

УДК 636.2:612.322:546.48.76.815|.819.

Талоха Н.І., аспірант (talokha@ukr.net)

Куртяк Б.М., д.вет.н., г.н.с. ©

Інститут біології тварин НААНУ, м.Львів

## ВПЛИВ СВИНЦЮ, КАДМІЮ І ХРОМУ (VI) НА ЖИТТЄДІЯЛЬНІСТЬ МІКРООРГАНІЗМІВ РУБЦЯ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ У ДОСЛІДАХ *IN VITRO* ПРИ ДОДАВАННІ СЕЛЕНІТУ НАТРІЮ ТА ВІТАМІНУ Е

У статті представлено результати досліджень впливу свинцю, кадмію та хрому (VI) на життєдіяльність мікроорганізмів вмісту рубця великої рогатої худоби за умов *in vitro* при додаванні до нього селеніту натрію та вітаміну Е. Встановлено, що додавання до вмісту рубця великої рогатої худоби за умов *in vitro* солей свинцю, кадмію та хрому (VI), а також їх суміші у максимально допустимих кількостях, пригнічує ріст мікроорганізмів і їх метаболічну активність, що призводить до зменшення кількості аміаку і коротколанцюгових жирних кислот та зниження амілолітичної, протеолітичної і целюлозолітичної активностей. При додаванні до вмісту рубця разом з важкими металами, селеніту натрію та вітаміну Е їхня депресивна дія на ріст мікроорганізмів та їх метаболічну активність зменшується.

**Ключові слова:** мікроорганізми, рубець, велика рогата худоба, свинець, кадмій, хром, вітамін Е, селен.

**Вступ.** Однією з основних причин, котрі суттєво впливають на функціональний стан організму і здоров'я сільськогосподарських тварин, є екологічний стан навколишнього середовища [1]. Особливе місце, серед забруднювачів довкілля займають важкі метали, які виявляють токсичну дію на живі організми навіть у малих концентраціях.

У рубці жуйних тварин проходить біохімічне перетворення поживних речовин корму, що є результатом життєдіяльності багаточисельних видів симбіотичних мікроорганізмів, які заселяють рубець. Інтенсивність росту мікроорганізмів у рубці і їх метаболічна активність значною мірою залежить від вмісту в раціоні тварин макро- і мікроелементів та їх доступності [2]. У зв'язку з цим, актуальним є вивчення дії найбільш поширених політантів – свинцю, кадмію та хрому (VI) на життєдіяльність мікроорганізмів рубця та їхню метаболічну активність.

За дії важких металів в організмі тварин посилюється утворення активних форм кисню, які утворюються в процесі аеробного метаболізму. Тому науково – практичний інтерес становить вивчення антиоксидантних властивостей вітаміну Е і селену та їх зв'язку з антиоксидантними ферментами у клітинах бактерій,

при підвищенні у вмісті рубця великої рогатої худоби рівня свинцю, кадмію та хрому [3, 4].

**Матеріал і методи.** У дослідженнях використані зразки вмісту рубця, одержані від трьох фістульних бичків-аналогів української молочної чорнорябої породи 2-річного віку у науково-дослідному господарстві Інституту біології тварин УААН «Чишки». Зразки вмісту рубця від тварин одержували за допомогою приладу, 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 максимально допустимій кількості (МДР) свинець у кількості 5,0 мг/кг у вигляді ацетату свинцю, кадмій - 0,4 мг/кг у вигляді сірчанокислого кадмію та хром (VI) в кількості 0,5 мг/кг у вигляді біхромату калію. Паралельно в інші інкубаційні посудини разом з важкими металами вносили: селен у вигляді селеніту натрію – 0,1 мг/л, вітамін Е у кількості 1 мг у вигляді  $\alpha$ -токоферол ацетату. За контроль правили зразки вмісту рубця без внесення важких металів і без внесення селену та вітаміну Е. Посудини закривали корками, продували вуглекислим газом та інкубували при температурі 38°C протягом 24-х годин. Після закінчення інкубації зразки інкубату відбирали для дослідження: вимірювали рН [5], визначали кількість мікробної маси [6], загальну концентрацію коротколанцюгових жирних кислот [7], аміаку [8], протеолітичну [9], амілолітичну [5] та целюлозолітичну активність [10]. Одержані результати опрацьовували статистично.

