

β-КАРОТИН — ЯК ЗАСІБ ЗНИЖЕННЯ ТОКСИЧНОЇ ДІЇ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ НА МІКРООРГАНІЗМИ РУБЦЯ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Н. І. Талоха

Інститут біології тварин НААН

У статті наведено дані про вплив свинцю, кадмію та хрому (VI) на життєдіяльність мікроорганізмів рубця великої рогатої худоби при додаванні до нього β-каротину за умов in vitro. Встановлено, що додавання до вмісту рубця in vitro солей свинцю, кадмію та хрому (VI), а також їх суміші, у гранично допустимих кількостях (1ГДК і 2ГДК) 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 β-каротину до інкубаційного середовища разом з вище вказаними важкими металами зменшує інгібуючу дію свинцю, кадмію та хрому (VI) на ріст мікроорганізмів та їх метаболічну активність.

Інтенсифікація землеробства, надмірне технологічне навантаження, безконтрольне застосування гербіцидів та добрив призводить до надмірного забруднення навколишнього середовища різними токсикантами, зокрема важкими металами. Важкі метали характеризуються високою біологічною активністю, здатністю до сорбції ґрунтом і поглинання рослинами, що в комплексі призводить до поступового накопичення цих елементів у середовищі існування людини і тварин та створює загрозу для здоров'я не лише теперішнього, але і майбутніх поколінь [1].

У процесах життєдіяльності організму важливу роль відіграють активні форми кисню (АФК). Проникність клітинних мембран, синтез біологічно активних речовин, фагоцитоз та інші процеси залежать від інтенсивності утворення радикалів кисню, яка зростає за дії негативних екзогенних факторів (важкі метали, пестициди, викиди промислових підприємств) [2]. Порушення рівноваги між інтенсивністю перекисних процесів і активністю антиоксидантної системи в організмі тварин призводить до ряду дисфункцій і патологій, зниження продуктивності і якості одержуваної продукції [3].

Мікроорганізми рубця відіграють ключову роль не тільки у процесах травлення у жуйних тварин, а й в поглинанні важких металів, включенні їх у метаболічний ланцюг [4]. В останні роки встановлено, що деякі мікроорганізми рубця, в т.ч. анаероби, для яких кисень та перекиси токсичні, містять антиоксидантні ферменти — супероксиддисмутази і каталази [5]. У зв'язку з цим, дослідження впливу β-каротину, як природного антиоксиданта, на дію свинцю, кадмію та хрому (VI) на життєдіяльність та метаболізм мікроорганізмів рубця у ВРХ має науковий і практичний інтерес.

Матеріали і методи. У дослідженнях використанні зразки вмісту рубця, одержані від трьох фістульних бичків-аналогів української молочної чорно-рябої породи, науково-дослідного господарства «Чишки» Інституту біології тварин НААН. Зразки вмісту рубця 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 поміщали в інкубаційні посудини об'ємом 100 мл, у які попередньо вносили свинець у кількості 5,0 мг/л (1ГДК) і 10,0 мг/л (2ГДК) у вигляді ацетату свинцю, кадмій у кількості відповідно 0,5 мг/л і 1,0 мг/л у вигляді сірчанокислого кадмію та хром (VI) у кількості відповідно 0,5 мг/л і 1,0 мг/л у

вигляді біхромату калію. Паралельно в інші інкубаційні посудини разом з свинцем, кадмієм та хромом (VI) вносили 0,5 мг/л β -каротин виробництва АТ «ВАТМАРК», Чеська Республіка. За контроль брали зразки вмісту рубця без внесення солей важких металів та β -каротину. Посудини закривали корками, продували вуглекислим газом та інкубували при температурі 38 °C протягом 24 годин. Після закінчення інкубації зразки інкубату брали для дослідження: вимірювали рН [6], визначали кількість мікробної маси [7], концентрацію аміаку [8] та коротколанцюгових жирних кислот [9], протеолітичну [10], амілолітичну [6] та целюлозолітичну активність [11].

