

**Dariusz Jędrejek, Anna Stochmal**

*Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa - Państwowy Instytut Badawczy  
w Puławach*

**NOWE SKŁADNIKI ROŚLINNE W ŻYWIENIU ZWIERZĄT  
PRZEŻUWAJĄCYCH (PROJEKT RUMEN-UP)\***

**Wstęp**

RUMEN-UP (Ruminal Metabolism Enhanced Naturally Using Plants) to nazwa europejskiego projektu badawczego promującego ekoroślnictwo, zdrową żywność oraz bezpieczne metody hodowli zwierząt gospodarskich. Całość przedsięwzięcia sfinansowano ze środków Unii Europejskiej i wykonano w ramach V Programu Ramowego o nazwie „Quality of Life and Management of Living Resources”. Projekt miał za zadanie określenie możliwości wykorzystania materiałów roślinnych – ziół, ekstraktów roślinnych itp., jako suplementów diety dla złagodzenia lub przewyciężenia zaburzeń metabolicznych u przeżuwaczy oraz ograniczenia niekorzystnego oddziaływania produktów ubocznych fermentacji mikroflory żwacza na środowisko naturalne (52). Składniki roślinne mogą stanowić także bezpieczną alternatywę dla dodawanych do pasz środków chemicznych i antybiotyków (52, 53).

Produkcja zwierzęca na terenie UE poddawana jest silnym naciskom ze strony organizacji społecznych, ekologicznych i politycznych wymuszających ograniczenie szkodliwego oddziaływania odpadów poprodukcyjnych na środowisko oraz poprawę zdrowotności i warunków bytowych zwierząt. Jednocześnie te same instytucje kładą duży nacisk na produkcję zdrowej, naturalnej i ekologicznej żywności bez konserwantów i polepszaczy oraz wprowadzenie bezpiecznych, nie mających skutków ubocznych, stymulatorów wzrostu zastępujących antybiotyki, których używanie w tej roli zostało zakazane na terenie UE wraz z początkiem 2006 r. (12, 53).

Celem projektu RUMEN-UP było znalezienie możliwych do przyjęcia, pod względem ekonomicznym i społecznym, rozwiązań problemów hodowców zwierząt przeżuwających (52). Dzięki badaniom prowadzonym w ramach tego przedsięwzięcia w jądłospisie hodowanego przez człowieka bydła i owiec, mogą się wkrótce pojawić naturalne składniki roślinne (12). Byłaby to swoista fitoterapia dla zwierząt przeżuwających.

---

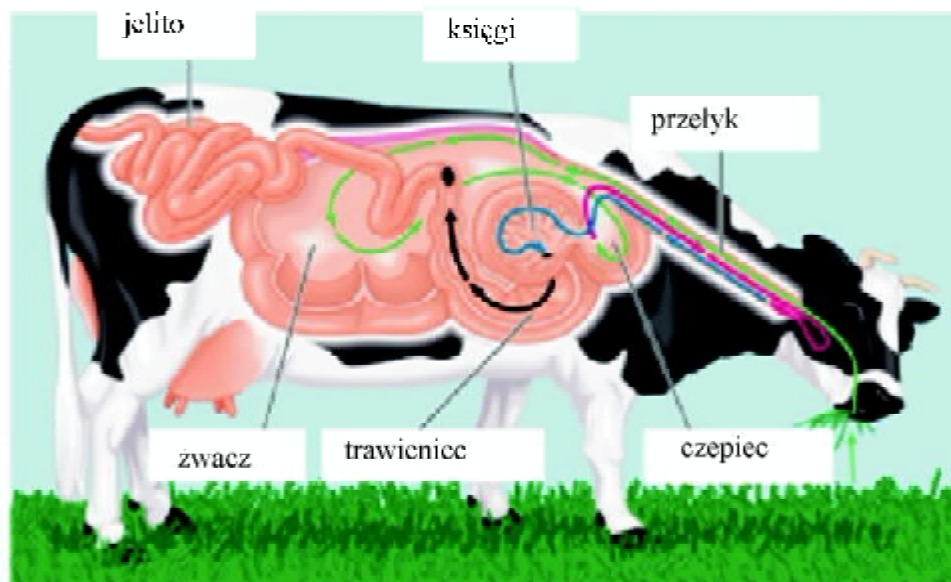
\* Opracowanie wykonano w ramach zadania 2.6 w programie wieloletnim IUNG - PIB

### Charakterystyka układu pokarmowego przeżuwaczy

Charakterystyczną cechą zwierząt przeżuwających, tj. bydła, owiec, kóz itp. jest wielokomorowy żołądek, składający się u większości przedstawicieli z 4 komór: żwacza, czepca, ksiąg oraz trawieńca. Pierwszy z trzech tzw. przedżołądków – żwacz – umożliwia przeżuwaczom trawienie materiałów roślinnych, których głównym budulcem jest polisacharyd – celuloza. Pozostałe, nieprzeżuwające zwierzęta roślinożerne nie są zdolne do wykorzystywania błonnika (celulozy) jako źródła pożywienia.

Żwacz to ogromny organ (u bydła osiągający pojemność nawet 150 dm<sup>3</sup>), będący właściwie inkubatorem symbiotycznych bakterii i pierwotniaków dysponujących całą gamą enzymów trawiennych (w tym celulolitycznych); (21). Mikroorganizmy zasiedlające go są wysoce wyspecjalizowane i nie występują w przyrodzie poza przewodem pokarmowym zwierząt przeżuwających (17). Jednym z głównych produktów przebiegającej w żwaczu fermentacji pokarmu roślinnego są lotne kwasy tłuszczowe (octowy, butyrowy, propionowy), stanowiące podstawowe źródło energii dla gospodarza. Źródłem białek dla przeżuwaczy są głównie komórki symbiotycznych mikroorganizmów, które zostają strawione, a ich aminokwasy są absorbowane i wykorzystywane do budowy ich własnych polipeptydów. W kontekście ewolucji ssaków roślinożernych żwacz stanowi wysoce wydajny organ, umożliwiający im odżywanie się nie zwykle ubogą roślinnością, jaką są m.in. trawy (21).

Proces fermentacji bakteryjnej w żwaczu posiada jednak pewne ograniczenia i niedoskonałości. Naturalną konsekwencją przemian beztlenowych (rozkładu celulozy) w przewodzie pokarmowym przeżuwaczy jest produkcja palnej mieszanki złożo-



Rys. 1. Przewód pokarmowy przeżuwacza

Źródło: <http://www.zfz.wp.ap.siedlce.pl/ukpok.ppt> (23).

nej z metanu, dwutlenku węgla i wodoru, która jest wydalana do atmosfery. Metan to silnie działający gaz cieplarniany. Pod tym względem zwierzęta przeżuwające, nie tylko te udomowione, przyczyniają się do niszczenia środowiska naturalnego (efekt cieplarniany). Niezwykle uciążliwą „niedoskonałością” układu trawiennego przeżuwaczy jest niski poziom przyswajania białek dostarczanych w pokarmie. Wiąże się to ze znacznymi stratami azotu białkowego, który zostaje wydalony z organizmu. Jest to problem zarówno o podłożu ekonomicznym (konieczność stosowania dodatków białkowych do pasz), jak i środowiskowym (niekorzystne oddziaływanie na środowisko bogatych w azot wydaliny). Ponadto zaburzenia fermentacji bakteryjnej u przeżuwaczy wywołują szereg bolesnych i niekiedy niebezpiecznych dolegliwości trawiennych, występujących wyłącznie u tej grupy zwierząt, tj. wzdęcia żwacza i kwasicę mleczanową (21).

