



**Raport z przeprowadzonych prac
badawczo-rozwojowych projektu pod tytułem:
Badania przemysłowe i prace rozwojowe w obszarze wykorzystywania wody
poddanej działaniu generatorów plazmy w poprawie/doskonaleniu wyników
użyteczności rozplodowej świń.**

Wykonawca: UNIwersytet PRzyrodniczy WE WROcławiu, KATEDRA IMMUNOLOGII,
PATOFIZJOLOGII I PREWENCJI WETERYNARYJNEJ, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Zamawiający: Nantes - Systemy Nanotechnologii Sp. z o.o., ul. Dolne Młyny 21, 59-700 BOLESŁAWIEC

Informacje zawarte w nim są poufne i stanowią tajemnicę przedsiębiorstwa.

The information contained in it is confidential and constitutes a company secret.

Przekazywanie osobom trzecim oraz podania do wiadomości publicznej w całości lub we fragmencie wymaga zgody przedsiębiorstwa. Więcej informacji na adres: Zdzisław Oszczęda nr.: 503050007, e-mail: oszczeda@nantes.com.pl.



Dolnośląski Bon na Innowacje
Numer projektu: RPDS.01.02.01-02-0002/17
Projekt współfinansowany przez Unię Europejską z EFRR w ramach Działania 1.2C Regionalnego Programu Operacyjnego WD 2014-2020, realizowany przez UMWD i DARR S.A.



Nantes - Systemy Nanotechnologii Sp. z o.o.
realizuje przedsięwzięcie pn.
„Badania przemysłowe i prace rozwojowe w obszarze
wykorzystywania wody poddanej działaniu generatorów plazmy w
poprawie/doskonaleniu wyników użyteczności rozplodowej loch”
dofinansowane z Funduszy Europejskich
w ramach Projektu pn.: „Dolnośląski Bon na Innowacje”

Wartość przedsięwzięcia: 100 880,91 PLN

Dofinansowanie ze środków publicznych:

- Europejski Fundusz Rozwoju Regionalnego: 62 742,75 PLN
- budżet Województwa Dolnośląskiego: 11 072,25 PLN





Informacja jest przeznaczona tylko dla osoby lub podmiotu, do którego została skierowana, zawiera poufne i zastrzeżone treści. Jakiegokolwiek korzystanie z tych danych przez osoby lub podmioty inne niż adresaci jest zabronione. Jeśli otrzymałeś ten komunikat przez pomyłkę, skontaktuj się z nadawcą i usuń te dane z komputera.

This message is intended only for the person or entity to which it is addressed and contain confidential and privileged material. Any use of this information by persons or entities other than the intended recipient is prohibited. If you have received this by error, please contact the sender and delete the material from your computer.

POUFNE



RAPORT (SKRÓCONY)

Wykonano usługę polegającą na opracowaniu nowego i innowacyjnego produktu dla weterynarii oraz hodowców i producentów trzody chlewnej, jakim było dostosowanie urządzeń do obróbki wody za pomocą plazmy oraz przeprowadzono ocenę możliwości aplikacyjnych na podstawie próbnej serii badań na lochach.

Celem badań było ocena wpływu odpajania wodą wodociągową poddaną działaniu generatorów plazmy loch na ich wyniki użytkowości rozrodczej. Lochy miały dostęp do wody doświadczalnej w sektorze krycia od odsadzenia do potwierdzenia skuteczności zabiegu inseminacji.

Badania przeprowadzono w wielkotowarowej fermie trzody chlewnej, objęto nimi lochy z 4 kolejnych grup technologicznych (łącznie 240 sztuk) od momentu odsadzenia od prosiąt do wyproszenia w kolejnym cyklu produkcyjnym. Oceniane były parametry użytkowości rozrodczej loch (m.in. skuteczność inseminacji i wyproszeniowa, liczba prosiąt urodzonych). Dla potwierdzenia wpływu wody doświadczalnej na uzyskiwane wyniki, jak też znalezienia odpowiedzi jak dokładnie/na co ta woda działa przeprowadzone były dodatkowe badania kliniczne oraz pobrana była krew do analiz laboratoryjnych.

W badaniu klinicznym oceniano kondycję loch w skali BCS oraz dodatkowo wykorzystano kamerę termowizyjną i aparat USG. Kamera termowizyjna została wykorzystana do oceny /potwierdzenia optymalnego momentu inseminacji na podstawie odczytanej temperatury zewnętrznej sromu. Badanie USG aparatem Honda Electronics przeprowadzono trzykrotnie: 1) w dniu inseminacji (okres okołoowulacyjny) - przed samym zabiegiem, przeprowadzona będzie ocena jakości pęcherzyków jajnikowych - ich liczba i średnica; 2) w 28-30 dniu po inseminacji - potwierdzona będzie skuteczność inseminacji, a ponadto podjęto próbę policzenia zaimplantowanych zarodków, określona będzie liczba żywych i martwych zarodków; 3) w 60 dniu po inseminacji przeprowadzono ponowną diagnostykę ciąży.

Przed zabiegiem sztucznej inseminacji, od wszystkich loch została pobrana krew z żyły jarzmowej, w celu monitoringu statusu zdrowotnego, metabolicznego oraz profilu hormonalnego, analizującego sprawność owulacji oraz implantacji zarodków.

Prace B+R zakończono raportem zawierającym wstęp, metodologię badań, wyniki oraz ich interpretację oraz opracowaną procedurę stosowania nowego produktu.

Prace zostały przeprowadzone zgodnie z zakładanym harmonogramem i obszarem badawczym otrzymując zakładane wyniki. (Brak odstępstw od przedmiotu zamówienia). Uzyskane wyniki upoważniają do stwierdzenia, że oceniany czynnik doświadczalny wpłynął przede wszystkim na skuteczność inseminacji i utrzymanie ciąży w pierwszym okresie tj do momentu implantacji zarodków. Informacje wskazujące na wymierne korzyści ekonomiczne rozwiązania są obiecujące do wdrożenia oraz prowadzenia dalszych badań nad wyjaśnieniem mechanizmów oddziaływania wody poddanej działaniu generatorów plazmy na organizm zwierząt, szczególnie sztuk rozplodowych.

Raport sporządziła

dr hab. Anna Rząsa, prof.nadzw

Wrocław, 10.12.2018 r

Raport z przeprowadzonych prac:

Badania przemysłowe i prace rozwojowe w obszarze wykorzystywania wody poddanej działaniu generatorów plazmy w poprawie/doskonaleniu wyników użyteczności rozplodowej świń.

Badania przeprowadzono w fermie towarowej trzody chlewnej zgodnie z przyjętymi wcześniej założeniami. Po zainstalowaniu na fermie aparatu, w którym woda wodociągowa poddawana była działaniu generatorów plazmy i następnie podłączeniu go do jednego rzędu kojców indywidualnych (a konkretnie poidła smoczkowych), do których wprowadzane są na fermie lochy po odsadzeniu, odczekano do opróżnienia całego rzędu (zwykle są tam lochy z dwóch grup technologicznych) i 5 lipca 2018 r rozpoczęto właściwe obserwacje. Lochy przebywające w kojcach indywidualnych, w oddziale gdzie zainstalowano aparaturę wytwarzającą doświadczalną wodę, miały dostęp tylko do tej wody. Co tydzień naprzemiennie włączano do grupy badawczej lochy doświadczalne "Nano" (grupa 2) – mająca dostęp w poidłach smoczkowych tylko do wody doświadczalnej oraz kontrolne (grupa 1) – mające dostęp w poidłach smoczkowych tylko do zwykłej wody wodociągowej. Lochy z obu grup ze względu na dopływ wody poddanej działaniu generatorów plazmy w całym rzędzie kojców pojedynczych, znajdowały się w dwóch różnych oddziałach sektora rozrodu na fermie. Jeśli lochy nie były skutecznie pokryte to wyłączano je z dalszych badań, nawet gdy ponownie znalazły się wśród zwierząt objętych obserwacjami. Lochy w kojcach indywidualnych przebywały od dnia odsadzenia prosiąt do potwierdzenia skuteczności inseminacji (około 5 tygodni) i to był okres bezpośredniego oddziaływania czynnika doświadczalnego jakim był dostęp do picia wodą poddaną działaniu generatorów plazmy.

