Nauki Przyrodnicze
numer 1 (11)/2016

ZASTOSOWANIE PULSACYJNEGO POLA ELEKTRYCZNEGO

W KSZTAŁTOWANIU JAKOŚCI PRODUKTÓW SPOŻYWCZYCH

ISSN 2353-13-71

WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL 1 (11)/2016 WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL 1 (11)/2016 WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL

Nauki Przyrodnicze

Artykuły/Articles

3-12. Zastosowanie pulsacyjnego pola elektrycznego w kształtowaniu jakości produktów spożywczych.

Autorzy: Paulina Kęska, Urszula Pankiewicz, Joanna Stadnik
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

13-17. Charakterystyka stanowiska *Vertigo angustior* we wsi Okrągła wraz z określeniem cech siedliska zastępczego.

Autorzy: Kamil Szczepka
Instytut Ochrony Przyrody Polskiej Akademii Nauk

18-27. Profilaktyka najczęściej występujących chorób u królików hodowlanych i utrzymywanych w warunkach domowych.

Autorzy: Ewa Broda, Olga Gąska, Dariusz Wolski
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Nauki Przyrodnicze

Redaktor naczelny
Mateusz Gortat

Zastępca redaktora naczelnego
Dariusz Wolski

Redaktor techniczny
Paweł Kuś

Rada naukowa:
prof. dr hab. Bogusław Makarski (UP Lublin)
dr hab. inż. Marek Stankevič (UMCS Lublin)
dr Sylwester Kowalik (UP Lublin)
dr Anna Stępniowska (UP Lublin)
lek. wet. mgr inż. Dariusz Wolski (UP Lublin)
mgr Mateusz Gortat (UP Lublin)
lek. med. Łukasz Pastuszak (Samodzielny Publiczny Centralny Szpital Kliniczny w Warszawie)

Projekt okładki
Robert Giza

ADRES DO KORESPONDENCJI
Stowarzyszenie Studentów Nauk Przyrodniczych
ul. Wyżynna 20/56, 20-560 Lublin
kontakt@ssnp.org.pl
www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

Odpowiedzialność za treść i materiały graficzne ponoszą autorzy

Paulina Kęska
Joanna Stadnik
Katedra Technologii Mięsa i Zarządzania Jakością,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie,
ul. Skromna 8, 20-704 Lublin,
e-mail: keska.paulina@wp.pl

Urszula Pankiewicz
Katera Analizy i Oceny Jakości Żywności,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie,
ul. Skromna 8, 20-704 Lublin

Zastosowanie pulsacyjnego pola elektrycznego w kształtowaniu jakości produktów spożywczych

The use of pulsed electric field in forming of food quality

Streszczenie

Pulsacyjne pole elektryczne (ang. pulsed electric field; PEF) jest metodą stosowaną w technologii żywności do kontrolowania bezpieczeństwa mikrobiologicznego oraz zmian cech (odżywczych, sensorycznych, fizykochemicznych) produktów spożywczych, istotnych z punktu widzenia konsumenta. Możliwości takie daje wykorzystanie PEF w procesie elektroporacji (zwanej także elektropermeabilizacją). Jest to prosta, nietoksyczna i nie termiczna metoda polegająca na indukowaniu porów w błonie komórkowej pod wpływem krótkich, pulsacyjnych impulsów energii elektrycznej. PEF wpływa na przepuszczalność błony komórkowej, wywołując jej lokalne zmiany strukturalne, które w zależności od zastosowanej intensywności procesu mogą powodować jej modyfikację. Powstałe pory winne być na tyle duże, aby umożliwić wprowadzenie/ekstrakcję cząsteczek do/z komórek, a jednocześnie na tyle małe, by nie doprowadzić do jej całkowitego rozpadu (proces odwracalny-transfer cząstek przez błonę komórkową). Natomiast z drugiej strony liza komórek jest procesem pożądanym w przypadku zapewnienia jakości mikrobiologicznej produktu. Z tego względu skutek elektroporacji może być nieodwracalny (rozpad błony komórkowej), a sam efekt może być sterowany poprzez aplikację określonego natężenia i czasu działania PEF.

Słowa kluczowe: elektroporacja, pulsacyjne pole elektryczne, jakość żywności.

Summary

Pulsed electric field (PEF) is a method used in food technology to support monitoring of microbiological safety and to changes in qualities of food products (nutritional, sensory, physicochemical) which are important from consumers' point of view. Such monitoring can be provided by the use of PEF in the process of electroporation (also called electropermeabilization). It is an easy, non-toxic and non-thermal method which rely on the induction of pores in cell membrane caused by short, pulsed electrical energy pulses. Depending on the intensity of the process, it affects the permeability of the cell membrane due to the local structural changes. The created pores should be large enough to allow the introduction/extraction of particles into/from the cells and at the same time small enough to avoid its decomposition. On the other hand, cell lysis is a desired process for the microbiological quality assurance. Therefore, the effect of electroporation may be reversible (transfer of particles through the cell membrane) or irreversible (breakdown of the cell membrane) and the same effect itself can be controlled by an application specific intensity and duration of PEF.

Key words: electroporation, pulsed electric field, food quality.

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

Wprowadzenie

Rosnący popyt na żywność o wysokiej wartości odżywczej i cechach sensorycznych zbliżonych do świeżego surowca oraz żywność przetworzoną w niewielkim stopniu, wolną od chemicznych substancji dodatkowych nadaje kierunek poszukiwaniom nowych metod przetwórstwa żywności. Równocześnie oferowane konsumentom produkty muszą być bezpieczne z mikrobiologicznego punktu widzenia. Powszechnie pożądaną jakość mikrobiologiczną produktów osiąga się poprzez inaktywację mikroorganizmów chorobotwórczych i zarodników w procesach termicznych. Jednak zastosowanie wysokich temperatur podczas obróbki żywności może wiązać się z szeregiem niekorzystnych procesów, które zmieniają cechy finalnego produktu, takie jak smak, barwa, tekstura i ogólny wygląd (BILLER I WIERZBICKA, 2003).

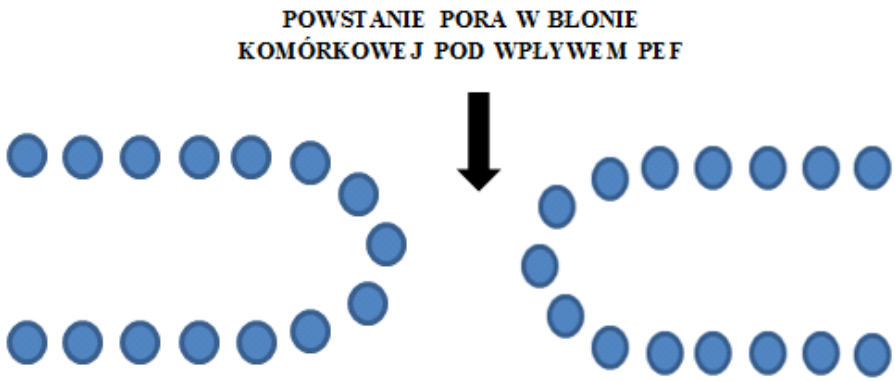
W odpowiedzi na zapotrzebowanie klientów na minimalnie przetworzoną żywność, poszukuje się alternatywnych technologii ograniczających użycie wysokich temperatur i substancji dodatkowych. Warunki takie spełnia zastosowanie pulsacyjnego pola elektrycznego (PEF), będące podstawą elektroporacji. Technologia ta cieszy się ogromnym zainteresowaniem w wielu dziedzinach nauki (medycyna, kosmetologia, biotechnologia), w tym technologii żywności. Prowadzone były badania nad wykorzystaniem PEF jako niekonwencjonalnej metody utrwalania żywności poprzez inaktywację niekorzystnej mikroflory przy jednoczesnym zachowaniu pożądanych cech fizykochemicznych oraz organoleptycznych. Stosowanie PEF okazało się także bardzo skuteczne między innymi dla zwiększenia wydajności tłoczenia i ekstrakcji soków, do intensyfikacji odwadniania i suszenia żywności, zmniejszenia aktywności enzymatycznej i przedłużenia trwałości produktu końcowego. Ponadto stosowanie PEF w mniejszym stopniu prowadzi do degradacji substancji odżywczych i zaniku korzystnych właściwości sensorycznych niż tradycyjna obróbka termiczna, głównie dzięki skróceniu czasu przetwarzania i obniżeniu stosowanych temperatur (<50°C) (BUCKOW I WSPÓŁAUT., 2014; KNORR I WSPÓŁAUT., 2001; WALKLING-RIBEIRO I WSPÓŁAUT., 2010).

Celem artykułu jest przedstawienie zjawiska elektroporacji podczas oddziaływania PEF, jako alternatywy dla konwencjonalnych metod termicznych kształtowania jakości produktów spożywczych.

Pulsacyjne pole elektryczne podstawą metody elektroporacji

Elektroporacja jest zjawiskiem fizycznym, w którym materiały biologiczne poddaje się działaniu pola elektrycznego. W wyniku oddziaływania impulsów elektrycznych na błony komórkowe obserwuje się znaczny wzrost ich przewodnictwa, głównie poprzez tworzenie się na powierzchni wolnych przestrzeni - tzw. porów (rys. 1). Ich obecność umożliwia swobodny przepływ różnych składników przez błonę komórkową. Dzięki temu zjawisku możliwy staje się transfer jonów, cząsteczek a nawet bardziej złożonych związków (tj. leki , kwasy nukleinowe, monoklonalne przeciwciała, oligonukleotydy czy plazmidy) do wnętrza komórki (KOTULSKA, 2007a; PRASANNA I WSPÓŁAUT., 1997). Na początku lat 90 po raz pierwszy opublikowano badania, w których wykazano transport małych cząsteczek, takich jak sacharoza, barwniki i jedno- lub dwujony przez błony komórkowe pod wpływem PEF (CHEN I WSPÓŁAUT., 2006; LARQUIN, 1997). Mimo tego, że zjawisko to znane jest już od dawna, do dziś nie wyjaśniono jednoznacznie me-

WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL 1 (11)/2016 WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL 1 (11)/2016 WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL



Rysunek 1. Struktura hydrofilowego elektropora w błonie komórkowej – schemat własny

chanizmu formowania się porów. Szczegółowy mechanizm powstawania wolnych przestrzeni w błonie lipidowej pozostaje nadal przedmiotem badań *in vivo* (CHEN I WSPÓŁAUT., 2006; SUGA I HATAKEYAMA, 2003). Jedna z teorii głosi, że pod wpływem działania pola elektrycznego jony zawarte w roztworze otaczającym komórkę przemieszczają się w kierunku przeciwnym do swojego ładunku, wywierając przy tym nacisk na błonę lipidową. Z kolei według innych badaczy, na zjawisko elektroporacji wpływ mają oddziaływania elektrostatyczne pomiędzy zastosowanym polem elektrycznym a warstwą lipidową błony, powodując przy tym jej dezintegrację. Sugeruje się, że w wyniku tych interakcji zachodzi zmiana położenia poszczególnych molekuł lipidowych oraz związane z tym zmiany odległości pomiędzy nimi. Konsekwencją jest powstanie wolnych przestrzeni (KOTULSKA, 2007B). Znana jest także hipoteza głoszona przez Zimmermana, określana jako elektromechaniczne sprzężenie błony komórkowej. Zgodnie z nią, w wyniku przyłożonego pola elektrycznego indukowane są ładunki o przeciwnych znakach na zewnętrznej i wewnętrznej powierzchni błony komórkowej (FIEDUREK, 2007; FIEDUREK I WSPÓŁAUT., 2000). Ładunki te przyciągają się ku sobie, powodując wzrost ciśnienia wewnątrz komórki. Kiedy potencjał transmembranowy osiągnie wartość krytyczną (ok. 1 V) (CHEN I WSPÓŁAUT., 2006), wspomniane przyciąganie powoduje formowanie się porów. Teoria ta, najczęściej przytaczana w literaturze, wydaje się najlepiej tłumaczyć podstawy zjawiska elektroporacji.

