

The studies revealed, that kinetics of Cd distribution in rabbits, hens and ducks runs in a phasic manner differently in these species of animals, and it is tissue and organ specific. The highest concentration of Cd was noted in kidneys and liver, and the lowest one in skeletal muscles, brain, thyroid gland, suprarenal glands and testicles. Cadmium in

birds is cumulated slower than in rabbits, but in ducks the concentrations of Cd is higher than that in hens. The comparable concentration of Cd was noted in blood and muscles. This fact may be useful in supravital diagnosis of Cd pollution in slaughter animals.

WOJCIECH ZAWADZKI, ZDZISŁAW ZAWADZKI, GRZEGORZ ZAŁUCKI

## Wpływ diet i pór roku na wytwarzanie *in vitro* metanu przez mieszaną florę bakteryjną żwacza owiec

Zakład Fizjologii Zwierząt Instytutu Nauk Fizjologicznych Wydziału Weterynaryjnego AR,  
ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław  
Instytut Inżynierii Ochrony Środowiska Politechniki Wrocławskiej,  
Plac Grunwaldzki 9, 50-377 Wrocław

Jednym z najbardziej interesujących, ale dotąd niedostatecznie poznanym aspektem fermentacji zachodzących w żołądku złożonym przeżuwaczy oraz rozkładu substancji organicznej w szczególności, jest produkcja metanu. Biologiczne powstawanie metanu jest powszechne i znane, a bakterie metanowe występują powszechnie w warunkach beztlenowych, gdzie materia organiczna jest intensywnie rozkładana (1, 2, 5, 8, 12, 14, 15, 16, 19, 26, 29, 30, 32).

Bezwzględnie beztlenowe bakterie metanowe kończą łańcuch beztlenowego rozkładu związków organicznych, tworząc metan. Bakterie te, reprezentowane są w żwaczu głównie przez 3 rodzaje a mianowicie: *Methanobacterium* z 6 gatunkami (*M. formicicum*, *M. mobile*, *M. ruminantium*, *M. propionicum*, *M. soehngenii* i *M. omelianskii*), *Methanosarcina* z 2 gatunkami (*M. barkeri* i *M. methanica*) oraz rodzaj *Methanococcus* z 2 gatunkami (*M. mazei* i *M. venniellii*). Najliczniej reprezentowane są: *Methanobacterium ruminantium*, który występuje w ilości około  $10^7$  do  $10^9$  komórek w 1 ml płynu żwaczowego oraz *Methanobacterium formicicum* i *Methanosarcina methanica* (3, 10). Substratami dla bakterii żwaczowych są niższe kwasy tłuszczowe, zawierające od jednego do sześciu atomów węgla, alkohole i izoalkohole, zawierające od jednego do pięciu atomów węgla oraz trzy nieorganiczne gazy: wodór, tlenek węgla i dwutlenek węgla (1, 2, 3, 5, 8, 10, 11, 12, 14, 15, 16, 17, 19, 21, 23, 26, 27, 29, 30, 32).

W dotychczas przeprowadzonych *in vitro* badaniach nad mieszaną florą bakteryjną żwacza u przeżuwaczy, autorzy zajmowali się tylko wpływem pojedynczych diet na poziom wytwarzanego metanu (1, 2, 6, 8, 9, 20, 21, 24, 25, 26, 27, 28), a tylko jedna praca, i to jedynie w warunkach doświadczeń *in vivo*, dotyczyła wpływu pór roku na poziom metanu w żwaczu zwierząt przeżuwających (18). Skłoniło to nas do dokładniejszego zajęcia się tymi zagadnieniami poprzez zastosowanie do badań *in*

*vitro* flory bakteryjnej owiec żywionych różnymi dietami w dwóch kolejnych okresach letnich i jesiennych.

### Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 5 owcach w wieku 2-4 lat o ciężarze ciała około 40 kg w dwu kolejnych okresach letnich i jesiennych. Owcom założono podczas zabiegu operacyjnego kaniule do żwacza (7). Zwierzęta karmiono rano między 6.30 a 7.30 i po południu między 13.30 a 14.30 według norm żywieniowych (4). Próbkę do badań *in vitro* pobierano przed rannym karmieniem. Zwierzętom podawano specjalne zestawy paszowe przez okres 2 tygodni, rozpoczynając takie żywienie po 2 tygodniach od wykonania przetok żwacza. Karmiono je kolejno w sześciu grupach żywieniowych: I — wyłącznie sianem (100%), II — sianem (70%) i mieszanką treściwą C-J (20%) i wysłódkami buraczanymi (10), III — sianem (70%) i mieszanką treściwą C-J (30%), IV — sianem (70%) i śrutą kukurydzianą (30%), V — sianem (50%) i mieszanką treściwą C-J (50%) oraz VI — sianem (50%) i śrutą kukurydzianą (50%). Paszę doświadczalnych owiec wzbogacano mieszanką witamin i soli mineralnych, wodę do picia podawano do woli. Treść do badań *in vitro* pobierano ze żwacza w lecie i w jesieni według zasad podanych przez Hungate'a (13). Zawiesinę mieszanej flory bakteryjnej żwacza przygotowywano według Demevera i Hendricka (8). Do inkubacji prowadzonej według Treia i wsp. w atmosferze azotu (22) pobierano 50 ml zawiesiny mieszanej flory bakteryjnej i dodawano 50 ml 67 mM buforu fosforanowego o pH 6,9 zawierającego jako substrat mrówczan sodu w ilości 5 mM. Hodowlę prowadzono w temperaturze 39°C przez 12 godzin. Inkubację prowadzono w warunkach beztlenowych, w atmosferze azotu, umieszczając w płuczkach naczynko z 1 cm<sup>3</sup> 50% KOH pochłaniającym wydzielający się dwutlenek węgla. Ilość gazu — metanu odczytywano co 3 godziny według wskazań manometrów podłączonych bezpośrednio do płuczek, w których prowadzono badania.

### Wyniki i omówienie

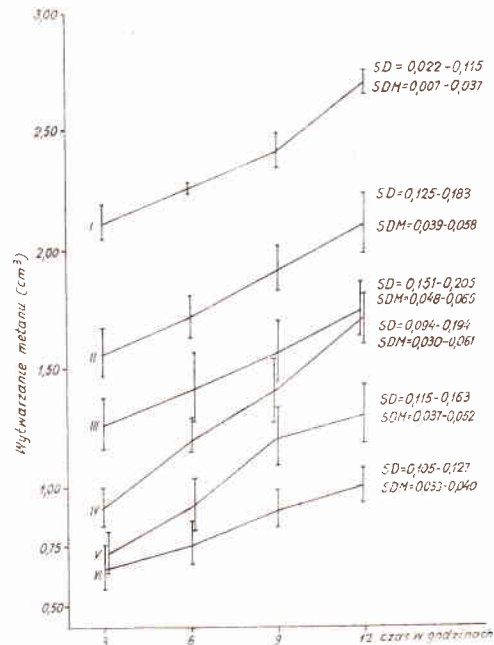
Uzyskane wyniki w doświadczeniach *in vitro* przedstawione na ryc. 1 i 2 wskazują na wyższy poziom metanu w lecie niż w jesieni przy każdej z doświadczalnych diet, przy czym najwyższy był on zarówno w lecie, jak i w jesieni przy żywieniu sianem. Kształtował się więc on odpowiednio w obu porach roku, mierzony co 3 godziny, na następującym poziomie: w

lecie 2,10; 2,25; 2,40; 2,70 i w jesieni 1,70; 1,90; 2,00; 2,20 (odchylenia standardowe i średnie błędy średniej ujęte zostały na ryc. 1 i 2 obok krzywych, podobnie jak zaznaczone przedziały ufności). Najniższy poziom metanu zaobserwowano natomiast przy diecie VI tzn. u owiec żywionych sianem (50%) i śrutą kukurydzianą (50%) i w lecie wynosił on, odczytywany tak samo co 3 godziny: 0,65; 0,70; 0,90; 1,00; a w jesieni 0,55; 0,70; 0,90; 1,10. Odniesiony fakt najwyższego poziomu metanu w badaniach *in vitro* przy żywieniu sianem zgodny jest z danymi piśmiennictwa dot. bydła (1), owiec (2, 5, 6, 16, 25, 26) i kóz (25). Mała ilość danych dotycząca bydła i kóz każe zwrócić uwagę na te przeżuwacze w dalszych studiach nad mieszaną florą bakteryjną zwłaszcza *in vitro*.

