

## КІЛЬКІСТЬ ПРОТЕЇНУ ТА АМІАКУ І АКТИВНІСТЬ ГАЗОУТВОРЕННЯ У ВМІСТІ РУБЦЯ КОРІВ ПРИ ФЕРМЕНТАЦІЇ НЕЯКІСНОГО СИЛОСУ (IN VITRO)

В. В. Дубінський, В. В. Влізло

Інститут біології тварин УААН

*Наведено дані про вплив неякісного, ураженого грибками *Cladosporium herbatum*, кукурудзяного силосу на ферментативну активність у вмісті рубця корів (in vitro). Встановлено, що згодовування коровам неякісного силосу веде до порушення гідролізу протеїну та зниження використання утвореного аміаку у вмісті рубця. Крім цього, при ферментації неякісного силосу відзначено зниження розпаду целюлози і зменшення загальної продукції газів, зокрема метану. Після припинення додавання у штучний рубець неякісного силосу ферментативні процеси нормалізуються.*

Силосування кормів, насамперед зеленої маси кукурудзи, — важливий спосіб забезпечення кормової бази у молочному скотарстві. Проте порушення технології заготівлі силосу приводить до зниження його якості та кормової цінності. Особливо впливає на якість силосу ураження силосованої маси грибками та розвиток гнільних процесів, що веде до зниження його поживної цінності, може спричиняти захворювання тварин. При згодовуванні коровам неякісного силосу порушується травлення [1], а на їх організм негативно впливають продукти гниття силосу [2].

При порушенні розщеплення вуглеводів у рубці корів при згодовуванні їм неякісного кукурудзяного силосу знижується утворення газів. За нормальних умов мікроорганізми рубця ферментують вуглеводи та синтезують леткі жирні кислоти (ЛЖК). Продуктом цієї ферментації є вуглекислий газ. Незначна частка вуглекислого газу утворюється також при декарбоксілюванні кетокислот та розпаді амінокислот, або оксидативному дезамінуванні окремих амінокислот чи уреолізі [3]. Продукція вуглекислого газу тісно корелює із кількістю утворених летких жирних кислот.

Метою нашої роботи було вивчити вплив неякісного силосу на ферментативні процеси у рубці корів in vitro шляхом дослідження розщеплення протеїну, засвоєння аміаку, утворення загальної кількості газів і метану.

**Матеріали і методи.** Дослід провели, використовуючи інкубаційну систему «штучний рубець». Інкубаційна система складається з чотирьох ідентичних ферментерів, поміщених у водяну баню (рис. 1). Ця система дозволяє моделювати споживання корму, скорочення рубця та підтримку сталої кількості рідини всередині ферментерів протягом тривалого періоду через надходження буферного розчину та відтоку надлишку рідини. У якості стартового інокуляту використовувався вміст та рідина рубця. Вміст рубця для інкубації відбирали від нелактуючої фістульної корови живою масою 600 кг, німецької чорно-рябої породи. Тварина утримувалася в окремому стійлі при клініці великої рогатої худоби Вищої ветеринарної школи м. Ганновер, Німеччина. Годівля проводилася двічі на день о 6.30 та 16.30 годині. Раціон складався із сіна та комбікорму у співвідношенні 3,3 : 1 і забезпечував добову потребу корови у поживних речовинах. Напування здійснювалося з автоматичної поїлки.

Відбір вмісту рубця проводили вранці, через 2,5 години після початку годівлі корів. Рідину рубця отримували металевим зондом через фістулу рубця з вентрального відділу краніального мішка. Після отримання рідкої частини вмісту рубця, його фільтрували через два шари марлі для відділення твердих частинок корму. Зразки вмісту рубця відбирали через отвір фістули у термос. У кожен з чотирьох ферментерів вносили 500 мл фільтрату, 200 мл буферного розчину (McDougall, 1948), 80 г злеводненого вмісту рубця, 12 г сіна, 3,4 г комбікорму. Протягом 2 хвилин проводили дегазацію штучного рубця вуглекислим газом

