

СПОСОБИ СПРИЯННЯ ФОРМУВАННЮ МІКРОФЛОРИ РУБЦЯ У МОЛОДНЯКУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

*О. І. Шкромада, д-р вет. наук,
Л. Г. Улько, д-р вет. наук,
Я. С. Удовенко, ст. викладач*

Сумський національний аграрний університет
вул. Г. Кондратьєва, 160, м. Суми, 40021, Україна
shkromada@gmail.com

Рубець у великої рогатої худоби – важливий орган травлення, в якому відбуваються процеси ферментації. Покращення розвитку рубця у ранньому віці є одним з важливих завдань. Потреба жуйних тварин у замісних та незамінних амінокислотах настільки ж велика, як і у моногастричних тварин. Мікроорганізми рубця жуйних тварин не можуть синтезувати мікробний білок у достатній кількості, щоб покрити потребу організму молодняка тварин.

Досліди проводили у господарстві «За Мир» Сумського району Сумської області на телятах, віком від чотирьох до п'яти місяців. Телята були поділені на три дослідні групи по 10 голів у кожній. Першій дослідній групі згодовували з кормом порошковий не захищений метіонін в дозі 10 г/гол, у другій – 10 г/гол гранульований метіонін протягом місяця. Дослідженнями встановлено, що на 30-ту добу експерименту у першій дослідній групі, кількість бактерій збільшилась на 84,3%; інфузорій – на 29,4%; ентодіноморфів – на 26,6%. У другій дослідній групі через місяць проведення досліджень показники також змінились. Кількість бактерій була більшою на 93,2%; інфузорій – на 42,5%; ентодіноморфів – на 25,9%, порівняно до контролю.

За результатами проведеного експерименту можна припустити, що звичайний метіонін так само, як і захищений гранульований, мали позитивний вплив на якісний та кількісний склад мікрофлори рубця. Згодовування телятам першої дослідної групи метіоніну через 30 днів викликало вірогідне зростання проти контролю вмісту загального азоту на 12,2%; білкового – на 19,6%. У другій дослідній групі, де телятам згодовували у складі основного раціону гранульований метіонін, вміст загального азоту був вищий на 15,6% та білкового – на 22,4%, порівняно до контролю. Концентрація залишкового азоту вірогідно зменшилась на у першій групі телят на 32,2% та у другій – на 29,9%.

Експериментально доведено, що введення до основного раціону телятам гранульованого та негранульованого метіоніну сприяло збільшенню кількості мікроорганізмів у рубці та підвищенню концентрації азоту у рубці.

Ключові слова: АМІНОКИСЛОТИ, МІКРОБІОТА, ТЕЛЯТА, АЗОТ, МЕТІОНІН.

DIETARY IMPACTS ON EARLY RUMEN MICROBIOTA DEVELOPMENT IN CALVES

O. I. Shkromada, L. G. Ulko, Ya. S. Udovenko

Sumy National Agrarian University
160, G. Kondratieva st., Sumy, 40021, Ukraine
shkromada@gmail.com

The rumen is an important digestive organ in which fermentation processes take place. Improving the rumen development of growing cattle is one of the major tasks. The need for ruminants in amino acids is as great as in mono-gastric animals. The rumen microorganisms cannot synthesize microbial protein in sufficient quantity to cover the need of developmental growth.

The experiments were conducted on calves from four to five months of age at the «Za myr» farm in Sumy district, Sumy region. The calves were divided into three experimental groups of 10 animals each. The first experimental group was fed powder not protected methionine at a dose of 10 grams per animal, the second group was fed granulated methionine at a dose of 10 grams per animal for a month.

The results suggest that bacterial count increased by 84,3%; *Paramecium caudatum* by 29,4 %; *Entodiniomorpha* by 26,6 % in the first experimental group to the 30th day. In the second group the indicators also changed after a month of research. The bacterial count was 93,2 % higher; *Paramecium caudatum* by 42,5 %; *Entodiniomorpha* by 25,9 % compared to control.

According to the results of the experiment, we can assumed that powder methionine as well as granular had a positive effect on the qualitative and quantitative composition of the rumen microflora. In the first experimental group content of total nitrogen was higher by 12,2 % and protein content by 19,6 % compared to controls. In the second experimental group, where calves were fed a granulated methionine, content of total nitrogen was higher by 15,6 % and protein content by 22,4 % compared to controls. The residual nitrogen concentration significantly decreased by 32,2 % in the first group of calves and by 29,9 % in the second.

