

# STUDI SASSARESI

Sezione III

1977

Volume XXV

ANNALI DELLA FACOLTÀ DI AGRARIA DELL'UNIVERSITÀ  
DI SASSARI

DIRETTORE: O. SERVAZZI

COMITATO DI REDAZIONE: M. DATILO - F. FATICHENTI - L. IDDA - F. MARRAS  
A. MILELLA - P. PICCAROLO - A. PIETRACAPRINA - R. PROTA - G. RIVOIRA  
R. SATTA - C. TESTINI - G. TORRE - A. VODRET



ORGANO UFFICIALE  
DELLA SOCIETÀ SASSARESE DI SCIENZE MEDICHE E NATURALI

GALLIZZI - SASSARI - 1978

St. Sass. III Agr.

Istituto di Microbiologia Agraria e Tecnica dell'Università di Sassari

Istituto Zooprofilattico per la Sardegna - Sassari

FATICENTI F., MURA D., FARRIS G. A., DEIANA P.

### **Prove di tossicità da SCP nell'ovino.**

#### **Nota VII: Rilievi sul comportamento della microflora ruminale \***

Questa indagine fa parte di un programma di ricerca svolto in collaborazione fra l'Istituto Zooprofilattico per la Sardegna e gli Istituti di Anatomia Normale Veterinaria, di Patologia Speciale e Clinica Medica Veterinaria, di Zootecnica e di Microbiologia Agraria dell'Università di Sassari.

Il programma di ricerca si prefigge di studiare l'utilizzazione di biomasse di lieviti coltivati su alcani (SCP) nella alimentazione di ovini.

La sperimentazione è stata iniziata con la introduzione della SCP Toprina della British Petroleum, fornita dal Ministero della Sanità, nelle miscele di svezzamento degli agnelli.

I risultati di questa prova sono stati in parte già stampati (LUCIFERO e MURA, 1975) ed in parte sono in via di pubblicazione.

Successivamente sono state fatte una prova di tossicità cronica su pecore di razza sarda di media taglia, pluripare, che è durata 12 mesi, ed una prova di tossicità acuta su 12 ovini sempre di razza sarda, agnelioni di differente età, che è durata un mese.

I risultati di queste prove vengono riferiti in note monografiche separate per oggetto della ricerca in questo stesso convegno.

La presente nota riguarda i rilievi fatti sulla microflora ruminale degli animali, sia nella prova di tossicità cronica, come in quella di tossicità acuta.

---

\* Comunicazione presentata al 31° Convegno della Società Italiana delle Scienze Veterinarie - Camerino (Macerata), 7-11 Settembre 1977.

## MATERIALI E METODI

### A) TOSSICITÀ CRONICA.

Il piano sperimentale comprendeva l'impiego di 24 pecore ripartite in quattro gruppi di 6, alimentate con miscele di concentrati la cui integrazione proteica era costituita rispettivamente da soia, toprina al 15%, toprina al 30% e toprina al 60%.

I campioni di fluido ruminale sono stati prelevati da ciascun animale in tre diversi periodi: prima, ad un mese dall'inizio ed alla fine del trattamento.

Le prime due serie di prelievi sono state fatte estraendo il fluido ruminale con sonde esofagee; l'ultima è stata invece fatta prelevando direttamente il fluido dal rumine aperto degli animali sacrificati.

Dieci ml di contenuto ruminale omogeneizzato sono stati sospesi in 90 ml di soluzione fisiologica sterile; a partire da questa sospensione a 1/10 è stata quindi preparata una serie di diluizioni di 10 in 10 fino a  $10^{-10}$ .

La conta dei batteri è stata fatta con il metodo classico dei terreni di arricchimento; per assicurare delle condizioni di sufficiente anaerobiosi del mezzo i terreni sono stati agarizzati debolmente (0,05%) e posti in provette in strato spesso (12 ml).

