

## FIZJOLOGIA ZWIERZĄT

WIESŁAW BAREJ  
Warszawa

## Manipulacje genetyczne drobnoustrojami zwacza zmierzające do poprawy procesów trawiennych u bydła

Pasze podane zwierzętom przeżuwanym podlegają w przedżołądkach znacznemu rozkładowi przez enzymy bakterii, pierwotniaków i grzybów zasiedlających obficie tę część przewodu pokarmowego. Losy produktów powstałych w żwaczu są różne, na ogół są one wykorzystane do procesów syntezy (przebiegających równolegle do rozpadu), niektóre z nich ulegają wchłanianiu. Zmienne stężenie rozpadu decyduje o warunkach fizyko-chemicznych w przedżołądkach, tworząc charakterystyczny ekosystem o cechach przepływowej (ciągłej) hodowli drobnoustrojów. Przy wysokiej wydajności zwierząt ekosystem przedżołądków funkcjonuje na coraz wyższych obrotach. Jest on napędzany przez wzrost ilości zjadanej paszy, przy czym wzrasta częstotliwość zaburzeń metabolicznych u zwierzęcia. Praktycznie nie ma możliwości śledzenia prawidłowości tysięcy reakcji metabolicznych zachodzących w przedżołądkach. Stąd próbuje się określać tylko niektóre, często grupowe reakcje, np. procent rozkładu węglowodanów, stopień konwersji białka pokarmowego w białko drobnoustrojów, a także określa się niektóre cechy fizyczne treści żwacza, np. pH, potencjał oksydo-redukcyjny.

Ze względu na fakt, że największym przekształceniom w przedżołądkach ulegają węglowodany i białka, a stanowią one główną masę pokarmu, większość obserwacji dotyczy przemian tych właśnie składników. Przemiany tych składników (węglowodany strukturalne i niestrukturalne, białka właściwe, związki azotowe niebiałkowe) są wyrażane stopniem ich rozpadu w żwaczu, stężeniem powstających produktów lub aktywnością enzymów bakteryjnych biorących udział w tych przemianach. Aktywność enzymów jest ściśle związana z obecnością i rozwojem drobnoustrojów, głównie bakterii

(przeciętna liczba bakterii w 1 ml wynosi  $15 \times 10^9$ ). W tab. 1 i 2 przedstawiono zawartość cukrów i substancji białkowych w niektórych paszach. Różna struktura chemiczna tych związków wymaga przy ich przekształceniu w żwaczu obecności różnych enzymów. Duże znaczenie dla wykorzystania pokarmu przez zwierzęta mają następujące procesy żwaczowe:

- nasilenie aktywności celulolitycznej i hemicelulolitycznej, prowadzącej do rozpadu tych strukturalnych węglowodanów na lotne kwasy tłuszczowe — wykorzystywane przez zwierzę,
- stopień uwalniania celulozy i hemicelulozy z kompleksów, zwłaszcza ligninowych,
- stopień rozkładu węglowodanów niestrukturalnych, głównie skrobi,
- nasilenie procesów metanogenezy i zwiąanych z tym strat energetycznych,
- nasilenie procesów proteolitycznych i deaminacyjnych, prowadzących do rozkładu białka pokarmowego, wytwarzania amoniaku,
- nasilenie syntezy białka drobnoustrojów, a także innych biologicznie ważnych produktów, np. aminokwasów egzogennych, witamin,

Tab. 2. Przeciętna zawartość składników azotowych i ich rozpuszczalność

Pasza	Białko ogólne (% s.m.)	Związki azotowe niebiałkowe (% N-ogólnego)	Rozpadalność związków azotowych w żwaczu (%)
Trawy	16—20	14—34	73
Nasiona zbóż	10—13	15—30	73—78
Lucerna (siano)	13—20	25—38	60

Tab. 1. Przeciętna zawartość węglowodanów w niektórych paszach (% s.m.)