Результати й 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. Тобто, під впливом свинцю в 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 β -каротину ($M \pm m$, $n=3$)

Дози доданих компонентів	рН	Целюлозолітична активність, %	Амілолітична активність, ум.ам.од.	Протеолітична активність, нм/100мг білка	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>							
1ГДК	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
1ГДК + β -карот	5,58±0,1	48,16±2,2	1,06±0,06	3,67±0,1	9,65±1,1	129,17±7,8	5,67±0,2
2ГДК	5,54±0,1	38,75±2,7	0,86±0,06	2,74±0,1	12,73±1,0	125,94±7,5	4,88±0,2
2ГДК + β -карот	5,83±0,1	39,37±2,1	0,89±0,08	3,44±0,1	11,73±0,8	121,24±8,1	5,42±0,2
<i>Додавання до інкубаційного середовища біхромату калію</i>							
1ГДК	6,21±0,2	57,55±3,0	0,55±0,02	6,34±0,2	13,61±0,6	112,54±5,4	4,84±0,2
1ГДК + β -карот	5,92±0,1	68,84±4,5	0,67±0,03	6,37±0,3	10,19±0,6	118,33±6,1	5,16±0,3
2ГДК	5,47±0,1	49,85±4,5	0,47±0,02	5,84±0,3	11,92±0,8	108,95±6,1	4,63±0,2
2ГДК + β -карот	5,53±0,1	45,75±4,1	0,54±0,01	6,02±0,2	10,86±0,7	110,29±5,7	4,98±0,2
<i>Додавання до інкубаційного середовища сірчанокислого кадмію</i>							
1ГДК	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
1ГДК + β -карот	5,81±0,1	48,36±2,7	0,60±0,03	3,18±0,1	8,87±0,7	134,44±5,5	5,74±0,3
2ГДК	5,74±0,1	46,70±4,0	0,47±0,03	3,12±0,1	11,21±0,7	112,68±7,8	4,69±0,2
2ГДК + β -карот	5,96±0,1	44,17±2,2	0,69±0,02	3,15±0,1	9,09±0,6	137,94±7,2	5,86±0,2
<i>Додавання до інкубаційного середовища сумішей солей Pb, Cr, Cd.</i>							
1ГДК	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
1ГДК + β -карот	5,81±0,1	64,81±4,5	0,92±0,04	4,71±0,3	13,17±1,1	133,67±7,6	5,61±0,2
2ГДК ²	5,77±0,1	45,11±4,5	0,75±0,05	4,34±0,3	11,29±1,0	132,63±6,3	4,75±0,2
2ГДК + β -карот	5,71±0,1	47,06±4,2	1,03±0,04	4,40±0,3	12,48±1,2	131,36±7,2	5,36±0,2

Каротини відносяться до каротиноїдів, біологічно активних рослинних пігментів, які є жиророзчинними поліненасиченими вуглеводами терпенового ряду, продуктами полімеризації ізопрену [12]. Біологічна цінність β -каротину полягає у його властивостях: є попередником вітаміну А (1 МО вітаміну А еквівалентна 0,68 мкг β -каротину) і виконує функцію антиоксиданта.

У різних тварин здатність використовувати каротин корму неоднакова. Так, свині на відгодівлі можуть використовувати каротин корму на 25–30 %, а курчата — тільки 0,6 %. У жуйних частина β-каротину інактивується у передшлунках і все ж таки вони можуть використовувати від 30 до 60 % каротинів, що потрапляють до них у складі корму [13].

Додавання до інкубаційного середовища, що містило свинець, β-каротину привело до вірогідного підвищення у ньому протеолітичної (на 24,40 % (1ГДК) і на 25,54 % (2ГДК)), амілолітичної (відповідно на 37,64 % і на 3,45 %), целюлозолітичної (на 9,18 % при 1ГДК), збільшення кількості аміаку (відповідно на 29,89 % і на 21,03 %), зростання мікробної маси (відповідно на 14,73 % і на 11,06 %). Інфузорії більш чутливі до токсичної дії АФК, оскільки володіють менш активною системою антиоксидантного захисту і менш здатні до виживання в несприятливих умовах, ніж бактерії. Тому збільшення мікробної маси в інкубаційному середовищі при додаванні β-каротину можна пояснити збільшенням кількості інфузорій, що узгоджується з даними А. В. Волторністого [14].