Il substrato base era costituito dallo Yeast Nitrogen Base Difco a pH 7,0 cui sono stati aggiunti glucosio per la conta della microflora totale, soluble starch Difco per la conta degli Amilolitici, carta da filtro in strisce per la conta dei Cellulosolitici, e gelatina marca « Oro » al 30% per la conta dei Proteolitici; naturalmente quest'ultimo terreno non è stato agarizzato.

In tutti questi substrati non è stato utilizzato il liquido ruminale come costituente base, così come viene raccomandato da molti autori, per la comprensibile difficoltà che abbiamo riscontrato a reperirlo in quantità sufficiente alla bisogna.

Per i lieviti invece, che sono stati contati, isolati ed identificati, è stato impiegato un substrato in piastre, composto da glucosio, estratto di lievito e peptone, a pH 4,0.

Tutti i terreni di coltura sono stati inoculati con 1 ml di ciascuna diluizione dei campioni di fluido ruminale.

Le colture, dopo l'inoculo, sono state poste ad incubare a 39°C per un massimo di 30 gg. durante i quali sono stati fatti, ad intervalli regolari, i conteggi, e, limitatamente ai Lieviti, gli isolamenti.

Le letture dei risultati sono state fatte, oltre che con l'apprezzamento micro e macroscopico dello sviluppo microbico, osservando il comportamento del substrato al reattivo iodo-iodurato nel caso degli Amilolitici; la comparsa di tacche di erosione sulla carta nel caso dei Cellulosolitici e la liquefazione della gelatina nel caso dei Proteolitici.

Le colture di Lieviti isolate sono state identificate secondo LODDER (1970).

Inoltre, è stata saggiata l'attività lipolitica con i tests alla tributirina (CARINI, 1969) e caseinolitica esoenzimatica in agar-latte (CARINI, 1975) per un certo numero degli stipiti isolati.

## B) TOSSICITÀ ACUTA.

La prova è stata eseguita su 12 ovini di circa 7-12 mesi di età (agnelloni), maschi, divisi in due gruppi omogenei composti ciascuno di 6 soggetti; un gruppo aveva ricevuto il 100% delle proteine della razione in soja (gruppo di controllo), l'altro in toprina, in quantità notevolmente superiore a quelle tecnicamente consigliabili.

La durata della prova è stata di 30 gg.

I campioni di fluido ruminale sono stati prelevati da ciascun animale prima dell'inizio e a fine trattamento.

Le modalità di prelevamento dei campioni e di esecuzione delle conte microbiche sono le stesse già descritte per la prova di tossicità cronica.

Anche in questo caso sono stati presi in considerazione la Microflora totale, gli Amilolitici, i Cellulosolitici, i Proteolitici ed i Lieviti, che però questa volta non sono stati isolati.

## RISULTATI E DISCUSSIONE

### A) TOSSICITÀ CRONICA.

#### 1) *Conte microbiche:*

I risultati sono riportati nella tabella n. 1.

Questi risultati appaiono di non facile interpretazione; infatti nell'ambito di tutti i gruppi esistono variazioni in più o in meno fra gli animali

trattati ed i controlli, ma non pare possibile stabilire alcuna relazione fra tali variazioni e la dieta somministrata.

Solo nel caso dei Lieviti sembrerebbe che la Toprina ai livelli 15 e 30% ne abbia esaltato la moltiplicazione, rispetto alla soja ed alla stessa biomassa al livello 60%, ad un mese dall'inizio del trattamento. Nella prima esperienza (LUCIFERO e MURA, 1975), era stato osservato un effetto analogo. Infatti l'alimentazione con toprina introdotta nella miscela di svezzamento degli agnelli sembrava aver favorito l'anticipata messa in funzione dei prestomaci, sia per la maggiore carica microbica totale rilevata nel liquido ruminale, che faceva pensare ad uno stimolo della biomassa sulla microflora del rumine, sia per il maggior sviluppo dimensionale dei prestomaci degli animali del gruppo sperimentale rispetto a quelli di controllo.

Al termine dell'esperienza però il numero dei lieviti è apparso molto ridotto in tutte le tesi.