W dniu inseminacji przeprowadzano ocenę kondycji loch metodą BCS w skali 5-punktowej, następnie kamerą termowizyjną robiono zdjęcie pochwy każdej lochy. Badania narządu płciowego przeprowadzono aparatem Honda Electronics przy pomocy sektorowej, abdominalnej głowicy typu convex o częstotliwości 5 MHz. Badania ultrasonograficzne

przeprowadzano w kojcach, w których przebywały samice z zachowaniem sztuki lekarsko-weterynaryjnej oraz dobrostanu zwierząt. Na głowicę ultrasonografu наносono niewielką ilość żelu, sondę przykładano do ciała lochy pod fałdem kolanowym, a ponad gruczołem mlekowym, w kierunku dogłowym na kręgosłup zwierzęcia. W czasie pierwszego badania, które wykonywano przed zabiegiem sztucznej inseminacji, oceniano stan jajników. Po zlokalizowaniu jajnika rejestrowano na nim liczbę oraz średnicę pęcherzyków jajnikowych. Pęcherzyki zaliczano do grupy: małych, średnich oraz dużych. Wynik badania każdej lochy odpowiednio kodowano oraz rejestrowano w pamięci urządzenia w formie osobnego pliku graficznego (Zdj.3, 4). Czas trwania badania ultrasonograficznego jednej lochy na tym etapie wynosił około 7-8 minut. Po wypełnieniu pamięci własnej ultrasonografu, wszystkie pliki zgrywano na osobny pendrive, w celu dalszej oceny i weryfikowania zebranych danych.

Następnie od 10 loch z jednej grupy technologicznej (w 4 powtórzeniach) pobierano krew z żyły jarzmowej do analiz laboratoryjnych. W dalszej kolejności przeprowadzany był zabieg sztucznej inseminacji przez pracownika ферmy.

Drugie badanie ultrasonograficzne każdej lochy biorącej udział w doświadczeniu wykonywano po 28 – 30 dniach od inseminacji. W tym badaniu oceniano skuteczność inseminacji, a mianowicie obecność rozwijających się pęcherzyków zarodkowych z embrionami. Ocenie poddawano liczbę prawidłowych zarodków w każdym rogu macicy. Odnotowywano ponadto wszelkie patologie, takie jak zamieranie zarodków oraz ronienia. Badanie każdej lochy trwało od 5 do 10 minut.

Po potwierdzeniu skuteczności inseminacji lochy przeprowadzane były do kojców grupowych gdzie miały już dostęp tylko do zwykłej wody wodociągowej. Trzecie badanie narządu płciowego loch wykonywano w 60. dniu po inseminacji. Badanie to miało na celu kolejne potwierdzenie obecności oraz rozwoju potwierdzonej uprzednio ciąży (Zdj.5). Określano liczbę płodów oraz ich żywotność. Badanie każdej lochy trwało od 5 do 10 minut.

Po wstępnej analizie pierwszych oznaczeń hormonów postanowiono pobrać jeszcze dodatkowo krew do oznaczenia koncentracji progesteronu w dniu potwierdzenia ciąży (od loch skutecznie pokrytych) czyli po zakończonym procesie implantacji. Pierwsza locha z grupy kontrolnej oprosiła się 27 października, a ostatnia z grupy "Nano" 26 listopada 2018 r.

Analizy laboratoryjne

W laboratorium Katedry Rozrodu z Kliniką Zwierząt Gospodarskich w surowicy krwi oznaczono stężenia progesteronu i estradiolu z wykorzystaniem komercyjnych testów firmy Biomerieux: VIDAS PROGESTERONE i VIDAS ESTRADIOL.

Pozostałe oznaczenia laboratoryjne przeprowadzono w Laboratorium Zakładu Immunologii i Prewencji Weterynaryjnej. W pełnej krwi oznaczono koncentrację fibrynogenu metodą kapilarową. W surowicy krwi oznaczono korzystając z komercyjnych zestawów: haptoglobinę (ImmunoGen Polska HAPT-9); surowiczy amyloid A (ImmunoGen Polska TP-802); leptynę (Biokom ELISA Kit for Leptin), status antyoksydacyjny (Biokom, Antioxidant Assay), katalazę (Biokom, Catalase Assay Kit).

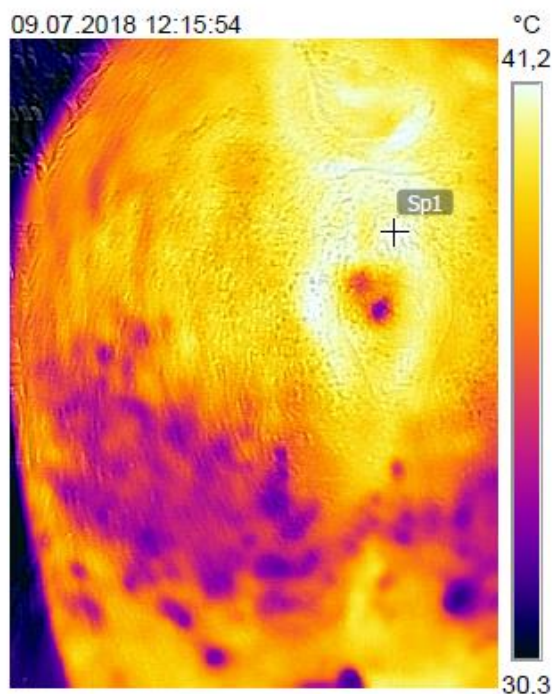
Zebrany materiał liczbowy poddano analizie statystycznej metodą analizy wariancji przy wykorzystaniu pakietu statystycznego STATISTICA 10,0, istotność różnic oszacowano testem NIR, weryfikując wyniki testem Tukeya.

Wyniki produkcyjne

Lochy wchodzące do doświadczenia były średnio w 2,74 oproszeniu. W grupie kontrolnej było 13 pierwiastek, a w doświadczalnej 12. Zabieg sztucznej inseminacji przeprowadzano zwykle w 5-6 dniu po odsadzeniu. W dniu inseminacji wszystkim lochom robiono wpierw zdjęcie kamerą termowizyjną, a następnie przeprowadzano ocenę kondycji w skali 5-cio punktowej. Pomiary w najcieplejszym punkcie sromu zdejmowano przy pomocy programu komputerowego Flir Tools. Poniżej przedstawiono dwa przykładowe termogramy lochy, która zaszła w ciążę (Zdj.1) oraz takiej gdzie zabieg inseminacji się nie powiódł (Zdj.2). Wyniki badań termowizyjnych potwierdzają wystąpienie rui u loch. Wszystkie lochy, u których odczytano temperaturę niższą niż 37,5⁰, nie zaszły w ciążę. Badanie kamerą termowizyjną może być wykorzystane bezpośrednio przed zabiegiem sztucznej inseminacji dla potwierdzenia zasadności jego przeprowadzenia.

Wszystkie lochy były w bardzo dobrej kondycji rozplodowej - średnio 2,84 pkt. Różnica między grupą kontrolną (1) a doświadczalną (2) wyniosła tylko 0,14 pkt. (Wyk.1).

Pomiary		°C
Sp1	40,8	
Parametry		
Emisyjność	0.9	
Temp. odbita	22 °C	
Geo-lokalizacja		
Kompas	0° Pn	
Lokalizacja	N 50° 57' 51,25", E 17° 2' 26,29"	
	http://maps.google.com?z=17&t=k&q=50.9642,17.0406	
Komentarz		
Locha w rui		



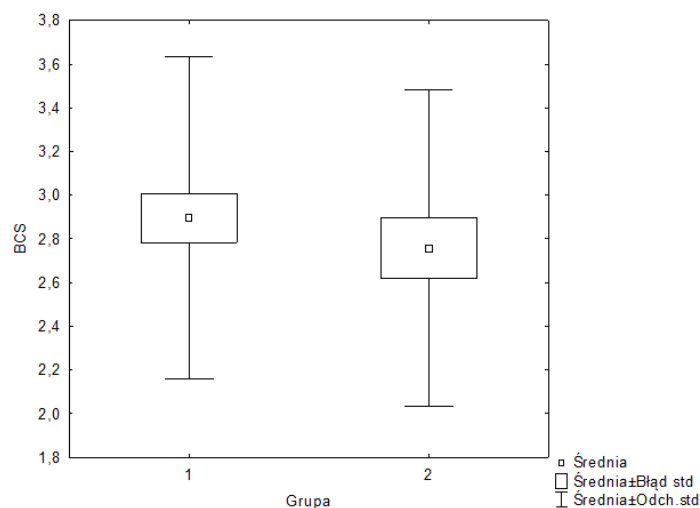
Zdj.1. Termogram lochy, która została skutecznie zainseminowana.

