

ACTA SCIENTIARUM POLONORUM

Czasopismo naukowe założone w 2001 roku przez polskie uczelnie rolnicze

Medicina Veterinaria

Weterynaria

7(1) 2008



Bydgoszcz Kraków Lublin Olsztyn
Poznań Siedlce Szczecin Warszawa Wrocław

Rada Programowa *Acta Scientiarum Polonorum*

Kazimierz Banasik (Warszawa), Janusz Falkowski (Olsztyn),
Florian Gambuś (Kraków), Franciszek Kluza (Lublin), Edward Niedźwiecki (Szczecin),
Janusz Prusiński (Bydgoszcz), Jerzy Sobota (Wrocław) – przewodniczący,
Stanisław Socha (Siedlce), Waldemar Uchman (Poznań)

Rada Naukowa serii *Medicina Veterinaria*

Miroslav Baran (Koszyce, Słowacja), Ryszard Bobowiec (Lublin),
Carlos Castrillo (Saragossa, Hiszpania), Andrzej Depta (Olsztyn),
Øystein Sjaastad (Oslo, Norwegia), Jacek Szczawiński (Warszawa),
Wojciech Zawadzki (Wrocław) – przewodniczący,
Bożena Króliczewska (Wrocław) – sekretarz

Korekta:

Ewa Jaworska
Elżbieta Winiarska-Grabosz

Łamanie

Teresa Alicja Chmura

Projekt okładki
Daniel Morzyński

ISSN 1644-0676

© Copyright by Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu,
Wrocław 2008

Redaktor Naczelny – prof. dr hab. Andrzej Kotecki
ul. Sopocka 23, 50–344 Wrocław, tel./fax 071 328–12–77
e-mail: wyd@up.wroc.pl <http://www.up.wroc.pl>

Nakład 200 + 16 egz. Ark. druk. 3,5
Druk i oprawa: Wydawnictwo Tekst Sp. z o.o.
ul. Kossaka 72, 85–307 Bydgoszcz

DEVELOPMENT DYNAMICS OF VALLATE PAPILLAE IN THE RABBIT (*ORYCTOLAGUS CUNICULUS F. DOMESTICA*)

Mirosława Kulawik, Szymon Godynicki

University of Life Sciences in Poznań

Abstract. Investigations were conducted on 93 tongues of the rabbit, which were collected at day 15, 18, 20, 22 and 26 of prenatal life (p.c.) and at day 1, 15 and 30 and at month 6 of postnatal life (p.p.).

The height of epithelial thickenings being the first forms of primordia of vallate papillae increased in the period from day 15 to 20 p.c. and the differences between mean values of the analyzed trait were statistically highly significant, $p \leq 0.01$.

Between day 22 p.c. and the 6th month p.p. developing vallate papillae, having in their structure a connective tissue core, increased in height. Differences in mean values of the analyzed trait between individual periods of life in the rabbit were statistically highly significant, $p \leq 0.01$. Morphometric analyses showed that starting from day 22 p.c. up to the 6th month p.p. the thickness of epithelium also increased. Between day 22 and 26 p.c. and between day 26 p.c. and day 1 p.p. no statistical differences were observed, $p > 0.05$. Between day 15 and 30 p.p. statistical differences were recorded, $p \leq 0.05$. In the other analyzed periods differences between means for the analyzed trait were statistically highly significant, $p \leq 0.01$.

Analyses showed that the growth rate for the thickness of the epithelium in successive analyzed periods in the life of the rabbit was more uniform than the growth rate for the height of developing vallate papillae.

Key words: rabbit, tongue, vallate papillae, morphometry

Financial support by KBN, grant No 5P06D01719.

Corresponding author – Adres do korespondencji: Mirosława Kulawik, Department of Anatomy, University of Life Sciences in Poznań, ul. Wojska Polskiego 71c, 60-625 Poznań, e-mail: kulawik@au.poznan.pl

INTRODUCTION

Vallate papillae are one of the three types of gustatory papillae found on the tongue in the rabbit, being a popular laboratory and breeding animal. Vallate papillae are located on both sides of the median plane of the tongue, symmetrically on its root.

Available literature informs on the results of studies on the development of papillae in different animal species. The development of vallate papillae in the mouse was described by Ahpin et al. [1989], in the rat by Iwasaki et al. [1997], in the cat by Tichý [1993a, b], in the sheep by Tichý and Černý [1987], while in the human by Witt and Reutter [1997]. Results were collected on the basis of observations under a light and electron microscope.

A lack of results describing measurable traits of the mucosa on the tongue in pre- and postnatal life of the rabbit was the reason for the realization of this study. The aim of the study was to conduct morphometric analysis of the height of vallate papillae and their primordia as well as analyze the thickness of the epithelium covering them and on this basis to determine the dynamics of changes occurring during the development of vallate papillae from day 15 p.c. to the 6th month p.p.

MATERIAL AND METHODS

Studies were conducted on 93 tongues, collected from domestic rabbits (*Oryctolagus cuniculus f. domestica*), of both sexes, being at day 15, 18, 20, 22 and 26 of prenatal life (p.c.) and from rabbits at day 1, 15 and 30 and in the 6th month of postnatal life (p.p.). The age of fetuses was determined on the basis of the CRL value (Crown-Rump-Length), [Evans and Sack 1993].

Specimens for observations under a light microscope were fixed in 10% neutralized formalin or Bouin's solution, dehydrated in a series of alcohols with increasing concentrations (50%-96%), embedded in paraplast and sliced into sections with thickness ranging from 3 to 5 μm in the median and transverse planes. The Masson-Goldner staining or HE were applied in this study.

Morphometric studies were conducted on the basis of images of histological specimens, observed under a light microscope, mounted with a camera with a computer image analysis program MultiScan V. 6.08. The height of the vallate papillae, their primordia and thickness of the epithelium covering them in individual periods of the pre- and postnatal life of rabbits were analyzed morphometrically. On the basis of the obtained results the primary statistical characteristics were determined: mean (\bar{x}), minimum value (Min), maximum value (Max) and standard deviation (SD). Using the F test statistical differences were determined for mean values of the measured trait in successive periods of pre- and postnatal life of rabbits.

RESULTS AND DISCUSSION

At day 15, 18 and 20 of prenatal development in the rabbit, on the root of the tongue symmetrically arranged epithelial thickenings were observed, being the first forms of primordia of vallate papillae. Morphometric analyses showed that the height of epithelial thickenings increased in successive periods in life. The mean value of the analyzed

trait at day 18 p.c. increased by 12.74 μm in relation to the values recorded at day 15 p.c., while between day 18 and 20 p.c. the height of epithelial thickenings was recorded to increase on average by 14.39 μm . Statistically highly significant differences were shown between mean values of the analyzed trait, $p \leq 0.01$ (Tab. 1).

Table 1. The height of symmetrically arranged epithelial thickenings on the root of the tongue in rabbits at day 15, 18 and 20 p.c.

Tabela 1. Wysokość symetrycznie ułożonych zgrubień nabłonka na korzeniu języka u królików w 15, 18 i 20 dniu p.c.

Age Wiek	Day 15 p.c. Dzień	Day 18 p.c. Dzień	Day 20 p.c. Dzień
Number of animals Liczba zwierząt	3	18	7
Number of measurements Liczba pomiarów	60	108	102
Mean (μm) Średnie	38,37 ^a	51.11 ^a	65.50 ^a
Min. (μm)	25.15	38.17	49.17
Max. (μm)	47.99	75.83	79.00
SD Odchylenie standardowe	6.03	9.28	8.29

^a – means with the same letters differ highly significantly, $p \leq 0.01$
średnie oznaczone tymi samymi literami różnią się statystycznie istotnie, $p \leq 0.01$

Starting from day 22 of the prenatal development of the rabbit, when in the structure of primordia of vallate papillae a connective tissue core may be observed, the height of developing papillae was measured, together with the thickness of the epithelium covering them. On the basis of morphometric analyses it was shown that the mean height of primordia of vallate papillae at day 22 p.c. was 133.99 μm , while the epithelium covering them was on average 30.74 μm thick. In individual analyzed periods in the life of the rabbit, i.e. at day 26 p.c., at day 1, 15 and 30 p.p. and in the 6th month p.p. the mean height of developing vallate papillae increased by 16.35, 33.06, 124.38, 65.17 and 214.21 μm , respectively. The growth rate of the height of vallate papillae and their primordia increased. Only between day 15 and 30 p.p. the growth rate for values of this trait was observed to slow down. Statistical analysis showed that between men values of the measured trait there are statistically highly significant differences, $p \leq 0.01$ (Tab. 2).

Investigations showed that the biggest increase in the height of developing vallate papillae occurs between day 30 and the 6th month of postnatal life. Similar results were collected when studying the development of foliate papillae in the rabbit [Kulawik and Godynicki 2007b]. For comparison, the biggest growth of filiform and fungiform papillae on the tip and the body of the tongue in the rabbit was recorded between day 15 and 30 p.p. [Kulawik 2005, Kulawik and Godynicki 2007a].

The lowest dynamics of increase in the height of vallate papillae was shown in the period from day 22 to 26 of prenatal life, similarly as it was the case for filiform and fungiform papillae on the tip and the body of the tongue in the rabbit [Kulawik 2005, Kulawik and Godynicki 2007a]. For comparison, developing foliate papillae grew slowest between day 26 p.c. and day 1 p.p. [Kulawik and Godynicki 2007b].

Table 2. The height of vallate papillae and their primordia in rabbits aged from day 22 p.c. to the 6th month p.p.

Tabela 2. Wysokość brodawek okolonych i ich zawiązków u królików w wieku od 22 dnia p.c. do 6 miesiąca p.p.

Age Wiek	Day 22 p.c. Dzień	Day 26 p.c. Dzień	Day 1 p.p. Dzień	Day 15 p.p. Dzień	Day 30 p.p. Dzień	Month 6 p.p. Miesiąc
Number of animals Liczba zwierząt	12	20	3	3	5	6
Number of measurements Liczba pomiarów	101	100	60	63	109	108
Mean (μm) Średnia	133.99 ^a	150.34 ^a	183.40 ^a	307.78 ^a	372.95 ^a	587.16 ^a
Min. (μm)	87.00	128.38	161.77	250.00	318.72	527.03
Max. (μm)	158.46	167.57	209.46	344.75	441.89	675.01
SD Odchylenie standardowe	19.17	8.22	11.45	24.21	30.55	45.78

^a – means with the same letters differ highly significantly, $p \leq 0.01$
średnie oznaczone tymi samymi literami różnią się statystycznie istotnie, $p \leq 0.01$

Morphometric analyses of the thickness of the epithelium covering developing vallate papillae on the tongue in the rabbit showed that this trait in successive analyzed periods in life increased in value. From day 22 p.c. to the 6th month p.p. in individual periods in life the thickness of the epithelium was recorded to increase by 13.88, 13.96, 36.14, 24.63 and 44.64 μm , respectively. With age the recorded growth rate for the thickness of the epithelium increased, except for the period between day 15 and 30 p.p., when its slower increase was found.

The biggest increase in the thickness of the epithelium covering developing vallate papillae was shown between day 30 and the 6th month of postnatal life, while the lowest – between day 22 and 26 prenatal life in the rabbit. For comparison, the biggest dynamics of changes in the thickness of the epithelium covering foliate and filiform papillae on the tip and body of the tongue, as well as fungiform papillae on the tip of the tongue was recorded between day 15 and 30 p.p., while the thickness of the epithelium of fungiform papillae on the body of the tongue increased fastest between day 1 and 15 p.p. [Kulawik 2005, Kulawik and Godynicki 2007a, b].

The slowest rate of changes in the thickness of the epithelium covering vallate papillae and their primordia was recorded between day 22 and 26 p.c., similarly as in case of developing filiform papillae on the tip and body of the tongue in the rabbit. The situation was different in case of foliate papillae, where the thickness of the epithelium increased slowest between day 26 p.c. and day 1 p.p., whereas in case of fungiform papillae on the tip and the body of the tongue the analyzed trait increased in value slowest between day 30 and the 6th month p.p. [Kulawik 2005, Kulawik and Godynicki 2007a, b].

Statistical analysis showed that mean thickness of the epithelium between day 22 and 26 p.c. and between day 26 p.c. and day 1 p.p. did not differ statistically, $p > 0.05$. In the period from day 15 to 30 p.p. the difference between mean thickness of the epithelium was statistically significant, $p \leq 0.05$, whereas in the other analyzed periods differences between means were statistically highly significant, $p \leq 0.01$ (Tab. 3).

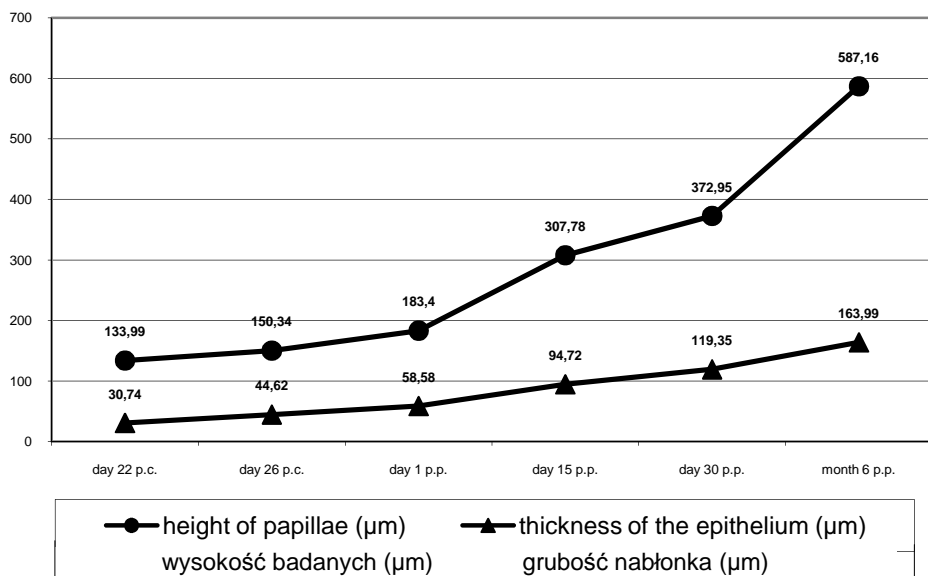
Table 3. Thickness of epithelium of vallate papillae and their primordia in rabbits aged from 22 p.c. to 6th month p.p.

Tabela 3. Grubość nabłonka brodawek okolonych i ich zawiązków u królików w wieku od 22 dnia p.c. do 6 miesiąca p.p.

