



UNIwersYTET  
PRZYRODnicZY  
WE WROcŁAWIU



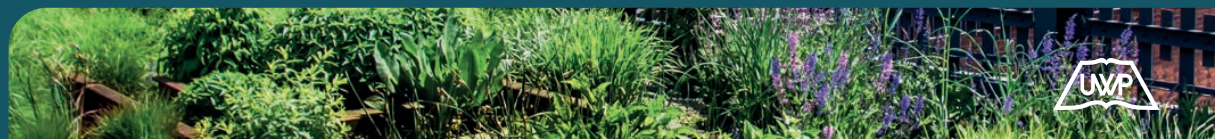
FORUM UCZELNI  
PRZYRODnicZYCH

KRURiP



Monografia naukowa pokonferencyjna  
XXVI Międzynarodowa Konferencja Studenckich Kół Naukowych  
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, 20–21 maja 2022 r.

# Problematyka nauk przyrodniczych i technicznych – Tom 5



Monografia naukowa pokonferencyjna  
XXVI Międzynarodowa Konferencja Studenckich Kół Naukowych  
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, 20–21 maja 2022 r.

---

---

# **Problematyka nauk przyrodniczych i technicznych - Tom 5**

---

---





REDAKCJA NAUKOWA:

Przewodniczący – prof. dr hab. inż. Damian Knecht

Członkowie: dr hab. inż. Jan Kazak, prof. uczelni  
dr hab. inż. Agnieszka Nawirska-Olszańska, prof. uczelni  
prof. dr hab. Artur Niedźwiedź  
dr inż. Przemysław Pokorny  
dr hab. inż. Janina Zawieja

Opracowanie redakcyjne i korekta  
Magdalena Kozińska-Skrzypiec

Łamanie  
Teresa Alicja Chmura

Okładka  
Paweł Wójcik

Wszystkie opublikowane rozdziały otrzymały pozytywne recenzje

Monografia zawiera zbiór tematycznych prac prezentowanych przez uczestników podczas XXVI Międzynarodowej Konferencji Studenckich Kół Naukowych, która odbyła się w dniach 20–21 maja 2022 roku na Uniwersytecie Przyrodniczym we Wrocławiu. Zawarte w niniejszej publikacji artykuły zostały zamieszczone na odpowiedzialność ich autorów, którzy przesłali ich treści Organizatorom konferencji oraz zatwierdzili poprawki recenzentów.

Monografia jest dostępna w systemie OPEN ACCES

ISBN 978-83-7717-383-1

WYDAWNICTWO UNIWERSYTETU PRZYRODNICZEGO WE WROCŁAWIU

ul. Sopocka 23, 50–344 Wrocław, tel. 71 328 12 77

e-mail: [wydawnictwo@upwr.edu.pl](mailto:wydawnictwo@upwr.edu.pl)

---

Ark. wyd. 6,2 Ark. druk. 5,75

## Spis treści

---

Emilia Małkusz, Bartosz Rył, Paulina Wnuk, Łukasz Antoniewicz

**ZASTOSOWANIE EKSTRAKTÓW Z WYBRANYCH ROŚLIN Z RODZINY  
APIACEAE W KONTROLOWANIU WZROSTU *FUSARIUM OXYSPORUM* ..... 7**

Aleksandra Knotek, Agnieszka Gołębiowska

**OCENA ZDOLNOŚCI SORPCYJNYCH GĄBK  
*LUFFA CYLINDRICA* ..... 20**

Mateusz Gancarz, Magdalena Blacha, Patrycja Góra, Bartłomiej Figarski

**WYBRANE ASPEKTY BEZPIECZEŃSTWA UŻYTKOWANIA PUBLICZNYCH  
PLACÓW ZABAW NA TERENIE MIASTA LUBLIN ..... 29**

Maria Huszcza, Bartosz Skóra

**OCENA WPŁYWU KONDYCJI KRÓW (BCS) W OKRESIE OKOŁOPORODOWYM  
NA WYSTĘPOWANIE *ANOESTRUS* TYPU 1 I 2 U KRÓW MLECZNYCH ..... 38**

Zuzanna Czekaj, Julia Habrzyk, Marta Szubstarska

**OCENA ŚWIADOMOŚCI OPIEKUNÓW NA TEMAT DOBROSTANU KOTÓW ..... 50**

Martyna Cenian

**OCENA ŚWIADOMOŚCI MIESZKAŃCÓW POWIATU WŁODAWSKIEGO  
W ASPEKcie ODDZIAŁYWANIA AZBESTU NA ŚRODOWISKO  
I ZDROWIE LUDZI ..... 62**

Paulina Góra

**PROGNOZA KURSÓW KRYPTOWALUT Z UŻYCIEM  
SZTUCZNEJ SIECI NEURONOWEJ ..... 72**

Maciej Jakobina

**INDUKCJA KULTUR *KALUSA ŻÓŁTEJ* ODMIANY *PETUNII WIELKOKWIATOWEJ*  
(*PETUNIA X HYBRIDA GRANDIFLORA*) ORAZ ANALIZA ZWIĄZKÓW LOTNYCH ..... 82**



# ZASTOSOWANIE EKSTRAKTÓW Z WYBRANYCH ROŚLIN Z RODZINY APIACEAE W KONTROLOWANIU WZROSTU *FUSARIUM OXYSPORUM*

Emilia Małkusz<sup>1\*</sup>, Bartosz Rył<sup>1</sup>, Paulina Wnuk<sup>2</sup>, Łukasz Antoniewicz<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Opolski, Wydział Przyrodniczo-Techniczny, Koło Naukowe Biotechnologów,  
ul. Kominka 6, 45-032 Opole

<sup>2</sup> Uniwersytet Opolski, Wydział Przyrodniczo-Techniczny, ul. Kominka 6, 45-032 Opole

\* e-mail: emiliamalkusz9@gmail.com

## Streszczenie

Celem badań było uzyskanie ekstraktów z 4 wybranych roślin należących do rodziny Apiaceae, a także określenie ich składu chemicznego i aktywności antygrzybowej wobec *Fusarium oxysporum*. Zastosowano ekstrakty z kminku zwyczajnego, kminu rzymskiego, fenkułu włoskiego i anyżu o stężeniach 0,50; 1,0; 1,5 i 2,0%. Skład chemiczny ekstraktów oznaczono metodą chromatografii GC-MS. Ocenę wrażliwości *F. oxysporum* przeprowadzono metodą zatruwania podłoży w podłożu glukozowo-ziemniaczanym. Uzyskane ekstrakty wyraźnie różniły się składem jakościowo-ilościowym. W ekstrakcie z kminku zwyczajnego dominowały karwon i limonen, z kminu rzymskiego  $\rho$ -kuminoaldehyd i  $\gamma$ -terpinen, fenkułu – trans-anetol i fenchon, a z anyżu – trans-anetol i estragol. Ekstrakty z kminu rzymskiego i anyżu niezależnie od zastosowanego stężenia powodowały całkowite zahamowanie wzrostu *F. oxysporum*, natomiast ekstrakty z kminku zwyczajnego i fenkułu wykazywały takie działanie przy zastosowaniu wyższych stężeń.

**Słowa kluczowe:** *Fusarium oxysporum*, ekstrakty roślinne, Apiaceae, aktywność antygrzybowa

## 1. Wprowadzenie

Kminek zwyczajny (*Carum carvi* L.), kmin rzymski (*Cuminum cyminum* L.), fenkuł włoski (*Foeniculum vulgare* Mill.) i anyż (*Pimpinella anisum* L.) należą do rodziny selerowatych (Apiaceae). Rośliny te uprawiane są na obszarach w różnych szerokościach geograficznych, a w szczególności w północnych regionach o umiarkowanym klimacie. Są bogate w olejki eteryczne, a komórki i przewody wydzielnicze występują zarówno w organach wegetatywnych, jak i generatywnych. Ich produkcja wynosi nawet do 25 ton rocznie, co wiąże się z zapotrzebowaniem głównie przemysłu farmaceutycznego, spożywczego oraz kosmetycznego [26].

Rośliny z rodziny Apiaceae wytwarzają szeroką gamę metabolitów wtórnych, przede wszystkim są to monoterpény, seskwiterpény i fenylopropanoidy, które wykazują właściwości lecznicze i aromatyczne. Szacuje się, że olejek eteryczny w kminku zwyczajnym występuje

w ilości 0,5–1,4%, w kminie rzymskim 2,5–4,5%, fenkule 3,0–6,0% oraz anyżu 2,0–6,0% [25, 26].

Kmin zwyczajny, kmin rzymski, anyż i fenkuł od starożytności wykorzystywano w lecznictwie, a w szczególności w chorobach żołądkowo-jelitowych. Wykazują one także działanie przeciwdrobnoustrojowe, przeciwbólowe, przeciwzapalne, rozkurczowe, antyoksydacyjne, moczopędne i przeciwnowotworowe, dlatego często są składnikami farmaceutyków i elementem medycyny tradycyjnej [31].

Zdolność do hamowania rozwoju szerokiej gamy bakterii i grzybów (tab. 1), w tym fitopatogennych i chorobotwórczych dla człowieka, spowodowała, że olejki eteryczne stały się naturalnymi konserwantami żywności i kosmetyków, a także składnikami biopestycydów [31].

Tabela 1. Działanie przeciwdrobnoustrojowe olejków eterycznych z roślin z rodziny Apiaceae

Roślina	Mikroorganizmy wrażliwe na olejek eteryczny	Źródło
<i>Carum carvi</i>	<i>Clavibacter</i> sp., <i>Curtobacterium</i> sp., <i>Rhodococcus</i> sp., <i>Erwinia</i> sp., <i>Xanthomonas</i> sp., <i>Ralstonia</i> sp., <i>Agrobacterium</i> sp.	[19]
	<i>Bacillus subtilis</i>	[25]
	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella enteritidis</i> , <i>Listeria monocytogenes</i>	[22]
	<i>Botrytis cinerea</i>	[7]
	<i>Alternaria alternata</i>	[3]
<i>Cuminum cyminum</i>	<i>Clavibacter</i> sp., <i>Curtobacterium</i> sp., <i>Rhodococcus</i> sp., <i>Erwinia</i> sp., <i>Xanthomonas</i> sp., <i>Ralstonia</i> sp., <i>Agrobacterium</i> sp.	[19]
	<i>Vibrio</i> sp.	[15]
	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella Typhi</i>	[27, 35]
	<i>Asperigillus</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Rhizopus</i> sp., <i>Botrytis</i> sp.	[32]
<i>Foeniculum vulgare</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Shigella dysenteriae</i>	[4]
	<i>Botrytis cinerea</i>	[7]
	<i>Alternaria alternata</i>	[3]
<i>Pimpinella anisum</i>	<i>Salmonella typhi</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Micrococcus luteus</i>	[2]
	<i>Asperigillus niger</i> , <i>A. oryzae</i> , <i>A. ochraceus</i>	[18]



Olejki eteryczne roślin z rodziny Apiaceae coraz częściej stają się zamiennikami syntetycznych substancji aktywnych, co także wpisuje się we współczesne trendy ekologiczne. Ich właściwości przeciwtleniające i przeciwdrobnoustrojowe sprawiają, że są kandydatami do zastąpienia chemicznych antyoksydantów takich jak butylowany hydroksyanizol, butylowany hydroksytoluen czy trzeciorzędowy butylohydrochinon [1]. Sztuczne konserwanty, które zapobiegają niepożądanym zmianom w żywności, mogą mieć negatywny wpływ na zdrowie człowieka, szczególnie gdy dostają się do organizmu w dużych ilościach. Istnieją doniesienia, że mogą powodować nadwrażliwość, alergię, astmę, uszkodzenia neurologiczne, a nawet nowotwory. Te przypuszczenia, jak i wymagania konsumentów powodują, że poszukuje się naturalnych zamienników, a w tej roli sprawdzają się olejki eteryczne [8]. Posiadają one status GRAS (ang. Generally Recognized as Safe), a więc mogą być dodatkami do żywności [16]. Kminek stosowany jest jako przyprawa, a jego ekstrakty stanowią dodatek smakowy (np. do chleba żytniego, sera i wyrobów mięsnych). Wykorzystywany jest także w konserwacji suchej fermentowanej kiełbasy, jako dodatek do powłoki chitozanowej, która zapobiega utlenianiu lipidów podczas nawet pięciu miesięcy przechowywania. Wykazano, że olejek eteryczny z kminku w ilości 0,05–0,15% może być stosowany jako konserwant ciasta podczas 60-dniowego przechowywania, a jego działanie jest porównywalne z syntetycznym butylowanym hydroksyanizolem [25, 26]. Ponadto limonen, składnik olejków eterycznych z rodziny selerowatych, ma przyjemny cytrynowy smak i jest stosowany jako dodatek antybakteryjny np. do soków owocowych, słodyczy lub lodów [16].

Podobnie w przemyśle kosmetycznym wykorzystuje się olejki eteryczne roślin z rodziny Apiaceae. Mogą one być stosowane jako naturalny filtr przeciwsłoneczny lub cenne źródło naturalnych przeciwtleniaczy. Ze względu na zawartość wysoko lotnych aromatycznych monoterpenów, w tym m.in. aldehydu kuminowego, anetolu, linalolu i karwonu, olejki aromatyzują płyny do płukania ust, pasty do zębów, mydła i balsamy. Aldehyd kuminowy, będący głównym składnikiem olejku eterycznego z kminu rzymskiego (*Cuminum cyminum* L.) i kminku zwyczajnego (*Carum carvi*), znalazł zastosowanie w perfumach [26, 33].

W ostatnich latach intensywnie rozwija się produkcja biopestycydów, co z pewnością jest związane z rosnącą świadomością dotyczącą ekologicznej żywności, jak i doniesieniami odnośnie szkodliwości syntetycznych środków ochrony roślin. Ich niewłaściwe lub nadmierne wykorzystanie może powodować gromadzenie się w środowisku, co jest niebezpieczne dla całego ekosystemu. Również człowiek jest narażony na oddziaływanie tych chemikaliów, które dostając się do organizmu w sposób pośredni lub bezpośredni, mogą mieć działanie neurotoksyczne, kancerogenne i teratogenne [28, 29]. Zastosowanie olejków eterycznych jako zamienników pestycydów przynosi szereg korzyści jak brak toksycznych pozostałości, wzrostu oporności fitopatogenów i szkodliwości wobec ssaków. Jednak problemem może być szybki rozkład ekstraktów roślinnych w środowisku, co może wpływać na niższą wydajność gotowych produktów. Jak podaje literatura, rozwiązaniem może być kontrolowane uwalnianie, zapewnione przez nośniki w postaci naturalnych polimerów jak chitozan, celuloza lub alginian. Na przykład nanożel złożony z kwasu chitozanowo-kawowego znacznie poprawił działanie przeciwrzybicze olejku eterycznego z *C. cyminum* przeciwko *Aspergillus flavus* [30].

Olejki eteryczne charakteryzują się działaniem bakteriobójczym, wirusobójczym, grzybobójczym, przeciw pasożytniczym i owadobójczym, stąd szerokie zainteresowanie tymi substancjami i ich potencjalnym wykorzystaniem w roli agrochemikaliów. Wykazują one jednak duże zróżnicowanie w składzie chemicznym, co może być uzależnione od takich

czynników, jak fizjologia rośliny, klimat, warunki glebowe, czas zbioru roślin oraz warunki przechowywania. Nawet w obrębie tych samych gatunków roślin skład chemiczny ekstraktów może być różny [6, 30].

## 1.1. Cel badań

Celem pracy było otrzymanie ekstraktów z owoców kminu zwyczajnego (*Carum carvi* L.), fenkułu włoskiego (*Foeniculum vulgare* Mill.), kminu rzymskiego (*Cuminum cyminum* L.) i anyżu (*Pimpinella anisum* L.) metodą ekstrakcji ciągłej w aparacie Soxhleta i ocena ich składu chemicznego oraz działania grzybobójczego wobec *Fusarium oxysporum*.

## 2. Materiał i metody

Materiał badawczy stanowił szczep *Fusarium oxysporum* wyizolowany z porażonych ziarniaków pszenicy i ekstrakty z owoców fenkułu (*Foeniculum vulgare*), kminku zwyczajnego (*Carum carvi*), kminu rzymskiego (*Cuminum cyminum*) i anyżu (*Pimpinella anisum*). Ekstrakty roślinne otrzymano metodą ekstrakcji ciągłej w aparacie Soxhleta z wykorzystaniem chlorku metylenu jako rozpuszczalnika.

Skład chemiczny olejków eterycznych oznaczono metodą spektrometrii masowej sprzężonej z chromatografem gazowym (GC-MS) z wykorzystaniem chromatografu gazowego HP6890 sprzężonego z spektrometrem masowym HP 5973A firmy Hewlett-Packard.

Aktywność biobójczą olejków w ograniczaniu liniowego wzrostu grzyba oceniano metodą zatrufania podłoża [20]. W badaniach wykorzystano inokulum w formie krążków pożywki glukozowo-ziemniaczanej (PDA, firmy BTL) przerośniętej grzybnią o średnicy 10 mm. Otrzymywano je, prowadząc hodowlę grzyba metodą zalewową w podłożu PDA. W tym celu upłynnioną pożywkę PDA inokulowano wystandaryzowaną zawiesiną *F. oxysporum* o gęstości  $1 \cdot 10^6$  jtk  $\cdot$  cm<sup>-3</sup> i inkubowano 14 dni w temperaturze  $25 \pm 3^\circ\text{C}$ . Na płytce Petriego wylewano 20 cm<sup>3</sup> pożywki PDA, zawierającej kolejno 0,5; 1,0; 1,5 lub 2,0 [%] testowanych olejków, a następnie inokulum wykładano centralnie na pożywce PDA z dodatkiem olejków eterycznych. Kontrolę stanowiła pożywka PDA (bez dodatku olejków) z inokulum *F. oxysporum*. Próby inkubowano w temperaturze  $25 \pm 3^\circ\text{C}$  przez 14 dni i mierzono średnicę kolonii grzybów po 3, 4, 5, 8, 11, 12 i 14 dobach. Badanie wykonano w trzech powtórzeniach. Wyniki podano jako średnie z 3 pomiarów w formacie: średnia  $\pm$  odchylenie standardowe (SD) [mm].

Przeprowadzono także ocenę efektu biobójczego (grzybobójczego lub grzybostatycznego) testowanych olejków. Na płytce Petriego wylewano 20 cm<sup>3</sup> upłynnionego podłoża PDA i po zestaleniu pożywki w centralnej części płytki umieszczano inokulum przeniesione z prób z ekstraktami roślinnymi o stężeniach: 0,5; 1,0; 1,5 i 2,0 [%]. Po 10 dniach inkubacji w temperaturze  $25 \pm 3^\circ\text{C}$  oceniano efekt działania olejków na rozwój *F. oxysporum*. Za działanie grzybobójcze uznawano brak rozwoju grzybni wokół krążka inokulum, a za działanie grzybostatyczne – rozwój grzybni wokół inokulum.

### 3. Analiza wyników

Olejki uzyskane z roślin rodziny Apiaceae wyraźnie różniły się składem jakościowo-ilościowym, pomimo przynależności poszczególnych gatunków do tej samej rodziny. W ekstrakcie z kminku zwyczajnego dominowały karwon ( $59,691 \pm 0,137\%$ ) i limonen ( $33,036 \pm 0,313\%$ ), z kminu rzymskiego  $\rho$ -kuminoaldehyd ( $33,877 \pm 0,349\%$ ) i  $\gamma$ -terpinen ( $16,959 \pm 0,088\%$ ), fenkułu: trans-anetol ( $76,98 \pm 0,042\%$ ) i fenchon ( $13,81 \pm 0,046\%$ ), a z anyżu: trans-anetol ( $87,52 \pm 0,133\%$ ) i estragol ( $4,20 \pm 0,051\%$ ) (tab. 2).

Tabela 2. Skład chemiczny ekstraktów roślinnych z kminku zwyczajnego (*Carum carvi* L.), fenkułu (*Foeniculum vulgare* Mill.), kminu rzymskiego (*Cuminum cyminum* L.) i anyżu (*Pimpinella anisum* L.)

Nazwa związku	Zawartość [%] $\pm$ SD				IR
	<i>Carum carvi</i>	<i>Foeniculum vulgare</i>	<i>Cuminum cyminum</i>	<i>Pimpinella anisum</i>	
1	2	3	4	5	6
$\alpha$ -tujen	–	–	$0,330 \pm 0,026$	–	926
$\alpha$ -pinen	$1,642 \pm 0,327$	$1,590 \pm 0,027$	$1,006 \pm 0,012$	$0,360 \pm 0,014$	933
kamfen	–	$0,180 \pm 0,014$	–	–	948
$\beta$ -thujen	–	$0,090 \pm 0,007$	–	–	973
$\beta$ -pinen	$0,168 \pm 0,053$	$0,100 \pm 0,002$	$13,621 \pm 0,021$	$0,040 \pm 0,004$	982
pseudopinen	–	–	$0,583 \pm 0,002$	–	987
$\beta$ -mircen	–	$0,570 \pm 0,011$	–	$0,030 \pm 0,002$	990
$\alpha$ -felandren	–	$0,160 \pm 0,009$	$0,366 \pm 0,005$	$0,220 \pm 0,006$	1002
3-karen	–	–	–	$0,120 \pm 0,006$	1003
$\alpha$ -terpinen	–	–	$0,184 \pm 0,003$	$0,030 \pm 0,001$	1012
<i>p</i> -cymen	–	$0,160 \pm 0,018$	$13,624 \pm 0,058$	$0,060 \pm 0,005$	1022
pseudo-limonen	–	–	–	$0,580 \pm 0,015$	1024
limonen	<b><math>33,036 \pm 0,313</math></b>	$1,760 \pm 0,027$	$1,127 \pm 0,043$	–	1027
$\gamma$ -terpinen	–	$0,570 \pm 0,015$	<b><math>16,959 \pm 0,088</math></b>	$0,040 \pm 0,004$	1060
$\beta$ -terpinen	$0,054 \pm 0,003$	$0,090 \pm 0,006$	–	$0,010 \pm 0,002$	1069
terpinolen	–	–	–	$0,050 \pm 0,001$	1084
<i>p</i> -cymenen	–	–	$0,552 \pm 0,011$	–	1086
fenchon	–	<b><math>13,81 \pm 0,046</math></b>	–	–	1087
linalol	$0,157 \pm 0,035$	–	–	$0,970 \pm 0,026$	1096
trans- <i>p</i> -mentha-2,8-dien-1-ol	$0,556 \pm 0,023$	–	–	–	1118
tlenek cis-limonenu	$0,201 \pm 0,009$	–	–	–	1132
cis- <i>p</i> -mentha-2,8-dien-1-ol	$0,140 \pm 0,009$	–	–	–	1134
tlenek trans-limonenu	$0,212 \pm 0,031$	–	–	–	1137
trans-pinokarweol	–	–	$0,245 \pm 0,018$	–	1138
kamfóra	–	$0,360 \pm 0,020$	–	–	1145

Tabela 2 cd.

1	2	3	4	5	6
2,6-dimetylo-3,5,7-oktatrien-2-ol	–	–	0,146 ± 0,003	–	1168
terpinen-4-ol	–	–	0,369 ± 0,006	0,130 ± 0,003	1178
<i>p</i> -cymen-8-ol	–	–	0,333 ± 0,003	–	1187
trans- <i>p</i> -mentha-1(7),8-dien-2-ol	0,175 ± 0,007	–	–	–	1189
$\alpha$ -terpineol	0,105 ± 0,004	–	–	0,120 ± 0,007	1192
pulgeon			0,953 ± 0,014	–	1193
cis-dihydrokarwon	0,264 ± 0,008	–	–	–	1197
estragol	–	2,710 ± 0,071	0,154 ± 0,023	<b>4,200 ± 0,051</b>	1198
cis-sabinol	–	–	0,144 ± 0,020	–	1202
trans-dihydrokarwon	0,152 ± 0,006	–	–	–	1204
cis-karweol	0,131 ± 0,004	–	–	–	1221
werbenon	0,667 ± 0,048	–	–	–	1229
<i>p</i> -kuminoaldehyd	–	–	<b>33,877 ± 0,349</b>		1240
cis-anetol	–	0,070 ± 0,009	–	0,540 ± 0,016	1244
karwon	<b>59,691 ± 0,137</b>	–	–	–	1245
<i>p</i> -ment-6-en-2-on	–	–	1,207 ± 0,226	–	1249
aldehyd anyżowy	–	–	-	1,300 ± 0,143	1259
trans-anetol	–	<b>76,980 ± 0,042</b>	-	<b>87,520 ± 0,133</b>	1272
felandral	–	–	0,383 ± 0,022	–	1273
2-karen-10-al	–	–	8,254 ± 0,037	–	1282
3-karen-10-al	–	–	2,033 ± 0,377	–	1287
$\alpha$ -kopaen	–	–	–	0,130 ± 0,008	1372
$\beta$ -gurjunen	–	–	0,385 ± 0,018	–	1375
allo-aromadendren	–	–	–	0,120 ± 0,012	1401
(cis)- $\alpha$ -bergamoten	–	–	–	0,070 ± 0,002	1409
kariofilen	0,112 ± 0,004	–	0,184 ± 0,004	0,560 ± 0,013	1416
(trans)- $\alpha$ -bergamoten	–	–	–	0,430 ± 0,010	1431
$\alpha$ -humulen	–	–	–	0,060 ± 0,005	1451
cis- $\beta$ -farnezen	–	–	0,222 ± 0,028	–	1453
$\beta$ -humulen	–	–	–	0,030 ± 0,003	1454
akoradien	–	–	2,450 ± 0,059	–	1473
$\gamma$ -elemen	–	–	–	0,100 ± 0,003	1493
$\beta$ -bisabolen	–	–	–	0,120 ± 0,029	1504
$\delta$ -kadynen	–	–	–	0,080 ± 0,004	1522
nerolidol	–	–	–	0,080 ± 0,006	1566
tlenek kariofilenu	0,285 ± 0,012	–	–	–	1589

Tabela 2 cd.

1	2	3	4	5	6
karotol	–	–	0,311 ± 0,002	–	1604
γ-eudesmol	–	–	–	0,020 ± 0,001	1636
τ-kadynol	–	–	–	0,050 ± 0,003	1645
α-kadynol	–	–	–	0,080 ± 0,005	1657
1-(3-metylo-2-butenoksy)- 4-(1-propenylo)benzen	–	–	–	1,550 ± 0,017	1679
pentakozan	–	0,820 ± 0,009	–	–	2500
oktakozaan	2,252 ± 0,090	–	–	–	2800

IR – wskaźnik retencji

Źródło: opracowanie własne

Analiza chemiczna ekstraktów z roślin z rodziny Apiaceae stała się w ostatnich latach częstą tematyką badań, ze względu na różnice w składzie chemicznym zależne od chemotypu rośliny. Jak podają Ghannay i in. [12], w olejku z kminku zwyczajnego dominowały karwon, w ilości 58,2%, i limonen, który stanowił 38,5%.

W badaniach Ghasemian i in. [13] ekstrakt z fenkułu zebranego z różnych regionów Iranu wyróżniał się największą zawartością trans-anetolu (49,6–78,7%), fenchonu (8,4–10,5%) oraz limonenu (5,6–6,7%).

Głównymi składnikami olejku eterycznego otrzymanego z owoców kminu rzymskiego uprawianego w Maroku były: γ-terpinen-7-al (37,2%), aldehyd kuminowy (29,1%) oraz γ-terpinen (10,0%) [14].

Bettaieb Rebey i in. [9] zbadali wpływ technik suszenia na skład olejków eterycznych, jednak bez względu na zastosowaną metodę każdorazowo trans-anetol dominował i stanowił 77,4–84,2%. Na podstawie powyższych doniesień można więc zauważyć, że główne składniki ekstraktów (z kminku zwyczajnego, fenkułu, kminu rzymskiego i anyżu) wykorzystanych w badaniach własnych są w większości zgodne z tymi, które podają inni autorzy. Natomiast często występują różnice ilościowe i jakościowe w składnikach śladowych, także pomimo przynależności roślin do jednej rodziny. Na rozbieżność w wydajności i składzie chemicznym mogą mieć wpływ genotyp, stadium dojrzałości, czynniki środowiskowe, jak i wykorzystane metody analityczne [21].

Aktywność biobójczą badanych olejków oceniano w stosunku do fitopatogenicznego izolat *F. oxysporum* metodą zatruwania podłoża (rys. 1).



Źródło: opracowanie własne

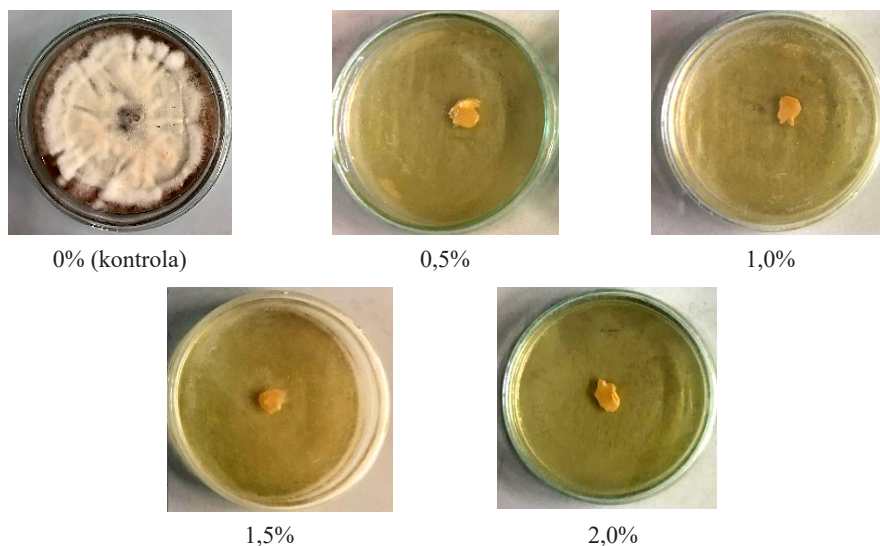
Rys. 1. Grzybnia (A) i mikrokonidia (B) *F. oxysporum* (powiększenie 600x) z 10-dobowej hodowli w temperaturze 25°C w podłożu PDA

Ekstrakty z kminu rzymskiego i anyżu niezależnie od zastosowanego stężenia powodowały całkowite zahamowanie wzrostu *F. oxysporum* (rys. 2), z kolei ekstrakty z kminu zwyczajnego i fenkułu wykazywały takie działanie przy zastosowaniu wyższych stężeń. Całkowite zahamowanie wzrostu grzyba wystąpiło przy zastosowaniu ekstraktu z fenkułu o stężeniach 1,0; 1,5 i 2,0 [%]. Natomiast ekstrakt z kminku zwyczajnego wykazywał takie działanie w stężeniach 1,5 i 2,0 [%] (tab. 3).

Tabela 3. Strefy wzrostu *Fusarium oxysporum* w obecności ekstraktów z kminu zwyczajnego, fenkułu, kminu rzymskiego i anyżu po 14 dniach doświadczenia

Strefy wzrostu <i>Fusarium oxysporum</i> [mm]				
Typ ekstraktu/ Stężenie [%]	<i>C. carvi</i>	<i>F. vulgare</i>	<i>C. cyminum</i>	<i>P. anisum</i>
K	84,17 ± 1,94	85,00 ± 0,63	86,17 ± 0,75	83,00 ± 1,80
0,5	23,83 ± 4,26	15,00 ± 7,75	–	–
1,0	12,33 ± 1,86	–	–	–
1,5	–	–	–	–
2,0	–	–	–	–

Źródło: opracowanie własne



Źródło: opracowanie własne

Rys. 2. Rozwój izolatu *F. oxysporum* w podłożu PDA po 14-dniowej inkubacji w obecności ekstraktu z kminu rzymskiego o stężeniach 0, 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 [%]

Dostępna literatura także często podejmuje temat zastosowania ekstraktów z kminu zwyczajnego, fenkułu, kminu rzymskiego i anyżu jako biologicznych środków ograniczających rozwój grzybów. Pawar i Thaker [24] porównali działanie wymienionych ekstraktów z rodziny Apiaceae wobec *Fusarium oxysporum* f. sp. *cicer*, stosując krażki wysycone tymi ekstraktami w ilości 5  $\mu$ l. Strefy inhibicji w przypadku zastosowania kminu rzymskiego wynosiły 68 mm, fenkułu – 49 mm, anyżu – 15 mm, a kminku zwyczajnego – 11 mm. W innych

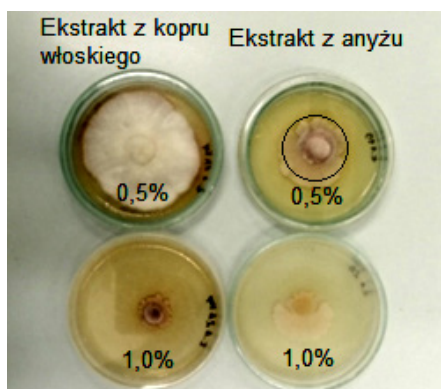
analizach całkowite zahamowanie rozwoju *F. oxysporum*, po 4 dniach inkubacji, powodowały ekstrakty z anyżu i fenkułu, w stężeniach odpowiednio 50 oraz 70  $\mu\text{l}\cdot 10\text{ cm}^{-3}$  PDA i dały one taki sam efekt jak kontrolnie zastosowany fungicyd Prosaro 250 EC [23].

Üstüner i in. [34] wykazali, że olejek z kminu rzymskiego w stężeniu powyżej 10  $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$  powodował całkowite zahamowanie wzrostu grzybni *F. oxysporum* Schl. mycelium. Działanie fungistatyczne tego olejku sprawdzali także Hashem i in. [17]; strefy zahamowania wzrostu *F. oxysporum* przy najniższym zastosowanym stężeniu (2%) wynosiły 0,83–1,13 cm, ale efekt inhibicji zwiększał się wraz ze wzrostem stężenia olejku z kminu rzymskiego. Dodatkowo wykazano, że zaprawianie nasion olejkiem z kminu rzymskiego redukowało od 65,40 do 67,90% zgniliznę korzeni *Cuminum cyminum* L., wywoływanej przez *F. oxysporum*.

