

MIKROFLORA PRZEDŻOŁĄDKÓW

Prof. dr hab. Adam Traczykowski

Katedra Higieny Zwierząt i Mikrobiologii Środowiska

Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy

Rozwijające się w przedżołądkach bakterie i pierwotniaki cechują się znaczną różnorodnością gatunkową i pełnią ważną funkcję w procesach fermentacyjnych. Stanowią one około 15% objętości płynu żwaczowego. Wydzielane przez tę mikroflorę enzymy rozkładają niestrawne dla przeżuwaczy składniki wielocząsteczkowe zawarte w paszach, które w następstwie tych procesów spełniają bardzo ważną rolę materiału energetycznego i budulcowego. Żywienie krów mlecznych sprowadza się w dużym stopniu do zapewnienia odpowiednich warunków dla rozwoju mikroorganizmów zasiedlających żwacz i pozostałe przedżołądki. Ich obecność, aktywność i rozwój sprawiają, że przedżołądki stanowią swoistą biocenozę o odmiennych cechach biologiczno-chemiczno-fizycznych. Wielu badaczy rolę drobnoustrojów w procesach żwaczowych wyraża często nie ich liczbą i właściwościami, a przede wszystkim cechami biochemicznymi i fizjologicznymi, takimi jak aktywność amylolityczna, proteolityczna, celulolityczna, laktogenna, lipolityczna i dezaminacyjna.

Proces trawienia u przeżuwaczy zależy głównie od ilości oraz jakości bakterii i pierwotniaków bytujących w żwaczu, przy czym ich koncentracje są z sobą ściśle powiązane. Pierwotniaki pochłaniają bakterie i dlatego ich udział w procesach trawiennych jest mniejszy niż bakterii. Jednakże kierunkowe wykorzystanie znajomości składu i liczby bakterii do oceny trawienia pokarmów jest niemożliwe z tego względu, że wiele gatunków może jednocześnie trawić różne substraty i wytwarzać różne produkty końcowe.

BAKTERIE

Bakterie występujące w przedżołądkach charakteryzują się znaczną różnorodnością form morfologicznych, jak również właściwościami

chemicznymi. Podejmowane wielokrotnie próby ich klasyfikacji nie przyniosły pożądaných rezultatów w postaci wykorzystania do oceny procesów trawiennych, ponieważ wiele gatunków bakterii może jednocześnie trawić różne substraty i wytwarzać różne produkty końcowe (tab.1).

Tabela 1. Gatunki bakterii żwaczowych w zależności od substratów poddawanych fermentacji (Church,1988)

Celulolityczne rozkładające głównie celulozę	Amylolityczne rozkładające głównie skrobię
Bacteroides succinogenes Ruminococcus flavefaciens Ruminococcus albus Butyrivibrio fibrisolvens	Bacteroides amylophilus Streptococcus bovis Succinimonas amylolytica Ruminococcus sp.
Pektynolityczne rozkładające pektyny	Lipolityczne rozkładające tłuszcze
Butyrivibrio fibrisolvens Bacteroides ruminicola Lachnospira multiparus Succinivibrio dextrinosolvens Treponema brantii Streptococcus bovis	Anaerovibrio lipolytica Butyrivibrio fibrisolvens Treponema bryantii Eubacterium sp. Fusocillus sp. Micrococcus sp.
Ureolityczne rozkładające mocznik	Hemicelulolityczne Rozkładające hemicelulozę
Succinivibrio dextrinosolvens Selenomonas sp. Bacteroides ruminicola Ruminococcus bromii Butyrivibrio sp. Treponema sp.	Butyrivibrio fibrisolvens Bacteroides ruminicola Ruminococcus sp.
Bakterie wykorzystujące cukry	Bakterie wykorzystujące kwasy
Treponema brantii Lactobacillus vitulinus Lactobacillus ruminus	Megasphaera elsdenii Selenomonas ruminantium
Proteolityczne rozkładające białka	Bakterie produkujące metan
Bacteroides amylophilus Bacteroides ruminicola Butyrivibrio fibrisolvens Streptococcus bovis	Methanobrevibacter ruminantium Methanobacterium formicicum Methanomicrobium mobile
	Bakterie produkujące amoniak
	Bacteroides ruminicola Megasphaera elsdenii Selenomonas ruminantium

Beztlenowe warunki w żwaczu sprawiają, że wszystkie bakterie wykazują w różnym stopniu zdolności fermentacyjne, wykorzystując glikolityczny rozkład cukrów prostych do produkcji lotnych kwasów tłuszczowych. (Ryc.1).