W procesie elektroporacji prowadzonej w warunkach laboratoryjnych można wymienić ogólne etapy: 1) traktowanie materiału serią impulsów elektrycznych, które są wystarczające do wywołania przejściowych zmian potencjału błon oraz powstania porów; 2) przepływ jonów, cząsteczek przez wolne przestrzenie w błonach; 3) odwrócenie zmian błonowych po usunięciu pola zewnętrznego i powrót do stanu wyjściowego. Należy zauważyć, że mimo powstania elektropora, nadal zachowany jest model płynnej mozaiki. Półpłynna, podwójna struktura błony utworzona jest przez dwie warstwy lipidów, których polarne „głowy" zawsze skierowane są na zewnątrz (w stronę środowiska hydrofilowego), natomiast węglowodorowe łańcuchy kwasów tłuszczowych zwrócone są do wnętrza. Dzięki temu możliwe jest utrzymanie błony komórkowej w stanie ciągłej polaryzacji oraz zachowanie dużego oporu elektrycznego, co warunkuje jej właściwe przewodnictwo elektryczne (NAUMOWICZ I FIGASZEWSKI, 2011).

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

Należy podkreślić, że powstałe pod wpływem krótkich, pulsacyjnych impulsów elektrycznych o określonym napięciu pory cechują się dużą niestabilnością. Jak donosi literatura, powstają one szybko, bo w około 10-6s i zanikają po zakończeniu ekspozycji. Odwrócenie skutków elektroporacji, a więc ponowna integracja błony przebiega nieco wolniej, bo od kilku sekund nawet do minuty. Wartość napięcia niezbędnego do efektywnego wytworzenia porów o pożądanej średnicy wahać się może od 10 do 80 kV/cm. Różna jest także średnica porów. Zawierać się może w przedziale od 1 do 10 nm, w zależności od zastosowanych parametrów. Aby uzyskać jednolite rezultaty procesu elektroporacji, należy dostosować parametry indywidualnie dla danego surowca. Najczęściej dokonuje się tego poprzez eksperymentalne wyznaczenie warunków procesu. Szczególnie istotny jest dobór odpowiedniego napięcia. Jego wartość z jednej strony musi zapewniać powstanie porów, co oznacza, iż nie może więc być zbyt niskie (niewystarczające do wywołania powstania pora). Natomiast z drugiej strony, zbyt duże napięcie nie gwarantuje odwracalności procesu i może powodować nieodwracalne zmiany w błonie, tj. nadmierne powiększenie wolnych przestrzeni, a w konsekwencji lizę komórki (SKOŁUCKA I WSPÓŁAUT., 2010; TOEPFL I WSPÓŁAUT., 2007).

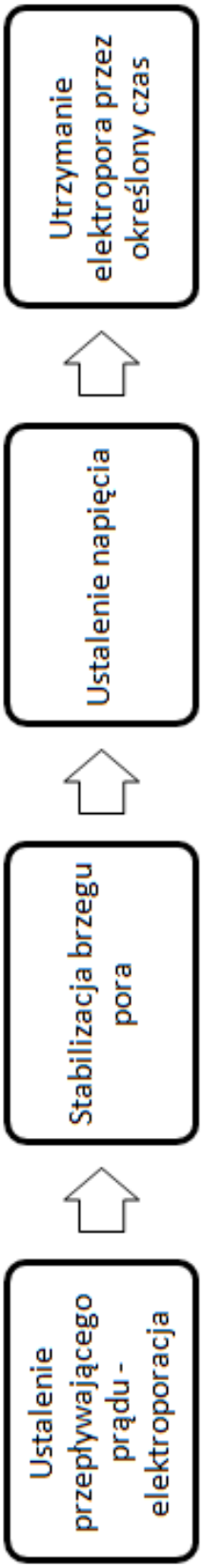
Kolejne trudności w procesie elektroporacji związane są z niestabilnością utworzonych porów oraz brakiem możliwości ścisłej kontroli ich rozmiaru i czasu trwania. Związane jest to z trudnościami doboru warunków w taki sposób, aby elektropor zachowywał przez dłuższy czas swoją średnicę. Równie istotnym parametrem jest czas trwania impulsu elektrycznego o ustalonej amplitudzie, liczba impulsów w serii oraz długość przerw pomiędzy nimi. Nie bez znaczenia są także wielkość komórek i ich stężenie w zawiesinie (NAUMOWICZ I FIGASZEWSKI, 2011). W doświadczeniach laboratoryjnych do indukcji porów najczęściej stosuje się zmienną amplitudę w czasie trwania pulsów, a stosowane napięcia przyjmują wartości powyżej dolnego progu wrażliwości błony. Zarówno liczba jak i średnica efektywnych porów wzrasta z amplitudą i czasem trwania impulsu (JAMROZ I PANKIEWICZ, 2004). Niewątpliwą niedogodność stanowi także zjawisko niespecyficznego transportu przez błonę. Nie ma możliwości pełnego monitorowania, jakie substancje wnikają do wnętrza komórki, a jakie mogą być z niej tracone.

W celu wywołania zjawiska elektroporacji najpowszechniej wykorzystuje się PEF, to jest pole impulsowe (zwane także pulsacyjnym). Podstawą jego działania jest występowanie szybkich różnic między wysoką wartością napięcia (generującą powstanie pora) a jego całkowitym brakiem. Naukowcy, zachęceni skutecznością metody, prowadzą badania nad możliwością modyfikacji tego procesu poprzez np. przeprowadzanie elektroporacji przy ustalonym prądzie. Metoda ta umożliwia uzyskanie stabilności elektroporów przez stosunkowo długi czas oraz w pewnym stopniu kontrolowania ich średnicy. Jest to możliwe dzięki stabilizującemu efektowi sprzężenia zwrotnego, który z jednej strony zapobiega nadmiernemu powiększaniu się wolnych przestrzeni i zniszczeniu membrany, a z drugiej zamknięciu pora. Dzięki tym właściwościom eliminowane są niedogodności występujące w aplikacji PEF. Niestety, metoda ta z powodzeniem stosowana była wyłącznie na płaskich warstwach lipidowych. Coraz częściej w literaturze przywoływana jest także metoda CACC (ang. chronoamperometry after current clamp), która daje możliwości generowania, a następnie utrzymania elektropora o określonym rozmiarze bez sprzężenia zwrotnego. W metodzie tej elektroporacja przebiega przy ustalonym prądzie,

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnpp.org.pl

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

a powstawanie pora i stabilizacja jego brzegu przebiega zgodnie z poniższym schematem:



Rysunek 2. Schemat elektroporacji umożliwiający dobór parametrów elektropora w warunkach stało-napięciowych (na podstawie: KOTULSKA 2007B).

W metodzie tej prąd o określonym przepływie generuje powstanie elektropora o średnicy, której wartość nieznacznie oscyluje wokół pewnej stałej wartości. Natomiast dzięki stabilizacji brzegu, możliwe jest uzyskiwanie stosunkowo dużych (o dużej średnicy) porów o długim czasie ich trwania. Metoda ta dodatkowo daje możliwość regulacji średnicy pora poprzez wartość ustalonego prądu, co stanowi jej niewątpliwą zaletę (rys. 2). Korzystnym rozwiązaniem okazuje się także stopniowe zwiększanie wartości stosowanych napięć. Jest to szczególnie istotne przy generowaniu porów o dużej średnicy (ogranicza to niebezpieczeństwo uszkodzenia membrany) (KOTULSKA, 2007B).

Elektroporacja może być prowadzona w układach komórkowych (roślinnych tj. ziemniak, jabłko oraz w zwierzęcych tj. tkanka mięs i ryb) oraz w hodowlach zawiesinowych komórek (roślinnych, drożdży, bakterii). Proces polega na aplikacji impulsów wysokiego napięcia do materiału znajdującego się między dwoma elektrodami. W tym celu stosuje się urządzenia o specjalnej konstrukcji zwane elektroporatorami. W zależności od przeznaczenia mogą one wykazywać różnice w budowie, jednak do stałych elementów każdego urządzenia zalicza się: moduł generujący napięcie oraz elektrody do elektroporacji, wśród których należy wymienić: mikroelektrody, elektrody igłowe lub płaskie. W warunkach laboratoryjnych zawiesinę materiału komórek umieszcza się w kuwetach. O ile proces powstawania porów w warunkach *in vivo* prowadzony jest w środowisku występowania materiału badawczego, które poddaje się działaniu prądu, o tyle warunki in vitro wymagają zastosowania specjalnych buforów (o określonym pH i stosunkowo niskiej przewodności) (SKOŁUCKA I WSPÓŁAUT., 2010).

Zastosowanie elektroporacji w technologii żywności

Obróbka cieplna surowców lub półproduktów jest kluczowym etapem produkcji, istotnym dla wydłużenia okresu przechowywania przy zapewnieniu maksymalnego bezpieczeństwa produktów spożywczych. Procesy termiczne mogą jednak prowadzić do zmian strukturalno-chemicznych składników, jak również wpływać na właściwości funkcjonalne produktów żywnościowych. Przykładem nietermicznych metod kontrolowania poziomu kontaminacji mikrobiologicznej jest zastosowane PEF, będącego alternatywą dla konwencjonalnej pasteryzacji. Technologia ta okazuje się skuteczna między innymi do zapewnienia bezpieczeństwa mikrobiologicznego produktów płynnych i półpłynnych (soki, płynne jaja, napoje mleczne, napoje alkoholowe). O skuteczności PEF decydują parametry technologiczne. Zazwyczaj im większą jest siła pola elektrycznego, tym osiąga się wyższą temperaturę medium lub im dłuższy czas działania procesu elektroporacji, tym większa jest mikrobiologiczna inaktywacja (WOUTERS I WSPÓŁAUT., 2001). Bakterie Gram-ujemne są bardziej wrażliwe na inaktywację indukowaną PEF niż Gram-dodatnie (SHARMA I WSPÓŁAUT., 2014). Jak podaje TOEPFL I WSPÓŁAUT. (2007) w celu skutecznej dezaktywacji drobnoustrojów siła impulsu elektrycznego powinna mieścić się w zakresie od 20 do 50 kV/cm, zaś długość impulsu od 1 do 10 mikrosekund. Jednakże zmienne parametry PEF, jak i czas procesu, winny być dobrane indywidualnie dla produktu. Wykazano, że PEF skutecznie zmniejsza aktywność mikroorganizmów w różnych produktach. MARCO-MOLÉS I WSPÓŁAUT. (2011) zaobserwowali redukcję niekorzystnych zmian w matrycy lipoprotein w ciekłych jajach po zastosowaniu PEF (natężenie pola w przedziale od 19 do 37 kV/cm przy użyciu szerokości impulsu 6 mikrosekund i częstotliwości 250 Hz), w stosunku do pasteryzacji termicznej (66 °C przez 270 s). Zauważono również poprawę właściwości mechanicznych zżelowanych białek w przypadku prób traktowanych PEF. W badaniach przeprowadzonych przez SHARMA I WSPÓŁAUT. (2014) zaobserwowano inaktywację drobnoustrojów w mleku indukowaną przez zastosowanie PEF (natężenie pola w przedziale od 18 do 28 kV/cm przy użyciu szerokości impulsu 20 mikrosekund i zmiennej częstotliwości w zakresie 10-140 Hz) w połączeniu z kontrolowanym, wstępnym ogrzewaniem (55°C przez 24 s). Zabiegi z zastosowaniem PEF skutkowały ograniczeniem poziomu zakażenia poniżej limitu wykrywalności w przypadku *Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Staphylococcus aureus* i *Listeria innocua*. Z kolei MOSQUEDA-MELGAR I WSPÓŁAUT. (2008) wykazali pozytywny wpływ działania PEF na poziom kontaminacji soków (pomarańczowych, jabłkowych, gruszkowych, truskawkowych) przez *Salmonella enteritidis* i *E. coli* O157: H.

