

ARTUR OBIDZIŃSKI, RENATA MILTKO, GRZEGORZ BEŁŻECKI, LESZEK BOLIBOK

Wpływ rodzaju pobieranego pokarmu na skład mikrofauny żwacza daniela europejskiego

Influence of ingested forage on the composition of rumen microfauna in fallow deer

ABSTRACT

Obidziński A., Miltko R., Bełżeczki G., Bolibok L. 2014. Wpływ rodzaju pobieranego pokarmu na skład mikrofauny żwacza daniela europejskiego. Sylwan 158 (1): 61-71.

The aim of the study was to determine the correlation between ingested forage and composition of microfauna in the rumen of fallow deer. Rumen content of six specimens was obtained from the Bolimowska Forest during 2011/12 hunting season. Protozoa of the *Entodinium* and *Epidinium* genera belonging to the *Ophryoscolecidae* family were identified in analysed samples. Density of *Entodinium* population was positively correlated with percentage share of forage rich in starch. It was also reversely and equally strongly correlated to the share of forage rich in cellulose ($p > 0.05$). Share of volume and biomass of *Epidinium* population was correlated negatively with the share of acorns in the forage ($p > 0.1$). Differences in number and share of protozoa of the *Entodinium* and *Epidinium* genera in the rumen of fallow deer coexisting in the same place and time indicate feeding opportunism of this ruminant.

KEY WORDS

Dama dama, protozoa, *Entodinium*, *Epidinium*, digestion, feeding opportunism, central Poland

ADDRESSES

Artur Obidziński ⁽¹⁾ – e-mail: artur_obidzinski@sggw.pl

Renata Miltko ⁽²⁾ – e-mail: r.miltko@ifzz.pan.pl

Grzegorz Bełżeczki ⁽²⁾ – e-mail: g.belzecki@ifzz.pan.pl

Leszek Bolibok ⁽³⁾ – e-mail: leszek_bolibok@sggw.pl

⁽¹⁾ Samodzielny Zakład Botaniki Leśnej; SGGW w Warszawie; ul. Nowoursynowska 159; 02-776 Warszawa

⁽²⁾ Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN; ul. Instytucka 3; 05-110 Jabłonna

⁽³⁾ Katedra Hodowli Lasu; SGGW w Warszawie; ul. Nowoursynowska 159; 02-776 Warszawa

Wstęp

Daniel *Dama dama* jest pod względem liczebności trzecim po sarnie i jeleniu gatunkiem jeleniowatych w Polsce i Europie. Sprowadzony do Europy południowej w starożytności, aktualnie dynamicznie rozprzestrzenił się w Europie środkowej [Apollonio i in. 2010]. W Polsce liczba danieli żyjących na wolności wzrosła w latach 2000-2012 blisko trzykrotnie – od około 9,1 do 26,5 tys. [Domaszewicz 2012]. W związku ze wzrostem populacji daniela w Europie jego oddziaływanie na środowisko, zwłaszcza leśne, budzi żywe zainteresowanie. Wyniki niektórych badań sugerują mały wpływ daniela na drzewostany [Jackson 1977; Caldwell i in. 1983; Borkowski, Obidziński 2003; Obidziński i in. 2013], podczas gdy inne przedstawiają istotne szkody gospodarcze i niekorzystne zmiany przyrodnicze [Bruno, Apolonio 1991; Moore i in. 1999; Gill, Morgan 2010], włącznie z hamowaniem odnowień drzewostanów i zmianami kierunku sukcesji roślinności [Stromayer, Warren 1997; Husheer, Frampton 2005; Masters 2009].

Pod względem potrzeb pokarmowych daniel łatwo dostosowuje się do lokalnych zasobów środowiska [Morse i in. 2009]. Główny składnik jego pokarmu mogą stanowić różne typy roślin, w tym najczęściej trawy, pędy drzew i krzewów, żołądźcie, niekiedy też opadłe liście drzew, porosty, w mniejszym stopniu owoce drzew i rośliny zielne dwuliścienne [Nugent 1990; Bruno, Apollonio 1991; Garcia-Gonzalez, Cuartas 1992; Poli i in. 1996; Borkowski, Obidziński 2003; Trabalza-Marinucci i in. 2005; Morse i in. 2009; Obidziński i in. 2013]. Z uwagi na preferencje pokarmowe daniel zaliczany jest do kategorii pośredniej przeżuwaczy („intermediate type”) umieszczanej między preferującymi pokarm bogaty w węglowodany proste „concentrate selectors” a preferującymi pokarm bogaty w celulozę „grass/roughage eaters” [Hofman 1989; Clauss i in. 2003].

W żwaczu przeżuwaczy pobrany pokarm rozkładany jest przez symbiotyczne drobnoustroje: bakterie, grzyby i pierwotniaki. Poszczególne rodzaje pierwotniaków żwaczowych preferują różne składniki pokarmowe, np. *Entodinium* – skrobię, a *Diplodinium*, *Epidinium* i *Ophryoscolex* – celulozę [Coleman i in. 1976; Coleman 1985, 1986; Williams, Coleman 1992]. Skład gatunkowy i proporcje poszczególnych mikroorganizmów obecnych w żwaczu w dużej mierze uzależnione są od rodzaju pobieranego pokarmu [Dehority 2003]. Większość dotychczasowych badań mikrofauny żwacza przeżuwaczy dotyczyła głównie bydła i owiec [Clauss i in. 2011]. O mikrofaunie żwaczowej jeleniowatych wiadomo zdecydowanie mniej. Dotychczasowe doniesienia na ten temat wskazują na dominację przedstawicieli podrodziny *Entodiniinae*, *Diplodiniinae* i *Epidiniinae*, z silną przewagą pierwszej z wymienionych [Clauss i in. 2011]. U daniela w treści żwacza dotychczas stwierdzano przewagę przedstawicieli należących do rodzaju *Entodinium* (39-100%, średnio 77%), przy wyraźnie mniejszym udziale pierwotniaków z rodzajów *Epidinium* (0-10%, średnio 6,4%) i z podrodziny *Diplodiniinae* (0-53%, średnio 7,6%) [Prins, Gleen 1971; Crha 1972; Enzinger, Hartfiel 1998; Dehority i in. 1999; Trabalza-Marinucci i in. 2005; Clauss i in. 2011].

