

B. GUTOWSKI, W. BAREJ, A. TEMLER

OBSERWACJE PŁYNNEJ TREŚCI ŻWACZA JAŁÓWEK ŻYWIONYCH PASZĄ Z DODATKIEM MOCZNIKA

Z Katedry Fizjologii Zwierząt SGGW
Kierownik: prof. dr B. Gutowski

Od przeszło pół wieku wielu badaczy zajmuje się sprawą wykorzystania związków azotowych niebiałkowych przez przeżuwacze. W Polsce w latach dwudziestych badania w tym kierunku prowadzili Rostafiński (10), Dubiski (2), a ostatnio Feliński (3). Z wielu związków azotowych niebiałkowych, w doświadczeniach tego typu najczęściej używano mocznik. Zwierzęta utrzymywane na paszy z dodatkiem mocznika dawały dodatnie rezultaty produkcyjne. Np. Harris i Mitchell (5) przy takim żywieniu otrzymali dobre przyrosty jagniąt, a Wegner i współpr. (11) podobny efekt u jałówek. Badając mechanizm tego zjawiska Loosli i współpr. (7), a następnie Latteur (6) stwierdzili, że bakterie żwacza mogą syntetyzować wszystkie tzw. egzogenne aminokwasy ze związków azotowych niebiałkowych. Stwierdzili oni dalej, że ilość aminokwasów w żwaczu nie zależy od kombinacji związków azotowych w paszy, a zależy głównie od szybkości rozmnażania się bakterii, a ta od ilości i jakości źródeł energii, czyli od zestawu pasz. W przypadku mocznika Wegner i współpr., Latteur zauważyli mniejsze jego wykorzystanie przy wysokobiałkowej dawce pasz. Natomiast Noble i współpr. (8) stwierdzili, że dodatek metioniny, a Belasco (1), że dodatek glikozy zwiększa wykorzystanie mocznika. Gallup i współpr. (4) uważają również, że w dawce pokarmowej odpowiednio energetycznej i zaopatrzonej w składniki mineralne, mocznik posiada wartość biologiczną zbliżoną do wartości azotu z pokarmów, a nawet wyższą. Bakterie żwacza, jak twierdzą Repp i współpr. (9), Belasco, Feliński, wykorzystują mocznik dopiero po jego hydrolizie na amoniak. Stwierdzili oni także, że hydroliza mocznika w żwaczu zachodzi bardzo szybko, co jest przyczyną zatruc przy podawaniu większych dawek mocznika.

Większość wspomnianych prac o wykorzystaniu mocznika wykonane było na jagniętach i owcach. Prace Wegnera i współpr. wykonane na jałówkach wskazują, że procesy w żwaczu tych zwierząt zachodzą podobnie jak u owiec. W naszych doświadczeniach badaliśmy przemiany azotowe w płynnej treści żwacza jałówek po zastąpieniu części białka strawnego paszy — mocznikiem.

METODYKA

Do badań użyto trzech jałówek rasy nizinnej czarno-białej, w wieku dwu i pół lat z trwałymi przetokami żwacza. Jałówki trzymano w majątku doświadczalnym SGGW w Brwinowie. Badania trwały od 15. III. do 15. V. 1957 r. Doświadczenia obejmowały dwa okresy: wstępny — kontrolny i właściwy — doświadczalny, z których każdy poprzedzony był dwutygodniowym okresem przygotowawczym. W okre-

sach przygotowawczych wprowadzano nowy zestaw pasz, do których jałówki w tym czasie przystosowywały się. Żywienie zwierząt doświadczalnych było indywidualne. Karmienie odbywało się trzy razy dziennie o godz. 7³⁰, 14³⁰, 18⁰⁰, a pojenie raz dziennie o godz. 14³⁰ przed zadaniem karmy. Każda jałówka w okresie wstępnym otrzymywała dziennie: 4 kg siana z koniczyny, 1,5 kg mieszanki treściwej i 10 kg buraków pastewnych, co stanowiło według analizy chemicznej 6,16 kg suchej masy, 1,68 kg włókna surowego, 519 g białka strawnego surowego (w tym 355 g białka strawnego właściwego). Skład mieszanki treściwej był następujący: makuch lniany 15^{0/0}, bobik 15^{0/0}, otręby pszenne 30^{0/0}, owies-jęczmień 40^{0/0}.

