

УДК 577.118

Стефанишин О.М., к.б.н., oliastef@ukr.net ©
Інститут біології тварин НААН України, м. Львів

ВПЛИВ СТРУКТУРНИХ І НЕСТРУКТУРНИХ ВУГЛЕВОДІВ НА РІСТ І ГІДРОЛІТИЧНУ АКТИВНІСТЬ МІКРООРГАНІЗМІВ РУБЦЯ ТЕЛЯТ ЗА УМОВ *IN VITRO*

В статті представлені дані про вплив in vitro целюлози, крохмалю і глюкози на ріст і життєдіяльність мікроорганізмів рубця телят. Показано, що целюлоза значно менше стимулює ріст симбіотичних бактерій, ніж глюкоза і крохмаль. Протеолітична активність лише в присутності глюкози вірогідно зростає в порівнянні з контрольними пробами, тоді як на амілолітичну активність цей моносахарид проявляє інгібуючий вплив. При додаванні целюлози і крохмалю достовірно зростає відповідно целюлолітична і амілолітична активність в середовищі підчас інкубації вмісту рубця in vitro.

Ключові слова: мікроорганізми, рубець, велика рогата худоба, структурні і неструктурні вуглеводи.

Вступ. Сучасна практика годівлі ставить нові завдання в галузі досліджень екології рубця жуйних тварин. Актуальними є проблеми, пов'язані з можливим скерованим впливом на мікроорганізми та ферментні процеси в травному тракті жуйних тварин із метою одержання високоякісної продукції. У зв'язку з морфологічними і функціональними особливостями травної системи у жуйних тварин функціональна роль вуглеводів в забезпеченні їх організму поживними речовинами є своєрідною. Завдяки ферментативній системі симбіотичних мікроорганізмів важкодоступні вуглеводні полімери рослинних стінок і клітин розщеплюються до простих сполук. Останні перетворюються, переважно до легких жирних кислот, які використовуються організмом тварини-господаря [1,2]. Прості цукри, загалом, засвоюються мікроорганізмами, в клітинах яких вони розщеплюються переважно анаеробно і є джерелом макроергічних сполук, необхідних для життєдіяльності їх клітин [3]. Тому для створення високоефективної раціональної системи годівлі великої рогатої худоби важливим є дослідити вплив різних компонентів кормів раціону, їх поєднань і співвідношень на мікроорганізми рубця. Метою даних досліджень було з'ясувати роль деяких структурних і неструктурних вуглеводів, їх кількостей на ріст рубцевої популяції мікроорганізмів та на деякі показники життєдіяльності їх клітин.

Матеріал і методи. Дослідження проводилися в господарстві Інституту біології тварин УААН "Чишки" на трьох телятах 6-місячного віку, яким встановлено фістули на рубець. Проби відбирали через 4 години після ранкової годівлі, фільтрували і переносили в анаеробних умовах в буферну суміш (200 мл/л), яка містила (г/л): K_2HPO_4 – 5,0, KH_2PO_4 – 4,0, NaCl - 0,52, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,070, $CaCl_2$ – 0,035, $NaHCO_3$ – 5,9, цистеїн хлориду – 0,174 [4]. Після змішування, 50 мл цієї суміші вносили в 120 мл пляшки і додавали 50 або 500

мМ/л целюлози, крохмалю або глюкози, а як джерело азоту сечовину (30 мМ), закривали корками, продували CO₂ і інкубували протягом 24 годин при температурі 38°C. Контролем служили проби, в які не додавалися досліджувані субстрати. Після закінчення інкубації відбирали зразки рідини для досліджень. В зразках рідини визначали вміст загального білка [5], аміаку [6], загальних летких жирних кислот [7], а також протеолітичну [8], целюлолітичну [10] і амیلітичну [9] активності. Вміст бактеріальної маси і бактеріального білка визначали після диференційного центрифугування визначеного об'єму інкубаційної суміші спершу при 2000 g 10 хвилин, а потім центрифугуванням одержаного надосадку при 20000 g протягом 30 хвилин [11].