It was experimentally proved that the enriched of granulated and non-granulated methionine food additives helped to increase the number of microorganisms in the rumen and increase the concentration of nitrogen in the rumen.

Keywords: AMINO ACIDS, MICROBIOTA, CALVES, NITROGEN, METHIONINE.

Сприяння раннього формування розвитку рубця та формування мікробіоти впливає на ріст та розвиток тварини. Цей результат зберігається тривалий час у дорослих жуйних тварин. Потреба молодого організму в амінокислотах набагато більша, ніж у сформованого. Також мають велике значення наявність у раціонах критичних і лімітуючих амінокислот. У рубці кормові білки і полісахариди деградують біля 70 % під дією мікроорганізмів (Osorio et al., 2013). Розщеплення білка в рубці відбувається за допомогою процесів гідролізу протеїну ферментами рубцевої мікрофлори. Основними видами бактерій з протеолітичною активністю є *Bacteroides amylophilus*, *Bacteroides rumenicola* і *Butyrivibrio fibrisolvens*. Багато дослідників зазначають, що телятам часто не вистачає амінокислот. Раціонально використовувати харчові домішки з амінокислотами, які захищені від впливу на них рубцевих мікроорганізмів. Важливим завданням є складання збалансованого раціону, який відповідає віку тварин. Також важливо стимулювати синтез коротколанцюгових жирних кислот, які є метаболітами у синтезі вуглеводів. (Tan et al., 2014).

Рубець має складну екосистему, в якій поживні речовини перетравлюються в процесі ферментації, за допомогою різних мікроорганізмів, простіших і грибків. Між різними група мікроорганізмів встановлений симбіотичний зв'язок. У рубці жуйних створені необхідні умови для життєдіяльності цих організмів, а саме нейтральне рН та постійна температура тіла. Рубцева мікрофлора бере участь в бродінні вуглеводів, білків, ліпідів, що містяться в раціоні тварин. На жаль навіть не значні зміни у мікрокліматі рубця можуть призводити до порушення його метаболізму. Раціон жуйних тварин заснований на споживанні корму рослинного походження. Тому целюлозні мікроорганізми відіграють важливу роль у травленні жуйних тварин (Abbasi et al., 2014; Stover et al., 2017). Крохмаль є важливою складовою раціону для молодняку великої рогатої худоби. Використання концентратних кормів у раціоні дуже ефективно в якості джерела енергії, але вони можуть призводити до порушення метаболізму такого як ацидоз (Diao et al., 2017; Soares et al., 2017).

Враховуючи все вищезгадане використання захищеного метіоніну, в якості харчової добавки до раціону тварин, може забезпечити дефіцит амінокислот у організмі (Abbasi et al., 2018). Метіонін представляє собою сірковмісну амінокислоту, яка бере участь у синтезі фосфоліпідів, поліамінів, вітаміну А, карнітину. Метіонін є джерелом метилу-S-аденозилметіоніну. Але одна з основних властивостей метіоніну – синтез білка, наприклад, глутатіонпероксидази. В його хімічній будові є метильна група (-CH₃), яка може перетворюватись в ДНК-структуру, бути джерелом метильних груп для нуклеїнових кислот. Метіонін бере участь у важливих метаболічних процесах та є попередником цистеїну. Дослідниками доведено, що метіонін приймає участь у синтезі ліпопротеїнів низької щільності (Abbasi et al., 2017). Достатній рівень метіоніну в організмі великої рогатої худоби покращує функційний стан печінки, знижує окиснювальний стрес (Osorio et al., 2013). Якщо відбувається максимальне зниження рівня метіоніну, виникає велика проблема обміну речовин у телят. Тому було запропоновано декілька способів захисту метіоніну від деградації, такі як інкапсуляція або матричний захист метіоніну (Patton, 2010).

Наше дослідження полягає у застосуванні гранульованого захищеного метіоніну для максимального ефекту руйнування у тонкому кишечнику та його вплив на рубцеву мікрофлору.

Мета проведених досліджень – вивчити вплив гранульованого метіоніну на склад мікрофлори рубця та концентрацію азоту в рубці телят.