W okresie doświadczalnym zastąpiono 30^{0/0} azotu białka strawnego surowego paszy — azotem mocznika. W tym celu odjęto z dziennej dawki pokarmowej 1,1 kg mieszanki treściwej, zastępując ją 50 g mocznika. Mocznik podawano po uprzednim zmieszaniu go z resztą mieszanki treściwej.

Dzienną dawkę paszową jałówek w okresie wstępnym i doświadczalnym przedstawiono w tabeli I.

Tabela I

Dzienna dawka paszowa jałówek

Godziny karmienia	Skład pasz w okresie wstępnym	Skład pasz w okresie doświadczalnym
7 ³⁰	4 kg siana z koniczyny	4 kg siana z koniczyny
14 ³⁰	1,5 kg miesz. treść.	0,4 kg miesz. treść. i 50 g mocznika
18 ⁰⁰	10 kg buraków pastewnych	10 kg buraków pastewnych

Do badania przemian azotowych, w płynnej treści żwacza jałówek, próbki treści do analiz pobierano przez trwałą przetokę żwaczową, trzy razy dziennie, tj. o godz. 7-ej na czczo, o godz. 11-ej i o godz. 14-ej. W okresie wstępnym treść pobierano i oznaczano trzykrotnie: 29. III., 1. IV., 4. IV., a w okresie doświadczalnym (przy żywieniu z dodatkiem mocznika) czterokrotnie: 24. IV., 27. IV., 30. IV., 3. V.

Pobrane próbki treści konserwowano toluenem i w buteleczkach z doszlifowanymi korkami przewożono natychmiast do laboratorium, gdzie oznaczano w niej azot (N) ogólny metodą mikro-Kiejdahla, azot białkowy metodą Bernsteina, azot aminowy metodą Van Slyke'a i wolne aminokwasy metodą dwukierunkowej, bibułowej chromatografii rozdzielczej. W celu oznaczania wolnych aminokwasów metodą chromatografii, наносzono alkoholowy roztwór 50-krotnie zagęszczonej treści żwacza na arkusz bibuły Whatmann 4 po uprzednim jej zbuforowaniu buforem o pH 12. Rozwijanie odbywało się w fenolu o pH 12, a następnie w butanolu o składzie: woda dest. : butanol : kw. octowy lodowaty (5 : 4 : 1). Chromatogramy wywoływano 0,2^{0/0} alkoholowym roztworem ninhydryny. Prolinę wykrywano wywoływaniem chromatogramów paskowych, acetonowym roztworem izatyny. Plamy identyfikowano przy użyciu standartowych roztworów aminokwasów. (Z przyczyn natury technicznej nie wykonano oznaczeń azotu aminowego w próbkach treści pobranych w okresie kontrolnym doświadczenia).

DOŚWIADCZENIA I OMÓWIENIE WYNIKÓW

A. Azot ogólny, azot białkowy, azot aminowy. Średnią zawartość N-ogólnego i N-białkowego w płynnej treści żwacza jałówek

żywionych paszą kontrolną przedstawiono w tabeli II. Każda z podanych wartości jest średnią z trzech oznaczeń.

Tabela II

Średnia zawartość N-ogólnego i N-białkowego w płynnej treści żwacza jałówek żywionych paszą kontrolną w mg%

Nr jałówki	N-ogólny			N-białkowy		
	godz. 7	godz. 11	godz. 14	godz. 7	godz. 11	godz. 14
I	35,66	56,40	30,10	16,64	32,24	18,72
II	39,78	50,92	35,97	23,54	28,43	21,84
III	29,23	38,37	29,01	13,21	27,06	13,90
Średnio	34,89	48,56	31,69	17,79	29,24	18,15

Jak wynika z danych zawartych w tabeli II o godz. 11-ej, czyli 3^{1/2} godz. po nakarmieniu zwierząt ilość N-ogólnego wzrasta średnio o 13,67 mg^{0/0} i N-białkowego o 11,45 mg^{0/0} w porównaniu z zawartością na czczo. Wzrost ten związany jest z wprowadzeniem do żwacza wraz z sianem dużej ilości azotu. O godz. 14-ej obserwowano spadek N-ogólnego średnio 16,87 mg^{0/0} i N-białkowego 11,09 mg^{0/0} w porównaniu z zawartością o godz. 11-ej. Spadek ten spowodowany jest przypuszczalnie przesunięciem treści do dalszych odcinków przewodu pokarmowego lub wchłonięciem pewnych form azotu ze żwacza.

