

УДК 636.082

ОПТИМИЗАЦИЯ ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ОБМЕНА У МОЛОЧНОГО СКОТА ПРИ СУБТОКСИЧЕСКОЙ ДОЗЕ НИТРАТОВ В РАЦИОНЕ

М. Г. Кокаева, кандидат биологических наук, доцент

*Северо-Кавказский горно-металлургический институт
(государственный технологический университет)*

E-mail: k-marina85@inbox.ru

Ключевые слова: дойные коровы, нитраты и нитриты, фермент, антиоксидант, денитрификация, рубцовое пищеварение.

*Реферат. Приведены результаты исследований, которые свидетельствуют о том, что для интенсификации процессов денитрификации в организме коров, в рационах которых присутствуют нитраты в субтоксической дозе, следует совместно скормливать ферментный препарат протосубтилин ГЗх в дозе 0,03 % и витамин С в дозе 0,04 % от нормы сухого вещества. У молочного скота 3-й опытной группы, который получал данные препараты, в содержимом преджелудков произошло достоверное ($P > 0,95$) увеличение количества ЛЖК на 1,61 ммоль/100 мл. При этом за счет активизации нитратредуктазной активности микрофлоры в содержимом рубца животных 3-й опытной группы по сравнению с контрольной содержание уксусной кислоты оказалось достоверно ($P > 0,95$) больше на 4,11 %. При совместном скормливании биологически активных препаратов по отношению к контрольной группе у коров 3-й опытной группы в содержимом рубца произошло достоверное ($P > 0,95$) повышение количества бактерий *Flavobacterium vitarumen* на 26 тыс/мл и активности протеиназ на 3,07 %. Причем у коров 3-й опытной группы против контроля в содержимом преджелудков произошло достоверное ($P > 0,95$) повышение уровня аммиака на 2,53 ммоль/л при параллельном снижении содержания нитратов – на 53,0 % и нитритов – на 54,3 %.*

OPTIMIZATION OF DIGESTIVE EXCHANGE IN DAIRY CATTLE WITH SUBTOXIC DOSE OF NITRATES IN THE RATION

M. G. Kokaeva, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor

North Caucasus Mining and Metallurgical Institute (State Technological University, Vladikavkaz, Russia)

Key words: milk cows, nitrates and nitrites, enzyme, antioxidant, denitrification, cecotrial digestion.

*Abstract. This article presents the results of studies that show that in order to intensify the processes of denitrification in the body of cows in whose rations nitrates are present in a sub-toxic dose, the enzyme preparation of protosubtilin G3x at a dose of 0.03 % and vitamin C in a dose of 0, 04 % of the dry matter norm. In dairy cattle of the 3 experimental group, a significant ($P > 0.95$) increase in the amount of VFA by 1.61 mmol / 100 ml occurred in the contents of the rumen. At the same time, due to activation of the nitrate reductase activity of microflora in the contents of the rumen of animals of the 3 experimental group, the content of acetic acid proved to be significant ($P > 0.95$) by 4.11 % compared to the control group. With the combined feeding of biologically active preparations in relation to the control group, in the cows of the 3 experimental groups, a significant ($P > 0.95$) increase in the number of *Flavobacterium vitarumen* bacteria per 26,000 / ml and a protease activity of 3.07 % occurred in the rumen's contents. Moreover, in the cows of the 3 experimental groups, a significant ($P > 0.95$) increase in the level of ammonia by 2.53 mmol / l occurred with the control of the contents of the rumen, with a parallel decrease in the content of nitrates – by 53.0 % and nitrites by 54.3 %.*

Нитраты и нитриты в настоящее время рассматриваются как группа сигнальных метаболитов, негативно влияющих на нервную систему животных. Они являются высокотоксичными физиологически активными соединениями. В связи с этим данные ксенобиотики регулируют биохимическую направ-

ленность большинства реакций, связанных с белковым обменом, угнетая их. Нитраты и нитриты, всосавшись в кровь, окисляют ионы F^{2+} гемоглобина в F^{3+} , образуя метгемоглобин, который резко ухудшает кислородную емкость крови [1, 2].

