

# **Autoreferat**

## **Opis dorobku i osiągnięć naukowych**

**dr inż. Marcin Wojciech Lis**

Zakład Weterynarii, Rozrodu i Dobrostanu Zwierząt

Instytut Nauk Weterynaryjnych

Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt Uniwersytet Rolniczy w Krakowie

Kraków 2015

1. Imię i nazwisko: **MARCIN WOJCIECH LIS**



2. Posiadane dyplomy, stopnie naukowe/artystyczne z podaniem nazwy, miejsca i roku ich uzyskania oraz tytułu rozprawy doktorskiej.

**2a. Posiadane dyplomy**

Rok	Tytuł/stopień	Miejsce uzyskania stopnia/tytułu, tytuł rozprawy
2001	doktor nauk rolniczych specjalność: Higiena inkubacji drobiu	Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie. Wydział Hodowli i Biologii Zwierząt. <b>Rozprawa doktorska</b> pt.: „ <i>Badanie wpływu pola magnetycznego na embriogenezę zarodków kurzych</i> ” (wyróżniona). Promotor: prof. dr hab. Jerzy Niedziółka.
1995	magister inżynier zootechnik	Akademia Rolnicza im. Hugona Kołłątaja w Krakowie. Wydział Zootechniczny. Praca magisterska pt.: „ <i>Próba wykorzystania metody swim-up do oceny jakości nasienia ogiera</i> ” wykonana w Katedrze Rozrodu Zwierząt. Promotor: prof. dr hab. Marian Tischner.

**2.b. Wykształcenie.**

Rok	Jednostka
1996-2001	Studium doktoranckie AR Kraków
1999	„4 <sup>th</sup> International Course of Poultry Management” – Hebrew University of Jerusalem, Faculty of Agricultural, Food and Environmental Quality Sciences. MASHAV – Centre for International Cooperation, Ministry of Foreign Affairs, Jerusalem, Israel.
1989-1994	studia magisterskie na kierunku Zootechnika na Wydziale Zootechnicznym Akademii Rolniczej im. Hugona Kołłątaja w Krakowie.
1985-1989	VII Liceum Ogólnokształcące im. Zofii Nałkowskiej w Krakowie.

### 3. Informacje od dotychczasowym zatrudnieniu w jednostkach naukowych/artystycznych

Rok	Stanowisko,	Jednostka
1994 (6 miesięcy)	wolontariusz (student-stażysta)	Stacja Doświadczalna Katedry Hodowli Owiec i Kóz, Akademia Rolnicza w Krakowie.
1995 (10 miesięcy)	stażysta	Gospodarstwo rolne (ferma trzody chlewnej i norek) Johana Johansena; Hjern, Dania
1998 (6 miesięcy)	specjalista d.s. kontraktacji	Zakłady Drobiarskie "CEDROB" Ciecchanów – Oddział w Niepołomicach
2001-2006	starszy specjalista	Zakład Higieny Zwierząt i Środowiska Hodowlanego, Akademia Rolnicza w Krakowie.
2006-2007	asystent naukowo- dydaktyczny	Katedra Hodowli Drobiu, Zwierząt Futerkowych i Zoohigieny Akademia Rolnicza w Krakowie
2008 - nadal	adiunkt	Zakład Weterynarii, Rozrodu i Dobrostanu Zwierząt, Instytut Nauk Weterynaryjnych (do 31. sierpnia 2014, Katedra Hodowli Drobiu, Zwierząt Futerkowych i Zoohigieny), Uniwersytet Rolniczy im. Hugona Kołłątaja w Krakowie.

---

### 4. Informacja o dorobku naukowym

1. **Oryginalnych prac naukowych 82 pozycji** (78 po doktoracie), w tym:

A. **16 prac z listy A** MNiSW, o łącznym IF = 11,783 (IF<sub>5 letni</sub> = 13,206) i 325 pkt. MNiSW (wszystkie po doktoracie);

B. **46 prac z listy B**, łącznie 146 pkt (42 po obronie doktoratu i 134 pkt MNiSW);

C. **20 prac** opublikowanych w suplementach czasopism naukowych lub w recenzowanych materiałach konferencyjnych, łącznie 109 pkt MNiSW (wszystkie po doktoracie);

D. **1 współautorstwo monografii**, łącznie 12 pkt MNiSW;

**9 rozdziałów w monografiach**, łącznie 27 pkt MNiSW, (wszystkie po doktoracie);

E. **18 prac przeglądowych**, łącznie 9 pkt. (16 po doktoracie i 9 pkt. MNiSW);

F. **139 doniesień** na zjazdy i konferencje (131 po doktoracie), w tym

**3 streszczenia** w suplementach lub wewnątrz numeru czasopism z listy A MNiSW;

**Łącznie: 249 pozycji** (235 po doktoracie).

Liczba punktów zgodnie z bonitacją dla roku publikacji wynosi:

<b>wszystkie opublikowane prace:</b>	<b>628 pkt. MNiSW</b>	<b>IF=11,783</b>	<b>IF<sub>5letni</sub>=13,206</b>
wszystkie opublikowane prace bez suplementów:	519 pkt. MNiSW	IF=11,783	IF <sub>5letni</sub> =13,206
opublikowane przed doktoratem:	12 pkt. MNiSW	-	-
opublikowane po doktoracie	616 pkt. MNiSW	IF=11,783	IF <sub>5letni</sub> =13,206
opublikowane po doktoracie prace bez suplementów:	507 pkt. MNiSW	IF=11,783	IF <sub>5letni</sub> =13,206
<b>prace stanowiące szczególne osiągnięcie:</b>	<b>105 pkt. MNiSW</b>	<b>IF= 2,015</b>	<b>IF<sub>5letni</sub>= 2,685</b>
pozostałe prace	523 pkt. MNiSW	IF= 9,768	IF <sub>5letni</sub> =10,521
pozostałe prace bez suplementów	414 pkt. MNiSW	IF= 9,768	IF <sub>5letni</sub> =10,521

**Liczba cytowań i indeks Hirscha, zgodnie z bazą Web of Science**

Web of Science Index Citation*				
Cytacje łącznie	Cytacje bez autocytacji	Cytowane prace	Cytowane prace bez autocytacji	h index
<b>32</b>	18	<b>23</b>	16	<b>3</b>

\*Stan na 3. marca 2015

#### 5. Udział w projektach badawczych KBN i MNiSW:

**7 projektów**, w tym:

1 jako kierownik

6 jako wykonawca

#### 6. Promotor pomocniczy w przewodzie doktorskim

Doktorant: **Trzeciak Karolina** (z d. Głodek);

Tytuł rozprawy doktorskiej: „*Wpływ podania in ovo kwasu foliowego i metioniny na rozwój oraz wybrane parametry krwi kury domowej (Gallus gallus domesticus)*”;

Promotor: **dr hab. inż Barbara Tombarkiewicz**;

Promotor pomocniczy: **dr inż. Marcin Lis**;

Data otwarcia przewodu: **12. grudnia 2013 r.**;

Miejsce otwarcia przewodu: **Wydział Matematyczno-Przyrodniczy, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach.**

6. Prace stanowiące szczególne osiągnięcie naukowe wynikające z art. 16 ust. 2 ustawy z dnia 14 marca 2003 r. o stopniach naukowych i tytule naukowym oraz stopniach i tytule zakresie sztuki (Dz.U. nr 65, poz. 595 ze zm.), pod wspólnym tytułem:

**Wpływ wybranych substancji egzogennych podawanych *in ovo* na przebieg rozwoju embrionalnego kury domowej (*Gallus gallus domesticus*)**

Publikacje składające się na główne osiągnięcia naukowe: (autor/autorzy, rok publikacji, tytuł publikacji, nazwa wydawnictwa, IF, punkty MNiSW, cytacje, szacowany udział własny.

A.1. LIS M.W., SECHMAN A., NIEDZIÓŁKA J., RZAŚA J. (2006) Effect of paracetamol injection *in ovo* on course of embryogenesis, results of hatching and thyroid hormones levels in chick embryo. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 50:537-542.

**IF<sub>2006</sub> = 0,402**

**pkt. MNiSW<sub>2006</sub> = 20**

**Liczba cytowań = 3**

Szacowany udział własny 60%, który obejmował: opracowanie koncepcji badań i metodyki, prowadzenie inkubacji i wykonanie iniekcji *in ovo*, współudział w pobieraniu materiału, współudział w analizach embriopatologicznych i endokrynologicznych, wykonanie analiz statystycznych wyników, współudział w opracowaniu wyników, sformułowaniu wniosków i przygotowaniu tekstu pracy.

Oświadczenia pozostałych autorów w załączeniu.

A.2. LIS M., SECHMAN A., PAWLAK K., TOMBARKIEWICZ B., NIEDZIÓŁKA J., RZAŚA J. (2009) Effects of *in ovo* exposure to acetylsalicylic acid and hyperthermia on the hatchability and thyroid hormone concentrations in newly-hatched chicks. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 53:527-534.

**IF<sub>2009</sub> = 0,210**

**pkt. MNiSW<sub>2009</sub> = 20**

**Liczba cytowań = 2**

Szacowany udział własny 50%, który obejmował: opracowanie koncepcji przeprowadzenia badań i metodyki, prowadzenie inkubacji i wykonanie iniekcji *in ovo*, współudział w pobieraniu materiału, współudział w analizach embriopatologicznych i endokrynologicznych, wykonanie analiz statystycznych wyników, współudział w opracowaniu wyników, sformułowaniu wniosków i przygotowaniu tekstu pracy.

Oświadczenia pozostałych autorów w załączeniu.

