

# Влияние N-карбамоил глутамата на микробиоценоз рубца телят-молочников

*Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии,  
биохимии и питания животных – филиал ФГБНУ «Федеральный научный  
центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста».  
Боровск, Калужская обл., РФ*

**Колоскова Елена Михайловна**

XV научно - практическая конференция с международным участием  
**«Научные основы устойчивого развития сельскохозяйственного  
производства в современных условиях»**

**- 2022 -**

Повышение эффективности мясного и молочного животноводства тесно связано с совершенствованием технологий кормления животных.

Оптимизация протеинового питания животных - один из важнейших факторов повышения мясной продуктивности.

Белковый обмен - неотъемлемая часть азотистого обмена.

**Типы азотистого баланса:**

**положительный азотистый баланс**, когда в организм с белком поступает азота больше, чем его выделяется из организма (у растущих животных, у лактирующих животных, после болезни, у овец после стрижки);

**отрицательный баланс**, когда количество азота с белком поступает в организм меньше, чем выделяется (при голодании, болезнях, старении);

**азотистое равновесие**, когда количество азота, поступившего с белками равно количеству азота, выделенного из организма (у взрослых, здоровых животных).

Актуальная задача сельскохозяйственной науки - создание условий для эффективного использования азотистых компонентов корма, снижения выделения неиспользованного азота с экскрементами.

## **Конечные продукты азотистого обмена – аммиак и мочевина.**

Высокие концентрации аммиака, образующиеся в больших количествах в результате деградации нуклеотидов, оказывают угнетающее воздействие на нейроны. Мочевина - нейтральное соединение с высокой растворимостью в физиологических жидкостях, способна легко проникать через биологические мембраны, переносится кровью и выделяется с мочой.

*Аммиак - токсичное соединение. Его максимально допустимый уровень в крови составляет 60 мкмоль/л.*

Возникает необходимость в цикле реакций, способных превращать высокотоксичный аммиак в нейтральный продукт. **Цикл мочевины (орнитиновый цикл, цикл Кребса—Гензелейта)** — последовательность биохимических реакций, в результате которой азотсодержащие продукты распада преобразуются в мочевины. Реакции цикла мочевины локализованы в клетках печени.



Уровень интермедиатов цикла мочевины можно регулировать, воздействуя на активность его ключевых ферментов.