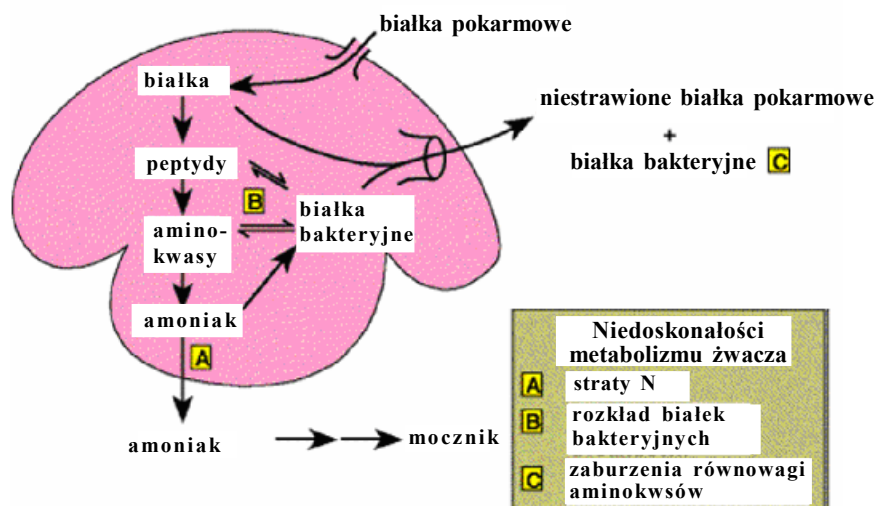
### **Przemiany białek w żwaczu**

**Trawienie białek.** Wydajne wykorzystywanie białek wchodzących w skład pożywienia stanowi kluczową kwestię żywienia konsumenckich zwierząt przeżuwających (47). Trafiając do żwacza 70-80% polipeptydów jest rozkładanych poprzez peptydy i aminokwasy do amoniaku i krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych (SCFA); (4). Powstające przy zbyt szybkim rozkładzie białek znaczne ilości amoniaku ( $\text{NH}_3$ ) nie mogą być w pełni wykorzystane przez bakterie żwacza. Amoniak ze względu na swoją toksyczność, po przetworzeniu w wątrobie na mocznik, wydalany jest z organizmu, co stanowi oczywistą stratę azotu pochodzącego z pożywienia (21). Niekontrolowany i zbyt szybki rozkład białek przez mikroorganizmy żwacza jest procesem nieekonomicznym, ograniczającym ilość polipeptydów dostępnych dla organizmu gospodarza. Jest to niezwykle istotne przy intensywnych systemach produkcji zwierzęcej opartych na wysokobiałkowych dietach (4). Niska wydajność przyswajania związków azotowych u przeżuwaczy wiąże się ze stratami ekologicznymi i ekonomicznymi, gdyż wywołuje zjawisko stresu metabolicznego u zwierząt oraz obciąża środowisko naturalne bogatymi w azot odpadami (21).

Ograniczenie i spowolnienie procesu rozkładu białek przez mikroflorę żwacza prowadzi do wzrostu produktywności zwierząt oraz zmniejszenia niekorzystnych skutków ubocznych (46). Wiele różnych gatunków mikroorganizmów (bakterii, grzybów, pierwotniaków), korzystających z całej gamy enzymów proteolitycznych, przeprowadza początkowy etap proteolizy (27, 30). Zróżnicowanie obecnych w żwaczu drobnoustrojów, dysponujących enzymami rozkładającymi białka, uniemożliwia kierunkową manipulację wstępnym etapem trawienia polipeptydów (21).

Dalsze procesy rozkładu peptydów i aminokwasów związane są z bardziej określonymi i poznanymi populacjami mikroorganizmów. Jedynymi powszechnie dostępnymi metodami hamowania ich aktywności proteolitycznej są antybiotyki i jonofory (monenzyna, salinomycyna, tetronazyna); (21) dodawane do pasz i ograniczające ich rozwój w żwaczu, a przez to spowalniające metabolizm białek, peptydów i aminokwasów (47, 51).

## PRZEMIANY BIAŁEK W ŻWACZU



Rys. 2. Przemiany białek w żwaczu

Niedoskonałości metabolizmu żwacza obejmują: szlak rozkładu białek, prowadzący od białek do amoniaku, szybkie przekształcenia białek bakteryjnych oraz zubożony skład aminokwasowy białek wychodzących ze żwacza.

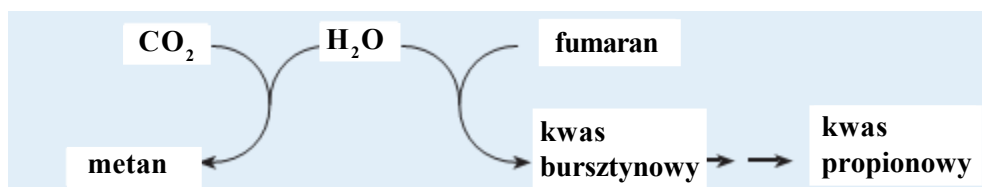
Źródło: [http://www.rowett.ac.uk/rumen\\_up](http://www.rowett.ac.uk/rumen_up) (21).

Wprowadzony przez UE zakaz stosowania antybiotykowych stymulatorów wzrostu zwrócił uwagę na potrzebę znalezienia zastępczych sposobów promujących wydajne przyswajanie azotu u przeżuwaczy. Rośliny i wyciągi roślinne stanowią obiecującą alternatywę (52). Badania roślin i ich metabolitów pod kątem wykorzystania jako środków spowalniających rozkład białek w żwaczu dotyczyły przede wszystkim gatunków bogatych w taniny (garbniki). Związki te powodują jednak powstawanie niekorzystnych efektów ubocznych, m.in. spadek wydajności trawienia celulozy. Z tego względu kontynuuje się poszukiwania bardziej użytecznych inhibitorów procesu proteolizy polipeptydów u gospodarskich zwierząt przeżuwających. Nowe, naturalne substancje roślinne spełniające to kryterium mogą prowadzić do bardziej akceptowalnych metod hamowania procesu powstawania amoniaku w żwaczu (21).

**Rozkład białek bakteryjnych.** Wydajność trawienia celulozy przez bakterie celololityczne zamieszkujące przewód pokarmowy przeżuwaczy może zostać zwiększona poprzez ograniczenie populacji orzęsionych pierwotniaków żwacza. *Protozoa* pożerają ogromne ilości symbiotycznych bakterii żwacza i białek przez nie rozkładanych, zmniejszając w ten sposób (nawet o 50%) całkowitą pulę białek bakteryjnych uzyskiwanych w procesie fermentacji (3, 55). Zahamowanie rozwoju populacji pierwotniaków zamieszkujących przewód pokarmowy bydła i owiec ograniczy ilość wytwarzanego  $\text{NH}_3$  oraz zminimalizuje konieczność wzbogacania diety zwierząt białkami. Supresyjne właściwości w stosunku do *Protozoa* wykazano u niektórych gatunków roślin tropikalnych (32, 54), zwłaszcza bogatych w saponiny (29).

### Metan – produkt uboczny fermentacji bakteryjnej

Metan jest gazem cieplarnianym, który zatrzymuje promieniowanie podczerwone w atmosferze ponad dwieście dwadzieścia razy silniej niż dwutlenek węgla (6). W ciągu ostatniego półwiecza jego stężenie w atmosferze podwoiło się i w bardzo szybkim tempie stale rośnie (20). Przeżuwacze stanowią jedno z głównych źródeł metanu pochodzenia naturalnego. Oszacowano, że znaczne ograniczenie produkcji metanu przez udomowione zwierzęta przeżuwające ustabilizuje jego stężenie w atmosferze (20, 26).



Rys. 3. Alternatywne szlaki wykorzystywania H<sub>2</sub> przez mikroorganizmy żwacza  
Źródło: [http://www.rowett.ac.uk/rumen\\_up](http://www.rowett.ac.uk/rumen_up) (21).

Na konferencji w Kyoto w grudniu 1997 r., dotyczącej zmian klimatu i przeciwdziałania globalnemu ociepleniu, zobowiązano większość najbardziej uprzemysłowionych krajów świata do zmniejszenia emisji gazów cieplarnianych. Traktat wszedł w życie 16 lutego 2005 roku. Państwa, które go ratyfikowały muszą zredukować do 2012 roku własną emisję dwutlenku węgla, metanu, tlenku azotu, perfluorowęglowodorów i fluorowanych alkanów – gazów powodujących efekt cieplarniany, o co najmniej 5% poziomu emisji z 1990 r. (43).

Nie udało się znaleźć chemicznego inhibitora aktywnie hamującego (co najmniej kilka dni) tworzenie metanu (CH<sub>4</sub>) przez bakterie żwacza (22, 28, 36, 50). Jedyną skuteczną i powszechnie stosowaną metodą redukcji powstawania CH<sub>4</sub> w procesie fermentacji mikroflory żwacza jest stosowanie antybiotyków i jonoforów – związków chemicznych zdolnych do transportowania jonów przez błonę lipidową komórki i ograniczających wzrost drobnoustrojów dostarczających H<sub>2</sub> bakteriom metanogennym. Dodatek tych związków do pasz zmniejsza produkcję metanu przez przeżuwacze maksymalnie o 25% (36, 50).

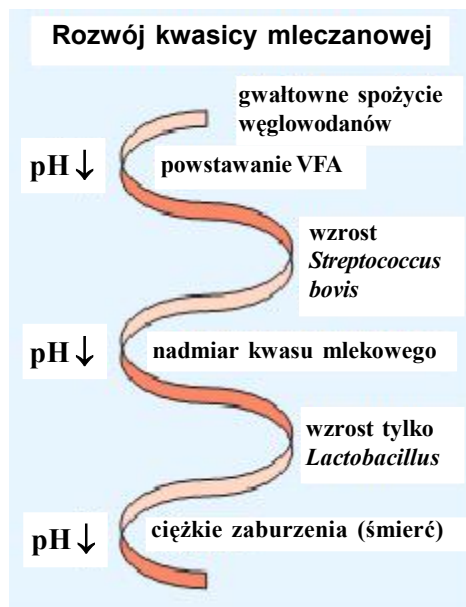
Niektóre przebadane wyciągi roślinne, charakteryzujące się wysoką zawartością flawonoidów, oddziałują na fermentację mikroorganizmów żwacza, zmniejszając wytwarzanie przez nie CH<sub>4</sub> (8, 9). Podobne właściwości odkryto u roślin zawierających taniny (19, 37, 42). Efektywność oddziaływania na przebieg fermentacji celulozy metabolitów roślinnych, tj. saponin, flawonoidów i tanin, różni się w zależności od ich pochodzenia, rodzaju i koncentracji (38).