A.3. LIS M.W., GŁODEK K., SECHMAN A., WĄTOR D., PAWLAK K., NIEDZIÓŁKA J.W. (2011) Effect of *in ovo* injection of Aroclor 1254 on embryonic development, time of hatching, and blood thyroid hormone levels in one-day-old chicken. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 55:293-298.

**IF<sub>2011</sub> = 0,321**

**pkt. MNiSW<sub>2011</sub> = 20**

**Liczba cytowań = 1**

Szacowany udział własny 50%, który obejmował współudział w opracowaniu koncepcji przeprowadzenia badań i metodyki, prowadzenie inkubacji i wykonanie iniekcji *in ovo*, współudział w pobieraniu materiału, współudział w analizach embriopatologicznych i endokrynologicznych, wykonanie analiz statystycznych wyników, współudział w opracowaniu wyników, sformułowaniu wniosków i przygotowaniu tekstu pracy.

Oświadczenia pozostałych autorów w załączeniu

- A.4. DŽUGAN M., LIS M., DROBA M., NIEDZIÓŁKA J.W. (2011) Effect of cadmium injected *in ovo* on hatching results and the activity of plasma hydrolytic enzymes in newly hatched chicks. *Acta Veterinaria Hungarica*, 59:337-347.

**IF<sub>2010</sub> = 0,673**

**pkt. MNiSW<sub>2011</sub> = 27**

**Liczba cytowań = 5**

Szacowany udział własny 40%, który obejmował współudział w opracowaniu koncepcji przeprowadzenia badań i metodyki, prowadzenie inkubacji i wykonanie iniekcji *in ovo*, współudział w pobieraniu materiału, współudział w analizach embriopatologicznych, wykonanie analiz statystycznych wyników, współudział w opracowaniu wyników, sformułowaniu wniosków i przygotowaniu tekstu pracy.

Oświadczenia pozostałych autorów w załączeniu

- A.5. TRZECIAK K.B., LIS M.W., SECHMAN A., PŁYTYCZ B., RUDOLF A., WOJNAR T., NIEDZIÓŁKA J.W. (2014) Course of hatch and developmental changes in thyroid hormone concentration in blood of chicken embryo following *in ovo* riboflavin supplementation. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 38, 230-237.

**IF<sub>2014</sub> = 0,316**

**pkt. MNiSW<sub>2014</sub> = 20**

**Liczba cytowań = 0**

Szacowany udział własny 50%, który obejmował współudział w opracowaniu koncepcji przeprowadzenia badań i metodyki, prowadzenie inkubacji i wykonanie iniekcji *in ovo*, współudział w pobieraniu materiału, współudział w analizach embriopatologicznych i endokrynologicznych, wykonanie analiz statystycznych wyników, współudział w opracowaniu wyników, sformułowaniu wniosków i przygotowaniu tekstu pracy.

Oświadczenia pozostałych autorów w załączeniu.

**Sumaryczny IF i punkty MNiSW publikacji składające się na główne osiągnięcia naukowe**

**IF<sub>dla roku publikacji</sub>  
2,015**

**IF<sub>5 letni</sub>  
2,685**

**pkt. MNiSW<sub>2014</sub>  
105**

**Liczba cytowań  
13**

## **6.c. Omówienie celu naukowego ww. pracy i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania.**

### **Wpływ wybranych substancji egzogennych podawanych *in ovo* na przebieg rozwoju embrionalnego kury domowej (*Gallus gallus domesticus*)**

Ptaki charakteryzuje specyficzna strategia rozrodcza. Rozwój zarodkowy tej gromady zwierząt odbywa się poza organizmem matki, w jaju zawierającym wszystkie niezbędne składniki pokarmowe. Prawidłowy przebieg embriogenezy ptaków wymaga także dostarczania odpowiedniej ilości ciepła ze źródeł zewnętrznych. Ta specyfika rozwoju embrionalnego sprawia, że możliwe stało się opracowanie metody inkubacji zarodków ptasich w warunkach „sztucznych”.

Wylęgowość oraz kondycja piskląt są wypadkową wartości biologicznej jaj i parametrów inkubacji. Skład jaja jest, w znacznej mierze, odbiciem spożywanego pokarmu i środowiska, w którym żyje nioska. Z tego powodu, spadek wartości biologicznej jaj może być następstwem niedoborów żywieniowych lub zatruc w wyniku kumulacji substancji o działaniu embriotoksycznym oraz teratogennym (np.: trwałych zanieczyszczeń organicznych, metali ciężkich, leków itp.). W lęgach sztucznych funkcję niasadki i gniazda, zastąpiły komory klimatyczne (aparaty lęgowe i komory klujnikowe) [Niedziółka, 1991]. W tym przypadku, pomimo ścisłej kontroli środowiska, nigdy nie udaje się zapobiec upadkom oraz schorzeniom części zarodków i wyklutych piskląt.

Za krytyczny w rozwoju embrionalnym ptaków uważa się okres okołolęgowy. Podczas sztucznej inkubacji stres powodowany wysiłkiem związanym z opuszczeniem jaja, potęgowany jest dodatkowo przez panujące w klujniku warunki mikroklimatyczne, które sprzyjają wystąpieniu objawów stresu cieplnego. W odpowiedzi na przegrzanie dochodzi do zwiększenia stężenia kortykosteronu, glukozy, białka oraz kwasów tłuszczowych we krwi zarodków/kurcząt, przy jednoczesnym zmniejszeniu stężenia hormonów tarczycy [McNabb 1989, 2007, Piestun i in. 2008]. Następstwem hipertermii klujnikowej jest spadek jakości wylęzonych piskląt m.in. wskutek uszkodzenia mięśnia sercowego oraz naczyń omocni i pępka [Borzemska i in. 1990, Niedziółka 1991]. U takich kurcząt obserwuje się także niższe przyrosty podczas pierwszych trzech tygodni tuczu [Molenaar i in. 2009].

Współczesna produkcja drobiarska ma charakter masowy dlatego nawet niewielka poprawa wylęgowości i/lub jakości piskląt przekłada się na wymierny efekt ekonomiczny.

Z tego powodu na całym świecie intensywnie bada się czynniki mogące zakłócać lub wspomagać rozwój embrionalny i postembrionalny ptaków domowych. Cechą charakterystyczną tych badań jest interdyscyplinarność. Wymagają one wiedzy zarówno z dziedziny nauk biologicznych (anatomii, embriologii i fizjologii zwierząt), rolniczych (higiena i dobrostan zwierząt, hodowla drobiu), weterynaryjnych (embriopatologia, choroby drobiu) jak również technicznych (automatyka, elektrotechnika). Celem tych prac jest, z jednej strony udoskonalanie technologii inkubacji [Kirk i in. 1980; Janowski i in. 1984, Borzemska i Janowski 1984, Tullet 1990, Niedziółka 1991, Lourens i in 2005; Yassin i in. 2008; Molenaar i in. 2012], z drugiej zaś poznanie mechanizmów genetycznych i rozwojowych oraz czynników egzogennych wpływających na przebieg rozwoju embrionalnego i postembrionalnego zwierząt [Romanoff 1960; Decuypere i in. 1991, Otha i Kidd 2001; De Stern 2004; Uni i Ferket 2004; Davey i Tickle 2007; Groef i in. 2008, Kain i in. 2014].

Badania te ułatwia fakt, że zarodki ptasie są łatwe do hodowli, tanie i stosunkowo odporne na manipulację „*in ovo*” [Scanes i McNabb 2003; Stern 2004, Davey i Tickle 2007, Goldstein i Nagy 2008]. W praktyce drobiarskiej tolerancję zarodków na ingerencję w strukturę jaja wykorzystano do opracowania metody szczepienia zarodków *in ovo* [Shrama i Burmester 1982]. Obecnie metoda ta jest z powodzeniem stosowana do immunizacji kur i indyków m.in. przeciw takim chorobom jak: zakaźne zapalenie torby Fabrycjusza (Choroba Gumboro, IBD) czy Choroba Mareka (MD) [Shrama i Burmester 1984]. Z wymienionych powyżej powodów oraz ze względu na fakt, że na rozwijające się zarodki ptasie nie ma już wpływu organizm matki, zarodki ptasie stanowią uznany model (tzw. model *in ovo*) w badaniach embriologicznych [Stern 2004; Rupp i in. 2008], genetycznych [Darnell i Schoenwolf 2000, Stern 2004, Davey i Tickle, 2007], endokrynologicznych [Murphy i Clark 1990], mikrobiologicznych [A.10\*; Gripenland 2014], immunologicznych [Annamalai i Selvaraj 2012], toksykologicznych [Brugeman i in 2004, Stern 2004; Goldstein i Nagy 2008], a także farmakologicznych [Gvozdjan i in. 2004] i medycznych [Rashidi i Sottile 2007; Kain i in. 2014]. Należy jednak zastrzec, że wyniki uzyskane przy zastosowaniu modelu *in ovo*, z powodu różnic filogenetycznych, powinny być traktowane z pewną ostrożnością w odniesieniu do ssaków i ludzi [Rupp i in. 2008].

