **H3**) wykazały podobny wpływ tego związku na nabłonek trawieńca owiec. Co więcej, wzrostowi koncentracji maślanu w treści trawieńca towarzyszyła tendencja do większej ekspresji mRNA jednego z jego transporterów, tj. MCT1. Wynik taki stanowił potwierdzenie oddziaływania maślanu na funkcje nabłonka trawieńca. Ponadto, wzrostowi koncentracji maślanu w treści trawieńca towarzyszył mniejszy stosunek mitozy do apoptozy w nabłonku, co wskazywało na hamujący wpływ maślanu na proliferację komórek nabłonka trawieńca, przy jednoczesnym zwiększaniu ilości komórek ulegających apoptozie. Taki wynik badań był przeciwny do zakładanego (tj. stymulującego wpływu maślanu na proliferację komórek nabłonka) i dodatkowo sprzeczny z większą grubością nabłonka w trawieńcu owiec otrzymujących egzogenne maślan. Stymulujący wpływ maślanu na proliferację komórek nabłonka mógł jednakże mieć miejsce wyłącznie tuż po jego wprowadzeniu do dawki pokarmowej, po czym intensywność podziałów komórkowych mogła zmniejszać się, w celu przeciwdziałania nadmiernemu rozrostowi tkanki.

Ponieważ dodatek maślanu do dawki pokarmowej zwiększał masę tkanki żwaczoczepca oraz trawieńca, a nie miał wpływu na masę tkanki ksiąg, udział ksiąg w wielokomorowym żołądku owiec zmniejszał się, średnio o 6%.

Podsumowując, w badaniach opisanych w pracy H3 wykazano wpływ maślanu na budowę żołądka i niektóre funkcje ksiąg oraz trawieńca owiec. Uzyskane wyniki potwierdziły przyjętą hipotezę badawczą, zakładającą, że maślan wpływa nie tylko na budowę i funkcje żwacza, ale także dalszych odcinków przewodu pokarmowego przeżuwaczy.

Podawanie egzogenne maślanu do żwaczoczepca zmniejszało strawność węglowodanów strukturalnych w żołądku (żwaczoczepcu, księgach i trawieńcu; praca **H2**). W celu potwierdzenia takiego oddziaływania maślanu na przebieg procesów trawiennych u przeżuwaczy w obrębie żołądka, w doświadczeniu opisanym w pracy **H3** pobrano próby treści pokarmowej żwaczoczepca, w których oznaczono aktywność hydrolityczną. Jednocześnie pobrano próby treści pokarmowej oraz tkanek z jelita cienkiego, w celu scharakteryzowania oddziaływania maślanu na budowę i wybrane funkcje jelita cienkiego, które nie były przedmiotem szczegółowej analizy w doświadczeniu opisanym w pracy **H2**. Wyniki wpływu egzogenne maślanu podawanego w dawce pokarmowej na aktywność

hydrolityczną w żwaczoczepcu oraz budowę i wybrane funkcje jelita cienkiego owiec opisano w pracy **H4**.

Wyniki badań wykazały mniejszą aktywność celulolityczną i ksylanolityczną w żwaczoczepcu owiec otrzymujących egzogeny maślan w dawce pokarmowej. Było to zbieżne z wynikami badań opisanych w pracy **H2**, które wykazały negatywny wpływ maślanu na strawność węglowodanów strukturalnych w żołądku owiec. Jednocześnie podawaniu maślanu towarzyszył wzrost aktywności amylolitycznej w żwaczoczepcu. Wyniki te poszerzały możliwość interpretacji uzyskanych wyników badań, gdyż wpływ maślanu na strawność w żwaczoczepcu mógł oddziaływać sam w sobie na budowę i funkcje jelita cienkiego, poprzez wpływ na ilość i skład treści pokarmowej przepływającej do ksiąg, a dalej do trawieńca i jelita cienkiego. Ponadto, podawaniu egzogenego maślanu w dawce pokarmowej towarzyszyła większa koncentracja maślanu w treści początkowego odcinka jelita cienkiego, większa ekspresja mRNA receptora maślanu (GPR43) w nabłonku dwunastnicy, mniejszy stosunek mitozy do apoptozy w nabłonku proksymalnego odcinka jelita czczego, a także mniejsza aktywność dwupeptydazy IV i aminopeptydazy A oraz ekspresja mRNA transportera peptydów (PepT1) w nabłonku końcowych odcinków jelita cienkiego owiec.

Wzrost koncentracji maślanu w treści początkowego odcinka jelita cienkiego i towarzysząca mu większa ekspresja mRNA jednego z receptorów maślanu (GPR43) oraz mniejszy stosunek mitozy do apoptozy w nabłonku wskazywały na wpływ maślanu na funkcje początkowych odcinków jelita. Z drugiej strony, wzrost ilości maślanu w żwaczoczepcu wpływał także na funkcje dalszych odcinków jelita cienkiego. Ze względu na niewielką ilość maślanu przepływającego z treścią pokarmową do jelita cienkiego (wyniki prezentowane w pracy **H2**), a także niewielki wpływ maślanu podawanego w dawce pokarmowej na koncentrację tego związku w dalszych odcinkach przewodu pokarmowego ssaków (Manzanilla i wsp., 2006; Guilloteau i wsp., 2009), wpływ ten był raczej wynikiem pośredniego, a nie bezpośredniego oddziaływania maślanu. Mógł wynikać, między innymi, z oddziaływania maślanu na strawność i skład treści pokarmowej wypływającej ze żwaczoczepca lub też na strawność i wchłanianie składników pokarmowych (białka, peptydów i aminokwasów) w początkowym i środkowym odcinku jelita cienkiego. Niezależnie od mechanizmu oddziaływania maślanu na badane funkcje jelita, wzrost jego