Большой риск возникает при генерализованном токсикозе дойных коров, ведь при этом через животноводческие продукты (молоко и продукты его переработки) могут пострадать как молодняк животных, так и отечественные потребители. Главная задача при решении обозначенной проблемы состоит в разработке эффективных технологий, обеспечивающих снижение уровня миграции или частичную или еще лучше полную денитрификацию этих ксенобиотиков при миграции по трофической цепи: загрязненная почва → кормовые растения → животный организм → продукция → человек [3, 4].

Постоянство гомеостаза у жвачных животных является эволюционно выработанным фактором и наследственно закрепленным проявлением адаптогенного свойства их организма. Однако до нынешней поры не выяснены конкретные закономерности, а также звенья механизма проявления компенсаторной реакции организма при интоксикации. Это особенно важно для высокоудойных коров, для которых напряжение биологических функций определяет более высокую чувствительность к внешним факторам [5].

У высокоудойных коров компенсаторная реакция их организма зачастую определяется уровнем течения микробиологических процессов в преджелудках, направленных на поэтапное восстановление нитратов бактериями до нитритов, далее в аммиак. Но наступает момент хронически аккумулирующей интоксикации организма нитратным азотом, который сопровождается подавлением витаминообразующих симбиотических микроорганизмов, прежде всего, представленных в преджелудках бактериями *Flavobacterium vitarumen*, которые участвуют в рубцовом пищеварении. Следствием данного фактора служит негативное влияние ксенобиотиков на физиологический статус коров, сопровождаемое снижением молочной продуктивности и технологических свойств молочного сыра [6].

В условиях проявления субтоксических нитратных нагрузок на организм животных для интенсификации рубцового обмена и активизации адаптационно-компенсаторной реакции у коров целесообразно оптимизировать величину отношения между азотом и легкогидролизуемыми углеводами в содержимом рубца. Контролировать интенсивность синтеза аммиака и мономеров трудно- и легкорасщелимых углеводов в преджелудках жвачных возможно умелым подбором ферментных препаратов, у которых в составе имеется широкий набор протеиназ, амилаз и целлюлаз [7].

Наряду с этим витамин С, который широко используется в рационах животных как эффективный антиоксидант и денитрификатор, имеет синергизм действия с большим перечнем биологически активных препаратов, в том числе и с мультиэнзимными комплексами [8]. С учетом этого представляло большой интерес изучение влияния ферментного препарата и витамина С, добавляемых в рационы лактирующих коров с субтоксической дозой нитратов, на состояние рубцового метаболизма.

Цель выполненных исследований состояла в изучении активности рубцового метаболизма лактирующих коров, которым в рационы с субтоксической дозой нитратов в качестве денитрификатором включали антиоксидант витамин С и ферментный препарат протосубтилин ГЗх.

Экспериментальная часть работы была выполнена на молочной ферме СПК «Нива» Моздокского района РСО – Алания. Для этого были отобраны 40 сухостойных коров после второй лактации, из которых методом пар-аналогов [9] сформировали 4 группы по 11 голов в каждой.

Согласно схеме опыта (табл. 1), коровам контрольной группы скармливали основной рацион (ОР), в состав которого включали нитрат натрия в дозе 0,3 г/кг живой массы. Животным опытных групп в состав ОР добавлялись ферментный препарат протосубтилин ГЗх и витамин С в дозах, указанных в схеме эксперимента.

Таблица 1

Схема постановки научно-хозяйственного опыта на коровах

Группа	Количество коров в группе, гол.	Общехозяйственный рацион + нитрат натрия в дозе 0,03 г/кг живой массы (ОР)	Дозы добавок, % сухого вещества	
			протосубтилина ГЗх	витамина С
Контрольная	11	ОР	-	-
1-я опытная	11	ОР	0,03	-
2-я опытная	11	ОР	-	0,04
3-я опытная	11	ОР	0,03	0,04

Протосубтилин ГЗх – порошок, получаемый высушиванием на распылительной сушилке культуральной жидкости после глубинного культивирования *Bacillus subtilis*. Препарат хорошо растворим в воде. Содержит нейтральную протеиназу, по которой он стандартизируется, кислую и щелочную протеиназу, β -глюконазу, α -амилазу, пектинэстеразу, полигалактуроназу и гемицеллюлазу. Его протеолитическая активность составляет 7,7 ед./г, при этом за единицу активности принимают такое количество фермента, которое за 1 мин при температуре 30°C превращает в присутствии трихлоруксусной кислоты в неосаждаемое состояние казеинат натрия в количестве 1 мкмоль тирозина.

