

ВПЛИВ СВИНЦЮ, КАДМІЮ ТА ХРОМУ(VI) НА ЖИТТЄДІЯЛЬНІСТЬ МІКРООРГАНІЗМІВ РУБЦЯ МОЛОДНЯКУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ЗА УМОВ *IN VITRO* ПРИ ДОДАВАННІ МІДІ, ЗАЛІЗА І ЦИНКУ

Н. І. Талоха, Б. М. Куртяк, М. Г. Герасимів

Інститут біології тварин НААНУ

Вивчено вплив свинцю, кадмію та хрому на життєдіяльність мікроорганізмів рубця великої рогатої худоби за умов in vitro при додаванні до нього солей міді, заліза і цинку. Встановлено, що додавання до вмісту рубця in vitro солей свинцю, кадмію та хрому, 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. Додавання до інкубаційного середовища з вмістом рубця разом з вище вказаними важкими металами солей міді, заліза і цинку зменшує інгібуючу дію свинцю, кадмію та хрому на ріст мікроорганізмів та їх метаболічну активність.

Наявні в літературі дані [7, 12] свідчать, що важкі метали — свинець, кадмій та хром проявляють інгібуючий вплив на ріст, метаболічну і функціональну активності змішаної популяції мікроорганізмів рубця молодняку великої рогатої худоби за умов *in vitro*, що призводить до зменшення в інкубаційному середовищі кількості аміаку і коротколанцюгових жирних кислот та зниження амілолітичної, протеолітичної і целюлозолітичної активності, зменшення мікробної маси. Ці дані свідчать про токсичний вплив свинцю, хрому і кадмію не тільки на тканинний метаболізм у великої рогатої худоби, а й на метаболізм мікроорганізмів у рубці.

У зв'язку з цим, науковий і практичний інтерес становить дослідження впливу цинку, міді і заліза на дію свинцю, хрому і кадмію на життєдіяльність та метаболізм мікроорганізмів рубця у великої рогатої худоби. Актуальність таких досліджень зумовлена наявністю в літературі даних про позитивний вплив міді [2], цинку [3] та заліза [5] на продуктивність великої рогатої худоби, особливо, у регіонах, що характеризуються дефіцитом рухомих форм мікроелементів у ґрунті і кормах [13]. Показано, що додавання солей міді до раціону тварин підвищує моторику рубця, ферментативну і синтетичну активність мікроорганізмів. Дефіцит заліза в раціоні тварин негативно впливає на ріст мікроорганізмів рубця. Під впливом цинку підвищується целюлозолітична активність мікроорганізмів рубця, в організмі підвищується інтенсивність обміну білків і вуглеводів.

Тому метою роботи було дослідження впливу міді, цинку і заліза, на ріст та метаболізм змішаної популяції мікроорганізмів вмісту рубця молодняку великої рогатої худоби за умов *in vitro* при додаванні до інкубаційного середовища солей свинцю, кадмію та хрому.

Матеріали і методи. У дослідженнях використані зразки вмісту рубця, одержані від трьох фістульних бичків-аналогів української молочної чорно-рябої породи, науково-дослідного господарства 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 допустимих кількостях (МДР) свинець у

кількості 0,2 мг/кг у вигляді ацетату свинцю [8], кадмій у кількості 0,04 мг/кг у вигляді сірчаноокислого кадмію [8] та хром (VI) у кількості 0,5 мг/кг у вигляді біхромату калію. Паралельно в інші інкубаційні посудини разом з свинцем, кадмієм і хромом вносили 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. За контроль правили зразки вмісту рубця вільні від важких металів і мікроелементів. Посудини закривали корками, продували вуглекислим газом та інкубували при температурі 38 °С протягом 24 годин. Після закінчення інкубації зразки інкубату брали для дослідження: вимірювали рН [11], визначали кількість мікробної маси [10], загальну концентрацію летких жирних кислот [4] і аміаку [6], протеолітичну [1], амілолітичну [11] та целюлозолітичну активність [9].

Результати та обговорення. З наведених у таблиці даних видно, що додавання до інкубаційного середовища з вмістом рубця солей важких металів негативно впливає на досліджуванні показники життєдіяльності мікроорганізмів. Так, при додаванні свинцю в інкубаційному середовищі з вмістом рубця вірогідно знижується рН, кількість аміаку, целюлозолітична, амілолітична та протеолітична активності. Бачимо, що під впливом свинцю у мікроорганізмів зменшується здатність до розщеплення поживних речовин корму, що призводить до зниження інтенсивності процесів ферментації та росту мікроорганізмів.