Pomiary		°C
Sp1	37,4	
Parametry		
Emisyjność	0.9	
Temp. odbita	22 °C	
Geo-lokalizacja		
Kompas	0° Pn	
Lokalizacja	N 50° 58' 28,50", E 17° 3' 48,52"	
	http://maps.google.com?z=17&t=k&q=50.9746,17.0635	
Komentarz		
Brak rui		

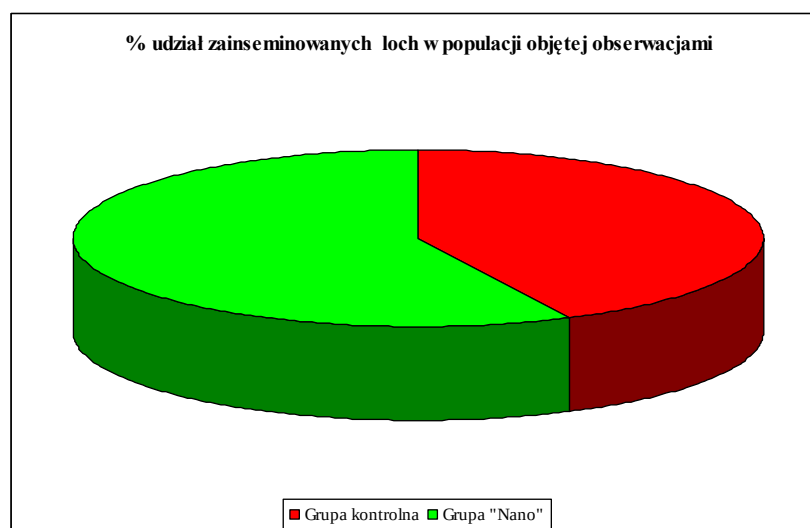


Zdj.2. Termogram lochy, która nie została skutecznie zainseminowana w dniu przeprowadzania badań

Wyk.1. Średnia kondycja loch w dniu inseminacji (pkt).



Odruch tolerancji w czasie wyszukiwania loch w rui (na fermie wyszukiwanie i sam zabieg inseminacji przeprowadzane są w obecności knura stojącego naprzeciw loch) wykazało 100% loch z grupy "Nano", a w grupie kontrolnej 86,36% loch. Różnica 13,63% między grupami okazała się być istotną statystycznie ($P \leq 0,05$). Ponad 13% loch z grupy kontrolnej nie zostało pokryte w optymalnym czasie po odsadzeniu co spowodowało konieczność ich przemieszczenia do kolejnej grupy technologicznej (kolejnej grupy „w kryciu”). Wiąże się to z destabilizacją liczebności grup co wpływa na pogorszenie możliwości optymalnego wykorzystania kojców porodowych przez daną grupę technologiczną (kojce te są zawsze najdroższe w utrzymaniu i powinny być w pełni wykorzystane, jeśli zbyt dużo loch „wypada” z grupy technologicznej to może to skutkować pozostawianiem nieobsadzonych kojców w sektorze porodowym lub by temu przeciwdziałać wprowadza się lochy z kolejnych grup co skutkuje dużym rozłożeniem w czasie porodów bądź nie przestrzeganiem zasady całe pomieszczenie puste-całe pomieszczenie pełne. To z kolei może skutkować pogorszeniem warunków w sektorze porodu i obniżeniem statusu zdrowotnego odchowywanych prosiąt). Na wykresie przedstawiono procentowy udział inseminowanych loch z obu grup w całej populacji objętej obserwacjami (Wyk.2) .



Przed inseminacją oceniono jakość pęcherzyków Graffa na jajniku lewym i prawym, przyjmując, że pęcherzyki duże to takie, które mają średnicę większą niż 5 mm, średnie między 3 a 5 mm, a małe poniżej 3 mm, uwzględniono również ciała krwotoczne. Ocenę tą należy potraktować tylko poglądowo gdyż nie jest możliwą fizyczna ocena wszystkich pęcherzyków w typowych warunkach terenowych. Ich widoczność/ekspozycja zależy m.in. od postawy lochy, wypełnienia przewodu pokarmowego i pęcherza moczowego. Tym niemniej na podstawie przeprowadzanej oceny można wyciągnąć wstępne wnioski dotyczące zbliżającej się lub już trwającej/zakończonej owulacji i gotowości lochy do inseminacji (wykresy 3-8). Wykresy te (każdy z osobna) pozwalają porównać w parze (jajnik prawy i lewy) lochy z obu grup.

U loch w okresie po odsadzeniu obserwuje się niejednorodność pęcherzyków jajnikowych wyrażającą się zmiennością ich wielkości (średnicy) oraz ich liczby na jajnikach. Na tę heterogeniczność pęcherzyków jajnikowych główny wpływ wywiera temperatura otoczenia, bilans energii w okresie laktacji, krotkość porodu oraz ogólna kondycja organizmu. Udowodniono korelację wymienionych aspektów zoohigienicznych i produkcyjnych z liczebnością oraz wielkością pęcherzyków jajnikowych u loch. Za mniejszą średnicę oraz mniejszą liczbę dużych pęcherzów jajnikowych u tego gatunku, odpowiada przede wszystkim ujemny bilans energetyczny w czasie laktacji, stres, pierwszy poród, nieprawidłowa temperatura w środowisku oraz zła kondycja organizmu. W konsekwencji wielkość pęcherzyka jajnikowego

wpływa istotnie na wskaźniki rozrodu świń: długość okresu od odsadzenia do rui, wskaźnik zapłodnień, długość trwania rui oraz momentu wystąpienia jajczkowania. Niejednorodność pęcherzyków jajnikowych, przejawiająca się niską liczbą pęcherzyków o średnicy ponad 5 mm, a wysoką o średnicy do 2 mm, może manifestować się zróżnicowanym rozwojem i dojrzewaniem oocytów, zmienną odpowiedzią na wydzielanie hormonów gonadotropowych (FSH i LH), słabym rozwojem zarodka, jego różnicowaniem oraz przeżywalnością, obniżeniem wskaźnika zapłodnień, rozwojem cyst na jajnikach, oraz wytwarzaniem ciałek żółtych o obniżonej aktywności. Prawidłowa regulacja hormonalna na osi podwzgórza – przysadka – jajniki manifestuje się obecnością na gonadach pęcherzyków średnich oraz dużych. Obecność wymienionych pęcherzyków jest gwarancją wystąpienia rui, owulacji, zapłodnienia oraz nidacji (zagnieżdżania) zarodków.

U loch w grupie kontrolnej na obydwu jajnikach stwierdzono w sumie 298 pęcherzyków „dużych” (o średnicy powyżej 5 mm), co stanowi 11,5 pęcherzyka na lochę oraz 86 pęcherzyków średnich „medium” (o średnicy od 3 do 4 mm), co stanowi 3,3 pęcherzyka na lochę. Ciałek krwotocznych stwierdzono w tej grupie samic 93, co stanowi 3,5 na jedno zwierzę.



