

**КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
імені ТАРАСА ШЕВЧЕНКА**

СОЛОДКА ЛАРИСА ОЛЕКСАНДРІВНА *Л. Солод*

УДК 636.22/.28:612.32:546.36

**МІКРОФЛОРА РУБЦЯ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ
ХУДОБИ ПРИ НАДХОДЖЕННІ ^{137}Cs З КОРМАМИ**

03.00.01 - радіобіологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата біологічних наук

КИЇВ - 2002

Дисертацією є рукопис.

Роботу виконано в Державному агроекологічному університеті (м. Житомир).

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор
Войцицький Володимир Михайлович
Київський національний університет імені Тараса
Шевченка, професор кафедри біохімії біологічного
факультету

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, старший науковий
співробітник Гайченко Віталій Андрійович
Науково-методичний інститут міжнародної освіти
та проблем управління, заступник Генерального
директора

кандидат біологічних наук,
Лазарев Микола Михайлович
Інститут сільськогосподарської радіології,
завідувач відділом тваринництва

Провідна установа: Національний аграрний університет Кабінету
Міністрів України

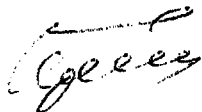
Захист відбудеться “ ____ ” _____ 2002 р. о годині на
засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26001.24 Київського
національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: 03127,
м.Київ, проспект академіка Глушкова, 2, корпус 12, біологічний
факультет, ауд. 215.

Поштова адреса: 01033, Київ-33, вул. Володимирська, 64.
Спецрада Д 26001.24, біологічний факультет.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Київського
національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: 01033,
Київ-33, вул. Володимирська, 58.

Автореферат розісланий “ ____ ” _____ 200__р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради, к.б.н.

 Брайон О.В.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Аварія на ЧАЕС змінила екологічну ситуацію в регіонах України. В числі потерпілих знаходяться і північні райони Житомирської області. Основним забруднювачем вищезазначеного регіону є ^{137}Cs , а рівень забруднення як природних, так і сільськогосподарських угідь характеризується значними коливаннями. Встановлено, що період повного очищення ґрунтів по ^{137}Cs становить від 11 до 300 років (Іванов и др., 1997). Відповідно до механічного складу ґрунтів Українського Полісся процеси очищення в них будуть проходити десятиріччями. Тому в даному регіоні в трофічні ланцюги, кінцевою ланкою яких є людина, ще багато років будуть потрапляти радіонукліди. Одним з важливих елементів трофічних ланцюгів є продуктивні сільськогосподарські тварини, насамперед - жуйні. З біологічної точки зору вони є складною системою, яка функціонує завдяки координації між асоціацією мікробів передшлунків і організмом самої тварини (Пивняк и Тараканов, 1982).

Радіонукліди, які надходять з кормами в організм свійських та диких жуйних, в першу чергу впливають на мікроорганізми рубця. Але метаболізм мікробів складного шлунку при дії на них випромінювання радіонуклідів є мало вивченим питанням (Славов, Шелест та Войціцький, 1994; Славов та Романчук, 1997). Питання особливостей розвитку мікробних культур рубця в умовах дії на них техногенних радіонуклідів не досліджувалось взагалі. Більшість робіт, в яких вивчається вплив іонізуючого випромінювання на мікробіоту природних біогеоценозів, стосується мікрофлори ґрунтових або водних біоценозів (Жданова и др., 1994; Корчак и др., 1994; Илларионов и др., 1997; Романовская и др., 1998). Таким чином, стан вивченості питання можна оцінити як явно недостатній.

Зв'язок роботи з науково-дослідною тематикою. Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт Державної агроекологічної академії і була складовою частиною комплексних досліджень з теми "Розробити і впровадити рекомендації і методики по веденню сільськогосподарського виробництва на радіоактивно забруднених територіях", що входила в державну науково-технічну програму "Сільгоспрадіологія" (1994-1999 р.р., № держреєстрації 01960018644).

Мета і завдання досліджень. В роботі поставлено за мету вивчити особливості розвитку мікрофлори рубця великої рогатої худоби в умовах хронічної дії ^{137}Cs , який надходив з кормами. У

у відповідності з метою роботи були поставлені такі завдання для дослідження:

1. Вивчити особливості вивільнення радіонуклідів в рубці жуйних при коливаннях вмісту ^{137}Cs в раціоні.
2. З'ясувати кількісні закономірності розвитку рубцевих мікроорганізмів в умовах довготривалого надходження кормів, забруднених ^{137}Cs .
3. Встановити взаємозв'язок між питомою активністю ^{137}Cs в рубці та кількісними закономірностями розвитку рубцевих мікроорганізмів.
4. Порівняти характер виділення мікроорганізмами первинних та вторинних метаболітів рубцевої ферментації при різних рівнях питомої активності ^{137}Cs в раціоні.

Об'єкт дослідження - прокаріотні мікроорганізми, що належать до різних морфофізіологічних груп і входять в мікробну асоціацію рубця великої рогатої худоби.

Предмет дослідження - особливості обміну речовин мікробної асоціації в рубці великої рогатої худоби за умов тривалого надходження кормів з підвищеним вмістом ^{137}Cs в шлунково-кишковий тракт.

Методи дослідження. Для вирішення завдань дисертаційної роботи використовувались наступні методи досліджень: радіологічні методи - для визначення питомої активності ^{137}Cs в кормах, рубцевій рідині та екскретах; методи хімічного аналізу - для порівняння складу кормів використаних раціонів; мікробіологічні та біохімічні - для встановлення характеру розвитку мікрофлори рубця великої рогатої худоби.

Наукова новизна одержаних результатів. Визначено термін настання стану рівноваги в рубці великої рогатої худоби при тривалому надходженні в шлунково-кишковий тракт кормів із вмістом ^{137}Cs , що перевищує допустимі норми і зазнає значних коливань. Вперше встановлені закономірності, що характеризують стан популяцій аеротолерантних та анаеробних рубцевих мікроорганізмів як в умовах надходження ^{137}Cs з кормами, так і в період виведення даного радіонукліду з організму тварин. Вперше отримані дані, які характеризують добову динаміку накопичення головних метаболітів рубцевої ферментації (летких жирних кислот, амонійного азоту) в період тривалого надходження ^{137}Cs в передшлунки.