Таблиця

Вплив солей свинцю, кадмію, хрому на метаболічну активність мікроорганізмів рубця молодняка великої рогатої худоби *in vitro* при додаванні до нього солей міді, заліза цинку (M±m, n=3)

Дози доданих компонентів	рН	Целюлозолітична активність %	Амілолітична активність, ум.ам.од.	Протеолітична активність, нм/100мг білку	Аміак, ммоль/л	Загальна 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	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	4,94±0,2
МДР + Cu ⁺²	5,51±0,1	52,41±2,2	1,10±0,06	3,27±0,1	12,85±1,1	129,62±7,8	5,74±0,2
МДР + Fe ⁺²	5,46±0,1	47,08±2,7	1,16±0,06	3,16±0,1	10,63±1,0	131,44±7,5	5,84±0,2
МДР + Zn ⁺²	5,36±0,1	40,33±2,1	1,19±0,08	3,52±0,1	9,31±0,8	131,79±8,1	5,43±0,2
<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 + Cu ⁺²	5,85±0,1	59,11±4,5	0,67±0,03	6,71±0,3	9,53±0,6	120,16±6,1	5,31±0,3
МДР + Fe ⁺²	5,06±0,1	59,52±4,5	0,86±0,02	6,42±0,3	10,79±0,8	121,45±6,1	5,75±0,2
МДР + Zn ⁺²	6,02±0,1	61,01±4,1	0,50±0,01	6,29±0,2	13,41±0,7	117,08±5,7	4,88±0,2
<i>Додавання до інкубаційного середовища сірчаноокислого 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 + Cu ⁺²	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 + Fe ⁺²	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 + Zn ⁺²	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
<i>Додавання до інкубаційного середовища сумішею 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	4,84±0,2
МДР + Cu ⁺²	5,77±0,1	65,06±4,5	0,98±0,04	4,61±0,3	11,62±1,1	136,65±7,6	5,57±0,2
МДР + Fe ⁺²	5,56±0,1	65,45±4,5	1,16±0,05	4,55±0,3	11,18±1,0	139,41±6,3	5,63±0,2
МДР + Zn ⁺²	5,78±0,1	66,86±4,2	0,98±0,04	4,63±0,3	12,29±1,2	134,58±7,2	5,58±0,2

Додавання до інкубаційного середовища, що містило свинець, мікроелементів — міді, заліза і цинку, привело до вірогідного підвищення у ньому амілолітичної та протеолітичної активності, збільшення кількості коротколанцюгових жирних кислот, зростання мікробної маси. Стимулюючий вплив на ріст амілолітичних мікроорганізмів у інкубаційному середовищі зі свинцем *in vitro* солей міді, заліза та цинку, можна пояснити

активацією амілази іонами Cu^{+2} , Fe^{+2} , Zn^{+2} . Цинк і залізо більшою мірою проявляють активуючий вплив на гідролітичні ферменти у інкубаційному середовищі з свинцем, у порівнянні з міддю. При цьому під їх впливом в інкубаційному середовищі зменшується концентрація аміаку і збільшення концентрації коротколанцюгових жирних кислот.

При додаванні до інкубаційного середовища біхромату калію, в ньому, порівняно до контролю, знизилася амілолітична активність та утворення коротколанцюгових жирних кислот і маса мікроорганізмів. Мікроорганізми здатні відновлювати хромати і біхромати, внаслідок чого шестивалентний хром переходить у тривалентний. Хром відіграє регуляторну роль у процесах реплікації і транскрипції у мікроорганізмів. Додавання до інкубаційного середовища з вмістом рубця разом з хромом, солей міді, заліза та цинку позитивно впливає на життєдіяльність мікроорганізмів і їх метаболічну активність. В інкубаційному середовищі при цьому вірогідно підвищується целюлозолітична, амілолітична, протеолітична активність, збільшуються кількість коротколанцюгових жирних кислот і маса мікроорганізмів. При цьому в інкубаційному середовищі зменшується концентрація аміаку, внаслідок більш інтенсивного використання його в синтезі амінокислот. Найбільший позитивний вплив на ріст і метаболічну активність мікроорганізмів у інкубаційному середовищі з хромом виявляється при додаванні солі заліза. При цьому спостерігається зростання амілолітичної і протеолітичної активностей, концентрації коротколанцюгових жирних кислот і маси мікроорганізмів. У транспорті хрому приймає участь білок трансферин, що транспортує залізо. Крім заліза, виявлена спорідненість до трансферину також хрому. Обидва ці елементи, ймовірно конкурують за ділянки, що зв'язують метал.