Zależność pomiędzy składem mikrofauny żwacza a rodzajem pokarmu określano dotychczas głównie opisowo, bez ustalania istotności korelacji między tymi zmiennymi. Jedyne do tej pory statystycznie istotne zależności ustalono między wzrostem udziału trawy w diecie a spadkiem liczebności pierwotniaków z podrodziny *Entodiniinae* i wzrostem liczebności pierwotniaków z podrodziny *Diplodiniinae*. Wynik ten uzyskany został metodą metaanalizy danych literaturowych obejmujących wiele gatunków przeżuwaczy [Clauss i in. 2011]. Dlatego rezultat ten może być obciążony błędem spowodowanym różnorodnością badanego materiału wynikającą z szerokiego spektrum gatunków zwierząt, stref klimatycznych, typów ekosystemów, wielkości prób i metod zbierania danych.

Podsumowując aktualny stan wiedzy, można przyjąć, że duży udział rodzaju *Epidinium* w populacji pierwotniaków w żwaczu może świadczyć o preferowaniu przez przeżuwacza pokarmu bogatego w celulozę. Natomiast znaczący udział *Entodinium* może świadczyć o preferowaniu pokarmu bogatego w skrobię. Zmienny udział obu wymienionych rodzajów orzęsków u danego przeżuwacza może świadczyć o jego zdolności przystosowawczej do różnych typów pokarmu. Wiedza na ten temat może pozwolić na lepsze zrozumienie roli danego gatunku w środowisku i przyczynić się do lepszego gospodarowania jego populacją.

Celem podjętych badań było określenie składu taksonomicznego orzęsków w żwaczu daniela, udziału stwierdzonych rodzajów w populacji oraz związku ich liczebności z rodzajem pokarmu spożytego przez zwierzę.

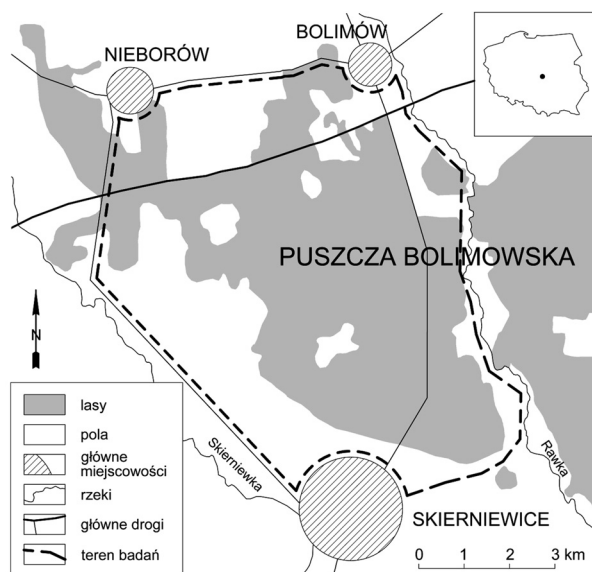
Materiał i metody

Materiał zebrano w zachodniej części Puszczy Bolimowskiej, położonej na Nizinie Środkowo-mazowieckiej. Podstawę geologiczną terenu stanowi wyniesiona 95-115 m n.p.m., płaska wodno-

lodowcowa równina denudacyjna, zbudowana z glin piaszczystych, przykrytych piaskami i żwirami, z których wytworzyły się głównie gleby brunatne i bielcowe. Średnia temperatura roczna regionu wynosi 7,7°C, średnia suma roczna opadów 550 mm, a okres wegetacyjny 180-200 dni [Murawski 2011]. Roślinność potencjalną stanowią głównie bory mieszane *Quercus roboris-Pinetum*, na południu grądy *Tilio-Carpinetum*, lokalnie niewielkie fragmenty borów świeżych *Leucobryo-Pinetum* i nad Rawką łęgi jesionowo-olszowe *Fraxino-Alnetum* [Matuszkiewicz 2008]. W drzewostanach dominuje sosna w wieku 50-70 lat z domieszką dębu, a nad Rawką olsza (ryc. 1).

Materiał zebrano w okresie od listopada 2011 do stycznia 2012. Bezpośrednio po upolowaniu zwierząt pobierano około 0,5 kg treści żwacza, którą utrwalano 4% roztworem wodnym formaliny. Każdą próbę opisywano w terenie, podając datę i miejsce pozyskania oraz płeć i wiek osobnika. W laboratorium pobraną treść płukano na sicie o średnicy 1 mm. Z pozostałej frakcji pobierano po 100 cząstek pokarmu metodą „point-frame” [Chamrad, Box 1964]. Pobrane fragmenty roślin identyfikowano gołym okiem lub przy użyciu binokularu (×25), po czym rozdzielano na: liście drzew, igły drzew, pędy zdrewniałe, krzewinki, jeżynę, trawy, rośliny zielne, mech, żółędzie i elementy nieoznaczone. Wyróżnione frakcje suszono w temperaturze 60°C przez 48 godzin i ważono z dokładnością 0,0001 g.