Smak, świeżość oraz poprawa cech funkcjonalnych lub strukturalnych z uwzględnieniem czynników ekonomicznych, są kolejnymi aspektami kreowania jakości produktów spożywczych z wykorzystaniem technologii opartych na procesie elektroporacji. PEF stosuje się między innymi do intensyfikacji ekstrakcji związków funkcjonalnych z surowców roślinnych. W wielu przypadkach, fizyczne procesy ekstrakcji związane są z niską wydajnością lub opłacalnością. Ponadto niejednokrotnie wymagają zastosowania rozpuszczalników chemicznych, które mogą oddziaływać niekorzystnie. Cechy te eliminuje zastosowanie PEF, który wykorzystywany jest przykładowo do ekstrakcji polifenoli czy antocyjanów z winorośli podczas produkcji win gronowych (YANG I WSPÓŁAUT.,

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

2016), karotenoidów z marchwi i polifenoli z jabłek (WIKTOR I WSPÓŁAUT., 2015), betalain z czerwonego buraka (LOGIONOVA I WSPÓŁAUT., 2011), sacharozy z buraków cukrowych (MHEMDI I WSPÓŁAUT., 2016), inuliny z cykorii (ZHU I WSPÓŁAUT., 2015) czy oleju z nasion roślin oleistych (PUÉRTOLAS I WSPÓŁAUT., 2016). W tym przypadku stosowanie PEF do wywoływania elektroporacji błon komórkowych prowadzi do wzrostu dyfuzyjności cennych komponentów z tkanek roślinnych przy obniżonych temperaturach. Zastosowanie PEF do ekstrakcji „na zimno" zapobiega degradacji termicznej ścian komórkowych oraz niepożądanym reakcjom chemicznym, które skutkować mogą zmianami barwy (na przykład ze względu na barwną reakcję Maillarda), niepożądanymi chociażby w przypadku produkcji soków. Technologia PEF jest bardzo atrakcyjna do ekstrakcji cennych składników żywności, podnosząc tym samym jakość finalną produktów. Stosowanie PEF powoduje również mniejsze zmiany w zawartości witamin np. witaminy C i A w stosunku do tradycyjnych metod przetwarzania opartych na metodach termicznych. Spośród witamin, kwas askorbinowy jest szczególnie wrażliwy na traktowanie PEF, a tym samym najczęściej badany w sokach owocowych (BARBA I WSPÓŁAUT., 2015).

Istnieje kilka doniesień na temat stosowania PEF w przetwarzaniu pokarmów stałych, przykładowo takich jak mięso wołowe (FARIDNIA I WSPÓŁAUT., 2016). Wyniki te sugerują, że PEF indukuje zmiany w mikrostrukturze oraz teksturze mięsa, co może potencjalnie być wykorzystywane do poprawy jego kruchości, skrócenia czasu dojrzewania lub zmiany właściwości funkcjonalnych.

PEF stosowano także do przyspieszenia procesu suszenia. Zmniejszenie zawartości wody w surowcach prowadzi się w celu hamowania aktywności mikroorganizmów oraz spowolnienia procesów enzymatycznych, ale zmniejsza ono także całkowitą masę i objętość wysuszonych produktów. Potwierdzono, że dzięki zastosowaniu PEF osiąga się większą dyfuzję wody z obrabianego materiału. Możliwe jest także obniżenie temperatury suszenia do 20-30°C, na przykład w przypadku ziemniaków, bez zmian kinetyki procesu (LEBOVKA I WSPÓŁAUT., 2007) oraz skrócenie czasu suszenia w porównaniu z metodami konwencjonalnymi. Jest to istotne, szczególnie w odniesieniu do termolabilnych związków obecnych w tkankach owoców i warzyw (BARBA I WSPÓŁAUT., 2015).

PEF wykorzystywane może być także do przedłużenia trwałości produktów spożywczych poprzez ograniczenie procesów enzymatycznych. Aktywność enzymów (endogennych lub pochodzenia mikrobiologicznego) znacznie skraca czas przechowywania żywności, zwłaszcza owoców i innych produktów roślinnych. Zastosowanie PEF może powodować zmiany w strukturze i konformacji enzymów związanych z żywnością, które z kolei mogą prowadzić do wyłączenia ich aktywności. Mechanizm ten nie jest dokładnie opisany, a wyniki uzyskane przez różne grupy badaczy są niekiedy sprzeczne. Na efekt inaktywacji enzymów przez PEF wpływ mają siły pola elektrycznego, przewodność elektryczna lub pH medium, w którym zanurzony jest materiał czy pochodzenie enzymu. Ta mnogość czynników sprawia, że czułość enzymów na warunki PEF jest różna. W literaturze odnotowano inaktywację enzymów, np. metyloesterazy pektyny (nawet o 97%), oksydazy polifenolowej oraz peroksydazy (BUCKOW I WSPÓŁAUT., 2013; TEREFE I WSPÓŁAUT., 2015). Ponadto podejmowano próby oceny zastosowania PEF do zmniejszenia stężenia pestycydów w produktach spożywczych. CHEN I WSPÓŁAUT. (2009), potwierdzili wpływ PEF na zmniejszenie zawartości pestycydów w soku jabłkowym. Au-

torzy wskazują na udział wysokiego napięcia w wywoływaniu drgań i obracaniu się cząsteczek polarnych, ułatwiając w ten sposób degradację pestycydów. Badano także zawartość fungicydów w białych winach i potwierdzono indukcyjne właściwości PEF na kontaminację fungicydami. Ponadto autorzy stwierdzili, że wpływ siły i energii działania PEF na degradację fungicydów ma większe znaczenie niż czas trwania impulsu (DELSART I WSPÓŁAUT., 2015).

Podsumowanie

Ocena efektywności elektroporacji w biologicznych tkankach lub zawiesinach komórek jest dość skomplikowanym zadaniem. Na jej skuteczność wpływa wiele czynników związanych z doborem parametrów PEF (takich jak: liczba impulsów w jednej serii, szerokość impulsu, czas trwania pojedynczego impulsu, długość przerwy pomiędzy impulsami), stężenia wprowadzanej substancji, jej przewodności, stanu i rozmiaru komórek oraz temperatury odczynników i prowadzenia procesu. Dobór parametrów powinien by przeprowadzony indywidualnie dla danego rodzaju produktu spożywczego. Komercyjne wykorzystywanie PEF, jako alternatywy dla tradycyjnych technik stosowanych w obróbce żywności, można już spotkać w przemyśle spożywczym. Konieczna jest jednak dalsza analiza bezpieczeństwa procesu, opłacalności i konkretnych korzyści dla konsumentów.

Literatura

BARBA F.J., PARNIAKOV O., PEREIRA S.A., WIKTOR A., GRIMI N., BOUSSETTA N.,SARAIVA J.A.,RASO J., MARTIN-BELLOSO O.,WITROWA-RAJCHERT D., LEBOVKA N., VOROBIEV E. 2015. Current applications and new opportunities for the use of pulsed electric fields in food science and industry. Food Research International 77, 773-798.

BILLER E., WIERZBICKA A., 2003. Wybrane procesy w technologii żywności, Wydawnictwo SGGW, Warszawa, 54-58.

BUCKOW R., CHANDRY P.S., NG S.Y., MCAULEY C.M., SWANSONB.G. 2014. Opportunities and challenges in pulsed electric field processing of dairy products. International Dairy Journal 34(2), 199-212.

BUCKOW R., NG S., TOEPF S. 2013. Pulsed electric field processing of orange juice: A Review on microbial, enzymatic, nutritional, and sensory quality and stability. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 12, 455-467.

CHEN C., SMYE W., POBINSON M., EVANS J. 2006. Membrane electroporation theories: a review. Medical & Biological Engineering & Computing 44, 5-14.

CHEN F., ZENG L., ZHANG Y., LIAO X., GE Y., HU X., JIANG L. 2009. Degradation behavior of methamidophos and chlorpyrifos in apple juice treated with pulsed electric fields. Food Chemistry 112, 956-961.

DELSART C., FRANC C., GRIMI N., DEREVEL G., VOROBIEV E., MIETTON PEUCHOT M. 2015. Effects of pulsed electric fields on four residual fungicides in white

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

wines. 1st World Congress on Electroporation and Pulsed Electric Fields in Biology. Medicine and Food & Environmental Technologies53, 124-127.

FARIDNIA F., BREMER P., BURRITT D.J., OEY I. 2016. Effects of pulsed electric fields on selected quality attributes of beef outside flat (Biceps femoris). IFMBE Proceedings 53, 51-54.

FIEDUREK J. 2007. Doskonalenie biotechnologicznych cech organizmów. [W:] Podstawy biotechnologii przemysłowej. BEDNARSKI W., FIEDUREK J. (red.). Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa, 69-71.

FIEDUREK J., SKOWRONEK M., JAMROZ J. 2000. Zmiany strukturalne i fizjologiczne w układach biologicznych indukowane pulsacyjnym polem elektrycznym. Postępy Nauk Rolniczych 6, 41-55.

JAMROZ J., PANKIEWICZ U. 2004. Wpływ pulsacyjnego pola elektrycznego na akumulację selenu w drożdżach Rodothorula rubra. Annales UMSC Sec. E 59, 2053-2059.

KNORR D., ANGERSBACH A., ESHTIAGHI M.N., HEINZ V., LEE D-U., 2001. Processing concepts based on high intensity electric field pulses, Trends in Food Science and Technology 12, 129-135.

KOTULSKA M. 2007a. Electrochemotherapy in cancer treatment. Advances in Clinical and Experimental Medicine 16, 601-607.

KOTULSKA M. 2007b. Natural fluctuations of an electropore show fractional lévy stable motion. Biophysical Journal 92(7), 2412-2421.

LARQUIN P. 1997. Gene transfer by electroporation. Molecular Biotechnology 7, 5-35.

LEBOVKA N.I., SHYNKARYK N.V., VOROBIEV E. 2007. Pulsed electric field enhanced drying of potato tissue. Journal of Food Engineering 78(2): 606-613.

LOGINOVA K.V., LEBOVKA N.I., VOROBIEV E. 2011. Pulsed electricfield assisted aqueous extraction of colorants from red beet. Journal of Food Engineering 106(2), 127-133.

MARCO-MOLÉS R., ROJAS-GRAÜ M.A., HERNANDO I., PÉREZ-MUNUERA I., SOLIVA-FORTUNY R., MARTÍN-BELLOSO O. 2011. Physical and structural changes in liquid whole egg treated with high-intensity pulsed electric fields. Journal of Food Science 76,C257-C264.

MOSQUEDA-MELGAR J., RAYBAUDI-MASSILIA R.M., MARTÍN-BELLOSO O. 2008. Non-thermal pasteurization of fruit juices by combining high-intensity pulsed electric fields with natural antimicrobials. Innovate Food Science & Emerging Technologies 9(3), 238-240.

MHEMDI H., BAL S O., VOROBIEV E. 2016. Combined pressing-diffusion technology for sugar beetspretreated by pulsed electric field. Journal of Food Engineering 168(1), 166-172.

NAUMOWICZ M., FIGASZEWSKI Z. 2011. Chronopotentiometric technique as a method for electrical characterization of bilayer lipid membranes. Journal of Membrane Biology 240, 47-53.

PRASANNA G., PANDA T., RAO P. 1997. Transformation of intact cells of Saccharomyces cerevisiae by square wave pulses using castellated microelectrodes. Bioprocess Engineering 16,265-268.

PUÉRTOLAS E., KOUBAA M., BARBA

BARBA F.J. 2016. An overview of the impact of electrotechnologies for the recovery of oil and high-value compounds from vegetable oil industry: Energy and economic cost implications. Food Research International 80, 19-26.

SHARMA P., BREMER P., OEY I., EVERETT D.W. 2014. Bacterial inactivation in whole milk using pulsed electric field processing. International Dairy Journal 35 (1), 49-56.

SKOŁUCKA N., SACZKO J., KOTULSKA M., KULBACKA J., CHOROMAŃSKA A. 2010. Elektroporacja i jej zastosowanie. Polski Merkuriusz Lekarski XXVIII 168, 501-504.

SUGA M., HATAKEYAMA T. 2003. High-efficiency electroporation by freezing intact yeast cells with addition of calcium. Current Genetics 43, 206-211.

TEREFE N., BUCKOW R., VERSTEEG C. 2015. Quality-Related Enzymes in Plant-Based Products: Effects of Novel Food Processing Technologies Part 2: Pulsed Electric Field Processing Critical Reviews in Food Science and Nutrition 55 (1), 1-15.

TOEPFL S., HEINZ V., KNORR D. 2007. High intensity pulsed electric fields applied for food preservation. Chemical Engineering and Processing 46, 537-546.

WALKLING-RIBEIRO M., NOCI F., CRONIN D.A., LYNG J.G., MORGAN D.J. 2010. Shelf life and sensory attributes of a fruit smoothie-type beverage processed with moderate heat and pulsed electric fields. LWT - Food Science and Technology 43(7), 1067-1073.