Age Wiek	Day 22 p.c. Dzień	Day 26 p.c. Dzień	Day 1 p.p. Dzień	Day 15 p.p. Dzień	Day 30 p.p. Dzień	Month 6 p.p. Miesiąc
Number of animals Liczba zwierząt	12	20	3	3	5	6
Number of measurements Liczba pomiarów	107	113	110	107	106	101
Mean (μm) Średnia	30.74 ^a	44.62 ^b	58.58 ^{ac}	94.72 ^{abcdA}	119.35 ^{abceA}	163.99 ^{abcde}
Min. (μm)	13.33	14.86	18.02	23.83	29.85	31.51
Max. (μm)	57.91	79.73	118.24	251.35	329.87	463.78
SD Odchylenie standardowe	8.17	14.53	33.24	69.85	95.35	150.70

a, b, c, d, e – means with the same small letters differ highly significantly, $p \leq 0.01$
 średnie oznaczone małymi literami – różnice statystycznie istotnie, $p \leq 0.01$

A – means with the same capital letters differ significantly, $p \leq 0.05$
 średnie oznaczone dużymi literami – różnice statystycznie istotnie, $p \leq 0.05$

Fig. 1. Rate of changes in height of vallate papillae and their primordia and rate of changes in thickness of epithelium covering them from day 22 p.c. to 6th month p.p.

Rys. 1. Tempo zmian wysokości brodawek okolonych i ich zawiązków oraz tempo zmian grubości nabłonka jaki je pokrywa w okresie od 22 dnia p.c. do 6 miesiąca p.p.

CONCLUSIONS

1. The height of vallate papillae and their primordia and the thickness of the epithelium covering them increased in all analyzed periods in life of the rabbit.
2. The biggest rate of increase in the height of developing vallate papillae as well as the thickness of the epithelium covering them was recorded between day 30 and the 6th month of postnatal life in the rabbit.

REFERENCES

- Ahpin P., Ellis S., Arnott C., Kaufman H., 1989. Prenatal development and innervation of the circumvallate papilla in the mouse. *J. Anat.* 162, 33–42.
- Evans H.E., Sack W.O., 1973. Prenatal development of domestic and laboratory mammals: growth curves, external features and selected references. *Anat. Histol. Embryol.* 2, 11–45.
- Iwasaki S., Yoshizawa H., Kawahara I., 1997. Study by scanning electron microscopy of the morphogenesis of three types of lingual papilla in the rat. *Anat. Rec.* 247, 528–541.
- Kulawik M., 2005. Rozwój brodawek nitkowatych i grzybowatych na wierzchołku języka u królika w życiu pre- i postnatalnym w świetle badań morfometrycznych. *Roczniki AR w Poznaniu, Zoot.* 56, 75–86.
- Kulawik M., Godynicki S., 2007a. The development of filiform and fungiform papillae on the body of the tongue in the pre- and postnatal life of the rabbit in view of morphometric studies. *EJPAU Vet. Med.* 10, 1.
- Kulawik M., Godynicki S., 2007b. The development of foliate papillae on the tongue in the rabbit in view of morphometric studies. *EJPAU Vet. Med.* 10, 4.
- Tichý F., 1993a. The morphogenesis of circumvallate papillae and the differentiation of taste buds in the cat in ontogeny. *Acta Vet. Brno.* 62, 19–26.
- Tichý F., 1993b. The perinatal morphogenesis of selected lingual papillae in the domestic cat observed by scanning electron microscopy. *Acta Vet. Brno.* 62, 121–126.
- Tichý F., Černý H., 1987. The morphogenesis of circumvallate papillae and differentiation of taste buds in sheep ontogeny. *Acta Vet. Brno.* 56, 261–274.
- Witt M., Reutter K., 1997. Scanning electron microscopical studies of developing gustatory papillae in Humans. *Chem. Senses.* 22, 601–612.

DYNAMIKA ROZWOJU BRODAWEK OKOLONNYCH U KRÓLIKA (*ORYCTOLAGUS CUNICULUS F. DOMESTICA*)

Streszczenie. Badania prowadzono na 93 językach królika, pobranych w 15, 18, 20, 22 i 26 dniu życia prenatalnego (p.c.) oraz w 1, 15 i 30 dniu i 6 miesiącu życia postnatalnego (p.p.).

Wysokość zgrubień nabłonka będących pierwszymi zawiązków brodawek okolonnych zwiększała się w okresie od 15 do 20 dnia p.c., a różnice średnich wartości badanej cechy były wysoce istotne statystycznie, $p \leq 0.01$.

Od 22 dnia p.c. do 6 miesiąca p.p. wysokość rozwijających się brodawek okolonnych, mających w swojej strukturze zrąb łącznotkankowy rosła. Różnice średnich wartości badanej cechy między poszczególnymi okresami życia królika były wysoce istotne statystycznie, $p \leq 0.01$. Badania morfometryczne wykazały, że od 22 dnia p.c. do 6 miesiąca p.p. zwiększała się również grubość nabłonka. Między 22 a 26 dniem p.c. oraz między

26 dniem p.c. a 1 dniem p.p. nie zanotowano różnic statystycznych, $p > 0.05$. Między 15 a 30 dniem p.p. wykazano różnice statystyczne, $p \leq 0.05$. W pozostałych analizowanych okresach różnice między średnimi badanej cechy były wysoce istotne statystycznie, $p \leq 0.01$.

Badania wykazały, że tempo wzrostu grubości nabłonka w kolejnych badanych okresach życia królików jest bardziej równomierne niż tempo wzrostu wysokości rozwijających się brodawek okolonych.

Słowa kluczowe: królik, język, brodawki okolone, morfometria

Accepted for print – Zaakceptowano do druku: 31.03.2008

For citation – Do cytowania: Kulawik M., Godyniecki S., 2008. Development dynamics of vallate papillae in the rabbit (*Oryctolagus cuniculus f. domestica*). Acta Sci. Pol. Med. Vet. 7(1), 3–9.

NEW FACTS ABOUT GHRELIN AND OBESTATIN

Agnieszka Kilanowska, Paweł Maćkowiak

University of Life Sciences in Poznań, Poland

Abstract. The obesity is a civilization-related disease. The overweight leads to many disorders, f. e. impaired secretion and action of insulin and can lead to risk of premature death. Recently, new compounds which are responsible for food consumption and body weight have been discovered. Among other things they influence pituitary gland and pancreas changing their endocrine secretion. Ghrelin is a 28 amino acid peptide, which is supposed to exert orexigenic action. Its expression takes places mainly in stomach but also in pancreas, jejunum, duodenum, placenta, lungs, pituitary gland, kidneys, adrenal glands, gonads, lymphatic nodes, muscles, thyroid, heart, etc. Obestatin is 23 amino acid hormone which was described in 2005. Until now scientists have been arguing about its activity. Present article discuss biological role of ghrelin and obestatin and shows some controversial aspects of their physiological action.

Key words: ghrelin, obestatin, growth hormone, insulin, obesity

INTRODUCTION

Many investigations are undertaken in order to diminish currently spread disorders influenced by obesity [Lee et al. 2002, Nagaya et al. 2001, Schwartz et al. 2000, Torsello et al. 1998]. Ghrelin belongs to factors which are responsible for the release of growth hormone (GH) from the pituitary gland. It was identified in particular when the third, independent GH-release pathway was discovered [Bowers 1998, Dickson et al. 1999, Ghigo et al. 2001, Karydis et al. 1998, Smith et al. 1997]. Factors responsible for growth hormone secretion (growth hormone secretagogues, GHSs) act via G protein coupled receptor (GPCR) named GHSs receptor (GHS-R) [Howard et al. 1996]. In mid-nineties of the twentieth century there has been an increasing interest in the search for a natural endogenous ligand for GHS-R. The substances searched for would bind with the above mentioned receptor and would display similar functions to GHSs [Smith et al 2001]. Kojima and colleagues [1999] reported to have discovered a natural ligand

specific for GHS-R. Ghrelin is expressed mostly by endogenous stomach cells, especially by X/A-like cells. They constitute approximately 25% of all endocrine cells which are found in the bottom layer of the stomach mucosa [Lee et al. 2002].

The name ghrelin derives from an Indo-European word „ghre” and is the root of an English verb „grow”. This emphasize the first discovered functions of this hormone, that is its influence on the release of GH. The second significant effect of ghrelin is its ability to stimulate food intake [Hosada et al. 2006, Kojima et al. 1999].

In 1999, using biotechnological methods, Zhang and colleagues identified another important peptide (subsequently named obestatin) but they announced this discovery just after 6 years of investigations. This hormone was supposed to bring hope to millions of people fighting their obesity problem. It was named after the first findings of its biological function - reduction of food intake and body weight loss. The authors stated, that obestatin originates from the precursor of ghrelin. Moreover, they have conducted the comparison of preproghrelin sequence from 11 species of mammals. By this means they managed to identify the conservative region flanked by potential separation point. This peptide gave the beginning to the new 23 amino acid compound (secreted in the stomach). Obestatin originates due to transcription of preproghrelin gene and subsequent C- terminal amidation, which is the necessary to activate its biological function [Zhang et al. 2005].

CHARACTERISTICS: GEN AND PROTEIN

The gene that encodes preproghrelin is placed on chromosome 3 (locus 3p26-p25) in humans and on chromosome 4 (locus 4q4) in rats [Kojima et al. 1999]. It consists of 4 exons and 3 introns. Both in humans and in rats the final product of expression of this gene is a 117 amino acid protein preproghrelin [Korbonits et al. 2004]. What is characteristic for this particle is its unique posttranslational processing that is acylation of the hydroxyl group of serine (Ser3). This type of modification is essential for ghrelin's biological functions [Hosoda et al. 2006]. The mature form of ghrelin consists of 28 amino acids. Scientists emphasize the conserved character of ghrelin e.g. ghrelin in rats and in humans are in 80% homologous and the only difference are amino acids in position 10 and 11 [Kojima et al. 1999]. So far, three different variants of ghrelin have been identified: acylated, desacylated and with deletion of glutamic acid in position 14 [Hosoda et al. 2000, Hosoda et al. 2003].

INFLUENCE ON HYPOTHALAMUS AND PITUITARY GLAND

Ghrelin is a multifaceted peptide hormone. Due to the fact that GHSs are agonists of the GHS-R, it was expected that ghrelin also displayed a GH-releasing activity. Ghrelin belongs to those factors which are responsible for the release of growth hormone from the hypophysis. Thus, it can act directly on the pituitary gland [Kojima et al. 1999]. However, it has also been suggested by Kojima et al. [1999] that hypothalamus plays a significant role in ghrelin-mediated stimulation of GH release. There are also other factors which may be involved in vivo in GH release following ghrelin administration. It is possible that one of them might be the transmission via the vagus nerve. After vagotomy, ghrelin induced GH release decreases [Date et al. 2002]. This shows

that the vagus nerve plays an essential role for the highest stimulatory effects of ghrelin. As Takaya et al. [2000] claim, peripheral administration of ghrelin induces c-Fos expression in GHRH neurons in arcuate nucleus of the hypothalamus (ARC). According to Takaya et al. [2000] ghrelin and GHSs are also responsible for activation of lactotrophs and corticotrophs as it was shown in studies on humans and animals. All gathered data suggest that ghrelin can act both at the pituitary and the hypothalamus levels [Rubinfeld et al. 2004].

Before ghrelin was discovered, the only known hypothalamic neurotransmitters which stimulated or inhibited GH secretion, were somatoliberin (GHRH) and somatostatin. Both neurohormones bind with receptors found in the anterior part of pituitary gland [Hosoda et al. 2006]. On the other hand peripheral ghrelin and the peptide synthesized locally in brain (ARC) may activate GH secretion via increasing of GHRH amount reaching anterior pituitary [Chabot et al. 1998, Ghigo et al. 2001, Lu et al. 2002, Tannenbaum et al. 2001]. Inui and colleagues [2001] proved that exogenous ghrelin and GHRH have synergistic effect on the release of GH. Administration of anti-GHRH antibodies or GHRH antagonists inhibits the secretion of GH induced by ghrelin. Furthermore, Inui and colleagues [2001] suggest that GHRH is not only involved in GH but also in ghrelin release. Bowers and colleagues [1998] proved that GHRH displays even weaker GH-releasing activity than ghrelin. Unfortunately, mechanism of ghrelin action on GH release has not been unequivocally explained. Growth hormone release is observed in experiments conducted on rats, in which they are treated with exogenous ghrelin injected intravenously, intraperitoneally, subcutaneously and intraventricularly [Asakawa et al. 2001, Date et al. 2002, Kojima et al. 1999, Wren et al. 2000]. It indicates direct or indirect effect of aforementioned peptide on GH release. The effect induced by ghrelin on pituitary hormones is not related only to GH. Ghrelin and GHS also activate (directly or indirectly) lactotrophs and corticotrophs, what has been presented in research conducted on men and animals [Takaya et al. 2000]. Weak influence of ghrelin on prolactin secretion was shown in experiments carried out on cultured pituitary cells [Rubinfeld et al. 2004]. Since it is known that GHSs do not directly stimulate ACTH secretion from pituitary cells, it is supposed that GHSs act via hypothalamus.

Despite expectations, physiological and molecular researches did not confirm any significant influence of the another investigated peptide – obestatin – on expression of fundamental hypothalamic hormones, which are involved in regulation of food intake. Intraventricular injection of this peptide does not influence expression of neuropeptide Y, proopiomelanocortin, and AgRP [Chabot et al. 1998]. Furthermore, a group of scientists under the Yamamoto guidance presented lack of direct metabolic effect of peripheral or intraventricular injection of obestatin on growth hormone, prolactin, ACTH and thyrotropin secretion [Yamamoto et al. 2007].

INFLUENCE ON FOOD INTAKE

Orexigenic effect of GHSs seems to be strong and is not inhibited even by previously administered GHRH antagonists in doses which should extremely block feeding. This appetite affecting reaction is mediated by GHS-R. Both, peripheral or central ghrelin administration stimulates ingestion in rodents having full access to food and in rats showing GH deficiency [Asakawa et al. 2001, Nakazato et al. 2001, Tschop et al. 2000,

Wren et al. 2000]. GHS-R antagonists inhibit hunger stimulation activated by ghrelin. Treatment with antibodies specific for ghrelin inhibits food intake, whereas intravenous infusion of ghrelin initiates hunger and stimulates increase of body weight [Nakazato et al. 2001, Wren et al. 2001]. Daily subcutaneous ghrelin administration in mice stimulates progressive weight gaining (with significant increase of adipose tissue mass), but without changes observed in other tissues [Tschop et al. 2000]. Results of carried out experiments show that ghrelin may be a long-term body mass regulator and could induce obesity. Unlike majority of appetite influencing peptides (NPY, AgRP, orexins, MCH) acting only at the brain level, ghrelin is one of few examples of compounds which regulate feeding from the periphery of the organism.