Bakterie z rodzaju *Lactobacillus* fermentują cukry do wytwarzania kwasu mlekowego, natomiast *Micrococcus lactylica*, *Megaspharea* i *Selenomonas* przekształcają kwas mlekowy w lotne kwasy tłuszczowe. Z kolei bakterie proteolityczne i lipolityczne, mimo iż reprezentowane są przez niewielką liczbę gatunków, to jednak ich aktywność w treści żwacza jest bardzo duża

Istotną rolę odgrywają bakterie w rozkładzie celulozy. Takie bakterie jak: *Butyrivibrio lactacidigenes*, *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus albus* i *flavefacins*, *Clostridium* spp i inne, wytwarzają enzymy bakteryjne - celulazy. Umiejscowione są one na powierzchni komórek bakteryjnych i rozkładają celulozę na celobiozę, która rozpada się na fruktozę. Ponadto rozkładane są także pektyny, ksylany, furany i wielocukry.

Bakterie żwaczowe są istotnym producentem witamin z grupy B oraz witaminy K. Stopień współzależności bakterii żwaczowych jest bardzo duży. Aby stworzyć korzystne warunki do trawienia pasz muszą znajdować się w żwaczowej eubiozie, która określa ich równowagę. Między różnymi gatunkami bakterii istnieje współzawodnictwo, co w różnych warunkach biochemicznych żwacza może doprowadzić do przewagi jednych bakterii nad innymi. Szczególnie jest to widoczne podczas zaburzeń pokarmowych, takich jak kwasica lub zasadowica.

Przyjmuje się, że w 1 ml. płynu żwaczowego znajduje się od 14 do 25 miliardów bakterii, przy czym znacznie jest ich mniej w stałej frakcji treści żwacza, w której gromadzą się liczne pierwotniaki.

Skład drobnoustrojów żwacza zależy od wieku zwierzęcia, pH treści żwacza, rodzaju i częstotliwości zadawania paszy oraz stanu fizjologicznego. Ubytek jednego gatunku bakterii jest kompensowany przez wzrost liczby

innych. Jak podaje Kruczyńska (2004) po podaniu łatwo strawnych węglowodanów obserwowano zmniejszenie o około 50% streptokoków, przy wzroście innych gatunków bakterii i wymoczków. Jednakże już po 4-6 godzinach od zadania paszy następuje ponowne namnażanie streptokoków. Po kilku godzinach ich liczba powinna obniżyć się do stanu wyjściowego, bowiem zmniejsza się liczba bakterii celulolitycznych oraz wzrasta liczba bakterii z rodzaju *Lactobacillus*.

Szczególnie duże zmiany w składzie drobnoustrojów wywołują łatwo strawne węglowodany. Ich nadmiar może prowadzić do poważnych zaburzeń metabolicznych żywca i całego organizmu. Stabilizację mikroflory gwarantują pasze strukturalne.

PIERWOTNIAKI

Rola pierwotniaków w procesie trawienia w przedżołądkach nie jest w pełni wyjaśniona. Z pewnością rozrywają one ściany komórkowe, umożliwiając rozkład bakteryjny. Znaczna część bakterii i pierwotniaków rozpada się w żywcu i do płynu żwaczowego dostaje się białko stanowiące pożywkę dla wzrostu następnych bakterii. Wykazano, że pierwotniaki bez bakterii rozwijają się źle.