Під впливом кадмію, 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. Це свідчить про інгубуючий вплив кадмію на ріст мікроорганізмів рубця великої рогатої худоби та їх метаболічну активність. При додаванні до інкубаційного середовища з вмістом рубця разом з кадмієм солей міді, заліза і цинку виявлено підвищення целюлозолітичної, амілолітичної і протеолітичної активності, зростання мікробної маси. При додаванні до інкубаційного середовища оптимальної концентрації міді (0,5 мкм/л) інтенсивність росту мікроорганізмів не змінюється. Можна зробити висновок, що мідь проявляє слабший регуляторний вплив на обмінні процеси в інкубаційному середовищі з вмістом рубця разом з кадмієм. Іони заліза мають стимулюючий вплив на ріст целюлозолітичних мікроорганізмів, в той час як іони цинку більше проявляють стимулюючий вплив на ріст амілолітичних мікроорганізмів. Поряд з цим помітне зменшення концентрації аміаку за рахунок підвищення використання його в синтезі амінокислот мікроорганізмами рубця.

При одночасному додаванні до інкубаційного середовища з вмістом рубця у вигляді суміші солей свинцю, хрому та кадмію, порівняно до контролю, виявлено вірогідне зменшення мікробної маси, кількості аміаку і нижчу протеолітичну активність. Наведені у таблиці результати вказують на те, що інгубуючий вплив комплексу важких металів: свинцю, кадмію та хрому на ріст мікроорганізмів і їх метаболічну активність суттєво не відрізняються від інгубуючого впливу кожного з них окремо. Додавання до інкубаційного середовища з вмістом рубця разом зі сумішшю солей свинцю, кадмію, хрому мікроелементів — солей міді, заліза і цинку позитивно впливає на життєдіяльність мікроорганізмів і їх метаболічну активність. При цьому в інкубаційному середовищі підвищується целюлозолітична і амілолітична активність, зростає концентрація коротколанцюгових жирних кислот і знижується концентрація аміаку. Слід відзначити, що іони заліза мають більш виражений позитивний вплив на ріст мікроорганізмів і їх метаболічну активність в порівнянні з дією іонів цинку і міді, що супроводжується підвищенням амілолітичної активності, зростанням мікробної маси і концентрації коротколанцюгових жирних кислот та зменшенням концентрації аміаку.

Крім дії на мікробіальні клітини, елементи можуть взаємодіяти між собою й утворювати водонерозчинні комплекси, які менше засвоюються мікроорганізмами. Не виключається також конкурентна дія їх на одні і ті ж активні центри у ферментних системах клітин.

Таким чином, показано, що мікроелементи — залізо, цинк і мідь позитивно впливають на ріст і життєдіяльність змішаної популяції мікроорганізмів рубця великої рогатої худоби за умови *in vitro* з важкими металами — свинцем, кадмієм і хромом. Ці результати вказують на потребу забезпечення раціонів тварин у зоні техногенного навантаження, забрудненої важкими металами, у цих мікроелементах.

В И С Н О В К И

У дослідах *in vitro* показано, що додавання до інкубаційного середовища з вмістом рубця разом з важкими металами — свинцем, кадмієм та хромом, мікроелементів заліза, цинку і міді позитивно впливає на ріст і життєдіяльність мікроорганізмів. Під впливом іонів заліза та цинку помітно активується ріст популяції мікроорганізмів, продукція коротколанцюгових жирних кислот і амілолітична активність. Стимулюючий вплив міді на целюлозолітичну активність також досить помітний, але вплив на проліферацію мікробних клітин виражений слабше.

Перспективи подальших досліджень. Розроблення на основі одержаних результатів способу зменшення токсичної дії важких металів при підвищенні їх вмісту в раціоні великої рогатої худоби.

