

## Lignina i jej rozkład

Lignina zalicza się do frakcji komórek roślin najtrudniejszej do zdefiniowania. Określana jest w różny sposób, lecz żaden z nich nie jest zadowalający. Z chemicznego punktu widzenia lignina nie jest węglowodanem, a pochodną wysoce spolimeryzowanego kompleksu fenylo-propanowego związanego kowalencyjnie z białkiem i węglowodanami. W skład komponentu węglowodanowego wchodzi ksylany, mannany, arabany, glukany i galaktany. Botanicy określają ligninę jako plastyczny trójwymiarowy polimer fenylo-propanowy. Badania w mikroskopie elektronowym wykazały obecność trzeciorzędowej cienkiej warstwy pokrytej brodawkami odpornymi na działanie drobnoustrojów żwaczowych. Jedynie mechaniczne rozłożenie warstwy brodawkowej pozwala na rozkład warstw leżących pod nią. Warstwa brodawkowa jest barierą dla bakterii usiłujących rozłożyć tkankę łądygi [44]. Ligninę można uważać za substancję strukturalną, chroniącą ściany komórek przed inwazją drobnoustrojów chorobotwórczych. Z analitycznego punktu widzenia lignina jest frakcją materiału roślinnego nierozpuszczalną w wodzie, etanolu, eterze, rozcieńczonych ługach i 70% kwasie siarkowym.

Przeżuwacze nie trawią ligniny i stanowi ona w żywieniu balast, po usunięciu którego zwiększa się strawność włókna. Ostatnio stwierdzono występowanie w płynie żwaczowym rozpuszczalnego związku kompleksowego lignino-węglowodanowego [36]. Uwalnianie tego związku z materiału roślinnego przypuszczalnie następuje w trakcie rozkładu celulozy i hemiceluloz przez drobnoustroje żwacza. Na przykład u wolca zjadającego około 7 kg tropikalnej trawy (*Heteropogon contortus*) o zawartości ok. 10% ligniny uzyskuje się 200 mg tego związku w 100 ml płynu żwaczowego, co odpowiada około 43% spożytej ligniny. Kompleks ten jest oporny na dalszy rozkład i procesy fermentacyjne, a przechodząc do trawieńca, wytrąca się w niskim pH środowiska i jako balast wydalany jest z kałem [53, 107]. Inni badacze donoszą, że około 10% ligniny w paszy suchej jest trawione przez przeżuwacze [124]. Trawienie ligniny w żwaczu badano w warunkach beztlenowych *in vitro* i stwierdzono pewien bardzo wolny proces jej rozkładu [59]. Grzyby wykryte w żwaczu wykazują większą zdolność do rozkładu ligninocelulozy, jednak wielu autorów nie przypisuje im znaczącej roli w tym zakresie [3, 9, 107,].

## Lignina i jej rozkład

Lignina zalicza się do frakcji komórek roślin najtrudniejszej do zdefiniowania. Określana jest w różny sposób, lecz żaden z nich nie jest zadowalający. Z chemicznego punktu widzenia lignina nie jest węglowodanem, a pochodną wysoce spolimeryzowanego kompleksu fenylo-propanowego związanego kowalencyjnie z białkiem i węglowodanami. W skład komponentu węglowodanowego wchodzi ksylany, mannany, arabany, glukany i galaktany. Botanicy określają ligninę jako plastyczny trójwymiarowy polimer fenylo-propanowy. Badania w mikroskopie elektronowym wykazały obecność trzeciorzędowej cienkiej warstwy pokrytej brodawkami odpornymi na działanie drobnoustrojów żwaczowych. Jedynie mechaniczne rozłożenie warstwy brodawkowej pozwala na rozkład warstw leżących pod nią. Warstwa brodawkowa jest barierą dla bakterii usiłujących rozłożyć tkankę łądygi [44]. Ligninę można uważać za substancję strukturalną, chroniącą ściany komórek przed inwazją drobnoustrojów chorobotwórczych. Z analitycznego punktu widzenia lignina jest frakcją materiału roślinnego nierozpuszczalną w wodzie, etanolu, eterze, rozcieńczonych ługach i 70% kwasie siarkowym.

Przeżuwacze nie trawią ligniny i stanowi ona w żywieniu balast, po usunięciu którego zwiększa się strawność włókna. Ostatnio stwierdzono występowanie w płynie żwaczowym rozpuszczalnego związku kompleksowego lignino-węglowodanowego [36]. Uwalnianie tego związku z materiału roślinnego przypuszczalnie następuje w trakcie rozkładu celulozy i hemiceluloz przez drobnoustroje żwacza. Na przykład u wolca zjadającego około 7 kg tropikalnej trawy (*Heteropogon contortus*) o zawartości ok. 10% ligniny uzyskuje się 200 mg tego związku w 100 ml płynu żwaczowego, co odpowiada około 43% spożytej ligniny. Kompleks ten jest oporny na dalszy rozkład i procesy fermentacyjne, a przechodząc do trawieńca, wytrąca się w niskim pH środowiska i jako balast wydalany jest z kałem [53, 107]. Inni badacze donoszą, że około 10% ligniny w paszy suchej jest trawione przez przeżuwacze [124]. Trawienie ligniny w żwaczu badano w warunkach beztlenowych *in vitro* i stwierdzono pewien bardzo wolny proces jej rozkładu [59]. Grzyby wykryte w żwaczu wykazują większą zdolność do rozkładu ligninocelulozy, jednak wielu autorów nie przypisuje im znaczącej roli w tym zakresie [3, 9, 107,].