ilości jaka przepływała ze żwaczoczepca do ksiąg, trawieńca, a następnie jelita cienkiego wpływał na funkcje zarówno początkowego, jak i końcowego odcinka jelita cienkiego. Ponadto wykazano tendencje do głębszych krypt w dwunastnicy, płytszych krypt i mniejszej grubości mięśniówki w jelicie biodrowym u owiec otrzymujących egzogeny maślan w dawce pokarmowej, w porównaniu do grupy kontrolnej. Zwierzęta otrzymujące egzogeny maślan miały także dłuższe jelito czcze, co łącznie z obserwowanymi różnicami w budowie ściany jelita pomiędzy grupami doświadczalnymi stanowiło dowód na wpływ maślanu na budowę jelita cienkiego przeżuwaczy.

Podsumowując, opisane w pracy H4 wyniki badań potwierdziły przyjętą hipotezę badawczą i wskazywały na wpływ maślanu na budowę i funkcje jelita cienkiego u przeżuwaczy, chociaż takiego nie wykazano w badaniach opisanych w pracy H2.

Pomimo tego, że wzrost ilości maślanu w poszczególnych odcinkach przewodu pokarmowego mógł i najprawdopodobniej w dużym zakresie wywierać bezpośredni wpływ na badane funkcje nabłonka, to w interpretacji uzyskanych wyników badań nie można pominąć możliwego pośredniego wpływu tego związku na budowę i funkcje przewodu pokarmowego przeżuwaczy. Fakt ten został już w pewnym stopniu poruszony we wcześniejszych częściach rozprawy. Maślan może oddziaływać na budowę i funkcje przewodu pokarmowego przez wpływ na sekrecję hormonów oraz biologicznie aktywnych peptydów przez komórki enteroendokrynowe zlokalizowane w obrębie nabłonka przewodu pokarmowego lub też stymulację nerwu błędnego (Guilloteau i wsp., 2009; Górka i wsp., 2011a; Górka i wsp., 2018). Zagadnienia te nie były bezpośrednim przedmiotem przedłożonej do oceny rozprawy, lecz mogą być ciekawą kontynuacją przeprowadzonych badań.

Wyniki przeprowadzonych badań, które opisano w czterech powiązanych tematycznie publikacjach, pozwoliły na wykazanie wpływu maślanu na budowę i funkcje żwacza, ksiąg, trawieńca oraz jelita cienkiego przeżuwaczy. W ujęciu szczegółowym, wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że:

- 1) Zwiększenie ilości maślanu w żwaczoczpecu wpływa na nabłonek żwacza oraz przebieg procesów trawiennych w obrębie tego odcinka przewodu pokarmowego, w tym:**

- a. prowadzi do powiększenia wymiarów brodawek żwaczowych, masy nabłonka żwacza i w efekcie masy tkanki całego żwaczoczepca;
 - b. zmniejsza aktywność celulolityczną i ksylanolityczną w żwaczoczepcu, a w konsekwencji strawność węglowodanów strukturalnych w tym odcinku przewodu pokarmowego.
- 2) Wraz ze wzrostem ilości maślanu w żwaczoczepcu zwiększała się ilość maślanu jaka przepływała z treścią pokarmową ze żwaczoczepca do ksiąg, a następnie trawieńca i jelita cienkiego.
- 3) Zwiększonej ilości maślanu przepływającego z treścią pokarmową do dalszych odcinków przewodu pokarmowego towarzyszy szereg zmian w budowie i funkcjonowaniu ksiąg, trawieńca oraz jelita cienkiego, w tym:
 - a. zwiększenie masy tkanki trawieńca, zmniejszenie masy treści pokarmowej w księgach oraz wydłużenie jelita cienkiego;
 - b. pogrubienie nabłonka w księgach i trawieńcu;
 - c. zmniejszenie ekspresji transportera peptydów w nabłonku ksiąg i zwiększenie ekspresji transportera krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych w nabłonku trawieńca;
 - d. zmniejszenie stosunku mitozy do apoptozy w nabłonku trawieńca i początkowego odcinka jelita cienkiego;
 - e. zmniejszenie aktywności enzymów rąbka szczoteczkowego odpowiedzialnych za trawienie peptydów oraz ekspresji transportera pośredniczącego w ich wchłanianiu w końcowych odcinkach jelita cienkiego.
- 4) Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że zwiększona ilość maślanu w żwaczoczepcu wpływa nie tylko na budowę i funkcje żwacza, lecz niemal całego przewodu pokarmowego przeżuwaczy.