Науково-практична значимість роботи та реалізація результатів досліджень. Результати досліджень розширюють існуючі

уявлення про вивільнення радіонуклідів в складному шлунку жуйних та дозволяють розробити методики для комплексного вивчення проблеми радіоактивного “забруднення” організму продуктивних сільськогосподарських тварин. Викладені в роботі положення про дестабілізацію мікробної асоціації рубця великої рогатої худоби, що вирощується в умовах довготривалого надходження ^{137}Cs з кормами, поповнюють новими даними відомості про особливості адаптації організму сільськогосподарських тварин у радіаційно забруднених біогеоценозах і можуть бути включені до навчальних програм вузів системи Міністерства аграрної політики та Міністерства освіти і науки України.

Особистий внесок здобувача. Дисертант особисто проаналізувала літературу за темою роботи, виконала весь обсяг експериментальних робіт, пов’язаних із дослідженнями рідини рубця та екскретів, проаналізувала та провела статистичну обробку результатів. За участю наукового керівника та співавторів проведено інтерпретацію окремих результатів роботи.

Апробація результатів дисертації. Основні матеріали дисертаційної роботи були висвітлені на: Всеукраїнській конференції з фізіології та біохімії тварин (Львів, 1994); 1-й міжнародній конференції “Корми і кормовий білок” (Вінниця, 1994); 3-й науково-практичній конференції “Екологія.Людина.Суспільство” (Киш, 2000); конференції “Медико-біологічні наслідки Чорнобильської катастрофи через 15 років” (Житомир, 2001); міжнародній конференції “Биологические эффекты малых доз радиации и радиоактивное загрязнение среды” (Сиктивкар, 2001).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 3 статті у фахових журналах та 5 тез доповідей.

Структура і об’єм дисертації. Дисертація складається із вступу, огляду наукової літератури, опису матеріалів і методів досліджень, власних досліджень з обговоренням, заключення, висновків, списку цитованої літератури, що включає 239 посилань, додатків. Робота викладена на 155 сторінках, містить 23 таблиці та 28 рисунків.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Матеріалом для досліджень служили проби кормів, сечі та вмісту рубця фістульованих волів чорно-рябої породи. Тварини були аналогами за віком, живою масою, фізіологічним та клінічним станом.

В експерименті двічі на добу, рівними порціями, тваринам згодовували раціон, який складався з сіна (7,7 кг/добу), силосу (2,5 кг/добу), концентратів (2,0 кг/добу) та м'яси (0,6 кг/добу). Нестачу мікроелементів в раціоні доповнювали за рахунок розчинів сірчаноокислої міді (100 мг/добу), сірчаноокислого цинку (450 мг/добу) та йодистого калію (5 мг/добу).

Експеримент тривав 175 днів і складався з трьох періодів. Використання в експерименті тварин однієї породи, віку, які народились і утримувались в умовах одного господарства, дозволило мати декілька варіантів аналогічних мікробних угруповань в рубці. Тому роботу проводили по одній з прийнятих в тваринництві схем, яка дозволяє в трьох періодах експерименту використовувати одну і ту ж групу тварин.

Компоненти раціону для першого періоду експерименту (дослід №1) заготовляли в регіоні, де рівень забруднення ґрунту був нижчим 37 кБк/м². Надалі тварин переводили на "забруднений" раціон із значними коливаннями щодобової активності ¹³⁷Cs (дослід №2). "Забруднений" раціон отримували, змінюючи вміст радіонуклідів тільки в одному компоненті - сіні, заготовленому в зоні, із забрудненням ґрунту ¹³⁷Cs в межах 600-900 кБк/м². Потім, для "очищення" організму від радіонуклідів тварини знову споживали "чисті" корми (дослід №3).

Для дослідження зразків кормів, сечі, вмісту рубця використовували радіологічні, хімічні, мікробіологічні та біохімічні методи. Так, питома активність ³⁷Cs в зразках (корми, сеча, вміст рубця) визначалась за допомогою гамма-спектрометра типу АМА-ОЗФ із сцинтиляційним детектором. Хімічний склад кормів визначався за загальноприйнятими методиками (Петухова и др., 1981). Мікробіологічні та біохімічні методи використовували для вивчення щільності популяцій аеротолерантних мікробів, що розщеплювали целюлозу, крохмаль, білки та жири раціону, а також - динаміки розвитку анаеробних аміло- і протеолітичних мікробів методом *in vitro* (Семенов, 1990; Кох, 1983; Рассулин и др., 1973). Фізіологічні показники вмісту рубця, такі як рН, загальна кількість летких жирних кислот та амонійного азоту визначали за загальноприйнятими методиками (Кондрахин и др., 1985).

Для обробки результатів досліджень використовували пакети прикладних програм Microsoft EXCEL та STATISTICA із застосуванням методів дисперсійного, кореляційного та регресійного аналізів (Лакин, 1980; Тюрин и Макаров, 1998; Боровиков, 1998).

Перевірка достовірної різниці між показниками, що порівнювались, здійснювалась за допомогою критерію Фішера.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Особливості надходження ^{137}Cs з кормами в організм великої рогатої худоби, його вивільнення в рубці та виведення з екскретами. Питома активність “забрудненого” сіна забезпечувалась ^{137}Cs і впродовж другого періоду експерименту змінювалась в 8,5 разів, від 1114 до 11598 Бк/кг. При згодовуванні “чистих” раціонів (досліди №1 та №3) в організм тварин щодобово надходило з кормами $0,6 \pm 0,06$ кБк ^{137}Cs , а при вживанні “забрудненого” в досліді №2 - $50,3 \pm 4,2$ кБк. Аналіз хімічного складу використаних кормів виявив, що всі варіанти раціонів забезпечували нормальне протікання процесів рубцевого травлення.

В даному експерименті середнє значення питомої активності ^{137}Cs в сїні в перші два тижня досліді №2 коливалося в інтервалі (6467 ± 1427) Бк/кг, а впродовж наступних п'яти - (5001 ± 856) Бк/кг. Радіонукліди, вивільнені мікроорганізмами з рослинних структур, спочатку надходили у рідину рубця. Тому питання про термін встановлення стану рівноваги в рубці в досліді №2 вирішувалося шляхом відборів рубцевої рідини.

