

FIZJOLOGIA ZWIERZĄT

WOJCIECH ZAWADZKI, ZDZISŁAW ZAWADZKI*,
GRZEGORZ ZAŁUCKI, ZBIGNIEW LEROCH

Wytwarzanie metanu przez hodowle mieszanej flory bakteryjnej żwacza cieląt

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

W warunkach naturalnych metan wytwarzany jest przez bakterie metanowe, występujące głównie w trzech środowiskach, a mianowicie: bagnach, komorach fermentacyjnych (gnilnych) oczyszczalni ścieków oraz żwacza zwierząt przeżuwających, w którym stanowią ważny składnik flory bakteryjnej. Już w 1865 roku Reiser (cyt. 15) stwierdził, że w żwaczu wytwarzane są duże ilości metanu i sugerował, że w środowisku tym są obecne bakterie metanogenne. Mollgaard (cyt. 2) udowodnił zaś, że w przedżołądkach bydła produkowanych jest około 500 dm³ metanu dziennie, co odpowiada około 10% ilości energii uzyskiwanej ze strawionej paszy (2). Metan może stanowić u bydła 18,8% ogółu produktów fermentacji (10), a obliczenia wykazały, że wartość ta wynosi 16,8% u owiec (9).

W czystych kulturach zostały wyizolowane z treści żwacza bydła następujące bakterie metanowe: *Methanobacterium formicum* (4, 11, 14), *Methanobacterium ruminantium* (15) oraz *Methanobacterium mobilis* (12). Wszystkie używają mrówczan jako substrat wzrostowy (donator H). Obecność szczepu *Methanosarcina* w treści żwacza kóz stwierdził Beijer (2). Najliczniej reprezentowane są bakterie z gatunku *M. ruminantium* występujące w ilościach od 10⁸ do 10⁹ komórek na 1 cm³ treści żwacza i mogące stanowić do 10% wszystkich bakterii występujących w żwaczu (5). Również licznie mogą występować bakterie z gatunku *M. mobilis*, bo w ilościach do 2 × 10⁸ komórek/cm³ płynu żwaczowego (12). Można sądzić, że *M. ruminantium* i *M. mobilis*, a w mniejszym stopniu *M. formicum* i *Methanosarcina methanica* są odpowiedzialne za wytwarzanie metanu w żwaczu.

Celem badań było prześledzenie wpływu wieku cieląt oraz stosowanego sposobu ich żywienia na intensywność wytwarzania metanu przez mieszaną florę bakteryjną żwacza w badaniach przeprowadzonych *in vitro*.