Średnie zawartości N-ogólnego, N-białkowego oraz N-aminowego w płynnej treści żwacza jałówek żywionych paszą doświadczalną zestawiono w tabeli III (w mg^{0/0}).

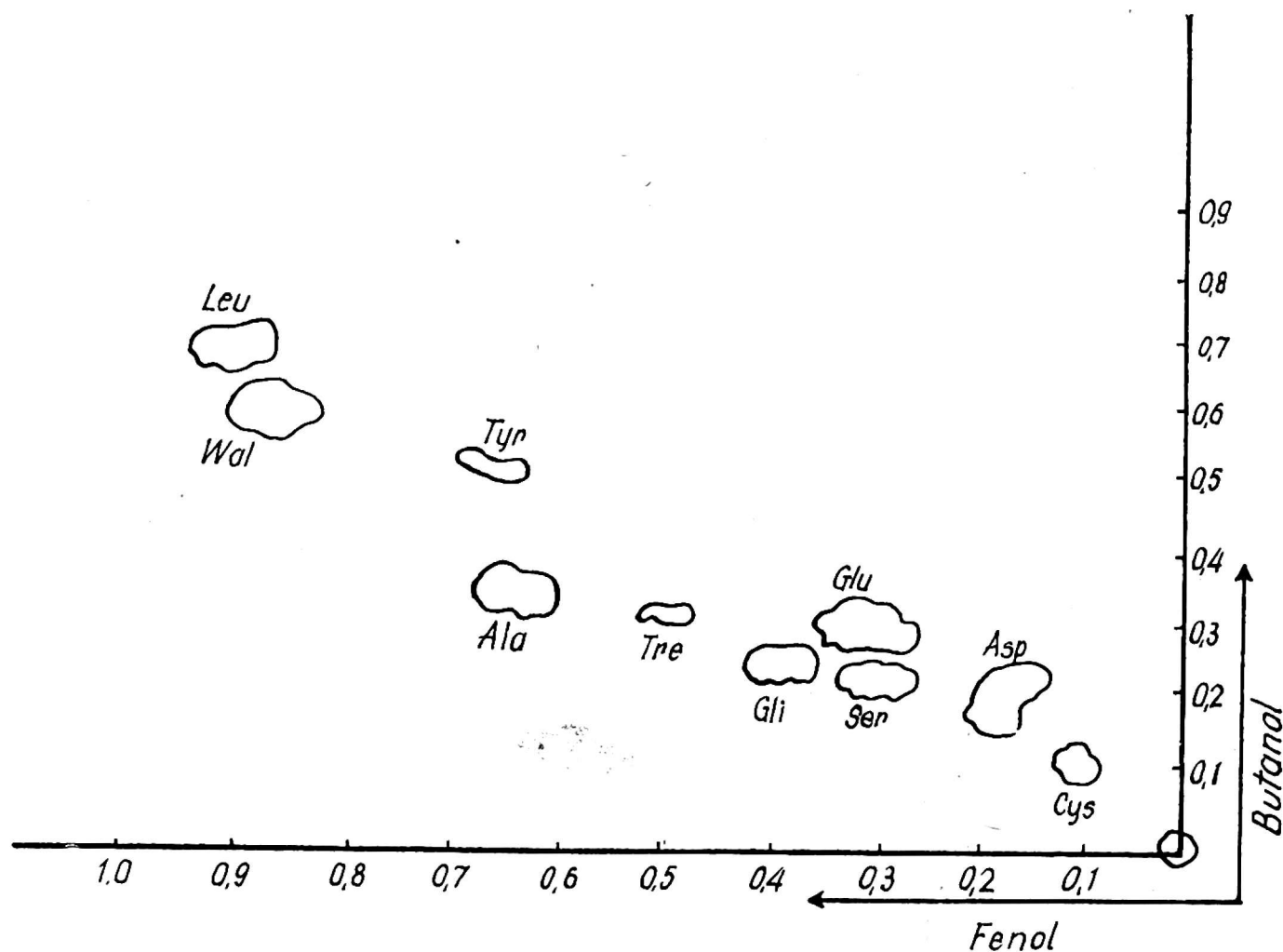
Tabela III

Nr jałówki	N-ogólny			N-białkowy			N-aminowy		
	godz. 7	godz. 11	godz. 14	godz. 7	godz. 11	godz. 14	godz. 7	godz. 11	godz. 14
I	29,90	33,47	29,10	22,62	26,50	21,06	5	5,6	4,5
II	32,42	37,94	32,22	23,57	25,17	24,65	6,1	7,0	5,3
III	29,80	33,51	28,03	18,46	22,36	19,24	5	6,5	5
Średnio	30,70	34,97	29,78	21,55	24,67	21,65	5,3	6,4	4,9