W próbkach pochodzących z sześciu żwaczy pierwotniki zakonserwowały się wystarczająco dobrze, by możliwe było ich oznaczenie i policzenie (tab. 1). W celu identyfikacji orzęsków



Ryc. 1.
Teren badań
Research area

Tabela 1.

Charakterystyka badanych zwierząt
Characteristics of examined animals

Próba	Płeć	Wiek [lata]	Waga [kg]	Siedliskowy typ lasu	Data pozyskania
1	byk	3	41	LMśw	04.11.2011
2	cielę	0,5	20	b.d.	19.11.2011
3	cielę	0,5	14	Bśw	30.11.2011
4	byk	3	42	BMśw	21.01.2012
5	byk	5	48	BMśw	25.01.2012
6	byk	3	38	BMśw	27.01.2012

badane próby traktowano karminem chromowym Fyga, barwiącym aparat jądrowy na kolor granatowy. Po 10 dniach barwienia orzęski oznaczano do rodzaju przy użyciu mikroskopu świetlnego ($\times 100$) według kryteriów i systematyki podanych przez Dogiela [1927]. Liczebność pierwotniaków określono metodą Michałowskiego [1975]. Masę komórek stwierdzonych rodzajów pierwotniaków przyjęto za Michałowskim i in. [1997]. Zakładając że kształt komórek orzęsków może być opisany za pomocą elipsoidy obrotowej, ich objętość obliczono według wzoru:

$$V = \frac{4}{3} \cdot \pi \cdot a \cdot b \cdot c \quad [1]$$

gdzie:

- a – półoś wzdłużna,
- b, c – półosię poprzeczne elipsoidy.

Charakterystykę diety oparto na procentowym udziale suchej masy poszczególnych rodzajów pokarmu. Jej zróżnicowanie opisano pod względem:

- a) liczby rodzajów pokarmu,
- b) szerokości niszy pokarmowej określonej wskaźnikiem Levinsa [1968], standaryzowanym do skali 0-1 według formuły Hurlberta [1978]:

$$B_{sia} = \frac{1}{\sum p_i^2} - 1 \quad [2]$$

gdzie:

- B_{max} – liczba wszystkich rodzajów pokarmu zjadanych przez badaną populację,
- p_i – proporcja i -tej kategorii pokarmu w diecie.
- c) udziału masy poszczególnych rodzajów pokarmu,
- d) ważności pokarmów opisanych wskaźnikiem Bruno, Apolonio [1991]:

$$W = 10^4 \cdot \frac{N_i \cdot M_i}{N \cdot M} \quad [3]$$

gdzie:

- N_i – liczba zwierząt, w których stwierdzono pokarm i ,
- N – liczba wszystkich analizowanych zwierząt,
- M_i – masa pokarmu i we wszystkich próbach,
- M – masa wszystkich pokarmów we wszystkich próbach.

Relacje między składem mikrofauny a składem pokarmu w żwaczu określono na podstawie zależności między liczbą komórek orzęsków, ich biomasą i objętością przypadającą na jeden gram treści pokarmowej a udziałem suchej masy wybranych pokarmów w treści żwacza. Zależności te określono za pomocą współczynnika korelacji Pearsona przy poziomie istotności $\alpha=0,05$. Obliczenia wykonano dla pokarmów, których średni udział w analizowanych próbach wynosił co najmniej 5% oraz dla ujętych łącznie pokarmów o dużej zawartości celulozy (trawa, krzewinki, pędy zdrewniałe, suche liście drzew i jeżyny), a także dla łącznie ujętych pokarmów o małej zawartości celulozy (żołędzie, rośliny zielne i igły sosny). Analizę zgodności rozkładów badanych zmiennych z rozkładem normalnym przeprowadzono za pomocą testu Lillefora pozwalającego analizować próby mało liczne. Dane opisujące udział fragmentów wrzosu i jeżyn w zawartości żwacza, dla których odrzucona została hipoteza o normalności ich rozkładu, poddano transformacji Boxa-Coxa [1964], która oryginalnie służyła do przekształcania zmiennej

objaśnianej podczas konstruowania modelu regresyjnego. Wartość transformującego współczynnika λ została wyliczona za pomocą funkcji *boxcoxfit* z pakietu procedur geoR [Ribeiro, Diggle 2001]. Zmienne objaśniające opisujące udział fragmentów wrzосу i jeżyn w celu obliczenia λ zostały potraktowane jako zmienne objaśniane w modelu regresyjnym ze sztucznymi zmiennymi objaśniającym. Obliczenia zostały wykonane w programie R [R... 2012].

Wyniki

W żwaczach analizowanych danieli stwierdzono liście drzew (głównie *Quercus* sp.), igły sosny (*Pinus sylvestris*), pędy zdrewniałe, krzewinki (głównie *Calluna vulgaris* i *Vaccinium myrtillus*), jeżynę (*Rubus fruticosus* s.l.), trawy, rośliny zielne, mech, żołądździe i elementy nieoznaczone. W poszczególnych żwaczach występowało 5 do 9 z 10 wyróżnionych rodzajów pokarmów, średnio 7,33 (SD=1,03). Szerokość niszy pokarmowej badanych zwierząt nie była duża (B=0,16-0,28), średnio 0,20 (SD=0,05). Frekwencja wyróżnionych pokarmów w żwaczu analizowanych zwierząt była zróżnicowana. Trawę, igły sosny i żołądździe stwierdzono we wszystkich próbach. Rośliny zielne, jeżynę, krzewinki, liście drzew odnotowano w ponad połowie prób. Mech i pędy zdrewniałe pojawiały się sporadycznie. Największy udział suchej masy w diecie analizowanych zwierząt miała trawa (41,7% \pm 13,8), następnie żołądździe (26,5% \pm 17,9) i krzewinki (11,4% \pm 17,9). Znaczący udział miały igły sosny (8,9% \pm 3,9) i jeżyna (4,8% \pm 6,9). Pozostałe pokarmy miały udział akcesoryczny (tab. 2). Wskaźnik ważności pokarmów największy był dla trawy (39,3), żołądździ (28,0), krzewinek (13,1) i igieł (9,1). Pozostałe rodzaje pokarmu w diecie badanych zwierząt miały niewielkie znaczenie.