Pasza	Cukry proste	Fruktozany	Skrobia	Pektyny	Celuloza	Hemiceluloza
Trawy	10	1—25	śląd	1—2	20—40	15—25
Nasiona zbóż	śląd	—	80	śląd	2—5	7—15
Lucerna	5—15	—	1—7	5—10	20—33	8—10

Tab. 3. Główne gatunki bakterii w żwaczu i ich aktywność (Hespell, 1937)

Gatunek bakterii	Substrat	Produkt
<i>Ruminococcus albus</i>	C, K	Mr, O, E
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	C, K	Mr, S
<i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	C, K, B, P, Sk, L, Cr, Ml	Mr, O, Ma, Ml
<i>Bacteroides succinogenes</i>	C	Mr, S
<i>Bacteroides amylophilus</i>	Sk, B	Mr, O, S
<i>Bacteroides ruminicola</i>	Sk, K, Pr, B, Cr	Mr, O, S
<i>Selenomonas ruminantium</i>	Sk, Cr, G, Ml	Mr, O, Ml, Pr
<i>Anaerovibrio lipolytica</i>	L, G	O, Pr, S
<i>Lachnospira multiparus</i>	Pr, O, B	Mr, O, Ml, E
<i>Succinivibrio dextrinosolvens</i>	D, Pr	Mr, O, S
<i>Streptococcus bovis</i>	O, Cr, B, Ml	Mr, O, Ml
<i>Methanobrevibacter ruminantium</i>	H, Me	Me
<i>Methanosarcina barkeri</i>	H, O, Me	Me

Objaśnienia: C — celuloza, K — ksyloza, B — białko, P — pektyny, Sk — skrobia, D — dekstryny, L — lipidy, Cr — cukry rozpuszczalne, G — glicerol, Ml — mleczan, Me — metan, Mr — mrowczan, O — octan, Pr — propionian, S — bursztynian, Ma — maślan, E — etanol, H — wodór.

— zmienność wytwarzania różnych ilości lotnych kwasów tłuszczowych (octowy, propionowy, masłowy), prowadząca do lepszego lub słabszego zaspokajania zwierzęcia w produkty węglowe, kwasicy itp.

W tab. 3 przedstawiono listę ważniejszych gatunków bakterii o wysokiej populacji i ich właściwości trawienne w żwaczu.

Nie wszystkie wymienione procesy w żwaczu mają jednakowe znaczenie dla zwierzęcia. Na przykład stopień rozkładu skrobi w żwaczu nie jest tak ważny, jak stopień rozkładu celulozy, ponieważ nie rozłożona w przedżołądkach skrobia jest trawiona w jelicie cienkim przez amyłazę trzustkową, podczas gdy nie rozłożona celuloza przechodzi przez dalsze odcinki przewodu pokarmowego bez możliwości trawienia (poza nieznacznym rozpadem w jelicie grubym).

Od lat człowiek (hodowca) stara się zapewnić zwierzęciu prawidłowe i efektywne trawienie produktów odżywczych przez zwierzę. Czyni to w wieloraki sposób, np. przez:

a) odpowiednie technologiczne przygotowanie pasz, np. pasze kiszane, gotowane, poddane działaniu ługów bądź kwasów, poddane przed

Tab. 4. Uogólniony mechanizm działania antybiotyków paszowych (monenzyna, lasolacid, avoporcyna) u przeżuwaczy

Cecha	Efekt
Liczba bakterii w żwaczu	na ogół bez zmian
Wzrost: <i>Ruminococcus albus</i> , <i>Ruminococcus flavefaciens</i> , <i>Butyrivibrio fibrisolvens</i>	obniżony
— <i>Bacteroides succinogenes</i> , <i>Bacteroides ruminicola</i> , <i>Selenomonas ruminantium</i>	bez zmian lub wzrost
Wytwarzanie LKT w żwaczu	wyższe
Stosunek: octan propionian w żwaczu	niższy
Aktywność celulolityczna w żwaczu	na ogół bez zmian
Rozpad białka pokarmowego w żwaczu	niższy
Produkcja metanu i amoniaku w żwaczu	niższa
Aktywność ureazy w żwaczu	niższa
Wchłanianie składników organicznych w jelicie	wyższe
Wchłanianie składników mineralnych	niższe Na <sup>+</sup> i Ca <sup>2+</sup>
Poziom glukozy we krwi	wyższy
Poziom ciał ketonowych w krwi	niższy
Straty energii metabolicznej paszy	mniejsze
Wykorzystanie pokarmu	wyższe
Występowanie ketonemii, zatrucie ciężowych u owiec	mniejsze

