

7. STRESZCZENIE

Współczesna produkcja drobiarska dąży do uzyskiwania wysokiej wydajności chowu przy zapewnieniu zdrowotności brojlerów i ograniczonym stosowaniu antybiotyków w hodowli. Osiąganie tych celów wiąże się jednak z obniżeniem odporności ptaków, większą zachorowalnością i śmiertelnością piskląt oraz rozwojem lekooporności drobnoustrojów. Zjawiska te skłaniają do poszukiwania alternatywnych metod profilaktyki i stymulacji wzrostu, spośród których na uwagę zasługuje suplementacja dodatków bioaktywnych metodą *in ovo*. Wykazano, że dostarczanie tych związków na wczesnym etapie rozwoju zarodkowego wpływa na zwiększenie przeżywalności piskląt, przyspiesza ich rozwój i wzmacnia odporność, ograniczając konieczność stosowania antybiotyków w odchowie. W badaniach będących przedmiotem rozprawy doktorskiej oceniono wpływ podawania *in ovo* wieloszczepowego probiotyku zawierającego efektywne mikroorganizmy (EM) i chelatu glicynowego cynku (Zn-Gly) na stan zdrowia, potencjał odporności i wskaźniki produkcyjne kurcząt brojlerów. Przyjęto założenie, że podanie kombinacji probiotyku i organicznej formy cynku na etapie zarodkowym przyczyni się do pobudzenia układu odpornościowego piskląt, zmniejszając podatność na infekcje w pierwszych dniach życia i ograniczając współczynnik śmiertelności. Suplementacja *in ovo* wybranych dodatków paszowych powinna wpłynąć także na jakość pozyskiwanego mięsa i inne wskaźniki produkcyjne, co przełoży się na efekt ekonomiczny w hodowli brojlerów. Należałoby oczekiwać, że suplementacja probiotyku zawierającego Efektywne Mikroorganizmy (EM) i chelatu glicynowego cynku w 17 dniu inkubacji wywoła efekt synergistyczny, wyrażający się wzmocnieniem odporności humoralnej i komórkowej, zwiększeniem potencjału antyoksydacyjnego piskląt oraz intensyfikacją przemian metabolicznych, co ostatecznie przyczyni się do poprawy wskaźników odchovu.

W badaniach wykorzystano łącznie 1400 zapłodnionych jaj kurcząt brojlerów (Ross 308), podzielonych na cztery grupy. W 17 dniu inkubacji w każdej z grup dokonano suplementacji *in ovo* w objętości 500 µl/jajo: Grupa I (kontrolna) – 0,9% NaCl; Grupa II – probiotyk zawierający Efektywne Mikroorganizmy (EM); Grupa III – probiotyk zawierający Efektywne Mikroorganizmy (EM) i chelat glicynowy cynku (Zn-Gly); Grupa IV – chelat glicynowy cynku (Zn-Gly). Jaja inkubowano do wyklućcia, a pisklęta odchowywano do 42 dnia życia w standardowych warunkach. W okresie trwania doświadczenia rejestrowano wylęgowość, śmiertelność i wskaźniki produkcyjne, a w dniu 0 (12 godzin po wylęgu) i w 7 dniu życia piskląt pobierano próbki do badań laboratoryjnych. W badaniach tych dokonywano oceny fenotypowej subpopulacji limfocytów T i B w krwi i śledzenie metodą cytometrii przepływowej, określano stężenie

cytokin pro- i przeciwzapalnych, oznaczano stężenie immunoglobulin i białek ostrej fazy przy użyciu testów ELISA i qPCR dla mRNA Ig w jelicie biodrowym oraz dokonywano oceny statusu oksydacyjnego w surowicy i tkankach. Analizowano także profil kwasów tłuszczowych w mięśniach oraz podstawowe wskaźniki biochemiczne krwi. Ponadto, wykonano analizę proteomiczną przy użyciu metody SDS-PAGE i MALDI-TOF MS i oznaczono stężenie cynku w tkankach. Analiza i ocena wskazanych parametrów powinna w założeniu wyjaśnić mechanizmy oddziaływania badanych suplementów na organizm na poziomie molekularnym.