Z punktu widzenia badań zootechnicznych, weterynaryjnych i toksykologicznych, niezwykle istotnym jest fakt, że rozwój *in ovo* pozbawiony jest ontogennego biochemicznego

---

\* Numer publikacji w „Wykazie opublikowanych prac naukowych”.



wpływu matki, jak jest to w przypadku rozwoju *in utero* u ssaków [Scanes i McNabb 2003]. W ptasim jajku, ze względu na brak łożyska, depozycja wszelkich substancji jest możliwa tylko do momentu rozpoczęcia formowania się skorupy [Romanoff 1960; Mine 2008]. Jednocześnie, jego skład chemiczny jest niezwykle konserwatywny w odniesieniu do zawartości wielu komponentów (np. aminokwasów), i może być modyfikowany żywieniem matki tylko w przypadku niektórych z nich (np. witamin i minerałów) [Mine, 2008]. Z tego powodu, podawanie niosce *per os* badanej substancji nie gwarantuje przekazania jej założonej dawki bezpośrednio do jaja. Umożliwia to natomiast iniekcja *in ovo* [Otha i in. 1999; Uni i Ferket 2004; Moran 2007].

Iniekcję *in ovo* można generalnie wykonywać, nie tylko u ptaków lecz u wszystkich zwierząt jajorodnych, takich jak gady, płazy i ryby [Uni i in. 2004, 2005]. Zabieg ten można przeprowadzać na różnym etapie rozwoju zarodkowego od okresu diapauzy (przed nałożeniem jaj do inkubatora), aż do okresu poprzedzającego rozpoczęcie procesu wykluwania [Scanes i McNabb 2003]. Pozwala to na określenie działania badanej substancji w zależności od stopnia rozwoju organów i tkanek oraz układów endokrynnego i nerwowego [Scanes i McNabb 2003]. Należy jednak zaznaczyć, że wrażliwość zarodków na mechaniczną manipulację jest odwrotnie skorelowana z ich fazą rozwojową [Brugeman i in. 2004; **B.17.**]. Badając działanie embriotoksyczne iniekcja *in ovo* powinna być przeprowadzana na jak najwcześniejszym etapie embriogenezy. Natomiast, w celu zbadania wpływu danej substancji na przebieg wykluwania i/lub rozwój postembrionalny zabieg ten powinno się przeprowadzać na krótko przed rozpoczęciem procesu wykluwania (u kur za optymalny uznaje się termin między E17 a E18) [Uni i in. 2004, 2005]. W tym okresie można podawać *in ovo*, nie tylko substancje odżywcze i ich metabolity (węglowodany, aminokwasy), ale także witaminy, hormony, substancje antyoksydacyjne oraz pro- i prebiotyki mające na celu zastymulować rozwój postembrionalny pisklęcia [Johnston i in. 1997; Henry i Burke 1999; Kocamis i in. 1999; Ohta i in. 1999; Otha i Kidd 2001; Jochemsen i Jeurissen 2002; Uni i in. 2005; Bednarczyk i in. 2011; Nowaczewski i in. 2012]. W zależności od typu doświadczenia oraz fazy rozwojowej zarodka badana substancja może być podawana na błonę podskorupową [Bednarczyk i in. 2011, Nowaczewski i in. 2012], do treści jaja (białka, lub żółtka), do woreczka żółtkowego, owodni lub pęcherzyka białkowego oraz do ciała zarodka [Johnstone i in 1997, Otha i Kidd 1999, 2001]. W okresie poprzedzającym rozpoczęcie wykluwania możliwe jest dozowanie substancji zarówno w formie cieczy (roztworu, emulsji) i zawiesiny, jak również w postaci ciała stałego [Jochemsen i Jeurissen 2002; Uni i in. 2005]. W tym ostatnim przypadku substancję podaje się do komory powietrznej na błonę

podskorupową. Zostaje ona pobrana przez pisklę podczas nakluwania wewnętrznego [Bednarczyk i in. 2011]. Należy zauważyć, że prawidłowo przeprowadzona iniekcja *in ovo* do pęcherzyka białkowego (płynu owodniowego) lub komory powietrznej nie uszkadza tkanek i organów zarodka [Uni i in. 2005; B.17], może natomiast wpływać na tempo wykluwania się piskląt. Wynika to z faktu, że wykonanie otworu w skorupie powoduje dehermetyzację komory powietrznej. W efekcie obserwuje się opóźnienie nakluwania zewnętrznego, przy równoczesnym zwiększeniu synchronizacji wykluwania. Natomiast w przypadku iniekcji przeprowadzonej w pierwszej połowie inkubacji nie obserwuje się wpływu na przebieg wykluwania [C.18.].

Cechą charakterystyczną współczesnego środowiska hodowlanego jest zwiększona ekspozycja organizmu zwierząt na działanie różnorodnych substancji chemicznych pochodzenia antropogenicznego. Dotyczy to zarówno związków dostarczanych do ustroju w sposób zamierzony np. jako preparaty weterynaryjne czy dodatki paszowe, ale także zanieczyszczeń, będących ubocznym produktem działalności gospodarczej człowieka. **Dlatego mając na względzie dobrostan zwierząt, celem badań prezentowanych jako szczególne osiągnięcie naukowe było określenie wpływu wybranych leków, toksyn i witamin podawanych *in ovo* na rozwój zarodka oraz przebieg klucia i jakość wylężonych piskląt kury domowej (*Gallus gallus domesticus*). Omawiane doświadczenia miały również potwierdzić przydatność zarodków kurzych jako organizmu modelowego w szeroko pojętych badaniach biologicznych.**

W pierwszej wykazanej pracy stanowiącej szczególne osiągnięcie naukowe [A.1.], za cel postawiono sobie zbadanie wpływu paracetamolu na przebieg rozwoju zarodka kurzego i koncentrację hormonów tarczycy: tyroksyny (T4) i trijodotyroniny (T3) w czasie embriogenezy. Paracetamol (acetaminophen) został wybrany jako substancja o działaniu przeciwgorączkowym i przeciwbólowym. Związek ten, podawany *per os*, był z powodzeniem stosowany do stymulacji wzrostu kurcząt broilerów i przeciwdziałania stresowi cieplnemu [Dikstein i in. 1966]. W medycynie ludzkiej paracetamol uznawany jest za lek bezpieczny, który jednak w wysokich dawkach może wykazywać działanie hepatotoksyczne [Kołaciński i Ruciński 2003]. Wyniki badań na gryzoniach nie wykluczają również jego działania embriotoksycznego i teratogennego [Lum i Wells 1986]. W dostępnej literaturze nie znaleziono natomiast informacji dotyczących wpływu paracetamolu na przebieg embriogenezy u ptaków. W związku z powyższym interesującym wydawało się zbadanie działania tego związku na rozwój zarodka kury, wykorzystując jednocześnie stężenie hormonów tarczycy w osoczu krwi, jako wskaźnika tempa procesów metabolicznych.

Paracetamol, w dawce 4 mg/jajo, podawano do białka jaja w 6. dobie inkubacji. Fazę rozwojową, w której przeprowadzono iniekcję wybrano ze względu na to, że w 5. dobie inkubacji tarczyca uzyskuje pełną funkcjonalność [Decuypere i Kuhn 1988; Decuypere i in. 2005], w tym okresie znacząco zwiększa się metabolizm zarodka [Romanoff 1960, Decuypere i in. 2005, Molenaar i in. 2010], a zmniejsza się jego wrażliwość na manipulację [Bruggeman i in. 2003].

U zarodków poddanych działaniu paracetamolu stwierdzono m.in. uszkodzenia wątroby w formie: niedorozwoju (lub atrofii) płata i przerostu bocznego płata (lat. *hypoplasia lobi hepatis et hypertrophia consecutiva loborum lateralium*), podtorebkowe krwotoki (lat. *haemorrhagiae subcapsulares hepatis*), a także rozrost żołądka mięśniowego. Obserwowano również obniżenie koncentracji T4 w okresie przed rozpoczęciem wykluwania (E14, E16 i E18) przy jednoczesnym jego wzroście w okresie klujnikowym (E19 i D1). Natomiast w przypadku stężenia T3 obserwowano odwrotną tendencję, a stężenie rT3 utrzymywało się na wyższym poziomie podczas wszystkich analizowanych faz embriogenezy. Nie można wykluczyć, że opisane powyżej zmiany w koncentracji hormonów tarczycy mogą być związane z hepatotoksycznym działaniem paracetamolu i jego wpływem na metabolizm jodotyronin.

**Podsumowując, uzyskane wyniki doświadczenia wskazują, że podany *in ovo* paracetamol działał embriotoksycznie i opóźniał czas wylęgu oraz wpływał na stężenie hormonów tarczycy w osoczu krwi zarodków/piskląt kury domowej [A.1.].**

Ponieważ wykazano, że substancja o działaniu przeciwgorączkowym, podana *in ovo* w początkowej fazie inkubacji, miała długofalowy wpływ na stężenie hormonów tarczycy w osoczu krwi zarodka, nasunęło się pytanie: jaki będzie jej wpływ na organizm zarodka/pisklęcia w czasie przebywania w klujniku (w okresie okołolęgowym). Jednocześnie, wobec stwierdzenia zmian teratogennych postanowiono użyć innego preparatu niż paracetamol. Dlatego w kolejnym doświadczeniu [Lis i in. 2009 (A.2.)] postanowiono zbadać wpływ kwasu acetylosalicylowego (w dawce 0, 5 i 10 mg na jajo) podanego *in ovo* w 18 dobie inkubacji na przebieg klucia oraz stężenie hormonów tarczycy, jako wskaźnika reakcji organizmu na stres cieplny, u piskląt kurzych narażonych na przegrzanie w komorze klujnikowej. Ponadto do opisu i oceny przebiegu procesów klucia piskląt zastosowano autorską metodę opartą na analizie równań regresji [C.5., C.18.].