skarmianiem działaniu różnych wyizolowanych enzymów jak celulaza,

b) stosowanie różnych dodatków pokarmowych, nazywanych jonoforami; na ogół są to antybiotyki wybiórczo hamujące rozwój niektórych drobnoustrojów żwacza, co powoduje kompensacyjny szybszy przyrost innych drobnoustrojów o działaniu korzystnym dla procesów trawiennych; najszerszej stosowanymi jonoforami w żywieniu bydła dorosłego są monenzyna i losolacid, opisane szeroko w piśmiennictwie (1, 4, 11); mechanizm działania jonoforów dotyczy głównie zmian drobnoustrojów żwaczowych (tab. 4); inne procesy, jak wykorzystanie paszy i zapobieganie chorobom metabolicznym — są w zasadzie konsekwencją zmian w składzie drobnoustrojów żwaczowych, w mniejszym stopniu zmian w mikroflorze jelit,

c) przekształcanie właściwości metabolicznych poszczególnych drobnoustrojów żwaczowych na drodze inżynierii genetycznej; ten sposób jest obecnie najbardziej atrakcyjny z punktu widzenia biologicznego; poświęca się mu dalsze wywody w tym artykule.



### Mechanizm przekształcania drobnoustrojów żwaczowych

Przekształcanie właściwości drobnoustrojów, nabywanie przez nie nowych cech na drodze manipulacji genetycznych (inżynierii genetycznej) jest od dawna znane i wykorzystywane w przemysłowych biotechnologiach. W odniesieniu do bakterii żwaczowych i procesów metabolicznych, katalizowanych przez enzymy tych drobnoustrojów, inżynieria genetyczna jest procesem nowym. Z kilku stosowanych technik w inżynierii genetycznej zastosowano, przy zmianie właściwości metabolicznych bakterii żwacza, technikę rekombinacji DNA, polegającą na klonowaniu heterogennych genów w bakteriach naturalnie występujących w przedżołądkach. Ta technika prowadzi do wzrostu produkcji enzymów kodowanych przez wymienione geny, co w następstwie wywołuje określone efekty metaboliczne, np. zwiększony rozpad celulozy, ograniczenie syntezy metanu, wzrost syntezy witamin. Zasada rekombinacji DNA jest realizowana w kilku etapach, które w skrócie można by przedstawić następująco:

a) wstawienie określonego genu (molekuły kwasów nukleinowych) do wektora podlegającego klonowaniu w macierzystej komórce bakteryjnej; wektorami są odpowiednio przycięte cząsteczki plazmidu lub fagowe DNA; zatem ma tu miejsce przeniesienie odpowiedniego genu (na ogół z innego gatunku),

b) pobranie komórkowego DNA, jego odpowiednie pocięcie restrukcyjnymi endonukleazami i wprowadzenie tak uzyskanych fragmentów DNA do plazmidu (wektora) podlegającego replikacji w macierzystej komórce; istnieje także możliwość wprowadzenia heterogennego DNA do chromosomu komórki,

c) rekombinowane plazmidy, zawierające heterogenne geny i obce DNA, podlegają w komórce bakteryjnej transformacji; transformowane geny często wykonują swoją rolę w komórce w sposób niekontrolowany; w przypadku wprowadzenia DNA do chromosomu zjawisko to jest jednoznacznie inne.

Próby genetycznej rekombinacji bakterii żwacza zostały podjęte zaledwie przed kilku laty. Istnieje kilka przeglądowych opracowań, opisujących uzyskane wyniki i metody postępowania (2, 6, 8, 10). Udało się m.in. zidentyfikować w niektórych bakteriach żwaczowych plazmidy będące nośnikami określonych genów. Plazmidy te mogą być klonowane. Na przykład Crosby i wsp. (5) klonowali geny kodujące wytwarzanie endoglukanazy; pobrano je z *Bacteroides succinogenes* i wprowadzono do *E. coli*. Stosując różne techniki udało się następnie otrzymać różne klony, kodujące nie tylko endoglukanazy, ale także celobiozydazy (6).