#### 2) Identificazione dei Lieviti e tests collaterali:

Questi risultati sono riportati nelle tab. 2 e 3.

Dal contenuto ruminale di tutte le pecore esaminate sono state isolate complessivamente 194 colture pure che sono risultate appartenere a 18 specie differenti, delle quali 14 asporigene e 4 ascosporigene (tab. 2):

### ASPORIGENE

*Candida boidinii* Ramirez

*Candida slooffii* van Uden et do Carmo Sousa

*Candida tropicalis* (Castellani) Berkhout

*Cryptococcus albidus* (Saito) Skinner var. *albidus*

*Cryptococcus albidus* (Saito) Skinner var. *diffluens* (Zach) Phaff-Fell nov. var.

*Cryptococcus dimennae* Fell-Phaff

*Cryptococcus kuetzingii* Fell et Phaff

*Rhodotorula glutinis* (Fr.) Harrison var. *dairenensis* Hasegawa et Banno

*Rhodotorula glutinis* (Fres) Harrison var. *glutinis*

*Rhodotorula graminis* di Menna

*Rhodotorula pallida* Lodder

*Rhodotorula rubra* (Demme) Lodder

*Torulopsis versatilis* (Etchells-Bell) Lodder-Kreger-van Rij

*Trichosporon cutaneum* (de Beurm. Gougerot-Vaucher) Ota

## ASCOSPORIGENE

*Debaryomyces hansenii* (Zopf) Lodder et Kreger - van Rij

*Debaryomyces phaffii* Capriotti

*Debaryomyces tamarii* Ohara et Nonomura

*Saccharomyces vafjer* v. d. Walt

È ormai noto che i Lieviti sono presenti abitualmente nell'apparato digerente dei mammiferi, ivi compreso il primo stomaco dei ruminanti.

Fra gli autori che si sono occupati di questo argomento possiamo ricordare Klein e Muller (1941), van der Westhuisen, Oxford & Quin (1950), Rolle e Kolb (1955), Parle (1957), van Uden & Carmo Sousa (1957) (1962a) (1962b), van Uden, Carmo Sousa & Farinha (1958), Soneda (1959), Clarke (1960), Clarke & Di Menna (1961), Krogh (1961), Batista, De Vasconcelos, Fischman & Staib (1961), Munch-Petersen (1963), Sæz (1963), Mehnert (1965), Smith (1965), Segretain & Emami (1968), Sæz & Rinjard (1973) e Lund (1974).

Gli scopi principali delle ricerche di questi autori erano quelli di verificare la presenza dei Lieviti nel tratto alimentare (e perciò anche nelle feci) degli animali in osservazione, oppure di stabilire eventuali rapporti fra il tipo di alimentazione ed il tipo di Lieviti presenti, oppure ancora, ricercare possibili relazioni fra i Lieviti isolati ed alcune malattie degli animali.

I risultati della nostra indagine, che pure è stata impostata con finalità diverse e su animali alimentati in maniera affatto particolare, se confrontati con quelli ottenuti dalla maggior parte degli autori citati non consentono di evidenziare particolari differenze, sia per quanto riguarda il numero, sia per quanto riguarda le specie di Lieviti identificate.

Si può forse constatare una più accentuata diffusione del genere *Debaryomyces* nei ruminanti da noi esaminati, tuttavia si deve anche dire che il genere *Debaryomyces*, e particolarmente il *Deb. hansenii*, è molto diffuso nel latte di pecora e di capra in Sardegna (FATICENTI e FARRIS, 1973) (FATICENTI, FARRIS e DEIANA, 1977) (DEIANA, FATICENTI e FARRIS, 1977).

La presenza dei *Debaryomyces* nel rumine potrebbe quindi riflettere una costante dell'habitat dell'Isola.

Il tipo di proteina introdotta nella dieta non consente neppure di osservare una modificazione del quadro delle specie isolate nei diversi gruppi in osservazione.