### Zaburzenia trawienia

**Wzdęcie żwacza** polega na powstawaniu i zaleganiu w żwaczu trwałej piany uniemożliwiającej uchodzenie gazów tworzonych w procesie fermentacji bakteryjnej

(21). Stan ten jest bolesnym i niekiedy niebezpiecznym zaburzeniem u zwierząt przeżuwających. Gromadzący się w nadmiarze gaz uciska na przeponę i narządy wewnętrzne, powodując zaburzenia w krążeniu i oddychaniu, co przy braku właściwej interwencji może doprowadzić nawet do śmierci. Przyczyny powstawania tego zjawiska nie są jeszcze w pełni poznane. Występowaniu choroby sprzyja karmienie zwierząt mokrymi roślinami motylkowatymi, paszami objętościowymi o niskiej zawartości włókna surowego i wysokim poziomie białka oraz lekkostrawnymi węglowodanami. Czasem piana powstająca w żwacu może być pochodzenia bakteryjnego (10, 15). Zapobieganie wzdęciom żwacza polega przede wszystkim na właściwym żywieniu, unikaniu pastwisk i pasz powodujących wzdęcia (13). Poszukuje się nowych środków zapobiegania i leczenia tego zaburzenia; rośliny i zawarte w nich związki mogą stanowić w tym nieocenioną pomoc.

**Kwasica mleczanowa.** Niestrawność kwaśna, nazywana również kwasicą żwacza lub lactoacidozą, jest występującym u przeżuwaczy zatruciem wywołanym powstałymi w żwacu produktami przemian węglowodanów (41). Schorzenie występuje po przekarmieniu lub przypadkowym zjedzeniu dużych ilości pasz zasobnych w łatwostrawne węglowodany. Szczególnie częste zachorowania obserwuje się po nagłym przejściu w żywieniu zwierząt z bogatej w celulozę paszy objętościowej na paszę o dużej zawartości prostszych węglowodanów. Następstwem tych zakłóceń jest szybkie wytwarzanie i gromadzenie się w żwacu dużych ilości kwasu mlekowego. Kwas ten powoduje spadek poniżej norm fizjologicznych pH płynu żwacza (nawet do 3,8) i ciężkie zaburzenia.



Rys. 4. Łańcuch zdarzeń prowadzący do ostrej kwasicy mleczanowej

Źródło: [http://www.rowett.ac.uk/rumen\\_up](http://www.rowett.ac.uk/rumen_up) (21).

W żwaczu wskutek niskiego pH znikają prawie zupełnie pierwotniaki i bakterie celulolityczne, których miejsce zajmują bakterie kwasu mlekowego (56). Ich działaniu przypisuje się wytwarzanie obok kwasu mlekowego również toksycznych amin, będących produktami przemiany białek. Tworzenie się dużych ilości tych związków powoduje dalszy spadek pH (kwas mlekowy ma silniejsze właściwości kwasowe niż kwasy tłuszczowe). Organizm stara się wyrównać powstałe zaburzenia przez wzmożony transport związków zasadowych. Przekroczenie granic możliwości neutralizacji stężenia jonów  $H^+$  w przedżołądkach przez nadmiar kwasu mlekowego prowadzi do ogólnej kwasicy (41). Odtworzenie właściwego przebiegu fermentacji może stać się niemożliwe i doprowadzić nawet do śmierci zwierzęcia. Jednak w większości przypadków przeżuwacze cierpią na kwasice subkliniczne, które są bolesne, ale nie zagrażają ich życiu. W doraźnych przypadkach dla odtworzenia właściwego odczynu pH żwacza podaje się zwierzętom roztwory buforów chemicznych (10). Znacznie lepszym rozwiązaniem byłaby możliwość wykorzystania naturalnych, roślinnych substancji jako selektywnych inhibitorów rozwoju bakterii mleczanowych, bez uciekania się do pomocy antybiotyków.

### **Antybiotyki jako stymulatory wzrostu w produkcji zwierzęcej**

Od połowy XX wieku antybiotyki są szeroko stosowane w produkcji zwierzęcej na całym świecie. Dodawane w niewielkich dawkach do pasz przeznaczonych dla zwierząt gospodarskich, w tym przeżuwaczy, mogą poprawić wskaźniki wzrostu masy ciała, sprzyjając lepszemu stanowi zdrowia i większej żywotności, obniżając liczbę padnięć, ograniczając konieczność stosowania leczenia oraz minimalizując „niedoskonałości” metabolizmu przeżuwaczy (16). Jednakże od pewnego czasu organizacje konsumenckie, ekologiczne i rządowe domagają się eliminowania promowania i stosowania antybiotykowych dodatków żywieniowych trafiających w mięsie lub mleku na nasze stoły (52). Od stycznia 2006 roku obowiązuje na terenie UE całkowity zakaz stosowania w paszach dla zwierząt antybiotyków jako stymulatorów wzrostu (12, 39, 52). Obecnie ich dodawanie jest dopuszczalne wyłącznie w celach weterynaryjnych (16). W przypadku bydła i owiec stosowanie antybiotyków było mniej rozpowszechnione i dlatego skutki zakazu nie są aż tak wielkie, jak w przypadku hodowców trzody chlewnej i drobiu (52). Niemniej jednak uważa się, że w wyniku wycofania antybiotykowych stymulatorów wzrostu również producenci zwierząt przeżuwających w Europie znaleźli się w niekorzystnej sytuacji konkurencyjnej, ponieważ w innych krajach, takich jak USA, Chiny czy Rosja, ograniczeń nie wprowadzono.

Brak jest jednak jednoznacznego uzasadnienia naukowego decyzji o wycofaniu antybiotyków z żywienia zwierząt konsumpcyjnych (49). Część naukowców uważa, że podawanie zwierzętom antybiotykowych stymulatorów wzrostu znacząco obniża skuteczność antybiotykoterapii chorób bakteryjnych człowieka. Wyniki badań przedstawione w ostatnio opublikowanych pracach wskazują, że rola podawanych zwierzętom antybiotyków w zwiększaniu lekooporności bakterii u nich występujących jest mniejsza niż uprzednio sądzono (40). Niemniej jednak w aspekcie ochrony zdrowia

publicznego stosowanie antybiotyków u zwierząt użytkowych może mieć wielokierunkowe i ciągle nie w pełni wyjaśnione działanie, co jest związane m.in. ze złożonością przyczyn i źródeł pojawiania się bakterii antybiotykoopornych (39).

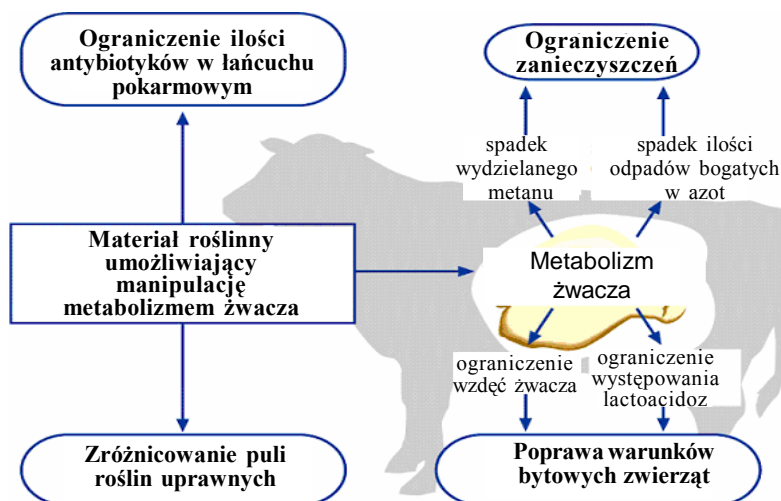
Obecnie dąży się do oparcia nowych strategii manipulacji metabolizmem przeżuwaczy na wykorzystaniu bezpiecznych, nieakumulujących się związków pochodzenia naturalnego. W ramach projektu RUMEN-UP badano możliwość stosowania materiału roślinnego – ziół, wyciągów z roślin, w tym olejków eterycznych, a także innych substancji jako bezpiecznej alternatywy dla dodawanych do pasz antybiotykowych środków przeciw drobnoustrojom.