In 2005 Zhang et al. [2005] proves that obestatin exerts an antagonistic effect to ghrelin, particularly in the case of food intake. Obestatin decreases appetite and body weight. The research conducted on mice by the peptide discoverers elucidated the limitation of food intake which was time dependent. The initial findings highlighted that obestatin applied peripherally or intraventricularly not only limited food intake but also decreased body weight gain and influenced the peristalsis. Furthermore, the data originating from literature on the subject reported inhibitory influence on orexigenic activity of ghrelin. Nonetheless, the subsequent studies proved mistaken beliefs resulting from the first experiments [Lauwers et al. 2006]. The studies based on the injection of obestatin performed intraperitoneally, subcutaneously and intraventricularly did not confirm the influence of the peptide on food intake. Aforementioned results were obtained in similar conditions to that described by Japanese group of scientists. The time of the experiments i.e. short (1-5 hours) and a week-long observations – was comparable for both groups of scientists. Those results were obtained in the conditions under which the control tests took place and they were carried out using factors which exhibited the anorexigenic activity (the so-called control factors) such as: cholecystokinin-8 (CCK-8), agonist of melanocortin receptor, exendine, sibutramine and dexfenfluramine. It must be emphasized that the scientists who repeated the experiments [Gourcerol et al. 2007, Samson et al. 2007, Holst et al. 2007, Nogueiras et al. 2007, Seoane et al. 2006] described by Zhang and co-workers [2005] applied comparable animals considering among others their age, body weight and feeding. Simultaneously, used doses were in accordance with the proportions presented in Japanese's publication (among others: the highest tested doses 2.5 miligrams (intraperitoneally) and 200 mikrogramms (intraventricularly) per kg of b.w. In that way they eliminated to minimum factors that could alter conditions which are essential for investigations. Additionally, they tested obestatin of different origin (human, rat, mouse – they are homologous in 87%) and intentionally changed various conditions. They applied for example limitation of food (to 50%), in all cases they used the standard laboratory chow for rodents (dry or wet) and took into consideration dark and light phase as well as adaptation to injections. Their experiments [Gourcerol et al. 2007, Schwartz et al. 2000, Holst et al. 2007, Nogueiras et al. 2007, Smith et al. 1997] did not confirm significant effect described by Zhang and co-workers [Zhang et al. 2005].

GASTROENTEROPANCREATIC ACTIONS

Gastrectomy in rats reduces circulating ghrelin concentration by 80%. This proves that the stomach is the main source of the endogenous GHS-R ligands [Date et al. 2000, Dornonville et al. 2001]. On the other hand, many investigations show that small quantities of ghrelin are produced in other parts of enteric tracts including the pancreas [Dornonville et al, 2001, Gnanapavan et al. 2002]. As indicated by Date and co-workers [Date et al. 2000], ghrelin is expressed by pancreatic endocrine alpha cells in rodents and human, and according to Volante et al. [2002] and Wierup et al. [2004] by pancreatic beta, PP and other cells. Ghrelin is synthesized in a prominent endocrine cell population in human fetal pancreas and its expression in the pancreas exceeds production in the stomach. In adult islets number of ghrelin positive cells diminishes. However, according to Wierup et al. [2002], ghrelin is not co-expressed with any known islet hormone and the authors suggest that the ghrelin cells may constitute a new type of islet cells. It is interesting, that ghrelin can act not only at the brain level but may also directly affect alimentary tract where GHSs receptors (GHS-R 1a and 1b) are expressed [Date et al. 2000, Gnanapavan et al. 2002, Hosoda et al. 2000a, Hosoda et al. 2000b]. Moreover, Smith et al. [2001] indicate that receptor for motilin and GHS-R 1a show a high degree of structural homology. According to Asakawa et al. [2001] there is also a close structural relationship for precursors of motilin and ghrelin but the mature peptides are homologous only in 36%. Zhang et al. [2005] report that ghrelin is a potent inhibitor of pancreatic cholecystokinin-induced exocrine secretion in rats both in the *in vivo* and *in vitro* manners.

Date et al. [2002] obtained on isolated rat pancreatic islets stimulatory effect of ghrelin on insulin secretion. The investigations were carried out on Wistar rats. In the study ghrelin was used in three concentrations. Similar results were stated by Adegathe et al. [2002] using healthy and diabetic Wistar rats. The *in vitro* study was carried out on pancreatic fragments and proved strong ability of ghrelin to stimulate insulin secretion in both groups of animals. Also, Salehi et al. [2004] observed on isolated pancreatic islets from mice dose dependent influence of ghrelin, additionally conditioned by glucose concentration in medium. The authors speculate that results of the experiment may be due to the evoked changes in somatostatin secretion.

Results obtained in the *in vitro* manners are often but not always similar to changes observed in acute *in vivo* experiments. Some investigators show that intravenous injection of ghrelin at various concentrations elevates insulin level in blood within minutes after treatment [Lee et al. 2002], whereas other scientists observe inhibitory effect of investigated hormone. Especially, Dezaki et al. [2004, 2006] using exogenous ghrelin and blocking endogenous hormone clearly showed that stimulatory effect of ghrelin is not common and they obtained strong depletion of insulin concentration. Simultaneously, glucose level was elevated at that time. These results should dispose researchers to verify their previous view which was created after first experiments which emphasized only stimulatory abilities of ghrelin. Up to now it is hard to describe unequivocally the influence of obestatin on pancreatic hormones secretion. Chanoine et al. [2006] conducted investigations on foetuses and rats after birth and measured concentration of insulin, ghrelin, obestatin and somatostatin in blood as well as amount of these hormones in pancreas. The authors stated that ghrelin and obestatin were present in the organism from the very early stages and their concentrations change during

development. Considering simultaneously observed changes for insulin level the researchers speculated that secretion of beta cells and ghrelin/obestatin concentrations may be associated. Thus, they suggest that obestatin may be the regulator for insulin secretion. To the contrary recent investigations undertaken in 2007 by Green and co-workers [2008] do not support this point of view. Using different isoforms of this hormone they did not state any changes of glucose and insulin levels or insulin sensitivity. Simultaneously, the authors showed no direct action of obestatin on homeostasis of glucose. Investigations undertaken by different groups of researchers do not give clear answers and up to day do not explain action of ghrelin and obestatin on endocrine secretion of pancreas.

CONCLUSIONS

1. It is well documented that ghrelin stimulates food intake and increases body weight permitting progressive weight gain. Well documented is action of ghrelin via stimulation of growth hormone secretion. Simultaneously, the role which ghrelin exerts on endocrine secretion of pancreas is not unanimously stated.

2. General action of obestatin is much less known than physiological role of ghrelin. First evidences that emphasized its influence on food intake (inhibition) and body mass (decreasing) must be verified. Probably this peptide plays much minute role than it was thought at the beginning. Also, its influence on pancreas is very controversial.

REFERENCES

- Adeghate E., Ponery A.S., 2002. Ghrelin stimulates insulin secretion from the pancreas of normal and diabetic rats. *J. Neuroendocrinol.* 14, 555–560.
- Asakawa A., Inui A., Kaga T., Yuzuriha H., Nagata T., Ueno N., 2001. Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. *Gastroenterology* 120, 337–345.
- Bowers C.Y., 1998. Growth hormone-releasing peptide (GHRP). *Cellular and Molecular Life Sci.* 54, 1316–1329.
- Bresciani E., Rapetti D., Dona F., 2006. Obestatin inhibits feeding but does not modulate GH and corticosterone secretion in the rat. *J. Endocrinol. Invest.* 29, RC16–18.
- Chabot G.J., Enjalbert A., Pelletier G., Dubois P.M., Morel G., 1998. Evidence for a direct action of neuropeptide Y in the rat pituitary gland. *Neuroendocrinology* 47, 511–517.
- Chanoine J.P., Wong A.C.K., Barrios V., 2006. Obestatin, acylated and total ghrelin concentrations in the perinatal rat pancreas. *Horm. Res.* 66: 81–88.
- Date Y., Murakami N., Kojima M., Kuroiwa T., Matsukura S., Kangawa K., 2000. Central effects of a novel acylated peptide, ghrelin, on growth hormone release in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 275, 477–480.
- Date Y., Murakami N., Toshinai K., Matsukura S., Nijima A., Matsuo H., 2002. The role of the gastric afferent vagal nerve in ghrelin-induced feeding and growth hormone secretion in rats. *Gastroenterology.* 123, 1120–1128.
- Dezaki K., Hosoda H., Kakei M., Hashiguchi S., Watanabe M., Kanagawa K., Yada T., 2004. Endogenous ghrelin in pancreatic islets restricts insulin release by attenuating Ca²⁺ signaling in beta-cells: implication in the glycemic control in rodents. *Diabetes* 53, 3142–3151.

- Dezaki K., Sone H., Koizumi M., Nakata M., Kakei M., Nagai H., Hosoda H., Kangawa K., Yada T., 2006. Blockade of pancreatic islet-derived ghrelin enhances insulin secretion to prevent high-fat diet-induced glucose intolerance. *Diabetes* 50, 3486–3493.
- Dickson S.L., Bailey A.R., Leng G., 1999. Growth hormone (GH) secretagogues and neuroendocrine regulation of GH secretion. *Growth Horm. IGF Res.* 9 (suppl. A):89–91.
- Dornonville de la Cour C., Bjorkqvist M., Sandvik A.K., Bakke I., Zhao C.M., Chen D., Hakanson R., 2001. A-like cells in the rat stomach contain ghrelin and do not operate under gastrin control. *Regul. Pept.* 99:141–150.
- Ghigo E., Arvat E., Giordano R. i wsp.: Biologic activities of growth hormone secretagogues in humans. *Endocrine* 2001;14: 87–93.
- Gnanapavan S., Kola B., Bustin S.A., Morris D.G., McGee P., Fairclough P., Bhattacharya S., Carpenter R., Grossman A.B., Korbonits M., 2002. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87(6), 2988–2991.
- Gourcerol G., Coskun T., Craft L.S., Mayer J.P., Heiman M.L., Wang L., Million M., Pierre D.H., Tache Y., 2007. Preproghrelin-derived peptide, obestatin, fails to influence food intake in lean or obese rodents. *Obesity* 15, 2643–2652.
- Green B.D., Irwin N., Flatt P.R., 2008. Direct and indirect effects of obestatin peptides on food intake and the regulation of glucose homeostasis and insulin secretion in mice. [Peptides](#) 28, 981–987.
- Holst B., Egerod K.I., Schild E., Vickers S.P., Cheetham S., Gerlach L.O., Storjohann L., Stidsen C.E., Jones R., Beck-Sickinger A.G., Schwartz T.W., 2007. GPR39 signaling is stimulated by zinc ions but not by obestatin. *Endocrinology* 148, 13–20.
- Hosoda H., Kojima K., Matsuo H., Kangawa K., 2000a. Purification and characterization of rat des-Gln14-ghrelin, a second endogenous ligand for growth hormone secretagogue receptor. *J. Biol. Chem.* 275, 21995–22000.
- Hosoda H., Kojima M., Matsuo H., Kangawa K., 2000b. Ghrelin and des-acyl ghrelin: two major forms of rat ghrelin peptide in gastrointestinal tissue. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 279, 909–913.
- Hosoda H., Kojima M., Mizushima T., Shimizu S., Kangawa K., 2003. Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by post-translational processing. *J. Biol. Chem.* 278, 64–70.
- Hosoda H., Kojima M., Mizushima T., Kangawa K., 2006. Biological, physiological, and pharmacological aspects of ghrelin. [J. Pharmacol. Sci.](#) 100, 398–410.
- Howard A.D., Feighner S.D., Cully D.F., Arena J.P., Liberators P.A., Rosenblum C.I., Hamelin M., Hreniuk D.L., Palyha O.C., Anderson J., Paress P.S., Diaz C., Chou M., Liu K.K., McKee K.K., Pong S.S., Chaung L.Y., Elbrecht A., Dashkevich M., Heavens R., Rigby M., Sirinathsinghji D.J., Dean D.C., Melillo D.G., Patchett A.A., Nargund R., Griffin P.R., DeMartino J.A., Gupta S.K., Scafer J.M., Smith R.G., Van der Ploeg L.H., 1996. A receptor in pituitary and hypothalamus that functions in growth hormone release. *Science* 273, 974–977.
- Inui A., 2001. Ghrelin: an orexigenic and somatotrophic signal from the stomach. *Nat. Rev. Neurosci.* 2, 551–560.
- Karydis I., Tolis A., Tolis G., 1998. New GH secretagogues and potential usefulness in thalassemia. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 11, 857–862.
- Kojima M., Hosoda H., Date Y., Nakazato M., Matsuo H., Kangawa K., 1999. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 402: 656–660.
- Korbonits M., Goldstone A.P., Gueorguiev M., Grossman A.B., 2004. Ghrelin—a hormone with multiple functions. *Front. Neuroendocrinol.* 25, 27–68.

- Lauwers E., Landuyt B., Arckens L., Schoofs L., Luyten W., 2006. Obestatin does not activate orphan G protein-coupled receptor GPR39, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 351, 21–25.
- Lee H-M., Wang G., Englander E.W., Kojima M., Greeley G.H., Jr., 2002. Ghrelin, a new gastrointestinal endocrine peptide that stimulates insulin secretion: enteric distribution, ontogeny, influence of endocrine, and dietary manipulations. *Endocrinology* 143, 185–190.
- Lu S., Guan J.L., Wang Q.P., Uehara K., Yamada S., Goto N., 2002. Immunocytochemical observation of ghrelin-containing neurons in the rat arcuate nucleus. *Neurosci. Lett.* 321, 157–160.
- Nagaya N., Miyatake K., Uematsu M., Oya H., Shimizu W., Hosoda H., 2001. Hemodynamic, renal, and hormonal effects of ghrelin infusion in patients with chronic heart failure. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86, 5854–5859.
- Nakazato M., Murakami N., Date Y., Kojima M., Matsuo H., Kangawa K., 2001. A role for ghrelin in the central regulation of feeding. *Nature* 409, 194–198.
- Nogueiras R., Pfluger P., Tovar S., Myrtha A., Mitchell S., Morris A., Perez-Tilve D., Vazquez M.J., Wiedmar P., Castaneda T.R., DiMarchi R., Tschop M., Schurmann A., Joost H.G., Williams L.M., Langhans W., Dieguez C., 2007. Effects of obestatin on energy balance and growth hormone secretion in rodents. *Endocrinology* 148, 21–26.
- Rubinfeld H., Hadani M., Taylor J.E., Dong J.Z., Comstock J., Shen Y., 2004. Novel ghrelin analogs with improved affinity for the GH secretagogue receptor stimulate GH and prolactin release from human pituitary cells. *Eur. J. Endocrinol.* 151, 787–795.
- Salehi A., Dornonville de la Cou Ch., Hakanson R., Lundquist I., 2004. Effects of ghrelin on insulin and glucagon secretion: a study of isolated pancreatic islets and intact mice. *Regul. Pept.* 118, 143–150.
- Samson W.K., White M.M., Price C., Ferguson A.V., 2007. Obestatin acts in brain to inhibit thirst. *Am. J. Physiol. Regul. Comp. Physiol.* 292, R637–R643.
- Schwartz M.W., Woods S.C., Porte D. Jr., Seeley R.J., Baskin D.G., 2000. Central nervous system control of food intake. *Nature* 404, 661–671.
- Seoane L.M., Al Massadi O., Pazos Y., Pagotto U., Casanueva F.F., 2006. Central obestatin administration does not modify either spontaneous or ghrelin-induced food intake in rats. *J. Endocrinol. Invest.* 29, RC13–RC15.
- Smith R.G., Van der Ploeg L.H.T., Howard A.D., Feighner S.D., Cheng K., Hickey G.J., Wyvratt M.J., Fisher M.H., Nargund R.P., Patchett A.A., 1997. Peptidomimetic regulation of growth hormone secretion. *Endocrine Rev.* 18, 621–645.
- Smith R.G., Palyha O.C., Feighner S.D., Tan C.P., McKee K.K., Hreniuk D.L., 1999. Growth hormone releasing substances: types and their receptors. *Horm. Res.* 51(suppl. 3): 1–8.
- Smith R.G., Leonard R., Bailey A.R., Palyha O., Feighner S., Tan C., McKee K.K., Pong S.S., Griffin P., Howard A., 2001. Growth hormone secretagogue receptor family members and ligands. *Endocrine* 14, 9–14.
- Takaya K., Ariyasu H., Kanamoto N., Iwakura H., Yoshimoto A., Harada M., et al. Ghrelin strongly stimulates growth hormone release in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000; 85: 4908–4911.
- Tannenbaum G.S., Bowers C.Y., 2001. Interaction of growth hormone secretagogues and growth hormone releasing hormone somatostatin. *Endocrine* 14, 21–27.
- Torsello A., Luoni M., Schweiger F., Grilli R., Guidi M., Bresciani E. 1998. Novel hexarelin analogs stimulate feeding in the rat through a mechanism not involving growth hormone release. *Eur. J. Pharmacol.* 360, 123–129.
- Tschop M., Smiley D.L., Heiman M.L., 2000. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 407, 908–913.
- Volante M., Allia E., Gugliotta P., Funaro A., Broglio F., Deghenghi R., Muccioli G., Ghigo E., Papotti M., 2002. Expression of ghrelin and of the GH secretagogue receptor by pancreatic islet cells and related endocrine tumors. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87, 1300–1308.