Jak wynika z tabeli III o godz. 11-ej zaobserwowano zwiększenie się ilości wszystkich trzech oznaczanych form azotu w porównaniu z godz. 7-ą. Wzrost ten był jednak mniejszy niż przy żywieniu kontrolnym. Wynosił średnio dla N-ogólnego 4,27 mg^{0/0}, dla N-białkowego 3,12 mg^{0/0} a dla N-aminowego 1,1 mg^{0/0}. O godz. 14-ej zaobserwowano podobnie jak przy żywieniu kontrolnym spadek zawartości azotu w płynnej treści żwacza jałówek w porównaniu z zawartością o godz. 11. Spadek ten wynosił śred-

nio dla N-ogólnego 5,19 mg⁰/₀, dla N-białkowego 3,02 mg⁰/₀, dla N-aminoowego 1,5 mg⁰/₀ i mógł być związany z przejściem azotu poza żwacz. Porównując ilości N-ogólnego i N-białkowego w płynnej treści żwacza jałówek przy żywieniu kontrolnym i doświadczalnym, widać, że poziom azotu ogólnego był nieco niższy przy żywieniu mocznikiem, natomiast poziom azotu białkowego o godz. 7-ej i 14-ej był wyraźnie wyższy w okresie doświadczalnym, przy żywieniu z dodatkiem mocznika, a więc w okresie, w którym zwierzęta otrzymywały mniejsze ilości białka w paszy. Fakt ten wskazuje na syntezującą działalność bakterii żwacza budujących z N-mocznika białko swego ciała.

B. W o l n e a m i n o k w a s y. Obserwacje wykazały, że ilość wolnych aminokwasów w płynnej treści żwacza jałówek przy żywieniu kontrolnym była zmienna. Ogółem zidentyfikowano 11 aminokwasów: kwas asparaginowy (Asp.), cystynę (Cys.), serynę (Ser), kwas glutaminowy (Glu), glikokol (Gli), treoninę (Tre), alaninę (Ala), prolinę (Pro), walinę (Wal), leucyny (Leu) i tyrozynę (Tyr). Z wyżej wymienionych aminokwasów we wszystkich próbkach występowały: kwas asparaginowy, seryna, kwas glutaminowy, treonina, prolina i alanina. Wszystkie aminokwasy występowały w niedużych ilościach, o czym świadczyła mała wielkość i nieintensywne zabarwienie poszczególnych plam. Najintensywniej barwiły się zawsze kwas glutaminowy i alanina. Na wykonane 24 chromatogramy 18 zawierało plamy wszystkich wykrywanych jedenastu aminokwasów.



Ryc. 1. Chromatogram aminokwasów z płynnej treści żwacza jałówek.

Fig. 1. Chromatogram of aminoacids in the liquid contents of the rumen of young cows.

Typowy chromatogram z płynnej treści żwacza badanych jałówek przedstawiono na rycinie 1. Obecność proliny można było tylko stwierdzić wywołaniem chromatogramów paskowych izatyną. Ani razu nie wykryto jej na chromatogramach dwukierunkowych, wywoływanych ninhydryną, co świadczy o występowaniu jej w bardzo małych ilościach.

Nie zauważono wyraźnych prawidłowości w zmianach ilości poszczególnych aminokwasów w treści żwacza w zależności od godziny pobierania. W niektórych próbkach najwięcej aminokwasów występowało na czczo, w innych o godz. 11-ej.

Chromatogramy w okresie żywienia doświadczalnego wyraźnie różniły się od chromatogramów z okresu żywienia kontrolnego.

