

ВПЛИВ КАДМІЮ НА МЕТАБОЛІЧНУ АКТИВНІСТЬ МІКРООРГАНІЗМІВ РУБЦЯ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ У ДОСЛІДАХ *IN VITRO* І СПОСОБИ ЗНИЖЕННЯ ЙОГО ТОКСИЧНОЇ ДІЇ

Н. І. Талоха, Б. М. Куртяк

Інститут біології тварин НААН України

Вивчено вплив кадмію на життєдіяльність мікроорганізмів рубця великої рогатої худоби за умов in vitro при додаванні до нього: мікроелементів (солей заліза, міді, цинку, селену), вітаміну Е та сорбентів (цеоліту і полісорбу). Встановлено, що додавання до вмісту рубця великої рогатої худоби за умов in vitro сірчаноокислого кадмію у максимальній допустимій кількості, пригнічує ріст мікроорганізмів і їх метаболічну активність, що веде до зменшення кількості аміаку і коротколанцюгових жирних кислот та зниження амілолітичної, протеолітичної і целюлозолітичної активностей. Додавання до вмісту рубця разом з кадмієм цеоліту і полісорбу, солей заліза, міді, цинку і селену та вітаміну Е зменшує інгібуючу дію кадмію на ріст мікроорганізмів та їх метаболічну активність.

Ключові слова: МІКРООРГАНІЗМИ, РУБЕЦЬ, МОЛОДНЯК ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ, КАДМІЙ, ЦЕОЛІТ, ПОЛІСОРБ, ЗАЛІЗО, МІДЬ, ЦИНК, СЕЛЕН, ВІТАМІН Е

Неконтрольовані надмірні викиди промислових підприємств і автотранспорту, порушення системи внесення добрив, обробки рослин отрутохімікатами, техногенні аварії та інші антропогенні фактори приводять до накопичення важких металів у ґрунті та рослинах, що негативно впливає на якість сільськогосподарської продукції, на стан здоров'я людей [1]. До найбільш небезпечних забруднювачів навколишнього середовища належить кадмій. Особливістю шкідливої дії кадмію є швидке його засвоєння організмом тварин і повільне виведення, що приводить до кумуляції металу в тканинах. Кадмій негативно впливає на ряд біохімічних процесів і фізіологічних функцій в організмі тварин [2]. В основному кадмій накопичується у печінці і нирках та має тривалий період напіввиведення (до 30 років). Токсичний ефект кадмію найбільш виражений у нирках і кістках. У нирках кадмій викликає дисфункцію нефронів, що веде до пригнічення зворотного всмоктування амінокислот, глюкози, фосфору і олігопептидів. У кістковій тканині під впливом кадмію порушуються процеси кальцифікації. Кадмій викликає онкологічні захворювання, викликає мутації, руйнування ланцюга ДНК, хромосомні аберації.

Наші дослідження були спрямовані на вивчення впливу кадмію на симбіотичну мікрофлору рубця великої рогатої худоби та пошуку сполук, які зменшують рівень важких металів в органах і тканинах тварин, що є однією з актуальних проблем ветеринарної медицини.

Матеріали і методи

У дослідженнях використані зразки вмісту рубця, одержані від трьох фістульних бичків-аналогів української молочної чорно-рябої породи 2-річного віку, вирощених у науково-дослідному господарстві Інституту біології тварин НААН України «Чишки». Зразки вмісту рубця від тварин одержували за допомогою прилади, виготовленого на основі колби Бунзена та вакуумної помпи Косовського, через 2 години після ранкової годівлі. Одержані