## Literatura

- [1] Akin D.E. 1976. Ultrastructure of rumen bacterial attachment to forage cell walls. *Appl. Environ. Microbiol.* **31**: 562–568.
- [2] Akin D.E., Barton Fr.E. 1983. Rumen microbial attachment and degradation of plant and cell walls. *Fed. Proc.* **42**: 114–121.
- [3] Akin D.E., Benner R. 1988. Degradation of polysaccharides and lignin by ruminal bacteria and fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* **54**: 1117–1125.
- [4] Akin D.E., Borneman W.S. 1990. Role of rumen fungi in fiber degradation. *J. Dairy Sci.* **73**: 3023–3032.
- [5] Akin D.E., Borneman W.S., Windham W.R. 1988. Rumen fungi: morphological types from Georgia cattle the attack on forage cell walls. *Bio-Systems* **21**: 385–391.
- [6] Akin D.E., Burdick D.F., Michaels G.E. 1974. Rumen bacterial interrelationships with plant tissue during degradation revealed by transmission electron microscopy. *Appl. Microbiol.* **27**: 1149–1156.
- [7] Akin D.E., Gordon G.L.R., Hogan J.P. 1983. Rumen bacterial and fungal degradation of *Digitaria pentzii* grown with or without sulfur. *Appl. Environ. Microbiol.* **46**: 738–748.
- [8] Akin D.E., Rigsby L.L. 1985. Influence of phenolic acids on rumen fungi. *Agron. J.* **77**: 180–182.
- [9] Akin D.E., Rigsby L.L. 1987. Mixed fungal populations and lignocellulosic tissue degradation in the bovine rumen. *Appl. Environ. Microbiol.* **53**: 1987–1995.
- [10] Amos H.E., Akin D.E. 1978. Rumen protozoal degradation of structurally intact forage tissues. *Appl. Environ. Microbiol.* **36**: 513–522.
- [11] Anand G.R., Gandhi K.K. 1971. The cellulase system of buffalo rumen microorganisms. Carboxymethyl cellulase. Isolation assay and kinetics of its action. *Ind. J. Biochem. Biophys.* **8**: 39–94.
- [12] Barichievich E.M., Calza R.E. 1990. Supernatant protein and cellulase activities of the anaerobic ruminal fungus *Neocallimastix frontalis* EB 188. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**: 43–48.
- [13] Bauchop T. 1979. Rument anaerobic fungi of cattle and sheep. *Appl. Environ. Microbiol.* **38**: 148–158.
- [14] Bauchop T. 1979. The rumen anaerobic fungi colonizers of plant fibre. *Ann. Rech. Vet.* **10**: 246–248.
- [15] Bauchop T. 1981. The anaerobic fungi in the rumen fibre digestion. *Agric. Environ.* **6**: 339–348.
- [16] Bauchop T., Mountfort D.O. 1981. Cellulose fermentation by a rumen anaerobic fungus in both the absence and the presence of rumen methanogenes. *Appl. Environ. Microbiol.* **42**: 1103–1110.
- [17] Ben-Ghedalia D., Miron J. 1981. Effect of sodium hydroxide, ozone and dioxide on the composition and in vitro digestibility of wheat straw. *J. Sci. Food Agric.* **32**: 224–228.
- [18] Berghem E.R., Peterson L.G. 1974. The mechanism of enzymatic cellulose degradation. Isolation and some properties of a  $\beta$ -glucosidase from *Trichoderma viride*. *Eur. J. Biochem.* **46**: 295–305.
- [19] Bernalier A., Fonty G., Gouet Ph. 1991. Cellulose degradation by two anaerobic fungi in monoculture or in coculture with rumen bacteria. *Anim. Feed Sci. Tech.* **32**: 131–136.
- [20] Bernalier A., Fonty G., Bonnemoy F., Gouet Ph. 1992. Degradation and fermentation of cellulose by the rumen anaerobic Fungi in axenic cultures association with cellulolytic bacteria. *Curr. Microbiol.* **25**: 143–148.
- [21] Bohatier J., Senaud J., Benyahya M. 1990. In situ degradation of cellulose fibres by the entodiniomorph rumen ciliate *Polyplastron multivesiculatum*. *Protoplasma* **154**: 122–131.
- [22] Bonhomme-Florentin A. 1975. Active cellulolytique des cilites Entodiniomorphes. *J. Protozol.* **22**: 447–451.
- [23] Breton A., Gaillard A., Bonnemoy F., Fonty G., Bernalier A. 1989. Caracterisation morphologique et metabolique d'une nouvelle espece de champignon anaerobic strict du rumen. *Repr. Nutr. Develop.* **28**: 67–88.