Podobne wyniki uzyskano przy stosowaniu drugiej diety, gdzie pasza objętościowa stanowiła łącznie 80% dawki żywieniowej (siana—70% i wysłodków buraczanych—10%), z tą tylko różnicą, że poziom metanu był niższy aniżeli przy skarmianiu zwierząt wyłącznie sianem.

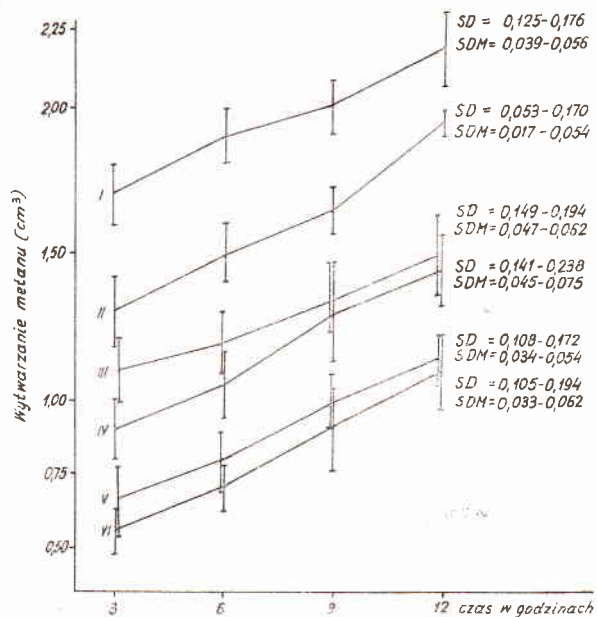
Zauważalna i udokumentowana w badaniach własnych różnica między dietami I i II a pozostałymi pozwala stwierdzić, że poziom metanu zależy w decydującym stopniu od zawartości pasz objętościowych w zestawach paszowych tzn. im więcej paszy objętościowej wchodzi w skład danej diety tym jest on wyższy. Odwrotnie ma się rzecz z naturalnym antagonistą metanu — kwasem propionowym, co oczywiście znalazło swoje odbicie w piśmiennictwie, a w szczególności w pracach Czerkawskiego i wsp. oraz Van Nevela i wsp. (5, 6, 8, 9, 14, 20, 23, 27, 28). Stąd wniosek, że stosując określone diety sterować możemy stosunkiem metan-kwas propionowy, co nie jest oczywiście obojętne dla zwierzęcia ze względu na udział kwasu propionowego w całej puli LKT. Zjawisko to opisane zostało także w badaniach *in vivo* (31), co jednak nie było przedmiotem naszych badań.

Wyniki badań przedstawione na ryc. 1 i 2 wykazały istotne różnice w poziomie metanu nie tylko między dietą I i dietą II oraz między dietami I i II a pozostałymi, ale również, chociaż mniejsze, między zestawami paszowymi III lub IV a V względnie VI, gdyż ich przedziały ufności (pola zakreskowane na wykresach) nie zachodzą na siebie. Można więc w zasadzie stwierdzić istotność różnic, a więc i wpływ podawania tych diet na ilość wytwarzanego metanu. Należy sądzić, że decydujące znaczenie miała w tym względzie różna zawartość pasz objętościowych w dietach, bo 70% w dietach III i IV, a 50% w V i VI. Natomiast, podawanie śruty kukurydzianej zamiast paszy treściwej C-J nie wpłynęło na istotność różnic w ilości metanu wytwarzanego przez bakterie. Ciekawym wnioskiem wynikającym z niniejszych badań był wpływ pory roku na ilości



Ryc. 1. Ilość metanu wytwarzanego przez mieszaną florę bakteryjną żwacza owiec w badaniach *in vitro* wykonanych w lecie

Objaśnienia: cyfry od I do VI oznaczają numery podawanych diet. SD = odchylenie standardowe, SDM = błąd średniej.



Ryc. 2. Ilości metanu wytwarzanego przez mieszaną florę bakteryjną żwacza owiec w badaniach *in vitro* wykonanych w jesieni

Objaśnienia: jak dla ryc. 1.

powstającego metanu, którego więcej wytwarzały bakterie metanowe w porze letniej. Potwierdza to wyniki badań, jakie przeprowadzili Krishna i wsp. (18) oraz Zawadzki (31) *in vivo*. Wskazywałoby to na pewną sezonowość intensywności wytwarzania tego biogazu w żwaczu przeżuwaczy. Na zakończenie należy dodać, że nie stwierdzono istotnych różnic w ilości wy-

tworzonego metanu przez hodowle mieszanej flory bakteryjnej z wacza badanej populacji owiec w poszczególnych czasokresach wykonywania doświadczeń.