Olejek anyżowy ograniczał rozwój *Fusarium oxysporum* MUCL 791, w zależności od zastosowanego stężenia. W przypadku tego olejku o stężeniu 10  $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$  współczynnik zahamowania rozwoju grzybni wyniósł 76%, natomiast w stężeniu dwukrotnie wyższym (20  $\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$ ) wykazywał działanie grzybobójcze. Równie dobrze hamował wzrost innych grzybów takich jak *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* i *Mucor pusillus* [11]. Inhibicję na wysokim poziomie uzyskano, stosując ekstrakt z *Pimpinella anisum* wobec *Fusarium oxysporum*, wyizolowanego z kukurydzy, gdzie strefa zahamowania wynosiła 17,20 mm, a inne olejki m.in. z rozmarynu, szaflwii, neroli, sosny zwyczajnej oraz lawendy okazały się nieskuteczne [10].

Olejek z fenkułu wykazał także silne właściwości hamujące wobec fitopatogenicznego grzyba, powodującego fuzaryjne wędnięcie grochu – *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*. Podobnie jak w badaniach własnych analizy przeprowadzone przez Ali i in. [5] wykazały, że olejek ten o stężeniu 5,0% całkowicie hamował rozwój tego grzyba.

Na podstawie przeprowadzonej w badaniach własnych oceny biobójczych właściwości badanych ekstraktów wykazano, że zastosowane w badaniach olejki z anyżu i kminu rzymskiego niezależnie od zastosowanego stężenia działały grzybobójczo (całkowite zahamowanie rozwoju grzybni). Natomiast w przypadku olejków z kminku zwyczajnego i fenkułu efekt biobójczy zależał od stężenia. Takie działanie wykazywał olejek z fenkułu od stężenia 1,0%, a olejek z kminku zwyczajnego od stężenia 1,5%. W niższych stężeniach te olejki działały grzybostatycznie (częściowe zahamowanie rozwoju grzybni) (rys. 3).



Źródło: opracowanie własne

Rys. 3. Grzybostatyczne i grzybobójcze działanie ekstraktów z anyżu i fenkułu o stężeniach 0,5–1,0% wobec *Fusarium oxysporum* po 10-dobowej hodowli w podłożu PDA. Na fotografii zaznaczono efekt grzybobójczy ekstraktu anyżowego zastosowanego w stężeniu 0,5%

Testowane olejki zastosowane w odpowiednich stężeniach można więc wykorzystać jako naturalne środki ochrony roślin przeciw *Fusarium oxysporum*.

#### 4. Podsumowanie

Uzyskane ekstrakty roślinne, mimo że pochodziły z owoców roślin należących do rodziny Apiaceae, wyraźnie różniły się składem chemicznym. W ekstrakcie z kminku zwyczajnego dominowały: karwon i limonen, z kminu rzymskiego:  $\rho$ -kuminoaldehyd i  $\gamma$ -terpinen, fenkułu – trans-anetol i fenchon, a z anyżu – trans-anetol i estragol. Pomimo różnic w składzie ilościowym i jakościowym wszystkie z nich wykazywały zdolność do całkowitego zahamowania rozwoju *F. oxysporum*, jednak w różnych stężeniach. Ekstrakty z kminu rzymskiego i anyżu wykazywały całkowitą inhibicję *F. oxysporum*, niezależnie od zastosowanego stężenia, natomiast ekstrakty z kminku zwyczajnego i fenkułu wykazywały takie działanie w stężeniach, odpowiednio: 1,5–2,0% i 1,0–2,0%. Spośród badanych ekstraktów najlepiej działały olejki z kminu rzymskiego i anyżu, wykazywały one efekt grzybobójczy już przy najniższym stężeniu – 0,5%, z kolei w przypadku pozostałych olejków taki efekt uzyskiwano dopiero w wyższych stężeniach. Otrzymane wyniki wskazują, iż ekstrakty roślin z rodziny Apiaceae mogą być potencjalnie wykorzystywane w biologicznej ochronie roślin, jednak ze względu na ich dużą różnorodność należałoby przed zastosowaniem wykonać dokładne analizy chemiczne i mikrobiologiczne.

#### Podziękowania

Serdeczne podziękowania za nadzór merytoryczny i wyrazy szacunku dla opiekunów Sekcji Mikrobiologii i Ekologii Koła Naukowego Biotechnologów Uniwersytetu Opolskiego: dr hab. inż. Teresie Krzyśko-Łupickiej, prof. UO oraz dr hab. Monice Sporek, prof. UO.

#### Literatura

- [1] Abdellaoui M., Bouhlali E.D.T., Rhaffari L.E., 2019. Chemical composition and antioxidant activities of the essential oils of cumin (*Cuminum cyminum*) conducted under organic production conditions. J. Essent. Oil-Bear. Plants, Vol. 22(6), 1500–1508.
- [2] Abdel-Reheem M.A.T., Oraby M.M., 2015. Antimicrobial, cytotoxicity, and necrotic ripostes of *Pimpinella anisum* essential oil. Ann. Agric. Sci., Vol. 60(2), 335–340.
- [3] Abdolahi A., Hassani A., Ghosta Y., Javadi T., Meshkatalasadat M.H., 2010. Essential oils as control agents of postharvest *Alternaria* and *Penicillium* rots on tomato fruits. J. Food Saf., Vol. 30, 341–352.
- [4] Akhbari M., Kord R., Jafari Nodooshan S., Hamed S., 2019. Analysis and evaluation of the antimicrobial and anticancer activities of the essential oil isolated from *Foeniculum vulgare* from Hamedan. Iran. Nat. Prod. Res., 1–4.
- [5] Ali M.O.H.D., Lal M.E.H.I., Khan A.N.I.S., Singh V.I.V.E.K., Singh P.K., 2013. Evaluation of leaf extracts and essential oils against *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi* – the causal agent of pea wilt. Indian Phytopath., Vol. 66(3), 316–318.
- [6] Alonso-Gato M., Astray G., Mejuto J.C., Simal-Gandara J., 2021. Essential Oils as Antimicrobials in Crop Protection. Antibiotics, Vol. 10(34), 1–12.



- [7] Aminifard M.H., Mohammadi S., 2012. Essential oils to control *Botrytis cinerea* *in vitro* and *in vivo* on plum fruits. J. Sci. Food Agric., Vol. 93, 348–353.
- [8] Anand S.P., Sati N., 2013. Artificial preservatives and their harmful effects: looking toward nature for safer alternatives. Int. J. Pharm. Sci., Vol. 4, 2496–2501.
- [9] Bettaieb Rebey I., Bourgou S., Ben Kaab S., Aidi Wannas W., Ksouri R., Saidani Tounsi M., Fauconnier M.L., 2020. On the effect of initial drying techniques on essential oil composition, phenolic compound and antioxidant properties of anise (*Pimpinella anisum* L.) seeds. J. Food Meas. Charact., Vol. 14(1), 220–228.
- [10] Ćosić J., Vrandečić K., Postić J., Jurković D., Ravlić M., 2010. *In vitro* antifungal activity of essential oils on growth of phytopathogenic fungi. Poljoprivreda, Vol. 16(2), 25–28.
- [11] Ferdes M., Al Juhaimi F., Özcan M.M., Ghafoor K., 2017. Inhibitory effect of some plant essential oils on growth of *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Mucor pusillus* and *Fusarium oxysporum*. S. Afr. J. Bot., Vol. 113, 457–460.
- [12] Ghannay S., Aouadi K., Kadri A., Snoussi M., 2022. GC-MS Profiling, Vibriocidal, Antioxidant, Antibiofilm, and Anti-Quorum Sensing Properties of *Carum carvi* L. Essential Oil: *In Vitro* and *In Silico* Approaches. Plants, Vol. 11(1072), 1–25.
- [13] Ghasemian A., Al-Marzoqi A.H., Mostafavi S.K.S., Alghanimi Y.K., Teimouri M., 2020. Chemical Composition and Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Foeniculum vulgare* Mill Essential Oils. J. Gastrointest. Cancer., Vol. 51(1), 260–266.
- [14] Hajib A., Nounah I., Oubihi A., Harhar H., Gharby S., Kartah B., Bougrin K., Charrouf Z., 2020. Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils from the Fruits of *Cuminum cyminum* L. and *Ammodaucus leucotrichus* L. (Apiaceae), J. Essent. Oil-Bear. Plants, Vol. 23(3), 474–483.
- [15] Hajlaoui H., Mighri H., Noumi E., Snoussi M., Trabelsi N., Ksouri R., Bakhrouf A., 2010. Chemical composition and biological activities of Tunisian *Cuminum cyminum* L. essential oil: A high effectiveness against *Vibrio* spp. strains. Food Chem. Toxicol., Vol. 48, 2186–2192.
- [16] Hao Y., Kang J., Guo X., Yang R., Chen Y., Li J., Shi L., 2021. Comparison of Nutritional Compositions and Essential Oil Profiles of Different Parts of a Dill and Two Fennel Cultivars. Foods, Vol. 10(1784), 1–13.
- [17] Hashem M., Moharam A.M., Zaied A.A., Saleh F.E.M., 2010. Efficacy of essential oils in the control of cumin root rot disease caused by *Fusarium* spp. Crop Prot., Vol. 29, 1111–1117.
- [18] Hu F., Tu X.F., Thakur K., Hu F., Li X.L., Zhang Y.S., Zhang J.G., Wei Z.J., 2019. Comparison of antifungal activity of essential oils from different plants against three fungi. Food Chem. Toxicol., Vol. 134(110821), 1–9.
- [19] Iacobellis N.S., Lo Cantore P., Capasso F., Senatore F., 2005. Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential oils. J. Agric. Food. Chem., Vol. 53(1), 57–61.
- [20] Krzyśko-Łupicka T., Walkowiak W., Białoń M., 2019. Comparison of the fungistatic activity of selected essential oils relative to *Fusarium graminearum* isolates. Molecules, Vol. 24(2), 311–324.
- [21] Laribi B., Kouki K., Bettaieb T., Mougou A., Marzouk B., 2013. Essential oils and fatty acids composition of Tunisian, German and Egyptian caraway (*Carum carvi* L.) seed ecotypes: A comparative study. Ind. Crops Prod., Vol. 41, 312–318.

- [22] Oroojalian F., Kasra-Kermanshahi R., Azizi M., Bassami M.R., 2010. Phytochemical composition of the essential oils from three Apiaceae species and their antibacterial effects on food-borne pathogens. *Food Chem.*, Vol. 120, 765–770.
- [23] Palfi M., Konjevoda P., Vrandečić K., 2019. Antifungal activity of essential oils on mycelial growth of *Fusarium oxysporum* and *Bortyitis cinerea*, *Emir. J. Food Agric.*, Vol. 31(7), 544–554.
- [24] Pawar V.C., Thaker V.S., 2007. Evaluation of the anti-*Fusarium oxysporum* f. sp *cicer* and anti-*Alternaria porri* effects of some essential oils. *World. J. Microbiol. Biotechnol.*, Vol. 23, 1099–1106.
- [25] Rasooli I., Allameh A., 2016. Caraway (*Carum carvi* L.) essential oils [in:] Preedy V.R. (ed.) *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, Academic Press, San Diego, 287–293.
- [26] Sayed-Ahmad B., Talou T., Saad Z., Hijazi A., Merah O., 2017. The Apiaceae: ethno-medicinal family as source for industrial uses. *Ind. Crop. Prod.*, Vol. 109, 661–671.
- [27] Sharifi A., Mohammadzadeh A., Salehi T.Z., Mahmoodi P., Nourian A., 2021. *Cuminum cyminum* L. Essential Oil: A Promising Antibacterial and Antivirulence Agent Against Multidrug-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Front. Microbiol.*, Vol. 12(667833), 1–9.
- [28] Sharma A., Kumar V., Shahzad B., Tanveer M., Sidhu G.P.S., Handa N., Kohli, S.K., Yadav P., Bali A.S., Parihar R.D., Dar O.I., Singh K., Jasrotia S., Bakshi P., Ramakrishnan M., Kumar S., Bhardwaj R., Thukral A.K., 2019. Worldwide pesticide usage and its impacts on ekosystem. *SN Appl. Sci.*, Vol. 1(1446), 1–16.
- [29] Singh N.S., Sharma R., Parween T., Patanjali, P.K., 2018. Pesticide contamination and human health risk factor [in:] Mohammad O., Mohammad Z. K., Iqbal M.I.I. (ed.) *Modern age environmental problems and their remediation*, Springer, Cham, 49–68.
- [30] Sousa R.M.O., Cunha A.C., Fernandes-Ferreira M., 2021. The potential of Apiaceae species as sources of singular phytochemicals and plant-based pesticides. *Phytochemistry*, Vol. 187(112714), 1–32.
- [31] Spinozzi E., Maggi F., Bonacucina G., Pavela R., Boukouvala M.C., Kavallieratos N.G., Canale A., Romano D., Desneux N., Wilke A.B.B., Beier J.C., Benelli G., 2021. Apiaceae essential oils and their constituents as insecticides against mosquitoes – A review. *Ind. Crops Prod.*, Vol. 171(113892), 1–19.
- [32] Tanapichatsakul C., Khruengsai S., Pripdeevech P., 2020. *In vitro* and *in vivo* antifungal activity of *Cuminum cyminum* essential oil against *Aspergillus aculeatus* causing bunch rot of postharvest grapes. *PLoS ONE*, Vol. 15(11), 1–21.
- [33] Thiviya P., Gamage A., Piumali D., Merah O., Madhujith T., 2021. Apiaceae as an Important Source of Antioxidants and Their Applications. *Cosmetics*, Vol. 8(111), 1–19.
- [34] Üstüner T., Kordali S., Bozhüyük A., 2018. Herbicidal and fungicidal effects of *Cuminum cyminum*, *Mentha longifolia* and *Allium sativum* essential oils on some weeds and fungi, *Rec. Nat. Prod.*, Vol. 6, 619–629.
- [35] Wongkattiya N., Sanguanserm Sri P., Fraser I.H., Sanguanserm Sri D., 2019. Antibacterial activity of cuminaldehyde on food-borne pathogens, the bioactive component of essential oil from *Cuminum cyminum* L. collected in Thailand. *J. Complement. Integr. Med.*, Vol. 16, 1–6.

# EXTRACTS OBTAINED FROM SELECTED APIACEAE SPECIES AS CONTROL AGENTS AGAINST *FUSARIUM OXYSPORUM*

## Abstract

The aim of the research was to obtain extracts from 4 selected plant species belonging to the Apiaceae family, as well as to determine their chemical composition and antifungal activity against *Fusarium oxysporum*. Extracts of caraway, cumin, fennel and anise were used at concentrations of 0.5; 1.0; 1.5 and 2.0 [%]. The chemical composition of the extracts was determined by GC-MS chromatography. Poisoned food technique was used to determine the inhibition of *Fusarium oxysporum* mycelial growth on PDA medium. The chemical composition of the obtained extracts, both qualitative and quantitative, differed significantly. Carvone and limonene were the major components in the caraway extract,  $\rho$ -cuminaldehyde and  $\gamma$ -terpinene in cumin extract, trans-anethole and fenchon in fennel extract and trans-anethole and estragole in anise. Cumin and anise extracts, regardless of the concentration used, completely inhibited the growth of *F. oxysporum*, while extracts of caraway and fennel showed such an effect at higher concentrations.

**Key words:** *Fusarium oxysporum*, plant extracts, Apiaceae, antifungal activity

Opiekun naukowy: dr hab. inż. Teresa Krzyśko-Łupicka, prof. UO

Recenzenci: dr hab. inż. Agnieszka Nawirska-Olszańska, prof. uczelni  
dr hab. inż. Joanna Kolniak-Ostek, prof. uczelni

# OCENA ZDOLNOŚCI SORPCYJNYCH GĄBK *LUFFA CYLINDRICA*

Aleksandra Knotek\*, Agnieszka Gołębiowska

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Koło Naukowe Biotechnologów KNBiotech,  
ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

\* e-mail: s205205@sggw.edu.pl

## Streszczenie

*Luffa cylindrica* (zwana gąbką Luffa) to roślina z rodziny dyniowatych, popularna w krajach azjatyckich. Owoc tej rośliny charakteryzuje się specyficzną włóknistą budową i po wysuszeniu przyjmuje strukturę trójwymiarowej siatki. Celem niniejszych badań było określenie potencjalnych zdolności gąbki Luffa do wiązania na jej powierzchni komórek mikroorganizmów. Badania prowadzone z udziałem drożdży *Yarrowia lipolytica* wykazały, iż gąbka Luffa wykazuje dobre zdolności sorpcyjne i może być doskonałym biomateriałem do wiązania zarówno całych komórek mikroorganizmów, jak i wolnych enzymów. 1 gram *Luffa cylindrica* jest w stanie zaadsorbować ok. 0,64 g komórek drożdży *Yarrowia lipolytica*, w przeliczeniu na suchą masę. Wiązanie na powierzchni biopolimeru jest najefektywniejsze, gdy gąbka wprowadzana jest do podłoża mikrobiologicznych wraz z inokulum.

**Słowa kluczowe:** *Luffa cylindrica*, adsorpcja, *Yarrowia lipolytica*, immobilizacja

## 1. Wprowadzenie

*Luffa cylindrica* popularnie zwana gąbką warzywną, tykwą biszkoptową lub też tykwą gąbczastą to jednoroczne pnącze, o bogatej historii uprawy, ukierunkowanej głównie na rejony o klimacie tropikalnym i subtropikalnym [1]. Zaliczana jest do warzyw z rodziny dyniowatych. Owoce gąbki Luffa charakteryzują się włóknistym układem naczyniowym, który po wysuszeniu przypomina trójwymiarową, naturalną siateczkę z otwartą strukturą. Ponadto posiadają rozpórki z charakterystyczną architekturą mikrokomórek, z ciągłymi, wydrążonymi mikrokanałami (średnica makroporów 10–20  $\mu\text{m}$ ), które formują wiązki naczyń i przedstawiają multimodalny, hierarchiczny system porów (rys. 1) [2, 3]. Mocno porowata struktura jest bardzo lekka (ma niską gęstość) i sztywna. Wykazuje doskonałą wytrzymałość mechaniczną oraz zdolność odkształcania [4].

Skład chemiczny gąbki uzależniony jest od kilku czynników. Należą do nich m.in. pochodzenie rośliny, rodzaj gleby, warunki pogodowe wzrostu, obróbka wstępna itp. [5]. Włókna *Luffa cylindrica* składają się przeciętnie z ok. 65% celulozy, 17% hemicelulozy oraz 15% ligniny [6].

*Luffa cylindrica* pomimo swojej małej popularności na kontynencie europejskim cieszy się dużą sławą w krajach, w których uprawiana jest na szeroką skalę. Znajduje ona zastosowanie w wielu dziedzinach, m.in. takich jak: materiałoznawstwo, nauki medyczne, przemysł farmaceutyczny, biotechnologia czy inżynieria bioprocusowa. Włókna dojrzałych owoców

trukwy wykorzystywane są przy wyrobieniu czapek, chust, kłapek, mat stołowych, uchwytów do garnków, produkcji filtrów samochodowych [7]. Lekkość wysuszonego owocu *Luffa cylindrica* sprawia, iż działa on jak materiał piankowy i w związku z tym może być potencjalnie wykorzystywany do produkcji tworzyw sztucznych, które dzięki zastosowaniu gąbki stają się bardziej wytrzymałe, lżejsze i częściowo biodegradowalne [8, 9]. Gąbka *Luffa* stanowi surowiec w produkcji biowłókien i biokompozytów znajdujących zastosowanie w produkcji opakowań, materiałów absorbujących wodę czy filtrów [3, 10].



Źródło: opracowanie własne

Rys. 1. Przekrój poprzeczny i wygląd zewnętrzny owocu *Luffa cylindrica*, uwidaczniający makroporową strukturę

Ciekawą możliwością wykorzystania gąbki *Luffa* jest zastosowanie jej jako surowca leczniczego. Wyciągowi z owoców *Luffa* przypisuje się działanie przeciwbólowe, przeciwgorączkowe, przeciwzapalne, przeciwbakteryjne, przeciwgrzybicze, przeciwwirusowe, przeciwnowotworowe, przeciwutleniające, hipoglikemiczne, rozszerzające oskrzela, przeciwymiotne oraz immunologiczne. W tradycyjnej medycynie gąbka *Luffa* była wykorzystywana w leczeniu astmy, żółtaczki, przewlekłego zapalenia oskrzeli, zapalenia zatok, ropni, stanów zapalnych, gorączki u dzieci, krwotoku miesiączkowego czy krwiomoczu [11].

*Luffa cylindrica* jest dobrym adsorbentem do usuwania metali ciężkich, m.in.: miedzi, ołowiu, chromu i niklu [12]. W biotechnologii gąbkę *Luffa* stosuje się głównie jako nośnik do unieruchamiania (immobilizacji) komórek roślin, alg, bakterii i drożdży oraz jako tzw. rusztowanie w szeroko pojętej dziedzinie inżynierii tkankowej [13, 14].

Celem niniejszych badań była ocena możliwości stosowania gąbki *Luffa* w procesach unieruchamiania drożdży *Yarrowia lipolytica*. Zdolności sorpcyjne *Luffa cylindrica* oceniano na podstawie pomiaru gęstości optycznej podłoża, plonu suchej masy drożdży oraz zewnętrzno-komórkowej aktywności katalitycznej.

## 2. Materiał i metody

Materiał doświadczalny stosowany w badaniach stanowiły wysuszone owoce *Luffa cylindrica* oraz szczep drożdży *Yarrowia lipolytica* KKP379.

### 2.1. Warunki hodowli drożdży

Hodowlę drożdży *Yarrowia lipolytica* KKP379 prowadzono na podłożu płynnym YPG, składającym się z ekstraktu drożdżowego (10 g/dm<sup>3</sup>), peptonu (20 g/dm<sup>3</sup>) i glukozy (20 g/dm<sup>3</sup>).

Podłoża przygotowywano i sterylizowano w kolbach kulistych płaskodennych o pojemności całkowitej 500 cm<sup>3</sup> (objętość robocza 100 cm<sup>3</sup>), szczepiąc je 1 cm<sup>3</sup> 24-godzinne inokulum. Drożdże namnażano w temperaturze 28°C, w inkubatorze IKA Control z wytrząsaniem, na poziomie 140 obrotów na minutę przez okres 72 h.

## 2.2. Ocena zdolności sorpcyjnych *Luffa cylindrica*

Celem oceny zdolności sorpcyjnych gąbki *Luffa* do 100 cm<sup>3</sup> podłoża wprowadzano ok. 1 g wysuszonej gąbki (pociętej na kształt sześciątów o długości boku ok. 1 cm). Przeprowadzono dwa warianty hodowli. W pierwszym wariacie gąbkę *Luffa* wprowadzano do podłoża, w których komórki drożdży *Yarrowia* zostały wcześniej, w ciągu 72 h, namnożone. W drugim wariacie równoważna ilość gąbki *Luffa* została wprowadzona do hodowli na starcie, jednocześnie z inokulum drożdżowym, i wraz z nią prowadzono 72 h hodowlę. Wyniki odnieszono do hodowli kontrolnej, prowadzonej na podłożu YPG bez dodatku gąbki *Luffa*.

## 2.3. Pomiar gęstości optycznej podłoża

Poziom zmętnienia podłoża, odzwierciedlający intensywność namnażania komórek drożdży, badano spektrofotometrycznie poprzez pomiar gęstości optycznej OD<sub>600</sub>. Podczas trwania hodowli w odpowiednich odstępach czasu pobierano 1 ml podłoża hodowlanego, komórki odwirowywano i przemywano wodą destylowaną. Następnie zawieszano w 1 ml wody destylowanej i po odpowiednim rozcieńczeniu mierzono absorbancję zawiesiny, przy długości fali 600 nm. Próbkę pobierano z kolb kontrolnych (bez gąbki) oraz kolb badawczych z gąbką *Luffa*. Każdy pomiar wykonywano w dwóch powtórzeniach.

## 2.4. Oznaczanie plonu suchej masy komórkowej drożdży

Porównania plonu suchej masy komórkowej drożdży, w hodowli kontrolnej oraz hodowlach z dodatkiem gąbki *Luffa*, dokonywano przez okres trzech dni. W tym celu odmierzano 15 cm<sup>3</sup> podłoża i przenoszono do uprzednio zważonych gilz. Komórki drożdży oddzielano od supernatantu poprzez wirowanie – 5000 obr/min, czas 10 min. Supernatant zlewano z osadu, a komórki drożdży suszono do stałej masy w suszarce – czas suszenia ok. 24 h, temperatura 100°C. Na podstawie różnicy mas pomiędzy gilzą z suchą masą komórkową drożdży a gilzą pustą wyliczano uzyskany plon suchej masy komórkowej. Oznaczenie wykonano w trzech powtórzeniach, podając wynik w g s.s./dm<sup>3</sup>.

## 2.5. Ocena poziomu adsorpcji komórek na gąbce *Luffa*

Oznaczenia poziomu adsorpcji komórek drożdży na gąbce *Luffa cylindrica* dokonano po upływie 72 h od zaszczepienia podłoża. W tym celu gąbki zostały wyjęte z podłoża hodowlanych, przemyte wodą destylowaną i wysuszone (czas suszenia 24 h, temperatura 100°C). Różnica mas suchych gąbek wyjętych z hodowli oraz gąbek przed ich wprowadzeniem do podłoża pozwoliła na określenie poziomu adsorpcji komórek *Yarrowia lipolytica*.

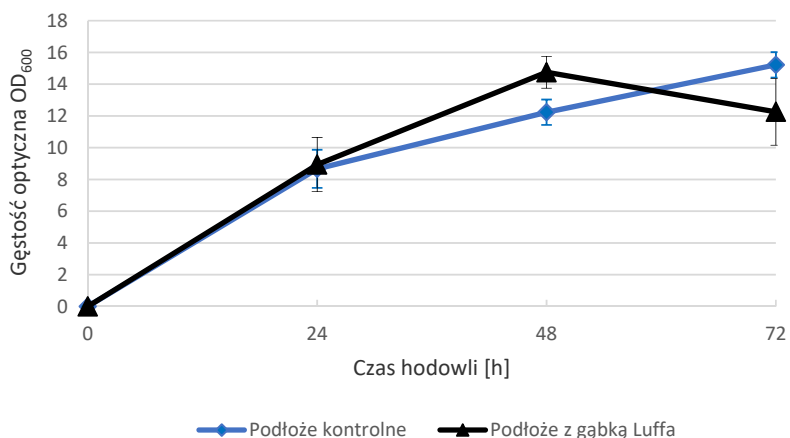
## 2.6. Oznaczanie zewnątrzkomórkowej aktywności lipolitycznej drożdży

Zewnątrzkomórkową aktywność lipolityczną drożdży *Yarrowia lipolytica* w hodowli z dodatkiem i bez dodatku gąbki Luffa oznaczano na podstawie modelowej reakcji hydrolizy laurynianu *p*-nitrofenyłu. Do eppendorfów wprowadzano 100  $\mu$ l supernatantu oraz 25  $\mu$ l 0,02-molowego roztworu laurynianu *p*-nitrofenyłu rozpuszczonego w heptanie. Całość inkubowano przez 5 min w temperaturze 37°C. Po tym okresie mierzono absorbancję, przy długości fali 410 nm, wprowadzając do kuwety mieszaninę reakcyjną oraz 3 ml 0,1-molowego roztworu NaOH.

## 3. Omówienie wyników

Ocenę zdolności sorpcyjnych *Luffa cylindrica* prowadzono na podstawie pomiaru gęstości optycznej podłoża, plonu suchej masy komórkowej drożdży, mas namnożonych w podłożu i zaadsorbowanych na gąbce Luffa komórek oraz wykazywanej przez nie zewnątrzkomórkowej aktywności katalitycznej.

Pomiaru gęstości optycznej podłoża dokonywano przez trzy dni w odstępach 24-godzinnych. Równolegle analizowano wartość  $OD_{600}$  w podłożu kontrolnym YPG (bez gąbki) oraz podłożu, do którego gąbka Luffa została wprowadzona wraz z inokulum. Wyniki tego doświadczenia przedstawiono na rysunku 2. Zebrane dane wskazują, iż gęstość optyczna podłoża (z gąbką Luffa i kontrolnego) różnicuje się dopiero w drugiej dobie hodowli. Po 48 godzinach poziom zmętnienia podłoża z gąbką jest nieco wyższy w porównaniu z podłożem kontrolnym –  $OD_{600}$  odpowiednio na poziomie  $14,75 \pm 1,01$  oraz  $12,23 \pm 0,80$ . Intensywniejsze namnażanie się komórek może przyczyniać się do skracania czasu trwania fazy logarytmicznego wzrostu. W 72. godzinie hodowli w podłożu z gąbką Luffa wartość OD zmalała o ok. 2,5 jednostki (z OD 14,75 do 12,26), podczas gdy w podłożu kontrolnym obserwowano ciągły wzrost komórek, świadczący o trwającej logarytmicznej fazie wzrostu drożdży. Spadek wartości OD w podłożu z gąbką Luffa może świadczyć również o adsorbowaniu się komórek na powierzchni gąbki.

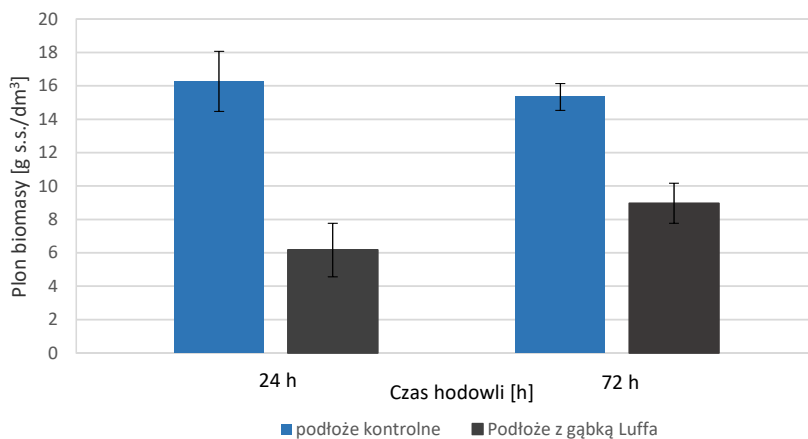


Rys. 2. Zmiana gęstości optycznej podłoża w trakcie hodowli *Yarrowia lipolytica* na podłożach YPG oraz YPG z gąbką Luffa

Celem potwierdzenia różnicy w poziomie zmętnienia podłoży oznaczono również plon suchej masy drożdży w hodowlach: kontrolnej oraz z gąbką Luffa. Wyniki tego doświadczenia przedstawiono na rysunkach 3 i 4. Rysunek 3 odnosi się do wyników hodowli, w której gąbka Luffa została wprowadzona do podłoża wraz z inokulum. Rysunek 4 przedstawia zaś dane z hodowli, w której gąbkę Luffa wprowadzono dopiero po 72 godzinach od zaszczerpienia podłoży komórkami. Prezentowane dane potwierdzają, iż na gąbce Luffa adsorbuje się znaczna część komórek drożdży *Yarrowia lipolytica*, niezależnie od momentu, w którym wprowadza się gąbkę. Zarówno w pierwszej, jak i trzeciej dobie hodowli plon suchej masy komórkowej w podłożach kontrolnych jest odpowiednio ok. 2,6 i 1,7 razy wyższy w stosunku do podłoża z gąbką Luffa (rys. 3). Nieco mniejsza różnica w plonie suchej masy komórkowej drożdży uwidoczniła się w hodowli, w której gąbkę wprowadzono dopiero po namnożeniu się komórek (rys. 4). W tym doświadczeniu plon z podłoża kontrolnego był ok. 1,5 raza wyższy względem podłoża z gąbką.

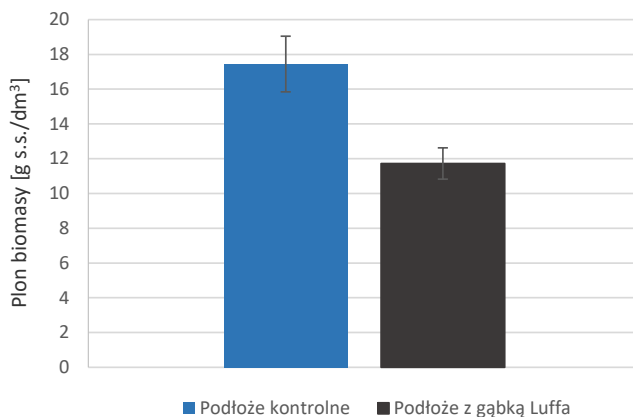
O unieruchamianiu komórek drożdży lub grzybów na gąbce Luffa wspominali w swych badaniach zespół Prakasham i in. [15] oraz Iqbal i Saeed [16]. Autorzy wskazują, iż włókniasta sieć gąbki Luffa jest idealną matrycą do adsorpcji z uwagi na swoją rozległą, porowatą powierzchnię. Te właściwości fizyczne ułatwiają kontakt biomasy z sorbatem i właściwą dyfuzję. Naukowcy wskazują, iż otwarta przestrzeń umożliwia dodatkowo komórkom ich wzrost.

Chcąc zweryfikować poziom adsorpcji komórek drożdży w porowatej przestrzeni gąbki Luffa, wykonano dodatkowo doświadczenie, w którym określono masę komórek drożdży zaadsorbowaną na gąbce Luffa. W tym celu gąbkę Luffa suszono do stałej masy i ważono przed wprowadzeniem do podłoża oraz po jej wyjęciu z hodowli. Z różnicy mas określano wagę komórek zaadsorbowanych w porowatej przestrzeni gąbki. Wyniki tej części doświadczalnej przedstawiono na rysunku 5.

