

WOJCIECH ZAWADZKI

Wpływ krótkich infuzji dożwaczowych siarczanu sodu na poziom metanu w krwi tętniczej i żyłnej u owiec

Katedra Fizjologii Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

Summary

The influence of short intraruminal infusions of sodium sulphate on the level of methane in arterial and venous blood of sheep

The studies were carried out on 7 sheep aged 2–4 years, about 40–45 kg b.w. in summer and autumn. The animals were fed successively in 4 feeding groups (hay – 100%, hay – 70% + concentrates – 20% + beet pulp – 10%, hay – 70% + concentrates 30%, hay – 50% + concentrates – 50%), according to feeding standards. The samples of arterial and venous blood and also control air were taken 4 h after the morning feeding. Immediately after morning feeding the animals received short intraruminal infusions of sodium sulphate which inhibited methane production from 8% to 28%. The level of methane in arterial and venous blood was higher in summer than in autumn. The content of methane in animals irrespective of the diet was higher in venous than in arterial blood. The highest inhibition of methane production was found in the blood of sheep receiving bulky feed.

Inhibitory metanogenezy są związkami o bardzo różnorodnej budowie chemicznej i o różnym pochodzeniu, co utrudnia ich racjonalny podział i klasyfikację (1, 2, 14). Mimo to, w niektórych publikacjach znajdują się szczegółowe charakterystyki wraz z próbą podziału wielu dodatków pokarmowych, których mechanizm działania związany jest przede wszystkim z ich wpływem na proces metanogenezy u zwierząt przeżuwających (1, 3, 4, 14, 16). Pośród wielu dodatków paszowych, których wpływ na poziom metanu w przebiegu procesów fermentacji żwaczowej został już przebadany w pracach innych autorów i własnych, znajdują się siarczany i siarczyny sodowej (1, 3, 4, 10, 14, 17, 18, 22, 23, 24). W dotychczasowych badaniach własnych zajmowano się między innymi wpływem siarczanu sodu dodawanego do paszy na pH i temperaturę w żwaczu owiec podczas całodobowych pomiarów (10) oraz na poziom metanu, białka, energii, ATP i lotnych kwasów tłuszczowych (LKT) w przedżołądkach owiec i kóz (17, 18, 23, 24) w warunkach *in vivo*. Ponadto określono wpływ siarczanu sodu na metabolizm żwaczowy u jagniąt w warunkach *in vitro* (22). Badania własne oraz wymienionych wyżej

innych autorów przedstawiały działanie tego związku chemicznego o charakterze dodatku paszowego u przeżuwaczy.

Celem niniejszej pracy było określenie wpływu rodzaju diety, pory roku i poszczególnych osobników na kształtowanie się poziomu metanu w krwi tętniczej i żyłnej u owiec, którym dożwaczowo podawano roztwór siarczanu sodu.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 7 owcach, mieszańcach międzyrasowych, w wieku od 2 do 4 lat, o masie ciała od 40 kg do 45 kg. Zwierzęta poddawano indywidualnym zabiegom operacyjnym, w czasie których zakładano kaniule do żwacza (5). Wykonywano je w uśpieniu za pomocą dożylnego wlewu 30% alkoholu etylowego podawanego z szybkością 5-10 ml/min⁻¹ – według efektu działania. Wlew alkoholu poprzedzono dożylnym wstrzyknięciem 4-6 ml preparatu Combelen. Roztwór wodny siarczanu sodu (prod. POCH Gliwice) o stężeniu 1,8% przygotowywano *ex tempore* i podawano dożwaczowo w objętości 250 ml, po 2-3 tygodniach od chwili operacji. Podobnie jak w pracy Popiela i wsp. (10) oraz Zawadzkiego i wsp. (23, 24), infuzji dożwaczowej siarczanu sodu dokonywano zawsze o tej samej porze, tj. bezpośrednio po rannym karmieniu. Czas trwania infuzji wynosił 1 godzinę (19). Roztwór Na₂SO₄ podawano 10-krotnie w dwudniowych odstępach czasu. Do badań zawartości metanu w krwi tętniczej izolowano z naturalnego położenia prawą tętnicę szyjną wspólną i umieszczano ją w mostku skórnym, którego brzegi łączono pojedynczym szwem węzełkowym (25). Krew żylną pobierano do oznaczeń z żyły szyjnej zewnętrznej. Zwierzęta po izolacji tętnic szyjnych wspólnych pozostawiano na 2-3 tygodnie celem wygojenia, podobnie jak miało to miejsce w przypadku założenia kaniul dożwaczowych. Próbkę krwi tętniczej i żyłnej pobierano 4 godziny po zakończeniu rannego karmienia, zarówno z wyszytej tętnicy szyjnej wspólnej, jak i z żyły szyjnej zewnętrznej. Dalszy tok postępowania przy pobieraniu próbek krwi, jak i przy ich oznaczaniu metodą chromatografii gazowej, był taki sam jak we wcześniejszych pracach Zawadzkiego i wsp. (18, 19, 25, 26, 27) tzn. konsultowany w Głównym Instytucie Górnictwa w Katowicach.