- [24] Brondiscou L., van Nevel C.J., Demeyer D.J., Jouanny J. 1988. Addition d'hydrolysats d'huile de soja dans la ration de mouton. Effect sur la degradation in sacco de la paille et de la cellulose. *Repr. Nutr. Develop.* **28**: 159–160.

- [25] Cann J.K.O., Kobayashi Y., Wakita M., Hoshino S. 1991. Digestion properties of ammoniated rice straw in the rumen and lower tract of sheep. *Anim. Feed Sci. Tech.* **35**: 55–68.
- [26] Cheng K.J., Akin D.E., Costerton J.W. 1977. Rumen bacteria, their interaction with particulate dietary components and response to dietary variation. *Fed. Proc.* **36**: 193–197.
- [27] Chesson A. 1981. Effects of sodium hydroxide on cereal straws in relation to the enhanced degradation of structural polysaccharides by rumen microorganisms. *J. Sci. Food Agric.* **32**: 745–758.
- [28] Chesson A., Stewart C.S., Wallace R.J. 1982. Influence of plant phenolic acids on growth and cellulolytic activity of rumen bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **44**: 597–603.
- [29] Chesson A., Stewart C.S., Dalgarno K., King T.P. 1986. Degradation of isolated grass mesophyll epidermis and fibre cell walls in the rumen and by cellulolytic rumen bacteria in axenic culture. *J. Appl. Bacteriol.* **60**: 327–336.
- [30] Citron A., Breton A., Fonty G. 1987. Rumen anaerobic fungi. *Bull. Inst. Pasteur* **85**: 329–343.
- [31] Coleman G.S. 1978. The metabolism of cellulose, glucose and starch by the rumen ciliate protozoan *Eudiplodinium maggii*. *J. Gen. Microbiol.* **107**: 359–366.
- [32] Coleman G.S. 1984. A comparison of the cellulolytic activities of rumen bacteria and protozoa. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **9**: 347–348.
- [33] Coleman G.S. 1985. The cellulase content of 15 species of Entodiniomorphid protozoa, mixed bacteria and plant debris isolated from the ovine rumen. *J. Agric. Sci., Camb.* **104**: 349–360.
- [34] Coleman G.S. 1986. The distribution of carboxymethylcellulose between fractions taken from the rumen of sheep containing no protozoa or one of five different protozoal populations. *J. Agric. Sci. Camb.* **106**: 121–127.
- [35] Conchie J. 1954.  $\beta$ -Glucosidase from rumen liquor. *Biochem. J.* **58**: 552–560.
- [36] Conchie J., Hay A.J., Lomax J.A., 1988. Soluble lignin carbohydrate complexes from sheep rumen fluid: their composition and structural features. *Carbohydr. Res.* **177**: 127–151.
- [37] Daniels L.B., Hashim R.B. 1977. Evaluation of fungal cellulases rice hull base diet for ruminants. *J. Dairy Sci.* **60**: 1563–1567.
- [38] Dehority B.A., Johnson R.R. 1961. Effect of particle size upon the in vitro cellulose digestibility of forages by rumen bacteria. *J. Dairy Sci.* **44**: 2242–2249.
- [39] Dekker R.F.H., Richards G.N. 1973. Effect of delignification on the in vitro rumen digestion of polysaccharides of bagasse. *J. Sci. Food Agric.* **24**: 375–379.
- [40] Delfosse-Debuscher J., Thines-Sempoux D., Vanbelle M., Latteur B. 1979. Contribution of protozoa to the rumen cellulolytic activity. *Ann. Rech. Vet.* **10**: 255–257.
- [41] Delfosse-Debuscher J., Van Hoof F., Hellings P., Thines-Sempoux D. 1979. Hydrolytic activities of rumen ciliates. *Ann. Rech. Vet.* **10**: 258–261.
- [42] Demeyer D.I. 1981. Rumen microbes and digestion of plant cell walls. *Agr. Environ.* **6**: 295–337.
- [43] Doerner K.C., White B.A. 1990. Assessment of the endo-1,4- $\beta$ -glucanase components of *Ruminococcus flavefaciens* FD-1. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**: 1844–1850.
- [44] Engels F.M., Brice R.E. 1985. A barrier covering lignified cell walls of barley straw that restricts access by rumen microorganisms. *Curr. Microbiol.* **12**: 217–224.
- [45] Festenstein G.N. 1958. Cellulolytic enzymes from sheep rumen liquor microorganisms. *Biochem. J.* **69**: 562–567.
- [46] Fonty G., Gouet Ph., Nebout J.M. 1988. Development of the cellulolytic microflora in the rumen of lambs transferred into sterile isolators a few days after birth. *Can. J. Microbiol.* **35**: 416–422.
- [47] Fonty G., Gouet Ph., Sante V. 1988. Influence d'une bacterie methanogene sur l'activité cellulolytique et le metabolisme de deux especes de champignons cellulolytiques du rumen in vitro. Résultats préliminaires. *Rep. Nutr. Develop.* **28**: 133–134.
- [48] Fonty G., Roussel O., Gouet Ph., Chavarot M. 1988. Activité cellulolytique in vivo de *Bacteroides succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens* et *Ruminococcus albus* dans le rumen d'agneaux places en isolateurs 24 heures après la naissance. *Repr. Nutr. Develop.* **28**: 135–136.