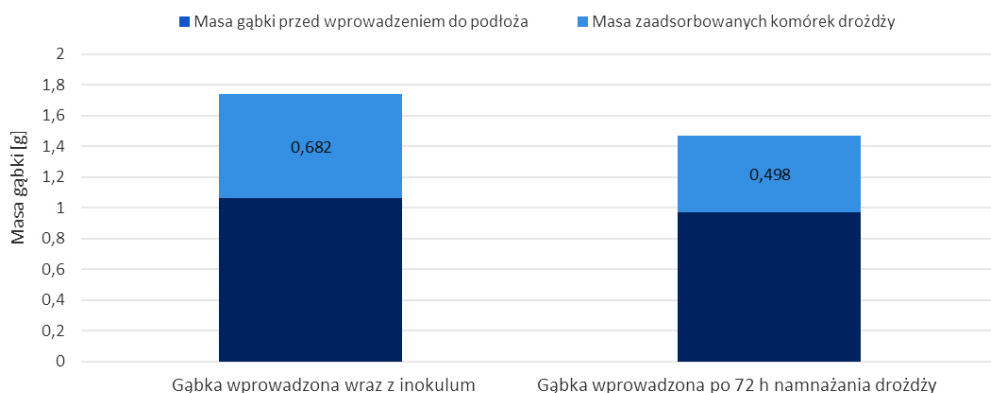


Rys. 3. Plon suchej masy komórkowej drożdży *Yarrowia lipolytica* namnażanych na podłożach YPG oraz YPG z gąbką Luffa wprowadzoną do podłoża wraz z inokulum drożdżowym





Rys. 4. Plon suchej masy komórkowej drożdży *Yarrowia lipolytica* namnażanych na podłożach YPG oraz YPG z gąbką Luffa, wprowadzoną do podłoża po 72 h hodowli



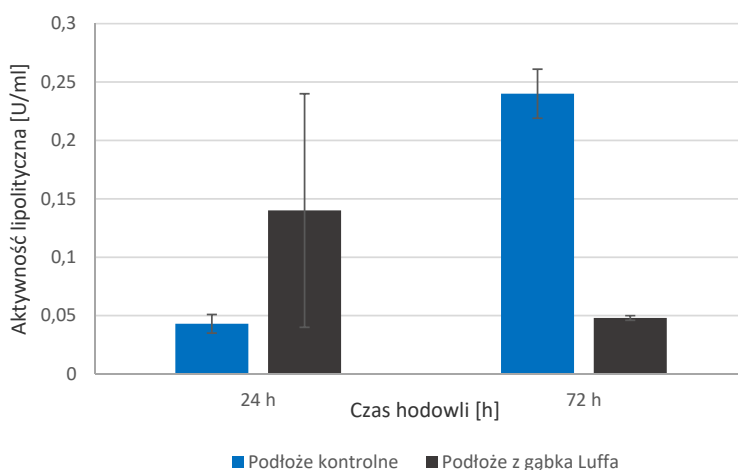
Rys. 5. Masa komórek drożdży *Yarrowia lipolytica* zaadsorbowana na gąbce Luffa

Powyższe dane są spójne z wynikami oznaczonego plonu suchej masy komórkowej drożdży (rys. 3 i 4) i wskazują, iż niezależnie od momentu, w którym gąbkę Luffa wprowadzono do podłoża, komórki drożdży *Yarrowia* adsorbują się na jej porowatej powierzchni. Przy porównywalnej suchej masie gąbki wprowadzonej do podłoża (ok. 1 g) widać jednak, że wariant, w którym gąbka wprowadzana jest w momencie zaszczipiania podłoża, jest korzystniejszy. Wówczas na powierzchni gąbki wiązana jest większa masa komórek – ok. 0,64 g/1 g gąbki, podczas gdy przy drugim wariacie masa zaadsorbowanych komórek na 1 g gąbki wynosi ok. 0,51 g.

O wydajnej matrycy, jaką jest gąbka Luffa, do unieruchamiania zarówno mikroorganizmów flokulujących, jak i nieflokulujących, wspominają ją w swych badaniach Krusong i in. [17]. Owoce *Luffa cylindrica* stosowano m.in. do unieruchomienia komórek *Acetobacter*

*aceti* w celu wykorzystania ich do produkcji octu kukurydzianego. Gąbkę cięto na małe kawałki, przemywano wodą i wyjaławiano poprzez zanurzenie w 4% (v/v) kwasie octowym na 24 h przed użyciem jako nośnika. Gąbka poddana sterylizacji stała się bardzo dobrym nośnikiem komórek w wyniku zdolności wysokiej dyfuzji tlenu, co daje dobre warunki wzrostowe komórek bakteryjnych [18]. Plastry pokrojonego owocu trukwy egipskiej wykorzystywano również w celu wiązania komórek *Streptomyces clavuligerus*, syntetyzującego kwas klawulanowy – silny inhibitor bakteryjnych beta-laktamaz. Najlepszą wydajność syntezy uzyskiwano na kawałkach trukwy o masie ok. 0,136 g w czasie 120 godzin prowadzenia reakcji. Badania potwierdziły, iż wykorzystanie gąbki Luffa w procesie immobilizacji mikroorganizmów znacznie przyspiesza syntezę kwasu klawulanowego [19].

W końcowym etapie badań, chcąc mieć pełen obraz zdolności sorpcyjnych gąbki Luffa, dokonano również oceny aktywności lipolitycznej podłoża, bazując na modelowej reakcji hydrolizy laurynianu *p*-nitrofenylu (rys. 6).



Rys. 6. Aktywność lipolityczna supernatantów po 24 i 72 h hodowli prowadzonej z dodatkiem i bez (podłoże kontrolne) gąbki Luffa

Wyniki tego doświadczenia wskazują, iż w początkowym okresie hodowli (24 h) mikroorganizmy unieruchomione na powierzchni gąbki roślinnej odznaczają się bardziej dynamicznym, ok. 3,5-krotnym wzrostem aktywności hydrolitycznej, w porównaniu z komórkami wolnymi. Tendencja ta odwraca się w fazie wzrostu stacjonarnego, zaadsorbowane komórki *Yarrowia lipolytica* wykazują aktywność katalityczną, jednak na znacznie niższym poziomie w stosunku do mikroorganizmów wolnych. Może to wynikać ze swoistego zniekształcenia oraz blokowaniem miejsc aktywnych enzymu w wyniku przeprowadzonego procesu unieruchamiania [20].

## 4. Podsumowanie

*Luffa cylindrica* będąca lignocelulozowym biopolimerem może stanowić doskonały nośnik w procesie wiązania/unieruchamiania mikroorganizmów, co wykazano na przykładzie adsorpcji komórek drożdży *Yarrowia lipolytica*. Otwarta, trójwymiarowa, włóknista struktura gąbki Luffa, z dużą ilością reaktywnych grup funkcyjnych, umożliwia adsorpcję znacznej ilości komórek. 1 g wysuszonej gąbki Luffa jest w stanie zaadsorbować ok. 0,64 g suchej masy komórkowej drożdży, przy czym skuteczność wiązania mikroorganizmów jest znacznie wyższa (o ok. 25%), gdy biopolimer wprowadza się do podłoża wraz z rozpoczęciem hodowli.

## Literatura

- [1] Chen X., Tan T., Xu Ch., Huang S., Tan J., Zhang M., Wang Ch., Xie C., 2015. Genome-wide transcriptome profiling reveals novel insights into *Luffa cylindrica* browning. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, Vol. 463 (4), 1243–1249.
- [2] Zampieri A., Mabande G.T.P., Selvam T., Schwieger W., Rudolph A., Hermann R., Sieber H., Greil P., 2006. Biotemplating of *Luffa cylindrica* sponges to self-supporting hierarchical zeolite macrostructures for bio-inspired structured catalytic reactors. *Materials Science and Engineering C*, Vol. 26, 130–135.
- [3] Oboh I.O., Aluyor E.O., 2009. *Luffa cylindrica* – an emerging cash crop. *African Journal of Agricultural Research*, vol 4 (8), 684–688.
- [4] An X., Sui Q., Sun F., Ma Z., Jiang S., Ji B., Fan H., 2015. Compression Responses of Bio-Cellular Luffa Sponges. *BioResources*, Vol. 10 (4), 8426–8436.
- [5] Shen J., Xie Y.M., Huang X., Zhou S., Ruan D., 2012. Mechanical properties of *Luffa sponge*. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, Vol. 15, 141–152.
- [6] Smole M.S., Hribernik S., Kurečić M., Krajnc A.U., Kreže T., Kleinschek K.S., 2019. Non-conventional plant fibres. *Surface Properties of Non-conventional Cellulose Fibres*, Springer. 1st ed., Sz wajcaria.
- [7] Satyanarayana K.G., Guimaraes J.L., Wypych F., 2007. Studies on lingo cellulosic fibers of Brazil. Part I: Source, production, morphology, properties and application. *Compos Part A*, Vol. 38, 694–709.
- [8] Shen J., Xie Y.M., Huang X., Zhou S., Ruan D., 2012. Mechanical properties of luffa sponge. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 15, 141–152.
- [9] Labeeba K., Devi D.R., BN V.H., 2019. Comprehensive Review on Potential Applications of Natural *Luffa Cylindrica* Fibers. *Phytopharmaceuticals and Drug Delivery Approaches*, India, 2–17.
- [10] Bal K.J., Hari B.K.C., Radha K.T., Madhusudan G., Buhwan R.S., Madhusudan P.U., 2004. Descriptors for Sponge Gourd [*Luffa Cylindrica* (L.) Roem.] Nepal Agricultural Research Council, Kathmandu Nepal, Local Initiatives for Biodiversity, Research and Development Pokhara Nepal. International Plant Genetic Resources Institute, Rome Italy.
- [11] Al-Snafi A.E., 2019. Constituents and pharmacology of *Luffa cylindrica* – A review. *IOSR Journal Of Pharmacy*, Vol. 9 (9), 68–79.

- [12] Boynard C.A., D’Almeida J.R.M., 2000. Morphological characterization and mechanical behavior of sponge gourd (*Luffa cylindrica*) – polyester composite materials. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, Vol. 39 (3), 489–499.
- [13] Chen J.P., Lin T.C., 2005. Loofa sponge as a scaffold for culture of rat hepatocytes. *Biotechnology Progress*, Vol. 21, 315–319.
- [14] Saudagar P.S., Shaligram N.S., Singhal R.S., 2008. Immobilization of *Streptomyces clavuligerus* on loofah sponge for the production of clavulanic acid. *Bioresour Technol*, Vol. 99 (7), 2250–2253.
- [15] Prakasham R.S., Merrie J.S., Sheela R., Saswathi N., Ramakrishna S.V., 1999. Biosorption of chromium VI by free and immobilized *Rhizopus arrhizus*. *Environmental Pollution*, Vol. 104 (3), 421–427.
- [16] Iqbal M., Saeed A., 2007. Biosorption of reactive dye by loofa sponge – immobilized fungal biomass of *Phanerochaete chrysosporium*. *Process Biochemistry*, Vol. 42 (7), 1160–1164.
- [17] Krusong W., Kerdpiboon S., Pornpukdeewattana S., Jindaprasert A., 2016. Luffa Sponge offsets the negative effects of aeration on bacterial cellulose production. *Journal of Applied Microbiology*, Vol. 121 (6), 1665–1672.
- [18] Hutchinson, U.F., Jolly N.P., Chidi, B.D., Ngongang M., Ntwampe S.K.O., 2019. Vinegar Engineering a Bioprocess Perspective. *Food Engineering Reviews*. Vol. 11 (44), 290–305.
- [19] Saudagar P.S., Shaligram N.S., Rekha S., 2008. Immobilization of *Streptomyces clavuligerus* on loofah sponge for the production of clavulanic acid. *Bioresour Technol*, Vol. 99 (7), 2250–2253.
- [20] Zdarta J.L., 2017. Immobilizacja enzymów na wybranych nośnikach organicznych i nieorganicznych. Rozprawa doktorska, Poznań.

## ASSESSMENT OF THE SORPTION CAPACITY OF THE *LUFFA CYLINDRICA* SPONGE

### Abstract

*Luffa cylindrica* (called Luffa sponge) is a plant from the cucurbitaceae family, popular in Asian countries. The fruit of this plant has a specific fibrous structure and after drying it adopts a three-dimensional mesh structure. The aim of this study was to determine the potential ability of the Luffa sponge to bind microorganisms on its surface. Research conducted with the participation of *Yarrowia lipolytica* yeast has shown that Luffa sponge has good sorption capacity and can be an excellent biomaterial for binding both whole cells of microorganisms and free enzymes. 1 gram of *Luffa cylindrica* is able to adsorb about 0.64 g of *Yarrowia lipolytica* yeast cells, calculated on a dry weight basis. Binding on the surface of the biopolymer is most effective when the sponge is introduced into the microbial media with the inoculum.

**Key words:** *Luffa cylindrica*, adsorption, *Yarrowia lipolytica*, immobilization

Opiekun naukowy: dr inż. Jolanta Małajowicz

Recenzenci: dr inż. Agata Fabiszewska, dr inż. Bartłomiej Zieniuk

# WYBRANE ASPEKTY BEZPIECZEŃSTWA UŻYTKOWANIA PUBLICZNYCH PLACÓW ZABAW NA TERENIE MIASTA LUBLIN

Mateusz Gancarz\*, Magdalena Blacha, Patrycja Gora, Bartłomiej Figarski

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Międzywydziałowe Studenckie Koło Naukowe Ergonomii i BHP, ul. Głęboka 28, 20-612 Lublin

\* e-mail: mateusz.gancarz.1999@wp.pl

## Streszczenie

Dbając o prawidłowy rozwój dzieci, trzeba zadbać o dostęp do rozrywki. Ze względu na aktywny rodzaj zabawy i kontakt z rówieśnikami częstym wyborem stają się place zabaw, na których należy zapewnić bezpieczeństwo. Celem pracy jest ocena stanu bezpieczeństwa placów zabaw na terenie miasta Lublin. Dodatkowo przeprowadzono wywiad z rodzicami i opiekunami dzieci na temat bezpieczeństwa użytkowania ocenianych placów zabaw. Stwierdzono kilka nieprawidłowości z obowiązującymi przepisami prawnymi. Na podstawie przeprowadzonej oceny bezpieczeństwa stan placów zabaw na terenie Lublina uznano za dobry, z możliwością usprawnień takich aspektów jak czas realizacji napraw, umieszczenie regulaminów i promowanie akcji popierających utrzymywanie czystości.

**Słowa kluczowe:** bezpieczeństwo, plac zabaw

## 1. Wprowadzenie

Korzystanie z placów zabaw pozwala na kontakt z rówieśnikami, nawiązywanie nowych znajomości oraz na zdrową i aktywną formę zabawy. Place zabaw to miejsca o różnorodnym wyposażeniu – można tam znaleźć między innymi huśtawki, zjeżdżalnie, karuzele [2]. To miejsca, w których dzieci mogą ćwiczyć swoją sprawność i koordynację ruchową. Każdy z rodziców chce, aby dziecko było bezpieczne podczas zabawy. Na bezpieczeństwo na placu zabaw wpływa stan nawierzchni, stan techniczny atrakcji oraz ich prawidłowe umiejscowienie. Ryzyko wypadku związane jest wtedy głównie ze sposobem użytkowania.

Definicja placu zabaw nie jest podana w żadnym akcie prawnym, aczkolwiek według The European Environment Agency (EEA) za takowy obiekt przyjmuje się wydzielony obszar wykorzystywany do rekreacji, zwłaszcza przez dzieci, często zawierający sprzęt taki jak huśtawki i zjeżdżalnie [3]. W polskim prawodawstwie zawarte są wytyczne dotyczące atrakcji występujących na placach zabaw [4–9], na których dzieci mogą korzystać z następujących urządzeń: huśtawki, zjeżdżalnie, karuzele, urządzenia kołyszące, urządzenia do wspinania się i urządzenia do podskakiwania. Huśtawka to urządzenie ruchome, utrzymujące ciężar użytkownika poniżej osi lub przegubu uniwersalnego, gdzie oś lub przegub uniwersalny znajduje się ponad 1,3 m nad podłożem, a prześwit pionowy pomiędzy huśtawką a nawierzchnią musi wynosić co najmniej 350 mm. Na placach zabaw można spotkać huśtawki

z jedną osią obrotu, o kilku osiach obrotu, jednoosobowe oraz wieloosobowe. Ruch wahadłowy huśtawek może wpływać relaksacyjnie na organizm dzieci. Zjeżdżalnia to konstrukcja o nachylonej powierzchni, która utrzymuje użytkownika zjeżdżającego i kieruje go po wytoczonym torze. Najczęściej spotykanymi zjeżdżalniami są zjeżdżalnie dołączane, skrócone, wolno stojące, rurowe. Karuzele umożliwiają obracanie się wokół osi. Można rozróżnić karuzele w formie krzeseł obrotowych, z podestem oraz podwieszane. Urządzenie kołyszące, czyli huśtawka wagowa, to urządzenie, które może zostać wprawione w ruch przez użytkownika oraz charakteryzuje się sztywnym elementem kołyszącym się na centralnej podporze. Urządzenia do wspinania się występują w różnych formach, na których użytkownik może poruszać się wyłącznie za pomocą oparcia dla dłoni i stóp, wymagające co najmniej trzech punktów podparcia, z których jeden jest ręką. Najczęstsze tego typu atrakcje, jakie można spotkać na placach zabaw, to „pająki”, ścianki wspinaczkowe i drabinki.

Na placu zabaw mogą znajdować się także urządzenia do podskakiwania, czyli urządzenia lub części wyposażenia placu zabaw, które ze względu na swoje elastyczne cechy pozwalają użytkownikom unosić się w powietrzu poprzez skakanie bez pomocy innych użytkowników.

W obudowanych częściach urządzeń, takich jak tunele i domki zabaw, których wewnętrzna długość przekracza 2000 mm, powinny mieć co najmniej dwa otwory dostępne, niezależne od siebie i rozmieszczone po różnych stronach. Otwory dostępne nie powinny mieć możliwości zamknięcia i wymiarów mniejszych niż 500 mm [4–8].

Urządzenia stosowane na placach zabaw takie jak piaskownice, huśtawki i drabinki w myśl prawa budowlanego są traktowane jako obiekty budowlane i klasyfikowane w grupie obiektów małej architektury [9]. Zobowiązuje to zarządców placów zabaw do przeprowadzania kontroli urządzeń minimum raz na 5 lat przez osobę posiadającą uprawnienia budowlane i jest kontrolą szczegółową z koniecznością udokumentowania. Dodatkowo obowiązek przeprowadzania kontroli nakłada na zarządcę norma PN-EN 1176-7:2020-09 [10]. Nakazuje ona przeprowadzanie kontroli rutynowej, w której sprawdza się ogólny stan urządzeń (raz na 1–7 dni), funkcjonalnej sprawdzającej zużycie sprzętu (raz na 1–3 miesiące) i podstawowej, która jest dokumentowana i polega na dokładnym sprawdzeniu bezpieczeństwa (raz na rok). Ich celem jest zapewnienie bezpieczeństwa osób korzystających z placów zabaw, w tym wykrycie wszelkich usterek wynikających ze zużycia urządzeń, wandalizmu i celowego niszczenia oraz działania warunków atmosferycznych.

Na bezpiecznym placu zabaw zagrożenia spowodowane złym stanem nawierzchni, atrakcji bądź ich umiejscowieniem są zminimalizowane. Ryzyko wypadku spowodowane jest wtedy głównie sposobem użytkowania.

Celem pracy jest ocena stanu bezpieczeństwa placów zabaw użytkowanych na terenie Lublina, a zakres pracy obejmuje ocenę wyposażenia placów zabaw w odniesieniu do aktów prawnych obowiązujących w tym zakresie oraz analizę wyników badań ankietowych wśród rodziców i opiekunów dzieci na temat bezpieczeństwa użytkowania placów zabaw.

## 2. Materiał i metody

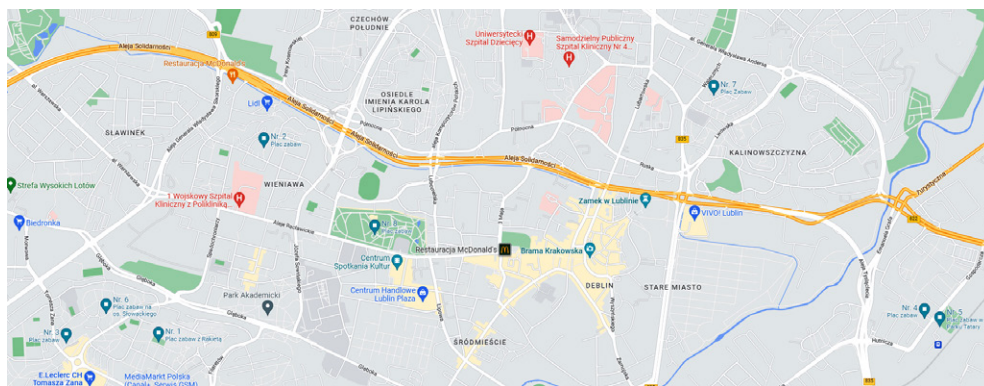
Ocenę stanu bezpieczeństwa przeprowadzono na 8 wybranych placach zabaw na terenie Lublina. Obiekty badań wybrano na podstawie sugestii respondentów. Ponumerowane place przedstawiono w tabeli 1, a przybliżoną lokalizację na rysunku 1. Jedynym z popularniej-

szych placów zabaw w Lublinie jest plac „Z rakieta” na terenie LSM (nr 1). Kolejną badaną przestrzenią jest plac w dzielnicy Wieniawa (nr 2). Plac zabaw nr 3 mieści się przy ul. Skierki. Został on wskazany przez opiniodawców jako mało estetyczny. Znaczna część osób biorących udział w badaniu sugerowała, że mniej bezpieczne obiekty znajdują się w dzielnicach Tatary i Kalinowszczyzna. Z tych obszarów wybrano trzy place: nr 4 przy ul. Gospodarczej, nr 5 ulokowany obok parku Tatary oraz plac przy ul. Jacka Kuronia w dzielnicy Kalinowszczyzna (nr 7). Jako nr 6 wybrano plac na os. Słowackiego. Ostatni obiekt (nr 8) znajduje się w Ogrodzie Saskim, który jest jednym z nowszych miejsc do wypoczynku dla mieszkańców miasta.

Tabela 1. Informacje ogólne

Nr	Otoczenie	Powierzchnia	Liczba atrakcji	Ogrodzenie	Kosze na śmieci	Toaleta
1.	Osiedle	2700 m <sup>2</sup>	10	NIE	TAK	NIE
2.	Osiedle	1560 m <sup>2</sup>	8	NIE	TAK	NIE
3.	Osiedle	350 m <sup>2</sup>	3	NIE	TAK	NIE
4.	Park	1260 m <sup>2</sup>	7	TAK	TAK	NIE
5.	Park	2145 m <sup>2</sup>	10	TAK	TAK	NIE
6.	Osiedle	3560 m <sup>2</sup>	18	NIE	TAK	NIE
7.	Osiedle	1600 m <sup>2</sup>	8	TAK	TAK	NIE
8.	Park	2450 m <sup>2</sup>	15	TAK	TAK	TAK

Źródło: opracowanie własne



Źródło: Google Maps

Rys. 1. Lokalizacje placów zabaw

Jedną z metod badawczych były wywiady z rodzicami i opiekunami na temat bezpieczeństwa użytkowanych placów zabaw. Kwestionariusz wywiadu składał się z 13 pytań zamkniętych i 3 pytań otwartych. Pytania zawarte w ankiecie dotyczyły między innymi kwestii związanych ze stanem technicznym urządzeń umieszczonych na placach zabaw, stosowanych zabezpieczeń, jakości nawierzchni i poziomu czystości. Ponadto respondenci mieli możliwość wyrażenia własnej opinii na temat różnorodności atrakcji, stanu bezpieczeństwa, obawach opiekunów oraz o pożądanych zmianach.

W celu dokonania oceny wyposażenia placów zabaw w odniesieniu do obowiązujących aktów prawnych przeprowadzono pomiary przestrzenne i wizje terenowe [4–8, 10, 11]. Zmierzone zostały prześwity pionowe i poziome, wysokość swobodnego upadku dla różnych sposobów użytkowania, zasięg przestrzeni upadku, odległość elementów od siebie. Uwzględniono również możliwość zakleszczenia ciała lub jego fragmentu, stan techniczny atrakcji, możliwość dostępu rodziców do osób przebywających w obiekcie i nawierzchnię wokół atrakcji na terenie placu. Dodatkowo sprawdzono dostępność do publicznych toalet, lokalizację placów zabaw, możliwość odpoczynku dla opiekunów oraz możliwość ochrony przed promieniami słonecznymi.

### 3. Wyniki badań

Na podstawie przeprowadzonej oceny placów zabaw stwierdzono, że wszystkie place były wyposażone w miejsca przeznaczone do odpoczynku dla opiekunów bądź też użytkowników placów zabaw. Natomiast najczęściej występującą nieprawidłowością był brak miejsc w pełni zacienionych, co podczas upalnych, letnich dni może prowadzić do udaru słonecznego. W przypadku 7 na 8 placów zabaw nie odnotowano w pobliżu dostępności toalety publicznej. Skutkuje to czasem koniecznością zaspokojenia potrzeb fizjologicznych dziecka w pobliżu placu zabaw, co wpływa negatywnie na poziom czystości i higieny. Pomimo dobrej dostępności pojemników na odpady na każdym placu zabaw stwierdzono duże zaśmiecenie, najczęściej przez niedopałki papierosów. Na 8 ocenionych placów zabaw tylko 4 posiadały ogrodzenie.

Pierwszym badanym obiektem był plac zabaw nr 1. Wykazano na nim nieprawidłowości związane ze złym stanem technicznym atrakcji, jaką jest „samochodzik”. Jedno z dwóch siodełek nie było przymocowane do podłoża, co uniemożliwiało zabawę (rys. 2).

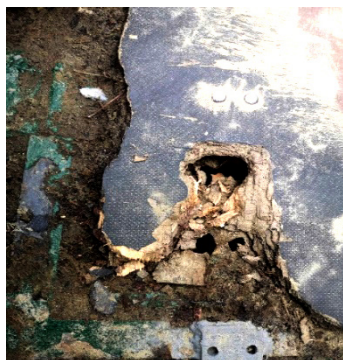


Źródło: opracowanie własne

Rys. 2. Nieprzymocowane do podłoża siodełko na placu nr 1

Dodatkowo w podłożu zaobserwowano dziurę, która mogłaby przyczynić się zakleszczenia i okaleczenia dzieci korzystających z tej atrakcji (rys. 3).





Źródło: opracowanie własne

Rys. 3. Dziura w podłożu na placu nr 1

Na skutek wieloletniej eksploatacji „samochodzika” oraz braku konserwacji i napraw jego powierzchnia jest zużyta i ma ostre krawędzie. Kolejną nieprawidłowością stwierdzoną podczas badań jest zbyt mała ilość piasku przy zjeżdżalni. Może to prowadzić do braku amortyzacji podczas upadku. Plac zabaw posiada drewniany tor przeszkód, którego nawierzchnia utworzona jest z ziemi z dużą ilością kamieni o ostrych krawędziach, co przy upadku może powodować liczne urazy ciała.

Na placu zabaw nr 2 zaobserwowano konieczność renowacji drewnianych atrakcji, gdyż ich chropowata struktura stwarza ryzyko wbicia drzazgi bądź skaleczenia. Połamane na skutek działania warunków atmosferycznych gałęzie zagrażają dzieciom, powodując ryzyko potknięć i urazów, a tym samym utrudniając użytkowanie placu zabaw.

Plac zabaw nr 3 zajmuje najmniejszą powierzchnię wśród ocenianych placów, posiadając jedynie trzy atrakcje. Podobne place tego typu znajdują się na starszych osiedlach w mieście. Wykorzystywana na placu nawierzchnia jest wykonana z asfaltu, który nie wykazuje właściwości amortyzujących, co może powodować bolesne potknięcia i upadki. Skorodowana powierzchnia atrakcji i zardzewiałe elementy ostre wskazują, że atrakcje na tym placu zabaw są dosyć stare i mogą powodować liczne zagrożenie podczas ich użytkowania (rys. 4).



Źródło: opracowanie własne

Rys. 4. Ostry, zardzewiały element na placu nr 3



Źródło: opracowanie własne

Rys. 5. Uszkodzone siedzisko huśtawki na placu nr 4

Na placu zabaw nr 4 najistotniejszą nieprawidłowością było połamane siedzisko huśtawki, które powinno być niezwłocznie wymienione (rys. 5).

Na placu nr 5 drewniane domki wymagają oszlifowania powierzchni i pomalowania. Ponadto stwierdzono, że ławka na tym placu zabaw ma fundamenty wystające ponad ziemię, co stwarza ryzyko potknięcia i upadku (rys. 6).



Źródło: opracowanie własne

Rys. 6. Wystający fundament na placu nr 5

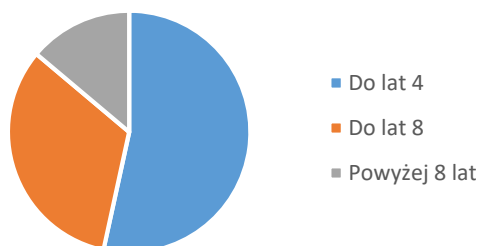
Na placu zabaw nr 6 zauważono zbyt niski prześwit pionowy huśtawki, który wynosił 210 mm, zamiast wymaganej wysokości 350 mm.

Ocenie poddano również plac zabaw numer 7, na którym znajduje się uszkodzona opona służąca do amortyzacji ruchu huśtawki wagowej.

Najlepiej przystosowanym pod względem bezpieczeństwa użytkowania okazał się plac zabaw nr 8. Urządzenia były w bardzo dobrym stanie technicznym, a ich różnorodność stwarzała możliwość zabawy dla każdej grupy wiekowej. Odnotowano tam jedynie brak miejsc zacienionych.

Prezentowane wyniki badań są w dużej mierze zbieżne z wynikami kontroli przeprowadzonej przez Centrum Kontroli Placów Zabaw [2]. Potwierdzają uzyskane przez nas wyniki i wskazują, że najczęściej występującymi nieprawidłowościami są brak ogrodzenia i duża ilość śmieci. Dodatkowo firma Activeline, która zajmuje się między innymi budową placów zabaw, potwierdza na swojej stronie internetowej, że jednym z najczęstszych niedopatrzeń jest również brak regulaminów [1].

Kolejnym etapem oceny placów zabaw były wywiady z rodzicami i opiekunami korzystających z nich dzieci. Użytkownikami badanych placów zabaw były w większości dzieci do lat 4 (59,3%), 36,3% stanowiły dzieci do lat 8, a 15,4% to dzieci powyżej 8. roku życia, co przedstawiono na rysunku 7.



Źródło: opracowanie własne

Rys. 7. Wiek dzieci korzystających z placów zabaw

W badaniach wzięło udział 91 osób. Wyniki ankiet wskazują, że codziennie z placu zabaw korzysta 78% dzieci, 18,7% raz w tygodniu, a 3,3% sporadycznie. Według większości ankietowanych (64%) atrakcje są przystosowane do każdej grupy wiekowej, pozostali (36%) byli przeciwnego zdania. Osoby niezadowolone z bezpieczeństwa na placach zabaw w większości uważają, że atrakcje są przeznaczone dla dzieci powyżej 8 lat. 50,5% respondentów nie było zadowolonych ze stopnia czystości na placach zabaw, a 49,5% osób była ze stanu czystości zadowolona. 58,2% ankietowanych wyraziło zadowolenie ze stanu technicznego urządzeń, a 41,8% nie było usatysfakcjonowanych obecnym stanem technicznym. Ankietowani zwrócili uwagę na brak ogrodzenia placów zabaw, co umożliwia wchodzenie zwierząt na teren placów zabaw. Ponadto badane osoby wskazały, że nastolatki i osoby bezdomne przesiadujące na placach zabaw odstraszały dzieci. Respondenci uskarżali się na długi czas napraw zgłaszanych przez nich usterek. Występuje również problem z konserwacją atrakcji po sezonie zimowym, zwłaszcza w atrakcjach wykonanych z drewna.

## 4. Podsumowanie i wnioski

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że stan bezpieczeństwa na ocenianych placach zabaw jest na poziomie dobrym i umożliwia bezpieczne korzystanie z nich. Wszystkie place posiadały również zagospodarowane miejsce do odpoczynku dla opiekunów. Konstrukcje umieszczane na placach zabaw są różnorodne i zgodne z obowiązującymi przepisami prawnymi, a jedynymi stwierdzonymi nieprawidłowościami to niewłaściwa wielkość

prześwitu pionowego pomiędzy siedziskiem huśtawki a nawierzchnią w obiekcie nr 6, zły stan dwóch atrakcji znajdujących się na terenie placu zabaw nr 1 i 3 spowodowany na skutek rdzewienia i złamane siedzisko huśtawki na placu zabaw nr 5. Tak mała ilość nieprawidłowości przy intensywnym użytkowaniu placów zabaw jest zadowalającym wynikiem. Skróceniu powinien ulec czas napraw usterek, a atrakcje powinny być odnawiane po sezonie zimowym. Zalecanym rozwiązaniem w celu poprawy bezpieczeństwa jest umieszczenie zasad korzystania z placów zabaw. Publiczną toaletę zauważono tylko na jednym placu zabaw, a ogrodzenie na 4 placach. Zaleca się więc inwestycje w toalety publiczne i ogrodzenie obiektów, co wpłynie pozytywnie na zadowolenie odwiedzających plac zabaw i podniesie poziom czystości na terenie tych obiektów. Warto byłoby zastanowić się nad zorganizowaniem miejsc zacienionych w celu ochrony przed słońcem. Aby ograniczyć wizyty młodzieży, zaleca się wybudowanie w pobliżu miejsc pozwalających na spotkania towarzyskie.

## Literatura

- [1] <https://activeline.eu/nieprawidlowosci-na-placach-zabaw/#:~:text=Najcz%C4%99%C5%9Bciej%20odnotowywane%20nieprawid%C5%82owo%C5%9Bci%20na%20placach%20zabaw%20zwi%C4%85zane%20s%C4%85,oraz%20b%C5%82%C4%99dami%20w%20wykonaniu%20ogrodzenia%20%28niezgodno%C5%9Bci%20z%20projektem%29> (dostęp 20.04.2022).
- [2] <https://plac zabaw.org/info/plac zabaw-lista-nieprawidlowosci/> (dostęp 19.04.2022).
- [3] <https://www.eea.europa.eu/help/glossary/gemet-environmental-thesaurus/playground> (dostęp 20.04.2022).
- [4] PN-EN 1176-1: Wyposażenie placów zabaw i nawierzchnie. Część 1: Ogólne wymagania bezpieczeństwa i metody badań.
- [5] PN-EN 1176-2+AC: Wyposażenie placów zabaw i nawierzchnie. Część 2: Dodatkowe szczegółowe wymagania bezpieczeństwa i metody badań huśtawek.
- [6] PN-EN 1176-3: Wyposażenie placów zabaw i nawierzchnie. Część 3: Dodatkowe szczegółowe wymagania bezpieczeństwa i metody badań zjeżdżalni.
- [7] PN-EN 1176-5: Wyposażenie placów zabaw i nawierzchnie. Część 5: Dodatkowe szczegółowe wymagania bezpieczeństwa i metody badań karuzel.
- [8] PN-EN 1176-6+AC: Wyposażenie placów zabaw i nawierzchnie. Część 6: Dodatkowe szczegółowe wymagania bezpieczeństwa i metody badań urządzeń kołyszących.
- [9] Prawo budowlane Art. 3. (Dz.U. 1994 Nr. 89 poz. 414).
- [10] PN-EN 1176-7:2020-09: Wyposażenie placów zabaw i nawierzchnie. Część 7: Wytyczne dotyczące montażu, kontroli, konserwacji i eksploatacji.
- [11] PN-EN1177+AC:2019-04: Nawierzchnie placów zabaw amortyzujące upadki.