Nella tab. 3 sono riportati i risultati dei tests di caseinolisi e lipolisi.

Tutti gli stipiti saggiati sono risultati lipolitici e molti di essi anche caseinolitici. Riguardo ai ceppi negativi, è inoltre bene osservare che gli stessi potrebbero rivelarsi ugualmente capaci di idrolizzare la caseina, se sottoposti al test con esoenzimi (CARINI, 1975).

Per questi risultati riteniamo che si possa conferire ai lieviti una certa importanza nei processi digestivi degli animali e giustificare la presenza nel rumine, presenza che non sarebbe perciò meramente occasionale.

A titolo di informazione, poiché ciò non riguarda direttamente questo lavoro, aggiungiamo che nell'Istituto di Microbiologia Agraria è in corso lo screening di tutti gli stipiti isolati allo scopo di individuare eventuali lieviti utilizzabili per produrre SCP da lattosio, xilosio, amido, polpe di frutta e di agrumi e su altri substrati convenzionali.

## B) TOSSICITÀ ACUTA.

### 1) *Conte microbiche:*

I risultati sono riportati nella tabella 4.

Anche i risultati di questa conta, così come nella prova di tossicità cronica, sono poco facilmente interpretabili. Pure qui, infatti le variazioni in più o in meno fra gli animali del gruppo sperimentale e quelli del gruppo di controllo non sembrano ricollegabili alla diversa dieta somministrata; anche in questo caso, inoltre, i Lieviti contati al termine dell'esperienza sono risultati in numero minore a quelli contati prima del trattamento in entrambe le tesi.

## CONCLUSIONI

La differente dieta somministrata ai gruppi sperimentali di ovini e a quelli di controllo non sembra aver influenzato quantitativamente la Microflora totale, gli Amilolitici, i Cellulosolitici ed i Proteolitici, sia nella prova di tossicità cronica come in quella di tossicità acuta. Il numero dei Lieviti è *diminuito* al termine di entrambe le prove su tutti i gruppi in osservazione.

Il tipo di proteina somministrato, nella prova di tossicità cronica, non sembra aver influito neppure sulle specie di lieviti che usualmente albergano nel rumine degli animali.

Tab. I - Tossicità cronica - n. di germi/ml di fluido ruminale.

Campione	Microflora totale			Amilolitici			Cellulosolitici			Proteolitici			Lieviti		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C	A	B	C
Soja	8	10 <sup>7</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10	10 <sup>2</sup>	390	400	100
	9	10 <sup>5</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>2</sup>	10	10	10	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10	10 <sup>3</sup>	10	800	1000	
	10	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10	1600	2000	200
	22	10 <sup>6</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10	10	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	150	200	100
	34	10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>	0	10	0	0	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	0	10	80	60	
	49	10 <sup>6</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>3</sup>	10	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10	10	500	600
SCP 15%	58	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10	100	10	
	61	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	0	0	10	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10	10	500	48000	400
	62	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10	10	130	15000	100
	63	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10	10	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10	10	300	1200	
	64	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10	10	10	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10	10	200	100	100
65	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10	10 <sup>4</sup>	10	300	4000	10000
SCP 30%	68	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	150	200	100
	69	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10	10 <sup>2</sup>	10	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10	10	10	100	10000	2000
	74	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10	0	10	10	10	0	10	10	300	2600	
	75	10 <sup>8</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10	10	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10	400	400	100
SCP 60%	77	10 <sup>5</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10	10 <sup>2</sup>	10	200	8000	100
	78	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10	10	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>4</sup>	10	10 <sup>2</sup>	10	600	40000	
SCP 60%	90	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10	10	10	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10	10	60	20	
	91	10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10	10	150	100	1000
	93	10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10	10	10	200	10	
	94	10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	0	10	100	200	200
SCP 60%	98	10 <sup>4</sup>	10 <sup>7</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>4</sup>	10	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10	10	150	200	100
	100	10 <sup>5</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>2</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10	10	400	1800	10

Leggenda: A = Prima del trattamento.