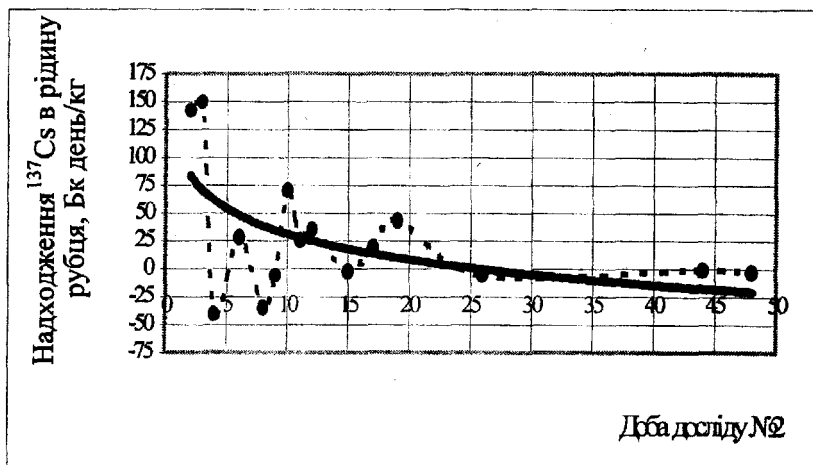


Рис.І. Темп вивільнення ^{137}Cs в рубцеву рідину в досліді №2.

В цей період експерименту середні значення питомої активності ^{37}Cs в рідкій фазі вмісту рубця коливались від 14 до 606 Бк/кг (за годину до годівлі) та від 89 до 747 Бк/кг (через годину після годівлі). На основі отриманих значень було враховано темп надходження радіонукліду в рідину рубця:

$$A = \frac{(A_{n+1} - A_n)}{\dots}$$

$$A = \frac{(A_{n+1} - A_n)}{\dots}$$

де A_{n+1} - питома активність ^{37}Cs в рідині рубця при попередньому відборі зразка, Бк/кг; A_n - питома активність ^{37}Cs в рідині рубця при наступному відборі зразка, Бк/кг; $(T_{n+1} - T_n)$ -

кількість діб між двома відборами зразків.

Теоретичну криву, представлену на рис.1, було побудовано для зразків, зібраних в стаціонарній фазі розвитку мікроорганізмів (за годину до ранкової годівлі). Хід кривої свідчить, що зменшення амплітуди коливань спостерігається на 5-7-у добу від початку накопичення радіонуклідів, а зміни питомої активності рубцевої рідини на рівні 5% - тільки на 25-ту добу. Тому можна стверджувати, що при значних коливаннях добової активності ^{137}Cs в раціоні рівноважний стан в першому відділі складного шлунку спостерігається не раніше, ніж через місяць після початку згодовування кормів з підвищеним вмістом радіонуклідів.

На "забрудненому" раціоні значення питомої активності ^{137}Cs в рідині рубця за годину до годівлі найчастіше знаходилось в інтервалі 200-400 Бк/кг, а через годину після годівлі - 400-600 Бк/кг. Різниця між двома масивами даних — достовірна, тому можна стверджувати: приріст питомої активності рідкої фази вмісту рубця після годівлі відбувався за рахунок ^{137}Cs , який знаходиться в складі сінного пилу і першим змивався з поверхні кормових рослин.

3 етапом первинного вивільнення радіоцезію пов'язане його виведення з екскретами, і питома активність останніх може бути маркером, який визначає ступінь насичення радіонуклідами тваринних тканин (Корнеєв и Сироткин, 1987; Пристер и др., 1991). Для виявлення часових характеристик метаболізму ^{37}Cs під час вживання "забруднених" кормів у дослідних тварин використовувався такий показник як питома активність сечі.

Встановлено, що збільшення концентрації радіонукліду в сечі відбувалось з 1-ї по 10-ту та від 21-ї по 33-тю добу використання "забруднених" кормів, але різке підвищення - тільки протягом перших

10-ти діб (рис.2). Перевірка достовірної різниці показала, що два масиви даних відрізняються ($P_{0,3_{\text{max}}(1;31;0,5)}=7,5 > P_{\text{кр}}=4,2$).

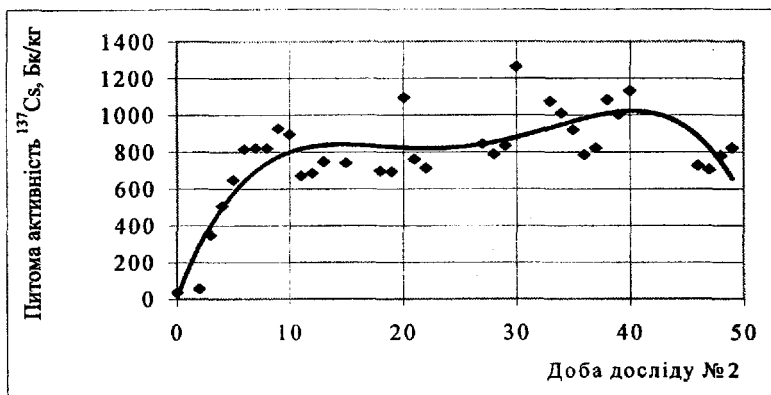


Рис.2. Середньодобова питома активність ^{37}Cs в сечі тварин в досліді №2.

Це дозволило зробити висновок про те, що основні процеси накопичення ^{137}Cs в організмі тварин при значних коливаннях активності раціону зайняли 14-15 діб. Залежність питомої активності сечі від часу в період різкого підвищення описується таким рівнянням:

$$y_1 = 244 x_1^{0,45}$$

де y_1 - питома активність сечі в період накопичення радіонуклідів, Бк/кг; x_1 - доба досліді №2, $0 < x_1 < 14$.

Рівнянням такого ж виду описується активність сечі і в перші два тижні періоду виведення радіонуклідів:

$$y_2 = 845 x_2^{-0,55},$$

де y_2 - питома активність сечі в період виведення радіонуклідів, Бк/кг; x_2 - доба досліді №3, $0 < x_2 < 14$.

Різниця величини та знаку коефіцієнту при x_1 та x_2 в наведених рівняннях (0,45 та -0,55 відповідно) свідчить про різну швидкість процесів. Розрахунки показують, що виведення ^{137}Cs відбувається приблизно в 5 разів повільніше, ніж його накопичення.

Розвиток мікроорганізмів різних морфологічних груп при тривалому надходженні $^{137}\text{Св}$ з кормами. Для мікробних культур рубця радіоактивність раціону виступала як змінний абіотичний фактор. До початку дослідів було ясно, що рівень навантаження по $^{137}\text{Сз}$, створений в експерименті штучно, не може призвести до значного зниження щільності мікробних популяцій. Питання було поставлено так: чи може тривале надходження радіонуклідів змінити баланс між розмноженням та загибеллю у мікробів рубця?