### Wnioski

1. Poziom metanu wytwarzanego *in vitro* przez mieszaną florę bakteryjną z wacza owiec zależy od składu jakościowego pobieranej karmy i jest wyższy u owiec żywionych paszami objętościowymi.

2. Mieszana flora bakteryjna wytwarza więcej metanu w lecie niż w jesieni, niezależnie od składu jakościowego karmy podawanej owcom.

### Piśmiennictwo

1. Bauchop T.: J. Bacterol. 94, 171, 1967.
2. Baxter K. L., Czerkowski J. W.: J. Sci. Fd Agric. 17, 417, 1966.
3. Buchanan R. E., Gibbons N. E., eds.: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8-th ed. Williams and Wilkins Co, Baltimore, 1974.
4. Chomyszyn M., Turnau L.: Normy żywieniowe u zwierząt gospodarskich. PWRiL, 1974.
5. Czerkowski J. W.: World Rev. Nutr. Diet. 11, 240, 1969.
6. Czerkowski J. W., Breckenridge G.: Br. J. Nutr. 34, 423, 1970.
7. Dejnaka J., Zięba D.: Weterynaria, Wrocław 19, 177, 1965.
8. Demeyer D. I., Henderickx H. K.: Biochem. J. 105, 271, 1967.
9. Demeyer D. I., Henderickx H. K.: Biochim. Biophys. Acta 131, 284, 1967 b.
10. Doele H. W.: Bacteria metabolism. Academic Press 1969.
11. Gunsalus K., Eirich D., Komesser J., Baird W., Shapiro S.: Proc. Symp. microbial formation and utilization of gases (H<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, CO). Göttingen, 1976.
12. Hobson P. N., Shaw B. G.: Water Res. 10, 849, 1976.
13. Hungate R. E.: Bact. Rev. 14, 1, 1950.
14. Hungate R. E.: The rumen and its microbes. Academic Press 1966.
15. Hungate R. E.: Arch. Mikrobiol. 59, 158, 1967.
16. Hungate R. E., Smith W., Bauchop T., Yu L., Rabinowitz J. C.: J. Bacteriol. 102, 339, 1970.
17. Kemp P., Lander D. J.: Proc. Nutr. Soc. 35, 31A, 1976.
18. Krishna G., Razdan M. N., Roy S. N.: Indian J. Animal. Sci. 48, 396, 1978.
19. Mah R. A., Ward D. M., Baresi L., Glass T. L.: A. Rev. Microbiol. 31, 309, 1977.
20. Marty R. J., Demeyer D. I.: Br. J. Nutr. 30, 369, 1973.
21. Matsumoto T.: Tohoku J. Agr. 12, 213, 1961.
22. Trei J., Hale W. H., Theurer B.: J. Anim. Sci. 30, 823, 1970.
23. Trei J. E., Parish R. C., Singh Y. K., Scott G. C.: J. Dairy Sci. 54, 536, 1971.
24. Van Nevel C. J., Henderickx H. K., Demeyer D. I., Martin J.: Appl. Microbiol. 17, 695, 1969.
25. Van Nevel C. J., Demeyer D. I., Cottyn B. G., Henderickx H. K.: Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelk. 26, 91, 1970.
26. Van Nevel C. J., Demeyer D. I., Henderickx H. K.: Appl. Microbiol. 21, 365, 1971.
27. Van Nevel C. J., Prinz R. A., Demeyer D. I.: Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futtermittelk. 33, 121, 1974.
28. Van Nevel C. J., Demeyer D. I.: Appl. envirl. Microbiol. 34, 231, 1977.
29. Weng Ch., Jeris J. S.: Water Res. 10, 9, 1976.
30. Wolfe R. S.: Adv. Microbiol. Physiol. 6, 107, 1971.
31. Zawadzki W.: Hamowanie metanogenezy w przedżołądkach u owiec. Praca dokt. Wrocław, 1979.
32. Zeikus J. G.: Bact. Rev. 41, 514, 1977.