Koncentracja pierwotniaków jest stosunkowo stała i w małym stopniu zależna od rodzaju pokarmu i pory dnia, natomiast skład gatunkowy i ich aktywność enzymatyczna ulegają znacznym dynamicznym zmianom. Przyjmuje się, że okres adaptacji mikroflory żywca do nowej paszy wynosi od kilku dni do miesiąca, w którym następuje zmiana i stabilizacja składu drobnoustrojów. Dlatego wprowadzając do dawki pokarmowej dla krów nowe składniki należy czynić to stopniowo, aby dostosować skład mikroflory żywca.

Wzajemne stosunki w żywcu między bakteriami a wymoczkami są stosunkowo ściśle i oparte na zasadzie symbiozy. Pierwotniaki, zwłaszcza z rodzaju *Entodinia*, pochłaniają (zjadają) 60 - 200 bakterii w ciągu minuty.

Pewna część bakterii i pierwotniaków się rozpada w żwaczu i dostaje się do płynu żwaczowego w postaci białka, do wzrostu kolejnych drobnoustrojów oraz istotny składnik pokarmowy dla krowy. Wartość pokarmowa białka pierwotniaków dla przeżuwaczy jest nieco wyższa niż białka bakteryjnego, ze względu na wyższą zawartość lizyny oraz większą podatność na działanie enzymów proteolitycznych w jelicie.

Pierwotniaki kumulują dużo skrobi, dzięki czemu zwiększa się ilość dopływająca do dwunastnicy. W rozkładzie skrobi w żwaczu biorą udział min. *Ophryoscolex candatus*, *Dasytricha ruminantium*, *Diplodinium pentacanthum*, *Isofricha prostoma*, *Epidinium ecaudatum* (Wojciechowicz, 1994).

Enzym α -amylaza pierwotniaków jest enzymem indukowanym. Amylaza *Dasytricha ruminantium* całkowicie hydrolizuje amylozę do glukozy, natomiast w przypadku *Isofricha prostoma* rozkład zatrzymuje się na maltozie i maltotriozie.

Wymoczki z rodzajów *Entodinium*, *Epidinium* i *Tsofricha* wykazują silne właściwości amylolityczne. Już kilkanaście minut po podaniu pasz treściwych obserwuje się w ciele wymoczków wzrost skrobi, która dopiero po 6-8 godzinach ulega rozłożeniu. Prawie u wszystkich pierwotniaków przebiega proces fermentacji kwaśnej, gdzie końcowymi produktami są : lotne kwasy tłuszczowe, CO_2 i H_2 . Dzięki własnemu ruchowi fizycznie rozbijają one treść żwacza, czyniąc ją podatniejszą na trawienie chemiczne.

Populacja pierwotniaków w żwaczu pozostaje w ścisłym związku ze składem dawki pokarmowej. Duży udział pasz objętościowych sprzyja namnażaniu pierwotniaków w żwaczu, natomiast pasze treściwe obniżają ich ilość. Również pasze nadmiernie rozdrobnione i zawierające dużą ilość łatwo fermentujących węglowodanów ograniczają występowanie wymoczków. Rola pierwotniaków w rozkładzie białka jest mniej istotna niż bakterii, jednakże białko to charakteryzuje się wysoką strawnością. Liczba pierwotniaków w 1ml płynu żwaczowego wynosi około 1mln, przy czym głównie są to wymoczki

podtypu Ciliata. W ciągu doby żwacz opuszcza od kilkunastu do 30% populacji pierwotniaków, a ich azot może stanowić ok. 30% azotu całkowitego w dwunastnicy, co jest bardzo istotne w metabolizmie żwacza. Zmiana pokarmu ma zasadniczy wpływ na ilość i skład pierwotniaków żwacza. Zakwaszenie treści do pH - 4.5 powoduje całkowity zanik wymoczków, natomiast głodzenie, spadek o 50%. Podanie pokarmu, zwłaszcza włóknistego, wywołuje wzrost tej liczby, a po pojeniu wodą obniża się. Pierwotniaki w większym stopniu niż bakterie zmniejszają poziom azotanów i azotynów w żwaczu, a także pełnią dużą rolę w degradacji mikotoksyn. Organizmy te rozrywają ściany komórek, co zwiększa ich podatność na dalszy rozkład bakteryjny i w efekcie poprawia się strawność NDF dawki.