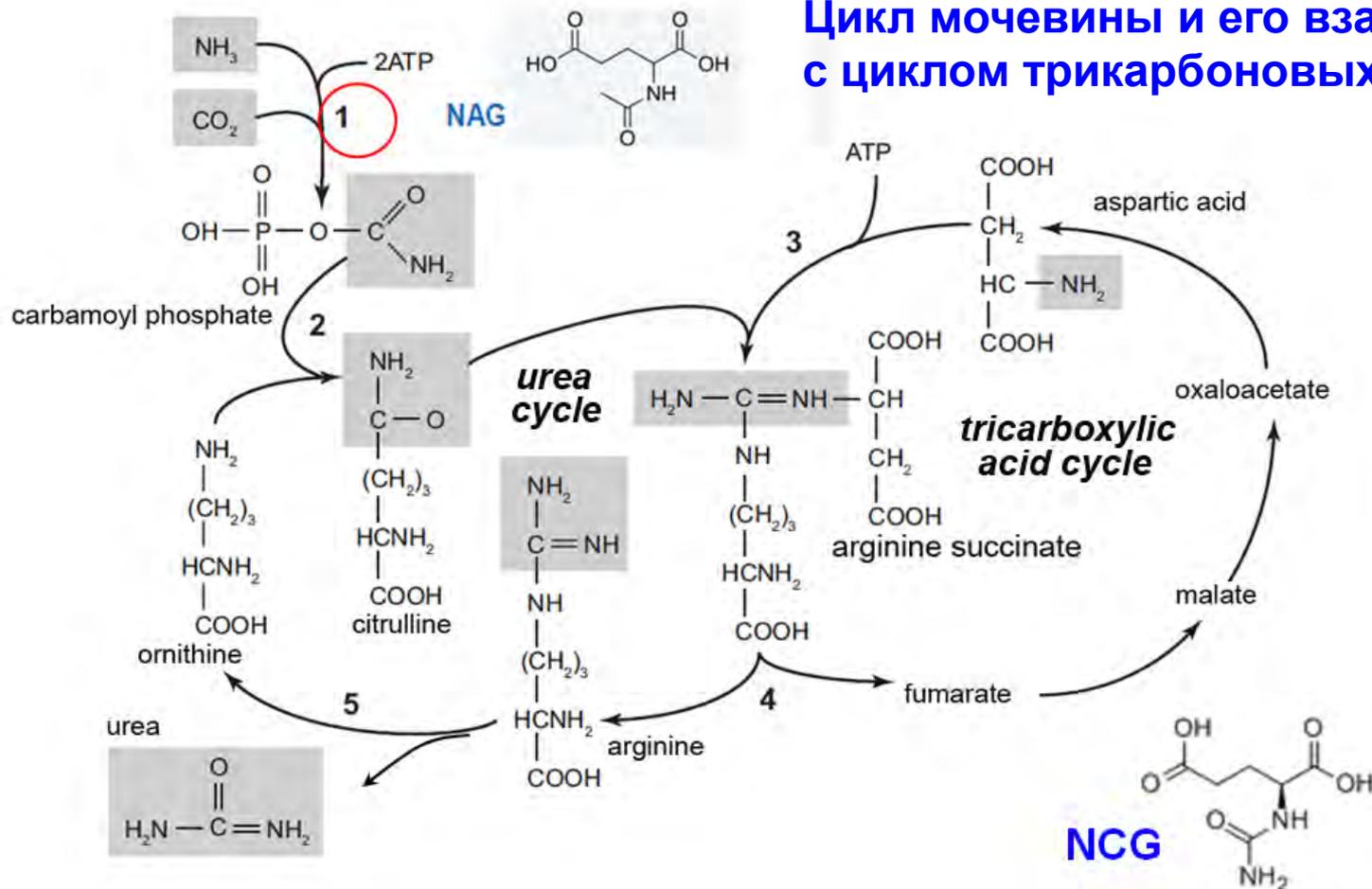
Нарушения цикла мочевины (например, из-за мутаций генов, кодирующих участвующие в цикле ферменты) приводят к заболеваниям цикла мочевины, большинство из которых приводят к **гипераммониемии**.

**N-карбамоилглутамат** (N-КГ) - неметаболизируемый аналог N-ацетилглутамата (N-АГ), аллостерического активатора первой ферментативной реакции цикла мочевины работает как эффективный агонист и регулятор карбамоилфосфатсинтетазы-1.

N-КГ активизирует цикл мочевины, его применение в качестве кормовой добавки обеспечивает более полную конверсию азота мочевины и аммиака в эндогенный белок и повышает мясную продуктивность сельскохозяйственных животных.

N-КГ достоверно улучшает показатели роста и развития телят, однако, его влияние на микробиоту рубца и других отделов ЖКТ практически не изучено.

## Цикл мочевины и его взаимосвязь с циклом трикарбоновых кислот.



Первые две реакции локализуются в митохондриях клеток печени, остальные – в цитозоле.