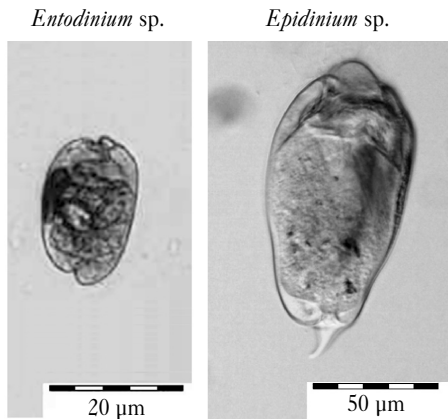
W badanym materiale stwierdzono występowanie orzęsków z rodzaju *Entodinium* i *Epidinium* należących do rodziny *Ophryoscolecidae* (ryc. 2). Orzęski z rodzaju *Entodinium* wykazały długość od 29,4 do 50 μ m (średnia 42,11 μ m \pm 7,35) i szerokość od 19,2 do 30 μ m (średnia 26,40 μ m \pm 4,54). Natomiast orzęski z rodzaju *Epidinium* cechowała długość 100,1-139,5 μ m (średnia 114,29 μ m \pm 13,51) i szerokość 44,1-65,0 μ m (średnia 52,88 μ m \pm 9,8). Gęstość orzęsków w badanym materiale wahała się od 41,0 do 134,0 $\times 10^4$ /g treści żwacza (średnio 64,2 $\times 10^4$ /g \pm 37,0). Średni procentowy udział orzęsków z rodzaju *Entodinium* wynosił 86,4% (\pm 8,1), natomiast *Epidinium* 13,6% (\pm SD 8,1) (tab. 3).

Gęstość populacji *Entodinium* w badanym materiale zwiększała się wraz ze wzrostem udziału pokarmów o małej zawartości celulozy ($r=0,85$, $p=0,03$), co było związane głównie z udziałem w diecie bogatych w skrobię żołądździ ($r=0,88$, $p=0,02$). Odwrotny efekt stwierdzono w przypadku wzrostu udziału pokarmów bogatych w celulozę ($r=-0,82$, $p=0,04$), co spowodowane było głównie udziałem trawy ($r=-0,81$, $p=0,04$). W przypadku *Epidinium* nie stwierdzono istotnej korelacji

Tabela 2.

Udział [%] suchej masy pokarmów w analizowanej diecie daniela
Share [%] of dry mass of feed types in analysed fallow deer diet

Próba	Trawa	Rośliny zielne	Mech	Jeżyna	Krzewinki	Liście drzew	Pędy drzew	Igły	Żołądździe	Inne
1	51,3	0,9	0,0	7,7	0,0	3,0	0,0	4,3	30,8	1,9
2	58	1,6	0,0	17,8	0,0	0,9	0,0	5,4	13,8	2,5
3	39,9	0,9	0,0	2,0	4,7	4,7	0,0	13,5	27,6	6,7
4	17,7	1,0	0,7	0,0	10,5	2,0	0,7	9,2	55,1	3,1
5	44,4	2,1	0,0	0,0	7,8	0,0	0,0	13,3	29,3	3,2
6	39,1	0,0	0,0	1,5	45,2	2,2	0,0	7,4	2,1	2,6
Średnia	41,7	1,0	0,1	4,8	11,4	2,1	0,1	8,9	26,5	3,3



Ryc. 2.

Obraz mikroskopowy orzęsków żwaczowych daniela europejskiego (fot. R. Miltko)

Microscopic image of fallow deer rumen ciliates (photo by R. Miltko)

Tabela 3.

Gęstość [$\times 10^4/g$] i udział [%] zidentyfikowanych rodzajów orzęsków w treści żwacza daniela
Density [$\times 10^4/g$] and share [%] of ciliates identified in rumen content of fallow deer

Próba	Gęstość populacji	Liczebność		Objętość		Biomasa	
		<i>Entodinium</i>	<i>Epidinium</i>	<i>Entodinium</i>	<i>Epidinium</i>	<i>Entodinium</i>	<i>Epidinium</i>
1	54,0	94,0	6,0	59,0	41,0	38,6	61,4
2	36,4	76,2	23,8	22,7	77,3	11,4	88,6
3	45,6	79,6	20,4	30,1	69,9	15,8	84,2
4	134	94,6	5,4	61,7	38,3	41,3	58,7
5	74,4	91,8	8,2	50,7	49,3	31,0	69,0
6	41,0	82,4	17,6	26,4	73,6	13,5	86,5
Średnia	64,2	86,4	13,6	41,8	58,2	25,3	74,7

względem żadnego z pokarmów. Natomiast całkowita gęstość populacji orzęsków wykazała relacje podobne do populacji *Entodinium*, co wynikało z dominacji w próbach tego pierwotniaka (tab. 4, ryc. 3). W analizie relacji między objętością i masą populacji obu rodzajów orzęsków a wymienionymi pokarmami stwierdzono analogiczne zależności jak powyżej. Ponadto korelacje zbliżone do istotnych wykazała zależność między udziałem obu rodzajów pierwotniaków w populacji a zawartością żołądździ w pokarmie. Zależności te mierzone na podstawie liczby ($r=\pm 0,7$, $p=0,12$), objętości ($r=\pm 0,76$, $p=0,08$) i biomasy ($r=\pm 0,78$, $p=0,07$) komórek były dodatnie dla *Entodinium* i ujemne dla *Epidinium*.