Kwas acetylosalicylowy (aspiryna, ASA), jest związkiem o działaniu przeciwgorączkowym, przeciwbólowym i przeciwzapalnym szeroko stosowanym zarówno w medycynie ludzkiej, jak i weterynaryjnej. U człowieka podany *per os* wchłania się całkowicie z przewodu pokarmowego, a czas jego półtrwania we krwi wynosi około 40 godzin [Vane i Botting 2003, Urick i in. 2009]. W produkcji drobiarskiej, ASA stosowany jest jako suplement diety poprawiający przyrosty masy ciała oraz wyniki reprodukcyjne [McDaniel i in. 1993; Uric i in. 2009], do przeciwdziałania skutkom stresu cieplnego [Stilborn i in. 1988; Lin i in. 2006], a także w leczeniu chorób układu oddechowego i pokarmowego [Koncicki i in. 1999, Baert i De Backer 2003].

Pisklęta przebywające w klujniku o temperaturze zalecanej technologią inkubacji (37,2°C) opuszczały skorupę o 6-8 godzin później, lecz charakteryzowały się wyższym stopniem synchronizacji procesów klucia, niż osobniki narażone na przegrzanie (38,5°C). Jednakże, w warunkach stresu cieplnego, podanie *in ovo* kwasu acetylosalicylowego powodowało wzrost wylęgowości i podwyższało tempo wykluwania kurcząt. Może to wskazywać na regulujące metabolizm działanie tej substancji. Przemawiają za tym również wyniki pomiarów koncentracji hormonów tarczycy w osoczu krwi wykłutych piskląt.

Zaobserwowano, że stężenie T4 i T3 w osoczu krwi piskląt było najwyższe bezpośrednio po wylęgu, a następnie, w ciągu kolejnych 12 godzin, obniżało się dwukrotnie. Jednak w przypadku kurcząt przebywających w warunkach kontrolnych, którym podano *in ovo* ASA stwierdzono w osoczu krwi wzrost stężenia T4, przy równoczesnym spadku poziomu T3. Natomiast w warunkach stresu termicznego, u osobników, które otrzymały ASA zaobserwowano istotne obniżenie stężenia T4 w osoczu krwi przy równoczesnym utrzymaniu koncentracji T3 na poziomie nie odbiegającym od stwierdzonego u piskląt przebywających

w warunkach standardowych. Zaobserwowane zjawisko wskazuje, że ASA może wpływać na metabolizm jodotyronin u nowowyklutych kurcząt. Interakcje pomiędzy przyjmowaniem aspiryny a poziomem hormonów tarczycy w osoczu krwi ssaków obserwował Panciera (2006) i tłumaczył je zmianą aktywności dejodynazy typu I (D1) i/lub typu III (D3) w tkankach obwodowych i/lub bezpośrednim oddziaływaniem tej substancji na oś podwzgórze-przysadka-tarczyca (HPT). Nie można również wykluczyć, że mechanizm zaobserwowanego zjawiska związany jest z tłumieniem syntezy prostaglandyn (głównie PGE i PGF $2\alpha$ ), które są silnymi regulatorami sekrecji hormonu tyreotropowego (TSH) z przysadki mózgowej i jodotyronin z tarczycy [Balog i in. 1993].

**Podsumowując, uzyskane wyniki wskazują, że kwas acetylosalicylowy podawany *in ovo* w 18. dobie inkubacji może łagodzić skutki stresu termicznego u wyklutych piskląt.**

Wyniki przedstawionych powyżej prac dowiodły, że podanie *in ovo* związków chemicznych stosowanych jako leki przeciwgorączkowe wpływa na przebieg embriogenezy kury domowej, koncentrację hormonów tarczycy i może mieć pozytywne działanie na organizm kurczęcia. Postawiono więc sobie pytanie, czy model zarodka kurzego może także posłużyć do badania reakcji organizmu narażonego na działanie substancji o właściwościach bioakumulacyjnych, trafiających do środowiska ze źródeł antropogenicznych [A.3., A.4.].

Uważa się, że szczególnie niebezpieczne dla funkcjonowania ekosystemów jest skażenie związkami należącymi do tzw. trwałych zanieczyszczeń organicznych (ang. *persistent organic pollutants*, *POPs*). Do najbardziej znanych POPs należą polichlorowane bifenyle (PCB), które w środowisku występują zwykle w postaci mieszanin różnych kongenerów i wykazują wysoki potencjał bioakumulacyjny. Wielce znamienne jest fakt, że PCB wykazują strukturalne podobieństwo do hormonów tarczycy i zaliczane są do grupy tzw. „*endocrine disruptors*” (*ECD*), czyli substancji zakłócających funkcjonowanie układu hormonalnego u ludzi i zwierząt. Z tego powodu, w badaniach ekotoksykologicznych, hormony tarczycy traktowane są jako potencjalne biomarkery efektu w odniesieniu do polichlorowanych bifenyli [Brouwer i in. 1998; Beck i in. 2005, 2006; Crofton i in. 2005; Roelens i in. 2005].

W doświadczeniu [A.3.] wykorzystano mieszaninę kongenerów PCB o nazwie handlowej Aloclor 1254. Iniekcję *in ovo* tej mieszaniny w dawce 10, 100 lub 1000 ng wykonywano w 4. dobie inkubacji. Przeprowadzona analiza embriopatologiczna wykazała większą zamieralność zarodków i częstsze przypadki zmian teratogennych oraz opóźnienia

retrakcji woreczka żółtkowego w grupach poddanych działaniu tej substancji. Ponadto zaobserwowano zakłócenie przebiegu wykluwania się piskląt oraz obniżenie stężenia T3 ale tylko u osobników traktowanych dawką 10 ng PCB/jajo. W tym miejscu warto zauważyć, że we wcześniejszych badaniach własnych [D.2. F.44.] opisano podobne zjawisko, polegające na zaburzeniu procesów klucia pod wpływem 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioksyny (TCDD) - substancji również zaliczanej do POPs.

Jednocześnie u wyklutych piskląt, którym podano *in ovo* Aloclor w dawce 1000 ng/jajo zaobserwowano w osoczu krwi zmniejszenie stężenia T4, przy równoczesnym wzroście koncentracji T3. Natomiast w przypadku dawki 10 ng stwierdzono obniżenie stężenia T3, lecz nie T4. Zmianę koncentracji hormonów tarczycy w osoczu krwi piskląt jednodniowych w odpowiedzi na działanie różnych dawek mieszaniny kongenerów PCB można tłumaczyć zaburzeniem funkcjonowania gruczołu tarczycowego spowodowanym jego uszkodzeniem [Gould i in 1999] i/lub kompetycyjnym wiązaniem PCB z receptorami T3 [Van der Geyten i in. 1997], a także z zmianą aktywności dejodynaz D1 i D3 w wątrobie i nerkach, odpowiedzialnych za obwodową konwersję T4 do T3 lub rT3 i T3 do 3,3'-T2 [Darras i in. 1992, Van der Geyten i in. 1997, Gould i in. 1999].

**Podsumowując, uzyskane w doświadczeniu A.3. wyniki dowodzą, że podanie *in ovo* w 4. dniu inkubacji mieszaniny kongenerów polichlorowanych bifenyli (Aroclor 1254) zakłóca rozwój embrionalny kurczęcia, wywołując deformacje rozwojowe i może powodować śmierć zarodków. Ponadto zmiany stężenia hormonów tarczycy w osoczu krwi jednodniowych piskląt wskazują, że szczególnie wrażliwy na działanie PCB jest układ hormonalny ptaków.**

W badaniach ekotoksycznych, obok zagrożeń wynikających ze skażenia środowiska POPs, zwraca się dużą uwagę na zagrożenia związane ze zwiększoną ekspozycją organizmów na jony metali ciężkich. Dotyczy to w szczególności jonów kadmu II ( $Cd^{2+}$ ), które są łatwo absorbowane i akumulowane w tkankach roślin i zwierząt [Satarug i in. 2003]. Układ rozrodczy ptaków wydaje się wyjątkowo wrażliwy na zanieczyszczenia środowiska tym metalem [Scheuhammer 1987]. Znajduje to bezpośrednie odzwierciedlenie w składzie chemicznym jaja [Dobrzański i in. 2004; Thompson i in. 2010], i jest uważane za jeden z powodów zaburzeń rozrodu dzikich ptaków [Kalińska i in. 2004]. W tym kontekście, warto zauważyć, że w Polsce przeciętna zawartość tego pierwiastka w jajach kurzych kształtuje się na poziomie ok. 0,3  $\mu g$  /jajo, lecz na obszarach silnie skażonych może sięgać nawet 4,3  $\mu g$ /jajo [Dobrzański i in. 2004].

Powszechnie stosowanym biomarkerem efektu w ocenie wpływu  $Cd^{2+}$  na zdrowie ludzi jest aktywność N-acetylo- $\beta$ -D-glukozaminidazy [EC 3.2.1.30] [Nordberg i in. 2009]. Jednak pomiar aktywności tego enzymu hydrolitycznego, jak i innych glikozydaz występujących w lizosomach, dotychczas nie był wykorzystywany do oceny skutków narażenia ptaków na jony kadmu. Dlatego w kolejnym eksperymencie postanowiono sprawdzić czy jony kadmu zaburzają przebieg embriogenezy kury oraz wpłyną na aktywność enzymów hydrolitycznych w osoczu krwi wyklutych piskląt [A.4].