WIKTOR A., ŚLEDZ M., NOWACKA M., RYBAK K., CHUDOBA T., LOJKOWSKI W., WITROWA-RAJCHERT D. 2015. The impact of pulsed electric field treatment on selected bioactive compound content and color of plant tissue. Innovative Food Science and Emerging Technologies 30, 69-78.

WOUTERS P.C., ALVAREZ I., RASO J. 2001. Critical factors determining inactivation kinetics by pulsed electric field food processing. Trends in Food Science & Technology 12, 112-121.

YANG N., HUANG K., LYUCH., WANG J. Pulsed electric field technology in the manufacturing processes of wine, beer, and rice wine. A review. Food Control 61, 28-38.

ZHU Z., BALS O., GRIMI N., DING L., VOROBIEV E. 2015. Better damage ofchicory tissue by combined electroporation and ohmic heating for solute extraction. Food and Bioproducts Processing 94(1), 248-254.

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

Kamil Szczepka
Instytut Ochrony Przyrody Polskiej Akademii Nauk
al. A. Mickiewicza 33, 31-120 Kraków
kamil.szczepka@gmail.com

Charakterystyka stanowiska *Vertigo angustior* we wsi Okrągła wraz z określeniem cech siedliska zastępczego

The characteristic of *Vertigo angustior* position in Okrągła and defining the characteristics of replacement habitat

Streszczenie

Vertigo angustior to zagrożony wyginięciem gatunek niewielkiego ślimaka. Występuje w miejscach podmokłych. Jedno z jej stanowisk znajduje się we wsi Okrągła, niedaleko Połańca. Wykonano tam analizę florystyczną, które celem było określenie charakteru potencjalnego siedliska zastępczego dla *V. angustior*. Na opisanym stanowisku, we wsi Okrągła wykonano trzy zdjęcia fitosocjologiczne. Zanotowano obecność 29 gatunków roślin naczyniowych. Jeden z gatunków *Dactylorhiza majalis* – podlega ochronie.

Słowa kluczowe: *Vertigo angustior*, lista florystyczna, *Dactylorhiza majalis.*

Summary

Vertigo angustioris is an endangered species of minute snail. The species occurs in wetlands habitats. One of the positions is located in Okrągła - small village near Połaniec. There has been carried out a floristic analysis which aim was to specify the potential of a replacement habitat for *V. angustior*. There has been taken three phytosociological photos. The existence of 29 vascular spiecies was detected. One spiecies - *Dactylorhiza majalis* is being protected.

Key words: *Vertigo angustior*, floristic list, *Dactylorhiza majalis.*

Wstęp

Poczwarówka zwężona (łac. *Vertigo angustior*) to rzadki w naszym kraju gatunek małego ślimaka o czerwonawej, lewoskrętnej muszli. Choć w Europie zamieszkuje tereny od Portugalii aż po Morze Kaspijskie, to na terenie naszego kraju pozostaje gatunkiem nielicznym, a jego stanowiska są rozproszone. Jest gatunkiem wapieniolubnym (POKRYSZKO, 2003), związanym z miejscami o stałej, wysokiej wilgotności. Z tego powodu zagrażają mu m. in. prace melioracyjne. Poszczególne populacje cechują duże sezonowe i międzyroczne wahania liczebności (CAMERON, 2003). Poczwarówka zwężona jest mięczakiem trudnym do zauważenia,

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

jest mięczakiem trudnym do zauważenia, wysokość muszli to zaledwie 1.5 – 1.9 mm, szerokość 0.9 do 1 mm (POKRYSZKO, 1990). Długość życia nie przekracza 38 miesięcy, a większość ginie w drugim roku życia (MYZYK, 2005 I 2011). Warto zaznaczyć, że muszle poczwarówki ulegają bardzo powolnemu rozkładowi i mogą być znajdywane przez długi czas po wymarciu populacji na danym stanowisku (CERNOHORSKY I IN., 2010). Poczwarówka zwężona jest gatunkiem wymienianym w załączniku II do Dyrektywy Siedliskowej UE oraz czerwonej liście IUCN.

Niniejsza praca dotyczy flory stanowiska *Vertigo angustior* położonego we wsi Okrągła, w pobliżu Połańca w woj. Świętokrzyskim. Jej celem było określenie możliwości przeniesienia populacji *V. angustior* na siedlisko zastępcze, możliwie najbardziej zbliżone florystycznie, gdyż na obecnym miejscu występowania istnieją plany budowy zakładu wydobycia siarki.

Miejsce i metodyka badań

Stanowisko chronionego gatunku poczwarówki zwężonej *Vertigo angustior* zlokalizowane we wsi Okrągła, obok Połańca zajmuje obszar około 2500 m^2. Zlokalizowane jest w odległości około 200 m na północ od trasy 79 Kraków – Sandomierz, w niewielkim obniżeniu terenu (około 15 m poniżej drogi 79), oraz w odległości około 500 m od zabudowań. Koordynaty GPS stanowiska:

50°27'33" N; 21°18'46 E.

Na ternie stanowiska wykonano trzy zdjęcia fitosocjologiczne, każde o powierzchni 25m^2. Prace terenowe prowadzono wczesną wiosną – 22 kwietnia 2013 oraz w okresie optymalnym dla łąk świeżych – 4 czerwca 2013. Stwierdzone gatunki, w raz z określeniem pokrycia terenu, zestawiono poniżej. Ilościowość podano w skali Braun-Blanqueta (TOMANEK I WITKOWSKA-ŻUK, 2008), gdzie cyfra „5" oznacza gatunek zajmujący największą powierzchnię, a cyfra „1" najmniejszą. Dodatkowe oznaczenia „+" oraz „r" dotyczą gatunków skrajnie nielicznych:

5 - dany gatunek pokrywa 75-100% badanej powierzchni

4 - dany gatunek pokrywa 50-75% badanej powierzchni

3 - dany gatunek pokrywa 25-50% badanej powierzchni

2 - dany gatunek pokrywa 5-25%

1 - dany gatunek pokrywa <5% badanej

+ - mała liczba (2 – 5 osobników)

r - pojedyncze osobniki

Cyfra „3" w drugiej kolumnie tabeli umieszczona przy *Arrhenatherum elatioris* oznacza, że gatunek ten pokrywa 25% do 50% zdjęcia fitosocjologicznego o powierzchni 25m^2.

Nomenklaturę oparto na wydanej przez Instytut Botaniki PAN krytycznej liście roślin naczyniowych (MIREK I IN.,1995). Gatunki i siedliska oznaczono za pomocą dostępnego przewodnika (MATUSZKIEWICZ, 2007) i klucza (RUTKOWSKI, 2007).

Wyniki badań flory

Badania wykazały obecność świeżych, bogatych gatunkowo łąk z klasy Molinio-Arrhenatheretea z dominującym *Arrhenatherum elatioris, Dactylis glomerata* oraz dużym udziałem *Alopecurus pratensis.* Cechuje je dobry poziom uwodnienia gruntu (najbliższy rów odwadniający oddalony jest o około 200 m). Z powodu silnych opadów deszczu, w niektórych miejscach nagromadzona woda ma głębokość 20 cm. W tabelach podano wykaz gatunków dla każdego z trzech wykonanych zdjęć fitosocjologicznych.

Zanotowana w trzecim zdjęciu fito-

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

Zdjęcie fitosocjologiczne I	
Nazwa łacińska gatunku	Ilościowość
Arrhenatherum elatioris	3
Dactylis glomerata	3
Festuca rubra	2
Alopecurus pratensis	2
Ranunculus acer	1
Achillea millefolium	1
Lotus corniculatus	1
Leucantheum vulgare	1
Gallium mollugo	1
Campanula patula	+
Holcus lanatus	+
Trifolium pratense	+
Lychnis flos – cuculi	+
Myosotis arvensis	+
Viola arvensis	+
Lathyrus palustris	+
Potentilla anserina	+
Trifolium repens	+
Heracleum sphondylium	+
Prunella vulgaris	+
Veronica chamaedrys	+
Taraxacum officinale	+

Zdjęcie fitosocjologiczne II	
Nazwa łacińska gatunku	Ilościowość
Arrhenatherum elatioris	3
Dactylis glomerata	3
Carex sp.	2
Alopecurus pratensis	1
Achillea millefoium	1
Ranunculus acer	1
Phleum pratense	1
Lotus corniculatus	1
Leucantheum vulgare	1
Gallium mollugo	1
Festuca rubra	1
Prunella vulgaris	1
Trifoium pratense	+
Lycnis flos – cuculi	+
Myosotis arvensis	+
Myosotis palustris	+
Viola arvensis	+
Lathyrus palustris	+
Anthoxantum odoratum	+
Potentilla anserina	+
Planatago lanceolata	+
Trifolium repens	+
Trifoium dubium	+
Viccia cracca	+
Veronica chamedrys	+
Rhinantus minor	r

Zdjęcie fitosocjologiczne III	
Nazwa łacińska gatunku	Ilościowość
Arrhenatherum elatioris	3
Dactylis glomerata	3
Carex sp.	2
Alopecurus pratensis	2
Ranunculus acer	1
Phleum pratense	1
Lotus corniculatus	1
Leucantheum vulgare	1
Gallium mollugo	1
Festuca rubra	1
Trifoium pratense	+
Lycnis flos – cuculi	+
Myosotis arvensis	+
Viola arvensis	+
Lathyrus palustris	+
Anthoxantum odoratum	+
Potentilla anserina	+
Trifoium dubium	+
Viccia cracca	+
Taraxacum officinale	+
Daucus carota	+
Dactylorhiza majalis	+

socjologicznym Kukułka szerokolistna, *Dactylorhiza majalis* jest rośliną podlegającą częściowej ochronie. Preferuje miejsca wilgotne – podmokłe łąki, torfowiska i olszyny bagienne (NAWARA, 2012). Stwierdzono zaledwie dwa osobniki tego gatunku rosnące w odległości około trzech metrów od siebie.

Tereny wokół stanowiska Poczwarówki zwężonej *Vertigo angustior* to obszary o charakterze rolniczym. Bezpośrednio graniczące z opisywanym stanowiskiem tereny wykorzystywane są pod uprawy zbożowe oraz okopowe. Na obszarach położonych w obniżeniu wykształcają się łąki świeże. Obecne są małe, śródpolne skupiska drzew i krzewów (*Crataegus monogyna*, *Prunus spinosa*, *Cornus sanguinea*, *Betula pendula*, *Acer campestre*). Od drogi 79 Kraków – Sandomierz, stanowisko odgradza szeroki na około 10 – 30 m pas drzew (*Pinus silvestris, Picea abies, Betula pendula, Acer campestre*). Na graniczących ze stanowiskiem polach obecne są typowe dla upraw zbożowych i okopowych gatunki roślin naczyniowych – *Papaver rhoeas, Centaurea cyanus, Vicia cracca, Myosotis arvensis, Matricaria chamomilla, Apera spica – venti, Anagalis arvensis, Euphornia helioscopa, Sonchus arvensis, Viola arvenis, Veronica persica, Veronica chamaedrys, Chenopodium spp.*

Przy trasie 79, po stronie przeciwnej niż tereny ze stanowiskiem *Vertigo angustior* wykształcają się bory mieszane z klasy Vaccinio – Piceetea z dominującą *Pinus silvestris* oraz udziałem *Quercus robur, Carpinus betulus* oraz *Corylus avellana.*