B = Ad un mese dall'inizio del trattamento.

C = Al termine del trattamento.



Tab. 2 - Quadro generale dei Lieviti isolati dal ruminante delle pecore utilizzate nella prova di tossicità cronica.

Specie isolate	Prima del trattamento		ad un mese dall'inizio del trattamento				al termine del trattamento				n. totale di stiptiti isolati
	alimentazione		alimentazione				alimentazione				
	soja		soja	SCP 15%	SCP 30%	SCP 60%	soja	SCP 15%	SCP 30%	SCP 60%	
<b>ASPORIGENE</b>											
<i>C. boidinii</i>	3		1				1				5
<i>C. slooffii</i>	2		1				1				4
<i>Cr. tropicalis</i>				2				1			4
<i>Cr. albidus</i> var. <i>albidus</i>	3		4		1		1			1	12
<i>Cr. albidus</i> var. <i>diffluens</i>	3				1				1		5
<i>Cr. dimennae</i>	2		1								3
<i>Cr. kuetzingii</i>	3		1				3	1			8
<i>Rh. glutinis</i> var. <i>glutinis</i>	5		6				5				16
<i>Rh. glutinis</i> var. <i>dairrenensis</i>	3			2			1		1		7
<i>Rh. graminis</i>	4		4				1	2			11
<i>Rh. pallida</i>	1				2					1	6
<i>Rh. rubra</i>	2		2				1	1			6
<i>T. versatilis</i>	1				4					2	7
<i>Tr. cutaneum</i>	1			3	1		1		2	2	10
<b>ASCOSPORIGENE</b>											
<i>Deb. hansenii</i>	16		4	11	6	8	5	9	2	5	66
<i>Deb. phaffii</i>	4		2				1				7
<i>Deb. tanarii</i>	2		1	2			2	1	1		9
<i>Sacch. vafur</i>	3		3				1		1		8

Tab. 3 - Risultati dei tests di caseinolisi e lipolisi.

Stipite		Caseinolisi	Lipolisi
75-1	<i>Candida tropicalis</i>	—	++
75-2	<i>Candida tropicalis</i>	—	++
64-4	<i>Cryptococcus albidus</i> var. <i>albidus</i>	++	++
64-5	<i>Cryptococcus albidus</i> var. <i>albidus</i>	+	++
9-1	<i>Chyptococcus dimennae</i>	+	++
61-6	<i>Rhodotorula glutinis</i> var. <i>dairenensi</i>	+	++
61-7	<i>Rhodotorula glutinis</i> var. <i>dairenensi</i>	+	++
10-8	<i>Rhodotorula glutinis</i> var. <i>glutinis</i>	+	++
10-9	» » » »	+	++
10-10	» » » »	++	++
10-11	» » » »	+	++
10-12	» » » »	+	++
61-3	<i>Rhodotorula graminis</i>	+	++
61-4	<i>Rhodotorula graminis</i>	—	++
74-1	<i>Rhodotorula pallida</i>	—	++
74-2	» »	—	++
74-3	» »	+	++
74-5	» »	+	++
93-1	» »	+	++
10-14	<i>Rhodotorula rubra</i>	++	++
75-3	<i>Trichosporon cutaneum</i>	++	++
75-4	<i>Trichosporon cutaneum</i>	++	++
49-1	<i>Debaryomyces hansenii</i>	—	++
49-2	» »	—	++
49-3	» »	—	++
49-4	» »	—	++
58-1	» »	++	++
63-2	» »	—	++
63-3	» »	—	++
65-2	» »	—	++
65-4	» »	—	++
68-1	» »	++	++
78-2	» »	+	++
78-5	» »	—	++
90-2	» »	++	++
94-7	» »	+	++
100-2	» »	++	++
100-3	» »	++	++
100-4	» »	+	++
10-5	<i>Debaryomyces phaffi</i>	+	++
61-1	<i>Debaryomyces tamarisii</i>	—	++
61-2	<i>Debaryomyces tamarisii</i>	—	++
10-2	<i>Saccharomyces uvafer</i>	++	++
10-3	<i>Saccharomyces uvafer</i>	++	++

Zona di chiarificazione dell'agar latte e dell'agar tributirrina a 39° C. a pH 4,0.  
 — + + + : valutazione dell'ampiezza della zona di chiarificazione dopo 20 giorni (caseinolisi) e 2 giorni (lipolisi).