Жуйна тварина забезпечується необхідними речовинами внаслідок метаболізму змішаної мікробної культури, представники якої можуть бути віднесені до певних фізіологічних груп. Зміни в обміні речовин тварини виникають тільки при значних коливаннях в кількостях мікробних метаболітів. Тому в роботі вивчались змішані культури, здатні до розщеплення основних речовин раціону (пептидів, крохмалю, жирів, целюлодекстринів).

В першу чергу із вмісту рубця виділялись аеротолерантні бактерії та актиноміцети в стаціонарній фазі розвитку мікробної асоціації (за годину до ранкової годівлі) та в стані пристосування до змінених умов середовища (через годину після годівлі).

Облік і аналіз результатів висівів мікроорганізмів дають можливість стверджувати: при згодовуванні “забрудненого” раціону у стаціонарній фазі розвитку (до годівлі) відбуваються більш значні зміни в щільності мікробних популяцій, ніж після годівлі. Але такі зміни зареєстровано тільки для представників малочисельної групи - актиноміцетів рубця. Під час згодовування “забруднених” кормів щільність їх популяцій вірогідно зросла в 3-5 разів. Вона не повернулася до попереднього рівня (дослід №1) за умов зниження питомої активності рідини рубця до фонових значень, яке відбулось при переведенні тварин на “чисті” корми в досліді №3.

Розвиток безперервної мікробної культури в рубці в певні моменти можна описати рівнянням, з якого виводиться значення коефіцієнту розмноження γ (Лаврик, 1998).

$$N(t) = N_0 e^{r(t-t_0)}$$

$$N(t) = N_0 e^{r(t-t_0)}$$

$$r = (\ln N_2 - \ln N_1) / (t_2 - t_1)$$

Лей параметр було обчислено для всіх груп мікроорганізмів в кожному з дослідів. Виявилось, що характер змін коефіцієнту розмноження γ в досліді №1 відрізняється від такого в періоди інтенсивного надходження радіонуклідів та виведення їх (рис. 3 та 4). На рисунках літерами АБ і АА; ПБ і ПА; ЛБ і ЛА та ЦБ і ЦА позначені

відповідно аеротолерантні амілолітичні, протеолітичні, ліполітичні та целюлолітичні бактерії і актиноміцети.

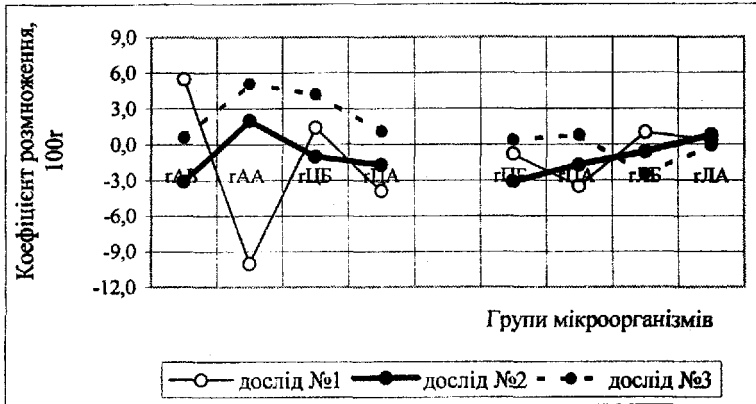


Рис.3. Динаміка середніх значень коефіцієнту розмноження в експерименті (до годівлі).

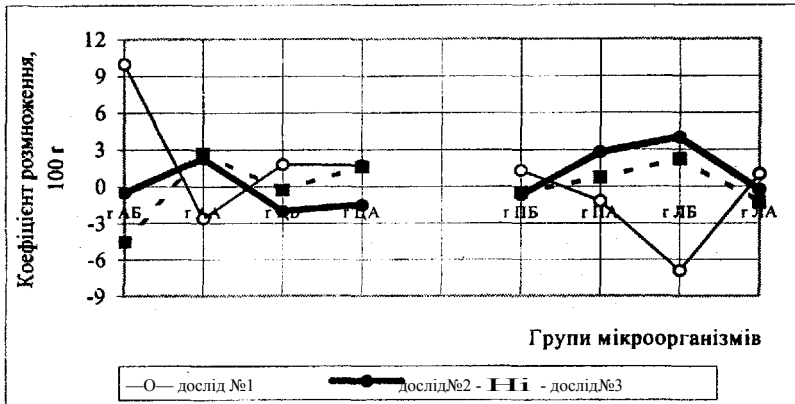


Рис.4. Динаміка середніх значень коефіцієнту розмноження в експерименті (після годівлі).

Визначені зміни коефіцієнту розмноження в динаміці дозволили виявити факт, який був спільним для більшості досліджуваних морфологічних груп мікробів і до, і після годівлі: надходження в рубець забруднених ¹³С₆ кормів синхронізувало

змішані культури, до яких належали представники різних фізіологічних груп рубцевих мікробів.

В зразках вмісту рубця, відібраних за годину до годівлі, впродовж всього досліду №2 синхронно розвивались аміло-, протео- та ліполітичні актиноміцети, а також - протео- та ліполітичні бактерії. Розмноження целюлолітичних бактерій відбувалось синхронно із протео- та амілолітичними бактеріями тільки протягом 35 діб від початку згодовування кормів із підвищеним вмістом $^{137}\text{Св}$. В зразках, відібраних із рубця тварин через годину після годівлі, синхронний розвиток представників трьох груп бактерій (протео-, аміло- та ліполітичних) спостерігався під час всього досліду №2, а трьох груп актиноміцетів (протео-, целюло- та ліполітичних) - тільки впродовж 30 діб від початку другого періоду експерименту. Більшість змішаних мікробних культур, які існують в природних умовах, є асинхронними (Печуркин, 1978; Угодчиков и Иванов, 1984). Синхронні культури, що виникають під тиском різноманітних факторів, відрізняються від асинхронних низькою стійкістю при змінах умов оточуючого середовища.

Вивчення протягом експерименту динаміки щільності популяцій мікроорганізмів, що відносились до різних морфологічних груп, дозволило встановити ще один факт.