Результати дослідження. Як видно з таблиці 1, під час інкубації рідини рубця телят в анаеробних умовах спостерігається зростання бактеріальної маси (приблизно на 50%). Разом з цим зростає також вміст бактеріального і загального білка в середовищі (P<0,05). В той же час концентрація аміаку змінюється незначно, що вказує на певну рівновагу між катаболічними і анаболічними процесами під час інкубаційного періоду. Що стосується летких жирних кислот, то їх концентрація за 24 години інкубації вірогідно зростає. Разом із змінами у кількості бактеріальної маси за час інкубації змінюється і ферментативна активність мікроорганізмів, причому в протеолітичних і целюлолітичних процесах відмічено деяке зростання активності і зниження амیلітичної активності. Це може свідчити про перерозподіл окремих груп мікроорганізмів і стійкість їх до умов інкубації *in vitro*.

Таблиця 1

Вплив целюлози, крохмалю і глюкози *in vitro* на деякі показники життєдіяльності мікроорганізмів у середовищі рідини рубця під час інкубації при температурі 38°C (M±m, n = 6)

Показники	Контроль до інкубації	Контроль після інкубації	Целюлоза	Крохмаль	Глюкоза
pH	5,5	5,9	5,6	5,8	5,7
Бактеріальна маса мг/ 100 мл	73±9	116±15**	151±13	186±16*	177±15*
Загальний білок, мг%	108±8	143±11**	206±20*	235±21*	227±22*
Бактеріальний білок, мг%	18±2	26±2**	43±4*	50±5*	55±4*
Аміак, мг%	1,00±0,09	1,25±0,11	0,85±0,09*	0,85±0,07*	0,70±0,04*
ЛЖК, мМ	0,95±0,07	1,41±0,13**	2,29±0,18*	1,88±0,16*	1,22±0,08
Протеолітична активність, нМ/ 100 мг білка	3,6±0,3	4,2±0,3	3,9±0,3	5,0±0,5	5,5±0,4*
Целюлолітична активність, в %	56±5	64±3	79±4*	59±4	61±6
Амілолітична активність, нМ/ 100 мг білка	31±4	24±3	31±3	41±3*	27±3

Примітка: ** - різниця в показниках контрольних зразків до і після інкубації достовірна (P<0,05)

* - різниця в показниках проінкубованих контрольних і дослідних проб достовірна (P<0,05).

Зміни в досліджуваних показниках відмічені при інкубуванні рідини рубця з різними концентраціями вуглеводів. Так, при внесенні у середовище целюлози, особливо при більших її концентраціях спостерігається зростання вмісту бактеріальної маси приблизно на 43 % в порівнянні з контрольними зразками, у які не вносили цього полімера. Це, очевидно, пов'язане з індукцією росту під його впливом саме популяції целюлолітичних бактерій. Глюкоза і крохмаль інтенсифікують ріст мікроорганізмів ще в більшій мірі (відповідно на 70% і 60 %), що вказує на значну доступність цих вуглеводів як джерела макроергічних сполук для синтетичних процесів, а також як джерела пентоз для нуклеїнових кислот. На користь вищесказаного свідчить зростання вмісту і загальних, і бактеріальних білків у середовищі за час інкубації. У рівні аміаку, навпаки, під впливом вуглеводів, зокрема глюкози і крохмалю, спостерігається зниження, що підтверджує тези про роль цих енергетичних компонентів в анаболічних реакціях клітин мікроорганізмів.

Таким чином, неструктурні вуглеводи відіграють важливу роль в анаболічних процесах клітин мікроорганізмів, в той час як целюлоза служить, головним чином, джерелом легких жирних кислот – основного джерела енергії для тварини-господаря.