Wnioski

Stanowisko Poczwarówki zwężonej (*Vertigo angustior*), we wsi Okrągła jest nie tylko miejscem bytowania cennego, zagrożonego gatunku mięczaka, lecz także podlegającej częściowej ochronie Kukułki szerokolistnej (*Dactlorhiza majalis*). Stwierdzona roślinność pozwala określić, że wykształcają się tutaj świeże, bogate gatunkowo łąki z klasy *Molinio-Arrhenatheretea*, które uznawane są za siedlisko Natura 2000 „niżowe i górskie świeże łąki użytkowane ekstensywnie" (*Arrhenatherion elatioris* - kod 6510). Na omawianym terenie planowana jest inwestycja związana z wydobyciem siarki. W przypadku dojścia inwestycji do skutku, przeniesienie *V. angustior* na siedlisko zastępcze, choć realne, powinno być dokładnie przemyślane. Siedlisko to powinno charakteryzować się optymalnymi warunkami siedliskowymi (gleby, roślinność, warunki hydrologiczne). Poczwarówka zwężona związana jest z roślinnością siedlisk podmokłych i świeżych porośniętych wysoką roślinnością. Żeruje na częściach roślin, u podstaw łodyg i liści. Na stanowisku zastępczym powinny wykształcać się zmiennowilogtne łąki trzęślicowe (*Molinion caeruleae*), szuwary wielkoturzycowe (*Magnocaricion*) lub świeże łąki o dużym stopniu uwodnienia gruntu (np. *Arrhenatherion elatioris*), lecz co ważne – nie podlegające podtopieniom, gdyż mogłoby to spowodować całkowite zniszczenie przeniesionej populacji, której większość bytuje nisko na powierzchnią gruntu. Stanowiskiem zastępczym mogą być także alkaliczne torfowiska. Ponadto należy zwrócić uwagę, czy proponowane stanowisko zastępcze nie jest zagrożone zmianą warunków hydrologicznych (prowadzona, bądź planowana melioracja terenu, osuszanie), co w krótkim czasie może doprowadzić do zniszczenia wykształconej wcześniej formacji roślinnej i całkowitej zmiany składu florystycznego, co spowodowałoby stopniowy zanik przeniesionej populacji. Siedlisk zastępczych można szukać w dolinach niewielkich rzek – w takich miejscach, w dolinie jednego cieku koncentruje się często kilka naturalnych stanowisk. Poszukując zastępczego siedliska, warto

WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL 1 (11)/2016 WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL 1 (11)/2016 WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL

zbadać je dokładnie kierując się wytycznymi zamieszczonych w przewodniku metodycznym opisującym Poczwarówkę zwężoną (MAKOMASKA-JUCHIEWICZ, BARAN, 2012). Optymalną metodą przenosin populacji jest przetransportowanie ściółkiz miejsc stwierdzenia. Należy przy tym wyszukać fragmenty stanowiska o największym zagęszczeniu osobników.

Literatura

CAMERON R. A. D. 2003. Life cycles, molluscan and botanical associations of *Vertigo angustior* and *Vertigo geyeri* (Gastropoda, Pulmonata, Vertiginidae). Heldia, 5, 7, 95-110.

CERNOHORSKY N. H., HORSAK M. CAMERON R. A. D. 2010. Land nasil species richness and small scales: the effects of distinguishing between live individuals and empty shells. Journal of Conchology 40, 233-240.

MAKOMASKA-JUCHIEWICZ M., BARAN P. (red.) 2012. Monitoring gatunków zwierząt. Przewodnik metodyczny. Część II. GIOŚ. Warszawa.

MATUSZKIEWICZ W. 2007. Przewodnik do oznaczania zbiorowisk roślinnych Polski. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa.

MIREK Z., PIĘKOŚ-MIRKOWA H., ZAJĄC A., ZAJĄC M. 2002. Flowering plants and Pteridophytes in Poland, a checklist – Krytyczna lista roślin naczyniowych Polski. W. Szafer institute of Botany, Polish Academy of Sciences. Kraków.

MYZYK S. 2005. Egg structure of some vertiginid species (Gastropoda, Pulmonata, Vertiginidae). Folia malacologica 13(4), 169-175.

MYZYK S. 2011. Contribution to the biology of the vertiginid species. Folia malacologica 19 (2), 55-80.

NAWARA Z. 2012. Rośliny łąkowe. Multico Oficyna Wydawnicza, Warszawa. 41-272.

POKRYSZKO B. M. 1990. The V*ertiginidae* of Poland (Gastropoda: Pulmonata: Pupilloidea) a systematic monograph. Annales Zoologici, 43 (8), 133-257.

POKRYSZKO B. M. 2003. Vertigo of Continental Europe – autecology, threats and conservation status (Gastropoda, Pulmonata, Vertiginidae). Heldia, 5 (7), 13-25.

RUTKOWSKI L. 2007. Klucz do oznaczania roślin naczyniowych Polski niżowej. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa.

TOMANEK J., WITKOWSKA-ŻUK. L. 2008. Botanika leśna. PWRiL, Warszawa, 379-386.

WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL 1 (11)/2016 WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL 1 (11)/2016 WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL

Ewa Broda
Olga Gąska
Dariusz Wolski
Katedra Fizjologii Zwierząt,
Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie
e-mail: darek.wolski@o2.pl

PROFILAKTYKA NAJCZĘŚCIEJ WYSTĘPUJĄCYCH CHORÓB U KRÓLIKÓW HODOWLANYCH I UTRZYMYWANYCH W WARUNKACH DOMOWYCH

PREVENTION OF THE MOST COMMON DISEASES IN BREEDING AND PET RABBITS

Streszczenie

Królik domowy jest udomowioną formą królika europejskiego (*Oryctolagus cuniculus*), zajęczaka z rodziny zającowatych. Oprócz znaczenia hodowlanego, wykorzystywany jest jako zwierzę laboratoryjne oraz coraz częściej pełni funkcję utrzymywanego dla towarzystwa zwierzęcia domowego. W związku z wysoką podatnością królików na czynniki chorobotwórcze, oprócz dobrych warunków zoohigienicznych i żywienia, ważną rolę odgrywa zapobieganie chorobom poprzez regularną profilaktykę. Wśród najczęściej występujących chorób królików z jakimi mogą spotkać się zarówno hodowcy jak i miłośnicy tych zwierząt są: pomór królików, myksomatoza, kunikuloza, kokcydioza, kolibakterioza, pastereloza oraz dermatozy (świerzb, trichofytoza). Ważne jest by je poznać, a na zauważone ewentualne zmiany móc w porę zareagować.

Słowa kluczowe: królik, choroby zakaźne, profilaktyka, szczepionki.

Summary

Domestic rabbit is a domesticated form of european rabbit (*Oryctolagus cuniculs*), a lagomorph the member of the taxonomic order Lagomorpha. Except for its role as a breeding animal, it is increasingly used as a laboratory animal and is kept as a domestic pet. In relation with high susceptibility to nosogenic factors, keeping a welfare association and proper nutrishment is a key factor but we should remember that vaccinations are the most important means of prevention. The most common rabbit diseases are rabbit haemorrhagic disease, myxomatosis, cuniculosis, coccidiosis, colibacteriosis, pasteurellosis and dermatosis. It is imperative to acquaint oneselves with basic information about each illness in order to react as quick as possible.

Key words: rabbits, infectious diseases, prevention, vaccines.

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.pp.org.pl

WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL 1 (11)/2016 WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL 1 (11)/2016 WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL

WSTĘP

WYGLĄD I PARAMETRY FIZJOLOGICZNE KRÓLIKA DOMOWEGO

Zdrowy królik charakteryzuje się czujnością wobec otoczenia i żywo reaguje na docierające bodźce ze środowiska. Skóra jest gładka, bez wyprysków, prawidłowo pielęgnowane futro równe i czyste. Błona śluzowa wszystkich naturalnych otworów ciała jest różowa, pokryta niewielką ilością śluzu, brak jest wycieków z nosa, oczu, uszu, pyszczka oraz narządów rodnych. Prawidłowa temperatura wewnętrzna królika waha się w granicach 38,5-39,5 °C, a różnica 1°C związana jest przede wszystkim z wiekiem, płcią oraz stanem fizjologicznym. Młode zwierzęta mają temperaturę zawierającą się w górnej granicy normy. Prawidłowe tętno u królika wynosi 120-150 uderzeń/minutę, a ilość oddechów 50-60/min. Ruja trwa przeciętnie 12-36 h, a ciąża 28-32 dni, młode rodzą się ślepe i pozbawione włosa. Zdrowe zwierzę jest ruchliwe, ma zachowany apetyt i pragnienie (KRZYMOWSKI, 2005, TABORSKA, 1996).

WYBRANE CHOROBY WIRUSOWE KRÓLIKÓW

MYKSOMATOZA

Myksomatoza królików to zakaźna i bardzo zaraźliwa choroba wirusowa, dotycząca zarówno królików domowych, jak i dziko żyjących. Czynnikiem etiologicznym myksomatozy jest wirus należący do rodzaju *Leporipoxvirus*, rodziny *Poxviridae*.

Głównym źródłem zakażenia są chore króliki, które wydalają wirus wraz z kałem, moczem i śliną oraz bezobjawowi nosiciele wirusa (bezobjawowy nosiciel to zwierzę, u którego po przechorowaniu choroby zakaźnej lub bezobjawowym zakażeniu, wirus utrzymuje się w organizmie mimo braku objawów klinicznych). Transmisja wirusa możliwa jest również przez uszkodzenie skóry oraz zanieczyszczoną wodę, paszę i ściółkę. Najważniejszą rolę w rozprzestrzenianiu się zakażenia odgrywają wektory - owady krwiopijne, np. muchy, pchły, komary (ZWOLIŃSKI, 2012). Dlatego myksomatoza ma charakter sezonowy, ze szczytem nasilenia zachorowań przypadającym na sierpień i wrzesień. Związane jest to z największą aktywnością owadów w tych miesiącach (KOSTRO I WSPÓŁAUT., 2005).

U królików dziko żyjących za potencjalny czynnik sprzyjający zakażeniu uznaje się aktywność rozrodczą. W tym czasie następuje nasilenie kontaktów między zwierzętami, ciężarne samice są narażone na stres związany z porodem i laktacją, a w stadzie pojawiają się młode króliki wrażliwe na zakażenie (KWIT I WSPÓŁAUT., 2011).

Przebieg choroby zależy od oporności rasowej, osobniczej królików i stopnia zjadliwości wirusa, która uległa zróżnicowaniu w wyniku licznych pasaży w warunkach naturalnych. W latach 50. XX wieku powstała pięciostopniowa skala zjadliwości szczepów wirusa myksomatozy na podstawie odsetka śmiertelności zwierząt i czasu przeżywania (MARSHALL I WSPÓŁAUT., 1960). Choroba może przebiegać w postaciach nadostrej, ostrej, przewlekłej i atypowej. W postaci nadostrej jedynym objawem jest silne zaczerwienienie spojówek i nagłe zejście śmiertelne. Postać ostra cechuje się szybkim przebiegiem prowadzącym do wyniszczenia i śmierci królika. W miejscu zakażenia pojawia się guzek oraz zaczerwienie i obrzęk powiek oraz zewnętrznych narządów płciowych. Obrzęki mają konsystencję galaretowatą. Temperatura wewnętrzna ciała może dochodzić do 42 °C. W ciągu kilku dni myksomatoza przybiera postać uogólnioną, a guzki pojawiają się na kończynach

i tułowiu. W wyniku immunosupresyjnego działania wirusa dochodzi do wtórnych zakażeń bakteryjnych. Manifestują się one ropnym zapaleniem powiek i spojówek prowadzącym do ślepoty, zakażeniem układu oddechowego (zapalenie płuc) i moczowo-płciowego. Zwierzęta padają w ciągu 7-14 dni od zakażenia (KOSTRO I WSPÓŁAUT., 2005).

Przy postaci przewlekłej, która rozwija się pierwotnie lub wtórnie u królików, u osobników które przeżyły ostrą postać choroby, po 10- 15 dniach od zakażenia tworzą się galaretowate obrzęki na głowie i łapach. W okolicy krocza, odbytu i narządów płciowych obrzęki są bolesne i gorące. Podobnie jak w postaci ostrej, może rozwinąć się zapalenie płuc. W końcowym etapie króliki padają wśród objawów porażenia ciała, w związku z zaatakowaniem przez wirus ośrodkowego układu nerwowego. W przypadku wystąpienia powikłań wskaźnik śmiertelności wynosi 25-90%, a króliki przeżywają do 40 dni.

Postać atypowa (amyksomatozowa), w przeciwieństwie do pozostałych form choroby, rozwija się w okresie zimowym. Zarażenie następuje przez kontakt bezpośredni chorych zwierząt. Szczepy wirusa wywołujące postać atypową charakteryzują się zwiększonym powinowactwem do układu oddechowego. Charakterystycznymi objawami są zapalenie spojówek i surowicze, a następnie śluzowo-ropne wycieki z nosa. Widoczne są również małe guzki w miejscu wniknięcia wirusa oraz obrzęki na głowie i narządach płciowych. Ponadto, stwierdza sie obecność krwawych plam na małżowinach usznych, mosznie i pochwie. (KUPCZYŃSKI I WSPÓŁAUT., 2013). Wstępne rozpoznanie myksomatozy stawia się na podstawie objawów klinicznych jednak ostateczne potwierdzenie wymaga specjalistycznych badań laboratoryjnych. Nie ma skutecznej metody leczenia choroby.