Endoglukanazy są enzymami reprezentującymi tzw. aktywność celulolityczną, wyrażaną często jako system celulazy. Schellhorn i Forsberg

(12), stosując różne metody analityczne (połączenie: ultrawirowania, chromatografii jonowo-wymiennej, sit molekularnych i elektroforezy) wykazali, że system celulazy w *Bacteroides succinogenes* stanowi kompleks 10 endoglukanaz, których synteza jest prawdopodobnie kodowana przez kilka genów (6). Podobne wnioski wynikają z doświadczeń Hazelwooda i wsp. (7), którzy klonowali geny celulazy pobrane z *Butyrivibrio* przeniesione do *E. Coli* przy użyciu zarówno wektora fagowego ( $\lambda$ gt 11), jak i plazmidu z *E. coli* (pBR 322). Niezależnie od rodzaju wektora uzyskiwano 2 typy klonów, kodujących wysoką i niską aktywność endoglukanazy.

W manipulacji genetycznej bakteriami żwacza spotyka się także prace polegające na przeniesieniu plazmidu o określonych genach do bakterii żwaczowych z bakterii bytujących poza tym ekosystemem.

### Praktyczne aspekty manipulacji genowej drobnoustrojów żwacza

Dla poprawy efektywności trawienia w przedżołądkach dąży się przede wszystkim do klonowania genów kodujących aktywność takich enzymów jak: celulaza, ksylaza, amylaza, pektinaza, dehydrogenaza glutaminowa, syntetaza glutaminy, syntetazy niektórych aminokwasów.

Bakteriami-biorcami rekombinowanych plazmidów powinny być te bakterie żwaczowe, które występują w wysokiej liczbie, np. *Streptococcus*, *Lactobacillus*. Odpowiednio przygotowane genetycznie bakterie mogą być podawane zwierzęciu w formie preparatów bakteryjnych lub inokulacji. Obie formy winny doprowadzić do wzrostu mikroorganizmów z rekombinowanymi plazmidami. Prowadzą one do zmian w wymienionej uprzednio aktywności metabolicznej żwacza, czyli m.in. zwiększenia aktywności celulolitycznej, zmian w procesie proteolizy, metagenезy itp.

Próby poprawienia trawienia włókna. Strawność włókna znacznie wzrasta, gdy podniesie się aktywność celulolityczną drobnoustrojów żwaczowych, jak też enzymów rozkładających kompleks lignino-hemicelulozowy (hemiceluloza łączy się z ligniną głównie przez ksylozę). Dużą aktywność celulolityczną wykazuje *Bacteroides succinogenes*. Drobnou tróji ten występuje w żwaczu w niezbyt wysokiej liczbie, nawet wtedy, gdy zwierzę jest karmione paszami włóknistymi. Jest kilka czynników ograniczających wzrost celulolitycznego *Bacteroides succinogenes*, m.in. niedobór kwasu izomasłowego, walerianowego, niska strawność ksylozy. Wzrost aktywności celulolitycznej *Bacteroides succinogenes* nastąpiłby wtedy, gdyby klonowano w nim heterogenne geny kodujące produkcję enzymów do trawienia ksylozy. Teoretycznie możliwość taka istnieje, sprawdzono ją np. z *E. coli* jako biorcę operonu z *Salmonelli*. Innym

rozwiązaniem zwiększającym wykorzystanie celulozy jest zwiększenie wykorzystania przez bakterie celulozyczne pektyn, polegające na klonowaniu genów odpowiedzialnych za rozpad kwasu glukuronowego.

W obu opisanych przypadkach, a więc przez klonowanie genów odpowiedzialnych za rozkład ksylozy i kwasu glukuronowego w bakteriach celulozycznych, dochodzi do liczbowego wzrostu tych bakterii i stąd zwiększonego rozkładu celulozy.

Można też postępować inaczej, mianowicie klonować geny odpowiedzialne za syntezę celulozy w bakteriach o niskiej aktywności celulozycznej, ale występujących masowo w treści żwacza. Bakterią taką jest *Bacteroides ruminicola*, która cechuje się ponadto wysoką aktywnością hemicelulozyczną — atakuje wiązania łączące ksylozę z ligniną i pektynolityczną — działa na kwas glukuronowy (3). Podobne warunki biocy glukanazy spełnia *Selenomonas ruminantium* i inne bakterie (6).