Materiał i metody

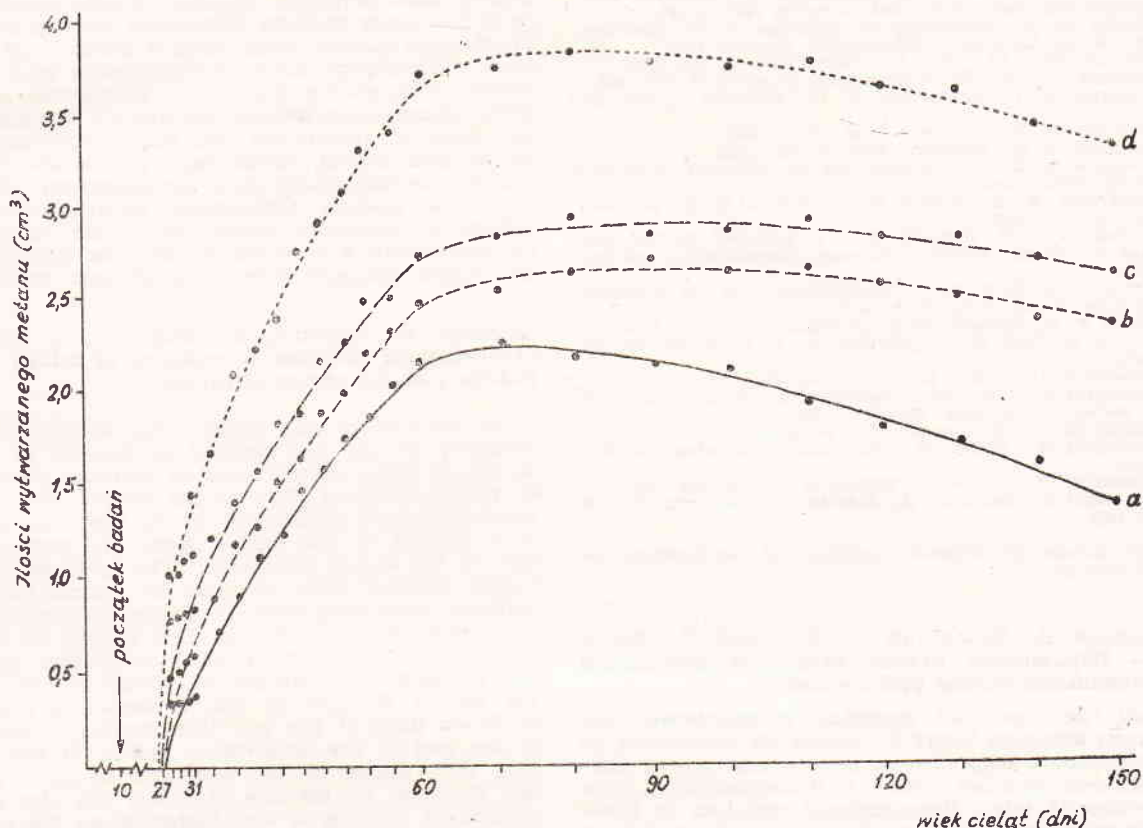
Badania przeprowadzono dwukrotnie, w odstępie jednego roku, kolejno na dwóch grupach, liczących po 4 cielęta rasy ncb, począwszy od 10 dnia życia do ukończenia 5 miesięcy, w okresie od początku maja do końca września. Cielęta karmiono indywidualnie według przyjętych norm żywieniowych (13), przy

czym w zależności od wieku zmieniano stopniowo skład podawanej paszy. W wieku od 10 do 31 dnia życia otrzymywały mlekopan H i śrutę kukurydzianą, w drugim miesiącu życia połowę dawek mlekopanu H i śruty kukurydzianej oraz siano i zielonkę, a w wieku 3—5 miesięcy podawano im śrutę kukurydzianą, siano i zielonkę. Paszę wzbogacano mieszanką witamin i soli mineralnych, wodę do picia podawano do woli. Cielęta poddano zabiegowi operacyjnemu, mającemu na celu założenie kaniuli do żwacza (6), przez które pobierano próbki treści żwacza do badań *in vitro* według zasad podanych przez Hungate'a (8). Próbkę pobierano bezpośrednio przed karmieniem, a następnie po 2, 4 i 6 godzinach po spożyciu paszy. W pierwszym miesiącu życia badania wykonywano codziennie, w drugim co 3 dni, a w trzecim, czwartym i piątym co 9—10 dni. Zawiesinę mieszanej flory bakteryjnej żwacza przygotowywano według Demeyera i Hendrickxa (7). Inkubację hodowli prowadzono według Treia i wsp. (16) w atmosferze azotu, zachowując następnie dokładnie taki sam tok postępowania analitycznego jak w pracy poprzedniej (22). Badania każdej próbki wykonywano w trzech powtórzeniach, a uzyskane wyniki oznaczeń ilości wytworzonego metanu poddano analizie matematycznej, uwzględniając w niej prawdopodobieństwo, odchylenia standardowe, średnie błędy średniej, przedziały ufności.

Wyniki i omówienie

Wyniki badań przedstawiono na ryc. 1. Stwierdzono, że mieszana flora bakteryjna żwacza nie wytwarzała *in vitro* metanu do 27 dnia życia cieląt. W tym czasie otrzymywały one jako paszę głównie mlekopan H i śrutę kukurydzianą. Z danych piśmiennictwa (3) wynika, że cielęta żywione bezpośrednio po urodzeniu przede wszystkim mlekiem wytwarzają bardzo małe ilości tzw. gazu palnego, bo dobowo około 500 cm³, głównie wodoru.