- Wierup N., Svensson H., Mulder H., Sundler F., 2002. The ghrelin cell: a novel developmentally regulated islet cell in the human pancreas. *Regul. Pept.* 107, 63–69.
- Wierup N., Yang S., McEvelly R.J., Mulder H., Sundler F., 2004. Ghrelin is expressed in a novel endocrine cell type in developing rat islets and inhibits insulin secretion from INS-1 (832/13) cells. *J. Histochem. Cytochem.* 52, 301–310.
- Wren A.M., Small C.J., Ward H.L., Murphy K.G., Dakin C.L., Taheri S., Kennedy A., Roberts G.H., Morgan D.G., Ghatei M.A., Bloom S.R., 2000. The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology* 141, 4325–4328.
- Wren A.M., Seal L.J., Cohen M.A., Brynes A.E., Frost G.S., Murphy K.G., 2001. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86, 5992–5995.
- Yamamoto D., Ikeshita N., Daito R., Herningtyas E.H., Toda K., Takahashi K., 2007. Neither intravenous nor intracerebroventricular administration of obestatin affects the secretion of GH, PRL, TSH and ACTH in rats. *Regul. Pept.* 138, 141–144.
- Zhang J.V., Ren P.G., Avsian-Kretchmer O., Luo C.W., Rauch R., Klein C., 2005. Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science* 310, 996–999.

NOWE DANE DOTYCZĄCE GVELINY I OBESTATYNY

Streszczenie. Istotnym problemem współczesnej cywilizacji jest zjawisko otyłości, które dotyka nie tylko ludzi, ale również zwierzęta. Wśród niekorzystnych następstw obserwuje się między innymi cukrzycę i choroby nadciśnieniowe. Wiele nadziei pokłada się w odkrywaniu nowych związków regulujących pobieranie pokarmu i redukujących masę ciała. W szeregu przypadkach istotnym elementem jest nie tylko poznanie końcowego efektu ich działania, lecz także głębsze wyjaśnienie mechanizmów zachodzących zmian metabolicznych.

Niniejsza praca omawia proces i miejsca syntezy oraz mechanizmy oddziaływania greliny i obestatyny na organizm. Ponadto zostały omówione następstwa ich działania, wskazując na kontrowersyjne aspekty pełnionej funkcji biologicznej między innymi w przypadku pobierania pokarmu i otluszczenia.

Słowa kluczowe: gvelina, obestatyna, hormon wzrostu, insulina, otyłość

Accepted for print – Zaakceptowano do druku: 31.03.2008

For citation – Do cytowania: Kilanowska A., Maćkowiak P., 2008. New facts about ghrelin and obestatin. *Acta Sci. Pol. Med. Vet.* 7(1), 11–19.

OCENA EKSTERIERU KONIA HUCULSKIEGO NA PODSTAWIE WYBRANYCH WSKAŹNIKÓW MORFOMETRYCZNYCH. WSKAŹNIKI GŁOWY

Halina Purzyc¹, Henryk Kobryń¹, Marcin Komosa², Jacek Bojarski³

¹ Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

² Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

³ Uniwersytet Zielonogórski

Streszczenie. Celem niniejszych badań była ocena eksterieru konia huculskiego na podstawie następujących wskaźników: długości głowy, szerokości jarzmowej głowy oraz szerokości twarzowej głowy. Badania zostały przeprowadzone na 341 koniach huculskich, które zakwalifikowano do 6 grup wiekowych. Na każdym osobniku dokonano pomiaru wysokości w kłębie, długości głowy, szerokości jarzmowej głowy oraz szerokości twarzowej głowy. Z uzyskanych wartości wyliczono wskaźniki, które poddano analizie statystycznej poszczególnych wskaźników. Proporcje wymiarów głowy i ich wskaźników koni najmłodszych były odmienne niż koni najstarszych. Jedynie dla wskaźnika długości głowy otrzymane wartości wśród koni zakwalifikowanych do grupy II były porównywalne z osobnikami dorosłymi. Dymorfizm płciowy dorosłych osobników zauważa się w wielkości wskaźnika szerokości twarzowej głowy.

Słowa kluczowe: koń huculski, eksterier, wskaźniki morfometryczne głowy

WSTĘP

Rasa koni huculskich reprezentuje odmianę konia górskiego [Budzyńska i in. 2003, Cywińska i in. 2000, Holländer 1924, Holländer 1938, Hroboni 1966, Mencil 1923, Prawocheński 1947, Zwoliński 1976]. Jest ona jedną z najstarszych ras prymitywnych opisanych w Polsce, gdyż była już znana w początkach XVII w. [Grabowski 1971, Zwoliński 1976]. Ojczyzną tej rasy jest Huculszczyzna. Jest to obszar położony w górzystym dorzeczu Prutu i Czeremoszu, na terenie Karpat Wschodnich. Konie tej rasy są niewielkiego wzrostu: 135,0–145,0 cm (ogierzy) i 132,0–143,0 cm (klacze). Standard biometryczny dla koni huculskich został ustalony przez organizację Hucul Horse

Adres do korespondencji – Corresponding author: Halina Purzyc, Katedra Nauk Morfologicznych, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa; e-mail: hapu@tlen.pl

International Federation zgodnie z normami obowiązującymi w Unii Europejskiej. Rasa ta reprezentuje typ koni wszechstronnie użytkowych. Odznaczają się one dużą inteligencją, wytrzymałością, przy dużym efekcie pracy, co pozwala im na pokonywanie znacznych przeszkód terenowych [Purzyc 2006]. W niniejszym opracowaniu podjęto próbę oceny eksterieru konia huculskiego na podstawie wskaźników głowy.

MATERIAŁ I METODY

Badania zostały przeprowadzone na 341 koniach huculskich w wieku od 6 dnia do 28 roku życia, które zakwalifikowano do 6 grup wiekowych: I – oseski, II – odsadki, III – roczniaki, IV – dwulatki, V – trzylatki, VI – osobniki dorosłe (tab. 1). Za pomocą laski zoometrycznej i cyrkla zoometrycznego na każdym osobniku wykonano następujące pomiary:

- 1) wysokość w kłębie – mierzona od podłoża, prostopadłe do najwyższego punktu okolicy międzyłopatkowej,
- 2) długość głowy – mierzona od grzebienia karkowego do najbardziej ku przodowi wysuniętego punktu okolicy nozdrzy,
- 3) szerokość jarzmowa głowy – odległość od zewnętrznej powierzchni wyrostka jarzmowego kości czołowej prawej strony do zewnętrznej powierzchni tego wyrostka strony przeciwnej,
- 4) szerokość twarzowa głowy – odległość między końcami grzebieni twarzowych, prawego i lewego.

Zebrane wymiary w odpowiednich grupach poddano analizie statystycznej (tab. 2, 3, 4). Otrzymane wartości, zgodnie ze wskazaniem Skorkowskiego [1956] i Ruszczyca [1978], posłużyły do wyliczenia wskaźników według następujących wzorów:

$$1. \text{Wskaźnik długości głowy: } \frac{\text{długość głowy} \times 100}{\text{wysokość w kłębie}}$$

$$2. \text{Wskaźnik szerokości jarzmowej głowy: } \frac{\text{szerokość jarzmowa głowy} \times 100}{\text{wysokość w kłębie}}$$

$$3. \text{Wskaźnik szerokości twarzowej głowy: } \frac{\text{szerokość twarzowa głowy} \times 100}{\text{wysokość w kłębie}}$$

W dalszej analizie oszacowano istotności różnic pomiędzy średnimi wartościami wskaźników na poziomie $\alpha = 0,01$ i $\alpha = 0,05$ (tab. 5, 6).

Analizy statystyczne zostały przeprowadzone za pomocą programu do obliczeń i grafiki statystycznej „R”. Dodatkowo w analizach posłużono się testem Bartletta, testem Kruskala-Wallisa oraz testem T- studenta.

W części dokumentacyjnej pracy wprowadzono następujące oznaczenia: o – ogiery, k – klacze i w – wałachy.

Tabela 1. Materiał poddany badaniom z podziałem na płęć i grupy wiekowe
 Table 1. Material subjected to research with division into sex and age groups

Grupa wiekowa Age group	I	II	III	IV	V	VI
	Oseki Sucklings	Odsadki Weanlings	Roczniaki Yearlings	Dwulatki Two-year-old	Trzylatki Three-year-old	Dorosłe Adults
Wiek w tyg. Age in weeks	1-27	28-53	54-105	106-157	158-209	od 210
Płęć Sex						
Ogiery (n) Stallions (n)	28	25	26	10	10	13
Klaczki (n) Mares (n)	27	15	26	26	12	79
Waluchy (n) Geldings (n)	0	0	0	23	10	11
Razem (n) Total (n)	55	40	52	59	32	103

Tabela 2. Wskaźnik długości głowy; %
 Table 2. Index of head's length; %

Grupa wiekowa Age group	Płeć Sex														
	Ogierzy Stallions						Klaczki Mares						Wąłachy Geldings		
	n	min.	max.	\bar{x}	s	n	min.	max.	\bar{x}	s	n	min.	max.	\bar{x}	s
I	28	29,0	36,6	32,4	1,8	27	28,3	35,1	31,4	1,7	-	-	-	-	-
II	25	34,5	43,3	37,7	2,2	15	32,8	41,2	37,4	2,1	-	-	-	-	-
III	26	35,7	42,0	38,4	1,5	26	34,5	40,9	37,9	1,5	-	-	-	-	-
IV	10	33,3	39,7	37,1	1,8	26	32,9	40,6	36,9	1,7	23	32,9	40,3	36,9	1,8
V	10	34,5	39,7	37,2	1,6	12	32,6	40,9	36,7	2,3	10	36,2	39,6	37,6	1,1
VI	13	35,3	39,3	37,7	1,2	79	33,1	42,0	37,9	1,9	11	33,8	39,2	37,6	1,7

Tabela 3. Wskaźnik szerokości jarzmowej głowy; %
 Table 3. Index of head's zygomatic width; %

Grupa wiekowa Age group	Płeć Sex														
	Ogiery Stallions						Klacz Mares						Wąłachy Geldings		
	n	min.	max.	\bar{x}	s	n	min.	max.	\bar{x}	s	n	min.	max.	\bar{x}	s
I	28	12,2	15,8	13,8	1,0	27	12,2	16,2	13,8	1,0	-	-	-	-	-
II	25	13,1	16,8	14,6	0,8	15	13,3	16,0	14,3	0,7	-	-	-	-	-
III	26	14,1	16,7	15,1	0,7	26	13,8	16,4	14,9	0,6	-	-	-	-	-
IV	10	14,2	16,2	15,0	0,6	26	13,4	17,2	14,8	0,9	23	13,9	17,2	15,2	1,0
V	10	14,1	15,3	14,6	0,4	12	13,9	15,6	14,7	0,5	10	14,1	15,8	14,8	0,5
VI	13	13,2	16,5	15,1	1,0	79	11,5	18,6	15,0	1,0	11	11,0	16,2	14,9	1,4

Tabela 4. Wskaźnik szerokości twarzowej głowy; %
 Table 4. Index of facial width of the head; %

Grupa wiekowa Age group	Płeć Sex														
	Ogierzy Stallions						Klaczki Mares						Wąłachy Geldings		
	n	min.	max.	\bar{x}	s	n	min.	max.	\bar{x}	s	n	min.	max.	\bar{x}	s
I	28	8,2	12,4	10,1	1,1	27	7,6	12,3	10,0	1,1	-	-	-	-	-
II	25	9,8	13,1	11,2	0,8	15	9,7	12,1	11,0	0,7	-	-	-	-	-
III	26	10,3	12,9	11,5	0,7	26	10,5	12,7	11,4	0,6	-	-	-	-	-
IV	10	10,9	13,2	11,9	0,6	26	10,4	13,3	11,8	0,5	23	10,2	14,6	12,1	0,9
V	10	11,3	12,7	11,9	0,6	12	10,3	13,3	12,0	0,8	10	11,5	13,2	12,0	0,5
VI	13	10,4	12,9	11,7	0,7	79	10,7	13,7	12,1	0,6	11	11,0	13,2	12,3	0,6

Tabela 5. Różnice statystyczne pomiędzy średnimi wartościami wskaźników w sąsiednich grupach wiekowych dla płci; (*) różnice istotne przy $\alpha = 0.05$, (**) różnice istotne przy $\alpha = 0.01$; o – ogiery, k – klacze, w – wałachy
 Table 5. Statistical differences between mean values of indices in adjoining age groups for considered sexes. (*) significant differences where $\alpha = 0.05$, (**) significant differences where $\alpha = 0.01$; s – stallions, m – mares, g – geldings

Nazwa wskaźnika Index name	Grupa wiekowa i płeć Age group and sex												
	I-II		II-III		III-IV		IV-V		V-VI				
	o-o	k-k	o-o	k-k	o-o	k-k	o-o	k-k	o-o	k-k	o-o	k-k	w-w
	s-s	m-m	s-s	m-m	s-s	m-m	s-s	m-m	s-s	m-m	s-s	m-m	g-g
Wskaźnik długości głowy Index of head's length	**	**				*							
Wskaźnik szerokości jarzmowej głowy Index of head's zygomatic width	**	*	*	*									
Wskaźnik szerokości twarzowej głowy Index of facial width of the head	**	**	*	*									

WYNIKI

Wskaźnik długości głowy (tab. 2, 5, 6).