При додаванні до інкубаційного середовища біхромату калію, в ньому, порівняно до контролю, знизилася амілолітична активність та утворення ЛЖК і мікробна маса. Мікроорганізми здатні відновлювати хромати і біхромати, внаслідок чого шестивалентний хром переходить у тривалентний. Додавання до інкубаційного середовища з вмістом рубця разом з хромом β-каротину позитивно впливає на життєдіяльність мікроорганізмів і їх метаболічну активність. В інкубаційному середовищі при цьому вірогідно підвищується амілолітична активність (на 21,81 % (1ГДК) і на 14,89 % (2ГДК)) і зростає мікробна маса (відповідно на 6,61 % і на 5,61 %). Не вірогідно зростає протеолітична активність. Якщо при додаванні β-каротину в інкубаційне середовище з 1ГДК відзначали зростання целюлозолітичної активності на 19,61 %, то при інкубації з вмістом рубця β-каротину і 2ГДК спостерігали зниження целюлозолітичної активності на 8,22 %.

Під впливом кадмію, при додаванні його до інкубаційного середовища з вмістом рубця, порівняно до контролю, в ньому виявлено вірогідно меншу кількість мікроорганізмів і вміст ЛЖК, нижчі целюлозолітичну, амілолітичну та протеолітичну активності. Це свідчить про інгібуючий вплив кадмію на ріст мікроорганізмів рубця ВРХ та їх метаболічну активність. При додаванні до інкубаційного середовища з вмістом рубця разом з кадмієм β-каротину виявлено зростання концентрації ЛЖК (на 17,06 % (1ГДК) і на 22,41 % (2ГДК)), мікробної маси (відповідно на 20,84 % і на 24,91 %) та підвищення амілолітичної активності (відповідно на 9,09 % і на 26,80 %). Поряд з цим помітне зменшення концентрації аміаку за рахунок підвищення його використання у синтезі амінокислот мікроорганізмами рубця.

При одночасному додаванні до інкубаційного середовища з вмістом рубця у вигляді суміші солей свинцю, кадмію та хрому(VI), порівняно до контролю, виявлено вірогідне зменшення мікробної маси, кількості аміаку і нижчу протеолітичну активність. Наведені у таблиці результати вказують на те, що інгібуючий вплив комплексу важких металів свинцю, кадмію та хрому (VI) на ріст і метаболічну активність має нигілятивний характер, тобто дія суми полютантів менша, ніж дія кожного з них окремо. Додавання до інкубаційного середовища з вмістом рубця разом зі сумішшю солей свинцю, кадмію та хрому(VI) β-каротину позитивно впливає на життєдіяльність мікроорганізмів і їх метаболічну активність. При цьому в інкубаційному середовищі підвищується целюлозолітична (відповідно на 19,61 % і на 4,32 %), амілолітична (відповідно на 9,52 % і на 27,34 %), протеолітична (на 4,20 % при 1ГДК), зростає мікробна маса (відповідно на 15,90 % і на 12,84 %), концентрація аміаку (відповідно на 11,13 % і на 10,54 %).

Проведені дослідження показали, що β-каротин, крім позитивної дії на проліферацію клітин мікроорганізмів, виявляє захисну дію від негативного впливу важких металів на гідролітичні ферменти в інкубаційному середовищі, зокрема на амілази бактерій.

ВИСНОВКИ

У досліджах *in vitro* показано, що додавання до вмісту рубця великої рогатої худоби солей свинцю, кадмію та хрому (VI), а також їх суміші, у 1ГДК та 2ГДК дозах, пригнічує ріст мікроорганізмів і їх метаболічну активність, що призводить до зменшення кількості аміаку і коротколанцюгових жирних кислот та зниження амілолітичної, протеолітичної і целюлозолітичної активностей в інкубаційному середовищі. Додавання до вмісту рубця разом з важкими металами β -каротину зменшує інгібуючу дію важких металів, особливо кадмію, на ріст мікроорганізмів та їх метаболічну активність.

Перспективи подальших досліджень. Отриманні результати можуть бути використанні у дослідженнях щодо розробки складу вітамінної добавки з мікроелементами для більш вираженого біохімічного ефекту, максимального підвищення продуктивності та резистентності тварин.