**Результати дослідження.** З наведених у таблиці даних, видно, що після 24-годинної інкубації вмісту рубця з добавкою солі свинцю, порівняно до контролю, в ньому вірогідно знижується рН, кількість аміаку, целюлозолітична, амілолітична і протеолітична активність та маса мікроорганізмів. Ці дані свідчать про інгібувальний вплив свинцю на життєдіяльність мікроорганізмів у вмісті рубця великої рогатої худоби за умов *in vitro*. Під впливом свинцю у мікроорганізмів зменшувалася здатність до розщеплення поживних речовин корму, що призводить до зниження інтенсивності процесів ферментації та росту мікроорганізмів, який залежить насамперед від енергії, що звільняється в процесі ферментації вуглеводів при утворенні коротколанцюгових жирних кислот. Додавання до інкубаційного середовища, що містило свинець, селену привело до вірогідного підвищення у мікроорганізмів целюлозолітичної (на 13,23%), протеолітичної (на 15,25%) і амілолітичної активності (на 10,38%), збільшення загальної концентрації коротколанцюгових жирних кислот (на 5,35%) і мікробної маси (на 8,50%). При додаванні до інкубаційного середовища вітаміну Е у мікроорганізмів підвищується амілолітична (на 36,37%), протеолітична (на 12,88%) і целюлозолітична активності (на 3,74%), збільшується кількість мікробної маси (на 5,87%).

При додаванні до інкубаційного середовища біхромату калію, в ньому порівняно до контролю, вірогідно знизилася амілолітична активність і зменшилося утворення коротколанцюгових жирних кислот та кількість

мікробної маси. Додавання до інкубаційного середовища, що містило хром, селену привело до підвищення у мікроорганізмів целюлозолітичної (на 19,30%)

Таблиця

**Вплив солей свинцю, кадмію та хрому (VI) на метаболічну активність мікроорганізмів рубця молодняка великої рогатої худоби *in vitro* при додаванні селену і вітаміну Е ( $M \pm m, n=3$ )**

Додані компоненти	pH	Целюлозолітична активність, %	Амілолітична активність, ум.ам.од.	Протеолітична активність, нм/100мг білку	Аміак, ммоль/л	Заг. концентрація ЛЖК, ммоль/л	Мікробна маса, г/л
контроль	6,02±0,1	60,06±4,0	1,04±0,08	5,96±0,3	16,44±2,0	145,81±11,0	5,58±0,2
<i>Додавання до інкубаційного середовища ацетату свинцю</i>							
МДР	5,60±0,1	44,11±3,0	0,77±0,04	2,95±0,1	9,8±0,7	127,35±11,0	4,94±0,2
МДР+Se	5,75±0,1	49,95±3,2	0,85±0,05	3,40±0,2	10,63±0,9	134,17±11,0	5,36±0,3
МДР+Vit.E	5,68±0,1	45,76±2,5	1,05±0,08	3,33±0,2	11,29±1,0	128,67±10,0	5,23±0,3
<i>Додавання до інкубаційного середовища біхромату калію</i>							
МДР	6,21±0,2	57,55±3,0	0,47±0,02	6,34±0,2	13,61±0,6	112,54±5,4	4,84±0,2
МДР+Se	5,96±0,1	68,66±4,3	0,54±0,02	6,53±0,3	10,85±0,8	118,01±6,8	5,11±0,2
МДР+Vit.E	6,15±0,2	79,28±5,2	0,41±0,02	6,49±0,3	14,39±1,0	117,45±6,7	5,38±0,2
<i>Додавання до інкубаційного середовища сірчанокислого кадмію</i>							
МДР	5,81±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+Se	6,56±0,2	59,96±3,3	0,62±0,03	3,29±0,1	12,39±0,8	116,06±6,4	4,94±0,2
МДР+Vit.E	5,78±0,1	54,65±3,0	0,62±0,02	3,26±0,1	10,63±0,7	115,63±5,8	4,93±0,2
<i>Додавання до інкубаційного середовища сумішей солей Pb, Cr, Cd.</i>							
МДР	5,96±0,1	54,18±3,0	0,84±0,04	4,52±0,3	11,85±1,1	137,11±13,0	4,84±0,2
МДР+Se	6,06±0,1	58,66±3,2	0,81±0,03	4,59±0,2	12,12±0,9	142,91±13,0	5,16±0,2
МДР+Vit.E	5,94±0,1	76,27±4,8	0,85±0,03	4,65±0,2	11,73±1,0	143,62±11,0	5,23±0,2

і амілолітичної активності (на 14,89%), збільшення мікробної маси (на 5,57%) і збільшення кількості коротколанцюгових жирних кислот (на 4,86%). При додаванні вітаміну Е у інкубаційному середовищі спостерігається підвищення целюлозолітичної активності (на 37,75%) та збільшення мікробної маси (на 11,15%) та незначне збільшення кількості коротколанцюгових жирних кислот (на 4,36%) та кількості аміаку (на 5,73%).