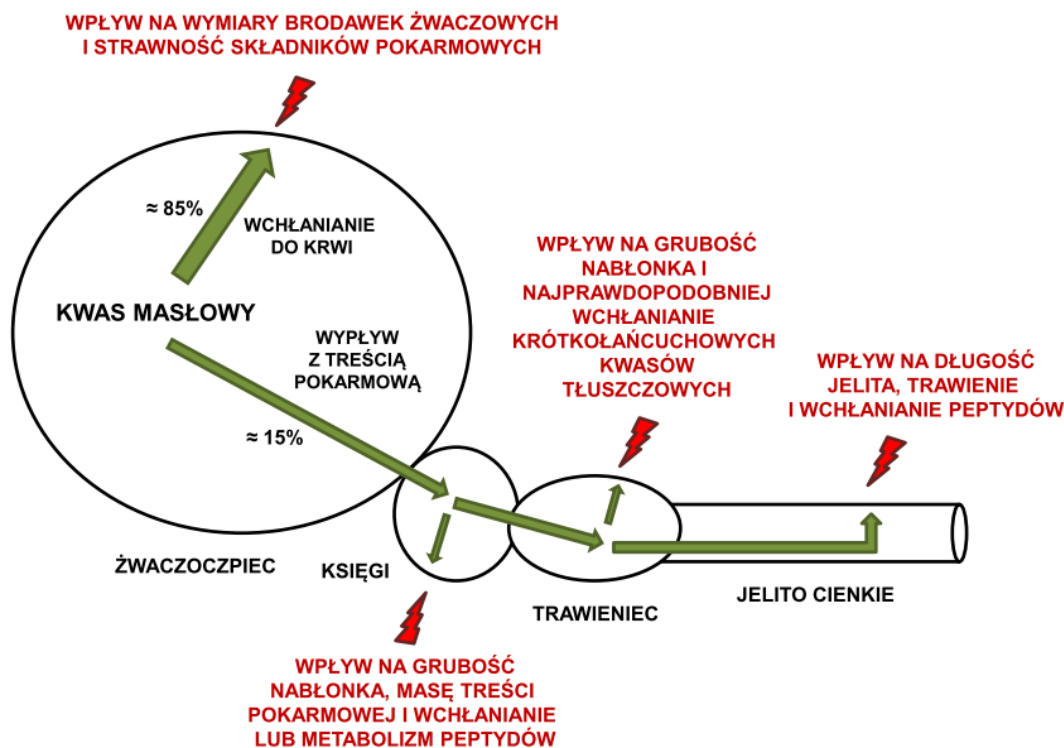
Wyniki uzyskanych badań zostały również zobrazowane na Rycinie 2.

W celu weryfikacji przyjętych hipotez badawczych i realizacji celów naukowych, wykorzystano układy modelowe, w których wzrost ilości maślanu w treści pokarmowej

uzyskiwano przez infuzję kwasu masłowego do żwacza lub dodatek maślanu sodu do dawki pokarmowej. Zbliżonego oddziaływania maślanu na przewód pokarmowy przeżuwaczy można oczekiwać, gdy ilość maślanu w treści pokarmowej zwiększy się w wyniku podawania dawek pokarmowych stymulujących jego powstawanie w procesie fermentacji.

Podsumowując, przedłożona do oceny rozprawa habilitacyjna dokumentuje i opisuje w postaci cyklu czterech tematycznie powiązanych ze sobą publikacji wpływ maślanu na budowę i wybrane funkcje żwacza, ksiąg, trawieńca oraz jelita cienkiego przeżuwaczy. Przeprowadzone badania udowodniły wpływ maślanu, który naturalnie powstaje w dużych ilościach w żwaczoczepcu, nie tylko na budowę i funkcje żwacza, ale także ksiąg, trawieńca oraz jelita cienkiego przeżuwaczy. Uzyskane wyniki mogą być punktem wyjścia do propozycji dalszych badań. W przyszłości mogą one stać się punktem wyjścia do zaproponowania praktycznych rozwiązań w żywieniu przeżuwaczy, np. przez podawanie w dawkach pokarmowych form maślanu zapewniających uwalnianie tego związku w konkretnym odcinku przewodu pokarmowego, w celu stymulowania jego funkcji i poprawy efektywności żywienia przeżuwaczy.

Rycina 2. Wpływ maślanu na żwacz i dalsze odcinki przewodu pokarmowego przeżuwaczy



W celu weryfikacji postawionych hipotez i realizacji założonych celów naukowych, wykorzystano kilka układów i modeli badawczych. W każdym z przeprowadzonych doświadczeń ilość maślanu w treści przewodu pokarmowego modyfikowano wykorzystując do tego celu egzogenne źródła maślanu, podawane w dawce pokarmowej lub bezpośrednio do żwacza, za pomocą infuzji przez przetokę żwaczową. W realizacji badań wykorzystano szereg technik badawczych. W ich doborze oraz optymalizacji wykorzystania dla potrzeb przeprowadzonych badań habilitant odgrywał wiodącą rolę. Ze względu na rozległą metodologię badań, w ich realizacji zaangażowany był liczny zespół badawczy, składający się ze specjalistów posiadających udokumentowany dorobek naukowy, a także studentów (magistrantów, doktorantów). O doborze składu osobowego zespołu badawczego w przewarżającej ilości prac przedłożonych do oceny decydował habilitant (praca **H2**, **H3** i **H4**), jak również kierował on jego pracami.

IV. LITERATURA

- Ahvenjarvi, S., A. Vanhatalo, P. Huhtanen, T. Varvikko. 2000. Determination of reticulorumen and whole-stomach digestion in lactating cows by omasal canal or duodenal sampling. *Br. J. Nutr.* 83:67-77.
- Ali, O., Z. Shen, U. Tietjen, H. Martens. 2006. Transport of acetate and sodium in sheep omasum: mutual, but asymmetric interactions. *J. Comp. Physiol. B.* 176:477-487.
- Aschenbach, J. R., G. B. Penner, F. Stumpff, G. Gäbel. 2011. Ruminant Nutrition Symposium: Role of fermentation acid absorption in the regulation of ruminal pH. *J. Anim. Sci.* 89:1092-1107.
- Bergman, E. N. 1990. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. *Physiol. Rev.* 70:567-590.
- Bergman, E. N., R. S. Reid, M. G. Murray, J. M. Brockway, F. G. Whitelaw. 1965. Interconversions and production of volatile fatty acids in the sheep rumen. *Biochem. J.* 97:53-58.
- Cavini, S., S. Iraira, A. Siurana, A. Foskolos, A. Ferret, S. Calsamiglia. 2015. Effect of sodium butyrate administered in the concentrate on rumen development and productive performance of lambs in intensive production system during the suckling and the fattening periods. *Small Rumin. Res.* 123:212-217.
- Chibisa, G. E., P. Gorka, G. B. Penner, R. Berthiaume, T. Mutsvangwa. 2015. Effects of partial replacement of dietary starch from barley or corn with lactose on ruminal function, short-chain fatty acid absorption, nitrogen utilization, and production performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 98:2627-2640.
- Dalmasso, G., G. T. Nguyen, Y. Y. Charrier-Hisamuddin, S. V. Sitarman, D. Merlin. 2008. Butyrate transcriptionally enhances peptide transporter PepT1 expression and activity. *PLoS One.* 3:e2476.
- DeFrain, J. M., A. R. Hippen, K. F. Kalscheur, D. J. Schingoethe. 2004. Feeding lactose increases ruminal butyrate and plasma β -hydroxybutyrate in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:2486-2494.