Аскорбиновая кислота была представлена препаратом аскорбин – белый кристаллический порошок кислого вкуса, без запаха, с температурой плавления 190–193°C, хорошо растворимый в воде (1:3,5). Препарат содержит 99% действующего начала. Потеря массы при высушивании не превышает 0,1%.

В процессе эксперимента проводились исследования рубцового пищеварения по общепринятым методикам [10].

Концентрацию нитратов и нитритов в кормах и содержимом рубца определяли по общепринятой методике [11].

Экспериментальный материал обработан статистически с использованием критерия Стьюдента.

При составлении для подопытных животных рационов кормления в СПК «Нива» РСО – Алалия использовались кормовые средства собственного производства, являвшиеся благополучными по наличию в них нитратов и нитритов. Поэтому для оценки эффективности денитрифицирующих свойств апробируемых кормовых добавок в состав основного рациона (ОР) подопытным коровам (с учетом фактического содержания нитрат-ионов в кормах) вводили препарат нитрат натрия из расчета 0,03 г/кг живой массы. Это обеспечивало субтоксический уровень нитратов в летнем и зимнем рационах подопытных коров [12]. При этом строго соблюдали в составе этих рационов сахаро-протеиновое отношение за счет скармливания животным всех групп кормовой патоки.

Нитраты, нитриты, как и большинство химических токсикантов, попадая в пищеварительную систему жвачных, вовлекаются в преджелудках микрофлорой в метаболизм азотистых соединений. Благодаря нитратредуктазной активности энзимов азотфиксирующей микрофлоры преджелудков в содержимом рубца при нитратных нагрузках на организм коров нормализовался pH среды и процесс образования летучих жирных кислот (ЛЖК) (табл. 2).

Таблица 2

Содержание летучих жирных кислот и pH среды рубцового содержимого (n=3)

Показатель	Группа			
	контрольная	1-я опытная	2-я опытная	3-я опытная
pH среды	6,31±0,22	6,53±0,31	6,40±0,41	6,58±0,44
ЛЖК, ммоль/100 мл	11,21±0,30	12,53±0,32*	12,44±0,21*	12,82±0,35*
В том числе, %				
уксусная	63,21±0,41	66,00±0,31*	65,88±0,42*	67,31±0,46*
пропионовая	18,94±0,50	19,00±0,42	18,83±0,50	18,34±0,57
масляная	12,91±0,14	10,05±0,10*	10,28±0,12*	9,52±0,14*
валериановая	3,12±0,18	3,17±0,13	3,21±0,14	3,09±0,13
капроновая	1,82±0,14	1,78±0,15	1,30±0,12	1,74±0,16

*P > 0,95.

Установлено, что при добавках ферментного препарата и витамина С в рационы с повышенным уровнем нитратов достоверных (P<0,95) различий по величине pH среды в содержимом рубца между животными сравниваемыми групп не обнаружено.

В ходе денитрификации, благодаря совместному включению апробируемых биологически активных препаратов, против контрольных аналогов у молочного скота 3-й опытной группы в содержимом преджелудков произошло достоверное (P>0,95) увеличение в абсолютных единицах количества ЛЖК – на 1,61 ммоль/100 мл. При этом за счет активизации нитратредуктазной активности микрофлоры в содержимом рубца животных 3-й опытной группы по сравнению с контрольной содержание уксусной кислоты оказалось достоверно (P>0,95) больше – на 4,11 %, что положительно сказывается на синтезе молочного жира у лактирующих коров. Наряду с этим, при совместных добавках в раци-

оны апробируемых кормовых добавок в рубцовой жидкости молочного скота 3-й опытной группы против контроля наблюдалось достоверное ($P>0,95$) снижение концентрации масляной кислоты – на 3,39%. По нашему мнению, это было обеспечено благодаря широкому спектру протеиназ в составе ферментного препарата протосубтилина ГЗх и антиоксидантным и денитрифицирующим свойствам витамина С.

Учитывая то, что образование ЛЖК в преджелудках напрямую зависит от состава их микронаселения, которые являются активными продуцентами гидролаз, изучили присутствие некоторых видов микроорганизмов и активность протеиназ и целлюлаз у подопытных животных (табл. 3).