для створення анаеробних умов. Контрольними були ферментери 1 та 2, дослідними — 3 та 4. Стадія переддослідду тривала з 1-го по 8-й день, стадія дослідду — з 8-го по 13-й день, стадія нормалізації — з 13-го по 19-й день безперервної інкубації. Починаючи із 8-го дня ферментації, у контрольні ферментери замість сіна вносили доброякісний силос, а у дослідні — неякісний силос, уражений грибками *Cladosporium herbarum*. З 13-го дня у контрольних і дослідних ферментерах знову замінювали силос на сіно. Вміст поживних речовин та мікробіологічне дослідження контрольних та дослідних зразків силосу проводили у лабораторії Інституту годівлі тварин Вищої ветеринарної школи м. Ганновер. Щодня, в однакові проміжки часу, проводили заміну мішечків з кормом та відбір зразків для визначення вмісту аміаку та протеїну. Для визначення концентрації протеїну використовували рідину ферментерів, вільну від фракцій найпростіших та рослинних часток, внаслідок центрифугування при 200 обертів за хвилину. Подальша підготовка зразків включала використання ультразвукового дезінтегратора Sonopuls HD 60, що дозволяло отримати відносно чисту від сторонніх домішок бактерійну фракцію протеїну. Вміст аміаку визначали на іонному аналізаторі Orion 920 A.

Крім цього, паралельно відбирали проби для визначення загального об'єму продукції газів та метану. Визначення кількості метану проводили за допомогою газового хроматографу Shimadzu GC-8A, загальну кількість газів визначали у мірному циліндрі, шляхом витіснення газом об'єму води (кількість мл).

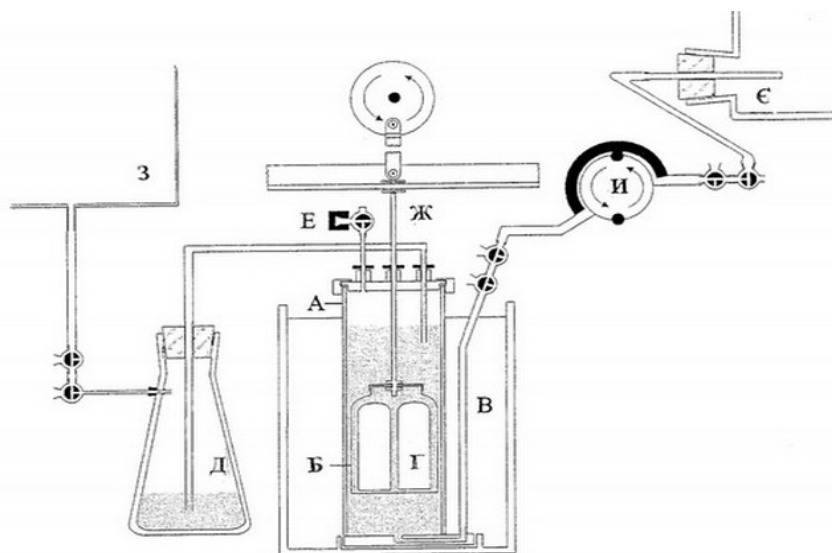


Рис. 1. Схема будови приладу "штучний рубець"

а — ферментер, б — перфорований циліндр, в — водяна баня, г — мішечки з кормом, д — емкість для збору надлишку рідини, е — штутцер для відбору проб газів, є — колба з буферним розчином, ж — з'єднувальна штанга електромотору, з — пакет для збору газів, и — перестальтична помпа.

**Результати та обговорення.** При дослідженні якісного та неякісного силосу встановлено, що вони відрізняються за основними показниками поживних речовин і мікробною забрудненістю (табл. 1). Зокрема, у неякісному силосі значно зростає вміст ліпополісахаридів грамнегативних мікроорганізмів, кількість аеробних мікроорганізмів, а також плісневих грибів (*Cladosporium herbarum*) та дріжджів.

Проведення ферментації якісного силосу показало, що протягом шести днів дослідної стадії (8–13 день) у рідині рубця зростає концентрація протеїну (рис. 2) у дослідній групі (з 95 до 133 мг/л). При цьому у контрольних зразках зміни концентрації протеїну були незначними і мало відрізнялися протягом стадії дослідду. У стадію відпочинку концентрація протеїну у рідині рубця обох груп ферментерів суттєво не відрізнялася від вихідного рівня.