- Dengler, F., R. Rackwitz, F. Benesch, H. Pfannkuche, G. Gäbel. 2014. Both butyrate incubation and hypoxia upregulate genes involved in the ruminal transport of SCFA and their metabolites. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 90:379-390.
- Dieho, K., A. Bannink, I. A. L. Geurts, J. T. Schonewille, G. Gort, J. Dijkstra. 2016. Morphological adaptation of rumen papillae during the dry period and early lactation as affected by rate of increase of concentrate allowance. *J. Dairy Sci.* 99:2339-2352.
- Digby, S. N., M. A. Chadwick, D. Blache. 2011. Salt intake and reproductive function in sheep. *Animal.* 5:1207-1216.
- Footo, A. P., C. M. Zarek, L. A. Kuehn, H. C. Cunningham, K. M. Cammack, H. C. Freetly, A. K. Lindholm-Perry. 2017. Effect of abomasal butyrate infusion on gene expression in the duodenum of lambs. *J. Anim. Sci.* 95:1191-1196.
- Górka, P., Z. M. Kowalski, P. Pietrzak, A. Kotunia, W. Jagusiak, J. J. Holst, R. Guilloteau, R. Zabielski. 2011a. Effect of method of delivery of sodium butyrate on rumen development in newborn calves. *J. Dairy Sci.* 94:5578-5588.
- Górka, P., Z. M. Kowalski, P. Pietrzak, A. Kotunia, W. Jagusiak, R. Zabielski. 2011b. Is rumen development in newborn calves affected by different liquid feeds and small intestine development? *J. Dairy Sci.* 94:3002-3013.
- Górka, P., Z. M. Kowalski, R. Zabielski, P. Guilloteau. 2018. Invited review: Use of butyrate to promote gastrointestinal tract development in calves. *J. Dairy Sci.* 101:4785-4800.
- Górka, P., P. Pietrzak, A. Kotunia, R. Zabielski, Z. M. Kowalski. 2014. Effect of method of delivery of sodium butyrate on maturation of the small intestine. *J. Dairy Sci.* 97:1026-1035.
- Guilloteau, P., L. Martin, V. Eckhaut, R. Ducatelle, R. Zabielski, F. Van Immerseel. 2010. From the gut to the peripheral tissues: the multiple effects of butyrate. *Nutr. Res. Rev.* 23:366-384.
- Guilloteau, P., R. Zabielski, J. C. David, J. W. Blum, J. A. Morisset, M. Biernat, J. Woliński, D. Laubitz, Y. Hamon. 2009. Sodium-butyrate as a growth promoter in milk replacer formula for young calves. *J. Dairy Sci.* 92:1038-1049.
- Herrick, K. J., A. R. Hippen, K. F. Kalscheur, D. J. Schingoethe, D. P. Casper, S. C. Moreland, J. E. van Eys. 2017. Single-dose infusion of sodium butyrate, but not lactose, increases plasma β -hydroxybutyrate and insulin in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 100:757-768.
- Hird, F. J., R. H. Symons. 1961. The mode of formation of ketone bodies from butyrate by tissue from the rumen and omasum of the sheep. *Biochim. Biophys. Acta.* 46:457-467.
- Huhtanen, P., H. Miettinen, M. Ylinen. 1993. Effect of increasing ruminal butyrate on milk yield and blood constituents in dairy cows fed a grass silage-based diet. *J. Dairy Sci.* 76:1114-1124.
- Janovick, N. A., J. K. Drackley. 2010. Prepartum dietary management of energy intake affects postpartum intake and lactation performance by primiparous and multiparous Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 93:3086-3102.
- Kotunia, A., J. Woliński, D. Laubitz, M. Jurkowska, V. Romé, P. Guilloteau, R. Zabielski. 2004. Effect of sodium butyrate on the small intestine development in neonatal piglets feed by artificial sow. *J. Physiol. Pharmacol.* 55(Suppl. 2):59-68.
- Liu, J. H., T. T. Xu, Y. J. Liu, W. Y. Zhu, S. Y. Mao. 2013. A high-grain diet causes massive disruption of ruminal epithelial tight junctions in goats. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 305:R232-R241.