Матеріали і методи. Досліди проводили у господарстві «За Мир» Сумського району Сумської області на телятах, віком від чотирьох до п'яти місяців. За принципом аналогів було сформовано три дослідні групи по 10 голів у кожній. Порода тварин українська молочна чорноряба. Одна група була контрольна. Першій дослідній групі згодовували з кормом порошок не захищений метіонін в дозі 10 г/гол, у другій – 10 г/гол гранульований метіонін протягом місяця. Гранульований метіонін виготовлений шляхом створення целюлозної оболонки навколо порошку з діючою речовиною. Під час проведення експерименту у тварин визначали клінічний стан. Температуру тіла телят досліджували ртутним медичним термометром, пульс визначали на середній хвостовій артерії методом пальпації, частоту дихання – стетоскопом, скорочення рубця методом балатуючої пальпації. Протягом експерименту у телят відбирали рубцеву рідину з 9 до 10 години ранку через зонд з метою визначення кількості та складу мікрофлори. Підрахунок кількості інфузорій проводили у камері Горяєва. Активність мікрофлори рубця визначали пробою з метиленовим синім за Діркенсом та Хофреком (Murphy & Voog, 2000).

Результати й обговорення. Процеси ферментації в рубці відбуваються завдяки метаболізму бактерій, грибків та простіших. Їх метаболізм пов'язаний таким чином, що кінцевий продукт або проміжні результати метаболізму є поживною речовиною для іншого. Так відбувається процес рубцевого бродіння, необхідного для травлення жуйних тварин. З метою дослідження впливу захищеного гранульованого та незахищеного метіоніну, на метаболізм рубця нами було вивчено зміни кількісного та якісного складу його мікрофлори та найпростіших.

Експериментально доведено, що введення до раціону телят метіоніну дає позитивний результат на кількість та активність мікробіоти рубця (табл. 1).

Результати, отримані в ході експерименту, доводять, що додавання до корму телят метіоніну сприяє вірогідному збільшенню кількості бактерій та найпростіших у рубці телят. Через два тижні проведення експерименту у першій дослідній групі, де застосовували не захищений метіонін, чисельність бактерій вірогідно збільшилась на 72,6 %; інфузорій – на 39,5 %; ентодіноморфів – на 24,1 %. Експеримент у другій дослідній групі, де використовували гранульований захищений метіонін показав, що на 14-ту добу рівень бактерій вірогідно збільшився на 85,7 %; інфузорій – на 62,4 %; ентодіноморфів – на 29,8 %. Уже через два тижні проведення експерименту із застосування метіоніну телятам до

основного раціону значно збільшило масу мікроорганізмів у рубці. При цьому фізіологічні показники телят: температура, пульс, частота дихання та скорочення рубця були в нормі, вони мали гарний апетит.

Таблиця 1

Результати впливу метіоніну на кількісний та якісний склад мікрофлори рубця телят (M±m, n=10)

| Експозиція | Бактерії, млрд/мл | Інфузорії, тис./мл | Ентодінорморфи, % |
|----------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| Перша дослідна група | | | |
| 7 діб | 7,9±0,32 | 650,2±8,25 | 75,6±0,54 |
| 14 діб | 14,5±0,45 | 730,4±9,38* | 82,8±0,45* |
| 30 діб | 16,4±0,36* | 835,6±12,20* | 92,4±1,05* |
| Друга дослідна група | | | |
| 7 діб | 8,8±0,49 | 670,6±7,34 | 76,9±0,47 |
| 14 діб | 15,6±0,37 | 850,3±11,61* | 88,5±0,53* |
| 30 діб | 17,2±0,39* | 920,2±13,38* | 91,7±0,45* |
| Контрольна група | | | |
| 7 діб | 7,5±0,56 | 515,8±12,01 | 55,9±0,33 |
| 14 діб | 8,4±0,39 | 523,5±8,34 | 58,7±0,67 |
| 30 діб | 8,9±0,42 | 645,7±6,45 | 65,8±0,25 |

Примітка: *P≤0,001 - результати вірогідні порівняно з контролем

На 30-ту добу експерименту у першій дослідній групі, кількість бактерій збільшилась на 84,3 %; інфузорій – на 29,4 %; ентодінорморфів – на 26,6 %. У другій дослідній групі через місяць проведення досліджень показники також змінились. Кількість бактерій була більшою на 93,2 %; інфузорій – на 42,5 %; ентодінорморфів – на 25,9 %, порівняно до контролю. За результатами проведеного експерименту можна припустити, що звичайний метіонін, так само як і захищений гранульований, мали позитивний вплив на якісний та кількісний склад мікрофлори рубця. З цього випливає висновок, що гранульований метіонін був недостатньо захищеним і руйнувався у рубці під дією ферментів мікроорганізмів.

У наступному експерименті визначали вплив додатково введеного телятам до основного раціону метіоніну на рівень загального, залишкового та білкового азоту в рубці (табл. 2).