Wyniki uzyskane w doświadczeniu pozwoliły stwierdzić, że po iniekcji *in ovo* jonów kadmu II w dawce 0, 1, 3, 6, 12 i 24  $\mu g$  Cd/jajo wylęgowość piskląt obniżała się stopniowo zgodnie z równaniem:  $y = 49,4810 - 8,6720x + 0,5940x^2 - 0,0133x^3$  ( $R = -0,843$ ,  $p \leq 0,05$ ), gdzie  $y$  - procent wyklutych piskląt;  $x$  - dawka kadmu w  $\mu g$ /jaja. Na tej podstawie określono  $LD_{50}$  dla zarodków kurzych na 3,9  $\mu g$  Cd/jajo. Ponadto przeprowadzona analiza embriopatologiczna wykazała, że narażenie na  $Cd^{2+}$  w dawce 3-24  $\mu g$ /jajo może powodować wystąpienie karłowatości i deformacji w obrębie skoków piskląt (silny przykurcz stawu skokowego i palców). Jednocześnie zaobserwowano pod wpływem jonów tego metalu istotny wzrost aktywności N-acetylo-D-glukozaminy (NAG),  $\beta$ -D-mannozydazy ( $\beta$ -MAN) oraz arylsulfatazy (ARYL) w osoczu krwi wyklutych piskląt ( $P \leq 0,05$ ).

**Podsumowując, jony kadmu II podane *in ovo* w 4. dniu inkubacji w dawkach większych niż 1  $\mu g$   $Cd^{2+}$ /jajo działają embriotoksycznie na zarodek kurzy. Ponadto, wzrost aktywności enzymów lizosomalnych (N-acetylo-D-glukozaminy i  $\beta$ -D-mannozydazy, a także arylsulfatazy) w osoczu krwi jednodniowych piskląt wskazuje, że mechanizm toksyczności kadmu jest podobny u ssaków i ptaków. Otwiera to możliwość wykorzystania aktywności NAG i innych enzymów hydrolitycznych z grupy glikozydaz, jako biomarkerów efektu w ocenie cytotoksycznego działania kadmu na organizm ptaka.**

W omawianym powyższym doświadczeniu dotyczącym embriotoksycznego działania kadmu [A.4] zwrócono uwagę na występowanie charakterystycznych deformacji w obrębie skoków piskląt (silny przykurcz stawu skokowego i palców). Podobne zaburzenia rozwojowe opisane zostały w przypadku niedoboru ryboflawiny [Bertollo i in. 2006]. Ryboflawina (witamina  $B_2$ ) odgrywa kluczową rolę w przemianach energetycznych organizmu jako źródło nukleotydów flawinowych i składnik wielu enzymów i koenzymów biorących udział w łańcuchu oddechowym [Massey, 2000]. U ptaków witamina  $B_2$  jest niezbędna dla prawidłowego rozwoju zarodka. Jej zawartość w jajku kury domowej wynosi ok. 300  $\mu g$

[Naber 1993], pomimo że 60 µg/jajo wydaje się być ilością wystarczającą do zakończenia embriogenezy [Lee i White 1996]. U ssaków, istnieje zależność pomiędzy dostępnością ryboflawiny a stężeniem hormonów tarczycy we krwi. Z jednej strony T3 reguluje biosyntezę enzymów flawinowych z drugiej zaś hipowitaminoza B<sub>2</sub> zaburza funkcjonowanie osi HTP [Apeland i in. 2006]. Jednocześnie, o ile wpływ niedoboru ryboflawiny na funkcjonowanie organizmu został już dobrze poznany, to w dostępnej literaturze brak jest informacji dotyczących stanu hiperwitaminozy B<sub>2</sub>. Uzyskane wyniki były inspiracją do przeprowadzenia kolejnego doświadczenia, mającego na celu zbadanie wpływu zwiększonej dostępności ryboflawiny (witaminy B<sub>2</sub>) na przebieg rozwoju i koncentrację hormonów tarczycy podczas embriogenezy kury domowej [A.5].

Suplementację *in ovo* ryboflawiny w dawce 0, 60 i 600 µg/jajo przeprowadzono w 6. dobie inkubacji. Wyniki doświadczenia wykazały, że najwyższa dawka ryboflawiny spowodowała obniżenie masy ciała zarodków (nie powodując jednak zwiększonej zamieralności w tej grupie), oraz wzrost stężenia T4 w 15., 18. i 20. dobie inkubacji. Równocześnie w obydwu grupach doświadczalnych stwierdzono niższe stężenie T3 w osoczu krwi w 20. dobie inkubacji w porównaniu do grupy kontrolnej. Uzyskane wyniki sugerują, że ryboflawina wpływa na aktywności osi HPT, oraz tempo konwersji T4 do T3 w tkankach obwodowych zarodka w końcowym etapie embriogenezy.

**Podsumowując, w doświadczeniu A.5. wykazano istnienie u ptaków interakcji pomiędzy dostępnością ryboflawiny, a czynnością gruczołu tarczycowego.**

**Reasumując, wyniki przedstawione w powyższych pracach dowodzą, że przez dostarczenie do jaja substancji egzogennej można oddziaływać na rozwój zarodkowy oraz przebieg klucia i jakość wylęzonych piskląt kury domowej (*Gallus gallus domesticus*). Czułym biomarkerem tych zmian wydają się być hormony tarczycy oraz enzymy lizosomalne. Stopień odpowiedzi organizmu na dany czynnik jest ściśle uzależniony od dawki i fazy rozwojowej embrionu podczas jego ekspozycji. Potwierdza to przydatność zarodków kurzych jako organizmu modelowego w badaniach embriologicznych, fizjologicznych i ekotoksykologicznych. Jednocześnie otwiera możliwość poprawy dobrostanu i jakości wylęzonych piskląt poprzez podanie do jaja, w okresie bezpośrednio poprzedzającym rozpoczęciem wykluwania, substancji łagodzących skutki stresu cieplnego (jak np. kwas acetylosalicylowy). Z tego powodu można się spodziewać, że w przyszłości iniekcja *in ovo* substancji embriostymulujących może znaleźć praktyczne zastosowanie w chowie drobiu.**



## 6.d. Inne osiągnięcia badawcze

### Czynniki wpływające na przebieg rozwoju zarodkowego oraz proces wykluwania się piskląt u różnych gatunków i ras drobiu

Główny kierunek badań dotyczył poznania czynników wpływających na przebieg rozwoju zarodkowego oraz proces wykluwania się piskląt u różnych gatunków i/lub ras drobiu. Ważny wkład w badania nad biologią lęgów stanowi rozwinięcie oryginalnej koncepcji „diagramu lęgu” zawartej w pracach autorów z kręgu szkoły naukowej prof. Wandy B. Borzemskiej [Borzemska i Malec 1986; Borzemska i in. 1987; Malec 1989; Niedziółka i Janowski 1996; Niedziółka i in. 1998] i zaproponowanie metody analizy przebiegu klucia się piskląt z wykorzystaniem równań regresji [C.5.; C.18.]. Ponieważ w tego typu doświadczeniach konieczne jest przeprowadzanie analiz embriopatologicznych, wraz ze współautorami opracowano pierwszy w Polsce klucz do rozpoznawania faz rozwojowych zarodków przepiórki japońskiej (*Coturnix coturnix japonica*) oraz perlicy (*Numida meleagris*) [D.1.].

Porównując przebieg inkubacji u różnych ras kur utrzymywanych w chowie drobnostadnym zaobserwowano, że czas trwania inkubacji jest dodatnio skorelowany z masą ciała niosek oraz masą znoszonych przez nie jaj [B.20.]. Różnica w czasie potrzebnym do zakończenia lęgu pomiędzy odmianami kur lekkich i ciężkich sięgała nawet kilkudziesięciu godzin [C.11.]. Jednocześnie wyniki przeprowadzonych doświadczeń dowiodły, że długość czasu inkubacji nie jest skorelowana z tempem (synchronizacją) klucia się piskląt, który to może mieć podłoże genetyczne [C.15.]. Za taką hipotezą przemawia porównanie przebiegu klucia się piskląt różnych gatunków i ras drobiu, co pozwoliło na wyróżnienie trzech wariantów tego procesu [C.17.]. Pierwszy z nich charakteryzuje się rozciągniętym w czasie etapem nakluwania zewnętrznego (ang. *external pipping*, EP), po którym następuję prawie jednoczesne (wysoko zsynchronizowane) opuszczanie skorup przez wszystkie pisklęta w nakładzie. Został on opisany u przepiórki japońskiej [B.22., C.15.] i bażanta złocistego [C.19.], a także u stosunkowo prymitywnej rasy kury domowej - czubatki staropolskiej [C.15.]. Natomiast w przypadku kury domowej odmiany karłowatej oraz linii nieśnej Hy-Line, obserwowano wysoką synchronizację zarówno etapu nakluwania zewnętrznego, jak i opuszczania skorupy. Trzeci wariant tego procesu cechował się słabą synchronizacją poszczególnych faz klucia i był charakterystyczny dla kurcząt broilerów [C.17.]. W tym miejscu należy zaznaczyć, że oprócz czynników genetycznych na przebieg klucia się piskląt wpływają także wiek stada niosek [C.1.], czas magazynowania jaj [B.22.],

a także parametry środowiska inkubacji, takie jak temperatura inkubacji [A.2.; B.19.] czy ekspozycja na pola elektromagnetyczne [A.6.]. Warto również zauważyć, że iniekcja *in ovo* przeprowadzona *via* komora powietrzna pod koniec inkubacji, powoduje opóźnienie rozpoczęcia procesu klucia. Zjawisko to wiąże się prawdopodobnie z dehermetyzacją komory powietrznej i jest częściowo rekompensowane przez wzrost synchronizacji wykluwania piskląt [C.20.]