- Liu, J. H., T. T. Xu, W. Y. Zhu, S. Y. Mao. 2014. A high-grain diet alters the omasal epithelial structure and expression of tight junction proteins in a goat model. *Vet. J.* 201:95-100.
- Lopez, S., F. D. D. Hovell, J. Dijkstra, J. France. 2003. Effects of volatile fatty acid supply on their absorption and on water kinetics in the rumen of sheep sustained by intragastric infusions. *J. Anim. Sci.* 81:2609-2616.
- Malhi, M., H. Gui, L. Yao, J. R. Aschenbach, G. Gäbel, Z. Shen. 2013. Increased papillae growth and enhanced short-chain fatty acid absorption in the rumen of goats are associated with transient increases in cyclin D1 expression after ruminal butyrate infusion. *J. Dairy Sci.* 96:7603-7616.
- Mangian, H. F., K. A. Tappenden. 2009. Butyrate increases GLUT2 mRNA abundance by initiating transcription in Caco2-BBe cells. *J. Parent. Enter. Nutr.* 33:607-617.
- Manzanilla, E. G., M. Nofrarias, M. Anguita, M. Castillo, J. F. Perez, S. M. Martin-Orue, C. Kamel, J. Gasa. 2006. Effects of butyrate, avilamycin, and a plant extract combination on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. *J. Anim. Sci.* 84:2743-2751.
- Martens, H., G. Gäbel. 1988. Transport of Na and Cl across the epithelium of ruminant forestomachs: Rumen and omasum. A review. *Comp. Biochem. Phys.* 90:569-575.
- Mazzoni, M., M. Le Gall, S. De Filippi, L. Minieri, P. Trevisi, J. Woliński, G. Lalatta-Costerbosa, J. P. Lallés, P. Guilloteau, P. Bosi. 2008. Supplemental sodium butyrate stimulates different gastric cells in weaned pigs. *J. Nutr.* 138:1426-1431.
- Mentschel, J., R. Leiser, C. Mülling, C. Pfarrer, R. Claus. 2001. Butyric acid stimulates rumen mucosa development in the calf mainly by a reduction of apoptosis. *Arch. Anim. Nutr.* 55:85-102.
- Morvay, Y., A. Bannink, J. France, E. Kebreab, J. Dijkstra. 2011. Evaluation of models to predict the stoichiometry of volatile fatty acid profiles in rumen fluid of lactating Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 94:3063-3080.
- Niwińska, B., E. Hanczakowska, M. B. Arciszewski, R. Klebaniuk. 2017. Review: Exogenous butyrate: implications for the functional development of ruminal epithelium and calf performance. *Animal.* 11:1522-1530.
- Peters, J. P., R. Y. Shen, J. A. Robinson, S. T. Chester. 1990. Disappearance and passage of propionic acid from the rumen of the beef steer. *J. Anim. Sci.* 68:3337-3349.
- Ploger, S., F. Stumpff, G. B. Penner, J. D. Schulzke, G. Gäbel, H. Martens, Z. M. Shen, D. Gunzel, J. R. Aschenbach. 2012. Microbial butyrate and its role for barrier function in the gastrointestinal tract. Pages 52-59 in *Ann. N Y Acad Sci.* Vol. 1258. M. Fromm and J. D. Schulzke, ed. Blackwell Science Publ, Oxford.
- Rupp, G. P., K. K. Kreikemeier, L. J. Perino, G. S. Ross. 1994. Measurement of volatile fatty acid disappearance and fluid flux across the abomasum of cattle, using an improved omasal cannulation technique. *Am. J. Vet. Res.* 55:522-529.
- Storm, A. C., M. D. Hanigan, N. B. Kristensen. 2011. Effects of ruminal ammonia and butyrate concentrations on reticuloruminal epithelial blood flow and volatile fatty acid absorption kinetics under washed reticuloruminal conditions in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94:3980-3994.
- Sutton, J. D., M. S. Dhanoa, S. V. Morant, J. France, D. J. Napper, E. Schuller. 2003. Rates of production of acetate, propionate, and butyrate in the rumen of lactating dairy cows given normal and low-roughage diets. *J. Dairy Sci.* 86:3620-3633.
- Titgemeyer, E. C. 1997. Design and interpretation of nutrient digestion studies. *J. Anim. Sci.* 75:2235-2247.

Wanat, P., P. Górka, Z. M. Kowalski. 2015. Short communication: Effect of inclusion rate of microencapsulated sodium butyrate in starter mixture for dairy calves. *J. Dairy Sci.* 98:2682-2686.

Wilson, D. J., T. Mutsvangwa, G. B. Penner. 2012. Supplemental butyrate does not enhance the absorptive or barrier functions of the isolated ovine ruminal epithelia. *J. Anim. Sci.* 90:3153-3161.

5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

W trakcie dotychczasowej pracy naukowej prowadzonej w Katedrze Żywienia i Dietetyki Zwierząt Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie brałem udział w realizacji szeregu projektów badawczych i doświadczeń na zwierzętach. Znacząca część moich osiągnięć naukowych związana jest także z moim pobylem i pracą (stanowisko typu „post-doc”) w Katedrze Nauk o Zwierzętach i Drobiu Uniwersytetu w Saskatchewan (Saskatoon, Kanada). Spośród prowadzonych badań na szczególną uwagę zasługują te dotyczące: 1) wpływu maślanu na rozwój przewodu pokarmowego cieląt; 2) możliwości wykorzystania produktów ubocznych różnego pochodzenia w żywieniu intensywnie opasanego bydła mięsnego; 3) wpływu wprowadzenia do dawki pokarmowej pasz treściwych na budowę i wybrane funkcje przewodu pokarmowego bydła; 4) wpływu podawania dodatków glukoplastycznych na przebieg procesu glukoneogenezy w wątrobie krów w okresie okołoporodowym; 5) możliwości wykorzystania śruty poekstrakcyjnej rzepakowej w mieszankach typu starter dla cieląt; oraz 6) optymalizacji żywienia egzotycznych przeżuwaczy utrzymywanych w ogrodach zoologicznych.