Zdj.3. Jajnik z pęcherzykami dużymi

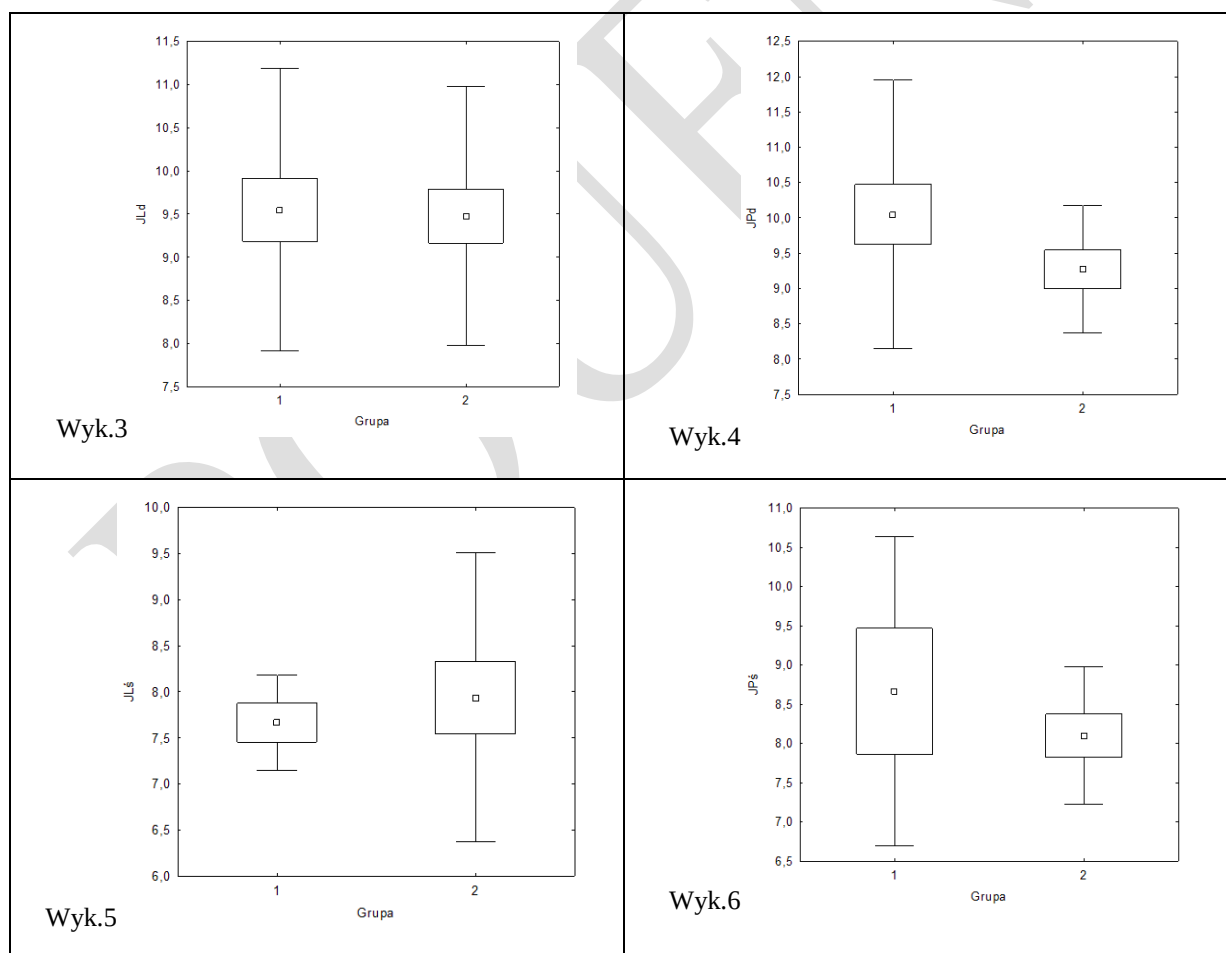


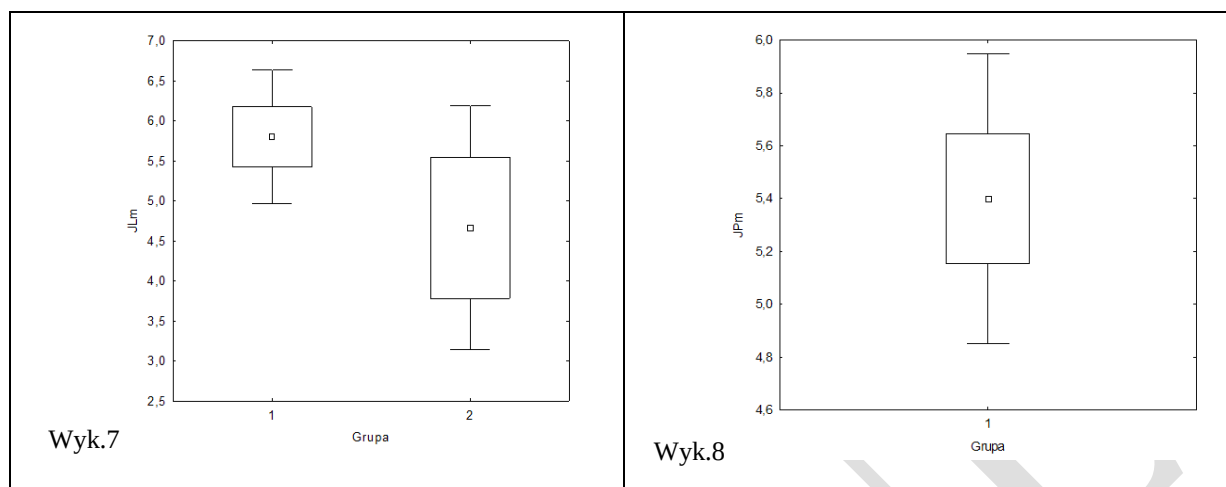
Zdj.4. Jajnik z pęcherzykami średnimi

Wśród loch grupy doświadczalnej stwierdzono 421 pęcherzyków jajnikowych dużych, 292 średnich oraz 28 ciałek krwotocznych. Daje to, odpowiednio: 11,01; 7,68 i 0,77 wymienionych fizjologicznych tworów na lochę.

Mniejsza liczba, a nawet brak (jajnik prawy) pęcherzyków małych u loch odpajanych wodą poddaną działaniu generatorów plazmy może być dobrym prognostykiem prawidłowego rozwoju wymienionych wcześniej procesów fizjologicznych. Większa liczba ciałek krwotocznych na jajnikach loch w grupie kontrolnej informuje o przedwczesnej lub przyspieszonej owulacji, co może prowadzić do obniżenia liczby zapłodnionych komórek jajowych, a w konsekwencji do obniżenia efektywności rozrodu. U loch z grupy doświadczalnej proces owulacji przebiegał bardziej jednorodnie, o czym świadczy niższa liczba ciałek krwotocznych na jajnikach w dniu zabiegu sztucznej inseminacji.

Wyk.3-8 Liczba pęcherzyków dużych (d), średnich (ś) i małych (m) na jajniku lewym (JL) i prawym (JP) w grupie 1(kontrolnej) i 2 (doświadczalna - "Nano").

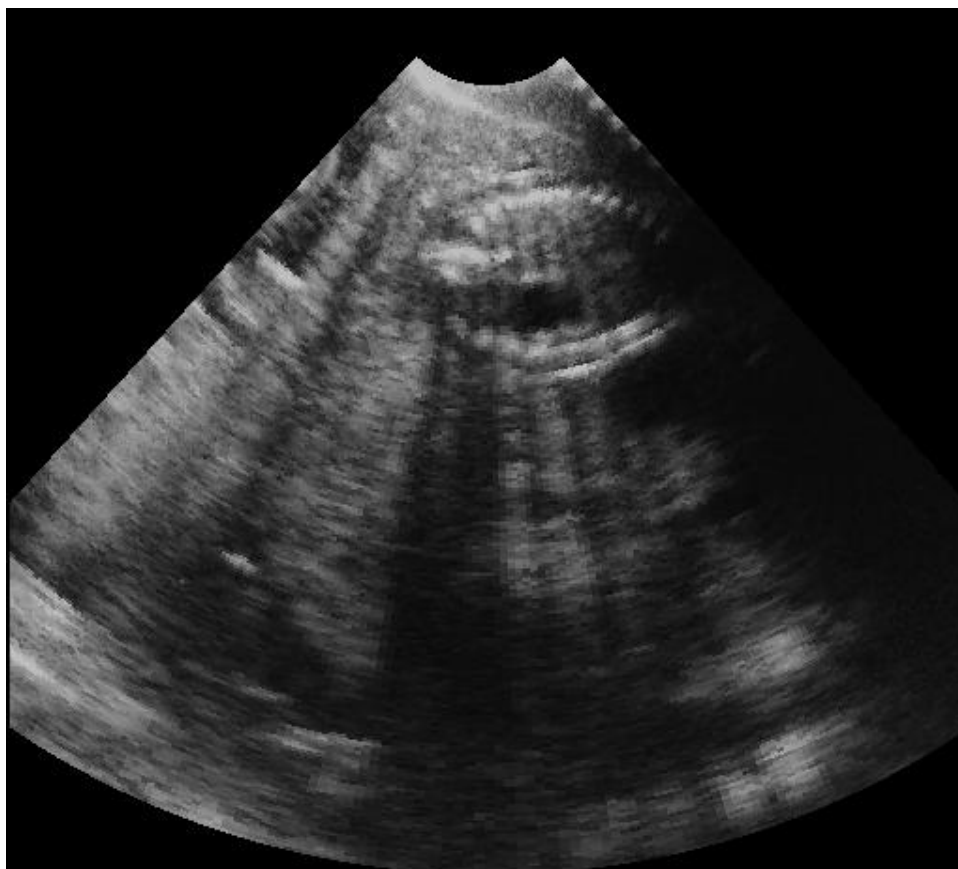




Przeprowadzona między 28 a 30 dniem po inseminacji ocena jej skuteczności wykazała, że prośnych było, odpowiednio: 86,36 i 98% loch z grupy kontrolnej i "Nano", spośród tych, które wykazały odruch tolerancji i zostały zainseminowane (Wyk.9). Przy okazji tej oceny aparatem USG podjęto się też próby zliczenia prawidłowych pęcherzyków zarodkowych w prawym i lewym rogu macicy (Wyk.10-11). W grupie kontrolnej stwierdzono średnio u jednej lochy w macicy 17,18 zarodków, a w grupie doświadczalnej 16,08. Różnica między grupami wyniosła tylko 1,1. Wynik ten należy traktować orientacyjnie, przy takiej różnicy ważniejszą jest weryfikacja na podstawie liczby urodzonych prosiąt.