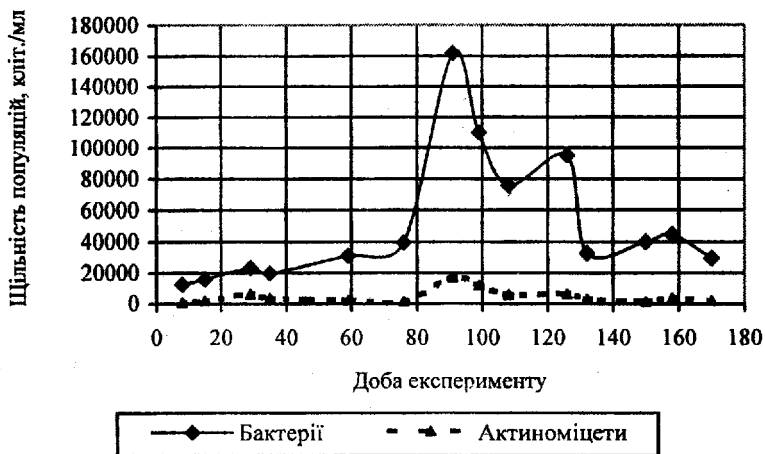


Рис. 5. Динаміка розвитку аеротолерантних целюлолітичних мікроорганізмів в зразках, відібраних до годівлі.

В зразках вмісту рубця, відібраних за одну годину до ранкової годівлі коливання щільності в популяціях бактерій і актиноміцетів, здатних розкладати целюлодекстрини корму, співпадали із коливаннями питомої активності ^{137}Cz в рідині рубця (рис.5).

Було виведено рівняння, яке характеризує залежність питомої активності рубцевої рідини від сумарної кількості целюлолітичних мікроорганізмів двох вищезазначених груп:

$$y = 19,98 + 0,0022 x,$$

де y - питома активність ^{37}Cz в рідині рубця, Бк/кг; x - сумарні: кількість аеротолерантних целюлолітичних бактерій та актиноміцетів у вмісті рубця, клітин/см³.

Встановлення структури зв'язків між аеротолерантними мікробами, виявило, що між ними (незалежно від часу відбору зразків в досліді №1) не існувало стійкого організованого комплексу" (рис.6).

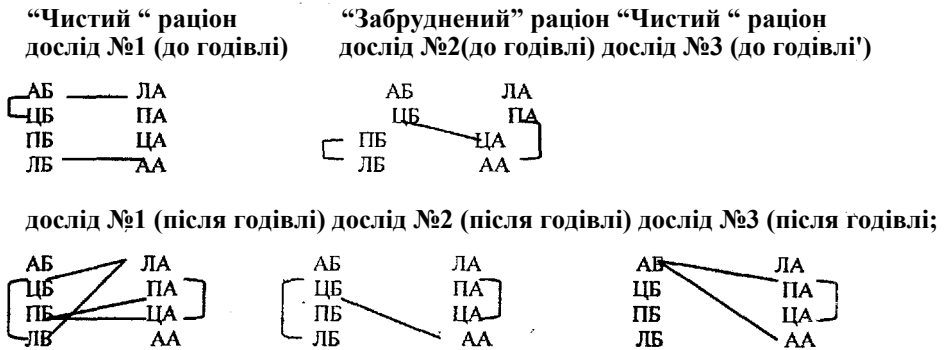


Рис. 6. Структура зв'язків у аеротолерантних мікроорганізмів, де позначення такі ж, як на рис. 3 та 4.

Як надходження радіонуклідів з раціоном, так і припинення викликало в мікробній асоціації адаптаційні процеси, інтенсивність яких була більшою в період повторного переведу тварин на “чисті корми. Так, в досліді №3 угруповання мікробів зазнавало більш значної перебудови зв'язків (навіть до їх повної втрати), ніж в період різкого збільшення кількості питомої активності ^{137}Cz в кормах.

Особливості перебігу. метаболічних процесів у мікроорганізмів рубця на “чистих” та “забруднених” $^{137}\text{C}8$ раціонах. Розщеплення речовин корму мікрофлорою рубця - це сукупність складних процесів. Одними з головних метаболітів рубцевої ферментації є такі кінцеві продукти бродіння як леткі жирні кислоти (ЛЖК) та розщеплення азотовмісних компонентів раціону (аміак). Зміни кількості цих речовин у вмісті рубця характеризують розвиток мікробної асоціації в цілому.

Аналіз даних, одержаних при вивченні фізіологічних показників, дозволив стверджувати, що в період згодовування “забруднених” кормів характер травних процесів принципово не змінився. Впродовж всього експерименту показники через годину після годівлі весь час достовірно відрізнялись від таких до годівлі.

Але під час згодовування кормів “забрудненого” раціону (дослід №2) відбулось достовірне збільшення кислотності вмісту рубця до $(P_{\text{розр.}}(1;8; 0.5)=13,8 > P_{\text{кр}}=5,3)$ і після годівлі $(P_{\text{дор(1;7; 0,5)}}=6,8 > P_{\text{ф.}}=5,6)$, яке залишилось на тому ж рівні і під час 40 діб спостереження при виведенні $^{137}\text{C}3$. В цей період (дослід №3) також достовірно збільшилась і кількість амонійного азоту, що накопичувався у рідині рубця $(P_{\text{розр.}}(0;13; 0,5)=7,5 > P_{\text{кр}}=4,7)$.

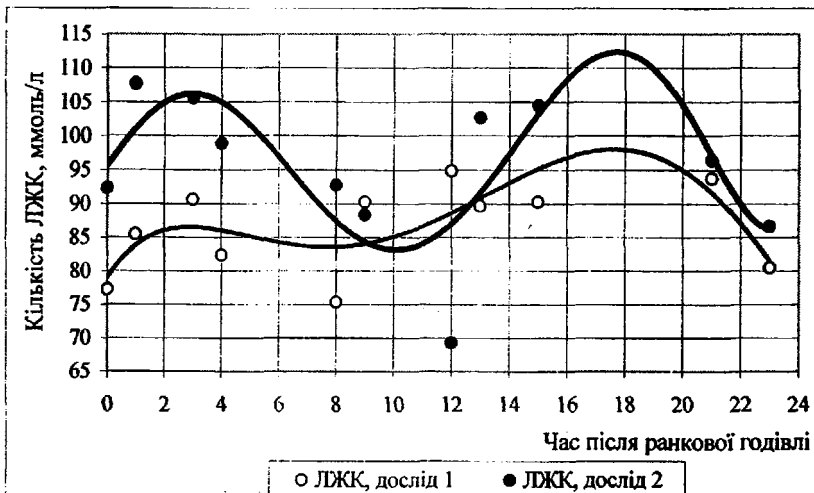


Рис.7. Добова динаміка накопичення летких жирних кислот у рубці.