- [49] Forsberg C.W., Beveridge T.J., Hellstrom A. 1981. Cellulase and xylanase release from *Bacteroides succinogenes* and its importance in the rumen environment. *Appl. Environ. Microbiol.* **42**: 886–896.
- [50] Forsberg C.W., Groleau D. 1982. Stability of the endo-1,4- $\beta$ -glucanase and  $\beta$ -1,4-glicosidase from *Bacteroides succinogenes*. *Can. J. Microbiol.* **28**: 144–148.
- [51] Francis G.L., Gawthorne J.M., Storer G.B. 1978. Factors affecting the activity of cellulases isolated from the rumen digesta of sheep. *Appl. Environ. Microbiol.* **36**: 643–649.
- [52] Fusee M.C., Leatherwood J.M. 1972. Regulation of cellulase from *Ruminococcus*. *Can. J. Microbiol.* **18**: 347–353.
- [53] Gaillard B.D.K., Richards G.N. 1975. Presence of soluble lignin-carbohydrate complexes in the bovine rumen. *Carbohydr. Res.* **42**: 135–145.
- [54] Galas E., Pyć R., Romanowska I. 1989. Egzo-1,4- $\beta$ -glukozydaza. *Kosmos* **38**: 25–37.
- [55] Galindo J., Elias A., Cordero J. 1982. The addition of zeolite to silage diets. Effect of the zeolite level on the rumen cellulolysis of cow fed silage. *Cuban J. Agr. Sci.* **16**: 277–284.
- [56] Galindo J., Elias A., Piedra R., Lezcano O.R. 1990. The effect of some zeolite components on the rumen microbial activity of silage diets. *Cuban J. Agric. Sci.* **24**: 187–192.
- [57] Gardner R.M., Doerner K.C., White B.A. 1987. Purification and characterization of an exo- $\beta$ -1,4-glucanase from *Ruminococcus flavefaciens* FD-1. *J. Bacteriol.* **169**: 4581–4588.
- [58] Giesecke-Henderickx. 1973. *Biologie und Biochemie der mikrobiellen Verdauung*. BLV Verlagsgesell. München, Bern, Wien. 44–47.
- [59] Gijzen H.J., Lubberding H.J., Gerhardus M.J.T., Vogels G.D. 1988. Contribution of rumen protozoa to fibre degradation and cellulase activity in vitro. *FEMS Microbiol. Ecol.* **53**: 35–44.
- [60] Gihad E.A., El-Bedawy T.M., Mehrez A.Z. 1980. Fiber digestibility by goats and sheep. *J. Dairy Sci.* **63**: 1701–1706.
- [61] Gordon G.L.R., Philips M.W. 1989. Degradation and utilization of cellulose and straw by three different anaerobic fungi from the ovine rumen. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**: 1703–1710.
- [62] Grenet E., Breton A., Fonty G., Barry P., Remond B. 1988. Influence du régime alimentaire sur la population fongique anaerobic du rumen. *Repr. Nutr. Develop.* **28**: 127–128.
- [63] Griffiths D.W., Iorwerth D., Jones H. 1977. Cellulase inhibition by tannins in one test of field beans (*Vicia faba*). *J. Sci. Food Agric.* **28**: 983–989.
- [64] Groleau D., Forsberg C.W. 1981. Cellulolytic activity of the rumen bacterium *Bacteroides succinogenes*. *Can. J. Microbiol.* **27**: 517–530.
- [65] Groleau D., Forsberg C.W. 1983. Partial characterization of the extracellular carboxymethylcellulase activity produced by the rumen bacterium *Bacteroides succinogenes*. *Can. J. Microbiol.* **29**: 504–517.
- [66] Halliwell G., Bryant M.P. 1963. The cellulolytic activity of pure strains of bacteria from the rumen of cattle. *J. Gen. Microbiol.* **32**: 441–448.
- [67] Hebraud M., Fevre M. 1988. Characterization des hydrolases par les champignons anaerobies du rumen. *Repr. Nutr. Develop.* **28**: 131–132.
- [68] Hebraud M., Fevre M. 1988. Characterization of glucoside and polisaccharide hydrolases secreted by the rumen anaerobic fungi *Neocallimastix frontalis*, *Sphaeromonas communis* and *Piromonas communis*. *J. Gen. Microbiol.* **134**: 1123–1129.
- [69] Henderson C., Hodgkiss W. 1973. An electron microscopic study of *Anaerovibrio lypolytica* (strain 5s) and its lipolytic enzyme. *J. Gen. Microbiol.* **76**: 389–393.
- [70] Hiltner P., Dehority B.A. 1983. Effect of soluble carbohydrates on digestion of cellulose by pure cultures of rumen bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **46**: 642–648.
- [71] Homma H. 1986. Cellulase activities of bacteria in liquid and solid phases of the rumen digesta of buffaloes and cattle. *Jap. J. Zoot. Sci.* **57**: 336–341.
- [72] Hong B.J., Broderick G.A., Koegel R.G., Shinnors K.J., Straub J. 1988. Effect of shredding alfalfa on cellulolytic activity, digestibility, rate of passage and milk production. *J. Dairy Sci.* **71**: 1546–1555.