зразки вмісту рубця фільтрували через 4 шари марлі і переносили в анаеробних умовах у буферну суміш Мак-Доуля. Після цього фільтрат вносили в інкубаційні посудини об'ємом 100 мл, у які попередньо вносили у максимальну допустимій кількості (МДР) кадмій з розрахунку 0,5 мг/кг у вигляді сірчаноокислого кадмію [3]. Паралельно в інші інкубаційні посудини разом з кадмієм вносили: цеоліт в кількості 0,5 г/кг і полісорб у кількості 0,5 г/кг, залізо, у вигляді заліза (II) сірчаноокислого — 4,15 мг/л, мідь, у вигляді міді сірчаноокислої — 0,124 мг/л, цинк, у вигляді цинку сірчаноокислого — 0,143 мг/л, вітамін Е у кількості 1 мг та селен у кількості 0,1 мг/кг, у вигляді селеніту натрію. За контроль правили зразки вмісту рубця без внесення кадмію і без вказаних вище сорбентів, мікроелементів та вітаміну Е. Посудини закривали корками, продували вуглекислим газом та інкубували при температурі 38 °С протягом 24 годин. Після закінчення інкубації зразки інкубату відбирали для дослідження: вимірювали рН [4], визначали кількість мікробної маси [5], загальну концентрацію коротколанцюгових жирних кислот [6] і аміаку [7], протеолітичну [8], амілолітичну [4] та целюлозолітичну активність [9]. Одержані результати опрацьовували статистично [10].

Результати й обговорення

Особливості живлення і обміну речовин жуйних тварин обумовлені їх симбіозом з чисельною мікрофлорою і мікрофауною, що заселяють рубець. Форми прояву цього симбіозу різноманітні [11]. У рубці корм піддається складним мікробіологічним перетворенням. Екзогенні фактори, зокрема важкі метали, суттєво впливають на склад мікробної популяції і ріст окремих видів мікроорганізмів у рубці, а тим самим на процеси травлення і продуктивність тварин [12].

З наведених у таблиці даних видно, що додавання до інкубаційного середовища з вмістом рубця кадмію, у вигляді сірчаноокислої солі, негативно впливає на досліджуванні показники життєдіяльності мікроорганізмів.

Таблиця

Вплив кадмію на метаболічну активність мікроорганізмів рубця молодняка великої рогатої худоби *in vitro* при додаванні сорбентів, мікроелементів, вітаміну Е ($M \pm m$, $n=3$)

Дози	pH	Целюлозолітична активність, %	Амілолітична активність, ум. ам. од.	Протеолітична активність, нм/100мг білка	Аміак, моль/л	Концентрація ЛЖК, моль/л	Мікробна маса, г/л
контроль	6,02±0,1	60,06±4,0	1,04±0,08	5,96±0,3	16,04±2,0	145,81±11	5,58±0,2
МДР Cd	5,82±0,1	47,83±2,5	0,55±0,02	3,20±0,1	12,36±1,0	114,84±5,2	4,75±0,2
МДР Cd + залізо	6,65±0,1	61,84±4,0	0,48±0,03	3,30±0,1	13,67±0,7	110,29±7,8	5,06±0,2
МДР Cd + мідь	5,86±0,1	47,96±2,7	0,58±0,03	3,25±0,1	11,96±0,7	114,25±5,5	4,98±0,3
МДР Cd + цинк	5,72±0,1	48,80±2,2	0,73±0,02	3,23±0,1	9,75±0,6	115,13±7,2	5,41±0,2
МДР Cd + цеоліт	5,85±0,1	48,36±2,7	0,60±0,03	3,18±0,1	10,67±0,7	119,00±5,5	4,98±0,3
МДР Cd + полісорб	5,58±0,1	52,24±4,0	0,68±0,03	3,28±0,1	9,30±0,7	129,67±7,8	5,06±0,2
МДР Cd + селен	6,56±0,1	59,96±4,1	0,62±0,03	3,29±0,1	12,39±0,8	116,08±8,1	4,94±0,2
МДР Cd + віт.Е	5,78±0,1	54,65±4,0	0,63±0,03	3,26±0,1	10,63±0,6	115,63±7,6	5,28±0,3

Зокрема, в інкубаційному середовищі знижується рН, кількість аміаку і коротколанцюгових жирних кислот, целюлозолітична, амілолітична і протеолітична активність. З цих даних випливає, що під впливом кадмію у мікроорганізмів рубця

зменшується здатність до розщеплення поживних речовин корму, що, в свою чергу, призводить до зниження інтенсивності процесів ферментації і росту мікроорганізмів.

