

Streszczenie rozprawy doktorskiej mgr inż. Joanna Porankiewicz pt.:

„Zastosowanie substytutów antybiotyków konwencjonalnych w konserwacji nasienia knura”

Praca wykonana pod kierunkiem prof. dr hab. Zdzisława Smorąga
w Zakładzie Biotechnologii Rozrodu i Kriokonserwacji

Zjawisko antybiotykooporności wymusza poszukiwanie nowych biopreparatów o aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Celem przeprowadzonych w niniejszej pracy badań, było określenie możliwości zastosowania substytutów antybiotyków konwencjonalnie stosowanych w konserwacji nasienia knura, a także skomponowaniu składu nowego rozcieńczalnika zawierającego peptydy AMP (ang. antimicrobial peptides). Przedmiotem badań były związki peptydowe: daptomycyna, polimiksyna b, Pexiganan, Temporin A, Palm-KK-NH₂, Camel i Tymozyna β₄. W ramach badań podjęto się określenia wpływu wybranych peptydów na nasienie. Na podstawie wykonanych badań ustalono, że dodatek peptydu Camel i Temporin A negatywnie wpływał na ruchliwość i przeżywanie plemników w porównaniu do nasienia przechowywanego w rozcieńczalniku Biosolwens Plus.

Analizowane próbki charakteryzowały się dużą różnorodnością składu zanieczyszczenia mikrobiologicznego, dlatego w celu określenia aktywności antybakteryjnej peptydów przeprowadzono badanie wrażliwości wybranych szczepów testowych (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Streptococcus suis*, *Salmonella enterica* i *Klebsiella oxytoca*) metodą mikrorozcieńczeń, zgodnie z zaleceniami CLSI. Wszystkie badane peptydy, za wyjątkiem Tymozyny β, wykazywały działanie antybakteryjne wobec co najmniej jednego szczepu testowego, jednak żaden nie hamował wzrostu wszystkich badanych szczepów bakterii jednocześnie. Na podstawie wyników oceny wrażliwości badanych szczepów określono optymalny skład mieszaniny peptydów w rozcieńczalniku zawierający Pexiganan o stężeniu 16 µg/ml i daptomycynę o stężeniu 2 µg/ml.

Kolejnym etapem badań było określenie wpływu nowego rozcieńczalnika zawierającego kompozycję wybranych peptydów na nasienie. Nie stwierdzono istotnych różnic statystycznych w ruchliwości i przeżywaniu nasienia podczas przechowywania w rozcieńczalniku doświadczalnym w porównaniu do rozcieńczalników referencyjnych. Jednak w analizie ruchliwości nasienia poszczególnych knurów stwierdzono, że nasienie trzech osobników wykazywało niższą ruchliwość w porównaniu z grupą referencyjną,

natomiast u dwóch stwierdzono wyniki zbliżone do grupy referencyjnej. Świadczyć to może o różnicach osobniczych knurów. Po 6 dniach przechowywania stwierdzono wyższy ($p \leq 0,05$) odsetek plemników z wysokim potencjałem transbłonowym mitochondriów w rozcieńczalniku BP bez osłony antybiotykowej, a także BTS Plus w porównaniu do rozcieńczalnika doświadczalnego. Natomiast po 4 dniach przechowywania stwierdzono wyższy ($p \leq 0,05$) odsetek plemników apoptotycznych w rozcieńczalniku doświadczalnym w porównaniu do rozcieńczalnika Biosolwens Plus oraz Biosolwens Plus bez gentamycyny. Najwyższy odsetek plemników żywych i plemników charakteryzujących się wysokim potencjałem transbłonowym mitochondriów zaobserwowano podczas przechowywania nasienia w rozcieńczalniku Biosolwens Plus bez osłony antybiotykowej.

Przeprowadzone badania nad zastosowaniem peptydów o właściwościach antybakteryjnych w konserwacji nasienia stanowią punkt wyjścia dla opracowania szczegółowych rozwiązań mających na celu zastąpienie antybiotyków standardowo stosowanych do osłony antybakteryjnej przechowywanego nasienia knura. Warto podkreślić, że wykorzystanie AMP wpisuje się w nurt badań mających na celu ograniczenie stosowania antybiotyków. Uzyskane wyniki wskazują jednocześnie na potrzebę przeprowadzenia dalszych badań w celu potwierdzenia ich skuteczności i określenia szczegółowych warunków ich zastosowania.

Poznań, 25.03.2021 r.