### Główne cele projektu RUMEN-UP

Założenia projektu RUMEN-UP obejmowały:

- zmniejszenie emisji metanu i azotu przez udomowione zwierzęta przeżuwające (produkty te są szkodliwe dla środowiska i zwierząt, które tracą ważne źródła energii);
- złagodzenie stresu żywieniowego (zaburzenia trawienia: kwasica i wzdęcia żwacza);
- znalezienie alternatywy dla antybiotyków i środków chemicznych stosowanych jako dodatki do pasz (53).

Sukces projektu może przyczynić się również do zwiększenia różnorodności gatunków roślin uprawianych na terenie UE oraz zwiększenia konkurencyjności europejskich produktów rolnych (mięsa oraz mleka) uzyskiwanych ze zwierząt, w żywieniu których nie stosuje się antybiotykowych stymulatorów wzrostu.



Rys. 5. Diagram wyjaśniający główne cele projektu RUMEN-UP

Źródło: [http://www.rowett.ac.uk/rumen\\_up](http://www.rowett.ac.uk/rumen_up) (21).



### Partnerzy projektu RUMEN-UP

Projekt RUMEN-UP, będąc pod patronatem Komisji Europejskiej, był przedsięwzięciem partnerskim skupiającym naukowców z kilku krajów europejskich, m.in. Wielkiej Brytanii, Niemiec, Hiszpanii i Szwajcarii. Projekt zaangażował zarówno badaczy z uniwersytetów europejskich, jak i przedsiębiorstw komercyjnych. W ramach skoordynowanego programu badawczego połączono wiedzę oraz umiejętności czterech akademickich grup badawczych oraz dwóch koncernów biotechnologicznych.

Konsorcjum wykonawcze projektu stanowiło 6 partnerów:

1. Rowett Research Institute w Aberdeen, Wielka Brytania.
2. Uniwersytet w Hohenheim, Niemcy.
3. Uniwersytet w León, Hiszpania.
4. Uniwersytet w Reading, Wielka Brytania.
5. Alltech, Irlandia.
6. CRINA, Szwajcaria.

Koordynatorem tego 5-letniego projektu był dr John Wallace z Rowett Research Institute w Wielkiej Brytanii (53).

### Plan i przebieg projektu RUMEN-UP

Całość projektu była podzielona na trzy zasadnicze etapy:

**Etap 1** trwał 12 miesięcy. Jego głównym celem było zgromadzenie odpowiedniej ilości materiału roślinnego do testów laboratoryjnych i prowadzonych na zwierzętach. Rośliny i ekstrakty roślinne pochodziły z uniwersyteckich zbiorów botanicznych, kolekcji narodowych i lokalnych oraz zbiorów dwóch komercyjnych partnerów. Wstępnej selekcji materiału roślinnego dokonano na podstawie:

- informacji o zawartych metabolitach wtórnych oraz tradycyjnym ich użyciu (medycyna ziołowa),
- własności agronomicznych i odżywczych roślin,
- możliwości uprawy na terenie Europy.

Zakończeniem tej fazy była konferencja partnerów projektu tworzących konsorcjum wykonawcze i międzynarodowej grupy botaników, której celem był ostateczny wybór materiału roślinnego do badań, określenie składu oraz koncentracji zastosowanych diet.

**Etap 2** obejmował skrining zebranych próbek roślinnych pod kątem ich efektywności w spowalnianiu proteolizy, hamowaniu produkcji  $\text{CH}_4$ , rozwoju pierwotniaków, kwasicy mleczanowej i wzdęć żwacza. Potwierdzono brak niekorzystnego oddziaływania potencjalnie użytecznych roślin na ogólny przebieg fermentacji bakteryjnej w żwaczu, tj. produkcję lotnych kwasów tłuszczowych i efektywność trawienia celulozy.

Dla określenia wpływu materiału roślinnego na metabolizm i ekosystem układu pokarmowego przeżuwaczy zastosowane techniki badawcze obejmowały inkubację próbek z płynami pobranymi ze żwacza owiec i bydła w warunkach *in vitro* z zastoso-

waniem diet typowych dla różnych systemów produkcji zwierzęcej w Europie. Dokonywano pomiarów składu i objętości tworzonych gazów, niskocząsteczkowych produktów fermentacji (SCFA – rozgałęzionych, krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych i amoniaku) oraz białek syntetyzowanych przez mikroorganizmy symbiotyczne. Niezależnie określono wpływ próbek na *Protozoa*, trawienie białek, rozwój kwasicy oraz wzdęcia żwacza. Za ten etap badań odpowiedzialne były cztery akademickie grupy badawcze wchodzące w skład konsorcjum.

Przeprowadzone analizy umożliwiły zidentyfikowanie i wyeliminowanie materiałów roślinnych, które były ogólnie nieefektywne lub toksyczne. Stworzono w ten sposób krótką listę roślin i ich metabolitów o największym potencjale oddziaływania na przebieg fermentacji u przeżuwaczy.

**Etap 3** obejmował szczegółowe badania najbardziej obiecujących i potencjalnie użytecznych roślin w kategoriach mikrobiologicznej odpowiedzi i chemicznej natury składników aktywnych. Cztery akademickie grupy badawcze były odpowiedzialne za analizy *in vitro* dotyczące określenia reakcji na dawkę substancji, czasu efektywnego działania i możliwości nabywania oporności adaptacyjnej przez mikroorganizmy żwacza. Celem tych szczegółowych analiz było wyselekcjonowanie dwóch lub trzech roślin, lub wyciągów z roślin, do testów *in vivo* obejmujących ostatnie 6 miesięcy trwania projektu. Badania na zwierzętach (zwierzętami testowymi były owce) dotyczące, m.in. przyswajalności, toksyczności i smakowitości wyselekcjonowanych roślin zlecono naukowcom z Uniwersytetu w León (Hiszpania) i Uniwersytetu w Hohenheim (Niemcy).

Wpływ większości roślin oraz ich ekstraktów na przebieg fermentacji opiera się głównie na modulacji populacji drobnoustrojów zamieszkujących żwacz. Oddziaływanie badanych roślin na różne gatunki mikroorganizmów oznaczano z użyciem zarówno klasycznych metod hodowli i analiz mikrobiologicznych, jak i nowoczesnych metod molekularnych korzystających z sond molekularnych 16SrDNA.

Jednym z czynników ograniczających użycie niektórych roślin w karmieniu zwierząt jest ich nieprzyjemny smak związany z zawartymi w nich substancjami wytwarzanymi w obronie przed atakiem insektów oraz zwierzętami roślinożernymi. Badany materiał roślinny stanowił niewielki dodatek do pasz, co powinno wyeliminować problem, jednakże przeprowadzono dodatkowe testy, mające wykazać jego przyswajalność i tolerancję zwierząt.

Rośliny i wyciągi z roślin o najbardziej pożądanym działaniu poddano analizom w celu identyfikacji natury chemicznej substancji aktywnych. Obejmowały one, m.in. ekstrakcję rozpuszczalnikami organicznymi (metanol, butanol, chloroform, octan etylu), chromatografię cienkowarstwową (TLC), chromatografię gazową i spektrometrię mas.

### Wyniki projektu

W trakcie pierwszych dwunastu miesięcy trwania projektu zebrano imponującą kolekcję około 500 roślin i ekstraktów roślinnych, które nie były dotychczas wykorzy-

stywane na szerszą skalę w żywieniu zwierząt gospodarskich. Przy współpracy botaników jednoznacznie ustalono przynależność taksonomiczną zebranych próbek oraz utworzono bazę danych zawierającą podstawowe informacje dotyczące badanego materiału roślinnego (systematyka, pokrój, biologia, zastosowanie w medycynie ziołowej, występujące metabolity wtórne itp.). Całość zebranej kolekcji została zdeponowana w Rowett Research Institute w Wielkiej Brytanii. Wszystkie testowane gatunki roślin były pochodzenia rdzennie europejskiego lub mogą być uprawiane w Europie (16).

Spośród około 500 zebranych i zbadanych w ramach projektu próbek roślinnych, 22 wykazały potencjalnie korzystne działanie na zwierzęta przeżuwające i ma duże szanse znaleźć się w przyszłości w diecie tej grupy zwierząt gospodarskich. Wykazały one zdolność manipulowania ekosystemem i metabolizmem żwacza, w jednym lub kilku docelowych miejscach, bez wywierania niekorzystnego wpływu na całościowy przebieg fermentacji.