β -CAROTENE AS A REDUCING AGENT OF THE TOXIC EFFECT OF HEAVY METALS ON THE MICROORGANISMS OF CATTLES RUMEN

N. I. Talokha

Institute of Animal Biology of NAAS

S U M M A R Y

It was shown in experiments *in vitro* that addition of salts lead, cadmium and chromium to the rumens content of cattle in maximum allowable concentrations regresses growth of microorganisms and their metabolic activity, looked after reduced formation of ammonia and volatile fatty acids and decrease of amyloytic, proteolytic and cellulolytic activity. The addition to rumens content together with the heavy metals of β -carotene — diminishes repressing heavy metals, operate cadmium, on growth of microorganisms and their metabolic activity.

β -КАРОТИН — КАК СРЕДСТВО СНИЖЕНИЯ ТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА МИКРООРГАНИЗМЫ РУБЦА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Н. И. Талоха

Институт биологии животных НААН

А Н Н О Т А Ц И Я

В исследованиях *in vitro* показано, что добавление к содержимому рубца крупного рогатого скота солей свинца, кадмия и хрома, а также их смеси, в предельно допустимых концентрациях подавляет рост микроорганизмов и их метаболическую активность, что приводит к уменьшению образования аммиака и летучих жирных кислот, снижение амилолитической, протеолитической и целюлозолитической активностей. Дообавление к содержимому рубца вместе с тяжелыми металлами β -каротина уменьшает ингибирующее действие тяжелых металлов, особенно кадмия, на рост микроорганизмов и их метаболическую активность.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Засєкін Д. А. Забруднення ґрунтів та воли важкими металами — одна з причин виникнення патології обміну речовин у тварин : матеріали науково-практичної конференції

«Неінфекційна конференція патології обміну речовин» / Д. А. Заскін, М. М. Шабельник, Д. О. Мельничук. — Біла Церква, 1995. — С. 198–199.

2. *Антоняк Г. Л.* Утворення активних форм кисню та система антиоксидантного захисту в організмі тварин / Г. Л. Антоняк, Н. О. Бабич, Л. І. Сологуб, В. В. Снітинський // Біологія тварин. — 2000. — Т. 2, № 2. — С. 34–43.

3. *Меньшикова Е. Б.* Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов / Е. Б. Меньшикова, Н. К. Зенков // Успехи совр. биол. — 1993. — Т. 113, № 4. — С. 442–455.

4. *Янович В. Г.* Біологічні основи трансформації поживних речовин у жуйних тварин / В. Г. Янович, Л. І. Сологуб. — Львів : В-во «Тріада плюс», 2000. — 384 с.

5. *Волторністий А. В.* Супероксиддисмутаза і каталаза у вмісті рубця великої рогатої худоби / А. В. Волторністий, М. Г. Герасимів, Л. І. Сологуб та ін. // Вісник Львівського університету. — 2003. — Вип. 34. — С. 65–69. — (Серія біологічна).

6. *Тараканов Б. В.* Методы исследований микрофлоры пищеварительного тракта с.-х. животных и птицы / Б. В. Тараканов // Бюлл.ВНИИФБиП с.-х. животных. — 1998. — 145 с.

7. *Powell E. O.* A photometric method for following changes in length of bacteria / E. O. Powell, P. J. Stoward // J.Gen.Microbiol. — 1962. — Vol. 27 (3). — P. 489–493.

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

9. *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.

10. *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.

11. *Паенок С. М.* До методики визначення целюлолітичної активності ферментних препаратів та вмісту передшлунків жуйних тварин / С. М. Паенок // Фізіол. біохім. с.-г. тварин. — 1970. — Вип. 15. — С. 191–192.

12. *Handelman G. J.* The evolving role of carotenoids in human biochemistry // Nutrition 2001 Oct;17 (10) : 818–22 2001. PMID : 15100.

13. *Галяс В. Л.* Біологічна роль вітамінів в організмі тварин / В. Л. Галяс, А. А. Колотницький, О. О. Федець. — Львів, 2006. — 80 с.

14. *Волторністий А. В.* Каталаза бактерій рубця великої рогатої худоби / А. В. Волторністий, Г. О. Богданов, Л. І. Сологуб та ін. // Біологія тварин. — 2004. — Т. 6, № 1–2. — С. 339–343.

Рецензент — кандидат біологічних наук, завідувач лабораторії біотехнології мікроорганізмів Г. В. Колісник, ІБТ НААН.