Зміну фізіологічних показників, характерних для вмісту рубця, можна було б пояснити змінами добових ритмів виділення мікроорганізмами кислих та лужних метаболітів під час надходження $^{37}\text{Сз}$. Для виявлення особливостей протікання метаболічних процесів при згодовуванні “чистих” (дослід №1) та “забруднених” кормів (дослід №2) протягом доби у тварин відбирали проби вмісту рубця. Результати вимірювання в пробах концентрації летких жирних кислот та амонійного азоту представлені на рис.7 та 8. Виявилось, що основні закономірності травних процесів протягом доби і на ”чистому”, і на “забрудненому” раціонах практично однакові.

Так, максимуми виділення ЛЖК реєструвалися через 3 години після ранкової годівлі та через 3-4 години після вечірньої. Кількість кислот, які виділялись у вміст рубця, у нічні часи завжди була більше, ніж у денні.

Але середньодобове значення вмісту ЛЖК на “забрудненому” раціоні достовірно вище, ніж на “чистому” ($P_{\text{родр}}(i; 20; 0,5) = 4,9 > P^{\wedge} = 4,4$). На “забрудненому” раціоні термін настання мінімуму ЛЖК в рубці: спостерігався не через 8 годин після висіву інкуляту, а через 12.

Збільшення кількості ЛЖК протягом доби і могло стати причиною достовірного зменшення середніх значень рН вмісту рубця при вживанні тваринами забруднених $^{37}\text{Сз}$ кормів.

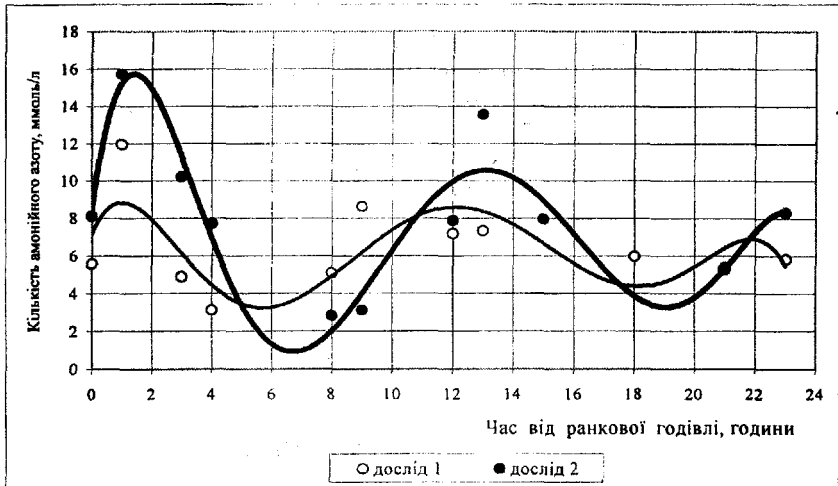


Рис.8. Добова динаміка накопичення амонійного азоту в рубці.

На відміну від характеру змін кількості ЛЖК у вмісті рубця, середньодобова кількість амонійного азоту у рубці в дослідах №1 та №2 достовірно не відрізнялась. Але в ході кривих на рис. 8, які характеризують добову динаміку накопичення аміаку у рідині рубця при згодовуванні “забруднених” кормів, спостерігались зміни аналогічні змінам, виявленим при аналізі рис.7. Ними були: збільшення значень максимуму для амонійного азоту, зсув точок екстремумів для процесів, які відбуваються в вечірні та нічні години.

Імовірно, що причина таких змін була в тому, що сукупна швидкість процесів виділення кислот та аміаку мікробною асоціацією в ході дослідів №1 та №2 відрізнялась. Визначені зміни могли мати відношення до змін активності ферментів у мікроорганізмів. Іонізуюча радіація у багатьох видів мікроорганізмів активує протеолітичні ферменти та ферменти, які відповідають за здійснення різних типів бродильних процесів (Славов и др., 1994).

Для перевірки активності складних ферментних комплексів в умовах даного експерименту було проведено вирощування змішаних культур аміло- та протеолітичних мікробів на рідких штучних середовищах (шляхом періодичного культивування). Інокуляти, використані для висіву в рідкі середовища, були отримані із центрифужованих зразків вмісту рубця, які відбирали при згодовуванні “чистих” кормів в досліді №1 та “забруднених” - під час досліді №2.

Хід кривих, отриманих при культивуванні *in vitro*, співпадав із видом стандартної кривої росту при періодичному розвитку мікробних культур. Аналіз даних дозволив виявити, що після тривалого контакту із “забрудненими” кормами змішана культура протеолітичних мікробів на штучних середовищах здатна накопичувати в середньому в 3,3 рази більше біомаси, ніж подібна асоціація на контролі ($F_{0,05}^{(1; 19; 0,5)} = 97,4 > F_{кр} = 4,4$).

Свідченням інтенсифікації обмінних процесів в угрупованні протеолітичних мікробів були як достовірне підвищення середньодобового рівня активності ферментів протеолітичного комплексу ($F_{0,05}^{(1; 21; 0,5)} = 55,9 > F_{кр} = 4,3$), так і принципові відмінності з характері їх виділення на “чистих” та “забруднених кормах (рис.9).

У амілолітичних мікробів, відібраних під час вживання мікробною асоціацією рубця “забруднених” кормів, накопичення біомаси та характер виділення кислот змішаною культурою суттєво не змінились, але під час досліді №2 також відбулось достовірне - в середньому в 1,9 рази - збільшення активності ферментів амілолітичного комплексу ($F_{0,05}^{(1; 19; 0,5)} = 10,1 < F_{кр} = 4,3$). В коохмальному бульйоні, на якому вирощували амілолітичних мікробів,

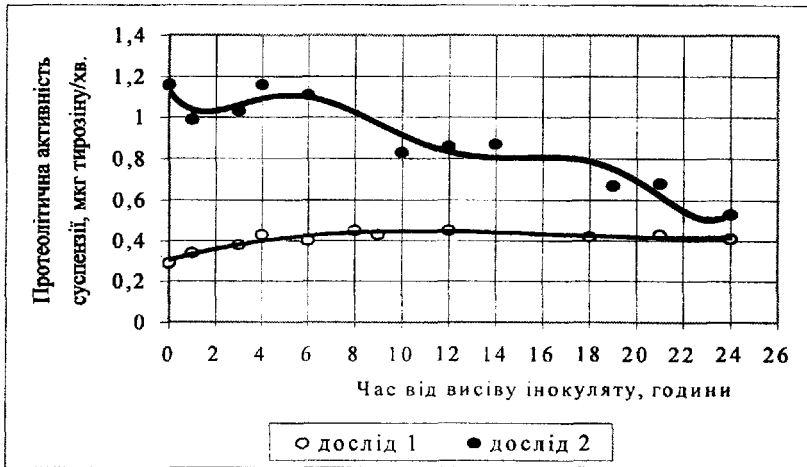


Рис.9. Активність ферментів протеолітичного комплексу в культуральній рідині.