Tab. 4 - Tossicità acuta - n. di germi/ml di fluido ruminale.

Campione		Microflora totale		Amilolitici		Cellulosolitici		Proteolitici		Lieviti	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Soja	12		$10^4$		$10^4$		$10^3$		$10^5$		100
	12		$10^3$		$10^3$		$10^2$		$10^5$		100
	24	$10^6$	$10^6$	$10^4$	$10^4$	$10^3$	$10^3$	$10^5$	$10^5$	300	60
	55		$10^4$		$10^4$		$10^2$		$10^3$		50
	56	$10^5$	$10^3$	$10^4$	$10^3$	10	$10^3$	$10^5$	$10^5$	200	100
	61	$10^5$	$10^3$	$10^4$	$10^3$	10	$10^2$	$10^4$	$10^5$	100	50
SCP	17	$10^5$	$10^4$	$10^3$	$10^4$	$10^2$	$10^3$	$10^5$	$10^5$	500	10
	25		$10^3$		$10^4$		$10^2$		$10^3$		100
	58		$10^5$		$10^3$		$10^2$		$10^5$		50
	67	$10^6$	$10^3$	$10^5$	$10^4$	10	$10^2$	$10^5$	$10^5$	100	1000
	70	$10^5$	$10^4$	$10^4$	$10^3$	10	$10^4$	$10^5$	$10^5$	800	100
	75		$10^3$		$10^4$		$10^3$		$10^5$		80

Leggenda: A = Prima del trattamento.

B = Al termine del trattamento.

## RIASSUNTO

Nel corso di prove di tossicità cronica e di tossicità acuta condotte su ovini di razza sarda, alimentati con una biomassa proteica ottenuta su alcani, sono stati fatti dei rilievi sul comportamento della microflora ruminale degli animali in esperimento.

La differente dieta somministrata ai gruppi sperimentali di ovini e a quelli di controllo non sembra aver influenzato quantitativamente la Microflora totale, gli Amilolitici, i Cellulosolitici ed i Proteolitici, sia nella prova di tossicità cronica sia in quella di tossicità acuta.

Durante la prova di tossicità cronica sono state isolate ed identificate 194 colture pure di lieviti che sono risultate appartenere alle seguenti specie: *Candida hoidinii*, *Candida slooffii*, *Candida tropicalis*, *Cryptococcus albidus* var. *albidus*, *Cryptococcus albidus* var. *diffluens*, *Cryptococcus dimennae*, *Cryptococcus kuetzingii*, *Rhodotorula glutinis* var. *dairensis*, *Rhodotorula glutinis* var. *glutinis*, *Rhodotorula graminis*, *Rhodotorula pallida*, *Rhodotorula rubra*, *Torulopsis versatilis*, *Trichosporon cutaneum*, *Debaryomyces hansenii*, *Debaryomyces phaffi*, *Debaryomyces tamarii*, *Saccharomyces vafjer*.

Le specie di lieviti isolate non sono molto diverse da quelle ritrovate da altri AA. in ricerche similari, condotte però su animali alimentati in maniera differente. Si può tuttavia osservare una notevole diffusione del genere *Debaryomyces* ed una spiccata attività lipolitica e caseinolitica della maggioranza degli stipiti isolati.

L'introduzione della dieta alimentare della SCP alle concentrazioni del 15 e 40% sembra aver favorito inizialmente la moltiplicazione dei Lieviti nel fluido ruminale. Tuttavia il loro numero è diminuito al termine di entrambe le prove in tutti i gruppi in osservazione.