Dyskusja

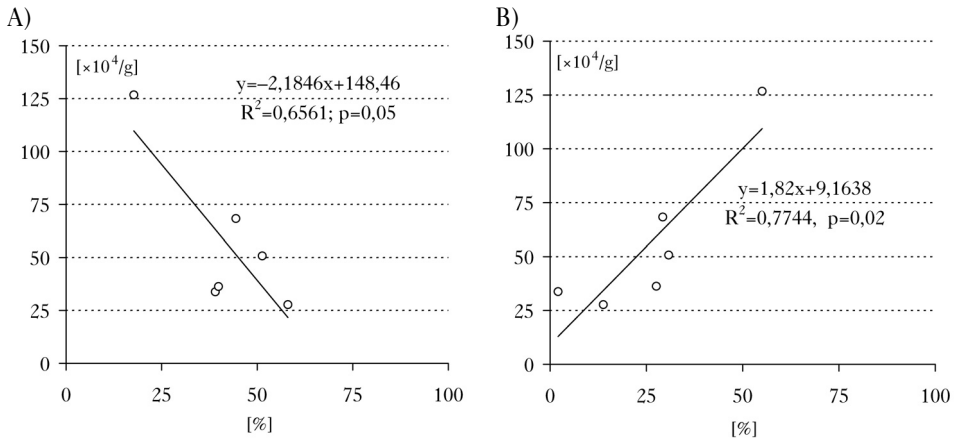
Uzyskane przez nas statystyczne zależności pomiędzy składem mikrofauny żwacza a rodzajem pokarmu pobieranego przez daniela poszerzają rozumienie zachowań pokarmowych tego gatunku w aspekcie fizjologii trawienia. Odnotowany skład diety daniela jest zbliżony z danymi literaturowymi opisującymi dietę populacji bytujących w Iławie i Pszczynie [Borkowski, Obidziński 2003] oraz Kotlinie Raciborskiej [Obidziński i in. 2013]. We wszystkich wymienionych miejscach w diecie daniela dominowała trawa (36,4-45,9%), a główną domieszkę stanowiły igły sosny (6,7-10,7%), liście drzew (6,4-12,8%) i rośliny zielne (4,5-10,5%). Na tym tle opisany przez nas pokarm różni się wyższym udziałem żołądździ i niemal całkowitym brakiem roślin zielnych i liści drzew. Różnice te można tłumaczyć późnojesienną i zimową porą zbioru prób oraz prowadzeniem badań w roku nasiennym dębu.

Tabela 4.

Związek między gęstością populacji i udziałem orzęsków żwaczowych a głównymi typami pokarmu pobieranego przez daniela

Relationship between density and share of rumen ciliates towards main types of feed ingested by fallow deer

Rodzaj pokarmu	Gęstość populacji						Udział			
	<i>Entodinium</i>		<i>Epidinium</i>		Razem		<i>Entodinium</i>		<i>Epidinium</i>	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
Trawa	-0,81	0,05	-0,15	0,78	-0,83	0,04	-0,46	0,36	0,46	0,36
Jeżyna	-0,82	0,04	0,06	0,91	-0,83	0,04	-0,64	0,17	0,64	0,17
Wrzos	0,31	0,55	0,31	0,55	0,33	0,52	0,10	0,85	-0,10	0,85
Igły drzew	0,19	0,72	0,43	0,40	0,22	0,68	0,01	0,99	-0,01	0,99
Żołędzie	0,88	0,02	-0,19	0,72	0,88	0,02	0,70	0,12	-0,70	0,12
Bogaty w celulozę	-0,82	0,04	0,03	0,96	-0,83	0,04	-0,60	0,21	0,60	0,21
Ubogi w celulozę	0,85	0,03	-0,09	0,87	0,85	0,03	0,65	0,16	-0,65	0,16



Ryc. 3.

Zależność gęstości pierwotniaków z rodzaju *Entodinium* od udziału procentowego trawy (A) i żołędzi (B) w pokarmie spożytym przez daniela

Relation between density of ciliates of genus *Entodinium* and share of grass (A) and acorns (B) in fodder ingested by fallow deer

Stwierdzona gęstość populacji orzęsków jest porównywalna z wartościami notowanymi dotychczas u daniela: 25,7-170,7×10⁴/ml [Sládeček 1946; Prins, Geelen 1971; Enzinger, Hartfiel 1998; Dehority i in. 1999; Kamler 1999; Trabalza-Marinucci i in. 2005], dającymi średnią 62,2×10⁴/ml [Claus i in. 2011]. Z kolei obserwowany udział liczby pierwotniaków z rodzaju *Entodinium* (86,4%) jest nieco wyższy od średniej (77%) z dotychczasowych doniesień. Natomiast średni udział *Epidinium* (13,6%) jest dwukrotnie wyższy od średniej z dotychczas podawanych wyników (6,4%) [Prins, Gleen 1971; Crha 1972; Enzinger, Hartfiel 1998; Dehority i in. 1999; Trabalza-Marinucci i in. 2005].