W kontekście badań nad czynnikami wpływającymi na przebieg embriogenezy należy zaznaczyć, że jednym z najsłabiej poznanych elementów środowiska inkubacji jest zmienne pole elektromagnetyczne o częstotliwości 50 Hz (ang. *electromagnetic field*, EMF). Pole takie wytwarzane jest m.in. przez zasilane prądem sieciowym elementy wyposażenia inkubatorów. Grupa prac z tego zakresu została zainspirowana i stanowi kontynuację badań profesora Tomasza M. Janowskiego i profesora Jerzego Niedziółki [Janowski i in. 1996; Niedziółka i Janowski 1996 a,b; Niedziółka i in. 1996, 1998] oraz rozprawy doktorskiej habilitanta.

Przeprowadzone eksperymenty z tego zakresu wykazały, że ciągła ekspozycja zarodków kurzych podczas inkubacji na słabe pole elektromagnetyczne (10  $\mu$ T) może skracać o kilka godzin czas lęgu piskląt kury domowej [C.10] i przepiórki japońskiej [B.22]. Należy zauważyć jednak, że reakcja behawioralna piskląt na działanie EMF o podobnych parametrach wykazuje zmienność gatunkową [C.6]. W przypadku piskląt kurzych obserwowano wzrost tempa wykluwania piskląt eksponowanych na EMF [A.6.; C.10.; C.12], podczas gdy u przepiórek stwierdzono jego spadek [B.22.; C.3]. Jednocześnie udowodniono, że u kur zjawisko akceleracji wykluwania pod wpływem EMF związane jest ze wzrostem koncentracji hormonów tarczycy w osoczu krwi zarodków [A.6.; C.10]. U obu badanych gatunków stwierdzono ponadto, że ekspozycja na EMF nie powodowała obniżenia wyników lęgów [A.6.; B.6.]. Wiązało się to ze zwiększoną przeżywalnością zarodków w pierwszym tygodniu inkubacji [B.21.], przy jednoczesnym zwiększeniu częstotliwości występowania przypadków deformacji rozwojowych i zaburzenia krążenia płodowego [B12; C.4.]. Wykazano ponadto, że słabe EMF intensyfikuje przekazywanie przeciwciał matczynych z woreczka żółtkowego do krwioobiegu pisklęcia [B.9.].

Czynnikiem silnie determinującym tempo embriogenezy u kury jest temperatura inkubacji [B.19.]. W związku ze wzrostem produkcji ciepła metabolicznego [B.35.; B.42.; C.13.] u zarodków narażonych na przegrzanie w ostatniej fazie lęgu występują wyraźne symptomy stresu m.in.: przyspieszenie pracy serca [A.7.] i wzrost koncentracji kortykosteronu we krwi [D.5.]. Jednakże suplementacja *in ovo* związków o właściwościach przeciwuleniających w okresie poprzedzającym rozpoczęcie wykluwania może poprawiać

zdolność adaptacyjną organizmu zarodka do wysiłku fizycznego i stresu związanego z procesem wykluwania [A.7.; D.6.; D.8.], zwiększać odpowiadź poszczepienną [D.7.] i przekładać się na lepsze wyniki produkcyjne [B.40.]. Innym sposobem poprawy zdrowotności piskląt, może być stosowanie różnego rodzaju filtrów i pochłaniaczy ograniczających niebezpieczeństwo zakażeń bakteryjnych i grzybiczych w klujniku [B.7.].

### **Wykorzystanie modelu *in ovo* w badaniach biologicznych**

Jak przedstawiono w pierwszej części autoreferatu zarodek kurzy może być stosowany jako model w różnorodnych badaniach biologicznych. W tym kontekście na podkreślenie zasługuje wykazanie wysokiej użyteczności tego modelu w doświadczeniach nad wirulencją różnych szczepów *Staphylococcus aureus* [A.10.]. Ponadto metodą *in ovo* można posłużyć się do symulacji w warunkach laboratoryjnych stanu skażenia środowiska. Przy jej zastosowaniu dowiedziono, że dioksyny są potencjalnym modulatorem procesu steroidogenezy u ptaków i mogą bardzo silnie zakłócać syntezę i sekrecję płciowych hormonów steroidowych w okresie embrionalnym [A.8.; D.4.]. Natomiast badając wpływ ekspozycji zarodka kurzego na kadm stwierdzono, że jony tego metalu akumulują się przede wszystkim w nerkach, wątrobie oraz gonadach [B.44.]. Ponadto narażenie, nawet na niskie jego dawki, może zakłócać pracę serca i wywoływać stan zapalny mięśnia sercowego [A.11.]. Jednocześnie dowiedziono, że jony cynku II mogą osłabiać embriotoksyczne działanie kadmu [A.9.; B.45.] i zapobiegać spadkowi potencjału antyoksydacyjnego osocza krwi kurcząt indukowanemu przez ten metal ciężki [A.9.].

### **Funkcjonowanie układu antyoksydacyjnego u zwierząt**

Osobną grupę stanowiły prace dotyczące funkcjonowania układu antyoksydacyjnego u zwierząt. Badania przeprowadzone na fermowych odmianach jenota (*Nyctereutes procyonoides*) i lisa (*Vulpes vulpes*) wykazały, że gatunki te różnią się pod względem aktywności poszczególnych enzymów antyoksydacyjnych. Ponadto udowodniono, że w przypadku jenotów, funkcjonowanie tego układu może zostać zakłócone przez stopniowe uwalnianie egzogennej melatoniny [A.13.]. Natomiast wyniki przedstawione w pracy A.14. potwierdziły znaczącą rolę jonów chromu III ( $Cr^{3+}$ ) w mechanizmach ochrony przed działaniem wolnych rodników i wskazały na konieczność zapewnienia jonów tego pierwiastka w diecie zwierząt. Suplementacja substancji wspomagających działanie przeciwutleniaczy wydaje się celowa, szczególnie w sytuacji osłabienia funkcjonowania

układu antyoksydacyjnego, co ma miejsce np. u wysokoprodukcyjnych loch w okresie okołoporodowym [A.16].

### **Badania zachowania się zwierząt w kontekście ich dobrostanu.**

Przeprowadzone testy behawioralne dowiodły, że u zwierząt futerkowych (jenotów) temperament nie przekłada się na wyniki rozrodu. Oznacza to, że eliminacja z hodowli osobników agresywnych, nie pogorszy wyników produkcyjnych, a może ułatwić obsługę i poprawić dobrostan pozostałych zwierząt [A.12.]. Natomiast analizując przyczyny wygryzania okrywy włosowej u szynszyli wysunięto hipotezę, że stereotypia ta może mieć podłoże genetyczne, a jej ujawnianiu sprzyjają niewłaściwe warunki utrzymania [A.15.].

W kontekście zapewnienia dobrostanu w pomieszczeniach dla zwierząt istotne wydają się obserwacje, że zwierzęta wybierając miejsca do odpoczynku mogą kierować się parametrami środowiska nie uwzględnianymi przez projektantów (np. stanem pola geomagnetycznego) [B.37.] Preferencje mogą również zmieniać się wraz z wiekiem zwierząt [B.39.].

Ważnym wydaje się również empirycznie potwierdzenie panującej wśród hodowców gołębi pocztowych opinii, że płeć nie wpływa na dzielność lotową tych ptaków [C.9.].

### **Zastosowanie termografii w badaniach zootechnicznych.**

Termografia jest metodą rejestracji promieniowania podczerwonego emitowanego przez ciała fizyczne. Zastosowanie tej techniki do pomiarów temperatury powierzchni skorupy jaja okazało się skuteczną metodą monitorowania metabolizmu zarodka, pozwalającą na optymalizację parametrów inkubacji. Co więcej analiza termogramów umożliwia identyfikację jaj niepłodzonych, zmarłych i o nieprawidłowo zlokalizowanej komorze powietrznej [B.42.; C.13]. Ponadto rejestracja emisji ciepła na powierzchni skóry koni pozwoliła kontrolować reakcję ich organizmu podczas treningu [C.14.]. Natomiast w przypadku zwierząt futerkowych metoda ta może być przydatna do bezinwazyjnej oceny ciepłochronności okrywy włosowej zwierząt [B.43.; F.111.; F.130] oraz określania stanu fizjologicznego samic [B.43.; F.115.].

## Ocena jakości i ochrona środowiska przyrodniczego

Analizy jakościowe powietrza potwierdziły opinię, że składowiska odpadów komunalnych, a także fermy produkcyjne, pomimo spełniania wszystkich wymogów sanitarnych, mogą być źródłem zanieczyszczeń mikrobiologicznych i chemicznych na obszarze o promieniu przekraczającym 0,5 km [B.23.; B.24.; C.7.]. Z drugiej strony wykazano, że nawożenie użytków zielonych osadami ściekowymi pochodzącymi z zakładów mleczarskich są bezpieczną formą przyrodniczego ich zagospodarowania [B.8.], która pozwala zasilić glebę i zachować korzystny skład botaniczny runi [B.25.; C.8.]. W tym kontekście należy zauważyć, że czułym indykátorem skażenia środowiska, szczególnie metalami ciężkimi, mogą być dżdżownice [B.28.]. Na tej podstawie postawiono hipotezę, że fauna glebowa może również reagować na zmiany wartości pola geolub/i elektromagnetycznego, które zarejestrowane zostały pod energetycznymi liniami przesyłowymi [B.13.; B.14.]. Wyniki badań terenowych nie wykazały, aby pole elektromagnetyczne o częstotliwości 50 HZ wpływało na biomasę i zagęszczenie dżdżownic [B.26. B.32.], chociaż wyniki uzyskane w warunkach laboratoryjnych nie pozwalają tego wykluczyć [B.29.; B30.].