Ad. 1. Wpływ maślanu na rozwój przewodu pokarmowego cieląt

(Załącznik IV; publikacje: II.A.2, II.A.4, II.A.5, II.A.12, II.A.18)

Wpływ maślanu na rozwój i funkcje przewodu pokarmowego cieląt był przedmiotem mojej rozprawy doktorskiej, której wyniki zostały opublikowane w pracy II.A.4. Zakres badań wykonywanych przeze mnie w tym okresie nie ograniczał się jednakże wyłącznie do tych będących podstawą rozprawy doktorskiej. Efektem rozszerzenia zakresu mojego zaangażowania w realizowane w Katedrze Żywienia i Dietetyki Zwierząt Uniwersytetu Rolniczego im. Hugona Kołłątaja w Krakowie projekty badawcze, którymi kierował prof. dr hab. Zygmunt M. Kowalski (Załącznik IV; projekty: II.I.1 i II.I.2), było autorstwo innych publikacji z zakresu wykorzystania maślanu sodu w żywieniu cieląt (Załącznik IV; publikacje: II.A.2, II.A.5, II.A.12 i II.A.18). Większość prac została opublikowana po

uzyskaniu stopnia doktora, a mój wkład w ich przygotowanie był bardzo duży (szczegółowy opis w Załączniku IV). Wątek badawczy dotyczący wpływu maślanu na rozwój i funkcje przewodu pokarmowego przeżywam wciąż kontynuuję, w tym w ramach prowadzonej współpracy międzynarodowej (Załącznik IV; projekt II.I.10; doniesienie na konferencję: III.Q.4), a jego dotychczasowe wyniki zostały podsumowane w postaci pracy przeglądowej (Załącznik IV; publikacja II.A.29). Za najważniejsze osiągnięcia badań prowadzonych w tym zakresie należy uznać: 1) wykazanie stymulującego wpływu dodatku maślanu sodu do preparatu mlekozastępczego na proliferację komórek nabłonka jelita, aktywność niektórych enzymów rąbka szczoteczkowego oraz przyrosty masy ciała cieląt; 2) wykazanie stymulującego wpływu dodatku mikrootoczkowanego maślanu sodu do paszy stałej dla cieląt na rozwój masy i wybranych funkcji jelita cienkiego, rozwój nabłonka żwacza oraz pobranie paszy stałej przez cielęta; 3) wskazanie możliwego mechanizmu oddziaływania mikrootoczkowanego maślanu sodu na rozwój przewodu pokarmowego cieląt (oddziaływanie wywierane za pośrednictwem glukagonopodobnego peptydu typu 2); 4) wykazanie negatywnego wpływu dużych dawek mikrootoczkowanego maślanu w paszy starterowej na jej pobranie i efekty odchowu cieląt. Prowadzenie badań dotyczących wpływu maślanu na rozwój przewodu pokarmowego cieląt zaowocowało także dorobkiem naukowym z zakresu wpływu wieku oraz rodzaju paszy płynnej na rozwój i wybrane mechanizmy sterujące rozwojem przewodu pokarmowego cieląt (Załącznik IV; publikacje: II.A.6 i II.A.16).

Ad. 2. Możliwość wykorzystania produktów ubocznych różnego pochodzenia w żywieniu intensywnie opasanego byłą mięsnego

(Załącznik IV; publikacje: II.A.10, II.A.20, II.A.23, II.A.27)

Możliwość wykorzystania różnych produktów ubocznych w żywieniu intensywnie opasanego byłą mięsnego była głównym przedmiotem moich badań prowadzonych w Katedrze Nauk o Zwierzętach i Drobiu Uniwersytetu w Saskatchewan, które realizowałem pod kierunkiem prof. Gregory B. Pennera. Ze względu na obserwowany wzrost ceny zbóż, wciąż poszukuje się możliwości obniżenia kosztów żywienia zwierząt gospodarskich. Jedną z możliwych metod osiągnięcia tego celu jest wykorzystanie produktów ubocznych przetwórstwa płodów rolnych w dawkach pokarmowych, takich jak łuska owsiana, nasiona rzepaku nienadające się do wykorzystania przez ludzi (ang. canola screenings), czy otręby

zbożowe oraz fragmenty ziarniaków pozostałe po produkcji mąki (ang. wheat middlings). Ich wprowadzenie do dawki pokarmowej prowadzi jednakże do mniejszej strawności składników pokarmowych (ze względu na wzrost zawartości włókna w dawce pokarmowej), a w efekcie – mniejszej wartości energetycznej całej dawki pokarmowej. Ewentualne obniżenie wartości energetycznej dawki pokarmowej może być rekompensowane przez wprowadzenie do jej składu źródeł tłuszczu, takich jak wspomniane pełnotłuste nasiona rzepaku lub olej rzepakowy. Wyniki badań, w których realizację byłem zaangażowany, pozwoliły na wykazanie: 1) możliwości zastąpienia znaczącej ilości zbóż i śrut poekstrakcyjnych (nawet do 60%) w dawce pokarmowej dla intensywnie opasanego bydła mięsnego granulatem, w którego skład wchodzi produkty uboczne różnego pochodzenia oraz źródła tłuszczu; 2) zmniejszenie prawdopodobieństwa podostrej kwasicy żwacza przez podawanie w dawce pokarmowej dla bydła mięsnego granulatu o wspomnianym składzie; 3) zwiększenie efektywności syntezy białka mikrobiologicznego w żwaczu opasów otrzymujących granulaty o wspomnianym składzie. Ponadto, wyniki badań wykazały, że wraz z wydłużającym się okresem podawania wysokoenergetycznych dawek pokarmowych, opartych głównie na paszach treściwych, zwiększa się prawdopodobieństwo insulinooporności oraz podostrej kwasicy żwacza u bydła opasowego.