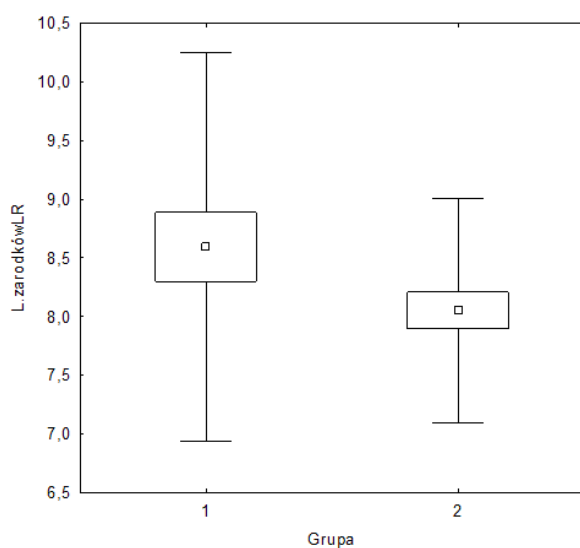
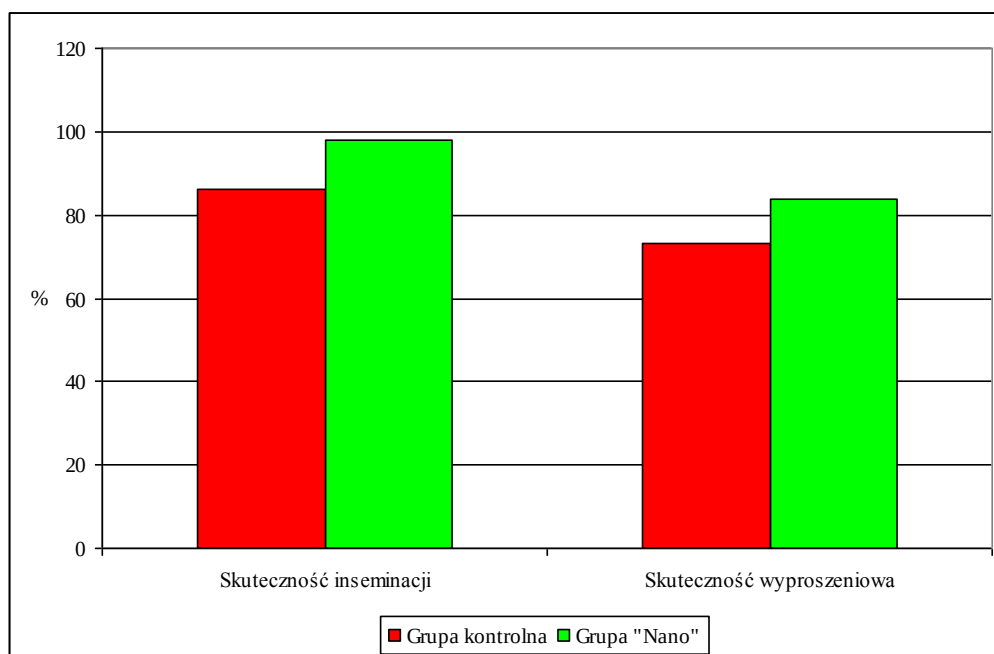
Skuteczność wyproszeniowa (tj. procent loch, które się wyprosiły spośród tych, u których wcześniej zdiagnozowano ciążę, brak wyproszenia to efekt późnej aborcji z różnych przyczyn – nastąpiło to w czasie gdy lochy przebywały w kojcach grupowych, w zaawansowanej ciąży, nie miały wówczas dostępu do wody doświadczalnej) (Wyk.9) oceniona po zakończeniu wyproszeń wyniosła odpowiednio 73 i 84 % w grupie kontrolnej i "Nano". W grupie kontrolnej od momentu uformowania grupy po odsadzeniu prosiąt do dnia oproszenia ubyło z grupy wskutek braku wystąpienia rui bądź poronienia (zarówno na etapie wczesnej jak i późnej ciąży) 32% loch, grupie "Nano było to prawie dwa razy mniej (17%) i wszystkie "straty" w tej grupie wystąpiły po potwierdzeniu ciąży i przejściu loch do koić grupowych gdzie wszystkie zwierzęta były traktowane tak samo, tzn. nie miały już dostępu do nanowody. Utrzymanie stabilności liczebnej w grupie technologicznej jest bardzo ważne, o czym wspomniano już wcześniej. Istotnie wpływa to na koszty i efektywność produkcji. Z jednej strony efektywniej jest wykorzystywana pasza dla loch (możliwie krótko są one „nieprodukcyjne”, oczekuje się, że locha na fermie powinna być w ciąży lub karmić prosięta), nie jest wydłużony okres jałowienia bądź unika się strat związanych z nieplanowanym brakowaniem loch z powodu ich niepłodności. Z drugiej zaś, co wydaje się istotniejsze, można racjonalniej planować remont stada (nie ma wymuszonego wprowadzania loszek do krycia, ich większy udział związany jest z obniżeniem średniej liczby prosiąt uzyskiwanych od lochy na fermie w ciągu roku), utrzymując prawidłową

strukturę wiekową stada podstawowego. Wydaje się, że dostęp do wody poddanej działaniu generatorów plazmy istotnie wpływa na tą stabilność co potwierdzają uzyskane wyniki, tzn przejście wszystkich loch z grupy „Nano”, które zostały zainseminowane do kojców grupowych czyli do kolejnej grupy technologicznej. Około 75 dnia ciąży ponownie zweryfikowano za pomocą aparatu USG prośność loch (Zdj.5).

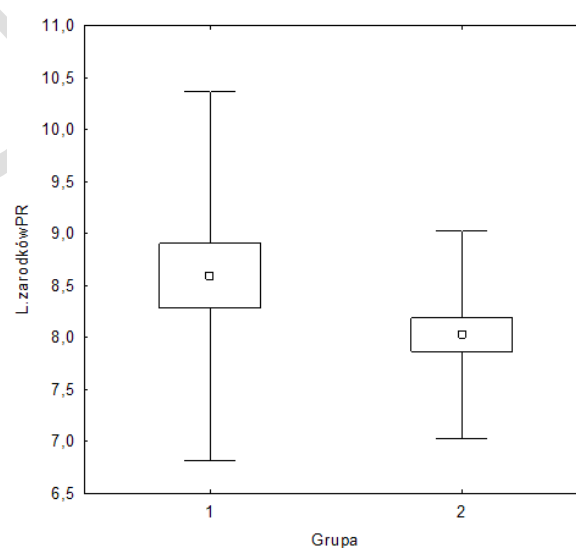


Zdj. 5. Widoczny płód w 75 dniu ciąży.

Wyk.9. Skuteczność inseminacji oraz wyproszeniowa.



Wyk.10 Średnia liczba zarodków w lewym rogu macicy



Wyk.11. Średnia liczba zarodków w prawym rogu macicy

Średnia płodność loch objętych obserwacjami to 14,11 szt. (Tab.1). W miotach loch z grupy kontrolnej było średnio o niecałe pół sztuki więcej, i o tyle samo więcej martwych prosiąt urodziło się w tej grupie. Wyniki uzyskane w grupie doświadczalnej wydają się być bardziej pożądane. Mniejsze zróżnicowanie tego parametru (liczba żywo urodzonych prosiąt) wyrażone standardowym odchyleniem w obrębie grupy, jak i mniejszy rozrzut między minimum a maksimum wiąże się z mniejszym zróżnicowaniem masy ciała prosiąt w obrębie miotu, co już przekłada się na większe prawdopodobieństwo ich przeżywalności w czasie dalszego odchowu przy matkach. Gdy rodzi się ich nie więcej niż locha ma gruczołów sutkowych to zapewnienie im dobrych warunków w czasie odchowu przy matkach nie nastręcza z reguły większych problemów, nawet gdy trzeba przeprowadzić zabieg standaryzacji miotów. Obecnie przy coraz bardziej plennych lochach wiodącym celem nie jest samo zwiększenie liczby urodzonych prosiąt w miocie, ale pozyskanie osobników witalnych, o masie ciała wyższej niż 1 kg przy urodzeniu.

Tab.1 Średnia liczba żywo i martwo urodzonych prosiąt w populacji objętej obserwacjami.