Forsberg i wsp. (6) zwracają uwagę na jeszcze inne możliwości manipulacji genowej, mianowicie na klonowanie genów kodujących celulazę w bakteriach mało wrażliwych na pH, takich jak *Lactobacillus* sp. lub ewentualnie uzyskiwanie podobnych genów z grzybów, które także wykazują wysoką tolerancję na zakwaszenie. Cecha ta ma duże znaczenie praktyczne, gdyż bakterie o wysokiej wrażliwości na zmianę pH nie mają szansy na większy rozwój w warunkach żwaczowych. Kwaśne produkty działalności tych bakterii doprowadzają do hamowania ich wzrostu.

Jak wspomniano, wzrost w żwaczu aktywności enzymów rozkładających ligninę (zwłaszcza kompleksy ligninowo-hemicelulozowe), a także kutynę, istotnie przyczyniłby się do poprawy trawienia włókna. Lignina, zbudowana głównie z fenylo-propanowych polimerów, jest praktycznie w żwaczu nie rozkładana. Tylko nieliczne mikroorganizmy mają enzymy rozkładające ligninę, są to głównie grzyby. Normalnie rozkład ligniny w przyrodzie następuje w warunkach tlenowych. W warunkach żwaczowych, które w zasadzie są beztlenowe, należałoby zatem klonować geny kodujące syntezę enzymów rozkładających ligninę bez udziału tlenu. Prace takie są prowadzone.

Większe znaczenie ma jednak wzrost aktywności enzymów rozkładających estrowe wiązania między ligniną a węglowodanami strukturalnymi (hemicelulozą i celulozą). W wiązaniach tych łańcuch hemicelulozy jest reprezentowany przez ksylany i arabinoksylany. Łatwiejsze do pęknięcia jest wiązanie tworzone przez arabinozę. Pęknięcie takie ma miejsce np. podczas zakiszania pasz. Ze względu na duże praktyczne znaczenie uwolnienia wielocukrów strukturalnych z kompleksów liginowych intensywnie poszukuje się sposobów stymulowania tych procesów w żwaczu.

Kutyna jest naturalną barierą w pokarmie roślinnym, osłaniającą dostęp bakterii żwacza do rozkładu produktów organicznych. Jest ona polimerem hydroksylanów, otaczających roślinę na wzór koperty. Naturalna kutynaza występuje w wielu bakteriach i grzybach. Klonowanie genów kodujących aktywność kutynolityczną w żwaczu byłoby zjawiskiem pożądanym, gdyż przyspieszyłoby dostęp wielu enzymów do wnętrza komórki roślinnej. Prace takie są prowadzone.

Próby regulacji trawienia białka pokarmowego w żwaczu i poprawy wykorzystania NPN. Metabolizm azotowy w żwaczu obejmuje wiele reakcji chemicznych, które z praktycznego punktu widzenia można by pogrupować na reakcje: zwalniające rozpad białka pokarmowego (proteoliza, dezaminacja aminokwasów), zwiększające syntezę białka drobnoustrojów oraz zwalniające rozkład mocznika lub przyspieszające rozpad innych NPN, np. biuretu. Wszystkie wymienione grupy procesów są bardzo wdzięcznym, a jednocześnie trudnym polem do genetycznego manipulowania.

Zmniejszenie rozpadu białka pokarmowego w przedżołądkach prowadzi do lepszego zaopatrzenia zwierzęcia w aminokwasy. Silnie rozwinięta zdolność dezaminacji żwaczowej powoduje ich kompletny rozpad. Forsberg i wsp. (6) twierdzą, że np. aktywność dezaminacyjna pierwotniaków jest hamowana przez inhibitor wytworzony w *Streptomyces tanashiensis*. Wydaje się możliwe klonowanie genów kodujących produkcję tego inhibitora w bakteriach żwacza.