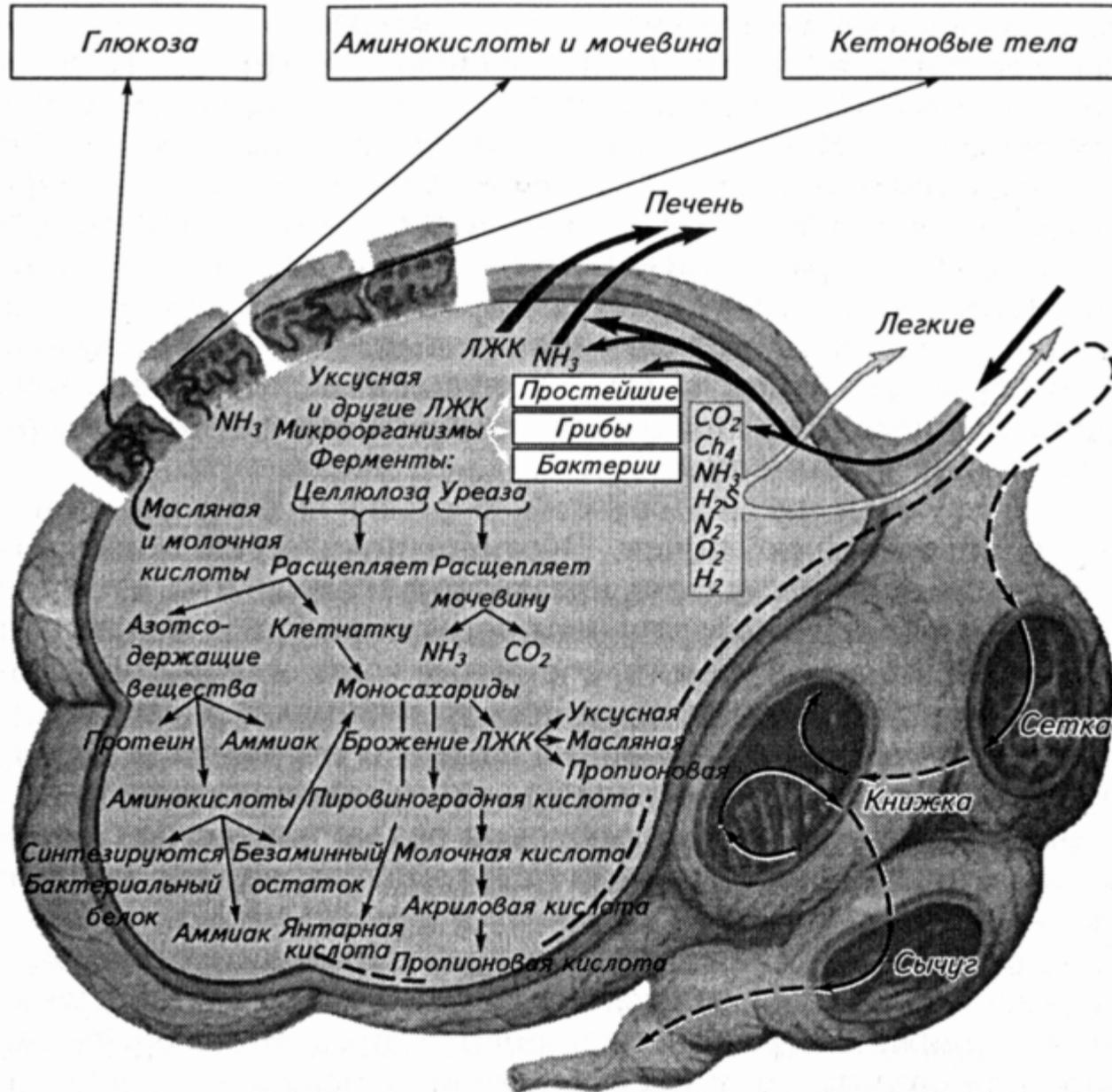
В присутствии **N-ацетилглутаминовой кислоты** при участии фермента **карбамоилфосфат-синтетазы 1** (1) образуется богатый энергией карбамоилфосфат .

Карбамоилфосфат в реакции с орнитином образует цитруллин (2 — **орнитинтранскарбамоилаза**).

Цитруллин и аспарагиновая кислота ( из **ЦТК**) образуют аргининосукцинат (3 — **аргининсукцинат-синтетаз**), расщепляющийся на фумаровую кислоту (в **ЦТК**) и аргинин (4 — **аргининсукцинатлиаза**).