Pomimo tak dużych różnic liczebności między rozpatrywanymi dwoma rodzajami orzęsków w żwaczu, ich znaczenie w trawieniu może być porównywalne [Coleman 1986; Michałowski i in. 1997]. Małe rozmiary komórek *Entodinium*, o masie rzędu 13,1 ±0,38 ng [Michałowski 1990], rekompensowane są ich dużą liczebnością w żwaczu [Towne, Nagaraja 1990]. Zaś mała gęstość populacji *Epidinium* równoważona jest ich masą rzędu 326,2 ±158,2 ng orzęska [Michałowski 1990].

Stwierdzona statystycznie istotna ujemna korelacja między liczebnością *Entodinium* w treści żwacza a udziałem trawy w pokarmie potwierdza wyniki dotychczasowych obserwacji u dzikich przeżuwaczy [Claus i in. 2011]. Pozostaje też w zgodzie z wcześniejszymi badaniami zwierząt hodowlanych [Jouany, Ushida 1990; De Smet i in. 1992; Claus i in. 2011]. Nowym wynikiem w tym zakresie jest odnotowana istotna pozytywna korelacja zagęszczenia *Entodinium* z udziałem żołądźci w pokarmie. Obserwacja ta wykazuje u przeżuwacza żyjącego na swobodzie skrobiolubne zachowanie *Entodinium*, rejestrowane wcześniej tylko w eksperymentach prowadzonych na zwierzętach hodowlanych [Leng i in. 1981; Franzolin, Dehority 1996]. W przypadku pierwotniaków należących do rodzaju *Epidinium* zaobserwowany wzrost gęstości populacji spowodowany wzrostem udziału traw w diecie (choć bez istotnej korelacji) potwierdza wyniki wcześniejszych badań zaliczające tego orzęska do pierwotniaków celulolitycznych [Michałowski i in. 2001; Miltko i in. 2006]. Odnotowane tendencje wzrostu udziału orzęsków z rodzaju *Entodinium* i spadku *Epidinium* zachodzące wraz ze wzrostem udziału pokarmu ubogiego w celulozę pozostają w zgodzie z wynikiem Clausa i in. [2011]. Warto przy okazji zauważyć, że dodatkowo zastosowane parametry (objętość i biomasa populacji pierwotniaków) wykazały w niektórych przypadkach (żołądźcie) bardziej istotną korelację niż powszechnie stosowana liczebność komórek. Byłoby cenne sprawdzenie przedstawionych wyżej wyników na większej próbie osobników, zwłaszcza że większość dotychczasowych badań mikrofauny żwacza daniela opierała się na próbach niewiele liczniejszych, obejmujących od 3 do 28 (średnio 10) zwierząt [Sládeček 1946; Prins, Gleen 1971; Crha 1972; Enzinger, Hartfiel 1998; Dehority i in. 1999; Kamler 1999; Trabalza-Marinucci i in. 2005; Claus i in. 2011]. Z drugiej strony uzyskane przez nas istotne lub zbliżone do istotnych korelacje pozwalają oczekiwać, że analiza większej próby potwierdzi przedstawione w tej pracy zależności. Szczególnie interesujące byłoby potwierdzenie związków zagęszczenia *Epidinium* z udziałem pokarmu bogatego w celulozę.

Różna liczebność i proporcje pierwotniaków z rodzajów *Entodinium* i *Epidinium* w treści żwacza daniela bytujących w tym samym czasie i miejscu wydają się potwierdzać w aspekcie fizjologii trawienia przekonanie o oportunistycznym pokarmowym tego przeżuwacza [Hofman 1989; Morse i in. 2009; Obidziński i in. 2013]. Może to oznaczać, że w warunkach ewentualnego braku preferowanego przez daniela żeru trawiastego gatunek ten skutecznie przystosuje się do innych rodzajów pokarmu roślinnego.

Wnioski

- ✦ Występowanie w żwaczu daniela populacji orzęsków z rodzaju *Entodinium* i *Epidinium* potwierdza jego przynależność do grupy pośredniej przeżuwaczy (tzw. „intermediate type”).
- ✦ Gęstość populacji i udział poszczególnych rodzajów orzęsków w żwaczu wiąże się z ich preferencjami pokarmowymi oraz z rodzajem pokarmu pobieranego przez zwierzę.
- ✦ Zmienny udział orzęsków z rodzajów *Entodinium* i *Epidinium* w żwaczu osobników pochodzących z jednej populacji może świadczyć o dobrej adaptacji daniela do różnego rodzaju pokarmów.

Podziękowania

Autorzy dziękują Panu Łowczemu Andrzejowi Żaczkowi i Myśliwym z Koła Łowieckiego Knieja z Warszawy za zbiór materiału badawczego.

Literatura

Apollonio M., Andersen R., Putman R. [red]. 2010. European ungulates and their management in the 21st Century. Cambridge University Press, Cambridge.