Badania Krzywieckiego i wsp. (2006) dowiodły o obniżeniu się liczebności pierwotniaków w żwaczu, przy dużym dodatku suchych wysłodków, bądź śruty jęczmiennej do kiszzonek z kukurydzy i koniczyny łąkowej.

Wymoczki wykazują pewną zmienność w rytmie dobowym - w godzinach popołudniowych ich liczba wzrasta, co jest związane często z rannym karmieniem. Pierwotniakom przypisuje się duży udział w procesach metabolicznych żwacza. Wiele gatunków wykazuje zdolność rozkładu celulozy, hemicelulozy, substancji pektynowych oraz kompleksów ligninowo-celulozowych. Inne rodzaje wymoczków wykazują silne właściwości amylolytyczne. Duży udział pasz treściwych w dawce powoduje spadek liczby pierwotniaków, a zwiększa liczebność bakterii. Pierwotniaki zawierają także enzymy proteolityczne i lipolityczne, ale ich stężenie jest znacznie mniejsze, aniżeli pochodzących od bakterii. Dzięki własnemu ruchowi fizycznie rozbijają treść czyniąc ją podatniejszą na trawienie chemiczne.

Tabela 2. W skład populacji pierwotniaków żwacza wchodzi głównie wymoczki podtypu Ciliata.

Pod- typ	Podklasa	Rząd	Rodzina	Gatunek
C I L I A T A	Holotricha	Trichostomatida	Isotrichidae	Isotricha Dasytricha
			Blepharocorythidae	Blepharocorys
		Gymnostomatide	Bütschliidae	Charomina Bütschliidae Entodinium Diplodinium Epidinium
	Spirotricha	Entodimiorphida	Ophryoscolecidae	Ophryoscolex Caloscolex Opisthotrichum

Bardzo interesujące badania przeprowadzili Koenig i wsp. (2000) oceniając wpływ defaunacji żwacza na przebieg fermentacji, zmiany ilościowe i jakościowe bakterii oraz efekty produkcyjne. Pozbawienie treści przedżołądków w pierwotniaki spowodowało istotne obniżenie strawności masy organicznej i składników ścian komórkowych. Zwiększył się dopływ azotu do dwunastnicy, mimo że pierwotniaki w mniejszym stopniu niż bakterie uczestniczą w rozkładzie białka. W przypadku dużej ilości pasz treściwych w dawce defaunacja powodowała wzrost pH, co skutkowało mniejszą liczbą przypadków kwasicy, jak również ketozy. Defaunacja wpływa również na przemiany wodoru w żwaczu (Moss i wsp. 2000), podwyższając zużycie metanu na produkcję kwasu propionowego.

Ocena żywcowej „produkcji„ mikrobiologicznej nastęca duże trudności. Balcells i Perez (1999) sugerują użycie markerów moczowych pochodnych puryny, jako wskaźników metabolizmu kwasów nukleinowych. Idea ich zastosowania, jako wskaźnika syntezy mikrobiologicznej opiera się na dwóch zasadach:

- wysokiemu poziomowi kwasu nukleinowego lub puryny przypisuje się większość azotu nukleinowego mikroflory żywca wprowadzonego do dwunastnicy
- większość tych związków jest absorbowana, a tylko częściowo rozkładana i wydalana z moczem jako: allantoina, kwas moczowy, ksantyna i hipoksantyna.

Każdorazowa zmiana dawki pokarmowej wpływa na ilościowy stosunek bakterii do pierwotniaków, a jeżeli została zrobiona w sposób gwałtowny, prowadzi do drastycznego obniżenia liczebności drobnoustrojów, a nawet do ich obumarcia. Ponadto bardzo ważną funkcją pierwotniaków w żywcu jest ich udział w barierze przeciwko patogenom, bowiem wykazano , że ilość listerii w żywcu spadła o 25% (Newbold i wsp. 2001).