Wszystkie owce karmiono kolejno każdym z czterech zestawów paszowych przez okres 3 tygodni według norm żywieniowych i zasad powszechnie przyjętych w żywie-

nju (2, 11, 13, 16), dwukrotnie w ciągu dnia, tj. między 6³⁰ a 7³⁰ oraz 13³⁰ a 14³⁰. Przerwy adaptacyjne do nowych pasz wynosiły 2-3 tygodnie. Diety posiadały następujący skład, wyrażony w procentach wagowych: I. siano łąkowe (100); II. siano łąkowe (70), mieszanka treściwa C-J (20) i wysłodki buraczane (10); III. siano łąkowe (70), mieszanka treściwa C-J (30) i IV. siano łąkowe (50), mieszanka treściwa C-J (50). Średni skład chemiczny siana (%) był następujący: sucha masa – 87,68, białko surowe – 12,88, włókno surowe – 22,95, tłuszcz surowy – 3,58, substancje bezazotowe wyciągowe (BAW) – 40,05, popiół surowy – 5,05. Spożycie paszy wynosiło od 1,8 kg do 2,3 kg. Karmę dla zwierząt wzbogacano mieszanką witamin i soli mineralnych, a wodę do picia podawano *ad libitum*.

W ramach przeprowadzonej analizy matematycznej (12) obliczono wartości średnie i odchylenia standardowe. Wpływ zestawów paszowych, pór roku i poszczególnych owiec na poziom metanu w krwi tętniczej i żyłnej określono metodą dwuparametrowej analizy wariancji przy $p \leq 0,05$ (7). Część otrzymanych wyników (wpływ paszy, pory roku) weryfikowano również testem t-Studenta. Współczynnik F_R określał wpływ zestawów paszowych, a współczynnik F_C wpływ poszczególnych owiec na kształtowanie się procentowej zawartości metanu w krwi tętniczej i żyłnej.

Wyniki i omówienie

W pierwszej części pracy określano wpływ rodzaju diety, pory roku i poszczególnych osobników na zawartość metanu w krwi tętniczej i żyłnej. Najwyższy poziom metanu stwierdzono w krwi tętniczej i żyłnej u owiec w obu porach roku, tj. w lecie i w

Tab. 1. Wpływ rodzaju paszy na zawartość metanu (% obj. gazu suchego) w krwi tętniczej i żyłnej owiec ($\bar{x} \pm s$; $n = 14$)

Rodzaj paszy	Krew	
	tętnicza	żylna
I	0,0017 \pm 0,0002 ^a	0,0056 \pm 0,0004 ^a
II	0,0013 \pm 0,0001 ^b	0,0044 \pm 0,0004 ^b
III	0,0011 \pm 0,001 ^c	0,0040 \pm 0,0002 ^c
IV	0,0007 \pm 0,00009 ^d	0,0028 \pm 0,0005 ^d

Objaśnienia: a, b, c, d – średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie przy $p \leq 0,05$; n – razem średnie dla lata i jesieni.

Tab. 2. Wpływ pory roku na zawartość metanu (% obj. gazu suchego) w krwi tętniczej i żyłnej owiec (\bar{x})

Pora roku	Krew tętnicza				Ogółem n = 28	Krew żylna				Ogółem n = 28
	rodzaj paszy n = 7					rodzaj paszy n = 7				
	I	II	III	IV		I	II	III	IV	
Lato	0,0019a	0,0014	0,0013a	0,0009a	0,0014a	0,0059a	0,0050a	0,0047a	0,0031	0,0047a
Jesień	0,0016b	0,0012	0,0010b	0,0006b	0,0011b	0,0054b	0,0039b	0,0034b	0,0026	0,0038b

Objaśnienia: wartości odchylenia standardowego dla wszystkich przedstawionych w tabeli wyników zamykały się w granicach od $\pm 0,00009$ do $\pm 0,0005$; a, b – istotność różnic między latem a jesienią przy $p \leq 0,05$.