присутні два джерела вуглецю: крохмаль і (в значно меншій кількості) невеликі за розмірами пептиди або амінокислоти. Тому в змішаній культурі амілолітичних мікроорганізмів обов'язково зустрінуться види, які здатні гідролізувати різні види вуглецевих сполук. Дійсно, змішана культура, висіяна в крохмальний бульйон, мала певний рівень протеолітичної активності, який достовірно збільшився в досліді №2 ($F_{\text{розр.}}(i; z_i; 0,5) = 12,49 > F_{\text{кр.}} = 4,3$). Протеолітична активність культуральної рідини в контролі (дослід №1) була нижча за амілолітичну тільки на 17%, а в досліді №2 - на 28%. Це означає, що переважна більшість мікроорганізмів, висіяних в крохмальний бульйон, здатна утилізувати білки як на штучних поживних середовищах, так і у вмісті рубця.

Наведені результати експериментів дозволяють стверджувати, що надходження рідюну з високою радіоактивністю активує окремі ланки мікробного метаболізму в передшлунках.. Але в такій складній біологічній системі як мікробна асоціація рубця жуйних, реалізуються компенсаторні механізми, завдяки яким різких змін в ході травних процесів, здатних зашкодити тварині-хазяїну, не спостерігається.

ВИСНОВКИ

1. При тривалому надходженні в шлунково-кишковий тракт великої рогатої худоби кормів із щодобовою активністю $50 \pm 4,2$ кБк ^{137}Cs , вивільнення мікроорганізмами радіонукліду в рідку фазу вмісту рубця стабілізується не раніше 25-30-ї доби від початку згодовування кормів із підвищеним вмістом ^{137}Cs .

2. Під час тривалого надходження до складного шлунку великої рогатої худоби кормів з підвищеним вмістом ^{137}Cs в мікробній асоціації рубця тварин існують види, щільність популяцій яких достовірно зростає (актиноміцети) та види, щільність популяцій у яких змінюється одночасно із коливання рівня ^{137}Cs в рідині рубця (аеротолерантні бактерії і актиноміцети, які розщеплюють целюлодекстрини раціону).

3. Надходження радіонуклідів в рубець викликає синхронізацію розмноження у аеротолерантних мікроорганізмів різних морфологічних груп. В умовах виведення радіонуклідів в популяціях аеротолерантних мікроорганізмів спостерігаються адаптаційні процеси більшої інтенсивності, ніж ті, які реєструвались при різкому збільшенні добової радіоактивності раціону.

4. В період надходження в шлунково-кишковий тракт кормів із підвищеним вмістом ^{137}Cs , щодобова кількість органічних кислот в середньому збільшилась на 9%, а рН вмісту рубця — на 6%. На тому ж рівні кислотність вмісту рубця зберігалась і впродовж 40 діб спостереження в період виведення радіонуклідів.

5. Тривале надходження ^{137}Cs в рубець і 50-ти добова дія радіонуклідів на представників мікробної асоціації принципово не змінили ні добових ритмів виділення летких жирних кислот та аміаку, ні загального характеру травних процесів, що проходили у передшлунку.

6. Вживання тваринами кормів із підвищеним вмістом ^{137}Cs викликало зміни в популяціях аміло- та протеолітичних мікроорганізмів рубця. У представників зазначених фізіологічних груп при культивуванні на рідких живильних середовищах *in vitro* вірогідно збільшилась активність багатокomпонентних комплексів протео- та амілолітичних ферментів.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ :

1. Солодка Л.О., Шелест З.М., Войціцький В.М., Славов В.П. Особливості вивільнення ^{137}Cs в рубці великої рогатої худоби. //

- Вісн. Київського національного університету, сер."Біологія".— 2000-Вип. 32.-С.44-46.
2. Солодка Л.О., Войціцький В.М. Характер зв'язків між окремими представниками мікрофлори рубця при хронічному надходженні ¹³⁷Сь з кормами // Український радіологічний журнал.-2001.- Т.9.- Вип.3. - С.321-325.
 3. Солодка Л.О. "Реакція мікробних культур рубця великої рогатої худоби на надходження ¹³⁷Сь з кормами" // Вісник ДААУ- Спецвипуск, жовтень 2000 року. - С. 192-193.
 4. Славов В.П., Солодка Л.О., Бортник В.М. Темпи розвитку факультативно-анаеробних мікроорганізмів рубця великої рогатої худоби на раціоні забрудненому радіоцезієм // Тези доп. 1-ої Всеукр. (міжн.) конф. «Корми і кормовий білок». - Вінниця: Ін-т кормів УААН, 1994. -С. 350-351.
 5. Славов В.П., Солодка Л.О., Бортник В.М. Розвиток целюлозолітичної мікрофлори рубця великої рогатої худоби та вивільнення цезію-137 в рубцеву рідину // Тези доп. Всеукр. конф. з фізіол. та біохім. тварин - Львів: Ін-т фізіології та біохімії тварин УААН, 1994. -С. 131-132.
 6. Шелест З.М., Солодка Л.О., Коваль Л.А. Використання жуйних тварин у радіаційному моніторингу // Тези доп. 2 Всеукраїнської конференції «Екологія. Людина. Суспільство». - Київ: НТУУ «КПІ», 2000.-С. 164.
 7. Солодка Л.А., Шелест З.М. Показатели развития микроорганизмов рубца жвачных при долговременном поступлении ¹³⁷Сь с кормами // Тез. докл. международной конф "Биологические эффекты малых доз радиации и радиоактивное загрязнение среды".- Сыктывкар, 2001.- Т.2. -С.96-97.
 8. Солодка Л.О. Фізіологічні параметри шлунково-кишкового тракту великої рогатої худоби на раціонах, «забруднених» радіонуклідами // Тези доп конференції «Медико-біологічні наслідки чорнобильської катастрофи через 15 років». - Житомир, 2001.-С. 66-67.