Під впливом кадмію, при при додаванні його до інкубаційного середовища з вмістом рубця, порівняно до контролю, в ньому виявлено вірогідно меншу кількість мікроорганізмів і вміст коротколанцюгових жирних кислот, нижчі целюлозолітичну, амілолітичну і протеолітичну активності. Ці результати свідчать про інгібувальний вплив кадмію на ріст мікроорганізмів рубця великої рогатої худоби та їх метаболічну активність за умов *in vitro*. Додавання до інкубаційного середовища з кадмієм селену позитивно вплинуло на ферментативну активність мікроорганізмів. При цьому спостерігали підвищення целюлозолітичної (на 25,36%) і амілолітичної активності (на 12,72%) та незначне збільшення мікробної маси (на 4,08%). Додавання вітаміну Е до інкубаційного середовища з кадмієм привело до підвищення целюлозолітичної (на 14,25%), протеолітичної (на 12,54%) і амілолітичної активності (на 12,72%).

При одночасному додаванні до інкубаційного середовища з вмістом рубця суміші важких металів у вигляді ацетату свинцю, біхромату калію та сірчаноокислого кадмію разом, у ньому, порівняно до контролю, виявлено вірогідне зменшення маси мікроорганізмів, кількості аміаку і нижчу протеолітичну активність. Інгібувальний вплив комплексу важких металів (свинцю, кадмію і хрому(VI)) на ріст мікроорганізмів і їх метаболічну активність суттєво не відрізняється від інгібуючого впливу кожного з цих елементів окремо. Додавання до інкубаційного середовища зі сумішшю важких металів – селену та вітаміну Е привело до збільшення кількості коротколанцюгових жирних кислот (відповідно на 4,23% і 4,74%), мікробної маси відповідно (на 6,61% і 8,05%), підвищення целюлозолітичної активності (на 8,26% і 37,88%).

З наведених даних випливає, що додавання селеніту натрію і токоферолу ацетату до інкубаційного середовища з вмістом рубця разом з важкими металами позитивно впливає на ріст мікроорганізмів та їх ферментативну активність.

**Висновки.** Додавання до вмісту рубця великої рогатої худоби у дослідах *in vitro* солей свинцю, кадмію та хрому (VI), а також їх суміші, у максимально допустимих кількостях, пригнічує ріст мікроорганізмів та їх метаболічну активність, що призводить до зменшення кількості аміаку і коротколанцюгових жирних кислот та зниження амілолітичної, протеолітичної, целюлозолітичної активності у інкубаційному середовищі. Додавання до вмісту рубця разом з важкими металами - свинцем, кадмієм та хромом (VI) - селену та вітаміну Е зменшує інгібуючу дію важких металів на ріст та життєдіяльність симбіотичних мікроорганізмів рубця.

#### Література

1. Mukesh K. Raikwar Toxic effect of heavy metals in livestock health [Text] / Mukesh K.Raikwar, Puneet Kumar, Manoj Singh et al. // Veterinary World. — 2008. — Vol.1 (1). — P.28-30.
2. Forsberg C.W. Effects of heavy metals and other trace elements on the fermentative activity of the rumen microflora and growth of functionally important rumen bacteria [Text] /C.W.Forsberg// Can. J. Microbiol. — 1978. — Vol.24 (3). — P.298-306.
3. Волторністий А.В. Вплив вітаміну Е і селену на ферментативні процеси у вмісті рубця телят у дослідах *in vitro* [Текст] / А.В.Волторністий, Л.І.Сологуб, М.Г.Герасимів, О.М.Стадник // Біологія тварин. — 2003. — Т.5. - № 1-2. — с.128-132.
4. 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.
5. Тараканов Б.В. Методы исследований микрофлоры пищеварительного тракта с.-х. животных и птицы [Текст] / Б.В.Тараканов// Бюлл.ВНИИФБиП с.-х. животных. — 1998. — 145с

6. Powell E.O. A photometric method for following changes in length of bacteria [Текст] / E.O. Powell, P.J. Stoward // J.Gen.Microbiol. — 1962. — Vol.27 (3). — P.489-493.

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. 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.

9. 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.

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

### Summary

*The influence of lead, cadmium and chromium (VI) in maximally possible amounts on the growth and vital activity of cattle's rumen microorganisms in vitro was studied. It was shown, that addition of heavy metals salts at the incubation media decrease the growth of microorganisms, ammonia and volatile fatty acids synthesis. Addition of sodium selenium and vitamin E to the incubation media simultaneously with heavy metals increase microorganisms growth and metabolic activity.*

*Стаття надійшла до редакції 22.03.2010*