Według ustawy o ochronie zwierząt i zwalczaniu chorób zakaźnych zwierząt z 11 marca 2004 roku, myksomatoza znajduje się w wykazie chorób podlegających obowiązkowi rejestracji (rejestracja polega na zgłoszeniu podejrzenia choroby Powiatowemu Lekarzowi Weterynarii). Króliki chore i podejrzane o zakażenie należy poddać eutanazji, a zwłoki będące źródłem zakażenia poddać utylizacji. Po zlikwidowaniu ogniska choroby przeprowadza się dezynfekcję pomieszczeń i klatek, w których przebywały zwierzęta. W związku z tak rygorystycznym postępowaniem w przypadku wybuchu choroby najważniejsze jest jej zapobieganie.

Profilaktyka szerzenia się tej choroby polega m.in. na zakupie królików ze sprawdzonych i wolnych od zakażenia hodowli. Po zakupie, zwierzęta muszą odbyć kwarantannę. Ważne jest utrzymywanie klatek w czystości i regularne odkażanie pomieszczeń, w których przebywają króliki. Należy stosować preparaty owadobójcze i siatki ochronne (moskitiery), zwłaszcza w okresie letnim, aby zapobiec przenoszeniu wirusa przez wektory (KUPCZYŃSKI I WSPÓŁAUT., 2013).

Najistotniejsze oraz najskuteczniejsze są szczepienia zgodne z programem szczepień. Na rynku dostępna jest szczepionka zawierająca żywy atenuowany (o osłabionej zjadliwości) wirus myksomatozy, którą stosuje się u zwierząt powyżej 4 tygodnia życia. Odporność poszczepienna pojawia się po około 2 tygodniach i utrzymuje się przez 6 miesięcy. Po tym czasie należy powtórzyć szczepienie. Nie należy szczepić zwierząt chorych i osłabionych, ponieważ może to spowodować zachorowanie na myksomatozę (KWIT I WSPÓŁAUT., 2012).

W Polsce dostępna jest również szczepionka zawierająca wirus myksomatozy poddający ekspresji gen białka wirusa krwotocznej choroby królików, jest to Nobivac Myxo-RHD (BERTAGNOLI I GELFI, 1996). W wyniku tego króliki uodparniane są zarów-

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnpp.org.pl

WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL 1 (11)/2016 WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL 1 (11)/2016 WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL

no przeciw wirusowi myksomatozy, jak i przeciw wirusowi krwotocznej choroby królików. Preparat można podawać zwierzętom od 5 tygodnia życia. Odporność rozwija się w ciągu 3 tygodni i utrzymuje się przez rok. Po podaniu szczepionki może wystąpić przejściowe podniesienie temperatury ciała o 1-2 ˚C. W ciągu dwóch pierwszych tygodni po szczepieniu, w miejscu iniekcji, obserwuje się nieznaczny, niebolesny obrzęk, który ustępuje całkowicie w ciągu 3 tygodni od szczepienia (KOSTRO I WSPÓŁAUT., 2005).

WIRUSOWA KRWOTOCZNA CHOROBA KRÓLIKÓW (POMÓR KRÓLIKÓW)

Pomór królików to zaraźliwa choroba królików domowych i dziko żyjących. Czynnikiem etiologicznym jest wirus zaklasyfikowany do rodziny *Calicivirdae*, rodzaju *Lagovirus*. Pierwotnym źródłem zakażenia są chore króliki wydalające wirus szczególnie ze śliną i wyciekiem z nosa oraz ozdrowieńcy, którzy pozostają nosicielami i siewcami wirusa przez okres 4 tygodni od momentu wyzdrowienia. Wtórną rolę w szerzeniu się choroby odgrywają zanieczyszczone odchodami chorych zwierząt ściółka, woda i pasza. Istotną rolę w przenoszeniu zarazka przypisuje się ptakom, gryzoniom, psom, kotom i personelowi pomocniczemu w hodowlach królików. Zarażenie może nastąpić drogą oddechową, pokarmową lub przez uszkodzoną skórę (DRZEWIECKA, 2011).

Przebieg choroby zależy od zjadliwości szczepu wirusa, kondycji i wieku zwierzęcia oraz sprawności układu immunologicznego. Wyróżnia się trzy postacie wirusowej krwotocznej choroby królików: nadostrą, ostrą i podostrą. W postaci nadostrej brak jest charakterystycznych objawów, a króliki padają w ciągu 48 godzin od zarażenia. Postać ostra rozpoczyna się od niepokoju i duszności. Zwierzęta wykazują niechęć do ruchu przyjmując postawę ulgową ułatwiającą oddychanie. Pojawia się pienisto-krwisty wypływ z jamy ustnej, nosowej i odbytu. Ciepłota ciała wzrasta powyżej 40 ˚C. Pogłębia się niepokój oraz obserwuje się objawy nieurologiczne w postaci ataksji, ruchów wiosłowych, opierania czoła o podłoże, konwulsji, a w końcowym etapie śpiączki. Śmierć następuje po 2 dniach od zakażenia (PAŹDZIOR I WSPÓŁAUT., 2011).

ENCEFALITOZOONOZA (IN. KUNIKULOZA)- CHOROBA PIERWOTNIACZA

Kunikuloza to choroba wywoływana przez pierwotniaka *Encefalitiozoon cuniculi,* który jest chorobotwórczy nie tylko dla królików, ale także dla psów, myszy, wiewiórek, małp. Co bardzo ważne jest zoonozą (choroba przenoszona ze zwierzęcia na człowieka). Do zakażenia królików dochodzi głównie *per os* (przez jamę ustną), poprzez zjadanie siana i paszy zanieczyszczonej sporami, pochodzącymi z moczu i kału zakażonych osobników, możliwe jest również zakażenie drogą aerogenną i śródmaciczną. Spory wnikają do organizmu i rozprzestrzeniają się wraz z krwią. Wykazują szczególne powinowactwo do komórek śródbłonka naczyń krwionośnych w mózgu, nerkach i gałce ocznej. Przebieg choroby i jej objawy kliniczne uzależnione są od lokalizacji pasożyta. Pojawia się niewydolność nerek i objawy ze strony układu moczowego, zaburzenia widzenia (odklejenie siatkówki, zaćma), charakterystyczne objawy nerwowe: skręt szyi, oczopląs, przechylenie ciała na jedna stronę, napadowe kręcenie się wokół własnej osi, zaburzenia równowagi, a w końcowej fazie paraliż i zejście śmiertelne (SUTER I WSPÓŁAUT., 2001). Rozpoznania choroby dokonuje się poprzez obserwację charakterystycznych objawów, test pośredniej fluorescencji, ELISA lub Western blot (MALUTA, 2013). Terapia polega na podawaniu albendazolu

(5-10 mg/kg m.c. 3-10 dni) bądź fenbendazolu (10-20 mg./ kg.mc. 10 dni). Dodatkowo włącza się leczenie niwelujące opisane objawy. Do metod zapobiegania zakażenia królików *E.cuniculi* jest przestrzeganie podstawowych zasad higieny oraz dezynfekcja, unikanie przepełnienia klatek, eliminacja zwierząt chorych ze stada lub izolacja osobników chorych i ich leczenie (KOSTRO I WSPÓŁAUT., 2005).

WYBRANE CHOROBY SKÓRY

ŚWIERZB USZNY

Najczęściej występującym pasożytem u królików jest świerzb uszny (*Psoroptes cuniculi*). Do zarażenia dochodzi poprzez kontakt z chorymi osobnikami lub przebywanie w pomieszczeniach wcześniej zajmowanych przez chore zwierzęta, których nie poddano odpowiedniej dezynfekcji. Początkowe stadium choroby to zaczerwienienie skóry, gęsty lub suchy wysięk i strupy na małżowinach usznych, w miarę rozwoju choroby strupy powiększają się i zlewają ze sobą. Mogą obejmować całą małżowinę uszną i przewód słuchowy. Do charakterystycznych objawów należy potrząsanie głową oraz intensywny świąd, który powoduje drapanie się zwierząt, co zwiększa ryzyko wystąpienia wyłysień i powikłań w postaci wtórnych zakażeń bakteryjnych. W ekstremalnych przypadkach inwazja może przenosić się na brzuch i okolice odbytu (SWARNAKAR I WSPÓŁAUT., 2014). Rozpoznanie stawia się na podstawie badania klinicznego, wykrycia pasożyta w zeskrobinie skórnej oglądanej pod mikroskopem. Leczenie polega na podawaniu iwermektyny w dawce 0,4 mg/kg m.c. Skuteczną profilaktyką jest utrzymanie higieny w klatce lub w królikarni, ograniczanie kontaktu zwierząt chorych ze zdrowymi oraz przecięcie drogi zakażenia. Zarówno właściciele, hodowcy i personel weterynaryjny powinni pamiętać, że jest to zoonoza. Poprzez przestrzeganie zasad higieny w kontaktach ze zwierzętami zmniejszamy ryzyko przeniesienia tej choroby na siebie (SZCZEPANIK I WSPÓŁAUT., 2008; LEWANDOWSKA, 2013).

GRZYBICE SKÓRY

Grzybice skóry spotykane są u królików z osłabioną odpornością (głównie przy chorobach wpływających na układ odpornościowy) lub trzymanych w bardzo złych warunkach zoohigienicznych. Zakażenie najczęściej wywoływane jest przez *Trichophyton mentagrophytes*, rzadziej przez *Microsporum canis, Trichophyton tonsuaris* czy *Microsporum gypseum*. Objawami grzybicy skórnej mogą być: świąd kończyn piersiowych i/lub miedniczych, wyłysienia uszu i ich okolicy, nadmiernie zrogowaciały naskórek, okrągłe wyłysienia z rumieniem skóry oraz świądem. Rozpoznania dokonujemy na podstawie objawów klinicznych, trichogramu (badanie włosa), badaniu mikroskopowym zeskrobin, oraz wyniku posiewów zeskrobiny na specjalistyczną pożywkę mikrobiologiczną (podłoże na Sabourauda). Do leczenia ogólnego stosuje się ketokonazol (5-10 mg/kg m.c.) lub gryzeofulwinę (25 mg/kg m.c.) natomiast do leczenia miejscowego używa się maści z klotrimazolem lub enilkonazolem. Niezbędna jest również dezynfekcja pomieszczeń, w których przebywają zwierzęta. Profilaktyka polega na zachowaniu prawidłowych warunków bytowych i żywieniowych, oraz unikanie kontaktu z zarażonymi zwierzętami. (SZCZEPANIK I GOŁYŃSKI, 2004 I 2008).

WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL 1 (11)/2016 WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL 1 (11)/2016 WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL

WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL 1 (11)/2016 WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL 1 (11)/2016 WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL

ENTEROPATIE

ENTEROTOKSEMIA

Enterotoksemia królików to choroba zakaźna wywoływana przez bakterie beztlenowe z rodzaju *Clostridium*: *C. spiriforme, C. perfringens, C. septicum, C. difficile.* Znajdują się one w powierzchownych warstwach gleby, a zakażenie następuje droga pokarmową. *C. Spiriformae* wchodzi w skład mikroflory przewodu pokarmowego królików. Jeżeli nastąpi spadek odporności lub długotrwale stosowanie antybiotyków może doprowadzić to do autoinfekcji. Enterotoksemia może przebiegać w postaci ostrej, gdzie obserwowane są nagłe padnięcia, bez widocznych objawów klinicznych, podostrej i przewlekłej, przy których zwierzęta nie mają apetytu, są osłabione, występuje cuchnąca, wodnista biegunka (czasem z domieszka krwi). Prowadzi to do szybkiego odwodnienia i wyniszczenia organizmu, co bez podjętej interwencji lekarsko-weterynaryjnej prowadzi do śmierci. Dobre efekty terapeutyczne uzyskuje się po stosowaniu sulfonamidów i tetracyklin. Zwierzęta skrajnie wyniszczone należy poddać eutanazji. Zapobieganie polega na ograniczeniu stosowania antybiotyków w okresie odchowu młodych, minimalizacji stresu (transport, odsadzenie), okresowej dezynfekcji klatek oraz poddawaniu kwarantannie nowo zakupionych zwierząt wprowadzanych do stada/domu. Immunoprofilaktyka swoista nie została jeszcze opracowana (LICOIS I WSPÓŁAUT., 2004).