Il tipo di proteina somministrato, non sembra aver influito neppure sul quadro delle specie di lieviti che usualmente vivono nel ruminale degli animali.

È attualmente in corso lo screening degli stipiti isolati per la produzione di biomasse da glucosio, lattosio, xilosio, amido, polpe di agrumi e di frutta ed altri substrati convenzionali.

## SUMMARY

During chronic and acute toxicity trials on ovines, fed with an alkane-grown SCP, observations were also made on the behaviour of the ruminal microflora.

The different diet supplied to both experimental and control groups of animals, did not seem to have affected the total count and the total numbers of Starch digesters, Cellulose digesters and Proteolytic bacteria.

During the chronic toxicity test, 194 strains of yeast were identified belonging to the following species:

*Candida boidinii*, *Candida slooffii*, *Candida tropicalis*, *Cryptococcus albidus* var. *albidus*, *Cryptococcus albidus* var. *diffluens*, *Cryptococcus dimennae*, *Cryptococcus kuetzingii*, *Rhodotorula glutinis* var. *dairenensis*, *Rhodotorula glutinis* var. *glutinis*, *Rhodotorula graminis*, *Rhodotorula pallida*, *Rhodotorula rubra*, *Torulopsis versatilis*, *Trichosporon cutaneum*, *Debaryomyces hansenii*, *Debaryomyces phaffii*, *Debaryomyces tamaritii*, *Saccharomyces vafser*.

The yeast species that were isolated were not so different from those discovered by other authors in similar researches, carried out, however, in animals fed differently. A marked diffusion of the genus *Debaryomyces* was to be observed, together with a notable lipolytic and caseinolytic activity in most of the strains isolated.

At first the introduction of SCP in the diet at concentrations of 15% and 40% seemed to favour the multiplication of the yeasts in the rumen fluid, but their numbers diminished towards the end of both test in all groups under observation.

The type of protein given, does not seem to have affected even the species of yeasts that are usually lodged in the animals rumen.

Screening of the isolated strains is now in course for the SCP production on glucose, lactose, xylose, starch, fruit and citrus pulps, and other conventional substrata.

#### BIBLIOGRAFIA

- EATISTA A. C., DE VASCONCELOS C. T., FISCHMAN O. and STAIB F., 1961 — Fungos levaduriformes e filamentosos de fezes de bovinos, no Recife. - *Instituto de Micologia, Universidade do Recife*. Publicacao N. 325, 1-27.
- CARINI S., CARRINI A. and TODESCO R., 1975 — Sistemi caseinolitici eso ed endocellulari nei lieviti: loro ruolo nella maturazione di alcuni tipi di formaggi. - *Il latte*. 3SN: 153-160.
- CARINI S. and VOLONTERIO G., 1969 — Lipolytic activity of yeasts from cheese. - *Scienza e Tecnica Lattiero-casearia*. 20: 339-354.
- CLARKE R. T. J., 1960 — Rumen *Candida* species and bovine mastitis. - *New Zealand Veterinary Journal*. 8: 79.
- CLARKE R. T. J. and DI MENNA M. E., 1961 — Yeasts from the bovine rumen. - *Journal of General Microbiology*. 25: 113-117.
- DEIANA P., FATICHENTI F. and FARRIS G. A., 1977 — Indagini microbiologiche sul latte e sul formaggio di capra in Sardegna. - Nota 1: I lieviti. - *L'industria del latte*. 13. 49-56.
- FATICHENTI F. and FARRIS G. A., 1973 — I lieviti del latte di pecora in Sardegna. - *Scienza e Tecnica Lattiero-casearia*, 24. 386-390.
- FATICHENTI F., FARRIS G. A. and DEIANA P., 1977 — L'evoluzione della microflora blastomicetica nel « Fiore sardo ». - *L'industria del latte*, 13, 11-18.
- KLEIN D. and MULLER R., 1941 — Das Eiweissminimum, die zymogene Symbiose und die Erzeugung von Mikrobeneiweiss im Pansen aus Stickstoffverbindungen nichteiweissartiger. - *Natur. Zeitschrift für Tierzüchtung und Züchtungsbiologie*, 48: 255-276.