Adres autora: dr Wojciech Zawadzki, ul. Bacciarellego 1/6, 51-649 Wrocław.

Завадский В., Завадский З., Залуцкий Г. — Влияние диет и времен года на образование *in vitro* метана смешанной бактериальной флорой рубца овец.

Исследования провели на суспензии смешанной бактериальной флоры рубца, взимаемой канюлями от 5 овец возрастом 2—4 лет, весом тела ок. 40 кг, в 2 поочередных летних и осенних периодах. Для инкубации, проводимой в атмосфере азота, брали 50 мл упомянутой суспензии и прибавляли 50 мл 67 мМ фосфатного буфера с pH 6,9, содержащего 5 мМ формиата натрия как субстрата. Культуры

вели в темп. 39°C в течение 12 часов. Инкубация проводили в анаэробных условиях. Количества метана, считываемые каждые 3 часа на манометрах, подключенных непосредственно к мойкам, в которых велись исследования, были выше летом чем осенью, независимо от качественного состава корма, задаваемого овцам. Уровень метана, образуемого *in vitro* смешанной бактериальной флорой рубца овец, зависел тоже от качественного состава взятого корма и был выше у овец, кормленных грубыми кормами.

Zawadzki W., Zawadzki Z., Załucki G. — The influence of diet and season of the year on the production *in vitro* of methane by mixed bacterial flora of the sheep rumen.

The examinations were performed with the suspension of mixed bacterial flora of the rumen taken by means of a cannula from five sheeps, aged 2—4 years and 40 kg of body weight, in two consecutive summer and autumn periods. Incubation was done in the atmosphere of nitrogen: to 50 ml of the above suspension there was added 50 ml of 67 mM phosphate buffer at pH = 6.9 containing sodium formate as a substrate. The culture was stored at 39°C for 12 hours under anaerobic conditions. The amounts of methane read every three hours on manometers installed were higher in summer than in autumn independently on the qualitative composition of food. The level of methane produced *in vitro* by the mixed bacterial flora of the sheep rumen was attributed to the food composition and was higher in sheep fed with bulk fodder.

MILLER J. E., BAKER N. F.: Oporne na tiabendazol szczepy *Haemonchus contortus* i *Ostertagia* u jagniąt w Kalifornii (Thiabendazole — resistant strains of *Haemonchus contortus* and *Ostertagia* in California lambs). Am. J. vet. Res. 41, 1674—1675, 1980 (10).

Dziesięć jagniąt o wadze 34,1 kg wolnych od pasożytów zarażono do z wacza mieszaniną larw *Haemonchus contortus* (około 5000). U 5 jagniąt zastosowano tiabendazol w dawce 66 mg/kg podany sondą do żwacza. Jagnięta poddano ubojowi 35 dnia po zarażeniu i określono liczbę pasożytów. W kale zarażonych zwierząt jaja pasożytów pojawiły się 13 dnia po zarażeniu. Podanie tiabendazolu 27 dnia po zarażeniu nie spowodowało statystycznie znamiennego obniżenia jaj pasożytów w kale. Uzyskane wyniki wskazują na występowanie na terenie Kalifornii szczepów *H. contortus* i *Ostertagia* opornych na maksymalną zalecaną dawkę tiabendazolu.

G.

MONGA D. P., GARG D. N.: Zakażenie płuc u owiec spowodowane przez *Rhodotorula rubra*. (Ovine pulmonary infection caused by *Rhodotorula rubra*). Mykosen 23, 208—211, 1980 (4).

Mimo ubikwitarne występowania grzybów z rodzaju *Rhodotorula*, dotychczas opisano przypadki angiocolitis u świń i zapalenia wymion u zwierząt domowych na tle zakażenia *Rhodotorula* sp. Autorzy opisali u owcy w wieku 4 lat, która padła nagle wśród zaburzeń ze strony układu oddechowego, zakażenie wywołane przez *Rhodotorula rubra*. U padłej sztuki liczne serowaciejące guzki występowały w płucach i w wątrobie. Ponadto w pęcherzykach płucnych po wybarwieniu preparatów metodą GMS wykazano obecność licznych komórek grzyba. Ze zmienionych chorobowo odcinków tkanki płucnej wyizolowano w czystej postaci na agarze z krwią *Rhodotorula rubra* (*R. mucilaginosa*). Wyizolowany szczep był patogenny dla myszek.

G.