АНОТАЦІЯ

Солодка Л.О. Мікрофлора рубця великої рогатої худоби при надходженні ¹³⁷Сь з кормами - Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.01 - радіобіологія. - Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, 2002.

Дисертація присвячена виявленню змін в розвитку мікроорганізмів рубця у волів чорно-рябїї породи в період згодовування тваринам кормів з підвищеним вмістом $^{137}\text{Св}$ та під час виведення радіонуклідів (середні значення добової радіоактивності раціону - $50,3\pm 4,2$ кБк та $0,6\pm 0,06$ кБк відповідно).

Встановлено, що згодовування великій рогатій худобі кормів із збільшеним вмістом радіонуклідів $^{137}\text{Сз}$ викликає підвищення кислотності вмісту рубця внаслідок збільшення щодобової кількості легких жирних кислот, що накопичуються в ньому. Вперше доведено, що в мікробній асоціації рубця великої рогатої худоби існують види, щільність популяцій яких достовірно зростає під час тривалого надходження $^{137}\text{Ся}$ в складний шлунок жуйних та види, щільність популяцій яких змінюється одночасно із коливаннями рівня $^{137}\text{Св}$ в рідині рубця. При вивченні особливостей розвитку окремих фізіологічних груп мікроорганізмів за умов тривалого надходження $^{137}\text{Сз}$ з кормами встановлено, що в популяціях аміло- та протеолітичних мікроорганізмів рубця збільшується активність багатоконпонентних ферментних комплексів, а у аеротолерантних мікробів різних морфофізіологічних груп — спостерігається синхронізація розмноження.

Ключові слова: мікрофлора рубця, велика рогата худоба, раціон, питома активність, вміст рубця, щільність популяцій аеротолерантних мікроорганізмів, леткі жирні кислоти, аміак.

АННОТАЦИЯ

Солодкая Л.А. Микрофлора рубца крупного рогатого скота при поступлении $^{137}\text{Сз}$ с кормами - Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.01 - радиобиология. - Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев, 2002.

Диссертация посвящена выявлению изменений в развитии микроорганизмов рубца у волов черно-пестрой породы в периоды скармливания животным кормов с превышением содержания $^{137}\text{Сс}$ и гои выведении радионуклидов (средние значения суточной радиоактивности рациона - $50,3\pm 4,2$ кБк та $0,6\pm 0,06$ кБк соответственно).

Установлено, что при значительных колебаниях суточной радиоактивности рациона равновесное состояние в рубце наблюдается че раньше, чем через месяц после начала скармливания кормов с повышенным содержанием $^{137}\text{Ся}$. Значения удельной активности $^{137}\text{Сз}$

в рубцовой жидкости, отобранной в ходе опыта №2 за час до кормления и через час после него, достоверно различаются. Поэтому можно утверждать, что прирост удельной активности рубцовой жидкости после кормления происходит за счет ^{137}Cs в сеной пыли, которая при попадании кормов в рубец смывается с поверхности растений.

Впервые показано, что в микробной ассоциации рубца крупного рогатого скота есть виды, у которых плотность популяций достоверно увеличивается при длительном поступлении ^{137}Cs в сложный желудок жвачных (актиномицеты) и виды, у которых плотность популяций изменяется одновременно с колебаниями уровня ^{137}Cs в рубцовой жидкости (аэротолерантные бактерии и актиномицеты, расщепляющие целлюлодекстрины рациона). В период поступления ^{137}Cs в желудочно-кишечный тракт животных наблюдается синхронизация размножения аэротолерантных микроорганизмов в образцах содержимого рубца, отобранных в разное время (за час до, и через час после утреннего кормления). Данный факт характерен для бактерий и актиномицетов, которые для своего развития используют органические источники азота и углерода (белки и жиры) рациона.

Установление структуры связей между аэротолерантными микробами выявило, что представители данных видов не образуют организованного комплекса. Однако, в период выведения радионуклидов в популяциях вышеуказанных микроорганизмов наблюдаются адаптационные процессы большей интенсивности, чем в период значительного увеличения радиоактивности рациона.

В период поступления в рубец кормов с повышенным против нормы содержанием ^{137}Cs было зарегистрировано повышение кислотности содержимого рубца и увеличение среднесуточного количества летучих жирных кислот, которые накапливаются в нем. В течение полутора месяцев наблюдения в период выведения радионуклида среднее значение кислотности содержимого рубца осталось на уровне, характерном для периода интенсивного поступления ^{137}Cs .

При изучении особенностей развития отдельных физиологических групп микроорганизмов в жидких питательных средах при периодическом культивировании *in vitro* установлено, что в условиях длительного поступления ^{137}Cs с кормами в популяциях амило- и протеолитических микроорганизмов рубца увеличивается активность многокомпонентных ферментных комплексов.

Ключевые слова: микрофлора рубца, крупный рогатый скот, рацион, удельная активность, содержимое рубца, плотность популяций аэротолерантных микроорганизмов, летучие жирные кислоты, аммиак.

SUMMARY

Solodkaya L.A. Microflora of large homed cattle rumen at long-term receipt ^{137}Cs with forages. - Manuscript.

The thesis for Ph.D.degree (Biology) on a speciality 03.00.01. - radiobiology. - National Taras Shevchenko University of Kyiv, Kyiv, 2001.

The dissertation is devoted to revealing of changes in development of rumens microorganism at bulls of black-motley breed in the periods feeding by an animal of forages with excess of the contents ^{137}Cs and at removing of radionuclides (average meanings of a daily radio-activity of a diet - $(50,3 \pm 4,2)$ kBq that $(0,60, \pm 06)$ kBq accordingly).

Is established, that feeding to large homed cattle of forages with the increased contents of radionuclides ^{137}Cs causes increase pH of rumen contents owing to increase of daily average quantity of flying greasy acids, which collect in it. For the first time is proved, that in association of rumens microorganism of large horned cattle there are kinds, density of populations at which is authentically increased at long receipt ^{137}Cs in a complex stomach and kinds, density of populations at which changes simultaneously with fluctuations of a level ^{137}Cs in rumen liquid. At study of features of development of separate physiological groups of microorganisms in conditions of long receipt ^{137}Cs with forages is established, that in populations of amilolitic and proteolitic rumens microorganism the activity multicomponent complexes of enzymes is increased, and at aerotolerant microorganisms various morphophysiological groups - the synchronization of duplication is observed.

Key words: microflora of rumen, large horned cattle, diet, specific activity, contents of rumen, density of populations of aerotolerant microorganisms, volatile fatty acids, ammonia.