# SELECTED ASPECTS OF THE SAFETY OF USING PUBLIC PLAYGROUNDS IN THE CITY OF LUBLIN

## Abstract

Taking care of the proper development of children, we must take care of access to entertainment. Due to the active type of play and contact with peers, playgrounds where safety should be ensured are a frequent choice. The aim of the study is to assess the safety status of utility playgrounds in the city of Lublin. In addition, parents and guardians of the children were interviewed about the safety of using the assessed playgrounds. Several irregularities with the applicable legal provisions were found. On the basis of the safety assessment, the condition of playgrounds in the city of Lublin was considered good, with the possibility of improving such aspects as the time of repairs, placing regulations and promoting actions supporting maintaining cleanliness.

**Key words:** safety, playground

Opiekunowie naukowci: dr inż. Anna Pecyna, dr inż. Agnieszka Buczaj

Recenzenci: dr inż. Paweł Kraczek, dr hab. Michał Marzec, prof. uczelni

# OCENA WPLYWU KONDYCJI KRÓW (BCS) W OKRESIE OKOŁOPORODOWYM NA WYSTĘPOWANIE *ANOESTRUS* TYPU 1 I 2 U KRÓW MLECZNYCH

Maria Huszcza, Bartosz Skora\*

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, SKN Medyków Weterynaryjnych „Chiron”, ul. C.K. Norwida 31, 50-375 Wrocław

\* e-mail: bartosz.skora98@gmail.com

## Streszczenie

Jednym z podstawowych elementów prowadzenia wydajnej i opłacalnej fermy bydła mlecznego jest uzyskanie bardzo dobrych wyników w rozrodzie krów. Opóźnienie wznowienia aktywności jajników po porodzie, czyli wystąpienie *anoestrus* typu 1 lub 2, wydłuża okres przestoju poporodowego, wpływając negatywnie na wyniki rozrodu w stadzie. Przeprowadzone badanie miało na celu określenie wpływu wielkości spadku BCS w okresie okołoporodowym na występowanie *anoestrus* typu 1 i 2. W tym celu u 70 krów, w dwóch fermach, dokonano oceny BCS na kilka dni przed porodem oraz na miesiąc po porodzie. Ponadto wykonano badanie USG ok. 40. dnia po wycieleniu, aby określić aktywność jajników. Wyniki pokazały, że u krów z wyższym spadkiem BCS w okresie okołoporodowym *anoestrus* typu 1 lub 2 występuje częściej.

**Słowa kluczowe:** bydło domowe, *anoestrus*, BCS, okres okołoporodowy

## 1. Wprowadzenie

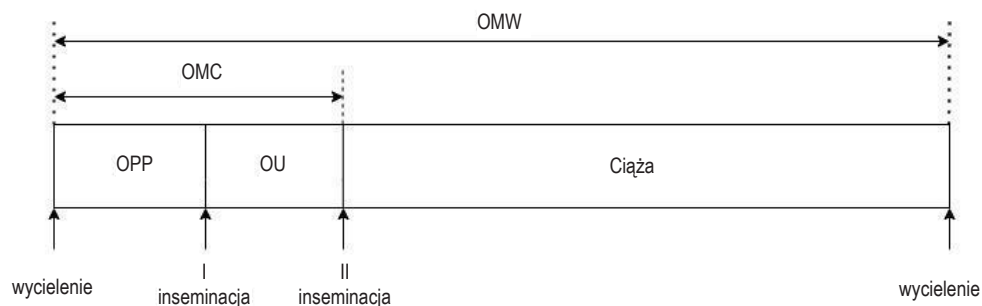
We współczesnym chowie i hodowli krów mlecznych jednym z podstawowych elementów decydujących o opłacalności stada jest efektywnie prowadzony rozród. Szybko rosnąca wydajność, a w konsekwencji wyższa podatność krów na choroby metaboliczne stawiają przed hodowcami coraz poważniejsze wyzwania w kontekście utrzymania zadowalających wskaźników płodności. Jednym z problemów, z którym na co dzień borykają się osoby pracujące w stadach krów mlecznych, jest przedłużający się okres braku aktywności jajnikowej po porodzie. Stan ten rzutuje na liczne wskaźniki płodności stada, w tym jeden z podstawowych, którym jest długość okresu międzywycieleniowego [9, 12].

### 1.1. Długość okresu międzywycieleniowego

Okres międzywycieleniowy (OMW) to czas między dwoma kolejnymi wycieleniami danej krowy. Według Polskiej Federacji Hodowców Bydła i Producentów Mleka (PFHBiPM) prawidłowy okres międzywycieleniowy dla krów o wydajności nieprzekraczającej 6000 kg

mleka rocznie powinien wynosić 365 dni. Natomiast dla samic o wyższych wydajnościach odpowiednią długość OMW można wyliczyć, korzystając z zależności, że na każde 1000 kg mleka rocznie ponad wyżej wymienioną wartość, należy wydłużyć OMW o 10–14 dni [14]. Stąd prawidłowy OMW dla krowy o wydajności rocznej równej 10 000 kg mleka wynosi od 405 do 421 dni. Według Kuczaja i in. [6] o bardzo dobrej długości OMW można mówić w sytuacji, w której nie przekracza on 380 dni. Wynik dostateczny to OMW od 406 do 445 dni. Z kolei według Kowalskiego [3] właściwa wartość długości OMW mieści się w zakresie od 375 do 390 dni.

Na okres międzywycieleniowy składają się okres międzyciążowy (OMC) oraz okres ciąży. Cięża u bydła mlecznego trwa od 277 do 290 dni [5], średnio można przyjąć wartość 280 dni [11, 14]. Okres międzyciążowy jest to czas od wycielenia do kolejnego zajścia w ciążę. Według Kuczaja i in. [6] prawidłowa długość OMC powinna mieścić się w przedziale do 95 dni, natomiast wartości poprawne dla OMC to 121–160 dni. Według Bousqueta, na którego powołuje się Oprządek [11], okres międzyciążowy powinien być krótszy niż 120 dni. OMC może zostać podzielony na okres przestoju poporodowego (OPP), czyli czas od porodu do pierwszej inseminacji oraz okres usługi (OU), to znaczy czas od pierwszej inseminacji do zacielenia. W idealnych warunkach OU powinien wynieść 1 dzień [6]. Jest to sytuacja, w której krowa zachodzi w ciążę przy pierwszym zabiegu unasienniania, co nie jest regułą w rozrodzie krów mlecznych. Długość OPP i OU powinna być, odpowiednio, krótsza niż 80 i 42 dni [11]. Schematyczne przedstawienie opisanych wyżej okresów przedstawia rysunek 1.



Rys. 1. Okres międzywycieleniowy i jego składowe [14]

Długi okres międzywycieleniowy skutkuje podwyższonym odsetkiem krów w późnych, mniej wydajnych etapach laktacji, rzutując tym samym na opłacalność produkcyjną gospodarstwa. W związku z tym ważne jest, aby okres międzywycieleniowy mieścił się w odpowiednich ramach czasowych. Analizując składowe OMW, łatwo dostrzec, że na najdłuższy okres wchodzący w jego skład – ciążę – hodowca nie ma wpływu. Nieco inaczej jest w przypadku okresu międzyciążowego. Długość OPP może być różna w zależności od podejmowanych przez hodowcę działań. Oczywiście jest, że okres przestoju nie może zostać skrócony do zera, ponieważ pewne ograniczenia czasowe wynikają z funkcjonowania narządu rodnego krowy, który po porodzie ulega fizjologicznej inwolucji. Hodowcy decydują się na pierwsze krycie w różnym czasie po porodzie, jednak PFHBiPM zaleca, aby krowy wielorodki kryć po raz pierwszy najwcześniej po 6 tygodniach od wycielenia (wówczas OPP wynosi 42 dni), z kolei pierwiastki po 8 tygodniach (OPP równy 56 dniom). Należy zaznaczyć,

że długość OPP może wydłużyć się ponad granice, które zakłada hodowca. Taka sytuacja ma miejsce w przypadku niewykrycia lub przedłużającego się braku rui (*anoestrus*) [14].

Każdy dzień, w którym krowa nie jest pokryta, a według założeń hodowcy powinna już być zainseminowana, nazywamy dniem otwartym. Innymi słowy, są to te dni, w których okres przestoju poporodowego nadmiernie się wydłuża. Dni te, w aspekcie ekonomicznym, należy traktować jako stratę, która według Koźmińskiego wynosi w Polsce od 15 do 25 zł dziennie [4].

## 1.2. Okres poporodowy, wznowienie aktywności jajników po porodzie

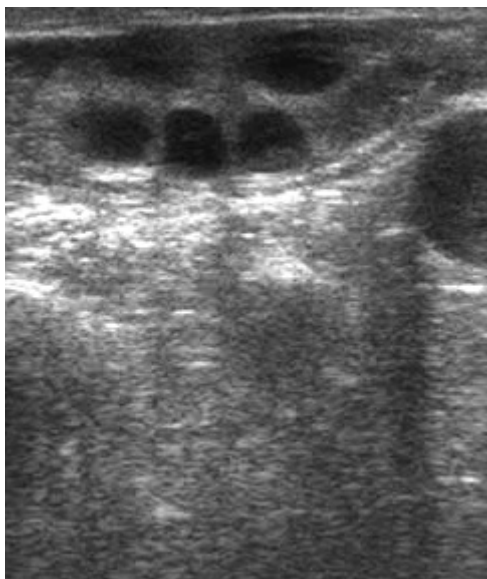
Ostatnią fazą porodu jest wydalenie łożyska. Po jego wyparciu rozpoczyna się *puerperium*, czyli okres poporodowy, w trakcie którego zachodzą różne procesy, przywracające narządowi rozrodczemu samicy stan sprzed ciąży [10]. Zaliczamy do nich inwolucję macicy, regenerację *endometrium*, eliminację bakteryjnego zakażenia macicy oraz powrót aktywności jajników [1, 10]. W stadach krów mlecznych okres *puerperium* ma szczególnie istotne znaczenie dla hodowcy i lekarza weterynarii, ponieważ każdy dzień jego wydłużenia powoduje opóźnienia w rozrodzie danej krowy, a w konsekwencji generuje straty dla gospodarstwa.

Dla niniejszej pracy najistotniejszym procesem w trakcie *puerperium* jest powrót aktywności jajników. Jego przejawem jest pierwsza poporodowa owulacja [1]. Między siódmym a czternastym dniem po wycieleniu zwiększa się poziom hormonu folikulotropowego (FSH) we krwi, co powoduje pojawienie się fali pęcherzykowej. Często już około dziesiątego dnia po porodzie możliwe jest znalezienie na jajniku pierwszego, wzrastającego pęcherzyka dominującego o średnicy około 9 mm. To czy ulegnie on owulacji, zależy w dużej mierze od jego wielkości oraz częstotliwości pulsów LH. Pęcherzyki o średnicy mniejszej niż 10 mm rzadko owulują [10], co dodatkowo utrudniają niewielkie po porodzie zasoby hormonu luteinizującego (LH) w przednim płacie przysadki [1]. W związku z powyższym pierwsza owulacja w okresie *puerperium* nie zawsze dotyczy pierwszego pęcherzyka dominującego, a kolejnego, powstałego w nowej fali pęcherzykowej. Średnio pierwsza owulacja występuje około 21.–30. dnia po porodzie, choć według Opsomera i wsp. [12] może wystąpić nawet w 15. dniu po porodzie. Po owulacji rozpoczyna się faza lutealna, a ruja pojawia się średnio po 18–24 dniach, choć zdarza się że długość fazy ciała żółtego ulega skróceniu, przez co *oestrus* rozwija się przed upływem czternastu dni [10].

## 1.3. *Anoestrus*

W rozumieniu polskim łacińskie sformułowanie *anoestrus* oznacza „brak rui”. Opsomer i in. [12] definiują je jako sytuację, w której ruja nie ujawnia się w spodziewanym czasie. Można zatem przyjąć, że *anoestrus* to stan, w którym na jajnikach nie dochodzi do pełnego rozwinięcia się pęcherzyka dominującego i jego owulacji, choć należy tu również zaliczyć cichą ruję, to znaczy sytuację, w której aktywność jajników jest prawidłowa, jednak nie są obserwowane objawy rujowe. Możemy wyróżnić cichą ruję właściwą, w której dochodzi do owulacji, niepoprzedzonej jednak wystąpieniem objawów rujowych, oraz pozorną, gdzie objawy występują, lecz nie są odnotowywane przez hodowcę [7]. W niniejszej pracy uwaga zostanie skupiona na *anoestrus* w kontekście zaburzeń przebiegu cyklu jajnikowego, a nie na zagadnieniu cichej rui.





Źródło: opracowanie własne

Rys. 2. Obraz ultrasonograficzny jajnika w *anoestrus* typu 1



Źródło: opracowanie własne

Rys. 3. Obraz ultrasonograficzny jajnika w *anoestrus* typu 2

Należy pamiętać, że *anoestrus* to pojęcie bardzo szerokie, które nie zawsze wskazuje na patologię. Fizjologicznie występuje ono przed osiągnięciem dojrzałości płciowej, w czasie ciąży oraz do 30. dnia *puerperium* [8]. W innych momentach brak rui jest zjawiskiem patologicznym i został on u krów podzielony przez Petera i in. na cztery typy [13]:

- Typ 1, w którym wzrasta fala pęcherzyków na jajniku, jednak nie dochodzi w niej do selekcji pęcherzyka dominującego. Obraz ultrasonograficzny jajnika w *anoestrus* typu 1 przedstawia rysunek 2;
- Typ 2, w którym z fali pęcherzyków wyłania się pęcherzyk dominujący, lecz w kolejnym etapie ulega on atrezji. Rysunek 3 prezentuje obraz USG jajnika właśnie w tym typie *anoestrus*;
- Typ 3 ma miejsce, gdy nie dochodzi do owulacji pęcherzyka dominującego, przez co staje się on cystą pęcherzykową lub luteinową;
- Typ 4 to sytuacja, w której dochodzi do nadmiernego wydłużenia fazy lutealnej – powstania przetrwałego ciała żółtego. Często wiąże się to z infekcją macicy prowadzącą do *pyometra*.

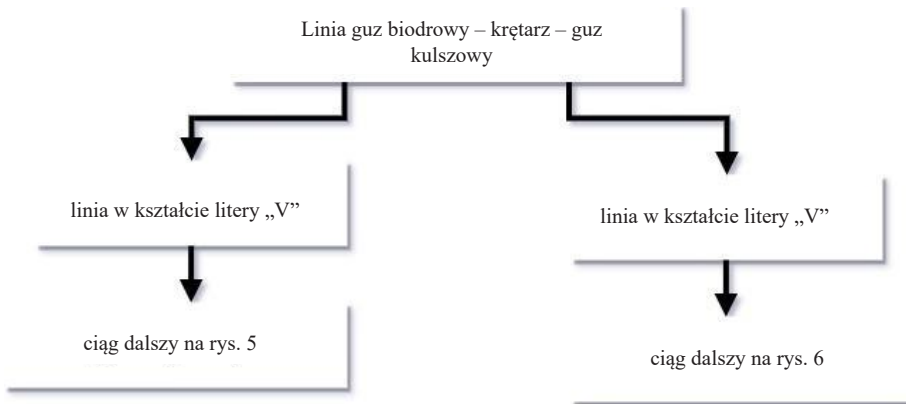
W świetle tego podziału za fizjologiczne *anoestrus* we wczesnym *puerperium* należy uznać typ 1 oraz 2. Według Maxa [8] stan ten może trwać do około 30. dnia po porodzie, jednak jego nadmierne wydłużenie należy uważać za stan patologiczny, zwiększający liczbę dni otwartych u krów, rzutując tym samym na rentowność fermy [14].

Wystąpienie wydłużającego się okresu braku rui w stadzie nie jest chorobą samą w sobie, jest to jedynie objaw poważniejszych problemów, o różnym podłożu. Z przyczyn żywieniowo-metabolicznych należy na pierwszym miejscu wymienić nadmiernie wysoki ujemny bilans energetyczny (NEB) na początku laktacji, mogący prowadzić do wystąpienia ketozy. Ponadto zespół tłustej krowy, również prowadzący do ketozy, niedobory makro- oraz mikroelementów, ze szczególnym uwzględnieniem wapnia, niedobory witaminowe oraz zbyt wysoki poziom białka w paszy, połączony z niedoborem energii [2, 9, 10, 12]. Kolejną grupą możliwych przyczyn są czynniki stresogenne, takie jak niedostosowany system utrzymania, np. brak wygodnych legowisk i przegęszczenie, stres cieplny, występowanie kulawizn, a także chorób infekcyjnych jak *mastitis* czy *metritis*, które poza działaniem stresowym mogą istotnie obniżać pobranie paszy przez krowę, pogłębiając ujemny bilans energetyczny na początku laktacji [2, 10]. Dodatkowo należy pamiętać, że krowy starsze zwykle są bardziej predysponowane do wystąpienia *anoestrus* niż krowy młode [9].

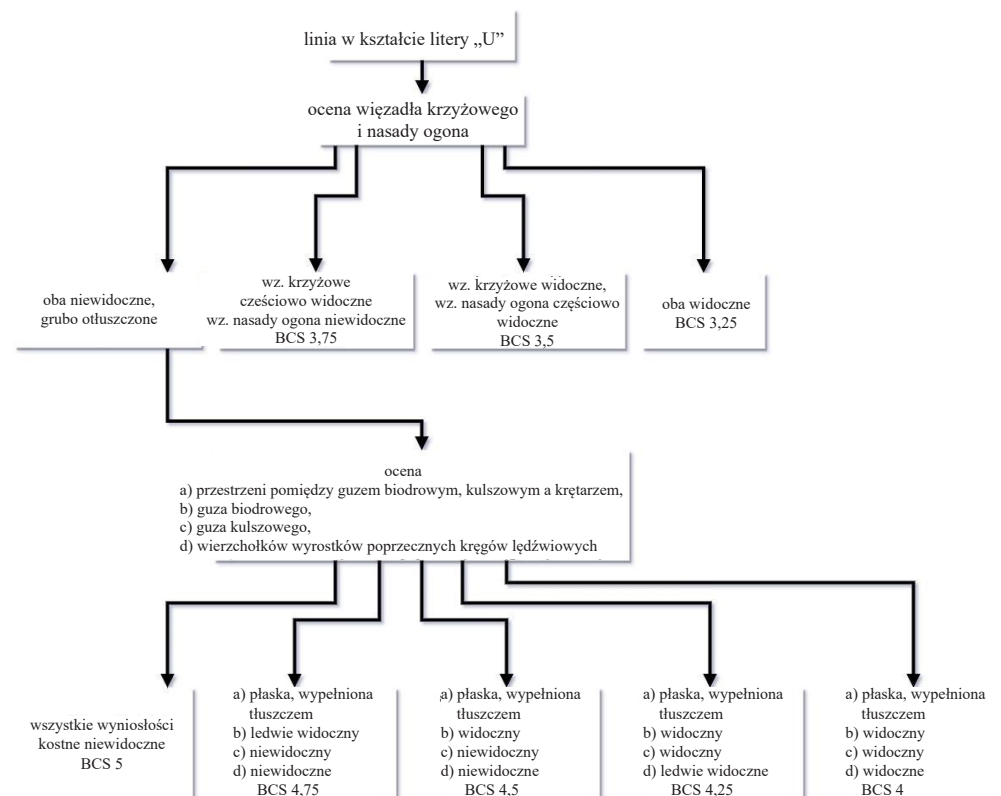
#### **1.4. Ocena kondycji krów (BCS) w monitoringu wysokości ujemnego bilansu energetycznego**

Spośród całej listy wymienionych wyżej możliwych przyczyn patologicznego *anoestrus* po porodzie, szczególną uwagę należy poświęcić nadmiernie wysokiemu ujemnemu bilansowi energetycznemu. Samo wystąpienie NEB na początku laktacji u krów wysoko wydajnych jest zjawiskiem fizjologicznym. Jednak niedostosowanie energetyczne dawki pokarmowej dla krów po wycieleniu, bądź niewystarczające pobranie paszy przez tę grupę, może powodować wystąpienie zbyt wysokiego NEB. Aby móc określić bilans energetyczny, hodowcy powinni prowadzić ocenę kondycji krów [14]. W tym celu można skorzystać ze skali BCS zaproponowanej przez Pennsylvania State University [16], której zakres mieści się w przedziale od 1 do 5, z przyrostami oceny co 0,25 punktu. Należy zaznaczyć, że według autorów

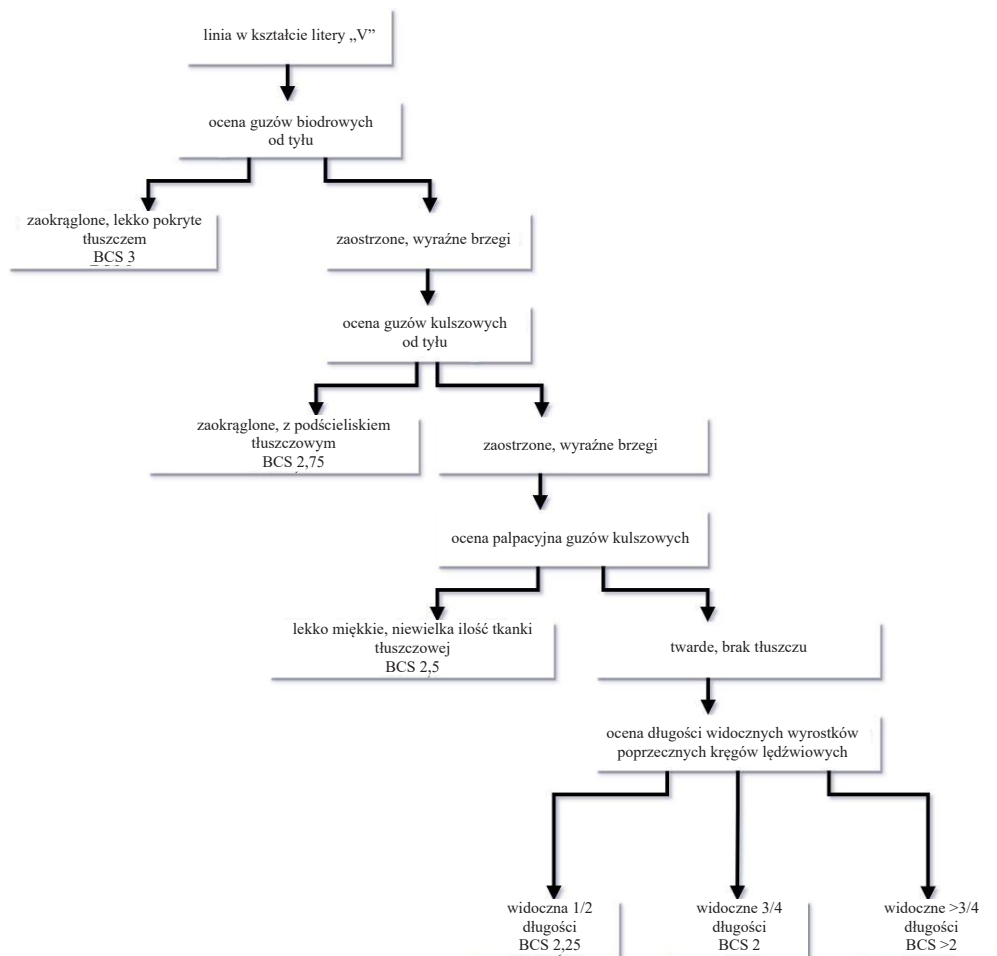
tej skali przyznanie dokładnej oceny w przypadku wyniku poniżej 2 nie jest konieczne, gdyż samo stwierdzenie, że BCS wyniósłby mniej niż 2 oznacza, że krowa jest po prostu skrajnie wychudzona [16]. Skalę przedstawiają rysunki 4–6.



Rys. 4. Ocena BCS według skali zaproponowanej przez Pennsylvania State University cz. 1 [16]



Rys. 5. Ocena BCS według skali zaproponowanej przez Pennsylvania State University cz. 2 [16]



Rys. 6. Ocena BCS według skali zaproponowanej przez Pennsylvania State University cz. 3 [16]

Ocenę BCS warto przeprowadzać dwukrotnie w okresie okołoporodowym – pod koniec zasuszenia (tuż przed wycieleniem) oraz pomiędzy 30. a 60. dniem po wycieleniu. Dzięki temu możliwe jest określenie zmiany BCS w okresie okołoporodowym, co lepiej odzwierciedla bilans energetyczny. Dopuszczalne zakresy BCS wynoszą odpowiednio [15]:

- pod koniec zasuszenia: 2,75–3,5
- w 30. dniu laktacji: 2,5–3
- w 60. dniu laktacji: 2,5–3

Z kolei zmiana BCS do 60. dnia laktacji nie powinna wynieść więcej 0,5–1 punktu [15].

## 2. Metodyka

Grupę badaną stanowiły 72 krowy rasy holsztyńsko-fryzyjskiej które znajdowały się w dwóch gospodarstwach: A i B. Grupa w gospodarstwie A liczyła 35 krów, natomiast w gospodarstwie B – 37. W związku z brakowaniem w trakcie trwania badania dwie sztuki nie zostały uwzględnione w ostatecznych wynikach. Strukturę wiekową tych krów wyznaczono na podstawie numeru ich laktacji, co przedstawia tabela 1.

Tabela 1. Podział krów zależnie od numeru laktacji

Numer laktacji	Liczba sztuk	
	Gospodarstwo A	Gospodarstwo B
I	10	11
II	15	9
III	4	8
IV	3	6
V	1	2
VI	–	–
VII	–	–
VIII	1	–

Źródło: opracowanie własne

Oba gospodarstwa charakteryzowały się podobną łączną liczbą krów w laktacji ok. 140–160 sztuk, jednak różniły się systemem utrzymania. W fermie A krowy w laktacji utrzymywane były w systemie uwięziowym z dojarkami przewodowymi. Z kolei krowy w zasuszeniu znajdowały się w osobnym obiekcie, na głębokiej ściółce, z dostępem do zewnętrznego okólnika i dopiero dwa tygodnie przed spodziewanym porodem były przepędzane do jednej z dwóch obór uwięziowych. Na uwięzi każda samica miała dostęp do koryta oraz poidła miskowego współdzielonego z sąsiadującą krową. Natomiast w gospodarstwie B krowy były podzielone na następujące grupy: dwie grupy krów w doju, jedna grupa krów nisko zasuszonych oraz jedna – krów wysoko zasuszonych. Krowy były utrzymywane w systemie wolnostanowiskowym z rusztowymi korytarzami gnojowymi, z wyjątkiem krów będących blisko porodu, ponieważ te chowane są na głębokiej ściółce. We wszystkich grupach wykorzystywane były poidła wannowe. System doju oparty był na robotach udojowych. Systemem żywienia w obu gospodarstwach jest TMR.

Celem doświadczenia było przeprowadzenie oceny kondycji każdej z krów w dwóch momentach: pod koniec zasuszenia (kilka dni przed porodem) i miesiąc po wycieleniu. Ocena kondycji została przeprowadzona w skali BCS, zaproponowanej przez Pennsylvania State University [16]. Następnie poprzez odjęcie wyniku BCS z pierwszej i drugiej oceny otrzymano zmianę BCS, oznaczoną symbolem  $\Delta$ BCS, u każdej sztuki w okresie okołoporodowym, co odzwierciedla wysokość ujemnego bilansu energetycznego (NEB) w tym okresie. Otrzymane wyniki zestawiono z wynikami badań USG jajników tych samych krów, wykonywanymi rutynowo w okolicy 40. dnia po porodzie przez obsługujących dane fermy lekarzy weterynarii. Za krowę w *anoestrus* typu 1 lub typu 2 uznawano taką samicę, która na żadnym jajniku nie wykazywała obecności ciała żółtego, a średnica pęcherzyków wynosiła odpowiednio: około 4 mm w przypadku *anoestrus* typu 1 i około 9 mm dla typu 2.

### 3. Wyniki

Uzyskane wielkości zmiany BCS ( $\Delta$ BCS) w okresie okołoporodowym sięgały od 0 do 1,25. Oznacza to, że u niektórych krów ujemny bilans energetyczny był stosunkowo niewielki i nie odbił się na ich kondycji. Tym niemniej u niektórych samic NEB był znacznie wyższy, co skutkowało spadkiem BCS nawet o 1,25 punktu.

Analizę uzyskanych wyników przeprowadzono poprzez podział krów na grupy, opierając się na dwóch kryteriach:

- wielkość zmiany kondycji w okresie okołoporodowym ( $\Delta$ BCS), odpowiednio:
  - 0
  - 0,25
  - 0,5
  - 0,75
  - 1
  - 1,25
- aktywność jajników w okolicy 40. dnia po porodzie, odpowiednio:
  - prawidłowa
  - *anoestrus* typu 1
  - *anoestrus* typu 2

Liczebności poszczególnych grup, osobno dla każdej fermi, prezentują tabele 2 i 3.

Z poniższych danych wynika, że *anoestrus*, po zsumowaniu zwierząt z typem 1 i 2, w fermie A wystąpiło u około 29% krów, natomiast w fermie B u około 17% krów. Ponadto częstsze, szczególnie w fermie B, było *anoestrus* typu 1 niż typu 2.

Z analizy poniższych tabel wynika kolejny wniosek – odsetek krów, u których występuje *anoestrus* typu 1 lub 2, jest wyższy u krów z silniejszym spadkiem BCS w okresie okołoporodowym, co pokazuje, jak istotny jest wpływ bilansu energetycznego na funkcję jajników. Zależność ta jest dobrze widoczna w tabeli 4.

Tabela 2. Liczebność poszczególnych grup krów w fermie A w zależności od aktywności jajników w okolicy 40. dnia po porodzie oraz wielkości zmiany kondycji w okresie okołoporodowym ( $\Delta$ BCS)

Aktywność jajników w okolicy 40. dnia po porodzie	$\Delta$ BCS						SUMA
	0	0,25	0,5	0,75	1	1,25	
Prawidłowa	6	6	5	4	3	–	24
<i>Anoestrus</i> typu 1	–	–	–	3	2	1	6
<i>Anoestrus</i> typu 2	–	–	–	3	–	1	4
SUMA	6	6	5	10	5	2	34

Źródło: opracowanie własne

Tabela 3. Liczebność poszczególnych grup krów w fermie B w zależności od aktywności jajników w okolicy 40. dnia po porodzie oraz wielkości zmiany kondycji w okresie okołoporodowym ( $\Delta$ BCS)

Aktywność jajników w okolicy 40. dnia po porodzie	Wartość $\Delta$ BCS						SUMA
	0	0,25	0,5	0,75	1	1,25	
Prawidłowa	11	9	7	3	–	–	30
<i>Anoestrus</i> typu 1	1	–	–	3	1	–	5
<i>Anoestrus</i> typu 2	–	–	–	1	–	–	1
SUMA	12	9	7	7	1	–	36

Źródło: opracowanie własne

Tabela 4. Odsetek krów z *anoestrus* w zależności od wielkości zmiany kondycji w okresie okołoporodowym ( $\Delta$ BCS)

$\Delta$ BCS	Odsetek krów z <i>anoestrus</i>	
	Ferma A	Ferma B
0	0%	8%
0,25	0%	0%
0,5	0%	0%
0,75	60%	57%
1	40%	100%
1,25	100%	–

Źródło: opracowanie własne

## 4. Podsumowanie i dyskusja

Przedstawione wyniki potwierdzają opisywany w literaturze [2, 9, 10, 12] istotny wpływ wysokiego NEB w okresie okołoporodowym, przejawiający się dużym spadkiem BCS, na występowanie *anoestrus* u krów. Ponadto wysoki odsetek krów z *anoestrus* przy spadku BCS o wartość 0,75 lub 1 sugeruje, aby zmiana BCS do 30. dnia po porodzie wynosiła nie więcej niż 0,5.

Dziwić może fakt, że u jednej z krów w fermie B, mimo braku istotnego spadku BCS, wystąpiło *anoestrus* typu 1. Po głębszej analizie tego przypadku stwierdzono, że była to krowa w piątej laktacji i w obu ocenach, to znaczy na kilka dni przed porodem oraz na miesiąc po porodzie, uzyskała ona wynik 2 w skali BCS, który jest wynikiem bardzo niskim. Zatem za powody braku rui u tej samicy należy uznać zaawansowany wiek oraz słabe rezerwy energetyczne jeszcze przed porodem i rozpoczęciem laktacji, co również wpisuje się w opisywane w literaturze możliwe przyczyny *anoestrus* [2, 9].

Wystąpienie ujemnego bilansu energetycznego na początku laktacji u krów rasy holsteińsko-fryzyskiej jest zjawiskiem standardowym ze względu na ich wysoką wydajność, jednak nie należy dopuszczać do występowania dużego NEB, gdyż ten może odbić się na zdrowiu krów, prowadząc chociażby do ketozy, ich produktywności, a także wynikach osiągniętych w rozrodzie poprzez prowokowanie wystąpienia *anoestrus* typu 1 lub 2.

## Podziękowania

Autorzy pragną podziękować swojemu opiekunowi naukowemu lek. wet. Adamowi Opałce, recenzentom: dr. n. wet. Bartłomiejowi Jaśkowskiemu, dr. n. wet. Monice Sikorze za liczne wskazówki w trakcie pisania artykułu oraz Pani Natalii Krzekotowskiej, Pani Żanecie Bała-Kaczmarek, lek. wet. Oskarowi Pietrasinie i całemu zespołowi gabinetu weterynaryjnego OVET za nieocenioną pomoc w przeprowadzeniu badania.