Таблица 3

Ферментативная активность, количество бактерий и инфузорий в содержимом рубца (n=3)

Показатель	Группа			
	контрольная	1-я опытная	2-я опытная	3-я опытная
<i>Flavobacterium vitarumen</i> , тыс./мл	105,0±2,1	126,0±1,9*	118,0±1,6*	131,0±2,3*
Протеолитическая активность, %	42,13±0,38	44,90±0,21*	44,76±0,19*	45,20±0,33*
Целлюлозолитические бактерии, млн/мл	5,11±0,17	5,59±0,12*	5,60±0,14*	5,70±0,11*
Инфузории, тыс./мл	279,0±3,2	306,0±2,9*	295,0±1,9*	314,0±2,8*
Целлюлозолитическая активность, %	17,13±0,31	19,81±0,26*	19,02±0,31*	20,55±0,38*

* $P > 0,95$.

Бактерии группы *Flavobacterium vitarumen* являются активными продуцентами протеиназ, нитрат- и нитритредуктаз, что позволяет им участвовать в процессе вовлечения азотистых соединений небелкового происхождения в синтез белка собственного тела микрофлорой преджелудков, способствуя тем самым элиминации ксенобиотиков. При этом было выяснено, что при совместном скормлировании апробируемых биологически активных препаратов по отношению к контрольной группе животных у коров 3-й опытной группы в содержимом рубца произошло достоверное ($P>0,95$) повышение количества бактерий *Flavobacterium vitarumen* – на 26 тыс./мл и активности протеиназ – на 3,07%, что положительно сказалось на метаболизме белка в организме аналогов этой опытной группы.

Основными продуцентами целлюлаз в преджелудках жвачных животных являются инфузории и целлюлозолитические микроорганизмы, под действием энзимов которых происходит интенсификация распада труднорастворимых сахаров и процессов сбраживания их мономеров в ЛЖК. В ходе наших исследований установлено, что при включении в комбинации ферментного препарата и витамина С у коров 3-й опытной группы против контроля в содержимом преджелудков произошло достоверное ($P>0,95$) повышение количества инфузорий – на 35,0% тыс./мл, целлюлозолитических микроорганизмов – на 0,59 млн/мл и активности продуцируемых ими целлюлаз – на 3,22%, что говорит об оптимизации углеводного обмена у них при нитратных нагрузках на организм.

Об эффективности денитрификации в организме молочного скота сравниваемых групп судили по изменениям соотношения азотистых соединений белкового и небелкового происхождения в рубцовой жидкости (табл. 4).

Таблица 4

Содержание азотистых веществ в содержимом рубца, ммоль/л (n=3)

Показатели	Группа			
	контрольная	1-я опытная	2-я опытная	3-я опытная
Общий азот	109,3±2,3	121,3±3,0*	120,0±2,1*	124,5±2,3*
Белковый азот	75,2±1,8	85,1±1,5*	83,5±1,2*	87,5±1,9*
Небелковый азот	34,1±0,4	36,2±0,3*	36,5±0,3*	37,0±0,5*
Аммиак	14,16±0,21	16,21±0,31*	16,00±0,27*	16,69±0,27*
Нитраты	0,17±0,001	0,13±0,001*	0,11±0,001*	0,08±0,001*
Нитриты	0,035±0,0006	0,023±0,0003*	0,019±0,0004*	0,016±0,001*

* $P > 0,95$.

Установлено, что при совместном скормлировании апробируемых биологически активных препаратов за счет улучшения процессов вовлечения нитратного азота в белковый метаболизм микрофлорой

рубца и активизации их протеиназ в рубце животных 3-й опытной группы против контрольной группы произошло достоверное ($P>0,95$) увеличение концентрации общего азота – на 15,2 ммоль/л, белкового – на 12,3, небелкового – на 2,9.

Под воздействием нитрат- и нитритредуктаз, продуцируемых микрофлорой, нитраты восстанавливались до нитритов, они же восстанавливались до аммиака, при этом между количеством ксенобиотиков и аммиака в преджелудках существовала прямая биологическая связь. Причем при включении в рационы с повышенным фоном нитратов комбинации ферментного препарата и витамина С у коров 3-й опытной группы против контроля в содержимом преджелудков произошло достоверное ($P>0,95$) повышение уровня аммиака на 2,53 ммоль/л при параллельном снижении содержания нитратов на 53,0 и нитритов на 54,3 %.