Ilość poszczególnych wolnych aminokwasów w płynnej treści żwacza była mniejsza. Bardzo rzadko stwierdzano w próbkach treści obecność leucyn, waliny i tyrozyny. Często nie wykrywano też treoniny, cystyny, glikokolu, seryny. Aminokwasami występującymi zawsze były: kwas glutaminowy, kwas asparaginowy, alanina, prolina. Na 34 wykonanych chromatogramów tylko 5 zawierało 11 aminokwasów. Nie zauważono też żadnych prawidłowości w zmianach ilości poszczególnych aminokwasów w zależności od pory dnia. Mniejsza ilość aminokwasów przy żywieniu z dodatkiem mocznika związana jest prawdopodobnie z niskobiałkową dawką pokarmową. Wydaje się, że wolne aminokwasy w treści żwacza pochodzą głównie z hydrolizy białka. Mocznik jest wykorzystywany do syntezy aminokwasów (*Loosli i Latteur*), ale w ciele bakterii.

C. Ciężary jałówek. Podczas całego doświadczenia jałówki były systematycznie ważone zawsze przed pojeniem, o godz. 14¹⁵. Bardziej charakterystyczne zmiany wag w okresie całego doświadczenia przedstawia tabela IV.

Tabela IV

Ciężary jałówek w okresie doświadczenia

Data ważenia	jałówka I	jałówka II	jałówka III
7. III. 57	400	380	405
21. III. 57	395	380	400
8. IV. 57	380	360	390
17. IV. 57	380	358	385
27. IV. 57	395	360	400
8. V. 57	403	365	390
16. V. 57	405	380	390

Jak wynika z tabeli IV różnice ciężarów poszczególnych jałówek wahały się w granicach do 25 kg. Po podaniu mocznika (pierwszy raz podano 5. IV. 1957 r.) u wszystkich jałówek obserwowano spadek wagi ciała. Największy spadek zauważono u jałówki II. Powrót do wagi wyjściowej u jałówki tej nastąpił dopiero po 6 tygodniach od chwili podania mocznika, natomiast jałówki I i II wagę tę osiągnęły już po trzech tygodniach. Obniżenie wagi ciała po podaniu mocznika było wynikiem zmiany paszy i przystosowaniem się mikroorganizmów żwacza do jej wykorzystywania.

WNIOSKI

1. Ilość azotu ogólnego w płynnej treści zwacza jałówek przy żywieniu pełno-białkowym jest nieco wyższa niż przy żywieniu z dodatkiem mocznika.

2. Ilość azotu białkowego w płynnej treści zwacza jałówek na czczo wyższa była przy żywieniu z dodatkiem mocznika niż przy żywieniu kontrolnym, co świadczy o syntezie białka przez bakterie.

3. Wolnych aminokwasów w płynnej treści zwacza jest mniej przy żywieniu z dodatkiem mocznika, niż przy żywieniu dawką pełno-białkową.

4. Na podstawie powyższych wniosków, jak również na podstawie wagi ciała zwierząt można stwierdzić, że mocznik stanowi dobre źródło azotu dla dużych przeżuwaczy.

5. Nie zauważono objawów toksycznych przy zastąpieniu 30% białka strawnego paszy — mocznikiem.

B. Г у т о в с к и, В. Б а р е й, А. Т е м л е р

НАБЛЮДЕНИЯ НАД ЖИДКИМ СОДЕРЖИМЫМ РУБЦА ТЁЛОК, КОРМЛЕННЫХ
ФУРАЖЕМ С ДОБАВКОЙ МОЧЕВИНЫ

С о д е р ж а н и е

Исследования проводились на трех телках низменной черной породы, с постоянными сристулами рубца. Целью исследований были наблюдения азотного обмена в жидком сристулами рубца телок, кормленных фуражем с добавкой мочевины. Исследования состояли из двух фаз: первой контрольной и второй — экспериментальной. В экспериментальной фазе 30% белкового азота свежего фуража заменялось соответствующим количеством азота мочевины. В жидком содержимом рубца определяли общий азот, белковый азот, аминовый азот, а также свободные аминокислоты. Обнаружено, что в 3½ часа от утренней кормы телок сеном увеличивалось количество азота общего, белкового и аминового, и то как в контрольной, так и в экспериментальной фазе. Зато в 14 часов, то есть в 6½ часа от кормы отмечено снижение перечисленных форм азота, что по видимому объясняется с одной стороны присвоением части азота в рубце, с другой — передвижением содержимого в другие сегменты пищеварительного тракта. Сравнивая уровень общего азота у телок кормленных контрольным и экспериментальным фуражем, обнаружено его меньшее количество при кормлении экспериментальным фуражем. Количество белого азота на тощак в 7 часов было больше у телок кормленных фуражем с добавкой мочевины, что является доказательством синтетирующей деятельности бактерий рубца.