Збільшення концентрації протеїну мікробної фракції у рідині рубця у дослідну стадію можна пояснити впливом на бактерії вмісту рубця токсину грибка *Cladosporium herbarum*,

внаслідок чого інгібується споживання мікроорганізмами азоту та незамінних амінокислот, а лізис бактерій призводить до вивільнення внутрішньоклітинного протеїну.

Під час всієї стадії досліду вміст аміаку (рис. 3) у зразках, де був неякісний силос, зростав, порівняно до контролю. Так, вже через один день вміст аміаку в рідині рубця збільшувався до 19 ммоль/л, а через 2 дні — до 22 ммоль/л, порівняно з 15 та 17 ммоль/л у контрольних зразках.

Таблиця 1.

**Вміст поживних речовин та показники мікробного забруднення зразків якісного та неякісного кукурудзяного силосу**

Показник силосу	Одиниці виміру	Силос	
		Якісний	Неякісний
Суша речовина	%	33,6	52,8
Сира зола	г/кг	38,2	80,4
Сирий протеїн	г/кг	81,9	87,6
Сирий жир	г/кг	21,4	25,4
Сира клітковина	г/кг	206	184
Цукор	г/кг	3,03	4,06
Кількість енергії	МДж/кг	6,58	6,36
Ліпополісахариди грамнегативних мікроорганізмів	мг/г	2,14	120
pH		3,96	7,99
Аеробні мікроорганізми	кількість колоній, г	$1 \times 10^7$	$>10^9$
Плісеневі гриби	кількість колоній	0	$>10^7$
Дріжджі	кількість, г	0	$2 \times 10^6$

Підвищення вмісту аміаку є наслідком сповільнення обміну вуглеводів через дефіцит легкоферментованих цукрів, внаслідок чого не відбувається фіксація азоту мікроорганізмами [4].



Рис. 2. Концентрація протеїну у контрольних та дослідних зразках



Рис. 3. Вміст аміаку у рівні рубця дослідних та контрольних проб

У стадії дослідження загальна продукція газу (рис. 4.) у контрольних зразках була в межах від 2165 до 2248 мл. У дослідних ферментерах відзначали різке зниження інтенсивності продукції газів (до 1606 мл), особливо на 9-й день. У подальшому продукція газів поступово зростала і у фазу нормалізації їх кількість досягала вихідного показника (2200 та 2300 мл у контролі та досліді, відповідно).

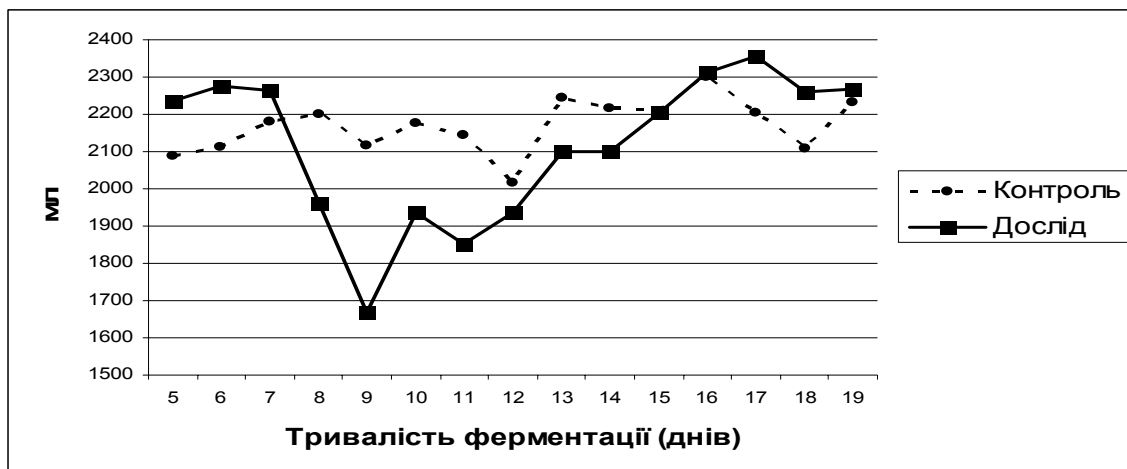


Рис. 4. Загальна продукція газів у дослідних і контрольних ферментерах

Протягом стадії дослідження вміст метану (рис. 5) у рідині рубця у контрольних ферментерах залишався майже без змін.