- [73] Hungate R.E. 1966. *The rumen and its microbes*. Acad. Press Inc. New-York.

- [74] Hungate R.E. 1943. Further experiments on cellulose digestion by protozoa on the rumen of cattle. *Biol. Bull.* **84**: 157–163.
- [75] Hungate R.E., Stack R.J. 1982. Phenylpropanoic acid, growth factor for *Ruminococcus albus*. *Appl. Environ. Microbiol.* **44**: 79–83.
- [76] Jarvis B.D.W., Anison E.F. 1967. Isolation, classification and nutritional requirement of cellulolytic cocci in the sheep rumen. *J. Gen. Microbiol.* **47**: 295–301.
- [77] Jouany J.P., Senaud J. 1979. Role of rumen protozoa in the digestion of food cellulosic materials. *Ann. Rech. Vet.* **10**: 261–263.
- [78] Jouany J.P., Senaud J. 1982. Influence des cilies du rumen sur la digestion de differents glucides chez le mouton. Utilization des glucides parietaux (cellulose et hemicelluloses) et de l'amidon. *Repr. Nutr. Develop.* **22**: 735–752.
- [79] Kałachnuik G.J., Marounek M., Sawka O.G., Simunek J. 1991. Metabolism of various polysaccharides in the rumen medium affected by monensin. *Sel.-choz. Biol., s. Biol. Život.* **6**: 89–97 (Moskwa).
- [80] Kitts W.D., Underkofler L.A. 1954. Digestion by rumen microorganisms hydrolytics products of cellulose and the cellulolytic enzymes. *J. Agric. Food Chem.* **2**: 639–654.
- [81] Kolankaya N., Stewart C.S., Duncan S.H., Cheng K.J., Costerton J. W. 1985. The effect of ammonia treatment on the solubilisation of straw and the growth of cellulolytic rumen bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* **58**: 371–379.
- [82] Konstytuovsky V.A., Okunev O.N., Tarakanov B.V. 1991. Description of the two anaerobic fungal strains from the bovine rumen and influence of diet on the fungal population in vivo. *J. Gen. Microbiol.* **137**: 1759–1764.
- [83] Kopečný J., Williams A.G. 1988. Synergism of rumen microbial hydrolases during degradation of plant polymers. *Folia Microbiol.* **33**: 208–212.
- [84] Kowalczyk J., Ørskov E.R., Robinson J.J., Stewart C.S. 1977. Effect of fat supplementation on voluntary food intake and rumen metabolism in sheep. *Br. J. Nutr.* **371**: 251–257.
- [85] Krishnamurti C.R., Kitts W.D. 1969. Preparation and properties of cellulases from rumen microorganisms. *Can. J. Microbiol.* **15**: 1373–1379.
- [86] Kudo H., Cheng K.J., Costerton J.W. 1987. Electron microscopic study of the methyl cellulose mediated detachment of cellulolytic rumen bacteria from cellulose fibers. *Can. J. Microbiol.* **33**: 267–272.
- [87] Latham M.J. 1978. Quantitative aspect of the adhesion of *R. flavefaciens* to plant cell walls. *Proc. Soc. Gen. Microbiol.* **5**: 108.
- [88] Latham M.J., Brooker B.E., Pettipher G.L., Harris P.J. 1978. *Ruminococcus flavefaciens* cell coat and adhesion to cotton cellulose and to cell walls in leaves of perennial rye-grass (*Lolium perenne*). *Appl. Environ. Microbiol.* **35**: 156–165.
- [89] Latham M.J., Brooker B.E., Pettipher G.L., Harris J. 1978. Adhesion of *Bacteroides succinogenes* in pure culture and in the presence of *Ruminococcus flavefaciens* to cell walls in leaves of perennial rye-grass (*Lolium perenne*). *Appl. Environ. Microbiol.* **35**: 1166–1173.
- [90] Latham M.J., Hobbs D.G., Harris P.J. 1979. Adhesion of rumen bacteria to alkali treated plant stems. *Ann. Rech. Vet.* **10**: 244–245.
- [91] Leatherwood J.M. 1965. Cellulase from *Ruminococcus albus* and mixed rumen microorganisms. *Appl. Microbiol.* **13**: 771–775.
- [92] Leatherwood J.M. 1969. Cellulase complex of *Ruminococcus* and a new mechanism for cellulose degradation. In cellulases and their application. *Advanced in Chemistry* ser. 95 ed. by R. F. Gould Washington Am. Chem. Soc. **95**: 53–57.
- [93] Leatherwood J.M. 1973. Cellulose degradation by *Ruminococcus*. *Fed. Proc.* **32**: 1814–1818.
- [94] Lewis S.M., Montgomery L., Garleb K.A., Berger K.A., Fahey G.C. Jr. 1988. Effect of alkaline hydrogen peroxide treatment on in vitro degradation of cellulolytic substrates by mixed ruminal microorganisms and *Bacteroides succinogenes* S 85. *Appl. Environ. Microbiol.* **54**: 1163–1169.
- [95] Lowe S.E., Theodoru M.K., Trinci A.P.J. 1987. Cellulases and xylanase of an anaerobic rumen fungus grown on wheat straw, wheat straw holocellulose, cellulose and xylan. *Appl. Environ. Microbiol.* **53**: 1216–1223.