В жидком содержимом рубца в общем определено одиннадцать свободных аминокислот: аспарагиновую кислоту, глутаминовую кислоту, цистин, тирозин, валин, леуцин. Все эти кислоты обнаружены в небольших количествах. Наиболее интенсивное окрашивающееся пятно получилось при глутаминной кислоте, а затем аланине. В контрольной фазе во всех хроматограмах обнаружено аспарагиновую кислоту, серин, глутаминовую кислоту, треонин, пролин и аланин. В экспериментальной фазе количество свободных аминокислот в жидком содержимом рубца значительно уменьшалось. Аминовые кислоты, которые всегда были на лицо — это аспарагиновая кислота. Не обнаружено каких либо регулярных явлений в изменении количества аминокислот в зависимости от времени дня, и то как в контрольной, так и экспериментальной фазе наблюдений.

B. Gutowski, W. Barej, A. Temler

OBSERVATIONS ON THE LIQUID CONTENT OF THE RUMEN OF HEIFERS
FED FODDER WITH THE ADDITION OF UREA

Summary

Experiments were carried out on three heifers cows of low-land race (black-white) with permanent fistulas of the rumen. The aim of the study was the observation of the nitrogen metabolism in the liquid content of the rumen in heifers fed by means of fodder with the addition of urea. Experiments comprised two periods: first — control, and the second — experimental. In the experimental period 30% of nitrogen of raw protein of fodder was substituted by the proper amount of urea nitrogen. In the liquid content of the rumen total nitrogen, protein nitrogen, amine nitrogen and free aminoacids were estimated. It was found that in 3½ hours after morning feeding of the heifers (giving them hay) there appeared increase of total N, protein-N and amine-N both in the control as well as during the experimental period. But at two o'clock P. M. or 6½ hours after feeding decrease of the above mentioned forms of nitrogen was noted caused probably by absorption of a part of nitrogen in the rumen and also by passing of the contents to further parts of the digestive tract. Comparing the level of total nitrogen in heifers fed on control and experimental fodder it was noticed that there was a smaller amount of nitrogen during experimental fodder feeding. The amount of protein nitrogen before feeding at 7 A. M. was higher in heifers fed on fodder with the addition of urea which proves the synthetizing action of bacteria of the rumen.

In the liquid contents of the rumen 11 free aminoacids were indentified: aspart acid, glutamic acid, cystine, serine, glyocol, treonine, alanine, proline, tyrozine, valline, leucyne. All the aminoacids appeared in small amounts. Glutamic acid formed the most intensively coloured spot then followed alanine. In the control period the following aminoacids appeared on all chromatograms: aspart acid, serine, glutamic acid, treonine, proline and alanine. In the experimental period decreased. The following aminoacids were always present: aspart acid, glutamic acid, alanine, and proline. Normality in the changes of the amounts of the different aminoacids depending on the time of the day was not noted during the control period as well as during the experimental period.

PIŚMIENNICTWO

1. Belasco I. J.: *J. Anim. Sc.*, 1954, 13, 4, 739. — 2. Dubiski J.: *Rocz. Nauk Roln.*, 1928, 19, 113. — 3. Feliński L.: *Rocz. Nauk Roln.*, 1957, 71-B-4, 615. — 4. Gallup W. D., Whitehair C. K., Bell M. C.: *J. Anim. Sc.*, 1954, 13, 3, 594. — 5. Harris L. E., Mitchell H. H.: *J. Nutrition*, 1941, 22, 167. — 6. Latteur J.: *Przegl. Nauk. Lit. Zoot.*, 1955, 2, 41. — 7. Loosli J. K., Williams H. H., Ferris F. H., Maynard L. A.: *Science*, 1949, 110, 144. — 8. Noble R. L., Pope L. S., Gallup W. D.: *J. Anim. Sc.*, 1955, 14, 1, 132. — 9. Repp W. W., Hale W. H., Wise Burroughs: *J. Anim. Sc.*, 1955, 14, 4, 901. — 10. Rostafiński J.: *Rocz. Nauk Roln.*, 1926, 16, 1.

11. Wegner M. J., Bootg A. N., Bohstedt G., Hart E. B.: *J. Dairy Sc.*, 1941, 24, 1, 51.

Otrzymano dnia 9. VII. 1958 r.