jesieni, karmionych wyłącznie sianem (w krwi tętniczej latem wynosił on 0,0019%, jesienią 0,0016%, podczas gdy w krwi żyłnej – odpowiednio: 0,0059% i 0,0054%). Najniższy poziom metanu latem i jesienią odnotowano w krwi tętniczej i żyłnej w diecie czwartej, tj. składającej się w równych częściach z siana i mieszanki treściwej C-J (tab. 1 i 2). Porównując poziomy metanu w krwi tętniczej i żyłnej trzeba stwierdzić, iż zawsze tzn. w każdym z zestawów paszowych, były one wyższe w krwi żyłnej, aniżeli w tętniczej i np. w zestawie paszowym pierwszym (siano 100%) latem poziom metanu w krwi żyłnej był 3,1 raza wyższy aniżeli w krwi tętniczej, podczas gdy jesienią 3,4 raza wyższy. W przypadku ostatniego zestawu paszowego (składającego się z siana i m. treściwej C-J w równych częściach wagowych) poziomy dla krwi żyłnej były analogicznie wyższe od krwi tętniczej: 3,4 raza i 4,33 raza. Występuje więc zatem wyraźna zależność poziomu CH_4 od pory roku, co potwierdzono statystycznie (tab. 2). Nie stwierdzono osobniczego wpływu na poziom CH_4 w krwi tętniczej i żyłnej w obu porach roku, tzn. w lecie i w jesieni.

Obserwacja dotycząca najwyższych poziomów metanu w krwi owiec karmionych paszami z dużą zawartością komponentów objętościowych, a szczególnie siana (tab. 1), zgodna była z wynikami wcześniejszych badań własnych (19, 24-27) i korespondowała z rezultatami dotyczącymi wyższej zawartości metanu w gazach żwacza owiec karmionych paszami z większą ilością pasz objętościowych (4, 9, 14, 18, 24). Obserwacja dotycząca wyższej ilości metanu w krwi latem niż jesienią, zależnie od zestawu paszowego, potwierdziła dane uzyskane w przypadku gazów żwacza (18, 24).

Zastosowaną w pracy metodą chromatografii gazowej nie wykryto innych węglowodorów niż metan.

W drugiej części pracy postanowiono określić wpływ krótkich infuzji dożwaczowych siarczanu sodu na zawartość CH_4 w krwi tętniczej i żyłnej w lecie i jesieni. Badania te są uzupełnieniem nieco wcześniejszych doświadczeń dotyczących wpływu takich infuzji na wybrane parametry fermentacji w treści żwacza owiec (23). Uzyskana w niniejszej pracy inhibicja produkcji metanu (tab. 3) była skorelowana z wyższym poziomem tego gazu w krwi żyłnej aniżeli w tętniczej i również była średnio wyższa o 1%-3% niezależnie od zestawu paszowego

Tab. 3. Zmiany w poziomie metanu i ich obraz w krwi tętniczej i żylniej owiec żywionych w lecie (L) i w jesieni (J) czterema zestawami paszowymi, po krótkich infuzjach dożwaczowych siarczanu sodu

Zestawy paszowe		Inhibicja wytwarzania CH ₄ w procentach	
		krew tętnicza	krew żylna
I	L	26	28
	J	22	25
II	L	20	22
	J	19	20
III	L	16	18
	J	13	15
IV	L	10	12
	J	8	10

stosowanego w żywieniu owiec. Próbkę krwi tętniczej i żylniej pobierano zawsze 4 godziny po zakończeniu rannego karmienia, gdyż procentowy udział metanu w gazach żwacza jest wówczas najwyższy. Zjawisko to zaobserwowano także w przypadku wcześniejszych badań próbek krwi. Przypuszczenie to potwierdziła wyrywkowa analiza próbek krwi z innych okresów czasu po karmieniu. Zgodna z danymi tab. 3 obserwacja, iż spadek procentowej zawartości metanu w krwi tętniczej i żylniej był zawsze wyższy latem niż jesienią znajduje swoje potwierdzenie w przypadku analizowanych gazów żwacza u owiec podczas stosowania inhibitorów metanogenezy (18, 24). Wartości inhibicji metanogenezy (w procentach) są podane zbiorczo dla każdego zestawu paszowego, gdyż nie odnotowano istotnych różnic osobniczych u 7 doświadczalnych owiec. Uwagę zwraca prawie 3-krotna różnica w hamowaniu metanogenezy między zestawem pierwszym (pasza wyłącznie objętościowa – siano) a czwartym (50% siana i 50% mieszanki C-J), która była istotna statystycznie. W przypadku zestawu pierwszego (100% udział paszy objętościowej) i drugiego (80% udziału tych pasz) różnice w hamowaniu metanogenezy nie były duże (do 6% latem i 3% jesienią).

Badania zawartości metanu w krwi tętniczej i żylniej u owiec, u których zastosowano krótkie dożwaczowe infuzje siarczanu sodu mają być kompleksowym uzupełnieniem wcześniej podjętych badań w tym kierunku (10, 23) oraz stanowić wkład w szczegółową analizę systemów metanogennych w aspekcie ekologicznym (8, 9, 15, 20, 21).

Wnioski

1. Poziom metanu w krwi tętniczej i żylniej owiec uwarunkowany jest takimi czynnikami zmiennymi jak rodzaj paszy i pora roku.