- [96] Li X., Calza R.E. 1991. Purification and characterization of an  $\beta$ -glucosidase from the rumen fungus *Neocallimastix frontalis* EB 188. *Enzym. Microbiol. Technol.* **13**: 622–628.
- [97] Li X., Calza R.E. 1991. Fractionation of cellulases from the ruminal fungus *Neocallimastix frontalis* EB 188. *Appl. Environ. Microbiol.* **57**: 3331–3336.
- [98] Marais J.P., Therion J.J., Mackie R.J., Kistner A., Dennison C. 1988. Effect of nitrate and its reduction products on the growth and activity of the rumen microbial population. *Br. J. Nutr.* **59**: 303–313.
- [99] Małaczyńska G.M., Jonata-Bassalik L. 1974. Cellulolytic rumen bacterium *Micromonospora ruminantium* sp. nv. *J. Gen. Microbiol.* **82**: 57–65.
- [100] Makkar H.P.S., Singh B., Dawra R.K. 1988. Effect of tannin rich leaves of oak (*Quercus inkana*) on various enzyme activities of the bovine rumen. *Br. J. Nutr.* **60**: 287–296.
- [101] McGavin M., Forsberg C.W. 1988. Isolation and characterisation of endoglucanases 1 and 2 from *Bacteroides succinogenes* S 85. *J. Bacteriol.* **170**: 2914–2922.
- [102] Miron J., Bean-Ghedalia D. 1981. Effect of the chemical treatments in the degradability of cotton straw by rumen microorganisms and by fungal cellulase. *Biochem. Bioengin.* **23**: 2863–2873.
- [103] Miron J., Yokoyama M.T., Lamed R. 1989. Bacterial cell surface structures involved in lucerne cell wall degradation by pure cultures of cellulolytic rumen bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **32**: 218–222.
- [104] Morris E.J., Cole O.J., 1987. Relationship between cellulolytic activity and adhesion to cellulose in *Ruminococcus albus*. *J. Gen. Microbiol.* **133**: 1023–1032.
- [105] Mountfort D.O., Asher R.A. 1985. Production and regulation of cellulase by two strains of the rumen anaerobic fungus *Neocallimastix frontalis*. *Appl. Environ. Microbiol.* **49**: 1314–1322.
- [106] Murray W.D., Sowden L.C., Calvin J.R. 1986. Localisation of the cellulase activity of *Bacteroides cellulosolvens*. *Lett. Appl. Microbiol.* **3**: 69–72.
- [107] Nelson M.J., Richards G.N. 1978. The fate of the soluble lignin carbohydrate complex produced in the bovine rumen. *J. Sci. Food. Agric.* **29**: 513–519.
- [108] Ohmiya S., Maeda K., Shimizu S. 1987. Purification and properties of endo-1,4- $\beta$ -glucanase from *Ruminococcus albus*. *Carbohydr. Res.* **166**: 145–155.
- [109] Ohmiya K., Shimizu S. 1988. Celobiosidase from *Ruminococcus albus*. *Meth. Enzymol.* **160**: 391–398.
- [110] Ohmiya K., Shimizu S. 1988.  $\beta$ -Glucosidase from *Ruminococcus albus*. *Meth. Enzymol.* **160**: 408–414.
- [111] Ohmiya K., Shirai M., Kurachi Y., Shimizu S. 1985. Isolation and properties of a  $\beta$ -glucosidase from *Ruminococcus albus*. *J. Bacteriol.* **161**: 432–434.
- [112] Ohmiya K., Shimizu M., Taya M., Shimizu S. 1982. Purification and properties of celobiosidase from *Ruminococcus albus*. *J. Bacteriol.* **150**: 407–409.
- [113] Okada G. 1975. Enzymatic studies on a cellulose system of *Trichoderma viride*. *J. Biochem. (Japan)*. **77**: 33–42.
- [114] Onodera R., Yamasaki N., Murakami K. 1988. Effect of inhabitation by ciliate protozoa on the digestion of fibrous materials in vivo in the rumen of goats and in vitro rumen microbial ecosystem. *Agric. Biol. Chem.* **52**: 635–2637.
- [115] Op den Camp H.J.M., Verhagen F.J.M., Kiwaisi A.K., de Windt F.E., Lubberding H.O., Gilzen H.J., Vogels G.D. 1988. Effects of lignin on the anaerobic degradation of ligno-cellulosic wastes by rumen microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotech.* **29**: 408–412.
- [116] Orpin C.G. 1975. Studies on the rumen flagellate *Neocallimastix frontalis*. *J. Gen. Microbiol.* **91**: 249–262.
- [117] Orpin C.G. 1977. The occurrence of chitin in the cell walls of the rumen organisms *N. frontalis*, *Piromonas communis* and *Sphaeromonas communis*. *J. Gen. Microbiol.* **99**: 215–218.
- [118] Orpin C.G. 1983/84. The role of ciliate protozoa and fungi in the rumen digestion of plant cell walls. *Anim. Feed Sci. Tech.* **10**: 121–143.