Ważniejszym dla przemiany białkowej w żwaczu wydaje się jednak wzrost zdolności syntezy aminokwasów z amoniaku, zwłaszcza aminokwasów, których poziom jest niski, a więc lizyny, metioniny i treoniny. Leather (13) wytworzył syntetycznie nukleotyd, który kodował syntezę peptydu zawierającego lizynę, leucynę, metioninę i treoninę. Podobnie Jaynes i wsp. (9) podali do *E. coli* plazmid kodujący syntezę białka o zwiększonej zawartości lizyny, tryptofanu, metioniny, izoleucyny i treoniny. Badania te wskazują na możliwość klonowania genów kodujących syntezę bogatego w niektóre aminokwasy białka w bakteriach żwaczowych, występujących tam w dużej liczebności. Bakterie te przechodząc następnie do dwunastnicy spowodowałyby wzrost podaży aminokwasów egzogennych dla zwierzęcia. Stońkowsko łatwiej jest klonować geny w bakteriach syntetyzujących nadmiar pewnych aminokwasów, wydzielanych poza komórkę bakteryjną. Działalność taka ma jednakże ograniczone znaczenie dla przeżuwacza, gdyż wolne aminokwasy w żwaczu są natychmiast rozkładane.

Odpowiednia szybkość rozpadu NPN w żwaczu ma duże znaczenie praktyczne ze względu na ciągłą syntezę białka i dostępność amoniaku do tego procesu. Mocznik rozpada się zbyt szyb-



ko i część uwolnionego amoniaku ulega wchłanianiu. Biuret natomiast rozpada się zbyt wolno i nie dostarcza takich ilości amoniaku, które byłyby optymalne dla syntezy białka. Istnieją próby klonowania genów kodujących biuretazy w takich bakteriach jak: *Selenomonas ruminantium* i *Bacteroides amylophilus*, które występują w żwaczu w znacznej liczbie (2). Istnieją także obiecujące próby manipulacji genetycznych bakterii żwaczowych, mające na celu wzrost podaży kwasów tłuszczowych z rozgałęzionym łańcuchem węglowym i witamin z grupy B. Efektem wzrostu podaży tych ostatnich produktów jest wyższa aktywność różnych enzymów żwaczowych, zwłaszcza rozkładających strukturalne węglowodany.

Ograniczanie metanogenezy. Metanogeneza w żwaczu jest ważnym elementem efektywności wykorzystania pokarmu. Tworzący się metan obniża stężenie wodoru i ilość produktów zredukowanych w żwaczu, a jednocześnie powoduje znaczne straty energetyczne. Obniżenie metanogenezy istotnie podnosi efektywność wykorzystania pokarmu, zwłaszcza u bydła opasowego. Manipulacja genetyczna, której celem jest obniżenie metanogenezy, polega na wytworzeniu specjalnych inhibitorów wzrostu dla bakterii metanogennych, a także na wspieraniu enzymatycznym tych reakcji, które promują wykorzystanie wodoru do syntezy octanu i masłanu, zamiast syntezy metanu.

Nie można obecnie w pełni ocenić roli genetycznych zmian bakterii żwacza w hodowli przeżuwaczy. Bardzo skomplikowane przemiany żwaczowe są trudne do regulowania. Potrzeba takich regulacji jest duża. Między innymi wynika ona ze ścisłych wzajemnych współzależ-

ności procesów trawiennych w żwaczu, które często nie pozwalają na przewidywanie ilościowych zmian i zmniejszają ocenę wartości pokarmowej pasz. Coraz częściej stosuje się w żywieniu przeżuwaczy produkty odpadowe przemysłu spożywczego, a także przemysłu drzewnego, dla wykorzystania których należy wzmocnić określone procesy żwaczowe. Należy też widzieć patogenną rolę wielu produktów powstających w żwaczu. Zapobieganie ich powstawaniu lub przyspieszanie ich rozkładu zmniejsza niebezpieczeństwo zatruc pokarmowych czy innych schorzeń, nazywanych zaburzeniami metabolicznymi pochodzenia pokarmowego.