## Literatura wykorzystana w autoreferacie

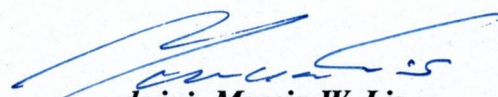
- ANNAMALAI T., SELVARAJ R.K. (2012) Effects of *in ovo* interleukin-4-plasmid injection on anticoccidia immune response in a coccidia infection model of chickens. *Poult Sci.*, 91:1326-1334.
- APELAND T., KRISTENSEN O., STRANDJORD R.E., MANSOOR M.A. (2006) Thyroid function during B-vitamin supplementation of patients on antiepileptic drugs. *Clin Biochem*, 39: 282–286.
- BAERT K., DE BACKER P. (2003) Comparative pharmacokinetics of three non-steroidal drugs in five birds species. *Comp Biochem Physiology*, 134C: 25-33.
- BALOG J.M., MCDANIEL C.D., FREED M., ELKIN R.G., WELLENREITER R.H., HESTER P.Y. (1993) Response of layer breeders to dietary acetylsalicylic acid. 2. Effects on circulating concentrations of prostaglandin F2 $\alpha$ . *Poult. Sci.*, 72: 1093-1099.
- BECK V., ROELENS S.A., MAERVOET J, SCHEPENS P, DARRAS V.M. (2005) Interaction of PCBs with thyroid hormone levels and time of hatching in chicken embryos. *Ann. NY Acad. Sci.*, 1040: 224-226.
- BECK V., ROELENS S.A., DARRAS V.M. (2006) Exposure to PCB 77 induces tissue-dependent changes in iodothyronine deiodinase activity patterns in the embryonic chicken. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 148: 327–335.
- BEDNARCZYK M, URBANOWSKI M., GULEWICZ P, KASPERCZYK K, MAIORANO G, SZWACZKOWSKI (2011) Field and *in vitro* study on prebiotic effect of raffinose family oligosaccharides in chickens *Bull. Vet Inst. Pulawy*, 55: 465-469.
- BERTOLLO C.M., OLIVEIRA A.C.P., ROCHA L. T.S., COSTA, C.A., COELHO M.M. (2006) Characterization of the and anti-inflammatory activities of riboflavin in different experimental models. *Eur. J. Pharmacol.* 547: 184–191.
- BORZEMSKA W. B., MALEC H (1986) Biologiczna i patomorfologiczna ocena łęgu kur przy zaburzeniach synchronizacji klucia. *Medycyna Wet.*, 43:409-412.
- BORZEMSKA W. B., MALEC L., MALEC H (1987) Wpływ zarodków zamarych w czasie inkubacji na dalszy przebieg łęgu kur i jakość piskląt. *Medycyna Wet.*, 44:548-551.
- BORZEMSKA W., JANOWSKI T. (1984) Zoohigieniczne i biologiczne podstawy inkubacji jaj kurzych. *Medycyna Wet.*, 40: 603-607.

- BORZEMSKA W.B., PIUSIŃSKI W., MALEC H., NIEDZIÓŁKA J. (1990) Obraz patomorfologiczny zamarłych zarodków kurzych przy niskich wartościach ochładzania katatermometrycznego w komorze lęgowej D-108 Reform Poldrob. *Medycyna Wet.*, 46:103-105.
- BROUWER A., MORSE D.C., LANS M.C., SCHUUR A.G., MURK A.J., KLASSON-WEHLER E., BERGMAN A., VISSER T.J. (1998) Interactions of persistent environmental organohalogenes with the thyroid hormone system: mechanisms and possible consequence for animal and human health. *Toxicol. Ind. Health*, 14: 59-84.
- BRUGGEMAN V., SWENNEN Q., DE KETELAERE B., ONAGBESAN O., TONA K., DECUYPERE E. (2003) Embryonic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in chickens: effects of dose and embryonic stage on hatchability and growth. *Comp Biochem Physiol*, C, 136: 17-28.
- CROFTON K.M., ELENA S., CRAFT E.S., HEDGE J.M., GENNINGS C., SIMMONS J.E., CARCHMAN R.A., CARTER JR W.H., DEVITO M.J. (2005) Thyroid-hormone-disrupting chemicals: evidence for dose-dependent additivity or synergism. *Environ Health Perspect*, 113: 1549-1554.
- DARNELL D.K., SCHOENWOLF G.C. (2000) The chick embryo as a model system for analyzing mechanisms of development. *Developmental Biology Protocols, Methods in Molecular Biology* 135: 25-29
- DARRAS V.M., VISSER T.J., BERGHMAN L.R., KÜHN E.R. (1992) Ontogeny of type I and type III deiodinase activities in embryonic and posthatch chicks: relationship with changes in plasma triiodothyronine and growth hormone. *Comp. Biochem. Physiol.*, 103A:131-136
- DAVEY M.G. TICKLE C. (2007) The chicken as a model for embryonic development. *Cytogenet. Genome. Res.*, 117:231-239.
- DE GROEF B., GROMMEN S.V., DARRAS V.M. (2008) The chicken embryo as a model for developmental endocrinology: development of the thyrotropic, corticotropic, and somatotropic axes. *Mol Cell Endocrinol.*, 293:17-24.
- DECUYPERE E., DEWIL E., KUHN E.R. (1991) The hatching process and the role of hormones, in: TULLETT S.G. (red.) Avian Incubation. London, UK, Butterworth-Heinemann: 239-256.
- DECUYPERE E., KUHN E. (1988) Thyroid hormone physiology in Galliformes: Age and stain related changes in physiological control. *Am Zoolog.*, 28: 401-415.
- DECUYPERE E., VAN AS P., VAN DER GEYTEN S., DARRAS V.M. (2005) Thyroid hormone availability and activity in avian species: a review. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 29:63-77.
- DIKSTEIN S., ZOR U., RUAH D., SULMAN F.G. (1966) Stimulatory effect of paracetamol on chicken growth. *Poult Sci.*, 45:744-746.
- DOBZAŃSKI Z., OPALIŃSKI S., DOBICKI, W., USYDUS Z. (2004): The accumulation of heavy metals in egg's content of laying hens housed in free range system in agricultural and industrial regions. *Zesz. Nauk. AR Wroc. Zoot.* 488, 87-91.
- GOLDSTEIN A.M., NAGY N. (2008) A bird's eye view of enteric nervous system development: lessons from the avian embryo. *Pediatric Research* 64:326-333.
- GOULD J., COOPER K., SCANES C. (1999) Effects of polychlorinated biphenyls on thyroid hormones and liver type I monodeiodinase in the chick embryo. *Ecotoxicol Environ Saf.*, 43: 195-203.
- GRIPENLAND J., ANDERSSON C., JOHANSSON J. (2014) Exploring the chicken embryo as a possible model for studying *Listeria monocytogenes* pathogenicity *Front. Cell. Infect. Microbiol.* (doi: 10.3389/fcimb.2014.00170).
- GVOZDJAN D.M., BOWDEN E.T., WELLSTEIN A. (2004) A novel chicken embryo model for the investigation of drugs with antimetastatic properties. *Clin. Pharmacol. Therap.*, 75:P60.
- HENRY M.H., BURKE W. H. (1999) The effects of in ovo administration of testosterone or an antiandrogen on growth of chick embryos and embryonic muscle characteristics. *Poult. Sci.* 78:1006-1013
- JANOWSKI T. M., NIEDZIÓŁKA, J., DOBROWOLSKA M. (1996) Pola elektromagnetyczne w inkubatorach halowych. *Acta Agr. Silv. Ser.Zoot.*, 34: 9-19.
- JANOWSKI T.M., BORZEMSKA W., NIEDZIÓŁKA J., JAMIAŁKOWSKA G., BREIK A.M., HERBUT E. (1984) Wpływ mikroklimatu w aparacie Reform-Poldrob na przebieg lęgu jaj kurzych. *Medycyna. Wet.*, 40:115-119.
- JOCHENSEN, P., JEURISSEN S.H. (2002) The localization and uptake of in ovo injected soluble and particulate substances in the chicken. *Poult. Sci.*, 81:1811-1817.
- JOHNSTON, P. A., LIU H., O'CONNELL T., PHELPS P., BLAND M., TYCZKOWSKI J., KEMPER A., HARDING T., AVAKIAN A., HADDAD E., WHITFILL C., GILDERSLEEVE R., RICKS C.A. (1997) Applications in in ovo technology. *Poult. Sci.*, 76:165-178.
- KAIN K.H., MILLER James W.I., JONES-PARIS CR, THOMASON RT., LEWIS JD., BADER D.M., BARNETT JV, ZIJLstra A. (2014) The chick embryo as an expanding experimental model for cancer and cardiovascular research. *Dev. Dyn.*, 243: 216-228.
- KALISIŃSKA E., SALICKI W., MYSŁEK P., KAVETSKA K.M., JACKOWSKI A. (2004) Using the mallard to biomonitor heavy metal contamination of wetlands in north-western Poland. *Sci. Tot. Environ.*, 320:145-161