W grupie I wartość tego wskaźnika wynosiła 32,4% u ogierów i 31,4% u klaczy. Różnica pomiędzy tymi wartościami była istotna statystycznie.

W grupie II współczynnik ten wzrósł wysoce istotnie statystycznie i osiągnął u ogierów 37,7% a u klaczy 37,4%. Nie wykazywał on jednak istotnej różnicy pomiędzy ogierami i klaczami.

W grupie III średnia wartość badanego indeksu wzrosła niewiele i nieistotnie statystycznie w porównaniu z grupą poprzednią – do 38,4% u ogierów i 37,9% u klaczy. Nie wystąpiły nadal istotne różnice pomiędzy średnimi wyliczonymi dla każdej z płci.

W grupie IV wartość tego parametru wynosiła 37,1% u ogierów, 36,9% u klaczy i 36,9% u wałachów. W porównaniu do grupy młodszej był to spadek istotny statystycznie u klaczy i nieistotny statystycznie u ogierów. W tej grupie wiekowej nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy ogierami, klaczami i wałachami.

W grupie V zaobserwowano nieistotny statystycznie wzrost badanego parametru w porównaniu do grupy IV u ogierów i wałachów oraz spadek u klaczy, osiągając wartość 37,2% u ogierów, 36,7% u klaczy i 37,6% u wałachów. Podobnie nadal nieistotne były różnice pomiędzy średnimi tego wskaźnika u przedstawicieli różnej płci.

W grupie VI średnia wartość tego wskaźnika nieistotnie statystycznie wzrosła u ogierów i klaczy oraz utrzymała się na tym samym poziomie u wałachów, uzyskując 37,7% u ogierów, 37,9% u klaczy i 37,6% u wałachów. Odnotowano brak istotnej różnicy statystycznej pomiędzy średnimi dla uwzględnionych płci.

Wskaźnik szerokości jarzmowej głowy (tab. 3, 5, 6).

W grupie I średnia wskaźnika szerokości jarzmowej głowy wynosiła 13,8% zarówno u ogierów, jak i klaczy.

W grupie II wartość tego wskaźnika wzrosła wysoce istotnie statystycznie u ogierów oraz nieistotnie statystycznie u klaczy, osiągając u ogierów 14,6% a u klaczy 14,3%. Różnica pomiędzy średnimi wartościami u samców i samic nie była istotna statystycznie.

W grupie III obserwowano dalszy istotny statystycznie wzrost badanego współczynnika, który uzyskał 15,1% u ogierów i 14,9% u klaczy. Nadal nie stwierdzono istotnej różnicy pomiędzy ogierami i klaczami w tej grupie wiekowej.

W grupie IV odnotowano nieznaczny i nieistotny spadek omawianego parametru, który osiągnął 15,0% u ogierów, 14,8% u klaczy i 15,2% u wałachów. Podobnie nadal nieistotne statystycznie były różnice pomiędzy średnimi tego wskaźnika u przedstawicieli różnej płci.

W grupie V średnia wartość tego parametru wynosiła 14,6% u ogierów, 14,7% u klaczy i 14,8% u wałachów. Był to jej nieistotny statystycznie spadek u przedstawicieli każdej z płci. W dalszym ciągu nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy pomiędzy ogierami, klaczami i wałachami.

W grupie VI wykazano niewielki i nieistotny statystycznie wzrost badanego współczynnika, uzyskując 15,1% u ogierów, 15,0% u klaczy i 14,9% u wałachów. Nie wystąpiły istotne różnice między średnimi wyliczonymi dla każdej płci.

Wskaźnik szerokości twarzowej głowy (tab. 4, 5, 6)

W grupie I średnia wartość tego wskaźnika wynosiła 10,1% u ogierów i 10,0% u klaczy. Różnica pomiędzy tymi wartościami nie była istotna statystycznie.

W grupie II wartość ta wzrosła statystycznie bardzo istotnie i osiągnęła u ogierów 11,2% a u klaczy 11,0%. Nie wykazała ona jednak istotnej różnicy pomiędzy ogierami i klaczami.

W grupie III obserwowano dalszy wzrost badanego współczynnika do 11,5% u ogierów i 11,4% u klaczy. Jedynie u klaczy wzrost ten był istotny statystycznie. Nie stwierdzono jednak istotnej różnicy pomiędzy wartościami średnimi u ogierów i klaczy w tej grupie.

W grupie IV badana wartość nadal wzrosła, uzyskując 11,9% u ogierów, 11,8% u klaczy i 12,1% u wałachów. Tylko u klaczy wzrost ten był wysoce istotny statystycznie. W dalszym ciągu nie było istotnej różnicy statystycznej między średnimi dla uwzględnionych płci.

W grupie V odnotowano nieznaczny, statystycznie nieistotny wzrost tego indeksu u klaczy oraz utrzymanie się jego na tym samym poziomie u ogierów i nieistotny statystycznie spadek u wałachów, osiągając 11,9% u ogierów, 12,0% u klaczy i 12,0% u wałachów. Nie wykazano istotnej różnicy statystycznej pomiędzy ogierami, klaczami i wałachami.

W grupie VI współczynnik ten nieistotnie statystycznie wzrósł u klaczy, wałachów i zmalał u ogierów do wartości: 11,7% u ogierów, 12,1% u klaczy i 12,3% u wałachów. Jednak stwierdzono istotną różnicę statystyczną pomiędzy wartościami średnimi u ogierów i klaczy oraz ogierów i wałachów.

DYSKUSJA

Dla pełnego scharakteryzowania budowy mierzonych koni – wartości cech morfometrycznych posłużyły do wyliczenia podstawowych wskaźników. Z ich analiz wynika, iż w większości przypadków najintensywniejszy wzrost średnich wartości indeksów był w IV grupie wiekowej. Stwierdzono również, że średnie wartości wskaźników mają tendencję do zmniejszania się w kolejnych etapach rozwoju. Należy przypuszczać, że zmniejszanie to spowodowane jest spadkiem wartości średnich poszczególnych parametrów, zwłaszcza poczynając od IV grupy wiekowej.

Rozpatrując dymorfizm płciowy analizowanych wskaźników, stwierdzono różnice pomiędzy samcami oraz samicami i to na różnych etapach rozwoju badanych osobników. Różnice te występowały już w grupie najmłodszej. Dokonane analizy wskaźnika szerokości twarzowej głowy świadczą o występowaniu istotnej różnicy pomiędzy dorosłymi samcami i samicami. Obliczenia wskaźnika długości głowy wykazały, że omawiana rasa koni osiąga wartości porównywane dla koni dorosłych już w grupie II. Wskaźnik ten był najwyższy u klaczy, ale nie stwierdzono istotnych różnic dla poszczególnych płci. Wskaźnik szerokości jarzmowej głowy już w III grupie osiąga wartości podobne do wyliczonych dla grupy VI. Jego wielkość jest podobna u ogierów, klaczy i wałachów. Wskaźnik szerokości twarzowej głowy najwyższą wartość uzyskał u wałachów, następnie u klaczy i ogierów. Wykazano, że wskaźnik ten dla ogierów jest istotnie różny w porównaniu z klaczami i wałachami.

WNIOSKI

1. Najintensywniejszy wzrost koni huculskich, określony na podstawie wskaźników głowy, trwa do wieku około dwóch lat, a później jego tempo maleje.
2. Proporcje wymiarów ciała wyrażone wskaźnikami głowy u koni najmłodszych były odmienne niż koni najstarszych. Jedynie dla wskaźnika długości głowy otrzymane wartości wśród koni zakwalifikowanych do grupy II były porównywalne z osobnikami dorosłymi.
3. Obliczenia wskaźnika długości głowy wykazały, że omawiana rasa koni osiąga wartości porównywane dla koni dorosłych już w grupie II. Wskaźnik ten był wyższy u klaczy niż u ogierów i wałachów.
4. Na podstawie średnich wartości wskaźnika szerokości jarzmowej głowy stwierdzono, iż osobniki należące do III grupy wiekowej osiągają podobne wartości jak konie dorosłe. Wielkości te są podobne u każdej z płci.
5. Analiza wskaźnika szerokości twarzowej głowy wykazała, że najwyższą wartość uzyskał on u wałachów, następnie u klaczy i ogierów. Zaobserwowano, iż wartości tego wskaźnika były istotnie różne dla ogierów i klaczy oraz ogierów i wałachów.

PIŚMIENNICTWO

- Budzyńska M., Krupa W., Kamieniak J., Sapuła M., Gancarz J., 2003. Charakterystyka eksterierowa i użytkowa koni huculskich uczestniczących w Czemponacie Hodowlanym. *Ann. UMCS Sect. EE*, 21: 327–332.
- Cywińska A., Walkowicz E., Kowalski P., Kowal A., 2000. Mechanika ruchu koni huculskich w zróżnicowanych warunkach terenowych. *Zesz. Nauk. PTZ. Prz. Hod.*, 50: 319–324.
- Grabowski J., 1971. Użytkowość, utrzymanie, chów i hodowla koni. Cz. III i IV. WSR, Szczecin.
- Holländer M., 1924: Propozycja podziału pogłowia końskiego w Małopolsce Wschodniej. *Jeź. i Hod.*, 11/12: 86.
- Holländer M., 1938. Koń huculski. Nakład ZHKH, Warszawa.
- Hrobni Z., 1966. Użytkowanie i chów koni. PWRiL, Warszawa.
- Mencel J., 1923. O poprawie hucuła. *Jeź. i Hod.*, 2/51: 418.
- Purzyc H., 2006. Cechy konia huculskiego w świetle badań morfometrycznych. Praca dokt., Wydz. Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie.
- Prawocheński R., 1947. Hodowla koni. T. II. Państw. Inst. Naukowy Gosp. Wiejskiego, Puławy.
- Ruszczyk Z., 1978. Metodyka doświadczeń zootechnicznych. Wyd. III. PWRiL, Warszawa.
- Skorkowski E., 1956. Analiza biometryczna. *Med. Wet.*, 4: 213–216.
- Zwoliński J., 1976. Hodowla koni. Wyd. II. PWRiL, Warszawa.

EVALUATION OF HUCUL HORSE EXTERIOR BASED ON CHOSEN MORPHOMETRIC INDICES. INDICES OF THE HEAD

Abstract. The aim of the study was to evaluate the exterior of the Hucul horses on the basis of the following indices: head's length, head's zygomatic width and facial width of the head. The research was conducted on 341 Hucul horses of different sex and age which were qualified in 6 age groups. Each individual underwent measurement of the height

at withers, the head's length, the head's zygomatic width and the facial width of the head. The obtained results in separate age groups were subject to statistical analysis of the indices of the head. Proportions of measurements of the head and their indices in the youngest horses were different than in the oldest horses. Only for the index of the head's length, received values among horses classified to the group II were comparable with adult individuals. Sexual dimorphism of adult individuals was observed in the size of the index of the facial width of the head.

Key words: Hucul horse, exterior, head's morphology index

Zaakceptowano do druku – Accepted for print: 31.03.2008

Do cytowania – For citation: Purzyc H., Kobryń H., Komosa M., Bojarski J., 2008. Ocena eksterieru konia huculskiego na podstawie wybranych wskaźników morfometrycznych. Wskaźniki głowy. *Acta Sci. Pol. Med. Vet.* 7(1), 21–32.

OCENA EKSTERIERU KONIA HUCULSKIEGO NA PODSTAWIE WYBRANYCH WSKAŹNIKÓW MORFOMETRYCZNYCH. WSKAŹNIKI KLATKI PIERSIOWEJ I MIEDNICY

Halina Purzyc¹, Henryk Kobryń¹, Marcin Komosa², Jacek Bojarski³

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

²Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

³Uniwersytet Zielonogórski

Streszczenie. Badania zostały przeprowadzone na 341 koniach huculskich, które zakwalifikowano do 6 grup wiekowych. Na każdym osobniku dokonano pomiaru wysokości w kłębie, obwodu klatki piersiowej, wysokości w krzyżu, szerokości miednicy (zadu) oraz długości miednicy (zadu). Z uzyskanych wartości, w odpowiednich grupach wyliczono wskaźniki, które poddano analizie statystycznej. Proporcje budowy ciała, określone na podstawie niektórych wskaźników są charakterystyczne dla koni stępaków oraz koni typu pogrubionego z przydatnością do uciagu dużej masy. W przypadku ogierów wykazują one cechy zbliżone do koni ras szlachejnych. Celem niniejszych badań była ocena eksterieru konia huculskiego na podstawie wskaźników: wysokości w krzyżu, siły, szerokości miednicy oraz długości miednicy.

Słowa kluczowe: koń huculski, eksterier, wskaźnik morfometryczny

WSTĘP

Rasa koni huculskich ukształtowała się na terenie Karpat Wschodnich. W 1856 r. na górzystym terenie Huculszczyny powstała pierwsza hodowla koni tej rasy, która funkcjonuje do dziś. Konie huculskie zaliczane są do ras prymitywnych. Osobniki te są niewielkiego wzrostu: 135,0–145,0 cm (ogierzy) i 132,0–143,0 cm (klacze). Oficjalny standard biometryczny dla koni tej rasy został ustalony przez organizację Hucul Horse International Federation zgodnie z normami obowiązującymi w Unii Europejskiej [Tomczyk-Wrona 2004a]. Obecnie największy materiał zarodowy koni tej rasy znajduje się w Polsce i podlega ochronie zasobów genetycznych. Są one hodowane również w Rumunii, na Słowacji, w Czechach, na Węgrzech, na Ukrainie i w Austrii. Konie

Adres do korespondencji – Corresponding author: Halina Purzyc, Katedra Nauk Morfologicznych, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa; e-mail: hapu@tlen.pl

huculskie są bardzo łagodne i spokojne. Odznaczają się dużą inteligencją i odpornością na choroby. W niniejszej pracy podjęto próbę oceny eksterieru konia huculskiego na podstawie wskaźników: wysokości w krzyżu, siły, szerokości miednicy oraz długości miednicy.