Ad. 3. Wpływ wprowadzenia do dawki pokarmowej pasz treściwych na budowę i wybrane funkcje przewodu pokarmowego bydła

(Załącznik IV; publikacje: II.A.13, II.A.14, II.A.17, II.A.25)

W skład dawek pokarmowych stosowanych w żywieniu wysokowydajnych krów mlecznych, intensywnie rosnącego bydła opasowego, a także cieląt, wchodzi duże ilości pasz treściwych. Ich nadmierne pobranie może prowadzić do zaburzeń funkcjonowania przewodu pokarmowego i związanego z tym szeregu negatywnych konsekwencji dla zwierzęcia, a przez to do strat ekonomicznych hodowców. Szczególnie negatywny wpływ na funkcje przewodu pokarmowego może mieć nagłe zwiększenie pobrania pasz treściwych, które w warunkach praktycznych często obserwuje się u krów mlecznych tuż po wycieleniu, u bydła opasowego w momencie rozpoczęcia ostatniej fazy opasania (ang. finishing), czy też u cieląt w okresie okołoodsadzeniowym. Poznanie mechanizmów adaptacji przewodu pokarmowego przeżuwaczy do dużego pobrania pasz treściwych oraz czasu wymaganego do tej adaptacji może pozwolić na ograniczenie ewentualnych, negatywnych konsekwencji

obecnie stosowanych systemów ich żywienia. Badania prowadzone w tym zakresie, w których realizację byłem zaangażowany, pozwoliły na wykazanie: 1) szybkiej adaptacji funkcji nabłonka żwacza (między innymi wchłaniania KKT) do zwiększonego pobrania pasz treściwych, która wyprzedza adaptację strukturalną nabłonka (np. powiększenie wymiarów brodawek żwaczowych); 2) stopniową, postępującą przynajmniej 21 dni adaptację dalszych odcinków przewodu pokarmowego, w tym masy poszczególnych odcinków przewodu pokarmowego oraz aktywności enzymów rąbka szczoteczki do zwiększonego pobrania pasz treściwych; 3) wyraźny wzrost koncentracji endotoksyn bakteryjnych po wprowadzeniu do dawki pasz treściwych nie tylko w treści żwaczociepca oraz jelita grubego, ale także jelita biodrowego.

Ad. 4. Wpływ podawania dodatków glukoplastycznych na przebieg procesu glukoneogenezy w wątrobie krów

(Załącznik IV; publikacje: II.A.9; doniesienia na konferencję: III.B.16, III.Q.1, III.Q.2, III.Q.5)

Tuż po zakończeniu studiów doktoranckich oraz odbyciu zagranicznego stażu na Uniwersytecie w Saskatchewan brałem czynny udział w realizacji grantu kierowanego przez prof. dr hab. Zygmunta M. Kowalskiego, którego celem było określenie wpływu podawania różnych dodatków glukoplastycznych *per os* na wyniki produkcyjne oraz przebieg procesu glukoneogenezy w okresie okołoporodowym w wątrobie krów mlecznych. Podawanie *per os* dodatków glukoplastycznych, takich jak glicerol oraz glikol propylenowy (glikol), jest powszechnie stosowane w okresie okołoporodowym u wysokowydajnych krów mlecznych, w celu poprawy bilansu energii zwierząt i zapobieganiu schorzeniom metabolicznym. Związki zawarte w tego typu dodatkach (glicerol lub glikol) stanowią łatwo dostępny substrat do syntezy glukozy w wątrobie. Glicerol i glikol „wchodzą” jednakże w szlak glukoneogenezy na jej innych etapach. Glikol jest włączany w proces glukoneogenezy na jej początkowym etapie, podczas gdy glicerol na jej końcowym etapie. Stąd też wykorzystanie glikolu w procesie glukoneogenezy wymaga większego zaangażowania enzymów biorących udział w procesie glukoneogenezy i w efekcie może być gorszym substratem do syntezy glukozy niż glicerol. Wyniki badań, w których brałem udział, wykazały, że: 1) ekspresja genów kodujących białka odpowiedzialne za przebieg procesu glukoneogenezy w wątrobie krów podlega dużym zmianom w okresie okołoporodowym;

2) ekspresja genów kodujących enzymy i aktywność enzymów biorących udział w procesie glukoneogenezy były większe w wątrobie krów otrzymujących *per os* glikol, w porównaniu do krów otrzymujących glicerol; 3) wpływ ten był zależny od dawki podawanego dodatku; 4) rodzaj podawanego dodatku nie wpływał na pobranie pasz oraz wydajność mleka, niemniej jednak duże dawki dodatków zmniejszały pobranie pasz i wydajność mleka uzyskiwaną od krów. Łącznie wyniki przeprowadzonych badań sugerują, że glicerol jest lepszym dodatkiem glukoplastycznym w okresie okołoporodowym dla krów mlecznych.