- [119] Patterson H., Irwin R., Costerton J.W., Cheng K.J. 1975. Ultrastructure and adhesion properties of *Ruminococcus albus*. *J. Bacteriol.* **122**: 278–287.

- [120] Pearce Ph.D., Bauchop Th. 1985. Glycosidases of the rumen anaerobic fungus *Neocallimastix frontalis* grown on cellulosic substrates. *Appl. Environ. Microbiol.* **49**: 1265–1269.
- [121] Pettipher G.L., Latham M.J. 1978. Nutritional factors affecting growth and production of cellulase and xylanase by *Ruminococcus flavefaciens*. *Proc. Soc. Gen. Microbiol.* **5**: 45–46.
- [122] Pettipher G.L., Latham M.J. 1979. Characteristics of enzymes produced by *Ruminococcus flavefaciens* which degrade plant cell walls. *J. Gen. Microbiol.* **110**: 21–27.
- [123] Pettipher G.L., Latham M.J. 1979. Production of enzymes degrading plant cell walls and fermentation of celobiose by *Ruminococcus flavefaciens* in batch and continuous culture. *J. Gen. Microbiol.* **110**: 29–38.
- [124] Porter P., Singleton A.G. 1971. The degradation of lignin and quantitative aspects of ruminal digestion. *Br. J. Nutr.* **25**: 3–14.
- [125] Rabinovitch M.L., van Diet N., Klysov A.M. 1982. Adsorption of cellulolytic enzymes on cellulose and kinetics of adsorbed enzymes. Two modes for interaction of the enzymes with the insoluble substrate. *Biochimija* **47**: 465–477.
- [126] Rasmussen M.A., Hespell R.B., White B.A., Bothast R.J. 1988. Inhibitory effects of methylcellulose on cellulose degradation by *Ruminococcus flavefaciens*. *Appl. Environ. Microbiol.* **54**: 890–897.
- [127] Reese T.E. 1956. Enzymatic hydrolysis of cellulose. *Appl. Microbiol.* **4**: 39–45.
- [128] Reese T.E., Siu R.G.H., Levinson H.S. 1950. The biological degradation of soluble cellulose derivative and its relationship to the mechanism of cellulose hydrolysis. *J. Bacteriol.* **95**: 485–497.
- [129] Richardson A.J., Stewart C.S., Campbell G.P., Wilson A.B., Joblin K.N. 1986. Influence of coculture with rumen bacteria on the lignocellulolytic activity of phycomycetous fungi from the rumen. XIV Int. Congr. Microbiol. Microbe 86: Manchester.
- [129a] Robertson J.A., Hawke J.C. 1964. Studies on rumen metabolism. I. Effect of lipids on the concentration of ammonia total and individual volatile acids in the rumen. *J. Sci. Food Agric.* **15**: 274–282.
- [130] Roger V., Bernalier A., Grenet E., Fonty G., Jamot J., Gouet P. 1993. Degradation of wheat straw and maize stem by a monocentric and a polycentric rumen fungi, alone or in association with rumen cellulolytic bacteria. *Anim. Feed Sci. Tech.* **42**: 69–82.
- [131] Russel S. 1972. Enzymatyczny rozkład celulozy. *Post. Microb.* **11**: 95–100.
- [132] Ruszczyc Z. 1980. Żywienie zwierząt i paszoznawstwo. PWRL. Warszawa.
- [133] Schellhorn H.E., Forsberg C.W. 1984. Multiplicity of extracellular 1,4- $\beta$ -endoglucanases of *Bacteroides succinogenes* S 85. *Can. J. Microbiol.* **30**: 930–937.
- [134] Sijpestein A.K. 1951. *Ruminococcus flavefaciens* a cellulose decomposing bacterium from the rumen of sheep and cattle. *J. Gen. Microbiol.* **5**: 869–879.
- [135] Silva A.T., Wallace R.J., Ørskov E.R. 1987. Use of the particle bound microbial enzyme activity to predict the rate and extent of fibre degradation in the rumen. *Br. J. Nutr.* **57**: 407–415.
- [136] Sinha R. N., Ranganathan B. 1983. Cellulolytic bacteria in buffalo rumen. *J. Appl. Bacteriol.* **54**: 1–6.
- [137] Smith W.F., Yu I., Hungate R.E. 1973. Factors affecting cellulolysis by *Ruminococcus albus*. *J. Bacteriol.* **114**: 729–737.
- [138] Stack R.J., Cotta M.A. 1986. Effect of 3-phenylpropanoic acid on growth and cellulose utilization by cellulolytic ruminal bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **52**: 209–210.
- [139] Stack R.J., Hungate R.E. 1984. Effect of 3-phenylpropanoic acid on capsule and cellulases of *Ruminococcus albus* 8. *Appl. Environ. Microbiol.* **48**: 218–223.
- [140] Stack R.J., Hungate R.E., Opsahl W.P. 1983. Phenylacetic acid stimulation of cellulose digestion by *Ruminococcus albus* 8. *Appl. Environ. Microbiol.* **46**: 539–544.
- [141] Stanley R.W., Kesler E.M. 1960. Enzymatic activity of rumen fluid cellulases. *J. Dairy Sci.* **43**: 874–877.