- Borkowski J., Obidziński A. 2003. The composition of the autumn and winter diets in two Polish populations of fallow deer. *Acta Theriologica* 48 (4): 539-546.
- Box G. E. P., Cox D. R. 1964. An analysis of transformations (with discussion). *Journal of the Royal Statistical Society, Seria B* 26: 211-252.
- Bruno E., Apollonio M. 1991. Seasonal variations in the diet of adult male fallow deer in a submediterranean coastal area. *Revue d'Ecologie (Terre et Vie)* 46 (4): 349-362.
- Caldwell J. F., Chapman D. I., Chapman N. 1983. Observations on the autumn and winter diet of fallow deer (*Dama dama*). *Journal of Zoology* 201 (4): 559-563.
- Chamrad A. D., Box T. W. 1964. Point frame for sampling rumen contents. *Journal of Wildlife Management* 28 (3): 473-477.
- Clauss M., Lechner-Doll M., Streich W. J. 2003. Ruminant diversification as an adaptation to the physicomechanical characteristics of forage. A reevaluation of an old debate and a new hypothesis. *Oikos* 102: 253-262.
- Clauss M., Müller K., Fickel J., Streich W. J., Hatt J.-M., Südekum K.-H. 2011. Macroecology of the host determines microecology of endobionts: protozoal faunas vary with wild ruminant feeding type and body mass. *Journal of Zoology* 283: 169-185.
- Coleman G. S. 1985. The cellulase contents of 15 species of entodiniomorphid protozoa, mixed bacteria and plant debris isolated from the ovine rumen. *Journal of Agricultural Sciences* 104 (2): 349-360.
- Coleman G. S. 1986. The amylase activity of 14 species of entodiniomorphid protozoa and the distribution of amylase in rumen digesta fractions of sheep containing no protozoa or one of seven different protozoal populations. *Journal of Agricultural Sciences* 107 (3): 709-720.
- Coleman G. S., Laurie J. I., Bailey J. E., Holdgate S. A. 1976. The cultivation of cellulolytic protozoa isolated from the rumen. *Journal of General Microbiology* 95 (1): 144-150.
- Crha J. 1972. Rumen ciliates in fallow deer (*Dama dama* L.) in limest preserve. *Acta Veterinaria Brno* 41: 355-362.
- De Smet S., Demeyer C. J., Van Nevel C. J. 1992. Effect of defaunation and hay: concentrate ratio on fermentation, fiber digestion and passage in the rumen of sheep. *Animal Feed Science and Technology* 37 (3-4): 333-344.
- Dehority B. A. 2003. Rumen microbiology. Nottingham University Press, Thrumpton.
- Dehority B. A., Demarais S., Osborn D. A. 1999. Rumen ciliates of white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*), axis deer (*Axis axis*), sika deer (*Cervus nippon*) and fallow deer (*Dama dama*) from Texas. *Journal of Eukariotic Microbiology* 46 (2): 125-131.
- Dogiel V. A. 1927. Monographie der Familie Ophryoscolecidae. *Archiv-für Protistenkunde* 59: 1-228.
- Domaszewicz B. [red.]. 2012. Leśnictwo 2012. Główny Urząd Statystyczny. Warszawa.
- Enzinger W., Hartfiel W. 1998. The effect of increased energy and protein contents in the feed on the fermentation products, fauna and mucous membranes of the rumens of wild ruminants (fallow deer, roe deer) in comparison to domestic ruminants (sheep/goats). *Zeitschrift für Jagdwissenschaft* 44: 201-220.
- Franzolin R., Dehority B. A. 1996. Effect of prolonged high-concentration feeding on ruminal protozoa population. *Journal of Animal Science* 74 (11): 2803-2809.
- Garcia-Gonzalez R., Cuartas P. 1992. Food habits of *Capra pyrenaica*, *Cervus elaphus*, and *Dama dama* in the Cazorla Sierra (Spain). *Mammalia* 56 (2): 195-202.
- Gill R. M. A., Morgan G. 2010. The effects of varying deer density on natural regeneration in woodlands in lowland Britain. *Forestry* 83 (1): 53-63.
- Hofmann R. R. 1989. Evolutionary steps of ecophysiological adaptation and diversification of ruminants: a comparative view of their digestive system. *Oecologia* 78: 443-457.
- Husheer S. W., Frampton Ch. M. 2005. Fallow deer impacts on Wakatipu beech forest. *New Zealand Journal of Ecology* 29 (1): 83-94.
- Jouany J. P., Ushida K. 1990. Protozoa and fibre digestion in the rumen. W: Hosinho S., Onodera R., Minato H., Itabashi H. [red.]. *The Rumen Ecosystem*. Japan Scientific Societies Press Tokyo and Springer Verlag, Berlin. 139-151.
- Kamler J. 1999. Infusorial concentration in rumen fluid of red deer, fallow deer, roe deer and moufflon. *Acta Veterinaria Brno* 68: 247-252.
- Leng R. A., Gill M., Kempton T., Rowe J. B., Nolan J. V., Stachiw S. J., Preston T. R. 1981. Kinetics of large ciliate protozoa in the rumen of cattle given sugar cane diet. *British Journal of Nutrition* 46 (2): 371-384.
- Levins R. 1968. Evolution in changing environment. Princeton University Press, Princeton.
- Masters P. 2009. Management of fallow deer on Kangaroo Island. W: McLeod S. [red.]. 2009. Proceedings of the National Feral Deer Management Workshop, Canberra, November 2005. Invasive Animals Cooperative Research Centre, Canberra, 70-75.
- Matuszkiewicz J. M. 2008. Potencjalna roślinność naturalna Polski. IGiPZ PAN, Warszawa. http://www.igipz.pan.pl/geoekoklimat/roslinnosc/prn_mapa/home_pl.htm
- Michałowski T. 1975. Effect of different diets on the concentration of ciliate protozoa in the rumen of water buffalo. *Journal of Agricultural Sciences* 85 (1): 145-150.
- Michałowski T. 1990. The distribution of ciliates through the reticulo-rumen of sheep. *Acta Protozoologica* 29 (3): 213-222.