Полученные результаты свидетельствуют о высоком денитрифицирующем действии совместных добавок апробируемых биологически активных препаратов в рационы молочного скота с субтоксической дозой нитратов, что способствовало оптимизации процессов рубцового метаболизма.

Проведенные исследования позволяют сделать следующие выводы:

1. Для интенсификации процессов денитрификации в организме коровам, в рационах которых присутствуют нитраты в субтоксической дозе, следует совместно скармливать ферментный препарат протосубтилин ГЗх в дозе 0,03 % и витамин С в дозе 0,04 % от нормы сухого вещества.

2. При включении в рационы с повышенным фоном нитратов в комбинации ферментного препарата и витамина С у лактирующих коров происходит оптимизация процессов рубцового метаболизма и элиминации ксенобиотиков.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Зоотехнические аспекты производства экологически безопасного молока / А.В. Ярмоц, С.И. Кононенко, М.Э. Кебеков, И.М. Хапсаев, А.А. Газдаров // Вестн. Майкоп. гос. технол. ун-та. – 2011. – № 3. – С. 45–47.
2. Влияние антиоксидантов на продуктивность и некоторые гематологические показатели коров при денитрификации / С.И. Кононенко, М.Г. Кокаева, З.Т. Баева, Р.В. Осикина, Л.В. Цалиева, Д.О. Гурчиева // Изв. Горск. гос. аграр. ун-та. – 2015. – Т. 52, № 4. – С. 153–157.
3. Повышение качества молока и молочных продуктов в условиях техногенной напряженности / М.Е. Кебеков, А.Н. Поляков, В.Г. Созаев, У.И. Тезиев // Молоч. пром-сть. – 2006. – № 10. – С. 24–25.
4. Кадалаева З.Т., Газдаров О.А., Созаев В.Г. Утилизация токсикантов в молоке // Устойчивое развитие горных территорий: проблемы и перспективы интеграции науки и образования: материалы V Междунар. конф. – Владикавказ, 2004. – С. 478–479.
5. Гурчиева Д.О., Бурнацева З.В. Способ улучшения морфологического и биохимического состава крови коров при нитратных нагрузках на организм // ПЕРСПЕКТИВА-2017: материалы Междунар. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых. – Эльбрус, 2017. – С. 236–239.
6. Эколого-биологическая эффективность использования антиоксидантов для денитрификации при производстве молочных продуктов / З.Т. Баева, З.З. Бегизова, С.И. Кононенко, З.К. Плиева // Научные основы повышения продуктивности сельскохозяйственных животных: сб. науч. тр. СКНИИЖ по материалам 7-й междунар. науч.-практич. конф. – Краснодар, 2014. – Ч.1. – С. 187–196.
7. Гурчиева Д.О. Оптимизация промежуточного обмена коров при денитрификации // Использование современных технологий в сельском хозяйстве и пищевой промышленности: / материалы междунар. науч.-практич. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых – Персиановский. 2016. – С. 380–381.
8. Использование биологически активных хелатных добавок в питании коров и бройлеров для денитрификации / Р.Б. Темираев, Т.З. Мильдзихов, М.Г. Кокаева, Л.Б. Бузоева, З.К. Плиева // Изв. Горск. гос. аграр. ун-та. – 2013. – Т. 50, ч.3. – С. 117–121.
9. Овсянников Н.И. Основы опытного дела в животноводстве. – М.: Колос, 2001. – 246 с.
10. Викторов П.И., Менькин В.К. Методика и организация зоотехнических опытов. – М.: Агропромиздат, 1991. – 148 с.
11. Буряков Н.П. Влияние нитратов на микрофлору рубца и продуктивность животных // Рос. вет. журн. с.-х. животные. – 2012. – Вып. № 3. – С. 42–46.

12. Физиолого-биохимический статус организма лактирующих коров под действием препаратов антиоксиданта и сорбента / В. Р. Каиров, Р. В. Калагова, З. Б. Гасиева, А. А. Черкасов // Изв. Горск. гос. аграрн. ун-та. – 2015. – Т. 52, ч. 2. – С. 54–61.