**Аргиназа** (5) расщепляет аргинин на мочевину и орнитин, способный вновь поступать в митохондрии и запускать новый оборот цикла мочевины.

# Основные участники пищеварительных процессов в рубце (микроорганизмы, ферменты, компоненты корма, продукты метаболизма)

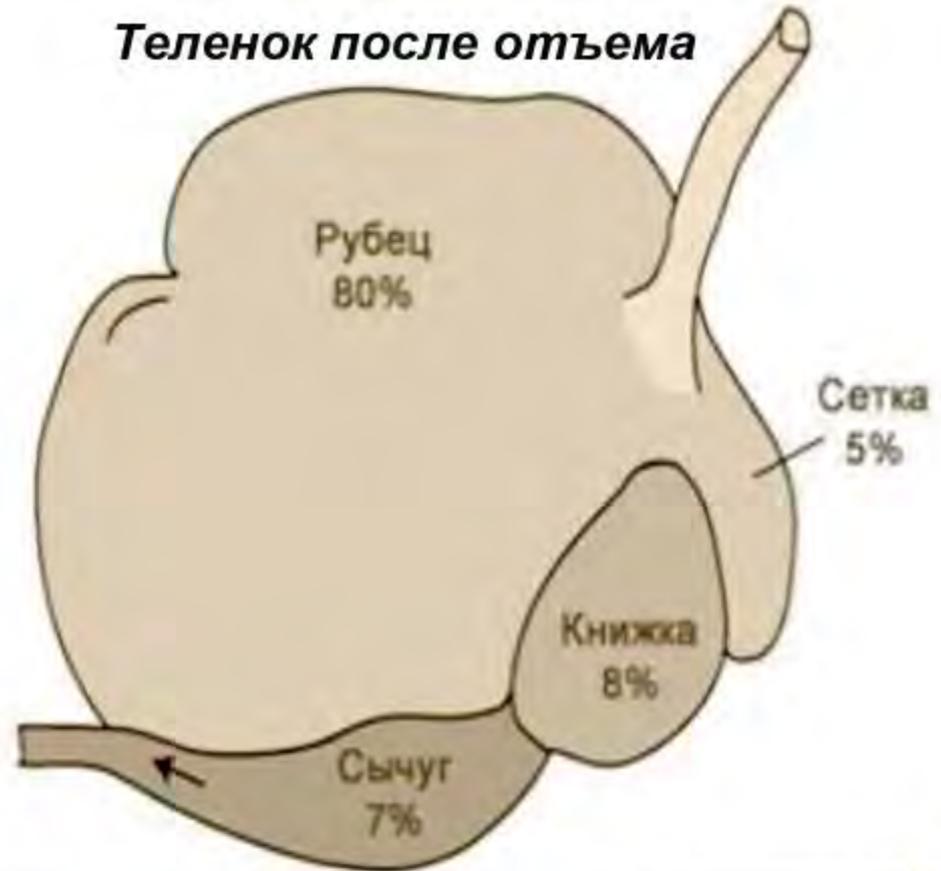


# Развитие отделов желудка телянка после рождения

**Новорожденный теленок с неразвитым желудком**



**Теленок после отъема**



Рубец не развит и не функционирует; молоко не попадает в рубец, а усваивается в сычуге и кишечнике

Потребление твердых кормов, особенно зернового стартера или концентратов стимулирует развитие стенок рубца