З літературних джерел відомо [2, 3], що весь кадмій у нирках і печінці перебуває у зв'язаному стані з металотіонеїнами. Також встановлений вплив кадмію на обмін цинку, міді і заліза. Заміна цинку в молекулі глутамат- γ -карбоксипептидази на кадмій веде до зниження її пептидазної активності. Сполуки міді займають друге, після сполук заліза, місце в якості каталізаторів окисно-відновних процесів. Проведені дослідження показали, що при додаванні до інкубаційного середовища з кадмієм сірчаноокислого заліза зросла целюлозолітична активність на 22,65 %, кількість мікробної маси — на 6,25 %. При додаванні цинку спостерігали підвищення амілолітичної активності на 32,72 %, целюлозолітичної — на 2,02 %, мікробної маси — на 13,89 %. Слід відмітити, що іони заліза мають найбільш виражений позитивний вплив на активність целюлозолітичної групи мікроорганізмів, а іони цинку — на ріст амілолітичних мікроорганізмів. Залізо і цинк більшою мірою виявляють активуючий вплив на гідролітичні ферменти в інкубаційному середовищі з кадмієм, у порівнянні з міддю. При цьому, в інкубаційному середовищі спостерігалось зменшення концентрації аміаку внаслідок підвищення використання його в синтезі амінокислот мікроорганізмами рубця. Крім дії на мікроорганізми, мікроелементи можуть взаємодіяти між собою і утворювати водонерозчинні комплекси, які меншою мірою засвоюються мікроорганізмами. Не виключається також конкурентна дія мікроелементів на одні і ті ж активні центри у ферментних системах клітин.

Одним із перспективних підходів до вирішення проблеми пошуку препаратів, які зменшують рівень важких металів в органах і тканинах тварин є використання сорбентів, зокрема цеоліту і полісорбу. Цеоліт характеризується адсорбційними, іонообмінними та каталітичними властивостями [13]. Полісорб — неорганічний, поліфункціональний ентеросорбент на основі високодисперсного кремнезему, який використовується у медичній практиці як сорбент при різних токсикозах [14]. Додавання до інкубаційного середовища з кадмієм цеоліту привело до підвищення амілолітичної активності на 9,09 %, кількості мікробної маси — на 4,84 %. При додаванні полісорбу в інкубаційному середовищі протеолітична активність зросла на 23,63 %, целюлозолітична активність — на 9,22 %, мікробна маса — на 6,25 %, загальна концентрація коротколанцюгових жирних кислот — на 12,91 %. Додавання полісорбу до інкубаційного середовища з кадмієм більшою мірою нормалізує ферментативні процеси, ніж додавання цеоліту.

При дії важких металів в організмі тварин посилюється утворення активних форм кисню, що призводить до збільшення утворення продуктів пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ). Знешкодження токсичного впливу продуктів ПОЛ в організмі тварин забезпечують ферменти антиоксидантного захисту [15]. Ключову роль серед них відіграє глутатіонпероксидаза, яка є селенопротеїном. Вітамін Е належить до неферментної ланки антиоксидантного захисту, α -Токоферол — низькомолекулярний антиоксидант, який проявляє ліпофільні властивості і виявляє антиоксидантну дію у мембранах. Додавання до інкубаційного середовища з кадмієм, селену та вітаміну Е привело до підвищення целюлозолітичної, протеолітичної і амілолітичної активності, збільшення концентрації коротколанцюгових жирних кислот. При додаванні селену спостерігали підвищення целюлозолітичної активності на 25,36 %, амілолітичної — на 12,72 %, протеолітичної — на 2,81 %, зростання мікробної маси — на 4,80 %. При додаванні вітаміну Е в інкубаційному середовищі целюлозолітична активність підвищується на 14,25 %, амілолітична активності — на 14,54 %, кількості мікробної маси — на 11,15 %.