Рис. 5. Кількість метану у дослідних та контрольних ферментерах

У дослідних ферментерах кількість метану знизилася із 6,5 до 4,6 % (об). У стадію відпочинку концентрація метану у рідині рубця у дослідних ферментерах зростала і, навіть, була дещо вищою, ніж у контрольних. Зниження продукції метану при ферментації ураженого грибами силосу можна пояснити ураженням токсинами метаногенних бактерій[5].

## ВИСНОВКИ

Вплив неякісного силосу (ураженого грибками *Cladosporium herbatum*) на ферментацію у вмісті рубця корів *in vitro* характеризується підвищенням у рідині рубця концентрації протеїну і аміаку, зменшенням загальної продукції газів та кількості метану при газоутворенні.

**Перспективи подальших досліджень.** Вивчити метаболічні процеси і активність мікрофлори у вмісті рубця *in vitro* та *in vivo* при згодовуванні неякісних кормів, також залежно від складу раціону.

## КОЛИЧЕСТВО ПРОТЕИНА И АММИАКА, АКТИВНОСТЬ ГАЗООБРАЗОВАНИЯ В СОДЕРЖИМОМ РУБЦА КОРОВ ПРИ ФЕРМЕНТАЦИИ НЕКАЧЕСТВЕННОГО СИЛОСА (IN VITRO)

В. В. Дубинский, В. В. Влизло

## АННОТАЦІЯ

Приведены данные о влиянии некачественного, пораженного грибами *Cladosporium herbatum* кукурузного силоса на ферментативную активность в содержимом рубца коров (in vitro). Установлено, что скармливание коровам некачественного силоса ведет к нарушению гидролиза протеина и снижению усвоения аммиака в содержимом рубца. Кроме того, при ферментации некачественного силоса отмечено уменьшение распада целлюлозы и снижение продукции газов, в частности метана. После замены некачественного силоса на качественное сено ферментативные процессы в искусственном рубце нормализовались.

### THE EFFECTS OF LOW QUALITY CORN SILAGE ON AMMONIA CONCENTRATION, pH AND GAS PRODUCTION IN RUMEN FLUID (IN VITRO)

*V. V. Dubinskiy, V. V. Vlizlo*

#### SUMMARY

The influence of low quality silage on rumen fermentation patterns in cattle were investigated in vitro using the rumen simulation technique. Fermentation of carbohydrates was generally inhibited by the mouldy silage. The detailed changes observed comprised: a decrease of the methane component of gas production by 22 %. Normal fermentation resumed following the replacement of the spoiled silage.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Внутрішні хвороби тварин / В. І. Левченко, І. П. Кондрахін, М. О. Судаков та ін.; За ред. В. І. Левченка. — Біла Церква, 1999. — Ч. 1. — 376 с.
2. *Spiekens H., Berntsen M., Mues N.* Einsatz von Futterharnstoffen in Silomais // *Riswicker Ergebnisse*. — 2003.
3. *Bonhomme-Florentin A.* Animal Nutrition and Transport Processes// *Nutrition in Wild and Domestic Animals*. — Basel: Verlag Karger, 1990. — P. 254–268.
4. Einfluss von Silierzusätzen auf Verdaulichkeit, Futteraufnahme und Milchleistung / L. Gruber, A. Steinwidder, A. Schauer et al. // Bericht über die 24. Tierzuchttagung BAL. — Gumpenstein, 1997. — S. 65–85.
5. Ветеринарна клінічна біохімія / В. І. Левченко, В. В. Влізло, І. П. Кондрахін та ін.; За ред. В. І. Левченка і В. Л. Галяса. — Біла Церква, 2002. — 400 с.

**Рецензент** — завідувач лабораторії обміну речовин, к. б. н. Ю. Т. Салига.