KOLIBAKTERIOZA

Kolibakterioza jest wywoływana przez bakterie *Escherichia coli* należącą do rodziny *Enterobacteriaceae*. Zarazek jest symbiontem – zasiedla przewód pokarmowy. Do zakażenia dochodzi na drodze autoinfekcji przy spadku odporności i uzjadliwienia się szczepów symbiotycznych *E.coli* lub droga pokarmową poprzez zanieczyszczoną ściółkę, siano i paszę. Kolibakterioza najczęściej występuje u zwierząt młodych, zwykle w okresie odsadzeniowym, a także u królików 1-2 tygodniowych i 4-6 tygodniowych. U królików ssących występuje osowiałość, niechęć do poruszania się, wyschnięte błony śluzowe, brak apetytu, biegunka o żółtym zabarwieniu. U zwierząt odsadzonych od matki objawami choroby są brak łaknienia, odwodnienie, ostra wodnista biegunka z postępującym spadkiem masy ciała, a w konsekwencji zahamowanie wzrostu i rozwoju zwierząt. Leczenie polega na podawaniu antybiotyków *per os* -dobre efekty terapeutyczne przynosi stosowanie enrofloksacyny (5-20 mg/kg m.c.). Postępowanie prowadzące do zmniejszenia pojawiania się w stadzie kolibakteriozy to usuwanie czynników ryzyka u osesków polegające na poprawie warunków zoohigienicznych, dezynfekcja klatek, kojców i wybiegów, odpowiednie żywienie. Można również podawać autoszczepionki samicom przed kryciem (HALLS, 2008; PRAAG, 2003).

KOKCYDIOZA/EIMERIOZA

Eimerioza to najpopularniejsza choroba pasożytnicza królików wywoływana przez pierwotniaki z rodzaju *Eimeria spp.* (m.in. *E.Intestinalis, E.flavenscens* - które okalizują się w jelitach). Źródłem zakażenia są oocysty znajdujące się w środowisku, wydalane wraz z kałem przez króliki chore lub nosicieli. Do zarażenia dochodzi drogą pokarmową przez zanieczyszczona oocystami paszę lub siano. Występuje w formie jelitowej, która dominuje w populacji królików hodowlanych i wątrobowej, która jest rzadziej spotykana. Najbardziej narażone są młode króliki do 12 tyg życia (GONZALEZ-REDONDO I WSPÓŁAUT., 2008; ONCEL I WSPÓŁAUT., 2011). Objawami kokcydiozy są apatia, brak apetytu, wzdęty brzuch, biegunka z domieszka

śluzu lub krwi (przy formie wątrobowej rzadko występuje). Leczenie polega na podawaniu sulfonamidów z trimetoprimem (30 mg/kg m.c.) Zapobieganie polega na utrzymaniu higieny i prewencyjnym podawaniu kokcydiostatyków: salinomycyny lub robenidyny dodawanych do paszy w postaci granulatu. Paszę i siano należy wykładać do paśników i misek tak, aby nie miały kontaktu z podłogą. Nowo wprowadzane zwierzęta należy poddać 2 tygodniowej kwarantannie (SADZIKOWSKI I WSPÓŁAUT., 2008; PAKANDL, 2009).

PASTERELOZA

Pastereloza jest zakaźną i zaraźliwą chorobą bakteryjną występującą w populacji królików. Chorobę wywołuje Gram-ujemna pałeczka *Pasteurella multocida,* należąca do rodzaju *Pasteurella*. U królików *P. multocida* bytuje jako komensal (zależność o charakterze symbiozy między dwoma lub więcej gatunkami, przy czym jeden z gatunków czerpie z tej zależności wyraźne korzyści, nie szkodząc pozostałym) w górnych drogach oddechowych, pochwie i w jamie bębenkowej ucha środkowego (KOSTRO I WSPÓŁAUT., 2005).

Źródłem zakażenia są chore zwierzęta, które wydalają pałeczki bakterii ze śliną, wydzieliną z nosa, moczem, kałem, wydzieliną z dróg rodnych oraz mlekiem (KUPCZYŃSKI I WSPÓŁAUT., 2013). Wtórnym źródłem zakażenia są zanieczyszczone woda i pasza. Do zakażenia dochodzi drogą oddechową, rzadziej aerogenną. W przypadku złych warunków utrzymania, błędów żywieniowych oraz stresu dochodzi do obniżenia odporności, co doprowadza do uzjadliwienia bakterii i autoinfekcji. Przebieg choroby u królików zależy od rodzaju i stopnia zjadliwości szczepu bakterii, wieku i statusu immunologicznego zwierząt oraz czynników ryzyka. *P. multocida* wywołuje wiele postaci klinicznych choroby o przebiegu ostrym i przewlekłym, takich jak: posocznica, przewlekłe nieżytowe zapalenie nosa, zatok i płuc, ropnie w tkance podskórnej, ropne zapalenie ucha środkowego i wewnętrznego, ropne zapalenie mózgu oraz ostre nieżytowe lub ropne zapalenie błony śluzowej i gruczołu mlecznego u samic, a u samców zapalenie jąder i najądrzy (KOSTRO I WSPÓŁAUT., 2005).

Najczęściej występuje forma oddechowa objawiająca się ostrym zapaleniem błony śluzowej jamy nosowej. Widoczny jest śluzowo-ropny wyciek z nosa, a zwierzę głośno oddycha, kicha i kaszle. Czasem infekcja obejmuje spojówki lub całą gałkę oczną doprowadzając do ślepoty. Ostra postać choroby może przechodzić w formę przewlekłą co manifestuje się dusznością, osłabieniem i wycieńczeniem. W fazie końcowej może dochodzić do zaniku małżowin nosowych i zapalenia płuc przebiegającego z wysoką gorączką. Choroba zwykle kończy się śmiercią zwierząt. W postaci posocznicowej brak jest charakterystycznych objawów. Zgon następuje w ciągu 24-48 godzin. Bakteria może również powodować różniej wielkości ropnie, lokalizujące się na głowie, szyi, przedramionach i narządach płciowych. Zmiany te wykazują konsystencję twardą (BUDNIAK I WSPÓŁAUT., 2012). Jeśli pałeczki zaatakują ucho środkowe i mózg rozwija się ich ropne zapalenie. Następuje przerost, obrzęk i przekrwienie błony śluzowej ucha środkowego, a jama bębenkowa wypełnia się ciągliwą ropą. W mózgu występują ropnie, co wiąże się z objawami neurologicznymi i skrętem szyi. *P. multocida* wywołująca infekcje w drogach rodnych samic królików powoduje zapalenie macicy i pochwy. Dochodzi do ropomacicza, dodatkowo pojawia się surowiczy lub śluzowo-ropny wypływ z dróg rodnych. Może również wystąpić wspomniane wcześniej zapalenie gruczołu sutkowego, a u samców zapalenie jąder i najądrzy (BUDNIAK I WSPÓŁAUT., 2012).

Diagnozę pasterelozy stawia się na

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL 1 (11)/2016 WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL 1 (11)/2016 WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL

podstawie objawów klinicznych, badania sekcyjnego oraz szczegółowych badań laboratoryjnych. Przed wdrożeniem leczenia należy oddzielić zwierzęta chore od zdrowych. W dużych hodowlach zaleca się wyeliminować chore króliki, które stanowią źródło zakażenia dla pozostałych zwierząt. Mniejsze stada można poddawać leczeniu. Stosuje się antybiotyki z grupy tetracyklin, pochodnych nitrofuranu i aminoglikozydów i chinolonów. Mimo to terapia jest bardzo trudna i często obserwuje się nawroty choroby. W związku z tym bardzo ważne jest wprowadzenie działań profilaktycznych. Polegają one na zapewnieniu odpowiednich warunków higienicznych, optymalnej temperatury środowiska oraz ograniczenia stresu zwierząt. Ważnym elementem ustrzegającym przed chorobą jest stosowanie szczepionek (KOSTRO I WSPÓŁAUT., 2005).

W Polsce dostępna jest szczepionka z inaktywowanym szczepem bakterii *P. multocida*. Stosuje się ją u królików hodowlanych powyżej 7 tygodnia życia. Odporność pojawia się w ciągu 2 tygodni i utrzymuje się maksymalnie 3 miesiące. Zwierzęta domowe szczepi się tylko wtedy gdy mają brać udział w wystawach i związany z tym stres (zagęszczenie zwierząt) wpływa supresyjnie na układ immunologiczny. Skuteczność szczepienia jest dyskusyjna, ponieważ przeciwciała powstałe w wyniku wakcynacji ograniczają jedynie rozprzestrzenianie się choroby, nie chronią zaś przed samym zakażeniem (DEEB I WSPÓŁAUT., 1990).

PODSUMOWANIE

Przedstawione choroby mogące wystąpić u królików domowych i hodowlanych stanowią poważny problem z jakim borykają się hodowcy i miłośnicy tych zwierząt. Zarówno choroby wirusowe, bakteryjne, grzybicze czy pasożytnicze mogą spowodować w niesprzyjających okolicznościach śmierć zwierzęcia. Dlatego też ważne jest podjęcie wszelkich możliwych kroków w celu zapobieganiu zakażenia i roznoszenia się chorób pomiędzy osobnikami. Przedstawione objawy chorób, metody diagnostyki oraz sposoby leczenia i profilaktyki mogą stać się pomocne wszystkim osobom interesującym się prawidłowym utrzymaniem, pielęgnacją, zdrowiem i szeroko pojętym dobrostanem królików.

LITERATURA

BERTAGNOLI S., GELFI J., LE GALL G., BOILLETOT E., VAUTHEROT J. F., RASSCHAERT D., LAURENT S., PETIT F., BOUCRAUT-BARALON C., MILON A. 1996. Protection against Myxomatosis and Rabbit Viral Hemorrhagic Disease with Recombinant Myxoma Viruses Expressing Rabbit Hemorrhagic Disease Virus Capsid Protein. J Virol. 70, 5061–5066.

BUDNIAK S., KĘDRAK-JABŁOŃSKA A., SZULOWSKI K., SZCZAWIŃSKA A., REKSA M. 2012. Pastereloza królików – aktualny stan wiedzy. Medycyna Weterynaryjna. 68, 148-152.

DEEB B. J., DiGIACOMO R. F., BERNARD B. L., SILBERNAGEL S.M. 1999. Pasteurella multocida and Bordetella bronchiseptica Infections in Rabbits. Journal of Clinical Microbiology. 28, 70-75.

DRZEWIECKA A. 2011. Wirusowa krwotoczna choroba królików – nowe aspekty immunologiczne i anatomopatologiczne. Życie Weterynaryjne. 86, 865-869.

GONZALEZ-REDONDO P., FINZI A., NEGRETTI P., MICCI M. 2008. Incidence of coccidiosis in different rabbit keeping systems. Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. 60, 1267-1270.

HALLS A. E., 2008, Enteric Dis-

eases in Rabbits. Nutrifax. Nutrition News and Information Update, Canada.

KOSTRO K., GLIŃSKI Z. 2005. Choroby królików. Państwowe Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa.

KRZYMOWSKI T., 2005. Fizjologia zwierząt, Warszawa PWRiL.

KUPCZYŃSKI R., PIASECKI T. 2013. Profilaktyka chorób królików. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Wrocław.

KWIT E., CHROBOCIŃSKA M., BIGORAJ E. 2011. Myksomatoza królików, problem nadal aktualny. Życie Weterynaryjne. 86, 956-960.

KWIT E., CHROBOCIŃSKA M., BIGORAJ E. 2012. Szczepionki przeciw myksomatozie królików. Życie Weterynaryjne. 87, 572-574.

LEWANDOWSKA L. 2013. Schorzenia dermatologiczne królików. Weterynaria w Praktyce. 3, 91-96.