Liczba prosiąt		Grupa kontrolna	Grupa Nano	Ogółem
- żywo urodzonych	x	14,36	13,92	14,11
	±	3,5	2,24	2,82
	min-max	8-22	9-19	8-22
- martwo urodzonych	x	1,94	1,44	1,69
	±	1,1	0,51	0,88
	min-max	1-4	1-2	1-4

Wyniki badań laboratoryjnych

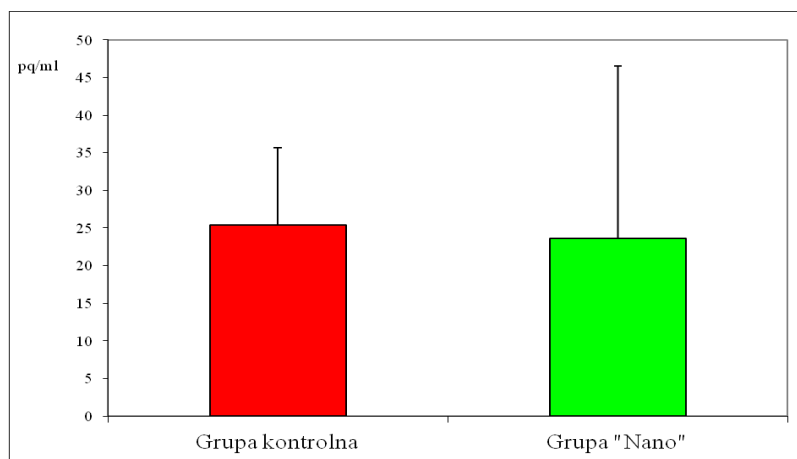
Hormony: estradiol i progesteron

W surowicy krwi pobranej w dniu inseminacji oznaczono koncentrację estradiolu (Wyk.12) i progesteronu (Wyk. 13) dla oszacowania "gotowości" loch do zapłodnienia. Po owulacji z pęcherzyka powstaje ciało żółte, które jest odpowiedzialne za syntezę i sekrecję progesteronu, a ten z kolei warunkuje implantację zarodka w błonie śluzowej macicy. W pierwszym okresie rozpoznania ciąży (faza pływającego zarodka - od zapłodnienia do implantacji) zarodki świni wydzielają duże ilości estrogenów, których zadaniem jest ochrona ciała żółtego przed luteolitycznym działaniem prostaglandyny F2 α . Oznaczając te hormony w dniu inseminacji oczekiwano wyższych koncentracji estradiolu oraz niższych progesteronu. Koncentracja estradiolu była podobna w obu grupach, w zakresach zbliżonych do rekomendowanych w literaturze tematu. Koncentracja progesteronu była niższa w grupie "Nano" w porównaniu do kontrolnej co może być związane z tym, iż u tych loch owulacja miała się

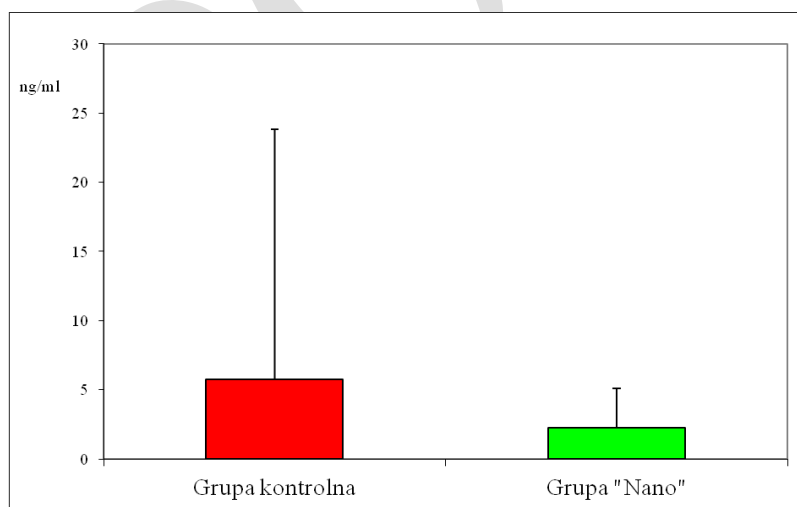
dopiero zacząć, bądź zaczynała. Znajduje to potwierdzenie w odnotowanej wyższej skuteczności inseminacji w grupie Nano.

Dla potwierdzenia tych spostrzeżeń dodatkowo wprowadzono oznaczenie koncentracji progesteronu po zakończonym okresie implantacji (zazwyczaj ma to miejsce między 16 a 25 dniem po zapłodnieniu), w dniu kiedy potwierdzano skuteczność inseminacji (Wyk. 14). Oznaczone średnie stężenia tego hormonu były zbliżone w obu grupach, nieznacznie wyższą wartość odnotowano w grupie Nano, co może świadczyć w wyższej funkcjonalności ciałek żółtych na jajnikach w tej grupie loch.

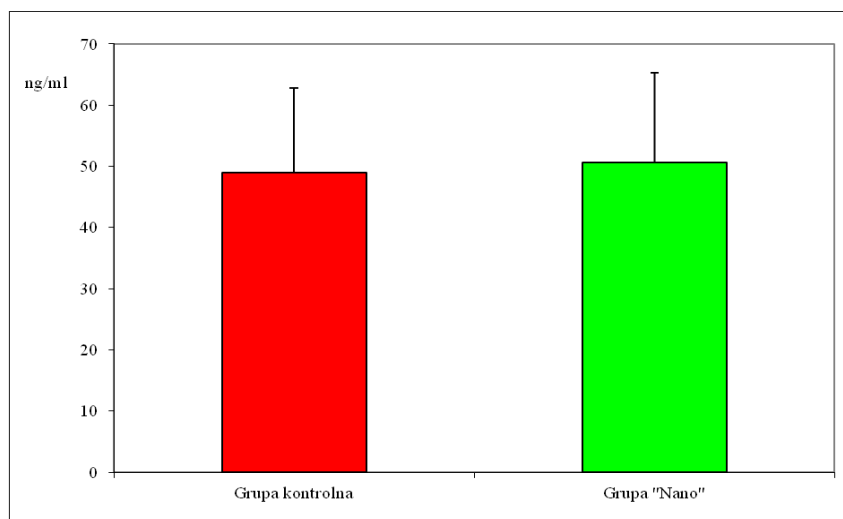
Wyk. 12. Średnia koncentracja estradiolu w populacji objętej obserwacjami w dniu inseminacji



Wyk.13 Średnia koncentracja progesteronu w populacji objętej obserwacjami w dniu inseminacji

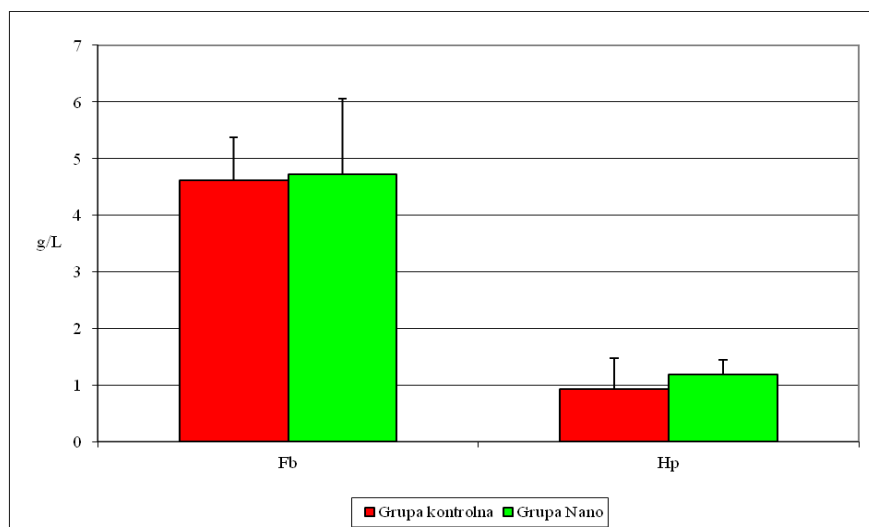


Wyk.14 Średnia koncentracja progesteronu w populacji objętej obserwacjami w 30 dniu po inseminacji.