Skojarzona suplementacja *in ovo* z udziałem probiotyku (EM) i chelatu glicynowego cynku była dobrze tolerowana przez zarodki, jakkolwiek wywoływała nieznaczne obniżenie wylęgowości. Najniższy współczynnik wylęgu stwierdzono w grupie probiotyk (EM) + chelat glicynowy cynku, natomiast sam probiotyk wywierał znikomy wpływ na wylęgowość. W okresie odchowu pisklęta z grupy probiotycznej wykazywały mniejsze spożycie paszy i wolniejszy wzrost, a końcowa masa ciała była istotnie niższa w porównaniu do grupy kontrolnej. Kombinacja probiotyku i chelatu glicynowego cynku pozwalała na uzyskanie końcowej masy ciała porównywalnej lub wyższej niż w grupie kontrolnej, przy jednoczesnym lepszym wykorzystaniu paszy. W grupie, w której podawano tylko chelat glicynowy cynku uzyskiwano wyniki zbliżone do grupy kontrolnej. Śmiertelność piskląt była niska i porównywalna we wszystkich grupach co dowodzi, że suplementacja *in ovo* nie wpływała negatywnie na przeżywalność. Podawanie *in ovo* badanych suplementów wyraźnie wpływało na rozwój odporności ptaków. U piskląt otrzymujących probiotyk i chelat glicynowy cynku już w chwili wylęgu wykazano większy odsetek dojrzałych limfocytów T i B w krwi i śledzionie w porównaniu do kontroli i tendencja ta utrzymywała się do 7 dnia życia. Ponadto, w grupie tej stwierdzono korzystne zmiany profilu mediatorów odporności, w tym niższe stężenia cytokin prozapalnych i wyższe stężenia cytokin przeciwzapalnych, a także zwiększoną syntezę przeciwciał w błonie śluzowej jelit. W badaniach wykazano także pozytywny wpływ suplementacji *in ovo* z użyciem probiotyku i chelatu glicynowego cynku na równowagę oksydacyjną u piskląt. Ptaki z tej grupy cechowały się wyższym potencjałem antyoksydacyjnym oraz najniższym wskaźnikiem MDA w tkankach, co świadczy o ograniczeniu zjawiska stresu oksydacyjnego. U piskląt otrzymujących wyłącznie chelat glicynowy cynku stwierdzono natomiast oznaki stresu oksydacyjnego w jelitach, mimo ogólnego obniżenia MDA w porównaniu do kontroli. Analiza profilu kwasów tłuszczowych w mięśniach w grupie kurcząt otrzymujących probiotyk i chelat glicynowy cynku wskazuje na intensywny rozwój tkanki mięśniowej. Wykazany w badaniach zwiększony udział kwasów nasyconych przy jednoczesnej wyższej proporcji PUFA/SFA i niższym udziale MUFA w porównaniu z kontrolą przekłada się na korzystniejsze wskaźniki jakości tłuszczu. Mięso

pozyskiwane od ptaków z badanej grupy cechowało się niższym indeksem aterogenności i trombogenności oraz wyższym stosunkiem hipo- do hipercholesterolemicznych kwasów tłuszczowych (h/H). Dodatkowa analiza molekularna wykazała zwiększoną ekspresję białek związanych z metabolizmem i odpornością piskląt, a ocena parametrów biochemicznych świadczy o efektywnym wchłanianiu cynku.

Skojarzona suplementacja *in ovo* probiotyku (EM) i chelatu Zn-Gly wywiera wielokierunkowy, korzystny wpływ na wzrost i rozwój brojlerów. Już na etapie zarodkowym pobudza ona układ immunologiczny do wzmożonej aktywności, co wyraża się zwiększeniem odsetka dojrzałych limfocytów T i B i nasileniem syntezy immunoglobulin przy zachowaniu równowagi odpowiedzi komórkowej i humoralnej i jednoczesnym przeciwdziałaniu nadmiernym reakcjom zapalnym. Ponadto, suplementacja *in ovo* zwiększa potencjał antyoksydacyjny organizmu i ogranicza nasilenie stresu oksydacyjnego u młodych kurcząt. O korzystnym wpływie suplementacji *in ovo* świadczy także zmodyfikowany profil metabolizmu, lepsze wykorzystanie paszy i prozdrowotny profil lipidowy mięsa, wyrażający się obniżeniem wskaźników aterogenności i trombogenności tłuszczu, co świadczy o zwiększonej wartości dietetycznej. Chelat glicynowy cynku podawany metodą *in ovo* stanowi wartościowe źródło tego pierwiastka dla rozwijającego się zarodka, natomiast probiotyk dostarcza korzystnych mikroorganizmów stymulujących układ odpornościowy. Łączne podawanie obydwu suplementów wywiera efekt synergistyczny, widoczny jako pozytywny wpływ na wzrost i rozwój piskląt. Zastosowanie technologii *in ovo* z użyciem probiotyku (EM) i chelatu glicynowego cynku należy traktować jako obiecującą strategię zwiększania odporności i poprawy zdrowotności brojlerów od pierwszych dni życia. W warunkach produkcyjnych oddziaływanie badanych suplementów przekłada się na zwiększenie tempa wzrostu i wykorzystania paszy oraz poprawę jakości mięsa, co wpływa na efekt ekonomiczny, a pośrednio pozwala na ograniczanie stosowania antybiotyków w chowie drobiu.

Słowa kluczowe: kurczęta, *in ovo*, układ odpornościowy kurcząt, probiotyk wieloszczepowy, Efektywne Mikroorganizmy (EM), chelat glicynowy cynku (Zn-Gly)