Wytwarzanie metanu zaobserwowano po raz pierwszy dopiero 28 dnia życia cieląt w próbkach pobranych we wszystkich okresach badań, a mianowicie: bezpośrednio przed karmieniem oraz po 2, 4 i 6 godzinach po spożyciu paszy. Ilości wytwarzanego metanu narastały stopniowo do 70—90 dnia życia cieląt, kiedy to przybierały najwyższe wartości, po czym malały również stopniowo do ostatniego dnia badań. Poziom powstałego gazu był zależny nie tylko od wieku cieląt, ale również od sposobu żywienia, o czym świadczy zmniejszanie się jego ilości w 4 i 5 miesiącu życia. W drugim miesiącu karmiono bowiem cielęta połową dawek mlekopanu H i śruty kukurydzianej oraz



Ryc. 1. Wytwarzanie metanu przez hodowle mieszanej flory bakteryjnej żwacza cieląt po 12 h inkubacji w temp. 39°C
 Objasnienia: a — bezpośrednio przed karmieniem, b, c i d — odpowiednio po 2, 4 i 6 h po karmieniu.

sianem i zielonką, zaś w trzecim, czwartym i piątym miesiącu wzrastał udział procentowy paszy treściwej, jaką była w żywieniu doświadczalnych zwierząt śruta kukurydziana. Zależność ilości wytwarzanego metanu od wieku cieląt wykazali w badaniach *in vivo* Zawadzki i Leroch (21) oraz Barej i wsp. (1) i Blaxter (3).

Wpływ rodzaju pokarmu i pór roku na przebieg metanogenezy był już przedmiotem wcześniejszych badań wykonanych *in vivo* (17, 18, 19, 20, 21) i *in vitro* u owiec (22), natomiast zauważa się brak w dostępnych publikacjach takich informacji dotyczących cieląt.

Przez cały czas trwania badań obserwowano interesujące zjawisko: najmniejsze ilości metanu wytwarzały zawsze bakterie izolowane bezpośrednio przed karmieniem, a izolowane kolejno po 2, 4 oraz 6 godzinach po spożyciu paszy wytwarzały stopniowo coraz większe ilości tego gazu. Spostrzeżenie to ujęto na ryc. 1 i dotyczy ono ilości metanu wytwarzanego po 12 godzinach inkubacji mieszanej flory bakteryjnej w temperaturze 39°C.

Wykonana analiza matematyczna dała wysoce powtarzalne wyniki, gdyż odnotowano odchylenia standardowe zamykające się w granicach od 0,009 do 0,135, średnie błędy średniej wyniosły od 0,003 do 0,043, zaś przedziały ufności kształtowały się na poziomie od 0,024 do 0,050. Prawdopodobieństwo wyniosło 95%.

Metoda opisana w niniejszych badaniach może być przydatna w pracach badawczych dla oceny prawidłowości przebiegu fermentacji w przedżołądkach cieląt i innych małych przeżuwaczy.

Wnioski

1. W hodowlach mieszanej flory bakteryjnej żwacza inkubowanych w warunkach beztlenowych stwierdzono wytwarzanie metanu w próbkach pobranych od 28 dnia życia cieląt.

2. Wraz ze zmianą składu diety stosowanej u cieląt, zmienia się ilość wytwarzanego metanu przez mieszaną florę bakteryjną żwacza, przy czym czynnikiem decydującym jest zawartość w diecie paszy objętościowej, tzn. im więcej paszy objętościowej znajduje się w składzie danego zestawu paszowego, tym większa jest ilość wytwarzanego metanu.

3. Ilości metanu wytwarzanego przez hodowle mieszanej flory bakteryjnej żwacza zależą od czasu pobierania próbek i są najmniejsze bezpośrednio przed karmieniem, a stopniowo coraz większe kolejno po 2, 4 i 6 godzinach po spożyciu paszy.