MATERIAŁ I METODY

Badania zostały przeprowadzone na 341 koniach huculskich w wieku od 6 dnia do 28 roku życia, które zakwalifikowano do 6 grup wiekowych: I – oseski, II – odsadki, III – roczniaki, IV – dwulatki, V – trzylatki, VI – osobniki dorosłe (tab. 1). Za pomocą laski zoometrycznej, cyrkla zoometrycznego i taśmy mierniczej na każdym osobniku wykonano następujące pomiary:

- 1) wysokość w kłębie – mierzona od podłoża, prostopadłe do najwyższego punktu okolicy międzyłopatkowej,
- 2) obwód klatki piersiowej – mierzony wzdłuż linii łączącej kąt doogonowy łopatki z guzem wyrostka łokciowego,
- 3) wysokość w krzyżu (w zadzie) – mierzona od podłoża, prostopadłe do najwyższego punktu okolicy krzyżowej,
- 4) szerokość miednicy (zadu) – mierzona od guza biodrowego prawego do guza biodrowego lewego,
- 5) długość miednicy (zadu) – mierzona od guza biodrowego do guza kulszowego.

Wyniki pomiarów zebrane w odpowiednich grupach poddano podstawowej analizie statystycznej [Purzyc 2006].

Wartości niektórych uzyskanych pomiarów, według zaleceń Skorkowskiego [1956] i Ruszczyca [1978], posłużyły do wyliczenia wskaźników, uwzględniając poziom istotności między ich średnimi wartościami wskaźników dla $\alpha = 0,01$ i $\alpha = 0,05$ (tab. 6, 7):

1. Wskaźnik wysokości w krzyżu (w zadzie), czyli wskaźnik przebudowania:

$$\frac{\text{wysokość w krzyżu} \times 100}{\text{wysokość w kłębie}}$$

2. Wskaźnik siły: $\frac{(\text{obwód klatki piersiowej})^2}{\text{wysokość w kłębie}}$

3. Wskaźnik szerokości miednicy (zadu): $\frac{\text{szerokość miednicy (zadu)} \times 100}{\text{wysokość w kłębie}}$

4. Wskaźnik długości miednicy (zadu): $\frac{\text{długość miednicy (zadu)} \times 100}{\text{wysokość w kłębie}}$

Analizy statystyczne wskaźników zostały przeprowadzone za pomocą programu do obliczeń i grafiki statystycznej „R”. Dodatkowo w analizach posłużono się testem Bartlettta, testem Kruskala–Wallisa oraz testem T- studenta.

W części dokumentacyjnej pracy wprowadzono następujące oznaczenia: o – ogiery, k – klacze i w – wałachy.

Tabela 1. Materiał poddany badaniom z podziałem na płęć i grupy wiekowe
 Table 1. Material subjected to research with division into sex and age groups

Grupa wiekowa Age group	I Osecki Sucklings	II Odsadki Weanlings	III Roczniaki Yearlings	IV Dwulatki Two-year-old	V Trzylatki Three-year-old	VI Dorosłe Adults
Wiek w tyg. Age in weeks	1-27	28-53	54-105	106-157	158-209	od 210
Płęć Sex						
Ogierzy (n) Stallions (n)	28	25	26	10	10	13
Klaczki (n) Mares (n)	27	15	26	26	12	79
Waluchy (n) Geldings (n)	0	0	0	23	10	11
Razem (n) Total (n)	55	40	52	59	32	103

Tabela 2. Wskaźnik wysokości w krzyżu; %
Table 2. Index of height at the sacrum; %

Grupa wiekowa Age group	Płeć Sex														
	Ogierzy Stallions						Klacz Mares						Wąłachy Geldings		
	n	min.	max.	\bar{x}	s	n	min.	max.	\bar{x}	s	n	min.	max.	\bar{x}	s
I	28	99,0	105,5	102,2	1,5	27	100,0	106,2	101,7	1,5	-	-	-	-	-
II	25	100,0	104,2	102,4	0,9	15	100,0	103,5	101,7	1,0	-	-	-	-	-
III	26	100,7	105,0	102,3	1,2	26	100,8	104,7	101,8	1,1	-	-	-	-	-
IV	10	100,7	103,8	102,0	0,9	26	99,6	105,5	102,1	1,4	23	100,0	103,5	101,6	1,1
V	10	100,7	102,2	101,5	0,5	12	99,3	104,5	101,7	1,4	10	100,7	102,2	101,3	0,5
VI	13	97,1	102,1	100,6	1,5	79	97,1	104,7	100,7	1,4	11	98,6	103,9	100,9	1,4

Tabela 3. Wskaźnik siły
Table 3. Index of force

Grupa wiekowa Age group	Ogiery Stallions						Pleć Sex								
	Ogiery Stallions			Klaczce Mares			Klaczce Mares			Wąłachy Geldings					
	n	min.	max.	\bar{x}	s	n	min.	max.	\bar{x}	s	n	min.	max.	\bar{x}	s
I	28	61,8	143,0	99,7	23,3	27	64,3	167,1	107,6	27,7	-	-	-	-	-
II	25	140,8	207,8	158,5	14,6	15	145,0	203,8	160,8	15,2	-	-	-	-	-
III	26	161,5	232,0	190,7	19,2	26	157,8	212,2	185,6	14,5	-	-	-	-	-
IV	10	190,8	240,0	212,3	16,7	26	172,4	244,4	209,5	17,7	23	173,4	234,8	199,8	13,5
V	10	197,0	231,3	212,0	10,9	12	189,8	261,8	223,6	21,7	10	196,8	254,3	215,4	16,9
VI	13	195,4	263,3	216,3	20,0	79	182,9	292,0	236,9	24,4	11	171,8	243,6	217,3	22,5

Tabela 4. Wskaźnik szerokości miednicy (zadu); %
 Table 4. Index of pelvis's width (the croup's); %

Grupa wiekowa Age group	Płeć Sex														
	Ogierzy Stallions						Klaczki Mares						Wątały Geldings		
	n	min.	max.	\bar{x}	s	n	min.	max.	\bar{x}	s	n	min.	max.	\bar{x}	s
I	28	19,6	30,6	23,8	3,2	27	19,8	29,8	24,1	3,3	-	-	-	-	-
II	25	27,0	32,5	30,3	1,4	15	28,3	32,5	29,9	1,1	-	-	-	-	-
III	26	30,0	36,4	32,5	1,5	26	31,7	36,7	33,0	1,1	-	-	-	-	-
IV	10	32,6	35,4	33,8	1,0	26	31,1	39,1	34,8	1,9	23	31,9	39,0	34,2	1,5
V	10	32,4	35,8	34,0	1,0	12	33,3	37,8	35,3	1,4	10	32,6	36,0	34,4	1,1
VI	13	31,9	35,7	33,9	1,0	79	33,3	40,5	35,7	1,5	11	33,8	38,4	35,4	1,5

Tabela 5. Wskaźnik długości miednicy (zadu); %
 Table 5. Index of pelvis' s length (the croup' s); %

Grupa wiekowa Age group	Płeć Sex														
	Ogiery Stallions						Klacz Mares						Wąłachy Geldings		
	n	min.	max.	\bar{x}	s	n	min.	max.	\bar{x}	s	n	min.	max.	\bar{x}	s
I	28	17,7	28,7	24,1	2,5	27	17,4	25,3	22,6	1,6	-	-	-	-	-
II	25	23,8	33,6	28,3	2,8	15	25,2	32,0	28,0	2,3	-	-	-	-	-
III	26	26,0	29,2	27,6	0,8	26	25,6	29,3	27,4	1,0	-	-	-	-	-
IV	10	27,5	31,9	29,9	1,2	26	26,6	36,9	31,6	3,2	23	25,5	37,0	31,9	3,6
V	10	27,6	33,3	30,6	1,8	12	28,8	34,8	31,9	1,9	10	27,7	36,0	31,5	2,6
VI	13	27,8	37,9	30,7	3,1	79	27,0	43,1	32,8	4,1	11	26,9	36,6	31,6	3,6

Tabela 6. Różnice statystyczne pomiędzy średnimi wartościami wskaźników w sąsiednich grupach wiekowych dla płci; (*) różnice istotne przy $\alpha = 0,05$, (**) różnice istotne przy $\alpha = 0,01$; o – ogiery, k – klacze, w – wałachy
 Table 6. Statistical differences between mean values of indices in adjoining age groups for considered sexes. (*) significant differences where $\alpha = 0,05$, (**) significant differences where $\alpha = 0,01$; s – stallions, m – mares, g – geldings

Nazwa wskaźnika Index name	Grupa wiekowa i płeć Age group and sex														
	I-II		II-III		III-IV		IV-V		V-VI						
	o-o	k-k	o-o	k-k	o-o	k-k	o-o	k-k	w-w	g-g	o-o	k-k			
Wskaźnik wysokości w krzyżu Index of height at the sacrum	s-s	m-m	s-s	m-m	s-s	m-m	s-s	m-m	s-s	m-m	s-s	m-m	g-g	w-w	g-g
Wskaźnik siły Index of force	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	*			
Wskaźnik szerokości miednicy (zadu) Index of pelvis's width (the croup's)	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**			
Wskaźnik długości miednicy (zadu) Index of pelvis's length (the croup's)	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	*	*		

Tabela 7. Różnice statystyczne pomiędzy średnimi wartościami wskaźników w poszczególnych grupach wiekowych dla płci; (*) różnice istotne przy $\alpha = 0,05$, (**) różnice istotne przy $\alpha = 0,01$; o – ogiery, k – klacze, w – wałachy
 Table 7. Statistical differences between mean values of indices in individual age groups for considered sexes. (*) significant differences where $\alpha = 0,05$, (**) significant differences where $\alpha = 0,01$; s – stallions, m – mares, g – geldings

Nazwa wskaźnika Index name	Grupa wiekowa i płeć Age group and sex																	
	I		II		III		IV		V		VI							
	o-k	s-m	o-k	s-m	o-k	s-m	o-k	s-m	o-k	s-g	o-k	s-g	o-k	s-g	o-k	s-g	k-w	m-g
Wskaźnik wysokości w krzyżu Index of height at the sacrum																		
	*																	
Wskaźnik siły Index of force																		
																	**	*
Wskaźnik szerokości miednicy (zadu) Index of pelvis' s width (the croup' s)																		
										*							**	*
Wskaźnik długości miednicy (zadu) Index of pelvis' s length (the croup' s)																		
																	**	*

WYNIKI

Wskaźnik wysokości w krzyżu (tab. 2, 6, 7).

W grupie I średnia wartość wskaźnika wysokości w krzyżu wynosiła 102,2% u ogierów i 101,7% u klaczy. Różnica między tymi średnimi nie była istotna statystycznie.

W grupie II wartość ta w porównaniu do grupy poprzedniej nieistotnie statystycznie wzrosła u ogierów do 102,4%, a u klaczy pozostała na tym samym poziomie, wynosząc 101,7%. Stwierdzono istotną różnicę pomiędzy samcami i samicami w tej grupie wiekowej.

W grupie III zaobserwowano nieznaczny i nieistotny statystycznie wzrost tego parametru w porównaniu do grupy II do wartości 101,8% u klaczy i nieistotny jego spadek do 102,3% u ogierów. Nie odnotowano istotnej różnicy statystycznej pomiędzy średnimi u obu płci.

W grupie IV wskaźnik ten nieznacznie i nieistotnie statystycznie wzrósł do 102,1% u klaczy i 101,6% u wałachów oraz nieistotnie zmalał do 102,0% u ogierów. Jego wielkość nie była istotnie różna dla poszczególnych płci.

W grupie V badany współczynnik wynosił 101,5% u ogierów, 101,7% u klaczy i 101,3% u wałachów. Był to w porównaniu do grupy IV niewielki i nieistotny statystycznie spadek tego parametru u osobników różnej płci. Różnice pomiędzy średnimi dla przedstawicieli poszczególnych płci również nie były statystycznie istotne.

W grupie VI odnotowano dalszy spadek tego parametru istotny statystycznie u ogierów i klaczy oraz nieznaczne i nieistotne statystycznie obniżenie tego parametru u wałachów. Wynosił on 100,6% u ogierów, 100,7% u klaczy i 100,9% u wałachów. W dalszym ciągu nie stwierdzono istotnych różnic statystycznych pomiędzy ogierami, klaczami i wałachami.

Wskaźnik siły (tab. 3, 6, 7).

W grupie I średnia badanego wskaźnika wynosiła 99,7 u ogierów i 107,6 u klaczy. Różnica pomiędzy tymi wartościami nie była istotna statystycznie.

W grupie II współczynnik ten u obu płci wyraźnie i wysoce istotnie statystycznie wzrósł w porównaniu do grupy I, osiągając u ogierów wartość 158,5 a u klaczy 160,8. Różnica pomiędzy średnimi wartościami u samców i u samic nadal nie była istotna statystycznie.

W grupie III obserwowano dalszy wysoce istotny statystycznie wzrost tego indeksu, który wynosił 190,7 u ogierów i 185,6 u klaczy. W dalszym ciągu nie stwierdzono istotnej różnicy statystycznej pomiędzy ogierami i klaczami.

W grupie IV odnotowano kolejny bardzo istotny statystycznie wzrost tej wartości w porównaniu z grupą poprzednią do 212,3 u ogierów, 209,5 u klaczy i 199,8 u wałachów. Wykazano jedynie istotną różnicę statystyczną pomiędzy klaczami i wałachami z tej grupy wiekowej.

W grupie V wartość ta wzrosła istotnie statystycznie u wałachów i nieistotnie u klaczy oraz nieistotnie zmalała u ogierów, uzyskując odpowiednio wartości 215,4 u wałachów, 223,6 u klaczy i 212,0 u ogierów. Nadal nie obserwowano istotnych różnic pomiędzy średnimi wartościami u ogierów, klaczy i wałachów.

W grupie VI wskaźnik siły nieistotnie statystycznie wzrósł w porównaniu z grupą V, osiągając 216,3 u ogierów, 236,9 u klaczy i 217,3 u wałachów. Wykazano wysoce istotną różnicę statystyczną pomiędzy ogierami i klaczami oraz istotną różnicę między klaczami i wałachami z tej grupy wiekowej.

Wskaźnik szerokości miednicy (zadu) – tab. 4, 6, 7.

W grupie I średnia wskaźnika szerokości miednicy wynosiła 23,8% u ogierów i 24,1% u klaczy. Różnica między tymi średnimi nie była istotna statystycznie.

W grupie II wartość ta w porównaniu do grupy poprzedniej wysoce istotnie statystycznie wzrosła, osiągając 30,3% u ogierów i 29,9% u klaczy. Nie stwierdzono istotnej różnicy pomiędzy samcami i samicami w tej grupie wiekowej.

W grupie III obserwowano nadal bardzo istotny statystycznie wzrost tego parametru w porównaniu do grupy młodszej, uzyskując 32,5% u ogierów i 33,0% u klaczy. Nie odnotowano istotnej różnicy statystycznej pomiędzy średnimi u obu płci.

W grupie IV wymiar ten w dalszym ciągu wysoce istotnie statystycznie wzrastał do wartości 33,8% u ogierów, 34,8% u klaczy i 34,2% u wałachów. Jego wielkość nie była istotnie różna dla poszczególnych płci.