Таблиця 2

Вміст загального, залишкового та білкового азоту у вмісті рубця телят (M±m, n=10)

| Експозиція | Загальний азот, мг/% | Білковий азот, мг/% | Залишковий азот, мг/% |
|----------------------|----------------------|---------------------|-----------------------|
| Перша дослідна група | | | |
| 7 діб | 142,6±3,56 | 100,5±4,56 | 41,5±0,47 |
| 14 діб | 154,8±4,54* | 119,5±3,44* | 30,2±0,73* |
| 30 діб | 155,0±4,34* | 120,6±3,60* | 27,6±0,62* |
| Друга дослідна група | | | |
| 7 діб | 143,6±5,23 | 101,26±3,20 | 40,2±2,45 |
| 14 діб | 156,5±4,15 | 120,5±5,13* | 32,0±1,18* |
| 30 діб | 159,7±5,75* | 123,4±4,59* | 28,5±1,03* |
| Контрольна група | | | |
| 7 діб | 135,5±4,56 | 102,6±3,36 | 40,5±1,13 |
| 14 діб | 137,0±3,35 | 98,6±4,25 | 42,3±1,30 |
| 30 діб | 138,1±2,86 | 100,8±3,95 | 40,7±1,15 |

Примітка: *P≤0,001 - результати вірогідні порівняно з контролем

Одним із важливих показників покращення ферментативних властивостей мікроорганізмів в рубці є зміни співвідношення фракцій азоту в рубці.

Додаткове введення з кормом телятам метіоніну сприяє вірогідній зміні рівня загального, залишкового та білкового азоту в рубці. Через два тижні експерименту у першій

групі вміст загального азоту вірогідно збільшився на 13 % та білкового – на 21,2 %. Рівень залишкового азоту при цьому зменшився на 28,6 % проти контролю. Аналогічна тенденція на 14-ту добу спостерігалась при використанні захищеного гранульованого метіоніну телятам у другій групі. Так вміст загального азоту був вірогідно вищий на 14,23 %; білкового – на 22,2 %, але залишкового – на 24,3 % при цьому було менше.

Згодовування телятам першої дослідної групи метіоніну через 30 діб викликало вірогідне зростання проти контролю вмісту загального азоту на 12,2 %; білкового – на 19,6 %. У другій дослідній групі, де телятам згодовували у складі основного раціону гранульований метіонін вміст загального азоту був вищий на 15,6 % та білкового – на 22,4 %, порівняно до контролю. Концентрація залишкового азоту вірогідно зменшилась у першій групі телят на 32,2 % та у другій – на 29,9 %.

Азотовмісні речовини у рубці великої рогатої худоби складаються із нерозщепленого протеїну корму, проміжного та кінцевого продуктів азотистого обміну (пептидів, амінокислот та аміаку) (He et al., 2011). Одна частина сирого протеїну, який руйнується в рубці, забезпечує мікрофлору рубця азотом і аміаком. Друга частина білка є джерелом додаткових амінокислот необхідних тварині, які не можна отримати з білка мікроорганізмів). Тому телятам потрібен не тільки протеїн, а і метаболічні амінокислоти, до яких відноситься метіонін (Maskau et al., 2012; Soares et al., 2017). Виходячи з усього вище згаданого впливає концепція використання азоту: відношення вмісту азоту в рубці та спожитого азоту. Чим більший показник, тим краще засвоюється азот, який телята споживають. Теоретично можна досягти рівня 40–45 %. В залежності від збалансованості раціону, активності мікрофлори рубця та клінічного стану тварин концентрація азотистих речовин може коливатись (Fan et al., 2015; Silva et al., 2016). Збільшення концентрації білкового азоту у першій та другій дослідних групах позитивно вплинуло на зростання рівня загального азоту в рубці. Експериментально доведено, що введення до основного раціону телятам гранульованого та негранульованого метіоніну сприяло збільшенню кількості мікроорганізмів у рубці та підвищенню концентрації азоту у рубці.

ВИСНОВКИ

Дослідженнями встановлено, що використання гранульованого захищеного та звичайного метіоніну до основного раціону телят на дорощуванні сприяє збільшенню кількості мікроорганізмів у рубці. Згодовування телятам не захищеного метіоніну протягом місяця призводило до зростання вмісту загального азоту на 12,2%; білкового – на 19,6 %; бактерій – на 84,3 %; інфузорій – на 29,4 %; ентодіноморфів – на 26,6 % У другій дослідній групі, де телятам згодовували у складі основного раціону гранульований метіонін вміст загального азоту був вищий на 15,6 % та білкового на 22,4 %; бактерій – на 93,2 %; інфузорій – на 42,5 %; ентодіноморфів – на 25,9 %. Доведено підвищення концентрації білкового азоту у рубці телят на фоні використання метіоніну в якості кормової добавки.