Звертають увагу зміни в ферментній активності інкубаційної рідини під впливом додаваних до середовища вуглеводів. Так, зокрема, при додаванні целюлози і крохмалю достовірно зростає відповідно целюлолітична і амілолітична активність в середовищі підчас інкубації вмісту рубця *in vitro*, що вказує, з одного боку, на адаптивну природу вказаних ферментів, а з другого боку на ріст популяції мікроорганізмів тих груп, у яких переважає ця активність. Глюкоза, в певній мірі, пригнічує целюлолітичну і амілолітичну активність в середовищі.

Протеолітична активність лише в присутності глюкози вірогідно зростає в порівнянні з контрольними пробами, тоді як на амілолітичну активність цей моносахарид проявляє інгібуючий вплив. Очевидно, в останньому випадку відбувається інгібування амілази продуктом реакції – глюкозою. Крохмаль, навпаки, значно стимулює активність амілази.

Висновки. Проведені дослідження *in vitro* впливу целюлози, глюкози і крохмалю на ріст і життєдіяльність мікроорганізмів рубця телят та їх бактеріальної фракції. Показано, що під впливом глюкози і крохмалю інтенсивність росту популяції мікроорганізмів є значно більша, ніж під впливом целюлози.

Література

1. Янович В.Г. Біологічні основи трансформації поживних речовин у жуйних тварин [Текст] / В.Г.Янович, Л.І.Сологуб // — Львів : В-во «Тріада плюс», 2000. — 384с.
2. Тараканов Б.В. Методы исследований микрофлоры пищеварительного тракта с.-х. животных и птицы [Текст] / Б.В.Тараканов// Бюлл.ВНИИФБиП с.-х. животных. — 1998. — 145с
3. Флаховски Г. Эрготропные вещества, регулирующие процессы пищеварения у жвачных //В кн.: "Эрготропики: регуляторы обмена веществ и

использования кормов сельскохозяйственными животными" (пер. з нім. під ред. Пивняка И.Г.). Москва. "Агропромиздат". 1986. С.179-234.

4. Lopez S. Influence of sodium fumarate addition on rumen fermentation in vitro / C. Valdes, C. J. Newbold, R. J. Wallace // Brit. J. Nutr. - 1999. – Vol.81, №1. - P.59-64.

5. Lowry O.H. Protein measurement with the Folin reagent / N. J. Rosebrough, A. L. Farr, R. J. Randall // J. Biol. Chem. - 1951. - Vol.193, N 1. - P.265-273.

6. Курилов Н.В. Определение азотистых веществ в содержимом рубца [Текст] / Н.В.Курилов, Т.А.Радченкова // В кн. «Новые методы и модификации биохимических исследований в животноводстве». М. —: Колос. — 1970. — С.60-65.

7. Кроткова А.П. Определение летучих жирных кислот в содержимом рубца у жвачных [Текст] / А.П.Кроткова, Н.И.Митин // Вестник с. - х. науки. 1957. — 10. — С.13-17.

8. Аитов А.А. Модификация методики определения протеолитической активности в химусе и слизистой кишечника [Текст] / А.А.Аитов, В.М.Газаров // Бюлл.ВНИИФБиП с.-х. животных. — 1978.

9. Kunitz M. Crystalline soybean trypsin inhibitor // J. Gen. Physiol. – 1947. – Vol.30, №4. – P. 291

10. 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

11. 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.

Summary

O.M. Stefanyshyn

THE EFFECT OF STRUCTURAL AND NONSTRUCTURAL CARBOHYDRATES ON GROWTH AND HYDROLYSIS ACTIVITY OF RUMEN MICROORGANISMS OF CALVES IN VITRO

The data about the influence in vitro cellulose, starch and glucose on growth and vital activity of rumen microorganisms in calves are presented in the article. It was shown that cellulose much less stimulates growth of symbiotic bacteria than glucose and starch. The proteolytic activity increases only in the presence of glucose as compared to control tests while glucose reduces an amylolytic activity. At addition of cellulose and starch to incubated medium the cellulolytic and amylolytic activities raises in rumen content in vitro.

Стаття надійшла до редакції 4.03.2010