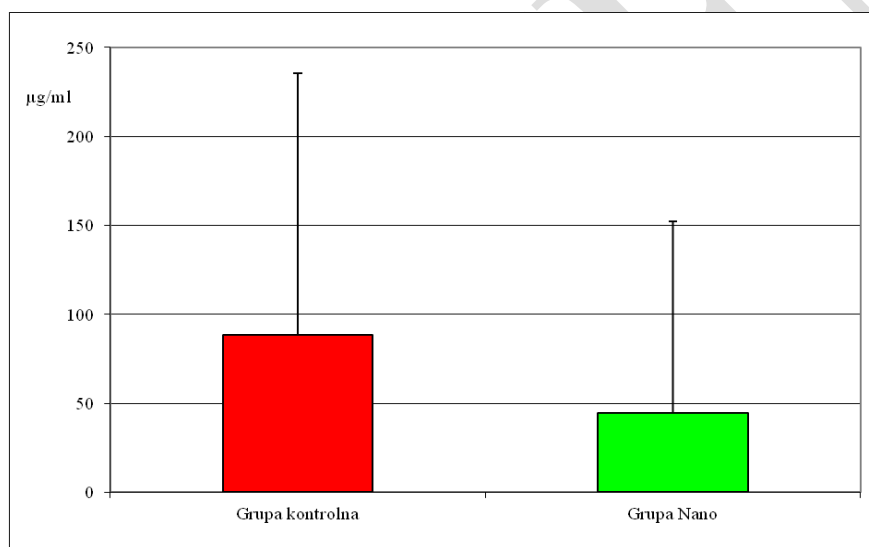


Białka ostrej fazy

Dla oceny statusu zdrowotnego jak i pobudzenia immunologicznego w pełnej krwi (fibrynogen - Fb) oraz surowicy (haptoglobina - Hp, surowiczy amyloid A - SAA) oznaczono koncentracje wybranych białek ostrej fazy (Wykresy 15-16). Średnie koncentracje wszystkich białek (wolno jak i szybko reagujących) mieściły się w zakresie referencyjnym, co potwierdza dobry stan zdrowia loch. Odnotowano bardzo duże zróżnicowanie osobnicze dla koncentracji SAA (wartość odchylenia standardowego znacznie przekracza średnie stężenia tego białka) w obu grupach eksperymentalnych. Fakt, iż u pojedynczych osobników oznaczono koncentrację tego białka powyżej zakresu referencyjnego, a u wielu nie udało się go oznaczyć może potwierdzać większe pobudzenie immunologiczne tych loch w związku z przebiegającą lub dopiero co zakończoną owulacją. SAA jest białkiem szybko reagującym, jego koncentracja wzrasta już po 3 godzinach od zadziałania bodźca indukującego jego syntezę, którym może też być rozpoczynająca się owulacja. Stwierdzona sytuacja jest zjawiskiem fizjologicznym i zwłaszcza w odniesieniu do oznaczonych koncentracji białek wolno reagujących potwierdza przedstawione wyjaśnienia.



Wyk.15. Średnia koncentracja Fb i Hp w populacji objętej obserwacjami w dniu inseminacji.



Wyk.16. Średnia koncentracja SAA w populacji objętej obserwacjami w dniu inseminacji.

Status oksydacyjny

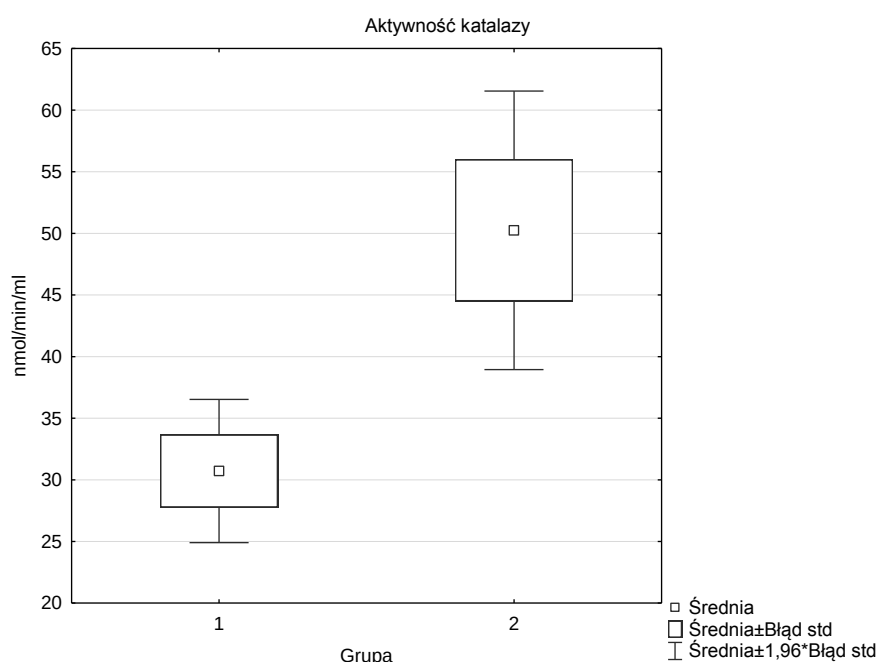
Utrzymanie równowagi redukcjno-oksydacyjnej jest bardzo ważnym aspektem przy ocenie homeostazy organizmu, która wyraża się m.in. prawidłowym przebiegiem procesów życiowych (jak np. biosynteza niektórych hormonów, regulacja i różnicowanie się wielu komórek) oraz możliwościami obrony przed różnymi patogenami. Równowaga ta może być zaburzona gdy w wyniku przemian tlenowych powstanie zbyt wiele reaktywnych form tlenu (RFT), a wśród nich wolne rodniki tlenowe. Organizm broni się przed tym nadmiarem stwarzając różne bariery (enzymatyczne bądź nieenzymatyczne, wykorzystując przy tym substancje pochodzenia endogenne jak i egzogenne) nie dopuszczając do reakcji RFT ze związkami biologicznie czynnymi, przerywając te reakcje bądź naprawiając ich skutki. Pełna ocena statusu antyoksydacyjnego w warunkach terenowych jest niemożliwa, stąd próby wykorzystania różnych testów mierzących status oksydacyjny na podstawie oceny stopnia peroksydacji lipidów czy wprost koncentracji malonyldialdehydu. Można też oznaczać enzymy biorące udział w obronie enzymatycznej: dysmutazę ponadtlenkową, katalazę bądź peroksydazę glutationową.

W badaniach własnych wykorzystano test antyoksydacyjny firmy Cayman Chemical, w którym oznacza się ekwiwalent potencjału przeciwutleniającego troloksu w reakcji z wolnym rodnikiem ABTS. Metoda ta polega na wygaszaniu przez przeciwutleniacze charakterystycznego, długofalowego pasma absorpcji kationorodnika ABTS (sól diamonowa). Niestety nie udało się uzyskać miarodajnych wyników (odczytać absorbancji), mimo iż wszystkie oznaczenia przeprowadzono zgodnie z metodyką zalecaną przez producenta testu. Oznaczenia powtórzono trzykrotnie.

Przeprowadzono też ocenę statusu oksydacyjnego poprzez oznaczenie aktywności katalazy (Wyk.17). Katalaza uczestniczy głównie w unieczynnieniu nadtlenu wodoru przekształcając go do tlenu cząsteczkowego i wody, odgrywa szczególną rolę w metabolizmie erytrocytów, które są narażone na działanie dużych stężeń tlenu. W wielu badaniach dowiedziono, że nadmierna produkcja RFT ma niekorzystny wpływ na przebieg ciąży oraz zdrowie matki i płodu. Może być przyczyną ronień, zamierania zarodków i ich resorpcji, w dalszej konsekwencji rodzenia się słabych noworodków, często z wadami.

Średnia aktywność katalazy wyrażona w nmol/min/ml w grupie kontrolnej wyniosła 30,7, a w doświadczalnej 63,6. Różnica 32,65 między grupami okazała się być wysoko istotną statystycznie ($P \leq 0,01$). Otrzymany wynik (surowica z dnia inseminacji) wyraźnie koreluje ze stwierdzoną w prezentowanych badaniach skutecznością inseminacji (różnice również istotne statystycznie) jak i utrzymaniem niskiej ciąży (do dnia przegrupowania loch i przeprowadzenia do kojców grupowych). Wyższą aktywność katalazy można wytłumaczyć wprost obecnością większej ilości wolnych rodników, co mogłoby być niekorzystnym zjawiskiem. Łączna

interpretacja wyników badań własnych skłania do wytłumaczenia tej wyższej aktywności w grupie doświadczalnej 2 ("Nano") nieco inaczej. Obecność substancji antyoksydacyjnych hamuje postęp procesów oksydacyjnych pozwalając na dalszy prawidłowy rozwój oocytów, a później zarodków. Do takiej interpretacji upoważnia stwierdzenia w badaniach własnych wyższa skuteczność inseminacji w grupie doświadczalnej („Nano”).