REFERENCES

1. *Zootehnicheskie* aspektyi proizvodstva ekologicheskoi bezopasnogo moloka / A.V. Yarmots, S.I. Kononenko, M.E. Kebekov, I.M. Hapsaev, A.A. Gazdarov // Vestn. Maykop. gos. tehnol. un-ta. – 2011. – № 3. – С. 45–47.
2. *Vliyaniye* antioksidantov na produktivnost i nekotoryie gematologicheskie pokazateli korov pri denitrifikatsii / S.I. Kononenko, M.G. Kokaeva, Z.T. Baeva, R.V. Osikina, L.V. Tsalieva, D.O. Gurtsieva // Izv. Gorsk. gos. agrar. un-ta. – 2015. – Т. 52, № 4. – С. 153–157.
3. *Povyisheniye* kachestva moloka i molochnykh produktov v usloviyakh tehnogennoy napryazhennosti / M.E. Kebekov, A.N. Polyakov, V.G. Sozaev, U.I. Teziev // Moloch. prom-t. – 2006. – № 10. – С. 24–25.
4. *Kadalaeva Z. T., Gazdarov O. A., Sozaev V. G.* Utilizatsiya toksikantov v moloke // Ustoychivoe razvitie gornyykh territoriy: problemy i perspektivy integratsii nauki i obrazovaniya: materialy V Mezhdunar. konf. – Vladikavkaz, 2004. – С. 478–479.
5. *Gurtsieva D. O., Burnatseva Z. V.* Sposob uluchsheniya morfologicheskogo i biokhimicheskogo sostava krovi korov pri nitratnykh nagruzkah na organizm // materialy Mezhdunar. konf. studentov, aspirantov i molodykh uchenykh: «PERSPEKTIVA-2017». – Elbrus, 2017. – С. 236–239.
6. *Ekologo-biologicheskaya* effektivnost ispolzovaniya antioksidantov dlya denitrifikatsii pri proizvodstve molochnykh produktov / Z.T. Baeva, Z.Z. Begizova, S.I. Kononenko, Z.K. Plieva // Nauchnyye osnovy povysheniya produktivnosti sel'skookhozyaystvennykh zhivotnykh: Sb. nauch. tr. SKNIIZh po materialam 7-y mezhdunar. nauch. – praktich. konf. – Krasnodar, 2014. – Ch.1. – С. 187–196.
7. *Gurtsieva D. O.* Optimizatsiya promezhutochnogo obmena korov pri denitrifikatsii [Tekst] / Ispolzovanie sovremennykh tekhnologiy v sel'skom khozyaystve i pishchevoy promyshlennosti: // materialy mezhdunar. nauch. – praktich. konf. studentov, aspirantov i molodykh uchenykh – Persianovskiy. 2016. – С. 380–381.
8. *Ispolzovanie* biologicheskoi aktivnykh helatnykh dobavok v pitanii korov i broylerov dlya denitrifikatsii / R.B. Temiraev, T.Z. Mildziyov, M.G. Kokaeva, L.B. Buzoeva, Z.K. Plieva // Izv. Gorsk. gos. agrar. un-ta. – 2013. – Т. 50, ch.3. – С. 117–121.
9. *Ovsyannikov N. I.* Osnovy opyitnogo dela v zhivotnovodstve – M.: Kolos, 2001. – 246 s.
10. *Viktorov P. I., Menkin V. K.* Metodika i organizatsiya zootehnicheskikh opyitov – M.: Agoropromizdat. – 1991. – 148 s.
11. *Buryakov N. P.* Vliyaniye nitratov na mikrofloru rubtsa i produktivnost zhivotnykh // Ros. vet. zhurn. S-h zhivotnyye. – 2012. – Vyip. № 3. – С. 42–46.
12. *Fiziologo-biokhimicheskiiy* status organizma laktiruyuschikh korov pod deystviem preparatov antioksidanta i sorbenta / V.R. Kairov, R.V. Kalagova, Z.B. Gasieva, A.A. Cherkasov // Izv. Gorsk. gos. agrarn. un-ta. – 2015. – Т. 52, ch. 2. – С. 54–61.