Ad. 5. Możliwość wykorzystania śruty poekstrakcyjnej rzepakowej w mieszankach typu starter dla cieląt

(Załącznik IV; publikacje: II.A.21; doniesienia na konferencję: III.Q.3, III.QI.4, III.Q.6)

Śruta poekstrakcyjna sojowa jest uważana za najlepsze źródło białka w paszach typu starter dla cieląt. Opłacalność wykorzystania tej paszy w żywieniu bydła zależy jednak od jej ceny, która przynajmniej okresowo może znacznie zwiększać się. Dodatkowo, w ostatnich latach obserwuje się coraz większe zainteresowanie konsumentów mlekiem i mięsem uzyskiwanymi od zwierząt żywionych paszami wolnymi od organizmów genetycznie modyfikowanych, co w dużym stopniu ogranicza możliwość stosowania śruty poekstrakcyjnej sojowej w dawkach pokarmowych dla tak żywionych zwierząt. Alternatywą dla tej paszy mogłaby być śruta poekstrakcyjna rzepakowa. Jej wykorzystanie w paszach dla cieląt jest jednak dyskredytowane, ze względu na możliwy negatywny wpływ na smakowitość paszy i strawność składników pokarmowych. Wyniki badań dotyczących wpływu stosowania śruty poekstrakcyjnej rzepakowej w paszach dla cieląt pochodzą jednakże przynajmniej sprzed kilkunastu lat. Obecnie istnieje możliwość stosowania szeregu dodatków smakowych i zapachowych w paszach dla cieląt, które mogą poprawiać jej smakowitość, a także szeregu dodatków paszowych wpływających pozytywnie na przebieg procesów trawiennych w przewodzie pokarmowym cieląt. Wyniki prowadzonych badań, które prowadzono w ramach współpracy pomiędzy Uniwersytetem Rolniczym im. Hugona Kołłątaja w Krakowie a Uniwersytetem w Saskatchewan, których realizacją na Uniwersytecie Rolniczym w Krakowie kierował habilitant, wykazały że: 1) całkowite zastąpienie śruty poekstrakcyjnej sojowej śrutą poekstrakcyjną rzepakową w paszy typu starter dla cieląt ma negatywny wpływ na efekty ich odchowu, w tym przyrosty masy ciała i efektywność wykorzystania paszy; 2) dodatek glicerolu oraz mikrootoczkowanego maślanu sodu

do mieszanki treściwej typu starter dla cieląt, w której składzie znajdowała się śruta poekstrakcyjna rzepakowa, zwiększał jej pobranie oraz miał pozytywny wpływ na rozwój przewodu pokarmowego cieląt; 3) do 60% białka sojowego może być zastąpione białkiem rzepakowym w paszy typu starter dla cieląt bez negatywnego wpływu na strawność składników pokarmowych w całym przewodzie pokarmowym cieląt, przyrosty ich masy ciała i efektywność wykorzystania paszy.

Ad. 6. Optymalizacja żywienia egzotycznych przeżuwaczy utrzymywanych w ogrodach zoologicznych

(Załącznik IV; publikacje: II.A.24, II.A.26, II.A.30)

Żywienie egzotycznych gatunków zwierząt przeżuwających w ogrodach zoologicznych lub hodowlach prywatnych często sprawia dużo problemów. Wynika to głównie z niechętnego pobrania przez egzotyczne przeżuwacze siana, najważniejszej paszy objętościowej stosowanej w żywieniu tej grupy zwierząt. Problem ten dotyczy w szczególności gatunków przeżuwaczy zaliczanych do tzw. grupy przeżuwaczy skubiących oraz typu pośredniego, które niechętnie pobierają siano z traw oraz siano łąkowe. W obliczu często ograniczonego w okresie zimy dostępu do liściarki, preferowanej paszy objętościowej dla przeżuwaczy typu skubiącego i pośredniego, w dawce pokarmowej dla tych grupy zwierząt najczęściej wymagany jest dodatek pasz treściwych. Te niestety często podaje się w zbyt dużej ilości, co może prowadzić do zaburzeń funkcjonowania przewodu pokarmowego zwierząt (tzw. kwasica żwacza). Skalę tego problemu, poza zmniejszeniem ilości podawanych pasz treściwych, może ograniczyć forma, w jakiej są one podawane. Wyniki badań wykonanych przez zespół z udziałem habilitanta, prowadzonych w ramach współpracy ze Śląskim Ogrodem Zoologicznym wykazały, że: 1) pasze treściwe podawane w formie granulowanej są szybciej pobierane przez przeżuwacze egzotyczne niż pasze podawane w postaci śruty; 2) podawanie granulowanych pasz treściwych przeżuwaczom egzotycznym skutkuje mniejszą strawnością węglowodanów strukturalnych w całym przewodzie pokarmowym, najprawdopodobniej przez negatywny wpływ na przebieg procesów trawiennych w żwaczoczepecu; 3) lepszym rozwiązaniem w żywieniu przeżuwaczy egzotycznych jest podawanie pasz treściwych śrutowanych lub płatkowanych, niż granulowanych.

6. Podsumowanie dorobku publikacyjnego

Tabelaryczne zestawienie danych dotyczących dorobku naukowego

Rodzaj pracy	Przed uzyskaniem stopnia doktora	Po uzyskaniu stopnia doktora	Sumaryczny IF ²	Suma punktów MNiSW ³
Publikacje naukowe w czasopismach znajdujących się w bazie JCR ¹				
• Wchodzące w skład osiągnięcia naukowego	–	4	7,550	120
• Pozostałe	2	28	51,679	990
Razem	2	32	59,234	1110
Monografie oraz inne publikacje naukowe w czasopismach spoza bazy JCR ¹	8	13	–	–
Rozdziały w podręcznikach	–	1	–	–
Prace popularno-naukowe	18	48		

¹JCR = Journal Citation Reports; ²IF = Impact Factor czasopisma – wartość IF przyjęto zgodnie z rokiem wydania pracy lub w przypadku prac opublikowanych w roku 2018 przyjęto IF za rok 2017; ³MNiSW = punkty Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego – punkty MNiSW przyjęto zgodnie z rokiem ukazania się pracy lub w przypadku prac opublikowanych w roku 2018 punkty przyjęto jak za rok 2016.