## Literatura

- [1] Dejneka G.J., 2018. Poporodowe choroby macicy u bydła. Elamed, 17.
- [2] Divers T.J., Peek S.F., 2011. Rebhun Choroby bydła mlecznego, Tom 2. Elsevier Urban & Partner, Wrocław, 125–127.
- [3] Kowalski Z.M., 2002. Żywnienie krów a problemy z ich rozrodem, [www.ppr.pl/rolnictwo/pasze/zywnienie-krow-a-problemy-z-ich-rozrodem-1391](http://www.ppr.pl/rolnictwo/pasze/zywnienie-krow-a-problemy-z-ich-rozrodem-1391) (dostęp 08.04.2022).
- [4] Koźmiński S. Ocena efektywności rozrodu, czyli na co hodowcy powinni zwracać uwagę analizując wskaźniki rozrodowe, [www.ekrowa.pl/wiedza/ocena-efektywnosci-rozrodu-czyli-na-co-hodowcy-powinni-zwracac-uwage-analizujac-wskazniki-rozrodowe](http://www.ekrowa.pl/wiedza/ocena-efektywnosci-rozrodu-czyli-na-co-hodowcy-powinni-zwracac-uwage-analizujac-wskazniki-rozrodowe) (dostęp 07.04.2022).
- [5] Krzymowski T., Przała J., Całka J., Dusza L., Kotwica G., Maćkowiak P., Nowak K., Okrasa S., Pierzchała-Koziec K., Przała F., Puzio I., Radzki R., Rząsa J., Sechman A., Skowroński M., Skrzypczak W., Skwarło-Sońta K., Stefańczyk-Krzymowska S., Studziński T., Zabielski R., Zawadzki W., 2015. Fizjologia zwierząt. Powszechne Wydawnictwo Rolnicze i Leśne, Warszawa, 390, 394–395, 406.
- [6] Kuczaj M., Akińcza J., Bodkowski R., Chrzanowska M., Dobrowolski M., Nowakowski P., Walkowicz E., 2016. Hodowla zwierząt: organizacja produkcji zwierzęcej. Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, 105–106.
- [7] Lesiakowski R., 2021. Zaburzenia w rozrodzie: cicha ruja. Hodowla i Chów Bydła, Nr 10, [www.holstein.pl/zaburzenia-w-rozrodzie-cicha-ruja/](http://www.holstein.pl/zaburzenia-w-rozrodzie-cicha-ruja/)
- [8] Max A., 2010. Brak rui u krów mlecznych. Życie Weterynaryjne, Vol. 85, No 9, 766–769.
- [9] Mwaanga E.S., Janowski T., 2000. Anoestrus in Dairy Cows: Causes, Prevalence and Clinical Forms. *Reproduction in Domestic Animals*, Vol. 35, 193–200.
- [10] Noakes D.E., Parkinson T.J., England G.C.W., 2019. *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. Elsevier, Edinburgh, 148–151, 373.
- [11] Oprządek A. Rozród pod kontrolą – jak ocenić stan rozrodu w stadzie krów mlecznych, [www.wwspartner.pl/images/art/2018/Artykul\\_wskazniki\\_rozrodu.pdf](http://www.wwspartner.pl/images/art/2018/Artykul_wskazniki_rozrodu.pdf) (dostęp 07.04.2022).
- [12] Opsomer G., Mijten P., Coryn M., de Kruif A., 1996. Post-partum anoestrus in dairy cows: A review. *Veterinary Quarterly*, Vol. 18, No 2, 68–75.



- [13] Peter A.T., Vos P.L.A.M., Ambrose D.J., 2009. Postpartum anestrus in dairy cattle. *Theriogenology*, Vol. 71, 1333–1342.
- [14] Słoniewski K., Gandecka E., Goździkiewicz P., Stupak H., Kowalski Z.M., Malinowski E. Raporty wynikowe z oceny wartości użytkowej i ich wykorzystanie w zarządzaniu stadem bydła mlecznego. Polska Federacja Hodowców Bydła i Producentów Mleka, ISBN: 978-83-927007-1-5, 114–117.
- [15] Wróblewski Z., 2020. Ocena kondycji z doradcami żywieniowymi, *Hodowla i Chów Bydła*, Nr 5, [www.holstein.pl/ocena-kondycji-z-doradcami-zywnieniowymi](http://www.holstein.pl/ocena-kondycji-z-doradcami-zywnieniowymi) (dostęp 15.12.2021).
- [16] [www.extension.psu.edu/learn-to-score-body-condition](http://www.extension.psu.edu/learn-to-score-body-condition) (dostęp 15.12.2021).

## **IMPACT OF THE BODY CONDITION SCORE (BCS) DURING THE TRANSITION PERIOD ON THE OCCURRENCE OF ANOESTRUS TYPE 1 AND 2 IN DAIRY COWS**

### **Abstract**

One of the basic elements of running an efficient and profitable dairy farm is obtaining very good results in the reproduction of cows. Delaying the resumption of ovarian activity after parturition, i.e. appearance of anoestrus type 1 or 2, extends the postpartal open period, negatively affecting reproductive performance in the herd. The aim of the study was to determine the effect of the decrease in BCS in the periparturient period on the occurrence of anoestrus types 1 and 2. For this purpose, in 70 cows in two farms, the BCS was assessed a few days before and one month after parturition. Moreover, an ultrasound examination was performed on the 40th day after calving to determine the activity of the ovaries. The results showed that anoestrus type 1 or 2 is more common in cows with a higher decrease in BCS in the periparturient period.

**Key words:** cattle, *anoestrus*, BCS, periparturient period

Opiekun naukowy: lek. wet. Adam Opalka

Recenzenci: dr n. wet. Bartłomiej Jaśkowski, dr n. wet. Monika Sikora

# OCENA ŚWIADOMOŚCI OPIEKUNÓW NA TEMAT DOBROSTANU KOTÓW

Zuzanna Czekaj\*, Julia Habrzyk, Marta Szubstarska

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt,  
Studenckie Koło Naukowe Dobrostanu Zwierząt Gospodarskich i Towarzyszących „Artemis”,  
ul Chełmońskiego 38c, 51-630 Wrocław

\* e-mail: 115804@student.upwr.edu.pl

## Streszczenie

Celem badania była analiza świadomości właścicieli kotów na temat ich dobrostanu. Badania przeprowadzono w postaci ankiety online na platformie Google Forms. Uzyskano 1415 odpowiedzi od opiekunów z całej Polski w okresie od 24 stycznia do 20 lutego 2022 roku. Ankieta była podzielona na 3 sekcje: 1. metryczka właściciela, 2. informacja o kocie i 3. pytania dobrostanowe oraz ocena losowych sytuacji/zachowań. Przy użyciu programu Excel przeprowadzono statystykę opisową. Rezultaty badania (prawie 70% ankietowanych wie, czym jest łańcuch łowiecki i zapewnia kotu podczas zabawy możliwość dopełnienia cyklu łowieckiego, 91,4% osób nie wypuszcza kota bez nadzoru) wskazują na coraz większą świadomość opiekunów. Wyniki ankiety pokazały rozkład opinii właścicieli na różne tematy, przez co można stwierdzić, w którym kierunku rozwijają się społeczne standardy opieki.

**Słowa kluczowe:** dobrostan, kot, behavior kotów, dobrostan kotów

## 1. Wprowadzenie

Kot domowy jest jednym z najpopularniejszych gatunków towarzyszących człowiekowi. Od kilku tysięcy lat jego rola w naszych domach ulegała zmianie. Przez bardzo długi czas koty były postrzegane jako skuteczny środek w walce z gryzoniami, jednak w XXI wieku taki obraz kota wśród wielu osób już nie funkcjonuje. Opiekunowie coraz częściej zwracają uwagę na dobrostan oraz potrzeby swoich zwierząt, ale w dalszym ciągu funkcjonują w społeczeństwie pewne utarte kulturowo przekonania. Celem tego badania było uzyskanie danych na temat ogólnej wiedzy właścicieli o tych zwierzętach oraz ich potrzebach. Dzięki odpowiedziom być może uda się uzyskać informacje, jakie aspekty opieki są dla nich niejasne lub sprawiają trudność. Tę wiedzę można wykorzystać w późniejszych przedsięwzięciach edukacyjnych, co przyczyni się do zwiększenia świadomości właścicieli, a tym samym do polepszenia dobrostanu kotów.

## 2. Materiał i metody

Najlepiej w wyznaczone cele badania wpasowuje się metoda badania ankietowego, dlatego wybrano ją, aby poznać opinie społeczeństwa na temat dobrostanu kotów. Ankieta stworzona przy użyciu oprogramowania Google Forms ze względu na jego nieskomplikowaną obsługę oraz fakt, że jest on dostępny dla znacznie szerszego grona odbiorców niż inne platformy internetowe.

Ankieta składała się z dwóch głównych części. W jednej sekcji zebrano szczegółowe dane respondentów, takie jak płeć, wiek, województwo zamieszkania, wykształcenie i informacje, skąd ankietowani czerpią wiedzę na temat kotów. Druga część sprawdzała pochodzenie kota, warunki utrzymania, sposób żywienia, a także zawierała pytania o kocie potrzeby, liczbę kuwet i sposób ich umiejscowienia oraz weryfikowała wiedzę na temat prawidłowej diety. Ankieta zawierała pytania wielokrotnego oraz jednokrotnego wyboru. W programie Microsoft Excel została przeprowadzona statystyka opisowa, czyli pracowano na średnich arytmetycznych. Założeniem było przeprowadzenie ankiety wśród jak największej liczby opiekunów kotów w całej Polsce w okresie od 24 stycznia do 20 lutego 2020 roku. Uczestnicy wypełnili ankietę anonimowo. Zebrano 1415 odpowiedzi, 93,1% stanowiły kobiety, 5,9% mężczyźni, a 0,9% ankietowanych wolało nie podawać płci. Najwięcej ankietowanych było w wieku 18–25 lat (36,1%) oraz 26–35 lat (35,5%).

## 3. Wyniki

Zdecydowana większość ankietowanych to opiekunowie jednego (45,3%) lub dwóch (35,5%) kotów, 9,5% ankietowanych ma 3 koty, tylko niecałe 10% osób posiada więcej niż 3 koty (4,9% – 4 koty, 1,5% – 5 kotów, 3,3% więcej niż 5 kotów). Jedynie 16,1% osób nabyło kota z hodowli, większość ludzi posiada kota adoptowanego lub znalezione (29,8% koty ze schroniska/fundacji, domu tymczasowego, 30% koty znalezione/przybłądy, 22,3% kot przygarnięty od rodziny/znajomego/sąsiada itd.), a 1,8% zakupiło kota nie z hodowli. Większość kotów ankietowanych to koty nierasowe – 78,4%, 18,4% – koty rasowe. 3,1% ankietowanych nie wie, czy ich kot jest rasowy, czy nie.

Zdecydowana większość respondentów za najlepsze warunki bytowania dla kota wskazuje życie w domu z możliwością kontrolowanych wyjść (na smyczy – 10,6%; na odpowiednio zabezpieczony balkon/taras/ogród – 32%; pod nadzorem/obserwacją człowieka – 3%) lub w domu bez żadnej możliwości wyjścia – 35,6%. Jedynie 7,8% ankietowanych pozwala swoim kotom na wychodzenie bez nadzoru, a 0,8% kotów żyje samopas i przychodzi do domu opiekuna tylko na jedzenie.

Tylko 6,5% ankietowanych odpowiedziało, że ich kot uległ wypadkowi poza domem. Ocena najlepszego dla dobrostanu i najbezpieczniejszego środowiska życia dla kotów: 35,6% ankietowanych za najlepsze uważa życie w domu, 60,6% życie w domu z możliwością kontrolowanych wyjść, 3,3% życie w domu z możliwością niekontrolowanych wyjść, a jedynie 0,6% życie na dworze bez nadzoru. W tabeli 1 znajdują się dane ukazujące opinie ankietowanych na temat różnych aspektów wypuszczania kota bez nadzoru.

Tabela 1. Opinia opiekunów na temat wybranych zagadnień

	Zdecydowanie się zgadzam	Zgadzam się	Ani się zgadzam, ani się nie zgadzam	Nie zgadzam się	Zdecydowanie się nie zgadzam
Koty mają lepszy standard życia, gdy mają nieograniczoną możliwość wychodzenia na zewnątrz	4,8%	5,2%	8,8%	19,1%	62,1%
Obowiązkiem właściciela kota jest trzymanie go z dala od niebezpieczeństw	88,6%	8,6%	1,9%	0,5%	0,4%
Właściciel kota jest odpowiedzialny za jego zdrowie	93,9%	5,1%	0,4%	0,1%	0,5%
Szwendające się samopas koty są uciążliwe	24,7%	19,1%	29,5%	14,8%	11,9%
Obowiązkiem właściciela kota jest niepuszczenie go samopas	74,3%	10,5%	6,4%	4,6%	4,2%
Niehodowlane koty powinny być kastrowane/sterylizowane	83,4%	9,7%	4,3%	1,5%	1,1%
Wychodzące koty są zagrożeniem dla ekosystemu	57,7%	14,4%	13,4%	7,6%	6,9%
Kot podczas podróży powinien być w transporterze	81,8%	12,2%	4,0%	1,3%	0,7%

Prawie wszyscy respondenci zaznaczyli, że ich kot ma w domu możliwość realizowania swoich bezwzględnych potrzeb życiowych oraz behawioralnych: jedzenie, woda, kuweta, towarzystwo człowieka, legowisko. Opiekunowie zapewniają kotom także drapak, zabawki, punkty widokowe, nasłonecznione miejsca, kryjówki, półki na wysokości i tak zwane kociostrady (instalacja półek na ścianach zapewniająca dodatkowy ciąg komunikacyjny nad ziemią). 21,6% kotów ma towarzystwo psie, a 6,4% towarzystwo innych gatunków zwierząt (ptaki, gady, gryzonie), co przedstawiono w tabeli 2. Większość respondentów (54,1%) uważa zapewnione przez nich warunki bytowania za gwarantujące kotu pełny dobrostan, a 44,8% osób sądzi, że można coś poprawić; jedynie 1,1% odpowiedziało, że zaznaczone warunki w ankiecie nie spełniają dobrostanu.

Tabela 2. Zasoby zapewniane kotu przez właścicieli

Proszę zaznaczyć wszystkie przedmioty/miejsca w domu jakie ma Pana/i kot	
jedzenie	99,4%
woda	99,2%
towarzystwo ludzkie	98,8%
kuweta	98,5%
zabawki	97,7%
punkty widokowe/okno do patrzenia na zewnątrz	97,7%
miejsce do schowania	97,3%
dostęp do nasłonecznionego miejsca	94,7%
drapak	94,1%
transporter	92,2%
legowisko	88,3%
miejsce z dostępem do świeżego powietrza	66,4%
dostęp do bezpiecznej rośliny (np. owies, bazylija – odkłaczanie)/trawa dla kota	56,7%
towarzystwo kocie	54,1%
towarzystwo psie	21,6%
towarzystwo zwierząt z grup: ptaki, gady, gryzonie (oraz króliki)	6,4%
inne	2,8%

Zdecydowana większość ankietowanych przyporządkowała do bezwzględnych potrzeb behawioralnych: drapanie, polowanie, zakopywanie w piasku/kuwecie moczu i kału, dostępność kryjówek, aktywność fizyczną/zabawę oraz dostęp do jedzenia i picia (tab. 3). Część ankietowanych nie umiała przyporządkować konkretnej potrzeby, dopasowując ją do kilku kategorii jednocześnie.

Połowa ankietowanych (50,2%) zgadza się ze stwierdzeniem, że idealna kuweta powinna mieć szerokość równą długości kociego korpusu (od mostka do nasady ogona), natomiast długość powinna wynosić tyle, co półtorej długości kota; jedynie 4,9% nie zgadza się, pozostałe osoby (44,5%) odpowiedziały „nie wiem”. Prawie wszyscy respondenci zaznaczyli, że kuweta nie powinna znajdować się w pobliżu jedzenia (95,8%), nikt nie odpowiedział, że powinna się znajdować obok jedzenia, 4% nie zna odpowiedzi na to pytanie. Liczba kuwet w domach wielokociach powinna być równa liczbie grup społecznych kotów +1 – taką odpowiedź wskazało 15% ankietowanych. Większość opiekunów (58,7%) zaznaczyła odpowiedź: liczba kuwet = liczba kotów +1. 25,3% uważa, że wystarczy jedna kuweta na kota, a tylko 1,2% sądzi, że odpowiednia będzie jedna kuweta niezależnie od liczby kotów.

Większość ankietowanych (67,6%) zaznaczyła, że jedzenie i picie dla kota nie powinny stać obok siebie, 24,4% odpowiedziało, że powinny, a 8,1% „nie wiem”. Na pytanie „Czy koty żyjące w grupach powinny spożywać posiłek razem (jednocześnie z misek obok siebie)?” 42,8% odpowiedziało „nie”, 41,4% – „tak”, 35,8% – „nie wiem”.

Tabela 3. Potrzeby behawioralne kota domowego

Proszę przyporządkować potrzeby behawioralne kota domowego do bezwzględnych i względnych według Pana/i uznania:	Przyporządkowanie potrzeb behawioralnych	Procent ankietowanych
1	2	3
Drapanie	bezwzględne potrzeby behawioralne	93,9%
	względne potrzeby behawioralne	5,0%
	brak potrzeby behawioralnej	0,4%
	przyporządkowanie potrzeby do więcej niż jednej kategorii	0,7%
Polowanie	bezwzględne potrzeby behawioralne	79,7%
	względne potrzeby behawioralne	17,8%
	brak potrzeby behawioralnej	1,5%
	przyporządkowanie potrzeby do więcej niż jednej kategorii	1%
Wchodzenia na wysokie powierzchnie	bezwzględne potrzeby behawioralne	69,3%
	względne potrzeby behawioralne	27,2%
	brak potrzeby behawioralnej	1,9%
	przyporządkowanie potrzeby do więcej niż jednej kategorii	1,6%
Zakopywanie w piasku/kuwecie moczu i kału	bezwzględne potrzeby behawioralne	89,3%
	względne potrzeby behawioralne	9,3%
	brak potrzeby behawioralnej	0,7%
	przyporządkowanie potrzeby do więcej niż jednej kategorii	0,7%
Spanie w łóżku z człowiekiem	bezwzględne potrzeby behawioralne	6,1%
	względne potrzeby behawioralne	58,4%
	brak potrzeby behawioralnej	33,5%
	przyporządkowanie potrzeby do więcej niż jednej kategorii	2%
Głaskanie	bezwzględne potrzeby behawioralne	31,2%
	względne potrzeby behawioralne	57,5%
	brak potrzeby behawioralnej	10,2%
	przyporządkowanie potrzeby do więcej niż jednej kategorii	1,1%

Tabela 3 cd.

1	2	3
Spędzanie czasu z człowiekiem	bezwzględne potrzeby behawioralne	38%
	względne potrzeby behawioralne	54,5%
	brak potrzeby behawioralnej	5,9%
	przyporządkowanie potrzeby do więcej niż jednej kategorii	1,6%
Zabawa z innymi kotami	bezwzględne potrzeby behawioralne	20,9%
	względne potrzeby behawioralne	60,2%
	brak potrzeby behawioralnej	16,7%
	przyporządkowanie potrzeby do więcej niż jednej kategorii	2,2%
Kontakt z innymi kotami	bezwzględne potrzeby behawioralne	21%
	względne potrzeby behawioralne	57,7%
	brak potrzeby behawioralnej	20,1%
	przyporządkowanie potrzeby do więcej niż jednej kategorii	1,2%
Wokalizacja	bezwzględne potrzeby behawioralne	40,9%
	względne potrzeby behawioralne	47,1%
	brak potrzeby behawioralnej	10,6%
	przyporządkowanie potrzeby do więcej niż jednej kategorii	1,4%
Wychodzenie na dwór	bezwzględne potrzeby behawioralne	7,8%
	względne potrzeby behawioralne	41%
	brak potrzeby behawioralnej	49,5%
	przyporządkowanie potrzeby do więcej niż jednej kategorii	1,7%
Dostępność kryjówek	bezwzględne potrzeby behawioralne	90,3%
	względne potrzeby behawioralne	7,8%
	brak potrzeby behawioralnej	1,1%
	przyporządkowanie potrzeby do więcej niż jednej kategorii	0,8%
Aktywność fizyczna/zabawa	bezwzględne potrzeby behawioralne	94,8%
	względne potrzeby behawioralne	3,8%
	brak potrzeby behawioralnej	0,6%
	w tym przyporządkowanie potrzeby do więcej niż jednej kategorii	0,8%

Tabela 3 cd.

1	2	3
dostęp do jedzenia i picia	bezwzględne potrzeby behawioralne	97,3%
	względne potrzeby behawioralne	1,6%
	brak potrzeby behawioralnej	0,7%
	w tym przyporządkowanie potrzeby do więcej niż jednej kategorii	0,4%

82% ankietowanych odpowiedziało, że ich kot jest pod stałą opieką weterynaryjną, 17,5% chodzi do lekarza wyłącznie wtedy, gdy coś się dzieje, tylko 0,6% kotów nigdy nie było w gabinecie weterynaryjnym. Zdecydowana większość (74,6%) respondentów regularnie szczepi swoje koty, tylko 3,5% kotów nigdy nie było poddanych immunizacji, 13,6% osób szczepi koty nieregularnie, a 8,3% kotów zostało zaszczepionych jedynie w wieku kocięcym. Prawie wszystkie koty ankietowanych są kotami kastrowanymi lub sterylizowanymi – 95,7%. 7% ankietowanych nie zna chorób zakaźnych kotów, jakimi są FIV i FeLV (wirus kociego niedoboru odporności oraz wirus kociej białaczki), ale 64,7% osób wykonało swoim kotom testy w kierunku tych chorób przed przygarnięciem kolejnego kota.

Większość respondentów bawi się ze swoimi kotami codziennie lub kilka razy dziennie – odpowiednio 49,8 i 35,4%. Jedynie 4,1% osób zaznaczyło, że bawi się ze swoim kotem rzadko, a nikt nie odpowiedział, że nie bawi się w ogóle. W większości są to zabawy imitujące polowanie – 94,3%, rzucanie piłeczek/myszek – 85,5%, zabawy psychiczne stanowią 51%, zabawki zautomatyzowane są w zdecydowanej mniejszości (niecałe 10%), a zabawy laserem stanowią 16,9% odpowiedzi. 69,5% ankietowanych wie, czym jest łańcuch łowiecki i niemal wszyscy z nich (67,1%) odpowiedzieli, że zapewniają swojemu kotu podczas zabawy dopełnienie cyklu łowieckiego, 26,2% ankietowanych nie jest pewnych odpowiedzi. 51,9% kotów otrzymuje po zabawie posiłek lub smaczka, 15,8% – nie dostaje; 32,4% odpowiedzi to „nie zawsze”.

47,1% kotów należących do respondentów otrzymuje minimum 4 posiłki/dzień, pokarm w formie *ad libitum* (bez ograniczeń) – 13,4% kotów, 2–3 posiłki w ciągu dnia – 39,3%, 1 posiłek – 0,3%. Ponad połowa badanych (53,3%) żywi swojego kota jedynie karmą mokrą, 35,1% karmą mokrą i suchą, 7,5% stanowi dieta BARF, a zaledwie 1,8% karmi koty wyłącznie karmą suchą, 0,1% badanych podaje whole prey.

Produkty, których nie powinien jeść zdrowy kot, według ankietowanych, to w głównej mierze słodycze, ludzkie przetworzone jedzenie, resztki ze stołu, kiszonki, węglowodany, kości gotowane, owoce i nabiał (tab. 4). Zdecydowana większość ankietowanych uważa, że mokry pokarm jest lepszy od suchego, a kot jest bezwzględnym mięsożercą (tab. 5).



Tabela 4. Opinia opiekunów na temat poszczególnych rodzajów jedzenia

Czego nie powinien jeść zdrowy kot?	
słodycze	98,9%
ludzkie przetworzone jedzenie	97,5%
resztki ze stołu	95,3%
kiszonki	91,9%
węglowodany (ryż, kasza, chleb, makaron)	90,3%
kości gotowane	81,0%
owoce	80,4%
nabiał	78,4%
warzywa	48,9%
jajka	11,9%
podroby	4,8%
mięso mięśniowe	3,3%

Tabela 5. Opinia właścicieli na temat żywienia kotów

	Zdecydowanie się zgadzam	Zgadzam się	Ani się zgadzam, ani się nie zgadzam	Nie zgadzam się	Zdecydowanie się nie zgadzam
Mokry pokarm jest lepszy od suchego	81,4%	11,0%	5,2%	1,7%	0,7%
W naturze kot je dużo małych posiłków w ciągu dnia	63,3%	16,7%	14,4%	4,5%	1,1%
Kot jest bezwzględnie mięsożercą	82,0%	11,2%	2,6%	3,7%	0,3%
Kot nie powinien w ogóle jeść nabiału	54,1%	21,1%	16,4%	7,0%	1,4%
Fizjologicznie kot pobiera wodę głównie z jedzenia	67,4%	17,3%	7,2%	6,0%	2,0%

Najbardziej optymalną sylwetką dla przeciętnego kota domowego jest BCS = 5, takiej odpowiedzi udzieliło 88,6% respondentów; 9,1 % zaznaczyło BCS = 3, a 2% BCS = 7.

## 4. Dyskusja

Zdecydowana większość respondentów to opiekunowie kota pochodzącego z adopcji (fundacja/schronisko/dom tymczasowy) lub znalezionej (przybłąda). 22,3% stanowią koty przygarnięte od rodziny/znajomych/osób trzecich – nie wiemy, czy koty te nie były rozmnażane w nieodpowiedzialny sposób. Niewielu ankietowanych zakupiło kota nie z hodowli – wyniki te wskazują na odpowiedzialność opiekunów, ponieważ zakup kota poprzez portale ogłoszeniowe bądź na targach nie jest w żaden sposób regulowany. Takie zwierzęta mogą zostać nabyte nielegalnie, często ich status zdrowotny i warunki bytowania są nieznane. Adopcja kota z fundacji lub ze schroniska niweluje wymienione problemy oraz pomaga ograniczać bezdomność. Kot trafiający do domu jest już zazwyczaj wykastrowany i przeszedł wstępną kontrolę u lekarza weterynarii. Zakup kota powinien odbyć się z zarejestrowanej hodowli zapewniającej kotom dobre warunki bytowania.

Większość ankietowanych za najlepszy sposób utrzymania kota uważa mieszkanie w domu z możliwością kontrolowanych wyjść lub niewychodzenie zwierzęcia. Jest to odpowiedzialne podejście opiekunów, ponieważ koty wychodzące żyją krócej niż niewychodzące [1, 2], są zagrożeniem dla ekosystemu poprzez polowanie na małe zwierzęta [3, 4]. Widać korelację między opinią respondentów na temat najbardziej optymalnego sposobu utrzymania kotów a warunkami, jakie im zapewniają. Większość osób nie wypuszcza kota lub pozwala mu wychodzić pod odpowiednim nadzorem. Warto jednak zastanowić się, czy sama obserwacja kota jest wystarczająca, kot ma możliwość ucieczki oraz polowania na dzikie zwierzęta. Utrzymanie kotów w domu ma też realny wpływ na ich bezpieczeństwo – jedynie 6,5% kotów badanych uległo wypadkowi poza domem.

Kluczową rolę w zachowaniu dobrostanu kota odgrywa znajomość i zrozumienie kociego etogramu i tym samym respektowanie potrzeb behawioralnych zwierzęcia. Bezwzględnymi potrzebami kota są: drapanie, polowanie, wchodzenie na wysokie powierzchnie, zakopywanie nieczystości w kuwecie, dostępność kryjówek, jedzenia i picia oraz aktywność fizyczna/zabawa [1, 5, 9]. Względne potrzeby to: spędzanie czasu z człowiekiem i spanie z nim w łóżku, głaskanie, zabawa i kontakt z innymi kotami, wokalizacja. Wychodzenie na dwór, przy zapewnieniu odpowiednio urozmaiconego środowiska życia w domu, zabawy i innych aktywności, nie jest potrzebą behawioralną kota domowego. Respondenci we wszystkich punktach w większości poprawnie przyporządkowali kociej potrzeby. Najbardziej zróżnicowane opinie dotyczą wokalizacji oraz wychodzenia kotów na dwór. W obu punktach podane potrzeby są bardzo indywidualne i mogą różnić się osobniczo między kotami, gdyż zależą od ich temperamentu oraz wychowania.

Wielu opiekunów spotyka się z zaburzeniami zachowania swoich zwierząt dotyczącymi oddawania moczu i kału poza kuwetą. Jedną z przyczyn może być nieznanymi wymaganiami kota co do miejsca załatwiania potrzeb fizjologicznych. Idealna kuweta powinna mieć szerokość równą długości kociego korpusu (od mostka do nasady ogona), natomiast długość powinna wynosić tyle, co półtorej długości kota – z tym stwierdzeniem zgodziła się połowa ankietowanych, jednak duża część opiekunów odpowiedziała „nie wiem”. Nie musi to być równoznaczne z tym, że oferują swojemu kotu kuwetę o zbyt małych rozmiarach. Koty mają różne preferencje co do wyglądu kuwety, zróżnicowaną wielkość ciała, więc podana optymalna wielkość kuwety nie musi być optymalna dla każdego kota [6]. Większość opiekunów (58,7%) zaznaczyła odpowiedź: liczba kuwet = liczba kotów +1, jednak obecnie uważa się, że koty powiązane społecznie mogą być bardziej skłonne do dzielenia się kuwetą [7].

Niezależnie czy przyjmiemy zasadę liczby kotów, czy grup kotów +1, zaleca się, żeby kuwet było chociaż o 1 więcej, aby zapewnić wszystkim kotom możliwość załatwiania się w komfortowych warunkach.

Zdecydowana większość kotów należących do respondentów jest wykastrowana, co wskazuje na odpowiedzialne podejście opiekunów. Kastracja to najbardziej skuteczna metoda zapobiegania bezdomności zwierząt i zapewnia im dłuższe życie w zdrowiu – niemal niweluje występowanie zapaleń i nowotworów narządów rozrodczych kotów [8].

Wciąż nie wszyscy właściciele przed przygarnięciem do domu kolejnego kota wykonują badania na choroby zakaźne FIV i FeLV. Oba wirusy przenoszą się przez kontakt z krwią i śliną zwierzęcia zakażonego, więc istnieje ryzyko, że koty mieszkające pod jednym dachem zarażą się od siebie. Prawdopodobnie świadomość opiekunów na temat chorób zakaźnych jest jeszcze niewielka, a wykonanie testów to koszty, których nie chcą dodatkowo ponosić przy adopcji [9].

Większość opiekunów bawi się ze swoimi kotami. Najczęściej są to zabawy fizyczne i łowieckie. Zabawy psychiczne stanowią jedynie 51%, a są niezbędne w utrzymaniu kociego dobrostanu, dlatego powinny stanowić nawet większość czasu przeznaczanego przez kota na zabawę w ciągu dnia. Możliwe, że wciąż panuje mylne przekonanie, iż koty uczą się dużo gorzej niż psy i nie potrzebują innej stymulacji niż aktywność fizyczna. Koty, które mają możliwość rozwiązywania samodzielnie problemów poprzez zabawy interaktywne (aktywne zdobywanie pożywienia, zabawki z ukrytym jedzeniem), wykorzystujące zmysły (np. maty węchowe) oraz trening umiejętności (np. trening klikerowy), mają większą odporność na stres, są spokojniejsze, nie ulegają zbyt łatwo frustracji oraz lepiej radzą sobie w nowych sytuacjach [10, 11]. Dość dużo ankietowanych wykorzystuje w zabawach laser, co może prowadzić do frustracji kota i jest potencjalnie szkodliwe dla oczu [12].

Zdecydowana większość ankietowanych wie, czym jest łańcuch łowiecki i odpowiedziała, że zapewnia swojemu kotu podczas zabawy dopełnienie cyklu łowieckiego. Jednak nie wszyscy odpowiedzieli, że ich kot otrzymuje po zabawie posiłek lub smaczka, co może wskazywać na to, że nie rozumieją, czym jest cykl łowiecki i jak go dopełnić. Łańcuch łowiecki to naturalna sekwencja zachowań mających na celu zdobycie pokarmu. U kotów dopełnieniem polowania są toaleta, odpoczynek i sen, co razem tworzy cykl łowiecki, który jest zapisany w etogramie kota domowego. Wszystkie jego części są niezbędne, aby zaspokoić kocie potrzeby behawioralne i zapobiec ewentualnym zaburzeniom zachowania [13, 14].

Dzicy krewni kota domowego spożywają około kilkunastu małych posiłków w ciągu dnia. By jak najlepiej zaspokoić jego potrzeby w kwestii żywienia, przyjmuje się, że powinien on otrzymywać 4–5 lub więcej małych porcji na dzień [1]. Część kotów otrzymuje pokarm bez ograniczeń. Ta forma żywienia nie jest zgodna z etogramem dorosłego kota domowego oraz może prowadzić do otyłości. Możliwe, że te odpowiedzi wynikały z wieku kota – do 1. roku życia jest to dopuszczalne [1].

Koty czerpią wodę głównie z pożywienia, więc karmienie karmą moką będzie zdrowsze, ponieważ zapewnia odpowiedni poziom nawodnienia oraz zmniejsza ryzyko chorób dolnych dróg moczowych i nerek [15, 16]. Dieta BARF – w rozumieniu diety domowej surowej, dobrze zbilansowanej pod względem składników odżywczych, także jest dobrym sposobem żywienia kota, który obecnie zyskuje na popularności [17].

## 5. Podsumowanie

Rezultaty badania wskazują na zwiększającą się świadomość kocich opiekunów. Szczególnym aspektem, który daje nadzieję na poprawę dobrostanu wszystkich kotów (również bezdomnych), jest coraz bardziej popularny zabieg kastracji. Daje to szansę na ograniczenie już bardzo dużej populacji kotów wolno żyjących.

Wyniki ankiety pokazały, jak rozkładają się opinie właścicieli na różne tematy i w którym kierunku rozwijają się społeczne standardy opieki. Nadal wśród części ankietowanych widać stosowanie zaleceń sprzed kilku/kilkunastu lat (np. w liczbie kuwet) oraz brak znajomości podstawowych potrzeb, jednak jest to niewielka część osób. Wiedza na temat największych trudności właścicieli umożliwi dostosowanie materiałów oraz treści w przystępnej formie, w celu podwyższenia przez nich jakości opieki.