W grupie V odnotowano niewielki i nieistotny statystycznie wzrost tego współczynnika, osiągając 34,0% u ogierów, 35,3% u klaczy i 34,4% u wałachów. Różnice pomiędzy średnimi dla przedstawicieli poszczególnych płci były statystycznie istotne u ogierów i klaczy.

W grupie VI badany współczynnik nieistotnie statystycznie wzrósł u klaczy i wałachów oraz nieistotnie statystycznie zmalał u ogierów w porównaniu z grupą młodszą i wyniósł 33,9% u ogierów, 35,7% u klaczy i 35,4% u wałachów. Stwierdzono wysoce istotną różnicę między wartościami u ogierów i klaczy oraz istotną różnicę pomiędzy ogierami i wałachami.

Wskaźnik długości miednicy (zadu) – tab. 5, 6, 7.

W grupie I wartość wskaźnika długości miednicy wynosiła 24,1% u ogierów i 22,6% u klaczy. Różnica pomiędzy tymi średnimi była wysoce istotna statystycznie.

W grupie II współczynnik ten u obu płci bardzo istotnie statystycznie wzrósł i osiągnął 28,3% u ogierów i 28,0% u klaczy. Nie stwierdzono istotnej różnicy pomiędzy samcami i samicami z tej grupy wiekowej.

W grupie III zaobserwowano nieznaczny i nieistotny spadek badanej wartości do 27,6% u ogierów i 27,4% u klaczy. Nadal nie wykazano istotnej różnicy pomiędzy średnimi wartościami u ogierów i klaczy.

W grupie IV odnotowano wzrost tego parametru do 29,9% u ogierów, 31,6% u klaczy i 31,9% u wałachów. Był on wysoce istotny statystycznie w porównaniu z grupą III dla każdej z płci. Jednak różnice jego wielkości pomiędzy średnimi dla uwzględnionych płci nie były istotne statystycznie.

W grupie V wykazano nieistotny statystycznie wzrost badanego indeksu u ogierów i klaczy i również nieistotny spadek u wałachów; uzyskał on 30,6% u ogierów, 31,9% u klaczy i 31,5% u wałachów. Nie stwierdzono nadal istotnych statystycznie różnic pomiędzy ogierami, klaczami i wałachami.

W grupie VI wskaźnik ten niewiele i nieistotnie statystycznie wzrósł, osiągając 30,7% u ogierów, 32,8% u klaczy i 31,6% u wałachów. W dalszym ciągu brak było istotnych statystycznie różnic pomiędzy wartościami średnimi dla każdej z płci.

DYSKUSJA

Wyliczone wskaźniki posłużyły do scharakteryzowania mierzonych koni pod względem ich pokroju. Z ich analiz wynika, iż w większości przypadków najintensywniejszy wzrost średnich wartości indeksów miał miejsce do IV grupy wiekowej. Podobne

zjawisko zauważono dla średnich bezwzględnych wartości cech morfometrycznych [Purzyc 2006]. Jedynie w przypadku wskaźnika wysokości w krzyżu zauważono, że najwyższa wartość przypada grupie najmłodszej, niezależnie od płci. Stwierdzono również, że średnie wartości niektórych wskaźników mają tendencje do zmniejszania się w kolejnych etapach rozwoju. Należy przypuszczać, że zmniejszanie to spowodowane jest spadkiem wartości średnich poszczególnych parametrów, zwłaszcza poczynając od IV grupy wiekowej.

Rozpatrując wielkości poszczególnych wskaźników pod kątem dymorfizmu płciowego, stwierdzono różnice pomiędzy samcami i samicami na różnych etapach rozwoju. W przeciwieństwie do analizowanych średnich wartości bezwzględnych badanych cech metrycznych różnice te występowały już w grupie najmłodszej [Purzyc 2006]. W tym przypadku najwyraźniej były one zaznaczone w wielkości wskaźnika długości miednicy (zadu). Dokonane analizy świadczą o występowaniu wysoce istotnej różnicy pomiędzy dorosłymi samcami i samicami dla wskaźnika siły i wskaźnika szerokości miednicy (zadu). Jest to zjawisko godne podkreślenia ze względu na to, że dymorfizm płciowy zarówno cech jakościowych, jak i ilościowych u koni, w tym rasy huculskiej, jest słabo wyrażony.

Wskaźnik wysokości w krzyżu obrazuje stopień przebudowania zadu i świadczy o tym, w jakiej mierze koń jest wyższy w krzyżu niż w kłębie. Dokonane w pracy obliczenia tego wskaźnika u badanej rasy wykazały, iż jego wartość w grupie koni dorosłych była mniejsza od wartości uzyskanych w grupach młodszych. Stanowi to potwierdzenie badań dokonanych przez Kario i Jackowskiego [1991]. Według norm przyjętych przez Zwolińskiego [1980] oraz Sasimowskiego [1984] konie huculskie cechuje wspomniane przebudowanie zadu. Nie potwierdziły tego prace Brzeskiego i Kulisy [1993], a także Skwierczyńskiej [1994] oraz Kulisy i in. [1996]. Przebudowanie to jest cechą charakterystyczną dla konia górskiego [Wrześniowski 1934], lecz niepożądaną u innych ras.

Wskaźnik siły świadczy o przydatności konia do uciągu dużej masy [Grabowski 1970]. Według niniejszych badań konie huculskie, a szczególnie klacze, wykazują dużą zdolność do tego typu pracy. Jest to potwierdzeniem obserwacji Brzeskiego i Kulisy [1993].

Wartości wskaźnika szerokości miednicy (zadu) najintensywniej wzrastają do IV grupy wiekowej, następnie wzrost ten jest bardzo nieznaczny. Wykazano, że w grupie koni dorosłych najwyższe wartości osiągnęły klacze i na tej podstawie można je zakwalifikować do grupy koni pogrubionych. Ogiery uzyskały najmniejszą wartość tego wskaźnika, kwalifikując się według kryteriów Sasimowskiego [1984] do grupy koni o cechach zbliżonych do ras szlachetnych.

Wskaźnik długości miednicy (zadu), podobnie jak wskaźnik poprzedni, tj. szerokości miednicy (zadu), najintensywniej wzrastał do IV grupy i następnie wykazywał zaledwie niewielki wzrost w kolejnych etapach rozwoju. Najwyższy wskaźnik, podobnie jak w przypadku wskaźnika szerokości miednicy, osiągnęły klacze. Jednak uzyskane wartości przy zastosowaniu kryteriów Sasimowskiego [1984] wskazywały na to, że omawiana rasa posiada długość zadu charakterystyczną dla koni stępaków. Najintensywniejszy wzrost wskaźnika szerokości piersi wykazano do grupy IV. Według uzyskanych wartości dorosłe konie huculskie można zaliczyć do grupy stępaków.

WNIOSKI

1. Najintensywniejszy wzrost wskaźników badanych koni huculskich trwa do wieku około dwóch lat, a później jego tempo maleje.
2. Proporcje wymiarów ciała wyrażone wskaźnikami koni najmłodszych były odmienne niż koni najstarszych.
3. Na podstawie wskaźnika siły stwierdzono przydatność dorosłych koni huculskich, a szczególnie klaczy, do uciągu z dużej masy.
4. Wartości wskaźnika szerokości miednicy (zadu) kwalifikują badane osobniki do grupy koni pogrubionych, jednak ogiery charakteryzują się cechami zbliżonymi do ras szlachetnych.
5. Uzyskane wartości wskaźnika długości miednicy (zadu) wskazywały na to, że omawiana rasa ma zad charakterystyczny dla koni stępaków.

PIŚMIENNICTWO

- Brzeski E., Kulisa M., 1993. Charakterystyka biometryczna koni huculskich. Zesz. Nauk. AR w Krakowie. Zootechnika. 283, 29: 83–90.
- Grabowski J., 1970. Użytkowość, utrzymanie, chów i hodowla koni. Cz. I i II. WSR, Szczecin.
- Kario W., Jackowski M., 1991. Pomiary biometryczne młodych koni huculskich. Zesz. Nauk. AR Kraków. Sesja Nauk, 29: 63–69.
- Kulisa M., Łuszczynski J., Skwierczyńska S., 1996. Różnice we wzroście wymiarów ciała źrebiąt huculskich urodzonych w dwu kolejnych latach. Zesz. Nauk. PTZ. Przegl. Hod., 25: 133–143.
- Purzyc. H., 2006. Cechy konia huculskiego w świetle badań morfometrycznych. Praca dokt., Wydz. Medycyny Weterynaryjnej SGGW w Warszawie.
- Ruszczyc Z., 1978. Metodyka doświadczeń zootechnicznych. Wyd. III. PWRiL, Warszawa.
- Sasimowski E., 1984. Przewodnik do ćwiczeń z hodowli i użytkowania koni. Wyd. IV. Wyd. AR Lublin, Lublin.
- Skorkowski E., 1956. Analiza biometryczna. Med. Wet., 4: 213–216.
- Skwierczyńska S., 1994. Wzrost i rozwój konia. Huculy. Praca magisterska, AR Kraków.
- Tomczyk-Wrona I., 2004a. [w:] Księga stadna koni rasy huculskiej. 2004: T. VIII. PZHK, Warszawa.
- Wrześniowski Z., 1934. Badania nad pokrojem i hodowlą konia polskiego Wileńszczyzny. Roczn. Nauk. Rol. i Leś. T. 32, 1: 129–154.
- Zwoliński J., 1980. Hodowla koni. Wyd. III. PWRiL, Warszawa.

EVALUATION OF HUCUL HORSE EXTERIOR BASED ON CHOSEN MORPHOMETRIC INDICES. INDICES OF THE THORAX AND PELVIS

Abstract. The research was conducted on 341 Hucul horses of different sex and age which were qualified in 6 age groups. Each individual underwent measurement of the height at withers, the thorax's circumference, the height at the sacrum, the pelvis's width (the croup's) and the pelvis's length (the croup's). The obtained results in separate age groups were subject to statistical analysis of the indices of the thorax and pelvis. The body

proportions determined on the basis of some indicators are typical of cart-horses and the thickened type of Hucul horse with abilities to pull large weights. The aim of the study was to evaluate the exterior of the Hucul horses on the basis of the following indices: height at the sacrum, force, pelvis's width and pelvis's length.

Key words: Hucul horse, exterior, morphology index

Zaakceptowano do druku – Accepted for print: 31.03.2008

Do cytowania – For citation: Purzyc H., Kobryń H., Komosa M., Bojarski J., 2008. Ocena eksterieru konia huculskiego na podstawie wybranych wskaźników morfometrycznych. Wskaźniki klatki piersiowej i miednicy. *Acta Sci. Pol. Med. Vet.* 7(1), 33–46.

CHARACTERISTICS OF CHOSEN PLANT OILS WITH RESPECT TO THE CONJUGATED DIENES OF LINOLEIC ACID (CLA) SYNTHESIS

Robert Bodkowski¹, Bożena Patkowska-Sokoła¹,
Wojciech Zawadzki¹, Wiesława Walisiewicz-Niedbalska²

¹ Wrocław University of Environmental and Life Sciences

² Industrial Chemistry Research Institute, Warszawa

Abstract. Conjugated dienes of linoleic acid are a group of compounds of multi-directional and profitable influence on human health. The synthesis from linoleic acid via alkaline isomerisation process is one of the mechanisms of their formation. The aim of the present study was an assessment of different plant oils with respect to their usefulness as a substrate to the synthesis of *c9,t11* and *t10,c12* conjugated dienes of linoleic acid. It was demonstrated on a basis of chromatographic analysis that poppy seed and sunflower oils were characterized by the most profitable fatty acids content as regards the synthesis of *c9,t11* and *t10,c12* isomers. The profitable content was observed also in the case of thistle and amaranthus oils, however they are practically unavailable on Polish market.

Key words: plant oils, fatty acids content, CLA

INTRODUCTION

Conjugated linoleic acids (CLA) is a common term describing the mixture of positional (8 and 10, 9 and 11, 10 and 12 or 11 and 13) and geometric (*cis* and *trans*) isomers of octadecanoic acid C18:2, where, unlike in linoleic acids, double bonds are isolated by only one single bond (i.e. are conjugated) [Bhattacharya et al. 2006, Eulitz et al. 1999].

The present study was carried out in the framework of the Research Project R 05 054 02 financed by the Ministry of Science and Higher Education.

Corresponding author – Adres do korespondencji: Bożena Patkowska-Sokoła, Wrocław University of Environmental and Life Sciences, Institute of Animal Breeding, Chełmońskiego 38c, 51-630 Wrocław, Poland; bozena.sokola@up.wroc.pl

In an organism of human and animals conjugated dienes of linoleic acid undergo a transformation into furane forms of antioxidative properties and into conjugated dienes of linolenic and eicosatrienic acids [Yurawecz et al. 1995]. That are probably strong antioxidative properties of CLA and their metabolites that cause a profitable influence of human and animal organism [Berg van Den et al. 1995]. Moreover, the conjugated diene of *cis-9, trans-11* configuration may be incorporated into membrane structures of cells modifying their properties (fluidity, permeability).

The most research so far were focused on antimutagenic and anticarcinogenic activity of conjugated dienes of linoleic acid [Aro et al. 2000, Corl et al. 2003, Ip et al. 1999, Lipkowski et al. 2003, Palombo et al. 2002]. However, these dienes may also exhibit an anti-atherosclerosis [Kritchevsky et al. 2002], inhibiting the development of osteoporosis [Broenbill et al. 2005], immunomodulating [Chew et al. 1997], deleting the development of diabetes [Hauseknecht et al. 1998] and also adipose tissue reducing [Park et al. 1999] activity. Thus, that short review of the literature presented above clearly points a multidirectional and profitable role of CLA.

The main mechanism of CLA creation is an isomerisation of linoleic acids taking place during catalytic hydrogenation of plant oils. Created this way isomers are however unstable what is a reason of their low content in margarines for example. That isomers are also formed during thermal processing of food. Nevertheless, the biggest amount of them, i.e. from 0.3 to 1.5% of a pool of all fatty acids, are created as a result of bacterial biohydrogenation of linoleic acid that takes place in rumen of ruminants (cows, sheep, goats). For that reason products coming from that group of animals (meat, milk and milk products) are the most important source of that dienes in human diet.

Nevertheless, CLA are not found in oils of plant origin. Results of the work of authors of the present paper [Walisiewicz-Niedbalska et al. 2006] point however, that plant oils, and more exactly linoleic acid C18:2 *cis-9, cis-12* included in them, may be applied as substrates for their synthesis.

The aim of the present research was an assessment of different plant oils with respect to their application as a raw material for synthesis of biologically active isomers of linoleic acid *cis-9,trans-11* and *trans-10,cis 12*.

MATERIAL AND METHODS

Research material included plant oils commonly available on a market, and some obtained by ourselves: low-erucic rapeseed, sunflower, soya, linseed, grape seeds (purchased) cotton and corn (from Institute of Natural Fibres), from white mustard, radish, amaranthus, blackcurrant and thistle (obtained by extraction), poppyseed (pressed from seeds) and tung (from paints factory).