Najlepsze efekty w drugiej fazie projektu uzyskano, badając rośliny lub ekstrakty roślinne o właściwościach hamujących rozwój pierwotniaków, spowalniające proteolizę oraz ograniczające powstawanie metanu. Wstępny skrining materiału roślinnego pod kątem aktywności antyproteolitycznej przy użyciu metody z <sup>14</sup>C-kazeiną umożli-

Tabela 1

Materiał roślinny wykazujący potencjalnie najkorzystniejsze działanie

Nazwa botaniczna (łacińska)	Opis próbki	Oddziaływanie
<i>Arctostaphylos uva-ursi</i>	mącznica lekarska; pędy	proteoliza
<i>Bellis perennis</i>	stokrotka polna; cała roślina	Protozoa
<i>Carduus pycnocephalus</i>	oset; pędy i kwiaty	metanogeneza
<i>Epilobium montanum</i>	wierzbownica górską; liście	proteoliza
<i>Eugenia caryophyllata</i>	goździkowiec korzenny; wysuszone nasiona	Protozoa, metanogeneza
<i>Gentiana asclepidea</i>	gorczyka trojeściowa; pędy	Protozoa
<i>Gentiana lutea</i>	gorczyka żółta; korzenie	Protozoa
<i>Helianthemum canum</i>	posłonek; liście i kwiaty	proteoliza
<i>Knautia arvensis</i>	świerzbica polna; pędy	proteoliza
<i>Lactuca sativa</i>	sałata siewna; pędy	kwasicca żwacza
<i>Lonicera japonica</i>	wiciokrzew japoński; pędy i kwiaty	Protozoa
<i>Lonicera japonica</i> (flower)	wiciokrzew japoński; ekstrakt kwiatowy	Protozoa
$\beta$ -Myrcene	$\beta$ -myrcen; składnik olejków eterycznych	Protozoa
<i>Olea europaea</i>	oliwka europejska; wysuszone liście	Protozoa
<i>Paeoniae alba radix</i>	piwonia biała; korzenie	metanogeneza
<i>Peltiphyllum peltatum</i>	tarczownica tarczowata; pędy	proteoliza
<i>Populus tremula</i>	topola osika; pędy	metanogeneza
<i>Prunus avium</i>	wiśnia ptasia; pędy (głównie liście)	metanogeneza
<i>Rheum nobile</i>	rabarbar; pędy	metanogeneza
<i>Salix caprea</i>	wierzba iwa; pędy (głównie liście)	metanogeneza
<i>Symphytum officinale</i>	żywokost lekarski; pędy	Protozoa
<i>Urtica dioica</i>	pokrzywa zwyczajna; cała roślina	kwasicca żwacza

Źródło: Rochfort S. i in., 2008 (44).

wił wytypowanie 21 próbek o największym potencjale, spośród których 8 (m.in. *Knautia arvensis*, *Peltiphyllum peltatum*, *Potentilla anserina*, *Gleditsia japonica* i *Fagopyrum esculentum*) poddano dalszym analizom. Spośród 38 próbek najefektywniejszych w hamowaniu bakteriologicznej aktywności *Protozoa* (w najmniej 50% dla stężenia  $5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$  płynu żwacza) do dalszych analiz w fazie trzeciej wytypowano 7 z nich (*Lonicera japonica*, *Gentiana asclepiadea*, *Eugenia caryophyllata*, *Bellis perennis*, *Olea europaea*, *Symphytum officinale* i  $\beta$ -*Myrcene*). Wstępne analizy dodatków roślinnych dotyczące aktywności antymetanowej pozwoliły wyselekcjonować 34 rośliny, które (o co najmniej 15%) hamowały powstawanie metanu (przy koncentracji 0,1 g/g paszy). Do bardziej szczegółowych testów wybrano 7 próbek (*Salix caprea*, *Carduus pycnocephalus*, *Populus tremula*, *Prunus avium*, *Paeoniae alba radix*, *Quercus robur* oraz *Rheum nobile*). Spośród roślin o działaniu stabilizującym na odczyn pH płynu żwacza do trzeciej fazy wytypowano trzy: *Lactuca sativa*, *Vicia cracca* oraz *Urtica dioica*. Ze względu na trudności w testowaniu oraz małą efektywność próbek w przeciwdziałaniu wzdęciom żwacza zdecydowano o zaprzestaniu dokładniejszych analiz dotyczących tego problemu.

Zaobserwowano złożoność oddziaływania niektórych roślin na metabolizm żwacza. Pięć próbek wykazało pozytywne działanie odnośnie supresji pierwotniaków i powstawania metanu, dwie działały spowalniająco na proteolizę i supresję pierwotniaków, trzy powodowały supresję pierwotniaków i redukcję kwasicy, pięć efektywnie hamowało tworzenie metanu oraz zapobiegało kwasicy (52).

Dla prawnej ochrony własności intelektualnej (w postaci zebranych informacji o najbardziej obiecujących próbkach roślinnych) złożono wnioski patentowe w Europejskim Urzędzie Patentowym, który został wydany w kwietniu 2005 r. Ochrona zebranej wiedzy poprzez patent jest istotna w kontekście możliwości późniejszego jej wykorzystania przy wprowadzaniu na rynek produktów opartych o badany materiał roślinny.

W trzeciej fazie projektu najbardziej wartościowe próbki roślinne badano pod kątem indywidualnych właściwości i wykazywanej aktywności modulacyjnej na metabolizm żwacza. Dokładniejsze testy w warunkach laboratoryjnych wykazały generalnie małą efektywność materiału roślinnego przy niskich stężeniach; dla zaobserwowania pozytywnych efektów większość próbek musiała stanowić co najmniej 3-5% składu diety. W badaniach nad dawką i czasem działania najlepsze rezultaty uzyskano dla:

- *Bellis perennis* i *Gentiana asclepiadea* odnośnie supresji *Protozoa*;
- *Knautia arvensis* i *Peltiphyllum peltatum* w kategorii spowalniania proteolizy;
- *Quercus robur*, *Rheum nobile* i *Carduus pycnocephalus* odnośnie ograniczenia powstawania metanu;
- *Lactuca sativa* i *Urtica dioica* odnośnie stabilizacji pH płynu żwacza.

Istotnym czynnikiem ograniczającym w testach *in vivo*, który spowodował odrzucenie kilku bardzo obiecujących roślin, takich jak *Lonicera japonica* (wiciokrzew japoński) i *Gentiana asclepiadea* (goryczka trojeściowa), była dostępność dużych

ilości materiału roślinnego do karmienia zwierząt. Największe nadzieje w badaniach z wykorzystaniem zwierząt wiązano z czterema próbkami roślinnymi: *Knautia arvensis* (świerzbica polna), *Bellis perennis* (stokrotka pospolita), *Urtica dioica* (pokrzywa zwyczajna) i *Lactuca sativa* (sałata siewna). Testy na owcach, trwające 6 miesięcy, przeprowadzono w Uniwersytecie w León (Hiszpania) i Uniwersytecie w Hohenheim (Niemcy). Do badań wytypowano 3 próbki roślinne: *Knautia arvensis*, *Bellis perennis* i *Urtica dioica*. Testy zakończyły się jednak niepełnym sukcesem. Żadna z badanych roślin nie wykazała toksycznego wpływu na układ trawienny zwierząt oraz zaobserwowano pozytywne następstwa oddziaływania *Bellis perennis* i *Knautia arvensis* na przebieg fermentacji. Dodatkowo efekty ich działania były jednak mniejsze niż zakładano. Niezbędne są dalsze testy dla określenia rozmiaru i zmienności odpowiedzi metabolizmu i ekosystemu żwacza, biorąc pod uwagę zróżnicowany skład pasz oraz gatunki zwierząt przeżuwających itp.

Molekularne analizy flory symbiotycznej ujawniły zmienioną strukturę populacji mikroorganizmów żwacza, będącą wynikiem działania badanych próbek materiału roślinnego. Testy te wykazały konieczność ostrożnego stosowania roślin w karmieniu zwierząt, ze względu na dużą wrażliwość bakterii symbiotycznych (głównie bakterii celulolitycznych), szczególnie w przypadku roślin zawierających duże ilości tanin (*Peltiphyllum peltatum*, *Quercus robur*).

Analizy w warunkach *in vivo* nie ujawniły nietolerancji i awersji u owiec w stosunku do badanego materiału roślinnego. Zaobserwowano nieznaczne problemy w żywieniu zwierząt paszami z dodatkiem większych ilości *Knautia arvensis*, *Peltiphyllum peltatum* i *Bellis perennis*. Bardzo wysoką tolerancję u owiec stwierdzono odnośnie pozostałych testowanych roślin (*Lactuca sativa*, *Urtica dioica* i *Carduus pycnocephalus*).