- KIRK S., EMMANS G.C., McDONALD R., ARNOT D. (1980) Factors affecting the hatchability of eggs from broiler breeders. *Br. Poult. Sci.*, 21:37-53.
- KOCAMIS H., YENI Y.N., KIRKPATRICK-KELLER D.C., KILLEFER J. (1999) Postnatal growth of broilers in response to in ovo administration of chicken growth hormone. *Poult. Sci.*, 78:1219-1226.
- KOŁACIŃSKI Z., RUCIŃSKI P. (2003) Paracetamol: therapeutic action, pathogenesis and treatment of acute poisoning complicated by severe liver damage. *Przegl. Lek.*, 60:218-222.
- KONCICKI A., KRASNODEBSKA-DEPTA A., GUIRO S., OLKOWSKI J. (1999) Study on the therapeutic use of acetylsalicylic acid in turkeys. *Medycyna Wet.*, 55, 781-852.
- LEE C.M., WHITE H.B. 3<sup>RD</sup> (1996) Riboflavin-binding protein induces early death of chicken embryos. *J. Nutr.*; 126: 523-528.
- LIN H., CIAO H.C., BUYSE J., DECUYPERE E. (2006) Strategies for preventing heat stress in poultry. *World's Poult. Sci. J.*, 62: 71-85.
- LOURENS A., VAN DEN BRAND H., MEIJERHOF R., KEMP B. (2005) Effect of eggshell temperature during incubation on embryo development, hatchability, and posthatch development. *Poult. Sci.*, 84:914-920.
- LUM J.T., WELLS P.G. (1986) Pharmacological studies on the potentiation of phenytoin teratogenicity by acetaminophen. *Teratology* 33: 53-72.
- MALEC H. (1989) Synchronizacja czasu wylęgu piskląt kurzych. *Rocz. Nauk. Rol. Ser. B*, 106:93-99.
- MASSEY V. (2000) The chemical and biological versatility of riboflavin. *Biochem. Soc. Trans.*, 28: 283-296.
- MCDANIEL C.D., BALOG J.M., FREED M., ELKIN R.G., WELLENREITER R.H., KUCZEK T., HESTER P.Y. (1983) Response of layer breeders to dietary acetylsalicylic acid. 3. Effects on fertility and hatchability of embryos exposed to control and elevated incubation temperatures. *Poult. Sci.*, 72: 1100-1108.
- MCNABB F.M. (2007) The hypothalamic-pituitary-thyroid (HPT) axis in birds and its role in bird development and reproduction. *Crit Rev Toxicol*; 37: 163-193.
- MCNABB FM. (1989) Thyroid function in embryonic and early posthatch chickens and quail. *Poult. Sci.* 68:990-998.
- MINE Y. (2008) Egg Bioscience and Biotechnology. *John and Wiley Publishing, New York*.
- MOLENAAR R., MEIJERHOF R., KEMP B., HULET R., VAN DER BRAND H. (2009) High eggshell temperatures: A matter of life and death importance? *Avian. Biol. Res.*, 2: 252-253.
- MOLENAAR R., REIJNINK I.A.M., MEIJERHOF R., VAN DEN BRAND H. (2010) Meeting embryonic requirements of broilers throughout incubation: a review. *Brazil. J. Poult. Sci.*, 12, 3: 137 - 148.
- MORAN E.T., JR. (2007). Nutrition of the developing embryo and hatchling. *Poult. Sci.*, 86:1043-1049.
- MURPHY M.J., CLARK N.B. 1990 The avian embryo as a model for early developmental endocrinology. *J Exp Zool Suppl.*, 4:177-180.
- NABER E.C. (1993) Modifying vitamin composition of eggs: a review. *J. Appl. Poult. Res.*, 2: 385-393.
- NIEDZIÓŁKA J. (1991) Badania nad wpływem mikroklimatu komór klujnikowych na jakość piskląt leżonych w aparatach halowych. *Zesz. Nauk. AR Kraków, Ser. Rozprawy habilitacyjne*, 161.
- NIEDZIÓŁKA J., BORZEMSKA W.B., MALEC H., PAWLAK K. (1998) Effect of artificial electromagnetic fields on chicken embryos and on chicks. *Arch Geflugelkd*, 62: 234-236..
- NIEDZIÓŁKA J., JANOWSKI T.M. (1996a) The effect of weak electromagnetic field (50 Hz) in house incubators on the course of hatching in hens. *Acta Agr. Silv. Ser.Zoot.*, 34: 21-30.
- NIEDZIÓŁKA J., JANOWSKI T.M. (1996b) Badania nad wpływem sztucznych pól elektro-magnetycznych (50 Hz) na przebieg lęgu piskląt. *Acta Agr. Silv. Ser.Zoot.*, 34: 31-37.
- NORDBERG G. F., JIN T., WU X., LU J., CHEN L., LEI L., HONG F., NORDBERG M. (2009): Prevalence of kidney dysfunction in humans – relationship to cadmium dose, metallothionein, immunological and metabolic factors. *Biochimie* 91, 1282-1285.
- NOWACZEWSKI S., KONTECKA H., KRYSZTIANIAK S. (2012) Effect of *in ovo* injection of vitamin C during incubation on hatchability of chickens and ducks. *Folia Biol (Krakow)*, 60:93-97.
- of thyroxine, 3,5,3'-triiodothyronine, free thyroxine, and thyroid-stimulating hormone in healthy dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 67: 599-603.
- OHTA Y., TSUSHIMA N., KOIDE K., KIDD M.T., ISHIBASHI T., 1999. Effect of amino acid injection in broiler breeder eggs on embryonic growth and hatchability of chicks. *Poult. Sci.*, 78:1493-1498.
- OTHA Y., KIDD M.T. (2001) Optimum site *in ovo* amino acid injection in broiler breeders eggs. *Poult. Sci.*, 80:1425-1429.
- PANCIERA D.L., REFSAL K.R., SENNELLO K.A., WARD D.L. (2006) Effects of deracoxib and aspirin on serum concentrations
- PIESTUN Y., SHINDER D., RUZAL M., HALEVY O., BRAKE J., YAHAV S. (2008) Thermal manipulations during broiler embryogenesis: effect on the acquisition of thermotolerance. *Poult. Sci.* 87:1516-1525.

- RASHIDI H, SOTTILE V (2009) The chick embryo: hatching a model for contemporary biomedical research. *Bioessays*, 31:459-465.
- ROELENS S.A., BECK V., MAERVOET J., AERTS G., REYNS G.E., SCHEPENS P., DARRAS V.M. (2005) The dioxin-like PCB 77 but not the ortho-substituted PCB 153 interferes with chicken embryo thyroid hormone homeostasis and delays hatching. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 143, 1-9.
- ROMANOFF A.L. (1960) The avian embryo. Structural and functional development. *MacMillan Co., New York, NY*
- RUPP P.A., FILLA M.B., CUI C., LITTLE C.D. (2008), Avian embryos a model for the study of primary vascular assembly in warm-blooded animals. *Methods in Enzymology*, 445:107-123
- SATARUG S., BAKER J.R., URBENAPOL S., HASWELL-ELKINS M., REILLY E. B., WILIAMS D.J., MOORE M.R. (2003) A global perspective on cadmium pollution and toxicity in nonoccupationally exposed population. *Toxicol. Lett.* 137, 65-83.
- SCANES C. G., MCNABB A. F. (2003). Avian models for toxicological research. *Avian Poult. Biol. Rev.*, 14:21-52.
- SCHEUHAMMER, A.M. (1987) The chronic toxicity of aluminium, cadmium, mercury, and lead in birds: A review. *Environ. Pollut.*, 46: 263-295.
- SHARMA JM, BURMESTER BR. (1982) Resistance to Marek's disease at hatching in chickens vaccinated as embryos with the turkey herpesvirus. *Avian Dis.* 26: 134-149.
- SHARMA JM, BURMESTER BR. (1984) Disease control in avian species by embryonal vaccination. *Patent CA 1215891 A1 (Patent US4458630)*. <http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?CC=CA&NR=1215891A1&KC=A1&FT=D>
- STERN C.D. (2004) The chick embryo – past, present and future as a model system in developmental biology. *Mech. Dev.*, 121: 1011-1013
- STERN C.D. (2005) The chick: a great model system becomes even greater. *Dev Cell*, 8:9-17.
- STILBORN H.L., HARRIS G.C., BOTTJE W.G., WALDROUP P.W. (1988) Ascorbic acid and acetylsalicylic acid (aspirin) in the diet of broilers maintained under heat stress conditions. *Poult Sci.*, 67: 1183-1187.
- THOMPSON, J., DOI, T., POWER, E., BALASUBRAMANIAN, I., PURI, P. AND BANNIGAN, J. (2010): Evidence against a direct role for oxidative stress in cadmium-induced axial malformation in the chick embryo. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 243: 390-398.
- TULLET S.G. (1990) Science and the art of incubation, *Poult. Sci.*, 69:1-15.
- UNI Z. FERKET P.R, TAKO E. KEDAR O. (2005) *In ovo* feeding improves energy status of late-term chicken embryo. *Poult. Sci.*, 84:764-770.
- UNI Z. FERKET P.R. (2004) Methods for early nutrition and their potential. *World's Poult. Sci. J.*, 60: 101-111.
- URICK M.E., GILES J.R., JOHNSON P.A. (2009) Dietary aspirin decreases the stage of ovarian cancer in the hen. *Gynecol. Oncol.*, 112: 166-170.
- VAN DER GEYTEN S., SANDERS J.P., KAPTEIN E., DARRAS V.M., KÜHN E.R., LEONARD J.L., VISSER T.J. (1997) Expression of chicken hepatic type I and type III iodothyronine deiodinases during embryonic development. *Endocrinology*, 13: 5144-5152.
- VANE J.R., BOTTING R.M. (2003) The mechanism of action of aspirin. *Thromb. Res.*, 110: 255-258.
- YASSIN H., VELTHUIS A.G.J., BOERJAN M., VAN RIEL J., HUIRNE R.B.M. (2008) Field study on broiler eggs hatchability. *Poult. Sci.*, 87: 2408-2417.

Kraków, dnia 3. marca 2015

  
dr inż. Marcin W. Lis