Теленок жует жвачку и большинство энергии получает из желудочной ферментации

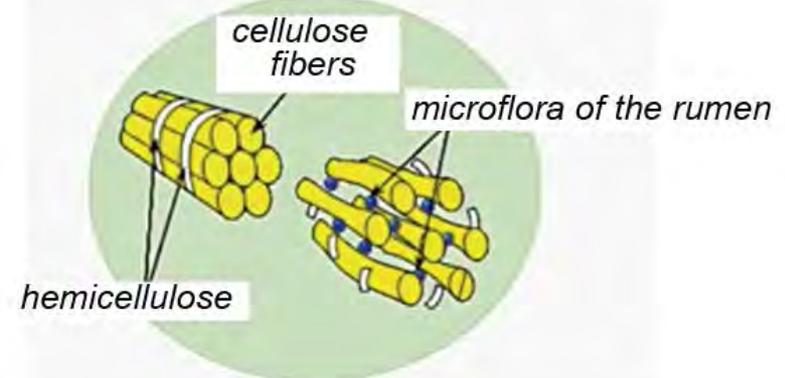
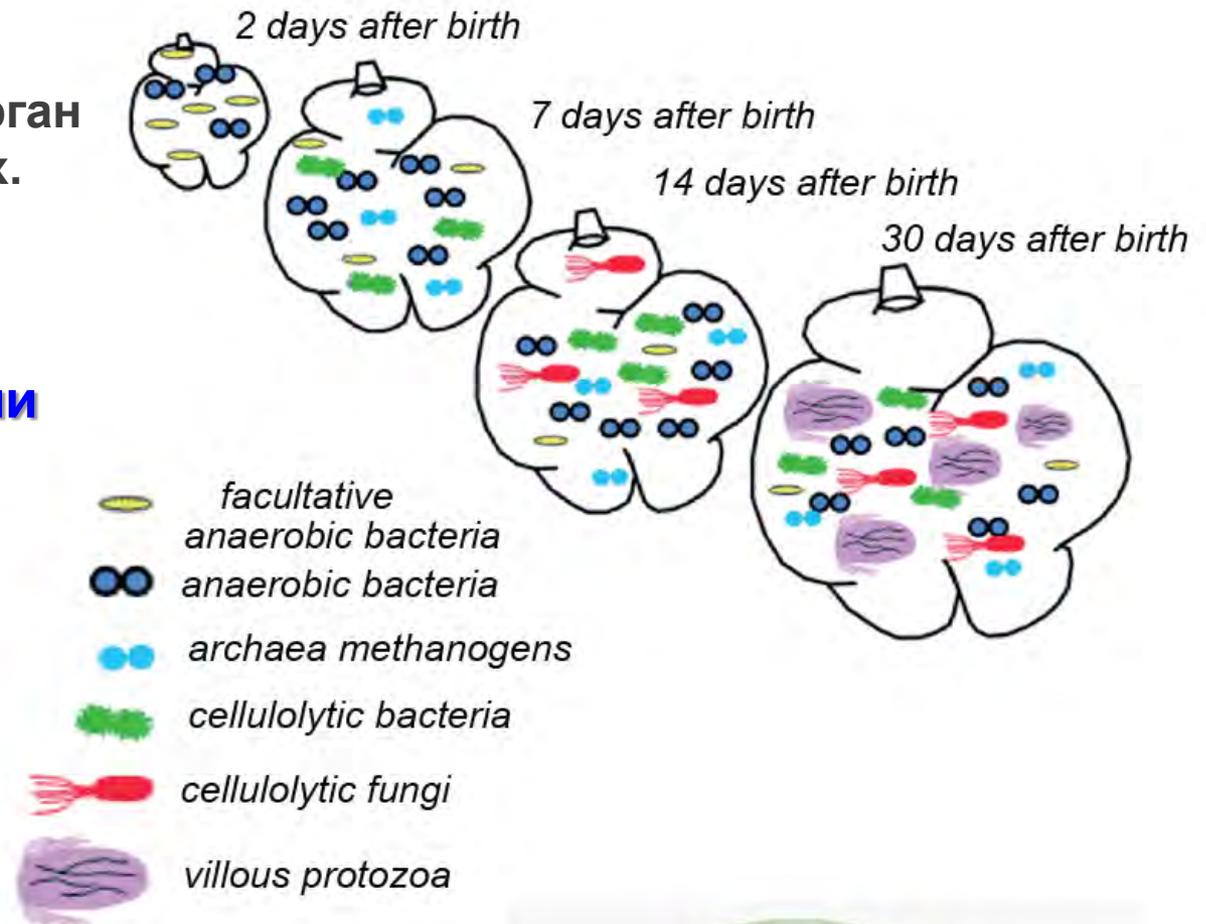
**Рубец** – главный  
пищеварительный орган  
жвачных животных.