Analizy w celu identyfikacji chemicznej biologicznie aktywnych substancji przeprowadzono na dziewięciu najefektywniejszych roślinach (*Bellis perennis*, *Gentiana asclepiadea*, *Knautia arvensis*, *Peltiphyllum peltatum*, *Quercus robur*, *Rheum nobile*, *Carduus pycnocephalus*, *Lactuca sativa* i *Urtica dioica*). Aktywność supresyjna w stosunku do pierwotniaków u roślin, takich jak *Bellis perennis* i *Gentiana asclepiadea* związana jest z dużą zawartością saponin, które odpowiadają również za ich cierpki smak. Pod względem budowy chemicznej saponiny są wielkocząsteczkowymi glikozydami, gdzie łańcuch lub łańcuchy cukrowe są połączone z fragmentem niecukrowym o budowie steroidowej lub triterpenowej (45). Aglikonowy pierścień obu gatunków roślin ma charakter triterpenowy, jednakże związki znacznie różnią się od siebie. Saponiny obecne w *Bellis perennis* wykazują właściwości hemolityczne, których brak u saponin wyizolowanych z *Gentiana asclepiadea*. Z przeprowadzonych dotychczas badań *in vitro* (fermentorowe symulatory żwacza) oraz *in vivo* wynika, że rośliny bogate w glikozydy saponinowe działają hamująco na powstawanie metanu u przeżuwaczy (14, 18). Dokładny mechanizm działania saponin pozostaje niejasny. Jest oczywiste, że powodują one obniżenie aktywności pierwotniaków żwacza (1, 24, 25, 32, 33, 48). Przypuszcza się, że ponad 25% bakterii metanogennych jest z nimi związanych (34, 35). Saponiny mogą również oddziaływać bezpośrednio na

metanogeny żwacza (8). Hess i in. (14) odnotowali 16% spadek produkcji metanu w badaniach *in vitro* nad *Sapindus saponaria*.

Przypuszcza się, że aktywność antymetanowa u takich roślin, jak *Quercus robur*, *Rheum nobile* i *Carduus pycnocephalus* związana jest z wysoką koncentracją tanin (garbników). Beaucemini i in. (5) oraz Puchala i in. (42) wykazali, że rośliny bogate w taniny hamują metanogenezę u owiec i bydła, działając bezpośrednio na bakterie metanogenne lub pośrednio wpływając na trawienie celulozy.

Antyproteolityczna aktywność *Peliphyllum peltatum* związana jest z wysoką zawartością związków fenolowych, a w szczególności garbników. Badania materiału roślinnego pod kątem właściwości spowalniających rozkład białek w żwaczu dotyczą przede wszystkim gatunków bogatych w taniny (garbniki); (2, 4, 47). Poprzez tworzenie kompleksów z polipeptydami taniny zmniejszają ich dostępność dla proteaz, a przez to spowalniają proces proteolizy. Testy *in vivo* na owcach potwierdziły, że taniny pochodzące z różnych gatunków roślin powodują spadek koncentracji  $\text{NH}_3$  w żwaczu oraz usprawniają przepływ N przez układ pokarmowy przeżuwaczy. Jednakże ich działanie wiąże się z niekorzystnymi efektami ubocznymi, tj. spadkiem apetytu u zwierząt oraz osłabieniem wydajności innych procesów metabolicznych, w tym trawienia celulozy (47). Badania metabolitów wtórnych występujących u *Knautia arvensis* wykazały niską zawartość tanin. Antyproteolityczna aktywność tej rośliny jest związana ze związkami innymi niż garbniki, których nie udało się zidentyfikować, ale ustalono, że są one odporne na ogrzewanie i są rozpuszczalne w metanolu. Przypuszcza się, że składnik aktywny *Knautia arvensis* jest raczej selektywnym inhibitorem rozwoju bakterii niż inhibitorem proteaz, gdyż efekty jego działania są podobne do działania jonoforu monenzyny (47).

Pomimo stosowania w procesie ekstrakcji różnych rozpuszczalników, nie udało się zidentyfikować związków chemicznych występujących w *Lactuca sativa* i *Urtica dioica* odpowiedzialnych za aktywność zapobiegającą występowaniu u przeżuwaczy kwasicy (21).

### Rośliny wykorzystane do testów na zwierzętach

**Świerzbnica polna** (*Knautia arvensis*) – gatunek byliny należący do rodziny szczybowatych. Pospolita w Europie i na terenie całej Polski (swoim zasięgiem obejmuje niż, sięgając aż po tereny podgórskie do wysokości 1500 m n.p.m.). Porasta suche łąki, przydroża, nieużytki, obrzeża lasów oraz pola uprawne (chwast); (7). W ostatnich dziesięcioleciach obserwuje się wzrost liczby stanowisk tej rośliny. Ze względu na swoją zasadalubność świerzbnica traktowana jest jako gatunek wskaźnikowy (gleba miejsc, na których licznie występuje jest bogata w wapń), ponadto preferuje gleby luźne i gliniaste. Cechą charakterystyczną gatunku jest szorstkie owłosienie całej gęsto rozgałęziającej się łodygi. Kwiaty niebieskofioletowe, czerwone lub białe, zebrane w koszyczki, są obupłciowe lub jednopłciowe (przeważnie męskie). Morfologicznie jest to bylina dosyć zmienna, występująca w licznych formach związanych

z różnymi siedliskami bytowymi. Różnią się one przede wszystkim kształtem liści oraz owłosieniem łodygi i liści. Dawniej świerzbica była wykorzystywana w medycynie ludowej, ponieważ ziele oraz korzenie zawierają liczne związki aktywne oddziałujące na organizm zwierząt, m.in. garbniki, gorycz (cefalariozyd), kwas ursolowy, saponiny i alkaloidy (31). Testy przeprowadzone w ramach projektu RUMEN-UP w warunkach laboratoryjnych jednoznacznie wykazały supresyjne działanie świerzbnicy w stosunku do proteolitycznej aktywności mikroflory żwacza. Dodatek wysuszonego materiału roślinnego w ilości 18% zwiększał o około 60% stężenie białek rozpuszczalnych po 12 h inkubacji w porównaniu z próbami kontrolnymi. Testy *in vivo*, polegające na żywieniu owiec wysuszonymi pędami świerzbnicy, potwierdziły wpływ badanej rośliny na metabolizm białek, jednak uzyskane dodatnie efekty były niewielkie w porównaniu z grupą kontrolną, której nie podawano wysuszonych pędów (21).

**Pokrzywa zwyczajna** (*Urtica dioica*) jest dwupienną rośliną rozłogową o wysokości do 150 cm. Łodygi są czterokanciaste, a liście duże, ząbkowane, ostro zakończone. Nadziemna część rośliny pokryta jest silnie parzącymi włoskami. Pokrzywa zwyczajna kwitnie od czerwca do października. Kwiaty są drobne, oliwkowozielone, zebrane w długie kwiatostany (7). Pokrzywa jest rozpowszechniona niemal na całej kuli ziemskiej, z wyjątkiem strefy tropikalnej. W Polsce występuje pospolicie na obszarze całego kraju. Porasta wilgotne lasy liściaste, przydroża, ogrody, zarośla, pastwiska. W lecznictwie ludowym pokrzywę stosowano od dawna jako lek gojący i hamujący krwawienie. W ziele pokrzywy występują kwasy organiczne, kwasy fenolowe, flawonoidy, garbniki, karotenoidy, aminy biogenne, witaminy z grupy B, K i C. Wyciągi z pędów i korzeni tej rośliny stosuje się w zaburzeniach przemiany materii, niedokrwistości, niedoborach pierwiastków, stanach zapalnych dróg moczowych i przewodu pokarmowego, w niektórych schorzeniach skórnych oraz jako środek wzmacniający włosy. W weterynarii posiekane ziele, sproszkowane korzenie oraz nasiona pokrzywy dodaje się do pokarmów dla zwierząt gospodarskich jako środek krwiotwórczy, odtruwający, przeciwbiegunkowy, w celu szybszego przyrostu masy ciała, podniesienia mleczności krów lub poprawienia nieśności drobiu (45). W trakcie testów laboratoryjnych (w warunkach odpowiadających środowisku żwacza) przeprowadzonych w ramach projektu *Urtica dioica* zmniejszała koncentrację jonów  $H^+$  o 23% w porównaniu z ich zawartością w próbach kontrolnych. Podstawą diety była pszenica, a pokrzywa stanowiła 10% jej składu. Rezultaty pomiarów wartości pH podczas badań *in vivo* wykazały, że 5% dodatek do pasz badanej rośliny powodował wzrost stężenia jonów  $H^+$  w żwaczu w porównaniu ze stwierdzonym w próbach kontrolnych, jednakże przy zastosowaniu innej diety (21).