Висновки

Додавання до інкубаційного середовища з вмістом рубця великої рогатої худоби за умов *in vitro* кадмію сірчаноокислого у максимально допустимій кількості пригнічує ріст мікроорганізмів і їх метаболічну активність, що призводить до зменшення кількості аміаку і коротколанцюгових жирних кислот та зниження амілолітичної, протеолітичної і

целюлозолітичної активності. Додавання до інкубаційного середовища з кадмієм цеоліту і полісорбу, мікроелементів — заліза, міді, цинку, селену, а також вітаміну Е позитивно впливає на життєдіяльність і метаболічну активність мікроорганізмів рубця. Залізо, в основному, впливає на целюлозолітичну групу мікроорганізмів, цинк — на амілолітичну групу. Загальна концентрація коротколанцюгових жирних кислот збільшувалася в інкубаційному середовищі з кадмієм при додаванні полісорбу, цеоліту, селеніту натрію. При додаванні цинку, вітаміну Е, заліза, полісорбу спостерігалось зростання мікробної маси. Показано, що селеніт натрію і вітамін Е позитивно впливають на ріст і ферментативну активність мікроорганізмів рубця.

Перспективи подальших досліджень. Розроблення на основі одержаних результатів способу зменшення токсичної дії кадмію при підвищеному його вмісті в раціоні великої рогатої худоби.

N. I. Talokha, B. M. Kurtjak

THE INFLUENCE OF CADMIUM ON THE GROWTH AND VITAL FUNCTIONS OF CATTLES RUMEN MICROORGANISMS *IN VITRO* AND METHODS OF ITS TOXIC ACTION DECREASE

S u m m a r y

The addition to rumens content of cattle *in vitro* of cadmium salt in maximally possible amount, represses growth of microorganisms and their metabolic activity, that leads to reduced formation of ammonia and volatile fatty acids and decrease of amylytic, proteolytic and cellulolytic activity. The addition of zeolite and polysorb, trace elements - iron, copper, zinc, selenium and vitamin E to the incubation medium with cadmium positively effects on vital functions and metabolic activity of rumen's microorganisms. Iron mainly effect on cellulolytic group of microorganisms, zinc – on amilolytic group. The total concentration of volatile fatty acids increased in the incubation medium with cadmium with polysorb, zeolite, sodium selenite addition. The addition of zinc, vitamin E, iron, polysorb lead to increase of microbial mass. It was shown in experiments *in vitro*, that addition of sodium selenite and vitamin E positively effects on the growth and vital activity of rumen's microorganisms.

Н. И. Талоха, Б. М. Куртяк

ВЛИЯНИЕ КАДМИЯ НА МЕТАБОЛИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ РУБЦА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В ОПЫТАХ *IN VITRO* И МЕТОДЫ СНИЖЕНИЯ ЕГО ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

А н н о т а ц и я

Добавление к содержимому рубца крупного рогатого скота *in vitro* кадмия в виде сернокислой соли в максимально допустимом количестве угнетает рост микроорганизмов и их метаболическую активность, что ведет к уменьшению количества амиака и летучих жирных кислот, а также к снижению амилалитической, протеолитической и целюлозолитической активностей. При добавлении к инкубационной среде с кадмием, сорбентов, микроэлементов — железа, меди, цинка, селена, а также витамина Е положительно влияет на жизнедеятельность и метаболическую активность микроорганизмов рубца крупного рогатого скота. Железо положительно влияет на целюлозолитическую группу микроорганизмов, цинк — на амилалитическую. Общая концентрация летучих жирных кислот увеличивается в инкубационной среде с кадмием при добавлении полисорба,

цеолита, селенита натрия. При добавлении цинка, витамина Е, железа, полисорба увеличивалось количество микробной массы. Показано, что селенит натрия и витамин Е положительно влияют на рост и ферментативную активность микроорганизмов рубца.