2. Infuzje dożwaczowe siarczanu sodu wywołują inhibicję produkcji CH₄ w krwi tętniczej i żylniej,

skorelowaną ze spadkiem procentowej zawartości tego gazu w żwaczu.

Piśmiennictwo

1. Barej W.: Medycyna Wet. 46, 466, 1990.
2. Barej W.: Fizjologiczne podstawy żywienia przeżuwaczy. Wyd. SGGW AR, Warszawa 1990.
3. Blaxter K. L., Czerkawski J.: J. Sci. Fd Agric. 17, 417, 1966.
4. Czerkawski J. W.: An Introduction to Rumen Studies. Pergamon Press, Oxford, 1986.
5. Dejneka J., Zięba D.: Weterynaria, Wrocław 19, 177, 1965.
6. Ernest J., Thomas R. O.: Indian J. Anim. Res. 12, 37, 1978.
7. Freund J. E.: Podstawy nowoczesnej statystyki. PWE, Warszawa 1991.
8. Hungate R. E.: Experientia 38, 189, 1982.
9. Johnson E. D., Wood A. S., Stone J. B., Moran jr. E. T.: Can. J. Anim. Sci. 52, 703, 1972.
10. Popiel J., Zawadzki W., Nicpoń J.: Medycyna Wet. 52, 314, 1996.
11. Ryś R.: Normy żywienia zwierząt gospodarskich. PWRiL, Warszawa, 1986.
12. Sawicki F.: Elementy statystyki dla lekarzy. PZWL, Warszawa 1978.
13. Tołkanowicz J.: Chów owiec w gospodarstwie specjalistycznym. PWRiL, Warszawa 1985.
14. Van Nevel C. J.: Modification of rumen fermentation by use of additives. W: Rumen microbial metabolism and ruminant digestion. Ed. J. P. Jouany, INRA, Paryż 1991, 263.
15. Wuhrmann K.: Experientia 38, 193, 1982.
16. Załuska J., Załuska K.: Żywienie owiec. PWRiL, Warszawa 1978.
17. Zawadzki W.: Mat. XVI Zjazdu PTF. Katowice 1984, s. 393.
18. Zawadzki W.: Pol. Arch. Wet. 25, 111, 1987.
19. Zawadzki W.: Pol. Arch. Wet. 29, 167, 1989.
20. Zawadzki W.: Mat. X Kongresu PTNW. Wrocław 1, 111, 1996.
21. Zawadzki W., Brzęk K., Jeszka J.: Arch. Wet. Pol. 32, 101, 1992.
22. Zawadzki W., Mazur J., Popiel J.: Acta Acad. Agricult. Techn. Olst. Vet. 23, 59, 1996.
23. Zawadzki W., Popiel J., Brzęk K., Rak L.: Weterynaria Wrocław 60, 67, 1996.
24. Zawadzki W., Rak L.: Medycyna Wet. 47, 425, 1991.
25. Zawadzki W., Romański K.: Medycyna Wet. 45, 366, 1989.
26. Zawadzki W., Załuski G., Romański K., Muzyczuk J.: Biul. VI Zjazdu PTNW. Wrocław 1, 303, 1978.
27. Zawadzki W., Załuski G., Romański K., Muzyczuk J.: Mat. VII Kongresu PTNW. Lublin 1, 126, 1983.

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

FLAGSTAD A., JENSEN A. L., JARRETT O.: Występowanie zakażenia wirusem niedoboru immunologicznego kotów w populacji kotów w Danii w okresie 1977–1974. (Evidence of infection with feline immunodeficiency virus among Danish cats between 1970 and 1974). Vet. Rec. 140, 99–100, 1997 (4)

Wirus niedoboru immunologicznego kotów (FIV) wykryto u kotów po raz pierwszy w Kalifornii w 1986 r. Stosując test ELISA przebadano w kierunku obecności przeciwciał dla wirusa FIV surowice 139 kotów pobrane w okresie 1970–1974. Surowice reagujące pozytywnie w teście ELISA zbadano metodą immunofluorescencji i metodą Westernblotting. Surowice 6 (5,3%) kotów reagowały dodatkowo w teście ELISA w kierunku FIV. Te same surowice dawały wyniki pozytywne zarówno w odczynie immunofluorescencji jak i w teście Westernblotting. W tym ostatnim teście przeciwciała dla gp17 i gp24 wirusa FIV występowały we wszystkich surowicach seropozytywnych, podczas gdy przeciwciała dla gp 120 wirusa FIV stwierdzono tylko w 2 surowicach pobranych od kotów w 1972 r. Odczyn ELISA stosowany do wykrywania FIV jest bardzo czułym testem. Daje on jednak wyniki fałszywie dodatnie z surowicami przechowywanymi przez dłuższy okres czasu.

G.