THE INFLUENCE OF LEAD, CADMIUM AND CHROMIUM ON THE GROWTH AND VITAL FUNCTIONS OF MICROORGANISMS IN CATTLE'S RUMEN *IN VITRO* AFTER THE ADDITION OF COPPER, IRON AND ZINC

N. I. Talokha, B. M. Kurtjak, M. G. Herasymiv

S U M M A R Y

It was shown in experiments *in vitro*, that addition of salts lead, cadmium and chromium, microelements — iron, zinc and copper to the incubation environment with content of cattle's rumen had positive effects on growth and vital functions of microorganisms. Under influence of iron ions and zinc on the growth of microorganisms' population, the production of volatile fatty acids and amylolytic activity noticeably increased. The stimulation effect of copper ions on cellulolytic activity was also quite noticeable, but its effect on microbial cells growth was much weaker.

ВЛИЯНИЕ СВИНЦА, КАДМИЯ И ХРОМА НА РОСТ И ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ РУБЦА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА *IN VITRO* ПРИ ДОБАВЛЕНИИ МЕДИ, ЖЕЛЕЗА И ЦИНКА

Н. И. Талоха, Б. М. Куртяк, М. Г. Герасымив

А Н Н О Т А Ц И Я

В опытах *in vitro* показано, что при добавлении к инкубационной среде с содержанием рубца вместе с тяжелыми металлами — свинцом, кадмием и хромом, микроэлементов — железа, цинка и меди положительно влияет на рост и жизнедеятельность смешанной популяции микроорганизмов. Под влиянием ионов железа и цинка заметно активизируется рост популяции микроорганизмов, образование летучих жирных кислот и амилолитическая активность. Стимулированное влияние меди на целюлозолитической

активність також достатньо заметне, но вплив на проліферацію мікробних кліток виражено слабше.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Аитов А. А.* Модифікація методики визначення протеолітичної активності в химусі і слизистій кишечника [Текст] / А. А. Аитов, В. М. Газаров // Бюлл.ВНИИФБиП с.-х. тварин. — 1978.
2. *Георгиевский В. И.* Динаміка концентрації цинку, міді і марганцю і розподіл їх по фракціям в кормовому рубці к [Текст] — 1987. — Вип. 3, № 87. — С. 6–9.
3. *Кліценко Г. Т.* Мінеральне живлення тварин [Текст] / Г. Т. Кліценко, М. Ф. Кулик, М. В. Косенко. — К. : Світ, 2001. — 576 с.
4. *Кроткова А. П.* Визначення летучих жирних кислот в кормовому рубці у жвачних [Текст] / А. П. Кроткова, Н. И. Митин // Вестник с.-х. науки. 1957. — 10. — С. 13–17.
5. *Кузнецова Ф. А.* Вплив заліза на інтенсивність бродіння і утворення каталази пропіоновокислими бактеріями / Ф. А. Кузнецова, Н. М. Дацюк, С. Г. Матвійко, Е. К. Франчук // Мікробіол. журн. — 1983. — № 1. — С. 3–7.
6. *Курилов Н. В.* Визначення азотистих речовин в кормовому рубці [Текст] / Н. В. Курилов, Т. А. Радченкова // В кн. «Нові методи і модифікації біохімічних досліджень в тваринництві». — М. : Колос, 1970. — С. 60–65.
7. *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.
8. Норми. Міністерство охорони здоров'я СРСР № 5061-89, від 01.08.1989. Медико-біологічні вимоги і санітарні норми якості продовольчої сировини і продуктів харчування. [Текст] // Редакція від 07.11.2001. № 1 — 39(0139488-01) — постанова діє.
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. *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.
11. *Тараканов Б. В.* Методи досліджень мікрофлори траваритного тракту с.-х. тварин і птиці [Текст] / Б. В. Тараканов // Бюлл.ВНИИФБиП с.-х. тварин. — 1998. — 145 с.
12. *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.
13. *Янович В. Г.* Біологічні основи трансформації поживних речовин у жуйних тварин [Текст] / В. Г. Янович, Л. І. Сологуб. — Львів : В-во «Триада плюс», 2000. — 384 с.

Рецензент: старший науковий співробітник лабораторії біотехнології мікроорганізмів, кандидат сільськогосподарських наук Камінська М. В.