1. Засекін Д. А. Забруднення ґрунтів та води важкими металами — одна з причин виникнення патології обміну речовин у тварин [Текст] : матеріали науково-практичної конференції «Неінфекційна конференція патології обміну речовин», Біла Церква / Д. А. Засекін, М. М. Шабельник, Д. О. Мельничук. — 1995. — С. 198–199.
2. Japur L. Health effects of cadmium exposure — a review of literature and a risk estimate / L. Japur, M. Berglund, C. G. Elinder et al. // Scand. J. Work Environ. Health. — 1998. — Vol. 24, supp. 11. — P. 1–51.
3. Хеннинг А. Минеральные вещества, витамины, биостимуляторы в кормлении сельскохозяйственных животных [Текст] / А. Хеннинг ; под ред А. Падуровой и Ю. И. Раецкой ; пер.с нем. докт. б. н. Н. С. Гельман. — Москва : Колос, 1976. — 560 с.
4. Тараканов Б. В. Методы исследований микрофлоры пищеварительного тракта с.-х. животных и птицы / Б. В. Тараканов // Бюлл.ВНИИФБиП с.-х. животных. — 1998. — 145 с.
5. Powell E. O. A photometric method for following changes in length of bacteria [Text] / E. O. Powell, P. J. Stoward // J. Gen. Microbiol. — 1962. — Vol. 27 (3). — P. 489–493.
6. Кроткова А. П. Определение летучих жирных кислот в содержимом рубца у жвачных / А. П. Кроткова, Н. И. Митин // Вестник с.-х. науки. — 1957. — 10. — С. 13–17.
7. Курилов Н. В. Определение азотистых веществ в содержимом рубца [Текст] : в кн. «Новые методы и модификации биохимических исследований в животноводстве» / Н. В. Курилов, Т. А. Радченкова. — М. : Колос, 1970. — С. 60–65.
8. Аитов А. А. Модификация методики определения протеолитической активности в химусе и слизистой кишечника / А. А. Аитов, В. М. Газаров // Бюлл.ВНИИФБиП с.-х. животных. — 1978.
9. Паенок С. М. До методики визначення целюлолітичної активності ферментних препаратів та вмісту передшлунків жуйних тварин [Текст] / С. М. Паенок // Фізіол. біохім. с.-г. тварин. — 1970. — Вип. 15. — С. 191–192
10. Ойвин И. А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований / И. А. Ойвин // Патол. физиология и экс. терапия. — 1960. — Т. 61, № 1. — С. 76–85.
11. Янович В. Д. Біологічні основи трансформації поживних речовин у жуйних тварин [Текст] / В. Д. Янович, Л. І. Сологуб. — Львів : В-во «Триада плюс», 2000. — 384 с.
12. Байматов В. Н. Состояние здоровья крупного рогатого скота в зоне биогеохимической провинции [Текст] / В. Н. Байматов, Э. Р. Исмаилова, В. А. Васяев // Ветеринария. — 2005. — № 1. — С. 42–45.
13. Гамидов М. Г. Природные цеолиты – эффективная минеральная добавка [Текст] / М. Г. Гамидов // Ветеринария. — 2005. — № 10. — С. 7–9.
14. Засекін Д. А. Полісорб-М — ефективний сорбент при отруєнні тварин важкими металами [Текст] / Д. А. Засекін // Науковий вісник Національного Аграрного Університету. — 2002. — Вип. 58. — С. 11–13.
15. Двинская Л. М. Использование антиоксидантов в животноводстве [Текст] / Л. М. Двинская. — Л. : Агропромиздат, 1986. — 160 с.

Рецензент: головний науковий співробітник лабораторії живлення ВРХ, доктор біологічних наук, професор В. Г. Янович.