- Michałowski T., Kwiatkowska E., Pająk J. J. 1997. The effect of diet on the microbial mass, and xylanase and CMC-ase activities in whole rumen digesta and in different fractions of rumen contents of cows. *Journal of Animal and Feed Sciences* 6 (4): 485-497.
- Michałowski T., Rybicka K., Wereszka K., Kasperowicz A. 2001. Ability of the rumen ciliate *Epidinium ecaudatum* to digest and use crystalline cellulose and xylan for *in vitro* growth. *Acta Protozoologica* 40 (3): 203-210.
- Miltko R., Wereszka K., Kasperowicz A., Michałowski T. 2006. Observation on the growth and morphological variability of the rumen ciliates *Epidinium caudatum* f. *fasciculus* cultured *in vitro*. *Endocytobiosis and Cell Research* 17: 164-170.
- Moore N. P., Hart J. D., Langton S. D., 1999. Factors influencing browsing by fallow deer *Dama dama* in young broad-leaved plantations. *Biological Conservation* 87: 255-260.
- Morse B. W., McElroy M. L., Miller K. V. 2009. Seasonal diets of an introduced population of fallow deer on Little St. Simons Island, Georgia. *Georgia. Southeastern Naturalist* 8 (4): 571-586.
- Murawski Z. 2011. Studium uwarunkowań i kierunków zagospodarowania przestrzennego gminy Bolimów. WPPHU „MUR”, Skierniewice.
- Nugent G. 1990. Forage availability and the diet of fallow deer (*Dama dama*) in the Blue Mountains, Otago. *New Zealand Journal of Ecology* 13: 83-95.
- Obidziński A., Kiełtyk P., Borkowski J., Bolibok L., Remuszko K. 2013. Autumn-winter diet overlap of fallow, red, and roe deer in forest ecosystems, Southern Poland. *Central European Journal of Biology* 8 (1): 8-17.
- Poli B. M., Focardi S., Tinelli A. 1996. Composition and metabolizable energy of feed used by fallow deer (*Dama dama*) in a coastal Mediterranean ecosystem. *Small Ruminant Research* 22 (2): 103-109.
- Prins R. A., Geelen M. J. H. 1971. Rumen characteristics of red deer, fallow deer, and roe deer. *Journal of Wildlife Management* 35 (4): 673-679.
- R Development Core Team. 2012. R: A language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- Ribeiro P. J. Jr., Diggle P. J. 2001. geoR: a package for geostatistical analysis. *R-NEWS* 1 (2): 15-18.
- Sládeček F. 1946. Ophryoscolecidae from the stomach of *Cervus elaphus* L., *Dama dama* L., and *Capreolus capreolus* L. *Vestník Československé Zoologické Společnosti v Praze* 10: 201-231.
- Stromayer K. A. K., Warren R. J. 1997. Are overabundant deer herds in the eastern United States creating alternate stable states in forest plant communities? *Wildlife Society Bulletin* 25 (2): 227-234.
- Towne G., Nagaraja T. G. 1990. Omasal ciliates protozoa in cattle, bison and sheep. *Applied Environmental Microbiology* 56 (2): 409-412.
- Trabalza-Marinucci M., Capecci A., Riganelli N., Acuti G., Antonini C., Olivieri O. 2005. Dietary preferences and ruminal protozoal populations in roe deer (*Capreolus capreolus*), fallow deer (*Dama dama*) and mouflon (*Ovis musimon*). *Italian Journal of Animal Science* 4 (Suppl. 2): 401-403.
- Williams A. G., Coleman G. S. 1992. The rumen protozoa. Springer-Verlag, New York.

SUMMARY

Influence of ingested forage on the composition of rumen microfauna in fallow deer

A triple increase in number of fallow deer population in Poland over the last decade inspires a need to carry out studies of the species' influence on forest ecosystems. Food eaten by ruminants, including fallow deer, undergoes initial digestion in the rumen. This digestion happens with participation of symbiotic microorganisms among which protozoa play a significant role. Composition and population density of the latter may indicate food preferences of given ruminant species. Knowledge of these parameters can facilitate better understanding of fallow deer's role for the environment, and it can help better management of its population. In view of that, the aim of the study was to determine the composition of protozoa in rumens of fallow deer and the correlation of the number of these microorganisms and type of forage ingested by the animal. Contents of rumens of six animals acquired in the Bolimowska Forest during the hunting season 2011/12 according to local hunting management plan were used as research material. Density and composition of protozoa population as well as percentage share of various types of forage were determined for examined samples. Correlations between variables were determined with

the use of Pearson correlation coefficient. Protozoa of the *Entodinium* and *Epidinium* genera of the *Ophryoscolecidae* family were identified in analysed material. Population density of *Entodinium* was positively correlated to the share of forage rich in starch with significance level of $\alpha=0.05$, which corresponded to the share of acorns in the diet. It was reversely and equally strongly correlated to the share of forage rich in cellulose, which corresponded to the share of grass in the diet. Total density of protozoa manifested similar correlations, which testified to prevalence of the *Entodinium* genus in the samples. Apart from that, percentage share of volume and biomass of *Epidinium* population in the population of ciliates was correlated negatively to the share of acorns in the forage, with significance level of $\alpha=0.1$. Occurrence of both genera of protozoa, *Entodinium* and *Epidinium* in the rumen of fallow deer attests to the species place in the intermediate type of ruminants. Different number and proportions of the *Entodinium* and *Epidinium* in rumens of fallow deer living in the same place at the same time indicates feeding opportunism of this species. This means that fallow deer can adjust to a new kind of vegetal forage, in case of shortage of their preferred grass forage.