An extraction of fat from seeds was conducted on Soxhlet's apparatus with hexane as a solvent, and a pug mill was used for pressing.

Fatty acids content was determined using gas chromatography method on Hewlett-Packard II apparatus with flame-ionization detector (FID) and 50 m long CP Sil capillary column. Temperature of a column was 170°C, of dosimeter 200°C, of detector 250°C, and helium was applied as a carrier gas. Methyl esters were obtained according to AOCS Official Methods 1f-96. Qualitative identification was done by comparing retention times of analysed components with standards (Supelco company). Heptadecanoic acid C17 was used as an internal standard.

In the case of each plant oil, chromatographic analysis were conducted four times, while tables present results that are a mean value of all measurements.

Extraction, pressing and chromatographic analysis were conducted in Industrial Chemistry Research Institute in Warsaw.

RESULTS

The profile of fatty acids of initial substrate significantly influenced the quantity of synthesised in an isomerisation process conjugated dienes *trans-10,cis-12* and *cis-9,trans-11* of linoleic acid. Its high usefulness is determined first of all by high content of linoleic acid C18:2 *cis-9,trans-12*, that is main substrate in a process of these isomers synthesis, and a low content of linolenic acid C18:3 *cis-9,cis-12,cis-15*, that is also subjected to isomerisation creating positional and geometric isomers of unknown biological properties. High content of saturated fatty acids may be also of some importance. They can be relatively easy removed from a final product in a process of an extraction from urea, that increases the concentration of desirable isomers in a pool of acids [Walisiewicz-Niedbalska et al. 2001, Walisiewicz-Niedbalska et al. 2006].

Tables 1a and 1b present the results concerning the content of fatty acids in analysed plant oils.

The highest content of linoleic acid C18:2 *c9c12* was observed in the case of poppy seed oil (73%), than grape seed (71%), sunflower (60%), thistle (57%), blackcurrant (46%), amaranthus (44%) and soya (40%).

The biggest amount of saturated acids was noted for cotton (26%), amaranthus (23%), corn (15.5%), soya (14%), thistle (13.6%), poppyseed (12.5%), sunflower (12%) and grape seeds oil (10.5%).

In turn, the lowest concentration of oleic acid C18:3 *c9,c12,c15* was determined in cotton (0.2%), grape seeds (0.4%), thistle (0.5%), poppyseed (0.7%), sunflower (0.9%), corn (1.5%) and amaranthus oil (2.5%).

CONCLUSIONS

Taking into consideration fatty acids content and also the possibility of obtaining (availability on a market, fat content in seeds), poppy seed and sunflower oils are characterised by the highest usefulness for synthesis of biologically active isomers of linoleic acid C18:2 *cis-9, trans-11* i *trans-10, cis-12*.

Profitable content of fatty acids is also observed in the case of amaranthus and thistle oils, however these plant are practically not cultivated in Poland, and their seeds are characterized by a low content of oil (about 10%).

Table 1a. Composition of fatty acids of chosen plant oils (%)
 Tabela 1a. Skład kwasów tłuszczowych wybranych olejów roślinnych (%)

Name of an acid (common) Nazwa kwasu (zwyczajowa)	Number of carbons in a chain Ilość węgli w łańcuchu	Plant oils Oleje roślinne						
		rapeseed rzepakowy	cotton bawełniany	sunflower słonecznikowy	soya sojowy	poppyseed makowy	from grape seeds z pestek winogron	amaranthus z szarlatu
<i>Saturated acids</i> Kwasy nasycone								
Lauric – Laurynowy	C12:0	trace – ślad	–	–	–	–	–	–
Myristic – Mirystynowy	C14:0	<0.1	1.1	0.1	–	–	0.1	–
Palmitic – Palmitynowy	C16:0	4.2	22.3	6.2	8.3	10.7	3.6	21.8
Stearic – Stearynowy	C18:0	2.5	2.3	5.2	4.3	1.8	0.2	1.3
Arachidic – Arachidonowy	C20:0	0.5	0.3	0.2	1.5	–	0.1	–
Behenic – Behenowy	C22:0	trace – ślad	trace – ślad	<0.1	–	–	–	–
Lignoceric – Lignocerynowy	C24:0	trace – ślad	trace – ślad	–	–	–	–	–
<i>Monounsaturated acids</i> Kwasy mononienasycone								
Palmitoleic Palmitoleinowy	C16:1	0.2	1.1	0.4	–	–	0.1	0.4
Oleic – Oleinowy	C18:1	57.2	34.5	25.8	38.8	12.6	16.6	28.7
Eicosenic – Eikozenowy	C20:1	1.3	trace – ślad	trace – ślad	<0.1	<0.1	0.2	<0.1
Erucic – Erukowy	C22:1	2.4	–	trace – ślad	–	–	–	–
Nervonic – Nerwonowy	C24:1	–	–	–	–	–	–	–
<i>Polyunsaturated acids</i> Kwasy wielonienasycone								
Linoleic – Linolowy	C18:2	22.4	36.5	60.2	39.8	73.1	71.1	44.3
Linolenic – Linolenowy	C18:3	7.5	0.2	0.9	5.6	0.7	0.4	2.5

Table 1b. Composition of fatty acids of chosen plant oils (%)
 Tabela 1b. Skład kwasów tłuszczowych wybranych olejów roślinnych (%)

Name of an acid (common) Nazwa kwasu (zwyczajowa)	Number of carbons in a chain Ilość węgli w łańcuchu	Plant oils Oleje roślinne						
		linseed lniany	tung tungowy	white mustard z gorczycy	radish z rzodkwi	blackcurrant z czarnej porzeczki	corn kukurydziany	thistle z ostropestu
<i>Saturated acids</i>								
<i>Kwasy nasycone</i>								
Lauric – Laurynowy	C12:0	–	–	–	–	–	–	–
Myristic – Mirystynowy	C14:0	–	0.1	<0.1	0.1	0.1	0.2	0.1
Palmitic – Palmitynowy	C16:0	6	2.8	2.8	5.9	5.9	13.3	5.2
Stearic – Stearynowy	C18:0	3.9	2.3	0.8	1.8	3.7	2	4.7
Arachidic – Arachidonowy	C20:0	–	–	0.6	0.7	11.3	–	2.1
Behenic – Behenowy	C22:0	–	–	0.7	0.4	0.2	–	1.2
Lignoceric – Lignocerynowy	C24:0	–	–	0.3	0.5	0.2	–	0.3
<i>Monounsaturated acids</i>								
<i>Kwasy mononienasycone</i>								
Palmitoleic	C16:1	–	–	0.2	0.1	0.1	0.1	–
Palmitooleinowy	C16:1	–	–	0.2	0.1	0.1	0.1	–
Oleic – Oleinowy	C18:1	21.9	6.5	21.3	32.7	17.2	47.8	27.2
Eicosenic – Eikozenowy	C20:1	–	0.8	12.2	14.9	0.9	0.3	0.9
Erucic – Erukowy	C22:1	–	–	39.9	15.8	–	–	–
Nervonic – Nerwonowy	C24:1	–	–	2.6	1.5	–	–	–
<i>Polyunsaturated acids</i>								
<i>Kwasy wielonienasycone</i>								
Linoleic – Linolowy	C18:2	15.6	7.9	9.4	16.3	46.1	34	57.1
Linolenic – Linolenowy	C18:3	51.7	0.4	8.2	8.3	13.6	1	0.1
Izolinenic – Izolinolenowy ¹		–	–	–	–	–	–	–
			77.9					

¹ Octadecatrienic acid contains three double conjugated bonds (tung oil is used as drying oil)
¹ Kwas oktadekatrienowy zawiera trzy podwójne wiązania sprzężone (olej tungowy stosowany jest jako olej schnący)

REFERENCES

- Aro A., Männistö S., Salmina I., Ovaskainen M.L., Kataja V., Uusitupa M., 2000. Inverse association between dietary and serum conjugated linoleic acid and risk of breast cancer in postmenopausal women. *Nutr. Cancer*. 38, 151–157.
- Berg van Den, J.J.M., Cook N.E., Tribble D.L., 1995. Reinvestigation of the antioxidant properties of conjugated linoleic acid. *Lipids*. 30, 599–605.
- Bhattacharya A., Banu J., Rahman M., Causey J., Fernandes G., 2006. Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. *J. Nutritional Biochem*. 17, 789–810.
- Brownbill R.A., Petrosian M., Ilich J.Z., 2005. Association between dietary conjugated linoleic acid and bone mineral density in postmenopausal women. *J. Am. Coll. Nutr.* 24, 177–181.
- Chew B.P., Wong T.S., Schulz T.D., Magnuson N.S., 1997. Effects of conjugated dienoic derivatives of linoleic acid and β -carotene in modulating lymphocyte and macrophage function. *Anticancer Res.* 17 1099–1106.
- Corl B.A., Barbano D.M., Bauman D.E., Ip C., 2003. Cis-9, trans-11 CLA derived endogenously from trans-11 C18:1 reduces cancer risk in rats. *J. Nutr.* 13, 2893–2900.
- Eulitz K., Yurawecz M.P., Sehat N., Fritsche J., Roach J.A.G., Mossoba M.M., Kramer J.K.G., Adolf R.O., Ku Y., 1999. Preparation, separation and confirmation of the eight geometrical cis/trans conjugated linoleic acid isomers 8,10- through 11,13–18:2. *Lipids* 34, 873–877.
- Hauseknecht K.L., Vanden Heuvel J.P., Moya-Camarena S.Y., PortocarreroPeck L.W., Nikela K.P., Belury M.A., 1998. Dietary conjugated linoleic acid normalizes glucose tolerance in the Zucker diabetic fatty fa/fa rat. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 244, 678–683.
- Ip C., Banni S., Angioni E., Carta G., McGinley J., Thompson H.J., Barbano D., Bauman D., 1999. Conjugated linoleic acid enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. *J. Nutr.*, 129, 2135–2142.
- Kritchewsky D., Tepper S.A., Wright S., Czarnecki S.K., 2002. Influence of graded levels of conjugated linoleic acid (CLA) on experimental atherosclerosis in rabbits. *Nutr. Res.* 22, 1275–1279.
- Lipkowski A., Walisiewicz-Niedbalska W., Patkowska-Sokoła B., Opolski A., Bodkowski R., Wietrzyk J., Pełczyńska M., Nasulewicz A, Gwardiak H., Kwiatkowski J., 2003. *In vitro* anticancer properties of natural vs synthetic conjugated linoleic acid. *Animal Science and Reports*. 21, 47–55
- Palomobo J.D., Ganguly A., Bistrain B.R., Menard M.P., 2002. The antyproliferative effects of biologically active isomers of conjugated linoleic acid on human colorectal and prostatic cancer cells. *Cancer Lett.* 177, 163–172.
- Park Y., Storkson J.M., Albright K.J., Liu W., Pariza M.W., 1999. Evidence that the trans-10, cis-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice. *Lipids*, 34, 235–241.
- Walisiewicz-Niedbalska W., Bodkowski R., Różycki K., Zieliński S., Dobrzański Z., Patkowska-Sokoła B., 2006. The transformation of linoleic acid from poppy seeds oil to its active isomers 9c,11t and 10t,12c, and the comparison of its content with natural preparation from sheep milk. *Chemistry for Agriculture* 7, 924–930.
- Walisiewicz-Niedbalska W., Patkowska-Sokoła B., Lipkowski A., Bodkowski R., Kwiatkowski J., Gwardiak H., 2001. Study of conjugated linoleic acid of butter fats of sheep. *Archiv für Tierzucht* 44, 322–328.
- Yurawecz M.P., Hood J.K., Mossoba M.M., Roach J.A.G., Ku Y., 1995. Furan fatty acids determined as oxidation products of conjugated octadecadienoic acid. *Lipids*, 30, 595–598.

CHARAKTERYSTYKA WYBRANYCH OLEJÓW ROŚLINNYCH POD KĄTEM SYNTEZY SPRZĘŻONYCH DIENÓW KWASU LINOLOWEGO

Streszczenie. Sprzężone dieny kwasu linolowego stanowią grupę związków o wielokierunkowym i korzystnym wpływie na organizm człowieka. Jednym z mechanizmów ich powstawania może być synteza z kwasu linolowego w procesie alkalicznej izomeryzacji. Celem niniejszych badań była ocena różnych olejów roślinnych pod kątem ich przydatności jako surowca do syntezy sprzężonych dienów kwasu linolowego *c9,t11* i *t10,c12*. Na podstawie przeprowadzonych analiz chromatograficznych stwierdzono, że najkorzystniejszym z punktu widzenia syntezy izomerów *c9,t11* i *t10,c12* składem kwasów tłuszczowych charakteryzował się olej makowy i słonecznikowy. Korzystny skład miał również olej z ostropestu i szkarłatu, ale są one praktycznie niedostępne na naszym rynku.

Słowa kluczowe: oleje roślinne, skład kwasów tłuszczowych, SKL

Accepted for print – Zaakceptowano do druku: 31.03.2008

Do cytowania – For citation: Bodkowski R., Patkowska-Sokoła B., Zawadzki W., Walisiewicz-Niedbalska W., 2008. Characteristics of chosen plant oils with respect to the conjugated dienes of linoleic acid (CLA) synthesis. *Acta Sci. Pol. Med. Vet.* 7(1), 47–53.

SPIS TREŚCI CONTENTS

Mirosława Kulawik, Szymon Godynicki

- Development dynamics of vallate papillae
in the rabbit (*Oryctolagus cuniculus f. domestica*)..... 3
Dynamika rozwoju brodawek okolonych
u królika (*Oryctolagus cuniculus f. domestica*)

Agnieszka Kilanowska, Paweł Maćkowiak

- New facts about ghrelin and obestatin..... 11
Nowe dane dotyczące gveliny i obestatyiny

Halina Purzyc, Henryk Kobryń, Marcin Komosa, Jacek Bojarski

- Ocena eksterieru konia huculskiego
na podstawie wybranych wskaźników morfometrycznych.
Wskaźniki głowy..... 21
Evaluation of hucul horse exterior based
on chosen morphometric indices. Indices of the head

Halina Purzyc, Henryk Kobryń, Marcin Komosa, Jacek Bojarski

- Ocena eksterieru konia huculskiego
na podstawie wybranych wskaźników morfometrycznych.
Wskaźniki klatki piersiowej i miednicy 33
Evaluation of hucul horse exterior based
on chosen morphometric indices. Indices of the thorax and pelvis

Robert Bodkowski, Bożena Patkowska-Sokoła, Wojciech Zawadzki,

Wiesława Walisiewicz-Niedbalska

- Characteristics of chosen plant oils with respect
to the conjugated dienes of linoleic acid (cla) synthesis..... 47
Charakterystyka wybranych olejów roślinnych
pod kątem syntezy sprzężonych dienów kwasu linolowego