**Stokrotka pospolita** (*Bellis perennis*) jest bardzo niską byliną o wysokości nieco ponad 10 cm. Występuje w Europie i na terenie całej Polski. Porasta łąki, murawy, pobocza dróg, pastwiska od nizin aż do wysokości 2000 m n.p.m. Stokrotka kwitnie bardzo długo – od marca do listopada, a czasem również podczas cieplejszych i bezśnieżnych zim (31). Kwiaty są obupłciowe, przeważnie białe, czasem czerwonawe. Charakteryzują się dużą odpornością na zimno, bez widocznej szkody mogą znieść

temperaturę nawet do  $-15^{\circ}\text{C}$ . Jest to roślina lecznicza, wykorzystywana w medycynie ludowej jako środek w chorobach górnych dróg oddechowych, zapaleniu stawów, chorobie reumatycznej, przy dolegliwościach nerek i wątroby, jako środek wzmacniający, a także zewnętrznie do kąpieli. W ziele stokrotki występują triterpenowe saponiny (apigenina), które są prawdopodobnie głównym składnikiem aktywnym oraz flawonoidy, kwasy fenolowe, olejki eteryczne i taniny (7). W weterynarii roślina ta wykorzystywana jest jako środek przeciwzapalny, przeciwskurczowy oraz przy dolegliwościach skórnych. Skrining *in vitro* w ramach projektu pozwolił na zidentyfikowanie *Bellis perennis* jako jednej z najefektywniejszych roślin wpływających na mikroflorę żwacza. Wielkość reakcji była ściśle zależna od stosowanej dawki, a 24 h testy wskazywały na trwałość aktywności supresyjnej. Dodatek do pasz wysuszonych części roślin (głównie liści) umożliwił zahamowanie aktywności proteolitycznej *Protozoa* nawet o 93% (przy stężeniu  $5\text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$  płynu żwacza). Testy *in vivo* potwierdziły częściową „defaunację”, jednak efekty były znikome w porównaniu z występującymi w próbach kontrolnych. Warto zwrócić uwagę, że pozytywne efekty oddziaływania monenzyny, która jest standardowym suplementem diety w Ameryce Płn., rejestruje się tylko w 7% przypadków. Dlatego brak pozytywnej odpowiedzi na tym etapie badań nie powinien wykluczać *Bellis perennis* z dalszych testów (21).

### Wnioski

Projekt RUMEN-UP odniósł niewątpliwy sukces i został wysoce pozytywnie oceniony przez opinię publiczną, komercyjnych partnerów projektu oraz wielu naukowców z całego świata. Zebrana kolekcja około 500 roślin oraz ich wyciągów dostarczyła olbrzymiej ilości cennych i potencjalnie użytecznych informacji. Co najmniej 23 rośliny wykazały potencjalnie korzystne działanie na metabolizm i ekosystem żwacza. Istnieje zatem możliwość wykorzystania ich w przyszłości jako suplementów diety w hodowli zwierząt gospodarskich. Informacje zebrane o pozostałych roślinach oraz ekstraktach roślinnych po upublicznieniu stanowiąc będą użyteczne źródło wiedzy dla naukowców, producentów roślin itp. Istotnym kryterium doboru roślin, wziętym pod uwagę przez konsorcjum projektu, była możliwość ich uprawy na terenie UE. Rośliny o udowodnionych najkorzystniejszych właściwościach mają szansę wzbogacić pulę roślin uprawnych.

Żadna z badanych roślin nie odniosła, jak dotychczas, sukcesu rynkowego i nie jest wykorzystywana na szerszą skalę w żywieniu zwierząt. Nie wynika to jednak z niepowodzeń naukowych projektu, lecz raczej ze zbyt krótkiego czasu jego trwania, niewystarczających testów laboratoryjnych, zbyt małej ilości testów na zwierzętach oraz wreszcie jego ograniczonego budżetu. Zebrana podczas realizacji projektu kolekcja próbek roślinnych stanowi wstęp dla kolejnego europejskiego przedsięwzięcia w ramach 6 PR o nazwie REPLACE, którego celem jest przetestowanie materiału roślinnego pod kątem wykorzystania w hodowli nie tylko przeżuwaczy, ale również trzody chlewnej, drobiu i ryb. Po ogłoszeniu wyników projekt cieszył się dużym zaintereso-



sowaniem ze strony naukowców i przedsiębiorstw w wielu krajach. Plany podobnych przedsięwzięć podjęto w Australii i Chinach. Jednym z konsultantów obu tych projektów został dr Wallace z Rowett Research Institute w Aberdeen (Wlk. Brytania), będący koordynatorem projektu RUMEN-UP.

Wielkim atutem projektu była możliwość współpracy partnerów akademickich i komercyjnych. Tak wielka skala przeprowadzonych doświadczeń możliwa była jedynie dzięki obecności oraz współdziałaniu wszystkich członków konsorcjum wykonawczego. Partnerzy projektu po jego zakończeniu podjęli decyzję o kontynuowaniu współpracy zarówno w ramach przedsięwzięć unijnych (projekt REPLACE), jak i zewnętrznych programów badawczych (21).

#### **Mocne strony projektu:**

Najmocniejszą stroną projektu okazała się ogromna ilość zgromadzonych informacji o bogatej i różnorodnej kolekcji roślin, którą zebrano w ciągu pierwszych 12 miesięcy jego trwania. Wiedza ta będzie bardzo użyteczna w przyszłości, kiedy naciski na zastąpienie dodatków chemicznych odpowiednikami naturalnymi w przemyśle żywienia zwierząt staną się większe (zwłaszcza w USA, Chinach i Rosji). Kolejnym atutem przedsięwzięcia był jego partnerski charakter. Projekt zaangażował 4 uniwersyteckie jednostki badawcze oraz 2 firmy biotechnologiczne. Możliwość współpracy dla badaczy z placówek naukowych i przedsiębiorstw komercyjnych okazała się niezwykle cennym doświadczeniem (21).

#### **Słabe strony projektu:**

Jak oceniono na zakończenie projektu, brak przezorności dotyczący procesu gromadzenia materiału roślinnego, a związany m.in. z sezonowością i trudnościami w otrzymaniu dużych ilości niektórych roślin był jedną z jego największych słabości. Doprowadziło to do wykluczenia niektórych obiecujących roślin z testów *in vivo*. Kolejną słabą stroną projektu okazał się brak korelacji wyników skriningu w warunkach laboratoryjnych z testami na zwierzętach. Wiele roślin wykazało swe pozytywne działanie w badaniach *in vitro*, jednakże efekty nie były zadowalające w przypadku analiz *in vivo*. Podczas następnego przedsięwzięcia konieczne wydaje się włączenie wstępnych testów dotyczących dawki efektywnego oddziaływania roślin (21).

W związku z brakiem wyraźnych pozytywnych efektów działania badanego materiału roślinnego na wybrane aspekty funkcjonowania układu pokarmowego zwierząt przeżuwających, zwłaszcza w trakcie analiz *in vivo*, bezpośrednie wdrożenie na rynek rezultatów projektu pod postacią produktów komercyjnych nie jest możliwe w najbliższej przyszłości. Jednakże konsorcjum wykonawcze nie wyklucza tego w nieco odleglejszym czasie. Konieczne jest przeprowadzenie dalszych testów, zwłaszcza na zwierzętach, zanim podjęta zostanie decyzja o komercjalizacji wyników projektu.

## Literatura

1. Abreu A., Carulla J.E., Lascano C.E., Díaz T.E., Kreuzer M., Hess H.D.: Effects of *Sapindus saponaria* fruits on ruminal fermentation and duodenal nitrogen flow of sheep fed a tropical grass diet with and without legume. *J. Anim. Sci.*, 2004, **82**: 1392-1400.
2. Aerts R.J., Barry T.N., McNabb W.C.: Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. *Agric. Ecosyst. & Environ.*, 1999, **75**: 1-12.
3. Annison E.F., Bryden W.L.: Perspectives on ruminant nutrition and metabolism. *Nutr. Res. Rev.*, 1998, **11**: 173-198.
4. Barry T.N., McNabb W.C.: The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. *Brit. J. Nutr.*, 1999, **81**: 263-272.
5. Beauchemin K.A., McGinn S.M., Martinez T.F., McAllister T.A.: Use of condensed tannin extract from quebracho trees to reduce methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.*, 2007, **85**: 1990-1996.
6. Bodas R., Lopez S., Fernandez M., Garcia-Gonzales R., Rodriguez A.B., Wallace R.J., Gonzales J.S.: *In vitro* screening of the potential of numerous plant species as antimethanogenic feed additives for ruminants. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2008, **145**: 245-258.
7. Broda B., Mowszowicz J.: Przewodnik do oznaczania roślin leczniczych, trujących i użytkowych. Wyd. Lekarskie PZWL, 2000.
8. Broudiscou L.P., Papon Y., Broudiscou A.F.: Effects of dry plant extracts on fermentation and methanogenesis in continuous culture of rumen microbes. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2000, **87**: 263-277.
9. Broudiscou L.P., Papon Y., Broudiscou A.F.: Effects of dry plant extracts on feed degradation and the production of rumen microbial biomass in a dual outflow fermenter. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2002, **101**: 183-189.
10. Burmańczuk A., Burmańczuk Z., Choduń M.: Praktyczne aspekty leczenia zaburzeń czynności przewodu pokarmowego na tle żywieniowym u dużych zwierząt. *Biul. Lub. Izby Lek.-Wet.*, 2006, **4**: 22-26.
11. Callaway T.R., Edrington T.S., Rychlik J.L., Genovese K.J., Poole T.L., Jung Y.S., Bischoff K.M., Anderson R.C., Nisbet D.J.: Ionophores: their use as ruminant growth promotants and impact on food safety. *Curr. Iss. Intest. Microbiol.*, 2003, **4**: 43-51.
12. Cardozo P.W., Calsamiglia S., Ferret A., Kamel C.: Effects of natural plant extracts on ruminal protein degradation and fermentation profiles in continuous culture. *J. Anim. Sci.*, 2004, **82**: 3230-3236.
13. Cheng K.J., McAllister T.A., Popp J.D., Hristov A.N., Mir Z., Shin H.T.: A review of bloat in feedlot cattle. *J. Anim. Sci.*, 1998, **76**: 1997.
14. Hess H.D., Kreuzer M., Diaz T.E., Lascano C.E., Carulla J.E., Soliva C.R., Machmuller A.: Saponin rich tropical fruits affect fermentation and methanogenesis in faunated and defaunated rumen fluid. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2003, **109**: 79-94.
15. <http://195.205.152.139/helpdesk/index.php>
16. [http://cordis.europa.eu/news/focus/home\\_pl.html](http://cordis.europa.eu/news/focus/home_pl.html)
17. <http://www.antoranz.net>
18. [http://www.belspo.be/belspo/home/publ/pub\\_ostc/CG2131/rappCG29syn\\_en.pdf](http://www.belspo.be/belspo/home/publ/pub_ostc/CG2131/rappCG29syn_en.pdf)
19. <http://www.coalinfo.net.cn/coalbed/meeting/2203/papers/agriculture/AG053.pdf>
20. <http://www.ifad.org/lrkm/events/cops/papers/climate.pdf>
21. [http://www.rowett.ac.uk/rumen\\_up](http://www.rowett.ac.uk/rumen_up)
22. <http://www.tcfa.org/Research/Report>
23. <http://www.zfz.wp.ap.siedlce.pl/ukpok.ppt>
24. Hu W.J., Liu J.X., Ye J.A., Wu Y.M., Guo Y.Q.: Effect of tea saponin on rumen fermentation *in vitro*. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 2005, **120**: 333-339.