Zagadnienie dobrostanu kotów jest bardzo elastyczne; przyjęte normy i optymalne wytyczne mogą ulec zmianie na skutek nowych badań oraz opinii specjalistów. Wyniki tej pracy w przyszłości mogą służyć jako porównanie z aktualnymi zaleceniami. Pozwoli to na całościowy ogląd tendencji rozwoju wiedzy oraz na to, jak jest przyjmowana przez grono kocich miłośników.

## Literatura

- [1] Rochlitz I., 2005. A review of the housing requirements of domestic cats (*Felis silvestris catus*) kept in the home. *Applied Animal Behaviour Science*, 93(1–2), 97–109. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2005.01.002>
- [2] Tan S.M.L., Stellato A.C., Niel L., 2020. Uncontrolled outdoor access for cats: An assessment of risks and benefits. *Animals*, 10(2), 258. <https://doi.org/10.3390/ani10020258>
- [3] Loss S.R., Will T., Marra P.P., 2013. The impact of free-ranging domestic cats on wildlife of the United States. *Nature Communications*, 4(1). <https://doi.org/10.1038/ncomms2380>
- [4] Hadidian J.H., 2021. Cats and wildlife: an animal welfare perspective. *WellBeing International Studies Repository*, WellBeing International, Potomac, Maryland.
- [5] Turner D.C., Bateson P., 2017. *The domestic cat: The biology of its behaviour*. Cambridge University Press, 71–82.
- [6] Guy N., Hopson M., Vanderstichel R., 2014. Litterbox size preference in domestic cats (*Felis catus*). *Journal of Veterinary Behavior: Clinical Applications and Research*. 9. [10.1016/j.jveb.2013.11.001](https://doi.org/10.1016/j.jveb.2013.11.001).
- [7] Carney H.C., Sadek T.P., Curtis T.M., Halls V., Heath S., Hutchison P., Mundschenk K., Westropp J.L., 2014. AAFP and ISFM guidelines for diagnosing and solving house-soiling behavior in cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 16(7), 579–598. <https://doi.org/10.1177/1098612x14539092>
- [8] McKenzie B., 2010. Evaluating the benefits and risks of neutering dogs and cats. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 5(045). <https://doi.org/10.1079/pavsnr20105045>
- [9] Courchamp F., Suppo C., Fromont E., Bouloux, C., 1997. Dynamics of two feline retroviruses (FIV and FeLV) within one population of cats. *Proceedings of the Royal*

- Society of London. Series B: Biological Sciences, 264(1383), 785–794. <https://doi.org/10.1098/rspb.1997.0111>
- [10] Atkinson T., 2018. Practical feline behaviour: Understanding cat behaviour and improving welfare. CABI.
- [11] Delgado M., Hecht J., 2019. A review of the development and functions of CAT play, with future research considerations. *Applied Animal Behaviour Science*, 214, 1–17. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2019.03.004>
- [12] Kogan L.R., Grigg E.K., 2021. Laser light pointers for use in companion Cat play: Association with guardian-reported abnormal repetitive behaviors. *Animals*, 11(8), 2178. <https://doi.org/10.3390/ani11082178>.
- [13] Penar W., Klocek C., 2018. Aggressive behaviors in domestic cats (*Felis catus*). *Annals of Warsaw University of Life Sciences – SGGW – Animal Science*, 57(2), 143–150. <https://doi.org/10.22630/aas.2018.57.2.14>
- [14] Cecchetti M., Crowley S.L., McDonald R.A., 2020. Drivers and facilitators of hunting behaviour in domestic cats and options for Management. *Mammal Review*, 51(3), 307–322. <https://doi.org/10.1111/mam.12230>
- [15] Carciofi A.C., Bazolli R.S., Zanni A., Kihara L.R.L., Prada F., 2005. Influence of water content and the digestibility of pet foods on the water balance of cats. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 42(6), 429–434. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2005.26401>
- [16] Buckley C.M., Hawthorne A., Colyer A., Stevenson A.E., 2011. Effect of dietary water intake on urinary output, specific gravity and relative supersaturation for calcium oxalate and struvite in the cat. *British Journal of Nutrition*, 106(S1). <https://doi.org/10.1017/s0007114511001875>
- [17] Chandler M., German A.J., Woods G., 2020. Raw diets. *BSAVA Guide to Nutrition*, 34–42. <https://doi.org/10.22233/9781910443828.4>

## ASSESSMENT OF THE OWNERS, AWARENESS OF THE WELFARE OF CATS

### Abstract

The aim of the study was to analyze cat owners' awareness of their welfare. The research was conducted in the form of an online survey on the Google Forms platform. 1415 responses were received from carers from all over Poland in the period from January 24, 2022 to February 20, 2022. The survey was divided into 3 sections: 1. owner certificate, 2. information about the cat and 3. welfare questions and assessment of random situations/behaviors. Descriptive statistics were carried out using Excel. The results of the study, such as: almost 70% of the respondents know what a hunting chain is and provide the cat with the opportunity to complete the hunting cycle while playing, or the fact that 91.4% of people do not release a cat unattended, indicate an increasing awareness of owners. The survey results showed a distribution of owners' opinions on all topics, which shows the direction in which social standards of care are developing.

**Key words:** welfare, cat, cat behaviour, cat welfare

Opiekun naukowy: lek. wet. Adam Opałka

Recenzenci: dr n. wet. Bartłomiej Jaśkowski, dr n. wet. Monika Sikora

# OCENA ŚWIADOMOŚCI MIESZKAŃCÓW POWIATU WŁODAWSKIEGO W ASPEKCIE ODDZIAŁYWANIA AZBESTU NA ŚRODOWISKO I ZDROWIE LUDZI

Martyna Cenian

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Międzywydziałowe Studenckie Koło Naukowe Ergonomii i BHP, ul. Głęboka 28, 20-612 Lublin

e-mail: cenian.martyna@hotmail.com

## Streszczenie

Pojęciem „azbest” określa się liczną grupę minerałów o specyficznych i charakterystycznych właściwościach fizykochemicznych. Chorobotwórcze działanie azbestu następuje w wyniku wdychania włókien zawieszonych w powietrzu. Włókna te przyczyniają się także do zanieczyszczenia środowiska przyrodniczego. Mogą one wnikać głęboko do układu oddechowego i powodować groźne choroby.

Celem pracy była ocena świadomości ekologicznej mieszkańców powiatu włodawskiego w zakresie bezpiecznego postępowania z wyrobami i odpadami azbestowymi, ich demontażu, transportu i składowania oraz wpływu azbestu na zdrowie człowieka i środowisko. Badania przeprowadzono za pomocą kwestionariusza ankietowego z wykorzystaniem narzędzi internetowych.

**Słowa kluczowe:** azbest, człowiek, środowisko przyrodnicze, świadomość ekologiczna

## 1. Wprowadzenie

Azbest jest minerałem naturalnie występującym w przyrodzie. Jego właściwości wykorzystywane były już w czasach starożytnego Rzymu. Stosowano go wtedy do wyrobu niepalnych knotów do lampek oliwnych. Od greckiego słowa *asbestos* – „nieugaszony” wywodzi się obecna nazwa azbestu. Pojęcie „azbest” jest pojęciem przemysłowym. Włókna azbestowe mają działanie szkodliwe i rakotwórcze na organizm człowieka. Zanieczyszczają również powietrze atmosferyczne [1]. W latach 60. XX w. na świecie azbest był produkowany na szeroką skalę w ilościach sięgających 4 mln ton rocznie, z czego 1/3 produkcji wywodziła się z krajów byłego ZSRR. Najczęstsze zastosowanie w przemyśle miał chryzotyl. Największe jego eksploatowane zasoby znajdują się aktualnie w Rosji, Kanadzie i Afryce Południowej. Następnymi najczęściej używanymi grupami materiałów były krokidolit i amozyt. Ich największe zasoby znajdują się w Afryce Południowej i Australii [2].

W Polsce uchwalono ustawę z 19 czerwca 1997 r., która zabrania stosowania, produkowania i obrotu azbestu i jego wyrobów [3]. W dniu 14 lipca 2009 roku Rada Ministrów podjęła uchwałę o wprowadzeniu na terytorium Polski programu pt. „Program Oczyszczania Kraju z Azbestu na lata 2009-2032” [4]. Uchwała zobowiązuje wszystkich właścicieli

posiadających wyroby azbestowe do ich usunięcia i utylizacji do 2032 roku. Ministerstwo Gospodarki uruchomiło wsparcie finansowe dla jednostek samorządu terytorialnego na terenie Polski, aby umożliwić i wzmocnić realizację gminnych, powiatowych i wojewódzkich planów usuwania azbestu i jego wyrobów.

Celem pracy było określenie poziomu świadomości ekologicznej mieszkańców powiatu włodawskiego w zakresie oddziaływania azbestu na zdrowie człowieka i na środowisko.

## 2. Azbest – charakterystyka wyrobu

Azbest to określenie grup włóknistych minerałów, z grupy serpentynów (chryzotyl) i amfiboli (krokidolit, amozyt, termolit, aktynolit i antofilit). Złe przewodzi ciepło, elektryczność oraz wykazuje dużą odporność na wysokie temperatury [2]. W zależności od zawartości azbestu, używanego spoiwa oraz jego gęstości podzielono go na dwie różne klasy. Klasa I (tzw. wyroby miękkie) obejmuje wyroby o gęstości objętościowej mniejszej niż  $1000 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ , które zawierają powyżej 20% azbestu w wyrobie. Mają one niską odporność mechaniczną. Klasa II (tzw. wyroby twarde) obejmuje wyroby, których gęstość jest większa niż  $1000 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ , a zawartość azbestu w wyrobie jest mniejsza niż 20% [2, 5].

Azbest chryzotylowy tzw. azbest biały jest uwodnionym krzemianem magnezu, z domieszką glinu, żelaza i innych metali. Włókna azbestu chryzotylowego są najcieńsze ze wszystkich znanych włókien pochodzenia naturalnego. Włókna chryzotylowe mają kształt rurek, których przeciętna grubość włókna wynosi 15–42  $\mu\text{m}$  [2]. Jest to najcieńsze znane włókno naturalne. Chryzotyl stanowi 93% azbestu wytwarzanego i stosowanego na świecie [5]. Azbest krokidolitowy, zwany także niebieskim azbestem, należy do grupy amfiboli. Połowę jego składu chemicznego zajmuje krzemionka. Jest on mniej odporny na temperatury niż chryzotyl. Stanowi on 7% światowej produkcji azbestu [2].

Azbest, z uwagi na swoje zalety, był szeroko stosowany do produkcji wyrobów budowlanych. Z azbestu były produkowane wyroby izolacyjne, cierne, uszczelniające, hydroizolacyjne [7]. Największym zainteresowaniem cieszyły się płyty i rury azbestowo-cementowe. Tak zaczęto stosować eternit. Eternit to potoczna nazwa materiałów budowlanych azbestowo-cementowych. Ma postać najczęściej spotykanych płyt falistych, które wykorzystywano do pokryć dachowych, ale również rur do wykonywania instalacji wodociągowych i kanalizacyjnych. Posiada właściwości fizykochemiczne jak wspomniany wcześniej azbest. Wyroby azbestowo-cementowe zawierają od 10 do 18% azbestu. Są wyrobami lekkimi i trwałymi, ogniotrwałymi, odpornymi na chemikalia i procesy gnilne. Posiadają dużą wytrzymałość mechaniczną. Przemysł włókienniczy wytwarza tkaniny azbestowe, z których produkuje się ognioodporne ubrania [5].

Zgodnie z rozporządzeniem ministra klimatu odpady zawierających azbest klasyfikowane są jako odpady niebezpieczne z przypisanymi kodami klasyfikacyjnymi [6].

Włókna azbestu w złożach, które związane są w sposób naturalny, są dla środowiska i zdrowia obojętne. Włókna uwolnione do powietrza stają się dużym zagrożeniem. Ze względu na swoją budowę wraz z powietrzem wdychanym przez człowieka przedostają się do układu oddechowego i docierają aż do oskrzelików i pęcherzyków płucnych. Tam osiadają na stałe i bytują przez lata, nie dając żadnych oznak. W wyniku długotrwałego drażnienia komórek wywołują one groźne choroby m.in. pylicę azbestową, międzybłoniaka. Zwiększoną zachorowalność na te choroby powoduje nałogowe palenie papierosów przez osoby

narażone. Pył azbestu jest rakotwórczy i pylicotwórczy [2, 7]. Wdychanie włókien azbestu nie wiąże się z natychmiastowymi negatywnymi skutkami. W grupie narażenia zawodowego są byli pracownicy zakładów produkujących wyroby azbestowe. Obecnie narażeni na wdychanie pyłu azbestowego są pracownicy firm demontażowych i zabezpieczających odpady azbestowe, pracownicy zatrudnieni w zakładach unieszkodliwiania odpadów niebezpiecznych oraz składowisk odpadów zawierających azbest [8]. Najwyższe dopuszczalne stężenie w przypadku frakcji respirabilnej to  $1 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-3}$ , a dla liczby włókien to  $0,1 \text{ wł} \cdot \text{cm}^{-3}$ . Włókna respirabilne to włókna o długości powyżej  $5 \text{ }\mu\text{m}$ , o maksymalnej średnicy poniżej  $3 \text{ }\mu\text{m}$  i o stosunku długości do średnicy  $>3$  [9].

Zanieczyszczenie środowiska azbestem jest również szczególnie niebezpieczne. Oznacza ono zanieczyszczenie powietrza pyłami azbestowymi, zwłaszcza najbardziej niebezpieczną dla człowieka frakcją respirabilną, oraz skażenie gleb, które powoduje reemisję pyłów azbestu do atmosfery. Ważnym realnym zagrożeniem dla środowiska jest powstawanie tzw. dzikich wysypisk odpadów na terenie lasów, poboczach dróg i nieczynnych wykopaliskach. Trafiają tam najczęściej uszkodzone wyroby azbestowe. Kolejnym źródłem zanieczyszczenia powietrza włóknami azbestowymi jest pył powstający przy przypadkowych uszkodzeniach, nieprofesjonalnym demontażu, transporcie i składowaniu wyrobów. Narażeniem środowiskowym są objęci ludzie zamieszkujący w pobliżu nieczynnych zakładów produkcyjnych, składowisk odpadów, ale również osoby zamieszkujące tereny, na których znajdują się wyroby azbestowe będące źródłem włókien azbestowych w powietrzu [5, 15].

Aby zminimalizować negatywny wpływ na zdrowie, należy zadbać o profilaktykę i stosowanie indywidualnych środków ochronnych przez pracowników demontujących wyroby azbestowe, np. w postaci masek filtrujących i kombinezonów [10]. Ważne jest oznaczanie miejsc oraz urządzeń, gdzie znajduje się azbest. Piktogramy wskazujące na zagrożenie służą do oznakowania opakowań z odpadami azbestowymi (ryc. 1).



Źródło: Dz.U. 2011 nr 8 poz. 31, załącznik nr 1 i 2 [11]

Ryc. 1. Wzór oznakowania instalacji lub urządzeń zawierających azbest oraz rur azbestowo-cementowych



Ponadto istotne jest, aby mieszkańcy i właściciele posesji, na których znajdują się wyroby zawierające azbest, posiadali wiedzę na temat szkodliwości włókien azbestowych, znali zasady właściwego użytkowania takich wyrobów oraz wytyczne związane z bezpiecznym demontażem, transportem i składowaniem odpadów azbestowych (ryc. 2).



Źródło: <https://olesnica.naszemiasto.pl/sanepid-ostrzega-azbest-jak-cichy-zabojca/ar/c1-5632917> [12]

Ryc. 2. Pracownicy demontujący wyroby azbestowe z dachu

### 3. Materiał i metody

Powiat włodawski znajduje się w województwie lubelskim. Leży na granicy państwa i sąsiaduje z Białorusią i Ukrainą. W skład powiatu wchodzi 7 gmin i jedno miasto na prawach powiatu, którego siedzibą jest Włodawa. Z danych Urzędu Statystycznego w Lublinie w 2019 roku powiat zamieszkiwało 38 353 osób [13]. Na terenie województwa realizowany jest projekt pt. „System gospodarowania odpadami azbestowymi na terenie województwa lubelskiego”. Pozwala on osobom fizycznym posiadającym wyroby azbestowe na dobrowolne ich usunięcie z pokryć budynków mieszkalnych i gospodarczych. Według statystyk prowadzonych i udostępnionych przez Urząd Marszałkowski Województwa Lubelskiego na dzień 20.04.2022 roku suma wyrobów azbestowych na terenie powiatu włodawskiego wynosi 29 982 402 Mg. Dane na temat unieszkodliwionego azbestu z podziałem na gminy przedstawia rycina 3. Najwięcej zinwentaryzowanego (5 976 624 Mg), a zarazem najmniej unieszkodliwionego azbestu (18 329 Mg) ma gmina Hanna. Najmniej wyrobów znajduje się w mieście Włodawa (892 555 Mg). Najwięcej azbestu unieszkodliwiono na terenie gminy Hańsk (288 783 Mg) [14].



Źródło: opracowanie własne

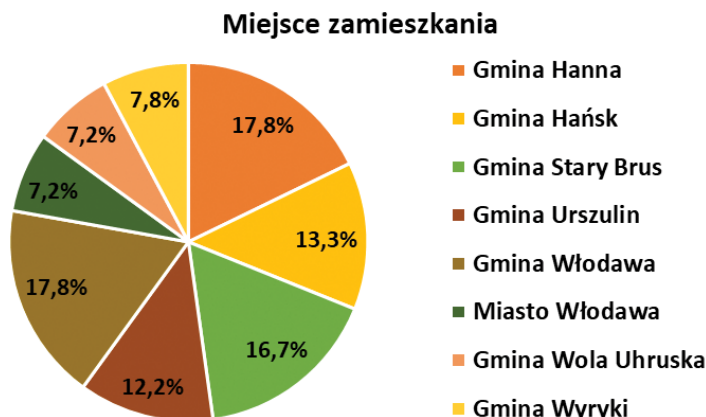
Ryc. 3. Ilość zinwentaryzowanego i unieszkodliwionego azbestu na terenie powiatu włodawskiego w podziale na gminy

Badanie świadomości mieszkańców powiatu włodawskiego przeprowadzono na przełomie marca i kwietnia 2022 r., za pomocą autorskiego internetowego kwestionariusza ankietowego. Kwestionariusz składał się z 24 pytań dotyczących obecności wyrobów azbestowych na posesji respondenta i wokół jego miejsca zamieszkania, bezpieczeństwa i higieny pracy podczas prac demontażowych, transportowych, źródeł wiedzy na temat usuwania i szkodliwego oddziaływania wyrobów azbestowych. Zapytano również o płeć, wiek, miejsce zamieszkania oraz wykształcenie respondenta. Większość w kwestionariuszu stanowiły pytania zamknięte, jednokrotnego wyboru. Ostatnie dwa pytania zawierały opcję wielokrotnego wyboru odpowiedzi.

W badaniu wzięło udział 90 osób, przy czym kobiety i mężczyźni byli reprezentowani przez jednakowo liczne grupy. Wśród ankietowanych było 25 osób (27,8%) w wieku 36–45 lat, 19 osób (21,1%) to osoby w wieku 26–35 lat. W badaniu wzięło udział również 17 osób w wieku 21–25 lat i w wieku 15–20 lat (18,9%), 8 osób w przedziale wiekowym 46–55 lat (8,9%), 3 osoby (3,3%) w wieku 65 lat i więcej oraz jedna osoba (1,1%) w przedziale 56–64 lat.

Wśród badanych większość osób to osoby pracujące (67 osób), 14 osób – uczące się lub studiujące (15,6%), 6 osób miało status osoby bezrobotnej (5,4%), a pozostałe 3 osoby określały się jako emeryt lub rencista (2,7%). Wśród ankietowanych 39 osób (43,3%) wskazało wykształcenie średnie, 30 osób (33,3%) wykształcenie zawodowe, 9 osób (10%) wykształcenie wyższe, 7 osób (7,7%) wykształcenie gimnazjalne, 3 osoby (3,3%) wykształcenie policealne, 2 osoby (2,3%) wykształcenie podstawowe.

Najliczniejsze grupy respondentów 17,8% (16 osób) zamieszkiwały gminy Hanna i Włodawa, 16,7% (15 osób) zamieszkiwało gminę Stary Brus, 13,3% (12 osób) gminę Hańsk, 12,2% (11 osób) gminę Urszulin, 7,8% (8 osób) gminę Wryki, a 7,2% (6 osób) kolejno miasto Włodawa i gminę Wola Uhruska. Przystawia to wykres poniżej (ryc. 4).



Źródło: opracowanie własne

Ryc. 4. Miejsce zamieszkania respondentów powiatu włodawskiego w podziale na gminy

## 4. Wyniki

W pierwszym zasadniczym pytaniu ankietowani zostali zapytani o to, czy ich zdaniem wyroby azbestowe stwarzają zagrożenie dla zdrowia i środowiska. Zdecydowana większość 76,4% (69 osób) wskazała, że tak, 13,5% (12 osób) odpowiedziało, że nie wie, a 10,1% (9 osób), że nie stwarzają zagrożenia.

Następnie zostało zadane pytanie, czy sposób demontowania wyrobów azbestowych może powodować zagrożenie dla ludzi i środowiska. Ponad połowa respondentów 66,7% wskazała, że tak, 21,1% – że nie, a 12,2% odpowiedziało, że nie wie.

W kolejnym pytaniu ankietowani określali, kiedy podczas demontażu wyrobów dochodzi według nich do uwalniania włókien azbestowych: 56,7% wskazało, że podczas łamania, cięcia lub kruszenia wyrobów, 20% odpowiedziało, że podczas niewłaściwego składowania odpadów, 14,4% – podczas rzucania płytami lub zrzucania płyt z wysokości, 1,1% wskazało, że podczas transportu odpadów w miejsca składowania, a 7,8% uważało, że demontaż wyrobów zawierających włókna azbestowe nie wpływa na jego uwalnianie do powietrza.

Na pytanie, kiedy azbest może być niebezpieczny dla zdrowia człowieka: 54,4% osób określiło, że poprzez wdychanie powietrza, w którym zostały zawieszone włókna azbestowe, 16,7% – że poprzez przedostanie się włókien drogą pokarmową człowieka, 13,3% wskazało, że ogólna obecność wyrobów azbestowych jest dla człowieka niebezpieczna, 4,6% udzieliło odpowiedzi, że wnika przez skórę przy bezpośrednim kontakcie z azbestem, a 11,1% wskazało, że nie potrafi określić w jakiej sytuacji.

W pytaniu o wiedzę ankietowanych na temat tego, kto może dokonywać demontażu wyrobów azbestowych 33,3% wskazało, że każda firma budowlana, 28,9% odpowiedziało, że tego może dokonać każdy np. właściciel obiektu, 24,4% zaznaczyło, że tylko wyspecjalizowane firmy posiadające uprawnienia do demontażu wyrobów azbestowych, 5,6% – że wyłącznie dekarz, a 7,8% osób nie wiedziało, kto może dokonywać tych czynności.

Następnym zadanym pytaniem, które badało świadomość osób ankietowanych, było wskazanie, czy podczas demontażu wyrobów azbestowych wymagany jest strój roboczy. 43,3% osób odpowiedziało, że podczas demontażu wymagany jest specjalny strój roboczy składający się m.in z odpowiedniego obuwia, kombinezonu, maski filtrującej, okularów, rękawic. Pośród ankietowanych 40% wskazało, że do tej czynności wystarczą rękawice i maska filtrująca lub ochronna, 4,4% określiło, że w zupełności wystarczy zwykły strój roboczy, a 10% wskazało, że nie wie.

Azbest w postaci jego wyrobów, np. eternitu, jest jeszcze obecny jako pokrycia dachowe budynków. W pytaniu, czy respondent posiada na swojej posesji wyroby azbestowe, ponad połowa osób 53,3% (48 osób) wskazała, że tak, 41,1% (37 osób) – że nie, a 5,6% (5 osób), że nie wie.

W kolejnym pytaniu 48 osób, które wcześniej odpowiedziały, że posiadają wyroby azbestowe na swojej posesji, wskazywały na ich rodzaj. Zdecydowana większość spośród tych osób posiada pokrycia dachu budynku mieszkalnego lub gospodarczego (37 osób), 6 osób – płyty elewacyjne budynków, a 5 osób składa odpady azbestowe na posesji.

W pytaniu, czy na terenie posesji respondenta demontowano lub usuwano wyroby azbestowe, ponad połowa 63,3% wskazała, że nie, 35,6% – że tak, 12,2% – że nie wie, a jedna osoba (1,1%) odpowiedziała, że wywożono odpady składowane na jej posesji.

Ankietowanym, którzy wskazali, że posiadają wyroby azbestowe, a dotychczas nie były one u nich demontowane, zadano pytanie, czy w najbliższej przyszłości zdecydują się na usunięcie wyrobów azbestowych ze swojej posesji; 46,8% wskazało, że nie, 29,8% – że tak, zamierza, a 23,4% stwierdziło, że nie jest osobą decyzyjną w tej kwestii.

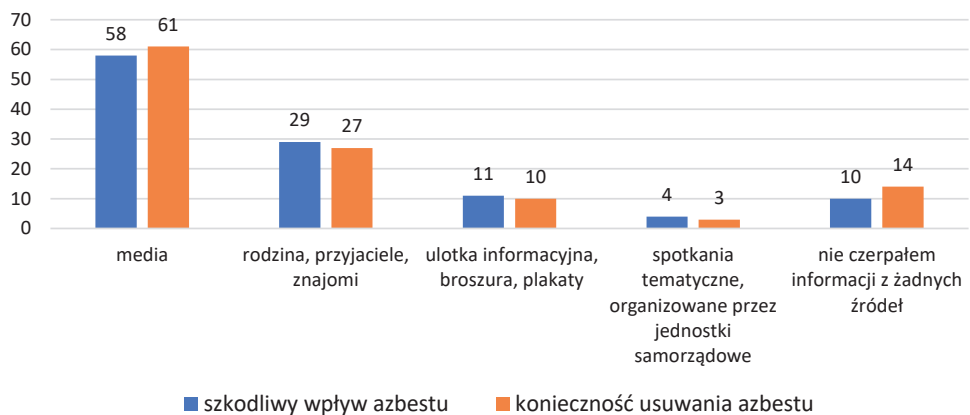
Respondentom zadano dwa pytania na temat ich otoczenia. Pierwsze pytanie dotyczyło obecności i ilości wyrobów azbestowych. 55,6% ankietowanych odpowiedziało, że brak jest dużej ilości wyrobów w jego otoczeniu, 28,9% wskazało przeciwnie, a 15,6% wskazało, że nie wie lub nie zwraca na to uwagi. Drugie zaś pytanie badało obserwację respondenta, czy zauważa wymiany i demontaż wyrobów azbestowych. Ponad połowa osób (52,2%) wskazała, że tak, zauważa, 24,4% odpowiedziało, że nie, nie jest to obecne, a 23,3%, że nie wie lub nie zwraca na to uwagi.

Do ankietowanych, którzy wcześniej wskazali, że na ich posesji był dokonany demontaż wyrobów azbestowych, skierowano dodatkowe szczegółowe pytania. W pytaniu o powód demontażu wyrobów azbestowych respondenci wskazywali w 43,8% na zły stan techniczny, 25% na nieestetyczny wygląd wyrobu, 18,8% dokonało demontażu wyrobów ze względu na ochronę środowiska, a 12,5% – z uwagi na uzyskane dofinansowanie oferowane przez jednostkę samorządową (w tej sytuacji oferowane przez gminy i powiat). W pytaniu o wykonawcę demontażu wyrobów azbestowych 43,8% badanych określiło, że wykonawcą była firma prywatna, posiadająca uprawnienia do demontażu, niezwiązana ze zleceniem demontażu przez jednostkę samorządową, 34,4% wskazało, że demontaż wykonała firma zlecona przez jednostkę samorządową, w związku otrzymanym dofinansowaniem, a 21,9% wskazało, że demontaż dokonano sam osobiście lub z pomocą członków z rodziny.

Osoby, które uzyskały dofinansowanie na demontaż wyrobów azbestowych, zapytano ponadto, czy ta inicjatywa ze strony jednostki samorządowej przyczyniła się do zmniejszenia negatywnego wpływu azbestu na człowieka i środowisko. W odpowiedzi 75% stwierdziło, że tak, a 25% nie miało zdania na ten temat. W pytaniu, czy pracownicy firmy demontażowej byli ubrani w strój ochronny, 43,8% odpowiedziało twierdząco, 43,8% osób nie pamięta, 6,2% osób stwierdziło, że byli ubrani, ale ich strój był niekompletny, a 6,2% – że pracowni-

cy nie byli ubrani w strój ochronny. Kolejne pytanie dotyczyło miejsca, gdzie wywieziono zdemontowane elementy: 53,1% osób odpowiedziało, że wywieziono je na składowisko odpadów wyrobów azbestowych, 21,9% wskazało na opuszczone tereny gminy, powiatu itp., u 12,5% badanych odpady zostały złożone i pozostawione na posesji, a kolejne 12,5% osób stwierdziło, że nie wiedzą, co zrobiono z odpadami.

Na końcu kwestionariusza zamieszczono dwa pytania wielokrotnego wyboru. Dotyczyły one źródeł wiedzy na temat konieczności usuwania azbestu i jego szkodliwego wpływu na organizm człowieka i środowisko. Uzyskane odpowiedzi obrazuje rycina 5. Najwięcej osób za źródło informacji wskazało media, rodzinę i przyjaciół.



Źródło: opracowanie własne

Ryc. 5. Źródła czerpania informacji na temat konieczności usuwania azbestu i szkodliwego wpływu azbestu na organizm człowieka

## 5. Podsumowanie i wnioski

W powiecie włodawskim mimo podjętych działań usuwania azbestu ze środowiska nadal znajdują się wyroby azbestowe. Połowa ankietowanych mieszkańców powiatu włodawskiego posiada na swoich posesjach wyroby azbestowe. Mieszkańcy często korzystają z usług uprawnianych do demontażu firm, lecz jeszcze duża liczba osób nie wie, jak powinien odbywać się on prawidłowo i bezpiecznie. Tylko 1/4 respondentów wskazała, że demontażu mogą dokonywać jedynie wyspecjalizowane firmy, a aż 1/3 twierdziła, że może to być każda firma budowlana lub nawet właściciel nieruchomości. Jednak duża liczba ankietowanych osób w najbliższym czasie nie zdecyduje się na usunięcie wyrobów azbestowych. Może to wynikać z faktu, że takie działanie jest związane z zainwestowaniem sporych środków finansowych. Jednostki samorządowe wspierają finansowo działania demontażu, lecz nie oferują wsparcia pieniężnego na zamontowanie np. nowego dachu.

Na podstawie przeprowadzonych badań wysunięto następujące wnioski:

1. Zdecydowana większość respondentów jest świadoma, że stosowanie wyrobów azbestowych i ich niewłaściwy demontaż, transport, składowanie przyczyniają się do negatywnego oddziaływania na człowieka i środowisko.
2. Respondenci w większości prawidłowo wskazują źródła uwalniania włókien do powietrza oraz drogę narażenia na włókna azbestowe.
3. Mimo popularyzacji zagrożeń związanych ze szkodliwym wpływem włókien azbestowych na zdrowie człowieka ponad połowa ankietowanych jest nieorientowana, jaki jest wymagany odpowiedni stój roboczy przy demontażu wyrobów azbestowych.
4. Mieszkańcy powiatu w zdecydowanej większości stwierdzili, że wsparcie jednostki samorządowej przyczyniło się do zmniejszenia negatywnego wpływu wyrobów azbestowych na zdrowie człowieka i środowisko.

## Literatura

- [1] Urbaniak W., 2015. Historia azbestu – od euforii do zakazu. Przegląd komunalny. Tom 1, 44–46.
- [2] Maciołek H., Zielińska A., Domarecki T., 2012. Oddziaływanie azbestu na środowisko przyrodnicze i organizm człowieka. *Journal of Ecology and Health* 16, 112–119.
- [3] Ustawa z dnia 19 czerwca 1997 r. o zakazie stosowania wyrobów zawierających azbest. (Dz.U. 1997 nr 101 poz. 628 z późn. zm.).
- [4] Uchwała nr 122/2009 Rady Ministrów z dnia 14 lipca 2009r. w sprawie ustanowienia programu wieloletniego pod nazwą „Program Oczyszczania Kraju z Azbestu na lata 2009–2032”.
- [5] Szeszenia-Dąbrowska N., Sobala W., 2010. Zanieczyszczenie środowiska azbestem. Skutki zdrowotne. Raport z badań, Instytut Medycyny Pracy im. prof. J. Nofera, Oficyna Wydawnicza MA, Łódź.
- [6] Rozporządzenie Ministra Klimatu z dnia 2 stycznia 2020 r. w sprawie katalogu odpadów (Dz.U. 2020 poz. 10).
- [7] Klemczak O., Biegańska J., 2009. Charakterystyka materiałów zawierających azbest – opinie na temat oddziaływania rur azbestowo-cementowych. *Prace Naukowe GIG. Górnictwo i Środowisko/Główny Instytut Górnictwa*, 29–39.
- [8] Niebezpieczny azbest, Sylwia Oziębło-Brzykczy, Państwowa Inspekcja Pracy, Główny Inspektorat Pracy, Warszawa 2018 <https://www.pip.gov.pl/pl/f/v/184812/br%20NiebezpiecznyAzbest-x%20Internet.pdf> (dostęp 01.05.2022).
- [9] Rozporządzenie Ministra Rodziny, Pracy i Polityki Społecznej z dnia 12 czerwca 2018 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia w środowisku pracy (Dz.U. 2018 poz. 1286).
- [10] Rozporządzenie Ministra Gospodarki i Pracy z dnia 14 października 2005 r. w sprawie zasad bezpieczeństwa i higieny pracy przy zabezpieczaniu i usuwaniu wyrobów zawierających azbest oraz programu szkolenia w zakresie bezpiecznego użytkowania takich wyrobów (Dz.U. 2005 nr 216 poz. 1824).
- [11] Rozporządzenie Ministra Gospodarki z dnia 13 grudnia 2010 r. w sprawie wymagań w zakresie wykorzystywania wyrobów zawierających azbest oraz wykorzystywania i oczyszczania instalacji lub urządzeń, w których były lub są wykorzystywane wyroby zawierające azbest (Dz.U. 2011 nr 8 poz. 31, załącznik nr 1 i 2).