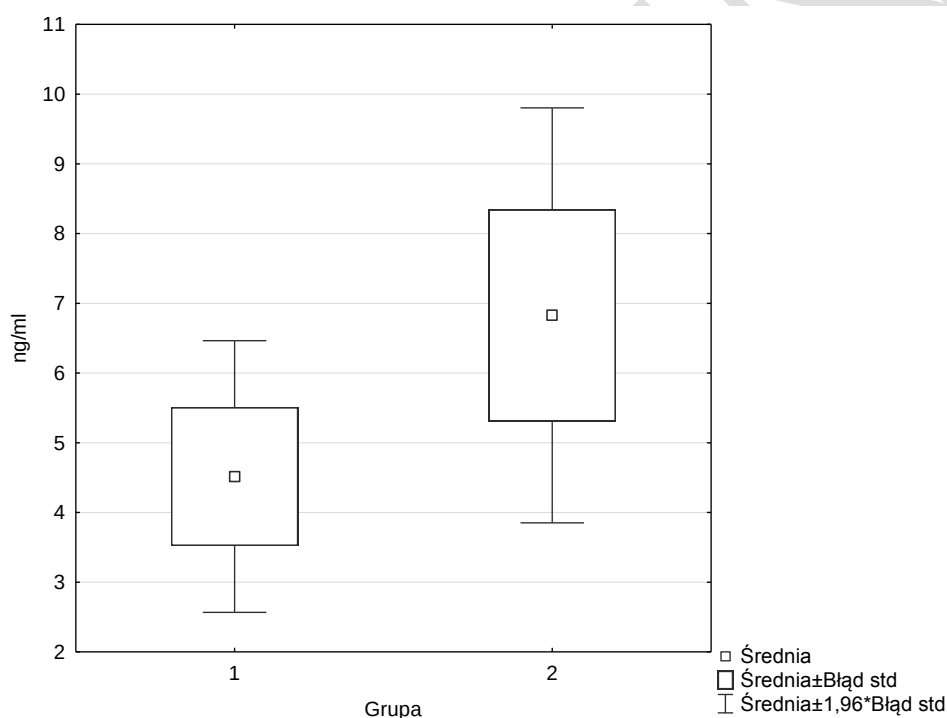
Wyk. 17. Średnia aktywność katalazy w surowicy loch w dniu inseminacji.

Leptyna

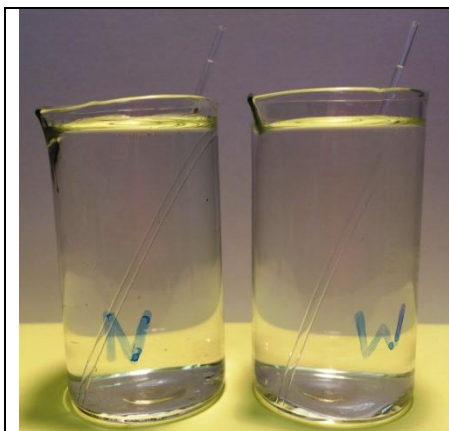
Leptyna jest hormonem wykazującym wielostronne działanie, przede wszystkim oddziałuje na ośrodki kontrolujące apetyt zwierząt jak i na procesy rozrodcze. Jej stężenie w surowicy jest zwykle wprost proporcjonalne do ilości odłożonej tkanki tłuszczowej, ale na jej koncentrację wpływa też nawet krótkotrwała zmiana diety/ilości przyjmowanej paszy, co ma zazwyczaj miejsce podczas stymulacji flushingowej loch po odsadzeniu. Wraz ze spadkiem koncentracji leptyny spada też sekrecja hormonów LH i GH, choć te zmiany występują po kilku dniach. Potwierdzono wpływ leptyny na wznowienie cykliczności jajników po odsadzeniu.

W badaniach własnych średnia koncentracja leptyny w surowicy krwi w dniu inseminacji u loch kontrolnych wyniosła 4,51 ng/ml (Wyk.18). W grupie doświadczalnej było to o 2,31 ng/ml więcej. Różnica ta nie została potwierdzona statystycznie, prawdopodobnie ze względu na

większe zróżnicowanie osobnicze badanych samic z grupy doświadczalnej. Jednak wyższa koncentracja tego hormonu może być odzwierciedleniem lepszego wchłaniania/absorpcji składników pokarmowych przez lochy z grupy "Nano". To z kolei może wynikać z właściwości wody poddanej działaniu generatorów plazmy. Obrazowo można powiedzieć, że woda ta powoduje większe/mocniejsze przyleganie treści przewodu pokarmowego do jelita co może ułatwiać/przyspieszać/zwiększać absorpcję składników pokarmowych. Fakt ten ilustruje doświadczenie, jakie przeprowadzono dla potwierdzenia różnicy między zwykłą wodą wodociągową, a taką wodą poddaną działaniu generatorów plazmy. Do dwóch zlewek wlewano taką samą objętość wody („Nano” lub zwykłej wodociągowej) i wkładano do każdej kapilarę hematokrytową. Po 7-10 min widoczna była różnica w objętości zassanej przez kapilarę wody, zawsze jej słupek był większy przy wodzie poddanej działaniu generatorów plazmy. Na tej podstawie można wnioskować/oczekiwać, że u zwierząt pijących taką wodę będzie ona wspomagała lepsze przywieranie treści przewodu pokarmowego do jego ścian.



Wyk.18. Średnia koncentracja leptyny w surowicy loch w dniu inseminacji.



Zdj.6. Na zdjęciu widać wyższy słupek wody w kapilarze hematokrytowej zanurzonej w zlewce z wodą poddaną działaniu generatorów plazmy.

Takie obserwacje przeprowadzano przez 6 kolejnych dni używając wody z kranu oraz wody poddanej działaniu generatorów plazmy i zamkniętej w butelce. Butelka była codziennie otwierana by powtórzyć obserwacje. dodatkowo dowodzi to długiej stabilności tej wody/jej stanu fizycznego przechowywanej w zwykłej butelce plastikowej typu pet i codziennie otwieranej i zamykanej.

Podsumowanie

Przeprowadzone badania wydają się potwierdzać korzystny wpływ odpajania wodą poddaną działaniu generatorów plazmy na wyniki użytkowości rozplodowej loch. Bezsprzecznie przynosi to wymierne korzyści ekonomiczne wynikające z lepszego bilansu paszą dla loch na fermie oraz ze skrócenia dni nieproduktywnych, tj. takich, gdy locha nie jest w ciąży bądź w laktacji. W grupie kontrolnej ponad 13% loch nie zostało pokrytych w pierwszym cyklu po odsadzeniu, o kolejny miesiąc pozostawały w grupie loch w kryciu – nie przeszły do kolejnego etapu w cyklu produkcyjnym, czyli na jeden cykl produkcyjny zjadały ponad 50 kg paszy więcej. Istotne zwiększenie skuteczności inseminacji jak i zmniejszenie wczesnych poronień (odnotowana różnica ponad 11% na korzyść grupy doświadczalnej) wpływa na lepsze zarządzanie grupami technologicznymi na fermie (stabilność liczebna grupy, krótszy okres jałowienia, lepsze wykorzystanie dawek inseminacyjnych, zmniejszenie nakładów pracy przeznaczonych na dodatkowe przegrupowywanie loch oraz ewentualną powtórna inseminację). Przeprowadzone badania nie pozwalają wyjaśnić mechanizmu działania wody poddanej działaniu generatorów plazmy na organizm zwierząt choć skutki wydają się być widoczne i oczywiste. Próba wyjaśnienia jej oddziaływania poprzez poprawę /wspomaganie procesów absorpcji wydaje się wartą rozważenia i być może należałoby przeprowadzić badania farmakokinetyki w warunkach laboratoryjnych. Pozostaje kwestią do rozstrzygnięcia w jaki sposób woda ta wspomaga/wpływa na lepsze wykorzystanie składników odżywczych czy tak jak spróbowano to opisać korzystając z zaobserwowanych właściwości tej wody w kapilarze czy może ma to związek z lepszym/szybszym rozpuszczaniem/rozkładaniem substancji pokarmowych z paszy.

Uzyskane wyniki upoważniają do stwierdzenia, że oceniany czynnik doświadczalny – dostępna do picia woda poddana działaniu generatorów zimnej plazmy- wpłynął przede wszystkim na skuteczność inseminacji i utrzymanie ciąży w pierwszym okresie tj do momentu implantacji



zarodków. Bardzo ważną konsekwencją tego była opisana wcześniej utrzymana stabilność liczebna grupy (czyli efektywne wykorzystanie dawek inseminacyjnych – nie ma potrzeby przeprowadzania kolejnych zabiegów inseminacji; utrzymanie stałych wyników produkcyjnych na dalszym etapie – brak zmniejszenia się liczby rodzących się prosiąt na fermie wskutek wprowadzenia większej liczby pierwiastek lub wskutek zmniejszenia liczby loch proszających się w danej grupie technologicznej). Nie wydaje się by odpajanie wodą poddaną działaniu generatorów plazmy w okresie po odsadzeniu prosiąt mogło istotnie wpłynąć na liczbę rodzących się prosiąt, by oczekiwać takiego efektu lochy powinny mieć do niej dostęp już w okresie laktacji. Jeśli dostęp do takiej wody istotnie poprawia dostępność składników odżywczych pozyskanych z paszy to czas laktacji jest najbardziej pożądanym okresem by dostęp do takiej wody rekomendować.

Odnoszone wymierne korzyści ekonomiczne powinny skłonić do dalszych badań nad wyjaśnieniem mechanizmów oddziaływania wody poddanej działaniu generatorów plazmy na organizm zwierząt, szczególnie sztuk rozłódowych.

Raport sporządziła

dr hab. Anna Rząsa, prof. nadzw.