25. Ivan M., Koenig K. M., Teferedegne B., Newbold C. J., Entz T., Rode L. M., Ibrahim M.: Effects of the dietary *Enterolobium cyclocarpum* foliage on the population dynamics of rumen ciliate protozoa in sheep. *Small Ruminant Res.*, 2004, **52**: 81-91.
26. Johnson K. A., Johnson D. E.: Methane emissions from cattle. *J. Anim. Sci.*, 1995, **73(8)**: 2483-2492.
27. Kamra D. N.: Ruminal microbial ecosystem. *Current Sci.*, 2005, **89(1)**: 124-131.
28. Lila Z. A., Mohammed N., Kanda S., Kamada T., Itabashi H.: Effect of sarsaponin on ruminal fermentation with particular reference to methane production *in vitro*. *J. Dairy Sci.*, 2003, **86**: 3330-3336.
29. Lu C. D., Jorgensen N. A.: Alfalfa saponins affect site and extent of nutrient digestion in ruminants. *J. Nutrit.*, 1987, **117**: 919-927.
30. Morrison M., Mackie R. I.: Nitrogen metabolism by ruminal microorganisms: current understanding and future perspectives. *Austral. J. Agricult. Res.*, 1996, **47**: 227-246.
31. Mowszowicz J.: Przewodnik do oznaczania krajowych roślin zielarskich. PWRiL, Warszawa, 1985.
32. Navas-Camacho A., Laredo M. A., Cuesta A., Ortega O., Romero M.: Evaluation of tropical trees with high or medium saponin content as dietary alternative to eliminate ciliate protozoa from the rumen. *Proc. Soc. Nutrit. Physiol.*, 1994, **3**: 204.
33. Newbold C. J., El Hassan S. M., Wang J., Ortega M. E., Wallace R. J.: Influence of foliage from African multipurpose trees on activity of rumen protozoa and bacteria. *Brit. J. Nutrit.*, 1997, **78**: 237-249.
34. Newbold C. J., Lassalas B., Jouany J. P.: The importance of methanogenesis associated with ciliate protozoa in ruminal methane production *in vitro*. *Lett. Appl. Microbiol.*, 1995, **21**: 230-234.
35. Newbold C. J., Rode L. M.: Dietary additives to control methanogenesis in the rumen. *Internal Congress Series*, 2006, **1293**: 138-147.
36. Ominski K. H., Wittenberg K. M.: Strategies for reducing enteric methane emissions in forage-based beef production systems. *Sprawozdanie z konferencji naukowej "The science of changing climates – impact on agriculture, forestry and wetlands"*, Uniwersytet Albery, 2004.
37. Patra A. K.: Nutritional management in organic livestock farming for improved ruminant health and production – an overview. *Livest. Res. Rural Develop.*, 2007, **19(3)**: <http://lrrd.org/lrrd19/3/patr19041.htm>.
38. Patra A. K., Kamra D. N., Agarwal N.: Effect of spices on rumen fermentation, methanogenesis and protozoa counts in *in vitro* gas production test. *Int. Congr. Ser.*, 2006, **1293**: 176-179.
39. Pejsak Z., Truszczyński M.: Przyczyny i konsekwencje wprowadzenia zakazu stosowania antybiotyków wzrostu oraz możliwości przeciwdziałania negatywnym skutkom ich wycofania. *Życie Wet.*, 2006, **81(6)**: 380-383.
40. Phillips J., Casewell M., Cox T., de Groot B., Fries Ch., Jones R., Nightingale Ch., Preston R., Waddell J.: Does the use of antibiotics in food animals pose a risk to human health? A critical review of published data. *J. Antimicrob. Chemother.*, 2004, **53**: 28-52.
41. Pinkiewicz E.: Niestrawność kwaśna przeżuwaczy w świetle badań krajowych w ostatnim pięcioleciu. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.*, 1974, 165.
42. Puchala R., Min B. R., Goetsch A. L., Sahl T.: The effect of a condensed tannin-containing forage on methane emission by goats. *J. Anim. Sci.*, 2005, **83**: 182-186.
43. Reilly J., Prinn R., Harnisch J., Fitzmaurice J., Jacoby H., Kicklighter D., Melillo J., Stone P., Solokov A., Wang C.: Multi-gas assessment of the Kyoto Protocol. *Nature*, 1999, **401**: 549-555.
44. Rochfort S., Parker J. A., Dunshea F. R.: Plant bioactives for ruminant health and productivity. *Phytochemistry*, 2008, **69**: 299-322.

45. Sadowska A., Ruszkowska J., Rumowska M., Obidowska G., Łata B.: Rośliny lecznicze w weterynarii i zootechnice. Wyd. SGGW, 2003, **48-55**: 175-177.
46. Santos F.A.P., Santos J.E.P., Theurer C.B., Huber J.T.: Effects of rumen-undegradable protein on dairy cow performance: a 12-year literature review. J. Dairy Sci., 1998, **81**: 3182-3213.
47. Selje N., Hoffman E.M., Muetzel S., Ninger R., Wallace R.J., Becker K.: Results of a screening programme to identify plants or plant extracts that inhibit ruminal protein degradation. Brit. J. Nutr., 2007, **98**: 45-53.
48. Teferedegne B.: New perspectives on the use of tropical plants to improve ruminant nutrition. Proc. Nutr. Soc., 2000, **59**: 209-214.
49. Truszczyński M., Pejsak Z.: Wpływ stosowania u zwierząt antybiotyków na lekooporność bakterii chorobotwórczych dla człowieka. Med. Wet., 2006, **62(12)**: 1339-1343.
50. Van Nevel C.J., Demeyer D.I.: Control of rumen methanogenesis. Environ. Monit. Assess., 1996, 77-101.
51. Wallace R.J.: Ruminal microbial metabolism of peptides and amino acids. J. Nutr., 1996, **126**: 1326-1334.
52. Wallace R.J.: Antimicrobial properties of plant secondary metabolites. Proc. Nutr. Soc., 2004, **63**: 621-629.
53. Wallace R.J.: Plant extracts for sustainable livestock production. Feed Mix, 2006, **14(4)**: 25-27.
54. Wallace R.J., Arthaud L., Newbold C.J.: Influence of *Yucca shidigera* extract on ruminal ammonia concentrations and ruminal microorganisms. Appl. Environ. Microbiol., 1994, **60**: 1762-1767.
55. Williams A.G., Coleman A.G.: The rumen *Protozoa*. Springer-Verlag, New York, 1992.
56. Zawadzki W., Czerski A., Gnus J., Hauzer W., Rudnicki J., Jasiński K.: Niestrawność kwaśna – choroba metaboliczna przeżuwaczy. Acta Sci. Pol., Med. Vet., 2007, **6(4)**: 3-13.

Adres do korespondencji:

*mgr Dariusz Jędrejek*  
*Zakład Biochemii i Jakości Płonów*  
*ul. Czartoryskich 8*  
*24-100 Puławy*  
*tel.: (81) 886-34-21*  
*e-mail: djedrejek@iung.pulawy.pl*