LICOIS D., WYERS M., COUDERT P. 2005. Epizootic Rabbit Enteropathy: experimantal trasmission and clinical characterization. Vet. Res. 36, 601-613.

MALUTA A. 2013. Wykorzystanie metod serologicznych i molekularnych w diagnostyce wybranych chorób egzotycznych zwierząt towarzyszących. Magazyn Weterynaryjny. 22, 809-814.

MARSHALL I. D., FENNER F. 1960. Studies in the epidemiology of infectious myxomatosis of rabbits. J. Hyg. Camb. 58, 485-488.

ONCEL T., GULEGEN E., SENLIK B., BAKIRCI S. 2011. Intestinal Coccidiosis in Angora Rabbits (Orytcolagus culiculus) Caused by Eimeria intestinalis, Eimeria perforans and Eimeria coecicola. YYU Veteriner Fakutesi Dergisi. 22, 27-29.

PRAAG E., 2003. Bacterial enteritis in rabbits. MediRabbit.com

PAKANDL M. 2009. Coccidia of rabbit: a review. Folia Parasitologica. 56, 153-166.

PAŹDZIOR K., OTROCKA-DOMAGAŁA I., ROTKIEWICZ T., DRZEWIECKA A. 2011. Wirusowa krwotoczna choroba królików-nowe aspekty immunologiczne i anatomopatologiczne. Życie Weterynaryjne. 86, 865-869.

SADZIKOWSKI A. B., SZKUCIK K., SZCZEPANIAK K.O., PASZKIEWICZ W. 2008. Występowanie pierwotniaków z rodzaju Eimeria u królików rzeźnych pochodzących z różnych hodowli. Medycyna Weterynaryjna. 64, 1426-1429.

SUTER C., MÜLLER-DOBLIES U.U., HATT J-M., DEPLAZES P. 2001. Prevention and treatment of Encephalitozooon cuniculi infection in rabbits with fenbendazole. Veterinary Record. 148, 478-480.

SWARNAKAR G., SHARMA D.,SAGNER B., ROA K. 2014.Infestation of ear mites Psoroptes cuniculi on farm rabbits and its anthropozoonosis in Gudli village of Udaipur District, India. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 3, 651-656.

SZCZEPANIK M., GOŁYŃSKI M. 2004. Choroby skóry najczęściej występujące u królików. Weterynaria w Praktyce 4, 26-28.

SZCZEPANIK M., GOŁYŃSKI M. 2008. Wybrane choroby skóry królików. Magazyn

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnpp.org.pl

Weterynaryjny Wydanie Specjalne- monografia, 64-68.

TABORSKA M. 1996. Królik Miniaturowy. Agencja wydawnicza Egros, Warszawa.

ZWOLIŃSKI C. 2012. Myksomatoza królików. Króliki. 41, 27-32.

WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL 1 (11)/2016 WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL 1 (11)/2016 WWW.NAUKIPRZYRODNICZE.SSNP.ORG.PL

Nauki Przyrodnicze

Warunki publikacji

1. Czasopismo działa w systemie Open Acces.

2. Redakcja szczególnie jest zainteresowana artykułami z następujących dziedzin nauk przyrodniczych: agrobioinżynierii, biochemii, biologii, biotechnologii, chemii, ekologii, farmacji, medycyny, ochrona środowiska, ogrodnictwa, technologii przetwórstwa żywności, toksykologii, zoologii, zootechniki, żywienie człowieka i inne.

3. Tekst musi zwierać następujące informacje: tytuł pracy, imię (w pełnym brzmieniu) i nazwisko(a) autora(ów), nazwę i adres zakładu pracy (w przypadku uczelni: nazwę uczelni, wydział, katedrę/za- kład/ instytut, adres), adres poczty elektronicznej (e-mail).

4. Do pracy należy dołączyć krótkie (nieprzekraczające 300 wyrazów) streszczenie w jęz. angielskim (wraz z tytułem) i polskim, informujące o zasadniczej jej treści. Dodatkowo w obu językach należy podać maksymalnie 5 słów kluczowych.

5. Czasopismo publikuje prace w języku polskim lub angielskim.

6. Tekst:
- musi zawierać wstęp, podsumowanie/wnioski i literaturę oraz podział tekstu właściwego na nagłówki;
- czcionka Times New Roman;
- odstępy między wierszami: 1;
- bez używania wyróżnień (np. podkreślenia), z wyjątkiem kursywy;
- wyraźne odznaczenie tytułów i nagłówków bez ich centrowania;
- zaznaczenie akapitów;
- wszystkie śródtytuły bez numeracji, czcionką tej samej wielkości;
- cytowane w tekście prace zaznaczamy przez podanie nazwiska autora(ów) (pisanych kapitalizowanymi literami) i roku publikacji w nawiasie półokrągłym, np. (BORKOWSKI, 2013), (FORNALIK I IN., 2011);
- cytowaną literaturę należy zestawić na końcu maszynopisu bez numeracji, w alfabetycznej kolejności, według nazwisk autorów, w następujących formatach:

artykuł:
TAMASKI J. S., ZOMBAN M. 1999. Jak pisać artykuł. Nauki Przyrodnicze. 1, 11-15.
rozdział:
GORTAT M. 2012. Fityniany – substancje antyodżywcze w żywieniu ludzi i zwierząt.[W:] Toksyczne substancje chemiczne. LIPIŃSKI W. (red.). Instytut Naukowo-Wydawniczy SPATUM., Radom. 107-127.
książka:
SEIDENSTICKER J. 1992. Wielkie koty, królewskie stworzenia dzikiego świata. Elipsa. Warszawa. 100-115.

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.pp.org.pl

Nauki Przyrodnicze

Warunki publikacji

7. Rysunki, schematy i fotografie:
- mają być wykonane w jednym z formatów: *.cdr, *.eps, *.tif, *.psd i dostarczone jako osobne pliki wraz ze zbiorem tekstowym. Redakcja nie przyjmuje figur w formacie: .doc czy .rtf;
- opisy na rysunkach powinny być wykonane czcionką odpowiedniej wielkości, nie mniejszą niż 12 punktów;
- podpisy pod rycinami powinny być zamieszczone na końcu artykułu na osobnej stronie;
- redakcja zaznacza sobie prawo odmówienia przyjęcia artykułu z uwagi na nieczytelny rysunek;
- autor artykułu oświadcza, że ma prawa autorskie do publikowanej grafiki;
- w przypadku, gdy Autorzy zamierzają włączyć do swego artykułu ilustracje publikowane przez autorów cytowanych prac oryginalnych, należy uzyskać z wydawnictwa zgodę na przedruk;

8. Do pracy należy dołączyć list przewodni, podpisany przez wszystkich autorów, zawierający następujące informacje (wzory pism znajdują się na stronie www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl):
- oświadczenie o oryginalności artykułu i nieskładaniu analogicznej pracy do druku w innym czasopiśmie;
- określenie wkładu poszczególnych autorów w powstanie tekstu;
- informacje o źródłach finansowania (np. grant) w przypadku prac oryginalnych (podpisanie zgody na opublikowanie artykułu).

9. Autorzy są zobowiązani do wykonania korekty artykułu i zwrotu poprawionego tekstu wiadomością e-mail do Redakcji w ciągu 4 dni od chwili otrzymania.

10. Przyjęcie pracy do druku jest równoznaczne z przeniesieniem przez Autora (Autorów) praw autorskich na rzecz Wydawcy.

11. Recenzja artykułu:
- do każdej oceny powołuje się co najmniej dwóch niezależnych recenzentów;
- rekomendowanym rozwiązaniem jest model, w którym autor(rzy) i recenzenci nie znają swoich tożsamości (tzw. „double-blind review proces”);
- ma mieć formę pisemną i kończyć się jednoznacznym wnioskiem co do dopuszczenia artykułu do publikacji lub jego odrzuceniu.

12. Kontakt z Redakcją:
Stowarzyszenie Studentów Nauk Przyrodniczych
ul. Wyżynna 20/56, 20-560 Lublin
e-mail: kontakt@ssnp.org.pl
Redaktor naczelny: Mateusz Gortat, tel. 661 657 875

13. Artykuły prosimy nadsyłać na adres e-mail: kontakt@ssnp.org.pl

14. Autor ponosi koszty wszystkich pozytywnych recenzji w wypadku nie naniesienia poprawek do artykułu, co skutkuje brakiem możliwości publikacji.

NaukiPrzyrodnicze

Acceptance rules of article to publish

1. The academic journal functions in Open Access system.

2. The editorial office is particularly interested in the articles concerning the following branches of natural science: agrobioengineering, biochemistry, biology, biotechnology, chemistry, ecology, pharmacy, medicine, environmental protection, horticulture, food processing technology, toxicology, zoology, zootechnics, human nutrition etc.

3. The text must contain the following information: the title of paper, full name and surname(s) of author(s), the name and address of workplace (in case of collage: the name of collage, faculty, department/section/institute, address), e-mail.

4. It is obligatory to include a short (up to 300 words) summary (with the title) in English and Polish, informing about the basic content of the paper. Additionally, up to five key words in English and Polish must be added.

5. The text:
- must contain an introduction, conclusion(s), references and a division of the main text into section headings;
- Times New Roman font;
- line spacing: 1;
- cannot contain highlighting (such as underlying), using italics is an exception;
- clear distinction of titles and headers, without centering of the text;
- marking paragraphs (indention);
- all the subheadings must be without numeration and with the same font size;
- indicating the relevant reference in the cited text needs to be done by providing surname(s) of author(s) (all letters capitalized) and a year of publication in round brackets, e.g. (BORKOWSKI, 2013), (FORNALIK ET. ALL, 2011);
- the cited literature needs to be arranged in the end of typescript, without numeration, in the alphabetic order according to surnames of the authors, in the following way:

the paper:
Makarski B., Gortat M. 2011. Effect of supplementation with copper in different chemical forms on selected physiological blood markers and content of minerals In selected tissues of turkeys. J. Elem. 16/4: 591-602, DOI - 10.5601/jelem.2011.16.4.08.
section:
Kulus D. 2014a. Biotechnological methods of ornamental plants reproduction. [In:] Jakość życia w badaniach młodych naukowców. Mucha-Szajek E. (ed.). Instytut Naukowo Wydawniczy Maiuscula. Poznań. 87-104.
book:
Sharma P. 2010. Emerging biotech business opportunities. Biotech Consortium India. 33-43.

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl 1 (11)/2016 www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl

NaukiPrzyrodnicze

Acceptance rules of article to publish

6. Drawings, diagrams and photographs:
- need to be provided in one of the following formats: *.cdr, *.eps, *.tif, *.psd and delivered as separate files with the text concerning them. The editorial office does not accept the files presented in .doc and .rtf format;
- descriptions on the drawing should be presented with the adequate font size (no less than 12);
- signatures under the drawing should be placed in the end of the article on a separate page;
- the editorial office reserves the right to refuse acceptance of the article due to unclear drawing;
- author of the article declares having copyright to the published graphics;
- if the authors intend to include in the article the illustrations of the cited authors of original works, the permission of the publisher to reprint the illustrations must be obtained.

7. Covering letter, signed by all the authors, needs to be included with the paper and should contain the following information:
- the statement about the originality of the article and not submitting the similar paper for publication in another journal;
- defining the contribution of individual authors in the creation of the text;
- information about the source of funding (e. g . grant) in the case of original works (signing permission to publish the article). The sample is available at www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl.

8. The authors are obliged to do proofread of the article and return the revised text via e-mail to the editorial office within four days from the date of receiving the article.
9. Acceptance for publication is tantamount to the transfer of copyright from the author(s) to the publisher.
10. The review of article:
- for each assessment at least two independent reviewers are appointed;
- the recommended solution is "double-blind evaluation process" in which both the reviewers and the authors do not know each other's identity;
- is to be prepared in written form with the conclusion in the end which specify whether the article is going to be published or refused.

11. Contact:
Students Association of Natural Sciences
ul. Wyżynna 20/56, 20-560 Lublin
e-mail: kontakt@ssnp.org.pl
Editor in Chief: Mateusz Gortat, tel. 661 657 875

12. Please, send your article to the following e-mail: kontakt@ssnp.org.pl
13. The author bears the costs of all the positive reviews in the case of not making corrections to the article, as a result the article will not be approved for publication.

www.ssnp.org.pl

www.naukiprzyrodnicze.ssnp.org.pl