Piśmiennictwo

1. Barej W., Bielińska-Osuchowska Z., Garwacki S., Kulasek G.: Fizjologiczne podstawy użytkowania bydła. PWRiL, 1976.
2. Beijer W. H.: Nature 170, 576, 1952.

3. Blaxter K. L.: The energy metabolism of ruminants. Hutchinson Sci. Tech. Publ. Ltd., London, 1967, s. 197.
4. Bryant M. P.: Physiology of digestion in the ruminant, ed.: R. W. Dougherty, Butterworth, London, 1965.
5. Czerkawski J. W.: World Rev. Nutr. Diet. 11, 240, 1969.
6. Dejneka J., Zieba D.: Weterynaria, Wrocław 19, 177, 1965.
7. Demeyer D. I., Henderickx H. K.: Biochem. J. 105, 271, 1967.
8. Hungate R. E.: Bacteriol. Rev. 14, 1, 1950.
9. Hungate R. E.: Bacteriol. Rev. 24, 353, 1960.
10. Hungate R. E.: The rumen and its microbes. Academic Press, New York 1966.
11. Opperman W. H., Nelson W. O., Brown R. E.: J. Dairy Sci. 40, 779, 1957.
12. Paynter M. J. B., Hungate R. E.: J. Bacteriol. 85, 1943, 1963.
13. Rys R.: Normy żywienia zwierząt gospodarskich. PWRiL, 1981.
14. Schnellen C. G. T. P.: Onderzoekinger over der methaan-gistung. Praca dokt. Delft 1947.
15. Smith P. H., Hungate R. E.: J. Bacteriol. 75, 713, 1958.
16. Trei J. E., Hale W. H., Theurer B.: J. Anim. Sci. 30, 825, 1970.
17. Załucki G., Zawadzki W.: Medycyna Wet., 37, 121, 1981.
18. Zawadzki W.: Hamowanie metanogenezy w przedżołądkach u owiec. Praca dokt. Wrocław, 1979.
19. Zawadzki W.: Pol. Arch. Wet. (w druku).
20. Zawadzki W., Kollek W.: Weterynaria, Wrocław (w druku).
21. Zawadzki W., Leroch Z.: Medycyna Wet. 36, 624, 1980.
22. Zawadzki W., Zawadzki Z., Załucki G.: Medycyna Wet. 38, 63, 1982.

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

Завадский В., Завадский З., Залуцкий Г., Лерох З. — Образование метана культурой смешанной бактериальной флоры рубца телят

Цель исследований состояла в прослеживании влияния возраста телят и способа их кормления на интенсивность образования метана смешанной бактериальной флорой рубца в исследованиях, проведенных *in vitro*. Исследования провели на 8 телятах возрастом от 10 дней жизни до 5 месяцев, в

период май—сентябрь, вынимая пробы содержимого рубца через канюли. Культуры смешанной бактериальной флоры рубца вели в анаэробных условиях в атмосфере азота и определяли количество метана, образуемого через 12 ч. инкубации в темп. 39°C. Образование метана отметили с 28 дня жизни телят, а количества его росли постепенно до 70—90 дня жизни, после чего постепенно уменьшались по последний день исследований. Обнаружено, что уровень образуемого метана зависел не только от возраста телят, но также от способа их кормления и был тем выше, чем больше грубого корма входило в состав кормового комплекса.

Zawadzki W., Zawadzki Z., Załucki G., Leroch Z. — Production of methane in cultures of mixed bacterial flora of the rumen of calves

The purpose of the studies was to establish the influence of age and method of feeding of calves on the *in vitro* intensiveness of methane production by mixed bacterial flora of the rumen. The studies were performed on 8 calves at the age from 10 days to 5 months in the period from the beginning of May to the end of September. The specimens of the rumen content were obtained by cannulation. The cultures were performed in anaerobic conditions in the atmosphere of nitrogen. The volume of methane was determined after 12 h incubation at 39°C. The production of methane was noted in calves from the age of 28 days of life, it increased gradually to 70—90 days of life and then gradually decreased to the end of the observation period. It was found that the volume of the produced methane depended not only on the age of calves but also on the method of feeding, it was higher when the animals fed more roughage.