- [12] <https://olesnica.naszemiasto.pl/sanepid-ostrzega-azbest-jak-cichy-zabojca/ar/c1-5632917>
- [13] Statystyczne Vademecum Samorządowca 2020r. Powiat Włodawski, Urząd Statystyczny w Lublinie, [https://lublin.stat.gov.pl/vademecum/vademecum\\_lubelskie/portrety\\_gmin/powiat\\_wlodawski/gmina\\_wlodawa-miasto.pdf](https://lublin.stat.gov.pl/vademecum/vademecum_lubelskie/portrety_gmin/powiat_wlodawski/gmina_wlodawa-miasto.pdf)
- [14] Oficjalna strona internetowa projektu „Bezpieczni bez azbestu” Urząd Marszałkowski Województwa Lubelskiego <https://azbest.lubelskie.pl/> (dostęp 20.04.2022 r.).
- [15] Prognoza oddziaływania na środowisko skutków realizacji. Programu usuwania wyrobów zawierających azbest z terenu miasta i gminy Kalwaria Zebrzydowska, pod kierownictwem dr inż. Beata Kłojzy-Karczmarczyk. Kraków – Kalwaria Zebrzydowska, 2015, <https://bip.malopolska.pl/pobierz/1301545.html> (dostęp 23.04.2022 r.).

## **ASSESSMENT OF THE AWARENESS OF THE INHABITANTS OF THE WŁODAWSKI COUNTY IN THE ASPECT OF THE IMPACT OF ASBESTOS ON THE ENVIRONMENT AND HUMAN HEALTH**

### **Abstract**

The term “asbestos” is used to describe a large group of minerals with specific and characteristic physicochemical properties. The pathogenic effect of asbestos occurs when airborne fibers are inhaled. They can penetrate deeply into the respiratory system and cause serious diseases. These fibers contribute to the pollution of the natural environment.

The aim of the study was to assess the environmental awareness of the inhabitants of Włodawski county, which concerns the safe handling of asbestos products and waste, during its disassembly, transport and storage, as well as the impact of asbestos on human health and the environment. The research was conducted with the use of a questionnaire with the use of internet tools. The article presents the results of the research carried out

**Key words:** asbestos, human, natural environment, ecological awareness

Opiekunowie naukowci: dr inż. Agnieszka Buczaj, dr inż. Anna Pecyna

Recenzenci: dr inż. Małgorzata Goździewska, dr hab. inż. Michał Marzec

# PROGNOZA KURSÓW KRYPTOWALUT Z UŻYCIEM SZTUCZNEJ SIECI NEURONOWEJ

Paulina Góra

Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny, Studenckie Koło Naukowe „SKORP”,  
ul. Sikorskiego 37, 70-313 Szczecin

e-mail: gora\_paulina@zut.edu.pl

## Streszczenie

Syntetyczne sztuczne sieci neuronowe są coraz powszechniejszym narzędziem pracy. Jednokierunkowe, rekurencyjne, sztuczne sieci neuronowe używane są do predykcji przebiegów kursów, a ich udział w dziedzinie ekonomii jest coraz większy. Praca zawiera podstawową analizę kursu kryptowalut oraz przedstawia algorytm wiążący w sobie te cechy. Głównym zadaniem stworzonego algorytmu jest predykcja kursów kryptowalut o zauważalnych zależnościach. Wyniki mogą posłużyć za ocenę jakości stworzonego algorytmu, poprawności działania zaimplementowanej sztucznej sieci neuronowej oraz jako narzędzie pomagające w dokonywaniu transakcji na rynku kryptowalut.

**Słowa kluczowe:** kryptowaluty, sztuczne sieci neuronowe, predykcja

## 1. Wprowadzenie

Kryptowaluty są uznawane jako nowa, elektroniczna, alternatywna metoda wymiany waluty [1]. Zdominowały one większość transakcji finansowych i w rezultacie uważane są za jedne z najbardziej popularnych oraz opłacalnych inwestycji. Niemniej rynek kryptowalut charakteryzuje się znacząco zmiennością i silnymi wahaniami cen w czasie. Obecnie prognozowanie kursów kryptowalut traktowane jest jako jeden z najtrudniejszych problemów w predykcji szeregów czasowych. Wpływa na to duża liczba nieprzewidywalnych czynników i znaczna zmienność ich przebiegu. Skutkuje to skomplikowanymi zależnościami czasowymi [2].

Na przestrzeni ostatnich lat metody głębokiego uczenia poszerzyły swoje zastosowanie o dziedzinę predykcji szeregów czasowych, a szczególnie zainteresowanie znalazły w predykcji kursów kryptowalut. Większość metod prognozy opiera się na specjalnej architekturze sieci neuronowej typu LSTM. Jest to rekurencyjna sieć neuronowa typu pamięci krótkoterminowej [3]. Jej zaawansowana architektura, w przypadku prognozowania, pozwala na proces uczenia się sieci na podstawie danych dotyczących poprzednich wartości przebiegów czasowych. Pozwala to na predykcję za pomocą danych tylko jednego szeregu czasowego.

W celu dokonywania tak zaawansowanych operacji, jak prognoza kursu wirtualnych monet wykorzystująca zależności obecne na rynku, niezbędna jest wiedza dotycząca struktur jego działania. Dane omawiające zależności między ich kursami są niezbędne do bardziej skomplikowanych działań.



Celem niniejszej pracy jest zbadanie algorytmów predykcyjnych na podstawie danych dotyczących kursów kryptowalut. Wybrane metody zostały zaimplementowane w środowisku MATLAB, a na podstawie wielkości współczynnika średniej kwadratowej i znormalizowanej średniej kwadratowej została dokonana ocena wybranych algorytmów.

W celu predykcji kursów kryptowalut przedstawiono dwa algorytmy. Pierwszy algorytm pozwala na predykcję kursu waluty, wykorzystując informacje dotyczące jej korelacji z inną. Drugi z nich wykorzystuje tylko strukturę sieci neuronowej. Użytkownik nie potrzebuje większej wiedzy dotyczącej specyficznych zachowań na rynku. Na zakres pracy składa się również dobór odpowiedniej bazy danych, przegląd metod oraz implementacja operacji matematycznych.

## 2. Narzędzia wykorzystane do prognozy kursów

Czynnie udzielając się na giełdzie wirtualnych monet i podejmując mniejsze lub większe inwestycje, można zwrócić uwagę na pewne podobieństwo oraz zależności w ich przebiegach. Obserwacje zauważalne gołym okiem mogą być złudne, a zależności nie należy mylić z pojęciem korelacji. Stosując statystyczne metody analizy skoków i spadków cen wirtualnych monet, można dokładnie zbadać, czy korelacja występuje i w jakim stopniu. Posiadając dane określające korelację między dwoma szeregami czasowymi oraz informację o tym, jakie między nimi występuje opóźnienie, można stworzyć predykcję różnicy w ich cenie. Zakładając, że waluta X jest opóźniona względem waluty Y o 10 dni, można za pomocą sztucznej sieci neuronowej wyznaczyć ich przyszłą różnicę w cenie. Wykonując proste operacje matematyczne, wystarczy od waluty Y, której kursy już znamy, odjąć prognozowaną różnicę w cenie. Takim sposobem następuje proste wyznaczenie oraz prognoza przyszłych kursów, na czas opóźnienia, waluty X. Przedstawiony przykład odwzorowuje zasadę działania pierwszego algorytmu prognozy.

### 2.1. Zebranie danych

Kluczową częścią każdego badania jest zebranie danych oraz ocena ich jakości. Jeżeli są to dane słabej jakości, to uzyskane wyniki mogą być fałszywe i niemiarodajne. Jako dane słabej jakości, w odniesieniu do pracy tytułowej, można określić:

- Dane określające ceny wybranych monet zapisywane w nierównych odstępach czasu. Zakładając nawet dane dotyczące cen każdego kolejnego dnia, jeżeli zostały one wpisywane w różnych godzinach, mogą wpłynąć na pogorszenie wyników.
- Dane określające ceny, zapisane w zbyt dużych odstępach czasowych.
- Dane określające ceny różnych kryptowalut, zapisywane nierównomiernie. Zakładając badanie korelacji dwóch monet, chcemy aby dane dotyczyły ich cen w tym samym momencie.
- Dane określające ceny, zakładające zbyt małą dokładność w ich cenie.

W tytułowej pracy do obliczeń programowych została użyta baza danych Cryptocurrency Price History [4]. Jest ona powszechnie używana do badania stabilności kryptowalut, wahań w ich cenach oraz badania przebiegu różnych walut w czasie. Do badań korelacji

zostały wybrane dane dotyczące cen monet pod koniec każdego dnia. W badaniu podzielono dane na pięć różnych przedziałów czasowych:

- jeden miesiąc,
- trzy miesiące,
- sześć miesięcy,
- jeden rok,
- dwa lata.

Dobór takich przedziałów czasowych nie jest przypadkowy. Znalezienie występowania zjawiska korelacji w szeregach czasowych jest pojęciem skomplikowanym. Kryptowaluty mogą wykazywać wysoką korelację w krótkim przedziale czasowym. Powodem zaburzeń w ich wyznaczeniu mogą być nagłe skoki lub spadki cen wirtualnych monet czy czas życia danej monety. Silne uzależnienie od innej, na przykład od bitcoina, mogło nastąpić dopiero po kilku miesiącach czy latach od jej stworzenia.

W pracy przeprowadzono badania w przypadku ośmiu kryptowalut, dla których transakcje na rynku są prowadzone z dużą częstotliwością. Kolejną przyczyną, mającą wpływ na decyzję, była również ich subiektywna popularność. Mowa o monetach typu: bitcoin, binance, cardano, dogecoin, ethereum, solana, tether oraz XRP.

## 2.2. Interpretacja zależności na rynku

W pracy posłużono się środowiskiem programistycznym MATLAB w celu implementacji niezbędnych algorytmów. Został stworzony program do badania korelacji metodą Spearmana. W odróżnieniu od metody Pearsona nie ogranicza się ona tylko do zależności liniowej [6]. Zaimplementowany algorytm pozwala również na udzielenie informacji dotyczących poziomu istotności oraz istotności współczynnika korelacji. Wielkości te pozwalają na dokonanie oceny, czy istnieje zależność monotoniczna w szeregach czasowych.

Pierwszą utworzoną kryptowalutą jest bitcoin i to właśnie między nim a później powstałymi walutami zachodzi najwięcej transakcji. Śledząc kursy, można zauważyć, że kiedy notowania bitcoina spadają, to w ślad za nim, w jeszcze większym stopniu, podążają notowania innych cyfrowych walut. Gdy notowania bitcoina rosną, można zaobserwować dwa scenariusze. Pierwszym z nich jest jeszcze większy wzrost kursu tej waluty wynikający z zainteresowania użytkowników w inwestycje środka wymiany o szybko narastającej wartości. Drugim scenariuszem jest szybki wzrost kursu innych kryptowalut. Gdy wartość bitcoina utrzymuje swoją stabilność, można zauważyć przyrost notowań innych wirtualnych walut [7]. W pracy zdecydowano się na badania korelacji pomiędzy bitconem a innymi monetami z uwagi na silną zależność potwierdzoną przez liczbę przeprowadzanych między nimi transakcji. W tabeli 1 przedstawione zostały wartości przesunięcia w dniach w przypadku binance, cardano, dogecoin, ethereum, solana, tether oraz XRP względem bitcoina. W tabeli 2 wypisane zostały wyznaczone wartości korelacji ww. walut względem bitcoina w różnych ramach czasowych. W obu tabelach wartości są wyznaczone w różnych przedziałach czasowych. Krótsze niż dwa lata szeregi są liczone jako ostatnie dane z wektora wartości cen. Na przykład szereg czasowy „1 miesiąc” oznacza ostatni spisany miesiąc kursu kryptowaluty. Zaimplementowany algorytm posiada również funkcje informujące użytkownika odnośnie istotności statystycznej uzyskanej zależności. Wzór na  $t$  do weryfikacji hipotezy prezentuje się następująco:

$$t = \frac{r_s \times \sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r_s^2}} \quad (1)$$

gdzie:

$t$  – test, współczynnik weryfikacji testu,

$r_s$  – współczynnik korelacji,

$n$  – liczność próby.

Dla danej wartości testu  $t$  odczytać należy wartość  $p$  i porównać ją z założonym poziomem istotności. Obliczenia zostały wykonane dla wszystkich szeregów czasowych wybranych kryptowalut względem bitcoina, a przykładowe wyniki w przypadku szeregów czasowych przebiegów jednomiesięcznych zostały ukazane w tabeli 3.

Tabela 1. Przesunięcie w dniach dla walut względem bitcoina w różnych przedziałach czasowych

	BINANCE	CARDANO	DOGECOIN	ETEHREUM	SOLANA	TETHER	XRP
1 miesiąc	0	0	0	0	0	0	0
3 miesiące	0	0	6	0	0	0	0
6 miesięcy	26	7	35	0	33	0	17
1 rok	30	30	49	2	40	0	16
2 lata	30	30	49	2	0	0	0

Źródło: Opracowanie własne

Tabela 2. Wartości korelacji walut z bitcoinem, zaokrąglone do trzech cyfr znaczących, w różnych przedziałach czasowych

	BINANCE	CARDANO	DOGECOIN	ETHEREUM	SOLANA	TETHER	XRP
1 miesiąc	0.738	0.666	0.693	0.664	0.718	-0.089	0.764
3 miesiące	0.868	-0.033	0.232	0.423	0.211	-0.181	0.903
6 miesiecy	0.444	0.11	0.139	0.243	0.169	-0.115	0.367
1 rok	0.898	0.835	0.812	0.9	0.731	-0.182	0.786
2 lata	0.950	0.930	0.914	0.942	0	-0.351	0.815

Źródło: Opracowanie własne

W tabeli 2 wartość korelacji pomiędzy bitcoinem a solaną na przestrzeni dwóch lat jest zerowa, ponieważ solana wtedy jeszcze nie powstała.

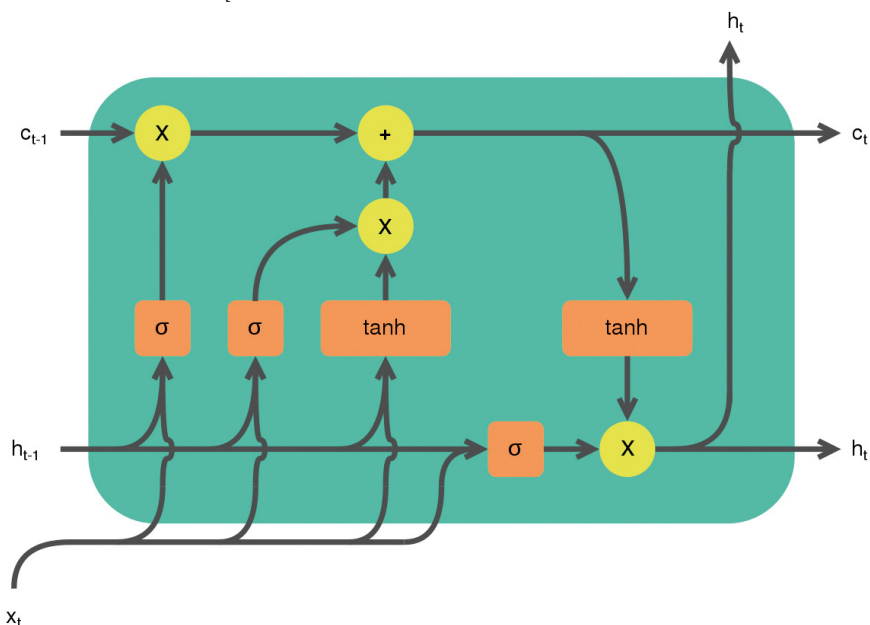
Tabela 3. Wartości: r – korelacji, t – testu, p – istotności, dla szeregów czasowych pomiędzy wybranymi kryptowalutami a bitcoinem na przestrzeni jednego miesiąca

	BINANCE	CARDANO	DOGECOIN	ETHEREUM	SOLANA	TETHER	XRP
r	0.738	0.666	0.693	0.664	0.718	-0.089	0.764
t	5.786	4.728	5.092	4.705	5.464	-0.476	6.278
p	3.2609e-06	5.8314e-05	2.1529e-05	6.2034e-05	7.814e-06	0.63754	8.6894e-07

Źródło: Opracowanie własne

### 2.3. Rekurencyjna sieć neuronowa typu LSTM

Metodologia sieci LSTM została już opracowana w latach dziewięćdziesiątych, jednak dopiero niedawno zyskała miano silnego narzędzia służącego do prognozy. Architektura sieci LSTM jest stworzona na podstawie rekurencyjnych sieci neuronowych. LSTM rozwiązuje poważny problem, z którym borykają się rekurencyjne sieci neuronowe – krótką pamięć. Używając serii „bramek”, z których każda ma własną sieć RNN, LSTM potrafi zachować, zapomnieć lub zignorować punkty danych na podstawie modelu probabilistycznego. Interesująca architektura sieci, która posiada sprzężenie, pozwala na sprawdzanie prognozowanej wartości z wartościami przeszłymi. Po dokonaniu prognozy wartość jest znowu wprowadzana do modelu, w celu przewidzenia kolejnej wartości w sekwencji. Z każdym przewidywaniem do modelu wprowadzany jest pewien błąd, który jest zmniejszany za pomocą sigmoidalnych czy *tanh* funkcji aktywacji przed wejściem do bramki [5]. Na rysunku 1 przedstawiono architekturę LSTM.



Źródło: [5]

Rys. 1. Architektura sieci LSTM

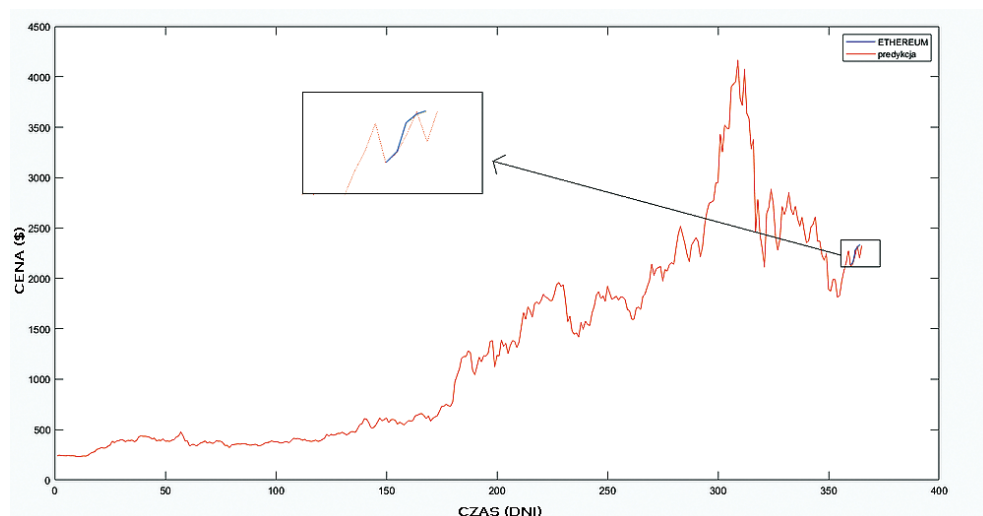
### 3. Wyniki zaproponowanych algorytmów

W pracy zwrócono uwagę na dwa algorytmy predykcji kursów kryptowalut. Pierwszy, bezpośredni, który prognozuje przyszłe kursy z użyciem sztucznej sieci neuronowej. Sieć typu LSTM uczy się tylko na podstawie szeregu danych wprowadzonego na jej wejście. Pozwala to na predykcję cen, nie zwracając uwagi na wszelkie zależności widoczne na rynku.

Drugi algorytm wykorzystuje wiedzę dotyczącą korelacji pomiędzy bitcoinem a innym walutami. Można nazwać go metodą pośrednią, ponieważ prognozuje on różnicę w cenie bitcoina a dobrze skorelowaną z nim monetą. Dopiero później, wykorzystując dane dotyczące przesunięcia, możliwe jest wyznaczenie kursu waluty.

#### 3.1. Prognozowanie kursów kryptowalut siecią LSTM

W tym algorytmie posłużono się danymi dotyczącymi waluty ethereum i jej cen na przestrzeni jednego roku. W zaimplementowanym projekcie wyznaczono oraz wykreślono jej prognozowany przebieg (rys. 2).



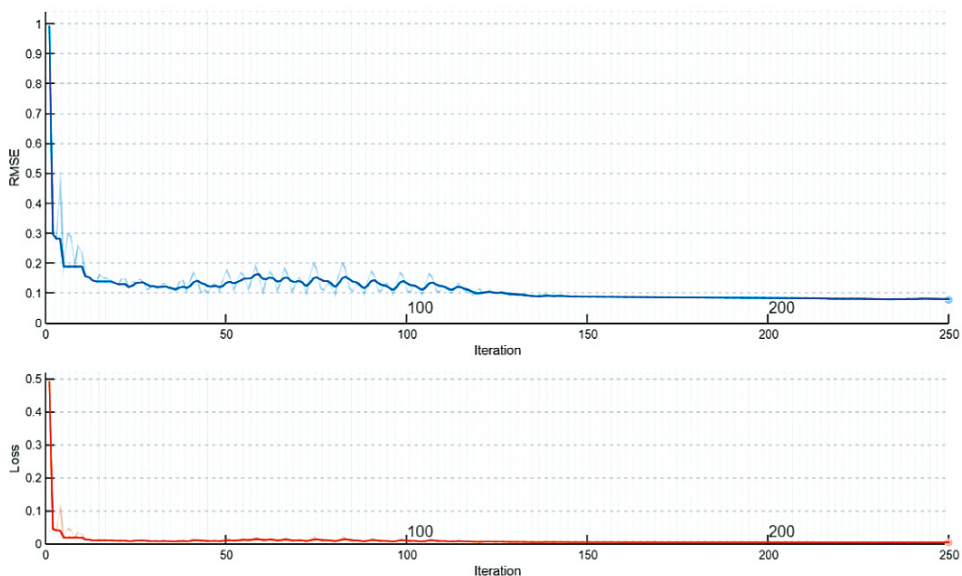
Źródło: Opracowanie własne

Rys. 2. Predykcja kursu ethereum

#### 3.2. Prognozowanie kryptowalut metodą pośrednią

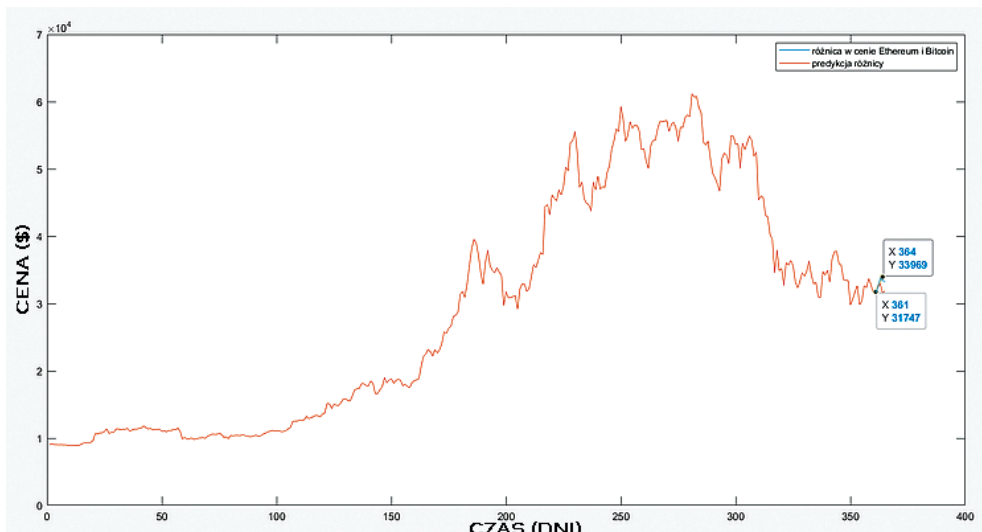
Zaprojektowany algorytm cechuje się swoją uniwersalnością. Do badań predykcji za pomocą tego algorytmu zastosowano dane z bazy omówionej w podrozdziale 2.1. Stworzony program w środowisku MATLAB został przebadany w przypadku predykcji różnicy w cenie bitcoina i ethereum. Zdecydowano się na te dwie monety, ponieważ na szeregach czasowych o długości jednego roku wykazały się średnim przesunięciem równym dwa dni (tab. 1) oraz bardzo wysoką korelacją (tab. 2). W dziedzinie prognozowania za pomocą metod sztucznej inteligencji zwraca się również uwagę na ilość danych – jeżeli danych dobrej jakości jest

więcej, tym lepsze wyniki można uzyskać. Uwzględniając poziom istotności pomiędzy bitcoinem a ethereum, można zauważyć, że jest on porównywalnie niski dla badań w każdym przebiegu czasowym (przykładowo dla okresu równego 1 miesiąca, tab. 3). Na rysunku 2 zostały przedstawione zmiany współczynnika RMSE oraz Loss w trakcie procesu uczenia się sieci neuronowej i wyznaczania predykcji. RMSE, czyli średnia kwadratowa, a dokładniej pierwiastek z MSE, czyli błędu średniokwadratowego, określa dokładność predykcji. Wyznaczanie tej wartości nie wymaga dodatkowego implementowania kodu programistycznego. Jest to dodatkowa wartość uzyskana po wykonaniu programu związanego z uczeniem się sieci neuronowej. Loss oznacza straty, jakie powstają w kolejnych iteracjach uczenia się sieci neuronowej. Najlepiej, jeśli obie wartości w kolejnych epokach procesu trenowania zbliżają się do zera. Na rysunku 3 można zauważyć taką zależność przy procesie uczenia się sieci w 250 iteracjach. Na rysunku 4 ukazano uzyskaną predykcję pięciu dni różnicy w cenie pomiędzy bitcoinem a ethereum.



Źródło: Opracowanie własne

Rys. 3. Proces uczenia się sieci neuronowej. Wykresy wartości RMSE i Loss w każdej iteracji nauki



Źródło: Opracowanie własne

Rys. 4. Predykcja różnicy w cenie ethereum i bitcoin

### 3.3. Wyniki predykcji

Najważniejszym współczynnikiem określającym dokładność predykcji jest współczynnik RMSE, czyli średnia kwadratowa. Wartości RMSE w przypadku dwóch algorytmów zostały przedstawione w tabeli 4.

Tabela 4. Wartości RMSE dla metody bezpośredniej (podrozdział 3.1) i metody pośredniej (podrozdział 3.2)

Prognoza metodą bezpośrednią	Prognoza metodą pośrednią
RMSE = 69	RMSE = 1535.1

Źródło: Opracowanie własne

W przypadku różnych szeregów danych nie da się określić jednej, najlepszej wartości współczynnika RMSE, ponieważ wszystko zależy od wartości liczb, jakie się w tym szeregu znajdują. Dobrym narzędziem do porównania dokładności dwóch algorytmów jest wartość znormalizowanego RMSE (NRMSE) wyliczanej ze wzoru:

$$NRMSE = \frac{RMSE}{y_{max} - y_{min}} \quad (2)$$

gdzie:

$NRMSE$  – znormalizowany  $RMSE$ ,

$RMSE$  – średnia kwadratowa,

$y_{max}$ ,  $y_{min}$  – największa wartość próbki, najmniejsza wartość próbki.

Wyniki zostały przedstawione w tabeli 5.

Tabela 5. Wartości NRMSE dla metody bezpośredniej (podrozdział 3.1) i metody pośredniej (podrozdział 3.2)

Prognoza metodą bezpośrednią	Prognoza metodą pośrednią
NRMSE = 0.0345	NRMSE = 0.0313

Źródło: Opracowanie własne

Analizując wyniki z tabeli 5, można zauważyć, że obie metody uzyskały podobną dokładność. Wartości bliższe zeru oznaczają lepsze dopasowanie modelu do wykonywanego zadania. Niewielką przewagą lepszą dokładność wykazał model metody pośredniej, która wyznaczała prognozę różnicy w cenie kryptowalut między sobą.

#### 4. Podsumowanie

Metody predykcyjne wykorzystujące algorytmy sztucznej inteligencji pozwalają w prosty sposób wyznaczyć szukane wartości. Na zwiększenie efektywności zaimplementowanych algorytmów mógłby mieć proces zwiększenia liczby danych. Pozwoliłoby na to zastosowanie innych baz danych, zawierających dane dotyczące cen kryptowalut, których różnica w czasie wynosi mniej niż dzień. Zakładając, że w przypadku szeregu czasowego wynoszącego rok (długość wektora wynosi 365), dla danych spisywanych co 12 godzin, byłby on dwa razy dłuższy (długość wektora równa 730).

Innym sposobem na zwiększenie efektywności i dokładności działania zaimplementowanego algorytmu mógłby być proces użycia sieci zdolnej do uczenia się przebiegów różnych kursów kryptowalut i zapamiętywania go. Na przykład sztuczna sieć neuronowa, która w procesie uczenia się wykorzystuje tylko dane dotyczące zmian ceny bitcoina, posiada wyłącznie informacje dotyczące skoków i spadków cen tej waluty. Ucząc ją również przebiegów walut dobrze skorelowanych z bitcoinem, pozwoliłoby na zachowanie w jej pamięci jeszcze większej liczby informacji na temat zachowań rynku wirtualnych monet.

Użyta do badań baza zawiera dane cen kryptowalut do dnia 06.07.2021 roku. Okres letni 2021 roku charakteryzował się dużymi wahaniami na rynku kryptowalut. Zastosowanie najświeższych danych mogłoby pozwolić na zwiększenie dokładności wyników, ze względu na mniejsze wahania w szeregach czasowych walut.

Kryptowaluty są coraz częściej określane mianem narzędzia pracy wielu osób, a liczba użytkowników internetowych giełd rośnie. Algorytmy typu blockchain są coraz bardziej doprecyzowywane i stosowane do szerszych zastosowań [8]. Pomimo wprowadzania nowszych i wyższych podatków przewiduje się rosnące zainteresowanie kryptogiełdami [10]. Za argument potwierdzający ten proces można przyjąć coraz większą liczbę nowych wirtualnych monet pojawiających się na internetowych giełdach. Rynek kryptowalut jest na pewno coraz bardziej dostępny dla wszystkich chcących dokonywać na nim transakcji [9]. Metody predykcyjne na pewno będą w przyszłości rozwijane i może kiedyś na stałe wyprą fizyczne analizy finansowe dokonywane przez specjalistów.



## Literatura

- [1] Nasir M.A., Huynh T.L.D., Nguyen S.P., Duong D., 2019. Forecasting cryptocurrency returns and volume using search engines. *Financ. Innov.* 5, 2.
- [2] An Advanced CNN-LSTM Model for Cryptocurrency Forecasting Ioannis E. Livieris 1,\* , Niki Kiriakidou 2, Stavros Stavroyiannis 3 and Panagiotis Pintelas 1.
- [3] Kim T.Y., Cho S.B., 2019. Predicting residential energy consumption using CNN-LSTM neural networks. *Energy* 182, 72–81 [CrossRef].
- [4] Cryptocurrency Historical Prices, Kaggle, <https://www.kaggle.com/datasets/sudalairajkumar/cryptocurrencypricehistory>
- [5] LSTM Framework For Univariate Time-Series Prediction, by Joseph (Iosif) Mushailov, Towards Data Science, <https://towardsdatascience.com/lstm-framework-for-univariate-time-seriespredictiond9e7252699e>
- [6] Współczynnik korelacji Spearmana, Statystyka – zadania z rozwiązaniami, <https://www.statystyka-zadania.pl/wspolczynnik-korelacji-spearmana/>
- [7] Wpływ Bitcoina na pozostałe kryptowaluty, <https://kantorbitcoin.pl/wplyw-kryptowaluty-bitcoin-na-altcoiny/>
- [8] Cryptocurrency: What It Is and How It Works, <https://www.nerdwallet.com/article/investing/cryptocurrency>
- [9] Korea Blockchain Week Attracts Crowds Amid Market Turmoil – The New York Times.
- [10] The Taxation of Cryptocurrency – The CPA Journal, <https://www.cpajournal.com/2019/01/24/the-taxation-of-cryptocurrency/>

## CRYPTOCURRENCY EXCHANGE RATE PREDICTION USING ARTIFICIAL NEURAL NETWORK

### Abstract

Synthetic Artificial Neural Networks are an increasingly common working tool. Unidirectional, recursive artificial neural networks are used for course prediction, and their contribution to the field of economics is increasing. The paper includes a basic analysis of the course of cryptocurrencies and presents an algorithm that binds these features. The main task of the created algorithm is to predict the courses of cryptocurrencies with noticeable dependencies. The results can be used as an assessment of the quality of the created algorithm, the correctness of the implemented artificial neural network, and as a tool to help make transactions in the cryptocurrency market.

**Key words:** cryptocurrencies, artificial neural networks, prediction

Opiekun naukowy: mgr. inż. Andrzej Biedka

Recenzenci: dr inż. Krzysztof Rutkiewicz, dr inż. Małgorzata Krotowska

# INDUKCJA KULTUR KALUSA ŻÓLTEJ ODMIANY PETUNII WIELKOKWIATOWEJ (*PETUNIA X HYBRIDA GRANDIFLORA*) ORAZ ANALIZA ZWIĄZKÓW LOTNYCH

Maciej Jakobina

Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Wydział Przyrodniczo-Technologiczny, Studenckie Koło Naukowe Genetyków i Hodowców Roślin, pl. Grunwaldzki 24A, 52-363 Wrocław

e-mail: 116404@student.upwr.edu.pl

## Streszczenie

Petunia znajduje zastosowanie w badaniach podstawowych dotyczących mikro-rozmnażania, jak i w kontekście pozyskiwania metabolitów wtórnych w warunkach *in vivo*. Dotychczas wykorzystywano różne fragmenty roślin z warunków *in vivo* do otrzymywania różnych związków. Natomiast brak jest doniesień naukowych dotyczących zastosowania tkanek roślinnych *in vitro* jako źródła wtórnych metabolitów. Celem pracy było otrzymanie tkanki kalusowej i zbadanie profilu związków lotnych. Inicjację kalusa żółtej odmiany (*Petunia x hybrida grandiflora*) z powodzeniem przeprowadzono na pożywce MS z dodatkiem 5 mg/L 2-izopentyloadeniny (2iP) i 0,1 mg/L kwasu naftylooctowego (NAA) o pH 6,0. Z kolei analizę związków lotnych wykonano za pomocą chromatografii gazowej z zastosowaniem techniki SPME. W tkance kalusowej stwierdzono największy udział takich związków jak: 1-heksanol, alkohol benzylowy, ester etylowy kwasu benzooesowego oraz 2'-hydroksy-5'-metoksy-acetofenon.