Перспективи досліджень. Будуть проведені дослідження впливу гранульованого метіоніну на синтез летких жирних кислот та білка.

References

Abbasi, I., Abbasi, F., Abd El-Hack, M.E., Swelum, A.A., Yao, J., Cao, Y. (2018). Post-ruminal effects of rumen-protected methionine supplementation with low protein diet using long-term simulation and in vitro digestibility technique. *AMB Express*, 8(1), 36. doi: 10.1186/s13568-018-0566-7.

Abbasi, I.H.R., Sahito, H.A., Abbasi, F., Menghwar, D.R., Kaka N.A., Sanjrani M.I. (2014). Impact of different crude protein levels on the growth of lambs under intensive management system. *Int J Adv Res.* 2, 227–235.

- Abbasi, I.H.R., Abbasi, F., Soomro, R.N., Abd El-Hack, M.E., Abdel-Latif, M., Li, W., et al. (2017). Considering choline as methionine precursor, lipoproteins transporter, hepatic promoter and antioxidant agent in dairy cows. *AMB Express*. 17(7), 214. doi: 10.1186/s13568-017-0513-z.
- Diao, Q., Zhang, R., Tu, Y. (2017) Current research progresses on calf rearing and nutrition in China. *J. Integr.* 16, 2805–2814. doi: 10.1016/S2095-3119(17)61767-2.
- Fan, P., Li, L., Rezaei, A., Eslamfam, S., Che, D., Ma, X. (2015). Metabolites of dietary protein and peptides by intestinal microbes and their impacts on the gut. *Curr Protein Pept Sci*. 16, 646–654. doi: 10.2174/1389203716666150630133657.
- He, Q., Yin, Y., Zhao, F., Kong, X., Wu, G., Ren, P. (2011). Metabonomics and its role in amino acid nutrition research. *Front Biosci Landmark*. ;16(26), 2451–2460. doi: 10.2741/3865.
- Mackay, D.S., Brophy, J.D., Mcbreairty, L.E., Mcgowan, R.A., Bertolo, R.F. (2012). Intrauterine growth restriction leads to changes in sulfur amino acid metabolism, but not global DNA methylation. Yucatan miniature piglets. *J Nutr Biochem*. 23(9), 1121–1127. doi: 10.1016/j.jnutbio.2011.06.005.
- Murphy, S.C., & Boor, K.J. (2000). Trouble-shooting sources and causes of high bacteria counts in raw milk. *Dairy, Food and Environmental Sanitation*, 8, 606–611.
- Osorio, J.S., Ji, P., Drackley, J.K., Luchini, D., Loo, J.J. (2013). Supplemental Smartamine M or MetaSmart during the transition period benefits postpartum cow performance and blood neutrophil function. *J Dairy Sci*. 96, 6248–6263. doi: 10.3168/jds.2012-5790.
- Patton, R. (2010). Effect of rumen-protected methionine on feed intake, milk production, true milk protein concentration, and true milk protein yield, and the factors that influence these effects: a meta-analysis. *J Dairy Sci*. 93, 2105–2118. doi: 10.3168/jds.2009-2693.
- Silva, L.D.D., Pereira, O.G., Silva, T.C.D., Valadares Filho, S.C., Ribeiro, K.G. (2016). Effects of silage crop and dietary crude protein levels on digestibility ruminal fermentation, nitrogen use efficiency, and performance of finishing beef cattle. *Anim Feed Sci Technol*. 220, 22–33. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2016.07.008.
- Soares, M.S., Oliveira, P.S., Debom, G.N., DaSilveira, M.B., Polachini, C.R., Baldissarelli, J., et al. (2017). Chronic administration of methionine and/or methionine sulfoxide alters oxidative stress parameters and ALA-D activity in liver and kidney of young rats. *Amino Acids*. 49(1), 129–138. doi: 10.1007/s00726-016-2340-y.
- Stover, P.J., Durga, J., Field, M.S. (2017). Folate nutrition and blood–brain barrier dysfunction. *Curr Opin Biotechnol*. 44, 146–152. doi: 10.1016/j.copbio.2017.01.006.]
- Tan, J., McKenzie, C., Potamitis, M., Thorburn, A.N., Mackay, C.R., Macia, L. (2014). The role of short-chain fatty acids in health and disease. *Adv Immunol*. 121, 91–119. doi: 10.1016/B978-0-12-800100-4.00003-9.