RECENZJE I BIBLIOGRAFIA

KÖTSCHKE K., GOTTSCHALK C.: Krankheiten der Kaninchen und Hasen (Choroby królików i zajęcy). III wydanie. VEB Gustav Fischer Verlag Jena, 1983, str. 335, ryc. 65, cena 35.00 marek

Książka, formatu tzw. kieszonkowego, wydana została w ramach serii wydawniczej — praktyka weterynaryjna. Jest to już jej trzecie, przeredagowane niemieckie wydanie (I — 1972 r., II — 1977 r.), przy czym w międzyczasie ukazały się także jej hiszpańska i angielska edycja. Książka ma już w ten sposób pewną tradycję, zyskując sobie dobrą renomę. Wartość książki w ostatnich latach wyraźnie wzrosła w związku z popularyzacją chowu królików jako zwierząt użytkowych, a głównie rzeźnych.

Obecne, trzecie wydanie zostało zachowane w tym samym zakresie objętościowym i tematycznym. Treść opracowania przede wszystkim umowocześniono i dostosowano do aktualnego stanu wiedzy. Dotyczy to zwłaszcza rozdziałów omawiających schorzenia bakteryjne i pasożytnicze oraz przemiany materii.

Treść opracowania obrazują główne jej rozdziały:

1. Taksonomia królików i zajęcy
2. Znaczenie gospodarze królików i zajęcy
3. Zdrowy królik (podstawy anatomii, fizjologii i wymagania utrzymania)
4. Wymagania hodowli
5. Wymagania żywieniowe
6. Choroby królików — z rozbiorem na podrozdziały — choroby zakaźne, pasożytnicze, narządowe, przemiany materii, zatrucia
7. Choroby i przyczyny strat wśród zajęcy
8. Środowiskowe czynniki strat zajęcy
9. Załączniki — zbiór przepisów i norm obowiązujących w NRD
10. Piśmiennictwo.

Książkę ocenić można jako zdecydowanie wartościową, a przy tym sumiennie opracowaną pozycję piśmiennictwa weterynaryjnego.

e. p.

SCHEBITZ H., BRASS W.: Chirurgia ogólna dla lekarzy weterynarii i studentów. PWRiL Warszawa 1983, str. 681, ryc. 261, tabel 18, cena 220,— zł

Książka jest tłumaczeniem z języka niemieckiego, a napisana została przez 19 autorów z różnych ośrodków weterynaryjnych świata. Przedstawiono w niej zagadnienia chirurgii ogólnej. Rozdział pierwszy zawiera zarys historii chirurgii weterynaryjnej, następnie dotyczą zagadnień związanych z: antyseptyką i aseptyką, diagnostyką rentgenowską, krwotokami i hemostazą, wstrząsem, ranami, zakażeniami, chemioterapią, obrażeniami zamkniętymi skóry, mięśni i ścięgien, ropnymi zakażeniami skóry, tkanki podskórnej i mięśni, chorobami naczyń chłonnych i krwionośnych, kośćmi, stawami, kośćcem, uszkodzeniami termicznymi, chemicznymi, elektrycznymi, energią jądrową, przepuklinami, nowotworami wraz z diagnostyką. Nadto omówiono z chirurgicznego punktu widzenia witaminy, hormony i diagnostykę enzymatyczną. Są to więc wszystkie problemy wchodzące w zakres ogólnej chirurgii, rozwinięte, a przy tym syntetycznie podane.

Wydawnictwo polskie ukazuje się w przekładzie zbiorowym pod redakcją naukową prof. dr habil. Eustachego Szeliągowskiego. Książka wypełnia lukę w tej specjalności i będzie przydatna dla lekarzy i studentów weterynarii.

Ryszard Badura