**Słowa kluczowe:** *Petunia x hybrida grandiflora*, *in vitro*, kalus, GC/MS

## 1. Wprowadzenie

Petunia ogrodowa wielkokwiatowa (*Petunia x hybrida grandiflora*) należy do rodziny roślin psiankowatych (*Solanaceae* Juss.) Rośliny te mają duże znaczenie florystyczne, fitochemiczne i etnobotaniczne. Należą do jednej z najważniejszych rodzin uprawnych o dużym znaczeniu ekonomicznym na świecie [22, 25]. Rodzaj *Petunia* Juss. składa się z 35 gatunków i obejmuje wiele odmian [5, 12]. Jest rośliną modelową, szybko rozmnażającą się w warunkach *in vitro*.

### 1.1. Kultury *in vitro*

Wykorzystanie kultur *in vitro* jest najlepszym sposobem na uzyskanie jednolitego materiału roślinnego. Przeprowadzając mikro-rozmnażanie, można w krótkim czasie wyprodukować dużą ilość klonów roślin [1]. Zachowanie chemicznych i fizycznych warunków uprawy (temperatura, fotoperiod, pożywka) pod ścisłą kontrolą pozwala na prowadzenie aseptycznych i stabilnych kultur tkankowych roślin.

Materiał petunii z kultur *in vitro* wykorzystywany był do wielu rodzajów badań m.in. do określenia wpływu różnych czynników – światła, wapnia i azotu, węglowodanów, dwutlenku węgla, etylenu różnych hormonów roślinnych na regenerację oraz reakcje anatomiczne roślin, a także wywoływania poliploidyacji [5–11, 13].

Skuteczną indukcję aseptycznych kultur tkankowych petunii uzyskuje się m.in., używając nasion. Nasiona można dezynfekować w 1% lub 0,2% (v/v) roztworze podchlorynu sodu z dodatkiem 0,1% (v/v) Tween 2 przez 15 minut [2, 5]. Aseptyczne kultury uzyskano także, używając jako materiału wyjściowego fragmentu liścia, segmentu węzłowego i pędu wierzchołkowego podczas traktowania fungicydem (karbendazym) 0,02% przez 30 min, 0,1% HgCl<sub>2</sub> przez 5 min, a następnie 70% etanolem przez 10 sekund. Dłuższy czas sterylizacji HgCl<sub>2</sub> lub jego zwiększone stężenie wykazywały nekrotyczny wpływ na eksplantaty [12].

Do indukcji kultur, bez względu na rodzaj eksplantatu wyjściowego, wykorzystuje się pożywkę podstawową MS [1, 2, 5, 12]. Badania wykazały, że efektywne namnażanie roślin można osiągnąć, używając jako eksplantatu pędów wierzchołkowych i międzywęzła [1, 5].

Stosowanie odpowiednich hormonów w kulturach *in vitro* roślin i ich mieszanek w odpowiednim stosunku może wywoływać skuteczną indukcję kultur, ryzogenezę, organogenezę, wytwarzanie lub proliferację kalusa oraz zmiany metaboliczne w roślinie. Badania wykazały, że siewki petunii hodowane na pożywce MS z dodatkiem 0,1 mg/L NAA oraz 0,5 ml/L BA w pozwoliły na otrzymanie stabilnych kultur. Uzyskane następnie pędy wierzchołkowe najlepiej regenerowały się na pożywce MS dodatkiem TDZ 0,5–8 μM [5]. Wyniki zespołu Habas i in. [1] wykazały z kolei, że najlepsze przyrosty siewek uzyskanych z nasion odnotowano na pożywce MS z dodatkiem 1 mg/L BAP oraz 1 mg/L NAA, największą zaś liczbę pędów na pożywce MS z dodatkiem 0,6 mg/L BAP oraz 0,5 mg/L IBA.

Kultury kalusa mogą znaleźć zastosowanie w wielokaskadowej i zróżnicowanej produkcji metabolitów wtórnych dla przemysłu kosmetycznego i farmaceutycznego. Wytwarzane substancje nie są ograniczone do pewnych grup związków, lecz mają dużą różnorodność chemiczną [20]. Związki biologicznie czynne mogą być bezpośrednio wyekstrahowane z kalusa bez poświęcenia całej rośliny. Ponadto zastosowanie kultur zawiesin komórkowych, jako bioreaktorów do produkcji metabolitów wtórnych, znajduje zastosowanie w przemyśle, dzięki czemu można produkować w sposób ciągły cenne substancje bez ograniczeń biotycznych i abiotycznych wynikających z upraw konwencjonalnych [21]. W przypadku petunii otrzymywanie kalusa przez zespoły badawcze miało miejsce przy wykorzystaniu różnych organów rośliny, ale tylko na potrzeby morfo- i organogenezy. I tak zastosowanie 2,0 mg/L kinetyny w połączeniu z 0,5 mg/L IBA powodowało regenerację kalusa pochodzącego zarówno z liści, jak i segmentów międzywęzłowych [12]. Wykorzystanie 1/2 MS z dodatkiem 1 mg/L IAA oraz 0,2 mg/L BA z 30 g/L sacharozy, a także przy zastosowaniu kombinacji hormonalnej 1 mg/L IAA z dodatkiem 0,2 mg/L BA powodowały wysoki poziom inicjacji kalusa z pędów wierzchołkowych petunii [14]. Chaar i in. [13] prowadzili badania nad wytworzeniem kalusa z pylników umieszczonych na pożywce opracowanej według Sangwan i Norell (1975) z dodatkiem 0,1 mg/L BA i 1 mg/L NAA. Indukcję rozpoczęto, pozostawiając materiał roślinny miesiąc na pożywce w ciemności. Po przeniesieniu kultur do światła białego po 2 tygodniach pylniki wytwarzały kalus. Z kolei indukcję kalusa z protoplastów z powodzeniem przeprowadzono na pożywce Kao i Michayluk w cyklu 16/8 godzin światło/ciemność [15].

Do tej pory nie odnotowano doniesień naukowych na temat wykorzystania kalusa petunii jako potencjalnego źródła metabolitów wtórnych.

## 1.2. Skład chemiczny petunii

Powszechnie wiadomo, że rodzina psiankowatych zawiera szeroką gamę metabolitów wtórnych o właściwościach biologicznych i medycznych. Ekstrakty i czyste związki pozyskiwane z gatunków roślin rodziny *Solanaceae* mają właściwości przeciwnowotworowe, a także efekty synergistyczne z chemioterapeutykami i nanocząsteczkami [22]. *Solanaceae* posiadają związki, które mogą być stosowane z korzyścią dla ludzkiego zdrowia, takich jak alkaloidy, saponiny, fenole, terpeny i lipidy oraz toksyczne alkaloidy o wysokim potencjale przeciwnowotworowym, przeciwbakteryjnym, przeciwreumatycznym i przeciwutleniającym [23, 24]. U petunii z organów roślinnych, którymi były liście i łodygi, zidentyfikowano niektóre związki takie jak: petuniasteron A, petuniasteron-C-22-O-octan, dioctan petuniosteronu-D, 30-hydroksypetuniosteron A, petuniasteron E, petuniasteron F, petuniasterony G1 i G2 oraz pochodne ergostanu-3-onu, a także pochodne ergosta-1,4-dien-3-on. Petuniasterony hamowały proliferację ludzkich limfocytów w niecytotoksycznych stężeniach, dzięki czemu wykazano potencjalne działanie immunosupresyjne [26–28, 32]. Petuniasterony wykazują także działanie mięczakobójcze i bakteriobójcze. Jednak jak udowodniły badania, w zależności od łańcuchów bocznych miały różne w skutkach działania mięczakobójcze [31]. Ponadto z gatunku petunia można uzyskać szereg związków steroidowych oraz petunialidy, które działają inhibitoryjnie na owady i przyczyniają się do odporności roślin na ich żerowanie [28–30].

Profilowanie chemiczne przy udziale chromatografii gazowej ma szerokie zastosowanie w separacji i analizie mieszaniny związków. Wykorzystując technikę chromatograficzną, można ilościowo określić składniki rośliny w bardzo niskich stężeniach [36]. Stosując technikę GC/MS, wykazano, że w płatkach petunii znajdują się metabolity pochodzące z fenylpropanoidów takie jak antocyjany, kumaryny, kwas salicylowy czy minolignole [33]. Natomiast za zapach w głównej mierze w kwiatach *Petunia x hybrida* odpowiada izo-eugenol [37].

Dotychczas nie przeprowadzono analizy składu związków lotnych występujących w kalusie *Petunia x hybrida grandiflora* uzyskanym w warunkach *in vitro*.

## 2. Materiał i metody

### 2.1. Inicjacja kultur

Nasiona petunii wielkokwiatowej (*Petunia x hybrida grandiflora*) odmiany żółtej zakupiono w Przedsiębiorstwie Hodowlano-Nasiennym Sp. z o.o. Legutko, o numerze serii PL530/12/210/433A. Przed dezynfekcją nasiona zostały odtuszczone i odpowietrzone poprzez płukanie w roztworze detergentu, a następnie 70% wodnym roztworze alkoholu etylowego. Dezynfekcję przeprowadzono, stosując roztwór komercyjny Javel (1 objętości Javel: 3 objętości sterylnej wody demineralizowanej), wytrząsając nasiona przez 15 minut. Po przeprowadzeniu dezynfekcji nasiona poddano płukaniu w sterylnej wodzie demineralizowanej kolejno przez 5, 10 oraz 15 minut.

Sterylnie nasiona przeniesiono na wcześniej przygotowaną pożywkę MS (Murashige i Skoog, 1962) [34] z dodatkiem 5 mg/L 2-izopentyloadeniny (2iP) i 0,1 mg/L kwasu naf-

tylooctowego (NAA) o pH 6,0 przed autoklawowaniem i pozostawiono w pomieszczeniu hodowlanym 21°C, fotoperiod 16/8 h.

## 2.2. Profilowanie aromatu

Analizę kalusa przeprowadzono przy użyciu chromatografu gazowego sprzężonego ze spektrometrem masowym (spektrometr masowy jednokwadropolowy chromatograf gazowy Shimadzu GC-MS QP 2020, Shimadzu, Kioto, Japonia). Analizę przeprowadzono w trzech powtórzeniach. Każdą próbkę (odpowiednio, ~500 mg świeżego materiału roślinnego) umieszczono w vialce typu head-space o pojemności 15 mL, dodano 50 µL wzorca wewnętrznego (tj. roztworu wodnego 2-undekanonu, intensywnie mieszając przed dodaniem). Przed wykonaniem analizy wykluczono obecność 2-undekanonu w materiale roślinnym. Tak przygotowaną próbkę podgrzewano, mieszając (60 rpm) przez 15 minut w temp. 60°C, a następnie eksponowano przez 15 minut włókno typu SPME-ARROW. Wypełnieniem polimerowym włókna była mieszanina diwinylobenzenu, karboksenu WR oraz polidimetylosiloksanu. Desorbacji dokonano w temp. 250°C dozownika chromatografu gazowego Varian Saturn 2000/2000 oraz Shimadzu 2020. Separację osiągnięto, stosując kolumnę kapilarną Zebtron ZB-5 (30 m, 0,25 mm, 0,25 µm fazy stacjonarnej; Phenomenex, Torrance, CA, USA). Analizę GC-MS przeprowadzono, wykonując skany od 40 do 350 m z wykorzystaniem jonizacji elektronowej (EI) przy 70 eV, w trybie 10 skanów/s. Jako gaz nośny zastosowano hel przy przepływie: 1,0 mL/min ze współczynnikiem podziału 1:5. Program temperaturowy kolumny był następujący: 100°C przez 1 min, narost 2,0°C/min od 50 do 250°C. Temperatura dozownika wynosiła 280°C. Związki zidentyfikowano przy użyciu dwóch różnych metod analitycznych dla porównania czasów retencji autentycznych związków chemicznych (standard nasyconych alkanów Supelco C7-C40) i widm masowych uzyskanych z dostępnej biblioteki (Willey NIST 17, wskaźnik dopasowania & gt; 90%).

Związki zidentyfikowano, porównując otrzymane eksperymentalnie wskaźniki liniowej retencji (LRI) obliczone względem mieszaniny n-alkanów C6–C30 (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA) i widm masowych z tymi dostępnymi w bibliotekach (NIST 17 Mass Spectral i Biblioteki wskaźnika retencji (NIST17) i NIST WebBook) oraz literaturze [35]. Półkwantyfikację związku przeprowadzono przez normalizację powierzchni piku i obliczenia oparte na ilości dodanego IS. Do oceny półilościowej nie stosowano krzywych standardowych dla żadnego ze związków znalezionych w próbkach. Stężenia IS porównano ze stężeniami innych związków, zakładając ogólny współczynnik odpowiedzi sprzętu równy 1 u wszystkich lotnych związków.

## 3. Wyniki i dyskusja

### 3.1. Inicjacja kultur kalusa

Bezpośrednią skuteczną inicjację kultur kalusa przeprowadzono, stosując jako materiał wyjściowy nasiona *Petunia x hybrida grandiflora*. Zastosowanie pożywki podstawowej z dodatkiem 5 mg/L 2iP oraz 0,1 mg/L NAA pozwoliło na wytworzenie stabilnych kultur *in vitro*.

Skuteczną inicjację kultur kalusa przeprowadzono, stosując jako materiał wyjściowy nasiona gatunku *Petunia x hybrida grandiflora*. Po miesiącu od wprowadzenia nasion na

pożywkę powstał kalus, na którym została zaobserwowana wczesna kaulogeneza. Zdolność kiełkowania nasion była słaba, jednak kalus charakteryzował się intensywnym wzrostem na zastosowanej pożywce MS (Murashige i Skoog, 1962) [34] z dodatkiem 5 mg/L 2-izopentyladeniny (2iP) i 0,1 mg/L kwasu naftylooctowego (NAA) o pH 6,0 przez autoklawowanie intensywnym wzrostem, co pozwoliło na jego szybkie namnożenie, stosując wyżej wymienioną pożywkę. Podczas stabilizacji kultur nie zaobserwowano występowania wtórnych zakażeń grzybowych i bakteryjnych.

Problemem w indukcji i regeneracji roślin petunii w kulturach *in vitro* mogą być infekcje bakteryjne. Miyazaki i in. 2010 przeprowadzili efektywne zwalczanie bakterii endofitycznych *Sphingomonas paucimobilis* na pąkach bocznych petunii, używając Plant Preservative Mixture (PPM). Wyniki wykazały, że minimalna fitotoksyczność i skuteczność przeciwbakteryjna występuje przy dawce 5 mL/L PPM do pożywki MS. Wyższe dawki preparatu mogą być skuteczne przeciwko bakteriom endofitycznym, jednak wystawienie petunii na działanie PPM powinno być krótkie ze względu na potencjalną fitotoksyczność [2–4].

### 3.2. Skład lotnych związków organicznych (LZO)

Zidentyfikowane związki chemiczne zestawiono w tabeli 1. Głównymi związkami lotnymi występującymi w kalusie *Petunia x hybrida grandiflora*, który był uprawiany na pożywce MS dodatkiem 5 mg/L 2iP oraz 0,1 mg/L NAA, okazały się: 3-heksen-1-ol (rys. 1.1), 1-heksanol (rys. 1.2), limonen (rys. 1.3), alkohol benzylowy (rys 1.4), ester etylowany kwasu benzoowego (rys 1.5), 2'-hydroksy-5'-metoksy acetofenon (rys 1.6) oraz tetradekanal.

Jak do tej pory skupiono się na identyfikacji związków znajdujących się w tkankach petunii pochodzącej z warunków *in vivo*. W łodygach i liściach zidentyfikowano związki m.in. z grupy steronów, związków steroidowych, glikozydów ergostanowych i laktonów ergostanoidowych. Podczas analizy składu płatków petunii zidentyfikowano fenylopropanoidy, natomiast jedyne analizy z zastosowaniem chromatografii gazowej przeprowadzono podczas identyfikacji związków lotnych odpowiadających za zapach kwiatów petunii [26, 27, 29, 32, 33, 37]. W niniejszej pracy skupiono się na profilowaniu związków lotnych zawartych w kalusie *Petunia x hybrida grandiflora*.

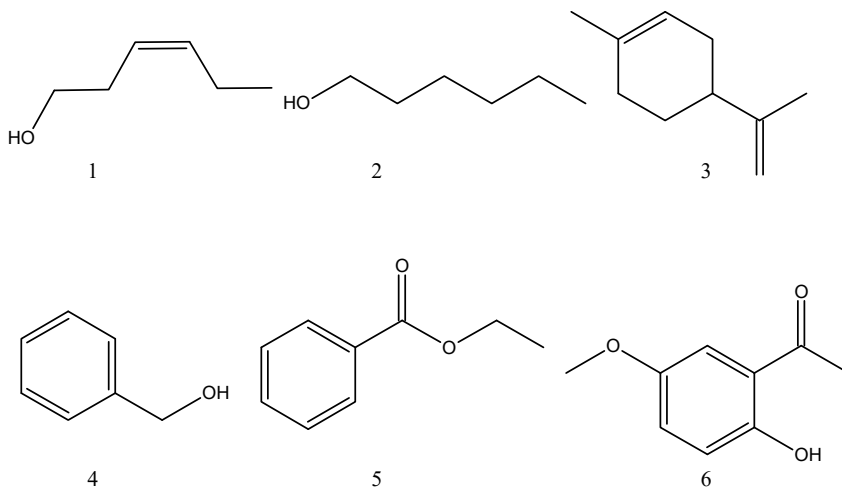
Tabela 1. Zestawienie związków lotnych w kalusie *Petunia x hybrida grandiflora* na pożywce MS + 5 mg/L 2iP + 0,1 mg/L NAA o pH = 6,0

Czas retencji [min.]	Nazwa	Ilość związku (%)	Indeks retencji obliczony	Indeks retencji literaturowy
1	2	3	4	5
5,101	3-heksen-1-ol	5,71	853	849
5,370	1-heksanol	11,43	892	868
7,121	$\alpha$ -pinen	śl.	938	935
7,764	2-heptenal	0,46	962	964
7,952	benzaldehyd	0,70	968	970

Tabela 1 cd.

1	2	3	4	5
8,107	1-heptanol	0,66	976	970
8,416	1-octen-3-ol	0,73	986	980
10,048	limonen	4,06	1037	1031
10,148	eukaliptol	0,66	1037	1033
10,243	alkohol benzytowy	20,70	1044	1036
11,024	2-octenal	1,61	1072	1062
12,964	alkohol feniloetylowy	1,26	1121	1100
14,963	ester etylowy kwasu benzoowego	17,29	1177	1170
15,129	3-pinanon	0,68	1182	1180
15,809	salicylan metylu	0,17	1198	1190
16,110	dekanal	0,46	1208	1206
16,903	cis-geraniol	1,32	1233	1228
18,404	salicylan etylu	9,22	1277	1269
19,275	tridekan	0,37	1298	1300
19,883	2,4-dekadienal	śl.	1319	1317
21,659	di-epi- $\alpha$ -cedren	śl.	1381	1385
22,240	2'-hydroksy-5'-metoksy- acetofenon	13,70	1405	1416
22,695	$\beta$ -kariofilen	śl.	1430	1432
22,971	trans- $\alpha$ -bergamoten	śl.	1439	1441
23,640	1-dodecanol	0,78	1473	1474
24,301	tridecanal	1,23	1507	1511
25,802	tetradecanal	3,13	1610	1612
26,496	1-tetradecanol	1,88	1672	1676
26,701	heptadekan	1,76	1700	1700

śl. – ilości śladowe związków



Źródło: Opracowanie A. Szumny

Rys. 1. Główne związki występujące w kalusie *Petunia x hybrida grandiflora*.

1. 3-heksen-1-ol, 2. 1-heksanol, 3. limonen, 4. alkohol benzyłowy, 5. ester etylowany kwasu benzoowego, 6. 2'-hydroksy-5'-metoksy acetofenon

Zidentyfikowane związki o największym zastosowaniu w różnych gałęziach przemysłu wykryte zostały w niewielkich ilościach. Opisano szeroki zakres działań  $\alpha$ -pinenu, do których należą m.in. działanie bakteriobójcze, przeciwnowotworowe czy przeciwzapalne. Duża jego ilość znajduje się w olejku sosnowym [38, 39]. Limonen jest głównym składnikiem olejku pomarańczowego, cytrynowego oraz mandarynkowego. D-limonen wykorzystuje się jako środek aromatyzujący w przemyśle spożywczym. Znalazł zastosowanie kliniczne, w celu rozpuszczenia cholesterolu zawierającego kamienie żółciowe, a także posiada działanie chemoprewencyjne przeciwko wielu rodzajom nowotworów [40]. Cis-geraniol jest jednym z głównych składników występujących w trawie cytrynowej, której olejek eteryczny wykazuje działanie antybakteryjne [41]. W olejku z konopii siewnej znajdowały się trans- $\alpha$ -bergamoten i  $\beta$ -kariofilen.  $\beta$ -kariofilen posiada silne powinowactwo do receptora kannabinoidowego typu 2 (CB2), ma właściwości przeciwbólowe i przeciwzapalne [42, 43].

## 4. Wnioski

Zastosowanie pożywki MS (Murashige i Skoog, 1962) [34] z dodatkiem 5 mg/L 2-izopentyloadeniny (2iP) i 0,1 mg/L kwasu naftylooctowego (NAA) o pH 6,0 wywoływały intensywny przyrost kalusa, co spowodowało szybkie uzyskanie stabilnych kultur kalusa *Petunia x hybrida grandiflora*.

Kalus uzyskany z petunii do badań charakteryzował się największą zawartością 1-heksanolu (11,30%), alkoholu benzyłowego (20,47%), estru etylowego kwasu benzoowego (17,10%) oraz 2'-hydroksy-5'-metoksy-acetofenonu (13,55%). W małych ilościach występowały eukaliptol, 3-pinanon, cis-geraniol. Natomiast w śladowych ilościach pojawiały się  $\alpha$ -pinen, di-epi- $\alpha$ -cedren,  $\beta$ -kariofilen, trans- $\alpha$ -bergamoten oraz tau-cadinol. Uzyskany profil



chemiczny związków lotnych kalusa gatunku *Petunia x hybrida grandiflora* sugeruje brak możliwości zastosowania go do produkcji na skalę przemysłową związków lotnych. Występowanie w tkankach petunii petuniasteronów i petunialidów sygnalizuje potrzebę dalszych badań, by ocenić potencjał kalusa w wytwarzaniu tych związków.

## Literatura

- [1] Habas R.R., Turker M., & Ozdemir F.A., 2019. *In vitro* Multiple Shoot Regeneration from *Petunia hybrida*. Turkish Journal of Agriculture – Food Science and Technology, Vol. 7 (10), 1–2, 6–7.
- [2] Miyazaki J., Tan B.H., Errington S.G., 2010. Eradication of endophytic bacteria via treatment for axillary buds of *Petunia hybrida* using Plant Preservative Mixture (PPMTM). Plant Cell Tissue and Organ Culture, Vol. 102(3), 365–372.
- [3] Lunghusen J., 1998. An effective biocide for plant tissue culture. Australian Horticulture, Vol. 96, 45–48.
- [4] Niedz R.P., Bausher M.G., 2002. Control of *in vitro* contamination of explants from greenhouse- and field-grown trees. In Vitro Cell Dev Biol Plant, Vol. 38, 468–471.
- [5] Abu-Qaoud H., 2012. Improving adventitious shoot regeneration from cultured leaf explants of *Petunia hybrida* using thidiazuron. African Journal of Biotechnology, Vol. 11 (51), 11230–11235.
- [6] Traas J.A., Renaudin J.P., Teysseidier De., La Serve B., 1990. Changes in microtubular organization mark transition to organized growth during organogenesis in *Petunia hybrida*. Plant Sci, Vol. 68 (2), 249–256.
- [7] Reuveni M., Evenor D., 2007. On the effect of light on shoot regeneration in *Petunia*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, Vol. 89, 49–54.
- [8] Xiao-Feng F., Guo-dong Z., Jun-quan X., 2009. Study on callus induction and plant regeneration of *Petunia hybrida*. Northern Horticulture.
- [9] Dimasi-Therion K.E., Conomon A.S., Sfakiotakis E.M., 1993. Promotion of *Petunia (Petunia hybrida L.)* regeneration *in vitro* by ethylene. Plant Cell, Tissue and Organic Culture, Vol. 32, 219–225.
- [10] Frett J.J., Dirr M., 1986. Effect of nitrogen and calcium stock plant nutrition on *Petunia hybrida* leaf and anther explant growth *in vitro*. Scientia Horticulturae, Vol. 28, 289–298.
- [11] Guang-rong C., Ji-tian L., Hai C., 2004. Study on tissue culture of *Petunia hybrida*, Special Wild Economy and Animal Plant Reserch. 2004–2003.
- [12] Farooq I., Qadri Z.A., Rather Z.A., Nazki I.T., Banday N., Rafiq S., Masoodi K.Z., Noureldeen A., Mansoor S., 2021. Optimization of an improved, efficient and rapid *in vitro* micropropagation protocol for *Petunia hybrida* Vilm. Cv. “Bravo”. Saudi Journal of Biological Sciences, Vol. 28 (7), 3701–3709.
- [13] Chaar M., Pinker I., Grieger P., Bohme M., 2012. The effect of flower bud size and pre-treatment on callus induction and plant regeneration in another culture of *Petunia* ‘Purple Wave’. Acta Horticulturae, Vol. 961, 375–382.
- [14] Dash S.N., Singhsamant P.K., 1990. Induction of plantlets and callus form shoot-tips of *Petunia hybrida* cultured *in vitro*. Orissa Journal of Horticulture, Vol. 18 (1–2), 65–69.

- [15] Kang H.H., Naing A.H., Kim C.K., 2020. Protoplast Isolation and Shoot Regeneration from Protoplast-Derived Callus of *Petunia hybrida* Cv. Mirage Rose. *Biology*, Vol. 9 (8), 228.
- [16] Ikeuchi M., Sugimoto K., Iwase A., 2013. Plant Callus, Mechanisms of Induction and Repression. *The Plant Cell*, Vol. 25 (9), 3159–3173.
- [17] Skoog F., Miller C.O., 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro*. *Symposia of the Society for Experimental Biology*, Vol. 11, 118–130.
- [18] Goren R., Altman A., Giladi I., 1979. Role of ethylene in abscisic acid-induced callus formation in citrus bud cultures. *Plant Physiology*, Vol. 63, 280–282.
- [19] Hu Y., Bao F., Li J., 2000. Promotive effect of brassinosteroids on cell division involves a distinct CycD3-induction pathway in *Arabidopsis*. *The Plant Journal, for Cell and Molecular Biology*, Vol. 24 (5), 693–701.
- [20] Efferth T., 2019. Biotechnology Applications of Plant Callus Cultures. *Engineering*, Vol. 5(1), 50–59.
- [21] Fischer R., Emans N., Schuster F., Hellwig S., Drossard J., 1999. Towards molecular farming in the future, using plant-cell-suspension cultures as bioreactors. *Biotechnology Applied Biochemistry*, Vol. 30 (2), 109–112.
- [22] Kowalczyk T., Merezek-Sadowska A., Rijo P., Mori M., Hatziantoniu S., Górski K., Szymraj J., Piekarski J., Śliwiński T., Bijak M., Sitarek P., 2022. Hidden in Plants – A Review of the Anticancer Potential of the Solanaceae Family in *In Vitro* and *In Vivo* Studies. *Cancers*, Vol. 14 (6).
- [23] Gutiérrez-Grijalva E.P., López-Martínez L.X., Contreras-Angulo L.A., Elizalde-Romero C.A., Heredia J.B., 2020. Plant alkaloids: Structures and bioactive properties. *Plant-derived Bioactives: Chemistry and Mode of Action*, Springer, Sinaloa, 85–117.
- [24] Jerzykiewicz J., 2007. Alkaloids of Solanaceae (nightshade plants). *Postępy Biochemii*, Vol. 53(3), 280–286.
- [25] Ghatak A., Chaturvedi P., Paul P., Agrawal G.K., Rakwal R., Kim S.T., Weckwerth W., Gupta R., 2017. Proteomics survey of Solanaceae family, Current status and challenges ahead. *Journal of Proteomics*, Vol. 169, 41–57.
- [26] Hassan R., Teuscher E., Gründemann E., Franke P., Hiller K., May A., Mahmood S., 1989. Immunosuppressive and virostatic actions of sterones from *Petunia hybrida* Vilm. *Die Pharmazie*, Vol. 44(7), 484–488.
- [27] Shingu K., Fujii H., Mizuki K., Ueda I., Yahara S., Nohara T., 1994. Ergostane glycosides from *Petunia hybrida*. *Phytochemistry*, Vol. 36(5), 1307–1314.
- [28] Elliger C.A., Waiss A.C., 1989. Insect Growth Inhibitors from *Petunia* and Other Solanaceous Plants. *Insecticides of Plants Origin*, Chapter 14, 188–205.
- [29] Elliger C.A., Wong R.Y., Waiss A.C., Benson J., Benson M., 1990. Petuniolides. Unusual ergostanoid lactones from *Petunia* species that inhibit insect development. *Journal of Chemical Society, Perkin Transaction 1*, Vol. 3.
- [30] Isman M.B., Jeffs L.B., Elliger C.A., Miyake T., Matsumura F., 1997. Petuniolides, Natural Insecticides from *Petunia parodii*, Are Antagonists of GABA<sub>A</sub>Receptors. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, Vol. 58(2), 103–107.
- [31] Moser D., Klaiber I., Vogler B., Kraus W., 1999. Molluscicidal and antibacterial compounds from *Petunia hybrida*. *Journal of Pesticide Science*, Vol. 55 (3), 336–339.

- [32] Elliger C.A., Benson M., Lundin R.E., Anthony C.W., 1988. Minor petuniasterones from *Petunia hybrida*. *Phytochemistry*, Vol. 27 (11), 3597–3603.
- [33] Cna'ani A., Shavit R., Ravid J., Aravena-Calvo J., Skaliter O., Masci T., Vainstein A., 2017. Phenylpropanoid scent compounds in *Petunia x hybrida* are glycosylated and accumulate in vacuoles. *Frontiers in Plant Science*, Vol. 8.
- [34] Murasnige T., Skoog F., 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tohaoco Tissue Cultures. *Plant Physiology*, Vol. 15, 473–497.
- [35] Adams R.P., 2012. *Identification of Essential Oils by Ion Trap Mass Spectroscopy*. Academic Press, San Diego, CA, USA.
- [36] Sermakkani M., Thangapandian V., 2012. GC-MS Analysis of *Cassia Italica* leaf methanol extract. *Asian Journal of Pharmaceutical Clinical Research*, Vol. 5, 90–94.
- [37] Nakamura K., Matsubara K., Watanabe H., Kokubun H., Ueda Y., Oyama-Okubo N., Nakayama M., Ando T., 2006. Identification of *Petunia hybrida* cultivars that diurnally emit floral fragrances. *Scientia Horticulturae*, vol 108(1).
- [38] Silva A.C.R., Lopes P.M., Azevedo M.M.B., Costa D.C.M., Alviano C.S., Alviano D.S., 2012. Biological Activities of  $\alpha$ -Pinene and  $\beta$ -Pinene Enantiomers. *Molecules*, Vol. 17(6), 6305–6316.
- [39] Salehi B., Upadhyay S., Erdogan Orhan I., Kumar Jugran A., L.D., Jayaweera S.A., Dias D., Sharopov F., Taheri Y., Martins N., Baghalpour N.C., Cho W., Sharifi-Rad J., 2019. Therapeutic Potential of  $\alpha$ - and  $\beta$ -Pinene, A. Miracle Gift of Nature. *Biomolecules*, Vol. 9(11), 738.
- [40] Sun J., 2007. D-Limonene, safety and clinical applications. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine Review*, Vol. 12(3), 259–64.
- [41] Neha S., Sanjay G., Majeed A., Sataria K.H., 2021. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Cymbopogon citratus* (Lemon grass). *The Pharma Innovation Journal*, Vol. 10(11), 968–971.
- [42] Fidyk K., Fiedorowicz A., Strzodała L., Szumny A., 2016.  $\beta$ -caryophyllene and  $\beta$ -caryophyllene oxide – natural compounds of anticancer and analgesic properties. *Cancer Medicine*, Vol. 5(10), 3007–3017.
- [43] Naz S., Hanif M.A., Ansari T.M., Al-Sabahi J.N., 2017. A Comparative Study on Hemp (*Cannabis sativa*) Essential Oil Extraction Using Traditional and Advanced Techniques. *Guang Pu Xue Yu Guang Pu Fen Xi = Guang Pu*, Vol. 37(1), 306–311.

## **CALLUS *IN VITRO* CULTURE INITIATION AND VOLATILE COMPOUNDS ANALYSIS OF LARGE-FLOWERED YELLOW PETUNIA VARIATION (*PETUNIA X HYBRIDA GRANDIFLORA*)**

### **Abstract**

*Petunia* is used as a model plant in micropropagation studies and to obtain secondary metabolites *in vivo*. Various plant fragments are used in *in vivo* conditions to achieve different chemical compounds. The aim of this work was to obtain callus tissue and to check its volatile compounds profile. Callus *in vitro* culture initiation of *Petunia x hybrida grandiflora* large-flowered yellow petunia variety was used out using MS

medium with 5 mg/L 2-izopentyloadenine (2iP) and 0,1 mg/L naphthylacetin acid with pH 6,0. The analysis of volatile compounds was performed using SPME gas chromatography technique. The highest content of the following compounds were found in the callus tissue, 1-hexanol, benzyl alkohole, benzoil acid etyl ester and 2'-hydroxy- 5'-metoxy-acetophenone.

**Key words:** *Petunia x hybrida grandiflora*, *in vitro*, callus, GC/MS

Opiekun naukowy: mgr. inż. Andrzej Biedka

Recenzenci: dr hab. inż. Sylwia Lewandowska, prof. uczelni, dr inż. Dariusz Zalewski