- [142] Stewart C.S. 1977. Factors affecting the cellulolytic activity of rumen contents. *Appl. Environ. Microbiol.* **33**: 497–502.



- [143] Stewart C.S., Duncan S.H. 1985. The effect of Avoparcin on cellulolytic bacteria of the ovine rumen. *J. Gen. Microbiol.* **131**: 427–436.
- [144] Stewart C.S., McPerson C.A., Cansunar E. 1987. The effect of lasalocid on glucose uptake, hydrogen production and solubilization of straw by the anaerobic fungus *Neocallimastix frontalis*. *Lett. Appl. Microbiol.* **5**: 5–7.
- [145] Stewart C.S., Richardson A.J. 1989. Enhanced resistance of anaerobic rumen fungi to the ionophores monensin and lasalocid in the presence of metanogenic bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* **66**: 85–93.
- [146] Terry R.A., Tilley J. M.A., Outen G.E. 1969. Effect of pH on cellulose digestion under in vitro conditions. *J. Sci. Food Agric.* **20**: 318–320.
- [147] Theater P.M., Wood P.J. 1982. Use of congo-red polysaccharide interaction in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. *App. Environ. Microbiol.* **43**: 777–780.
- [148] Van Gylswyk N.O., Hoffman I.P. 1970. Characteristic of cellulolytic cillobacteria from the rumen of sheep fed Telf hay diets. *J. Gen. Microbiol.* **60**: 381–386.
- [149] Varel V.H., Dehority B.A. 1989. Ruminant cellulolytic bacteria and protozoa from Bison cattle, Bison hybrids and cattle fed three alfalfa-corn diets. *Appl. Environ. Microbiol.* **55**: 148–153.
- [150] Vijayakumar P., Rese E. T. 1977.  $\beta$ -Glucosidase microbial production and effect on enzymatic hydrolysis of cellulose. *Can. J. Microbiol.* **23**: 139–147.
- [151] Voigt J., Piątkowski B. 1978. Die Wirkung des pelletierens von Getreidestroh mit Natronlauge auf die Pansenfermentation der Kuhe. *Arch. Tierernähr.* **28**: 344–354.
- [152] White B. A., Rasmussen M. A., Gardner R. M. 1988. Methylcellulose inhibition of exo- $\beta$ -1,4-glucanase A from *R. flavefaciens* FD 1. *Appl. Environ. Microbiol.* **54**: 1634–1636.
- [153] Windham W. R., Akin D. E. 1984. Rumen fungi and forage fiber degradation. *Appl. Environ. Microbiol.* **48**: 473–476.
- [154] Williams A.G., Ellis A.B. 1985. Subcellular distribution of glycoside hydrolase and polysaccharide depolymerase enzymes in the rumen Entodiniomorphid ciliate *Polyplastron multivesiculatum*. *Curr. Microbiol.* **12**: 175–182.
- [155] Williams A.G., Orpin C.G. 1987. Polysaccharide degrading enzymes formed by three species of anaerobic rumen fungi grown on a range of carbohydrate substrates. *Can. J. Microbiol.* **33**: 418–426.
- [156] Williams A.G., Strachan N.H. 1984. The distribution of polysaccharide degrading enzymes in the bovine rumen digesta ecosystem. *Curr. Microbiol.* **10**: 215–220.
- [157] Williams A.G., Withers F.S. 1991. Effect of ciliate protozoa on the activity of polysaccharide degrading enzymes and fibre breakdown in the rumen ecosystem. *J. Appl. Bacteriol.* **70**: 144–155.
- [158] Wood T.M. 1981. Aspects of the degradation of the plant cell walls carbohydrate in the rumen. Proc. Agric. Sci. Seminar (London). Degradation of plant cell walls materials p. 24–35.
- [159] Wood T.M., McCrae S.J. 1978. The cellulase of *Trichoderma koningii* purification and the properties of some endoglucanase components with special reference to their action on cellulose when acting alone and in synergism with the cellobiohydrolase. *Biochem. J.* **171**: 61–72.
- [160] Wood T.M., Wilson C.A. 1984. Some properties of the endo- $\beta$ -1,4-glucanase synthesized by the anaerobic cellulolytic bacterium *Ruminococcus albus*. *Can. J. Microbiol.* **30**: 316–321.
- [161] Wood T.M., Wilson C.A., Stewart C.S. 1982. Preparation of the cellulase from the cellulolytic anaerobic rumen bacterium *Ruminococcus albus* and its release from the bacterial cell walls. *Biochem. J.* **205**: 129–137.
- [162] Wood T.M., Wilson C.A., McCrae S.I., Joblin K.N. 1986. A highly active extracellular cellulase from the anaerobic rumen fungus *Neocallimastix frontalis*. *FEMS Microbiol. Lett.* **34**: 37–40.
- [163] Wynne D., Griffiths A.D., Iorworth H.J., Jones H. 1977. Cellulase inhibition by tannins in the test of field beans (*Vicia faba*). *J. Sci. Food Agric.* **28**: 983–989.
- [164] Yu S., Hungate R.E. 1979. The extracellular cellulases of *Ruminococcus albus*. *Ann. Rech. Vet.* **10**: 251–254.