## Piśmiennictwo

1. Armstrong D. G.: Antimicrobials and Agriculture, Wyd. M. Woodbine, Butterworths, London, 331, 1984.
2. Armstrong D. G., Gilbert H. J.: J. Sci. Food Agric. 36, 1039, 1985.
3. Baldwin R. L., Allison M. J.: J. Anim. Sci. 57, 461, 1983.
4. Chatupa W.: W: Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants, wyd. Y. Ruckebusch and P. Thivend, MTP, Press Limited, Lancaster, 325, 1980.
5. Crosby B., Colter B., Thomas D. Y., Teather R. M., Erle J. D.: Fifth Canadian Bioenergy Seminar, wyd. S. Hasnain, Elsevier Applied Science Publishers, London, 573, 1984.
6. Forsberg C. W., Crosby B., Thomas D. Y.: J. Anim. Sci. 63, 310, 1986.
7. Hazelwood G. P., Mann S. P., Orpin C. G., Romaniec M. P. M.: W: Recent Advances in Anaerobic Bacteriology, wyd. S. P. Borriello, Martinus Nijhoff, Boston, 200, 1986.
8. Hespell R. B.: Proc. Nutr. Sci. 46, 407, 1987.
9. Jaynes J. M., Largridge P., Anderson K., Bond C., Sands D., Newman R.: Appl. Microb. Biotechnol. 21, 200, 1985.
10. Kmet V., Boda K.: W: Physiology of Ruminant Nutrition, wyd. K. Boda, Institute of Animal Physiology Slovak Academy of Sciences, Košice, 533, 1987.
11. Parker D. S., Armstrong D. G.: Proc. Nutr. Sci. 46, 415, 1987.
12. Schellhorn H. E., Forsberg C. W.: Can. J. Microb. 30, 830, 1984.
13. Teather R. M.: Can. J. Anim. Sci. 65, 563, 1985.

Adres autora: prof. dr hab. Wiesław Barej, ul. Między narodowa 46 m 33, 03-922 Warszawa

**TAYLOR S. M., KENNY:** Koksydiobójczy efekt jednorazowego leczenia jagniąt zakażonych naturalnie przy użyciu toltrazuril. (Coccidial efficacy of a single treatment of toltrazuril in naturally infected lambs). Vet. Rec. 123, 573, 1988 (22)

Po 10 dniach pobytu na pastwisku 22 jagniętom podano peroralnie 5% zawiesinę toltrazurilu w dawce 20 mg/kg masy ciała. Kontrolę stanowiły 23 nieleczone jagnięta. Ilość oocyst pasożytów oznaczano w kale trzykrotnie w ciągu tygodnia przez okres 7 tygodni od wyjścia jagniąt na pastwisko. Wszystkie jagnięta były zarażone na drodze naturalnej *Eimeria faurei*, *E. intricata*, *E. crandallii* i *E. granulosa*. Statystycznie znaczne różnice w ilości oocyst wydalanych z kałem między owcami z grupy doświadczalnej i kontrolnej występowały między 11–28 dniem po leczeniu. Następnie ilość oocyst kokcydii w grupie kontrolnej obniżała się, zaś w grupie leczonej stopniowo wzrastała aż do osiągnięcia w obydwu grupach wartości około 1000 oocyst/g kału. U 10–15% nieleczonych jagniąt obserwowano między 17 i 30 dniem umiarkowanego stopnia biegunkę. Natomiast w grupie zwierząt leczonych luźny kał obserwowano między 35–42 dniem.

**WATHES C. M., ZAIDAN W. A. R., PEARSON G. R., HINTON M., TODD N.:** Zakażenie drogą aerozolową cieląt i myszy *Salmonella typhimurium*. (Aerosol infection of calves and mice with *Salmonella typhimurium*). Vet. Rec. 123, 590–594, 1988 (23)

*Salmonella typhimurium* przeżywa w powietrzu dostatecznie długo przez co stwarza możliwość zakażeń aerogennych. Przy 32% wilgotności jej przeżywalność po 5 min. po aerosolizacji wynosi 4% wartości wyjściowej a w 53% wynosi 12,3% wartości wyjściowej. Ekspozowanie myszek na aerosol zawierający *S. typhimurium* powoduje ich zachorowania i padnięcia, przy czym zachorowalność i śmiertelność zależy od wielkości dawki zakaźnej. Zachorowania występują nawet przy dawce 150 cfu. U większości myszek na sekcji występowało przekrwienie płuc, a u myszek poddanych ubojowi 6–8 dniach po zakażeniu występowały drobne, białe guzki w wątrobie i w śledzionie. U cieląt po zakażeniu  $10^4$ – $10^6$  cfu zarówno drogą nos-jama ustna jak i drogą „cała powierzchnia ciała” występowały zachorowania. Jakkolwiek u żadnego z cieląt zakażonych *S. typhimurium* w aerozolu nie wystąpiła biegunka, to jednak ta droga zakażenia może odgrywać ważną rolę w transmisji salmonelozy u cieląt w chowie wielkostatnym.

G.

G.