- KROGH N., 1961 — Studies in the alterations in the rumen fluid of sheep, especially concerning the microbial composition, when readily available carbohydrates are added to the food. IV. Identification of the Gram-positive flora developing during the feeding experiments. - *Acta Veterinaria Scandinavica*. - 2: 357-374.
- LODDER J., 1970 — The Yeasts, a taxonomic study. - 2nd Edition. Amsterdam London, North Holland Publishing. Co.
- LUCIFERO M. and MURA D., 1975 — I lieviti coltivati su substrati petroliferi nella alimentazione animale. - *Zootecnia e Nutrizione Animale*, 1: 35-49.
- LUND A., 1974 — Yeasts and moulds in the bovine rumen. - *Journal of General Microbiology*, 81: 453-462.
- MEHNERT B., 1965 — Pilze des Verdauungstraktes. - *Ernährungsforschung*, 10: 503-508.
- MUNCH-PETERSEN E., 1963 — Yeasts in the rumen of ruminants. - *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene (Abteilung I)*, 189: 234-240.
- PARLE J. N., 1957 — Yeasts isolated from the mammalian alimentary tract. - *Journal of General Microbiology*, 17: 363-367.
- ROLLE M. and KOLB E., 1955 — Über das Vorkommen von Hefen und hefeähnlichen Mikroorganismen in Pansen von Wiederkäuern. - *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene (Abteilung I)*, 162: 304-309.
- SAEZ N., 1963 — Contribution à l'étude de la mycoflore intestinale des animaux sauvages en captivité. II. Levures isolées chez 77 jeunes mammifères. - *Revue de Mycologie*, 28: 52-61.
- SAEZ H. and RINJARD J., 1973 — *Trichosporon capitatum*, un constituant de la flore fongique du tube digestif de certains suides. - *Annales de Médecine Vétérinaire*, 117: 177-182.
- SEGRETAIN G. and EMAMI M., 1968 — Recherche sur les champignons du tube digestif de Singes en captivité. - *Annales de l'Institut Pasteur*, 114: 632-638.
- SMITH H. W., 1965 — Observations on the flora of the alimentary tract of animals and factors affecting its composition. - *Journal of Pathology and Bacteriology*, 89: 95-122.
- SONEDA M., 1959 — Studies on animal-dung inhabiting yeasts. - *Nagaoa* (Tokyo), 6: 1-24.
- VAN UDEN N. and CARMO SOUSA L. Do., 1957 — Yeasts from the bovine caecum. - *Journal of General Microbiology*, 16: 385-395.
- VAN UDEN N. and CARMO SOUSA L. Do., 1962a — Quantitative aspects of the intestinal yeast flora of Swine. - *Journal of General Microbiology*, 27: 35-40.
- VAN UDEN N. and CARMO SOUSA L. Do., 1962b — On the intestinal yeast flora of free living Hippopotami (*Hippopotamus amphibius*), Wart Hogs (*Phacochoerus aethiopicus*) and Bush Pigs (*Potamochoerus choeropotamus*). - *Antonie van Leeuwenhoek*, 28: 73-77.
- VAN UDEN N. and CARMO SOUSA L. Do., FARINHA M., 1958 — On the intestinal yeast flora of Horses, Sheep, Goats and Swine. - *Journal of General Microbiology*, 19: 435-445.
- VAN DER WESTHUISEN G. C. A. and OXFORD A. E. and QUIN J. I., 1950 — Studies on the alimentary tract of Merino sheep in South Africa. XVI. On the identity of *Schizosaccharomyces ovis*. Part I. Some yeast-like organisms isolated from the rumen contents of sheep fed on a lucerne diet. - *Onderstepoort Journal of Veterinary Science and Animal Industry*, 24: 119-124.