## Колонизация рубца теленка микроорганизмами

Микробиота рубца  
меняется параллельно  
изменениям в  
кормлении, условиях  
содержания, с возрастом  
животных, при стрессах.

Рубцовая среда может  
изменить состав и  
микробную активность с  
его физико-химическими  
параметрами.

У всех жвачных  
животных  
индивидуальный  
микробный баланс рубца



## Цель исследований:

получение новых знаний о влиянии послеотъемного стресса на формировании микробиоты рубца телят-молочников, с использованием или без добавки NCG, катализирующей эффективность утилизации аммиака и других продуктов распада азотсодержащих продуктов.

Длительность эксперимента – 30 суток.  
Возраст телят в начале опыта – 1 месяц.

Группа	Голов в группе	Характеристика кормления
Контрольная	8	Основной рацион (ОР)
Опытная	8	ОР +20 мг N-КГ на кг живой массы

Взятие рубцового содержимого и выделение из него тотальной ДНК

*T-RLPL анализ выполнен на Beckman Coulter SEQ-8000 Analyzer (США), обработка пиков - в программе Фрагмент Энелайзис («Beckman Coulter», США) в ООО «Биотроф».*

**T-RFLP-анализ**  
(terminal restriction fragment  
length polymorphism)

**Анализ результатов**



**БИОТРОФ**

микробиология для животноводства

## Основной рацион (ОР):

Сено разнотравное – 0,2 кг (утро) и 0,2 кг (вечер).

Комбикорм – 1,0 кг (утро) и 1,0 кг (вечер).

Заменитель цельного молока – 3,0 л (утро) и 3,0 л (вечер).

Вода – в свободном доступе.

Таблица 1. Основные показатели ЗЦМ LOGAS MILK эконо плюс

Компонент	Единица измерения	Показатель	Компонент	Единица измерения	Показатель
Энергетическая ценность			Витаминная группа		
Обменная энергия	Мдж/кг	16,0	Витамин А, не менее	МЕ/кг	40000
Структура			Витамин D3, не менее	МЕ/кг	1000
Белок, не менее	%	20,0	Витамин Е, не менее	мг/кг	150
Жир, не менее	%	16	Витамин С, не менее	мг/кг	150
Клетчатка	%	2,5	Витамин В1, не менее	мг/кг	6
Лактоза, не более	%	20,0	Витамин В2, не менее	мг/кг	6,0
Микро, макроэлементы			Витамин В5, не менее	мг/кг	87,5
Железо (Fe), не менее	мг/кг	85,0	Витамин В4, не менее	мг/кг	200,0
Цинк (Zn), не менее	мг/кг	126,0	Витамин В3, не менее	мг/кг	50,0
Марганец (Mn), не менее	мг/кг	126,0	Витамин В6, не менее	мг/кг	4,0
Медь (Cu), не менее	мг/кг	12,5	Биотин (вит. Н), не менее	мг/кг	37,5
Йод (I), не менее	мг/кг	2,5	Витамин К, не менее	мг/кг	4,0
Селен (Se), не менее	мг/кг	0,1	Аминокислоты		
Кальций (Ca), не менее	г/кг	6,0	Лизин, не менее	%	1,24
NaCl, не менее	г/кг	1,3	Метионин, не менее	%	0,38
Фосфор (F), не менее	г/кг	7,0	Метионин+цистин, не менее	%	0,68

# Мишень: ген 16S рРНК

Последовательность гена 16S рРНК используется в исследовании филогенетики бактерий и архей, применяется для медицинских исследований патогенных бактерий.



**CONSERVED REGIONS:** unspecific applications

**VARIABLE REGIONS:** group or species-specific applications

1  
ПЦР ↓  
2

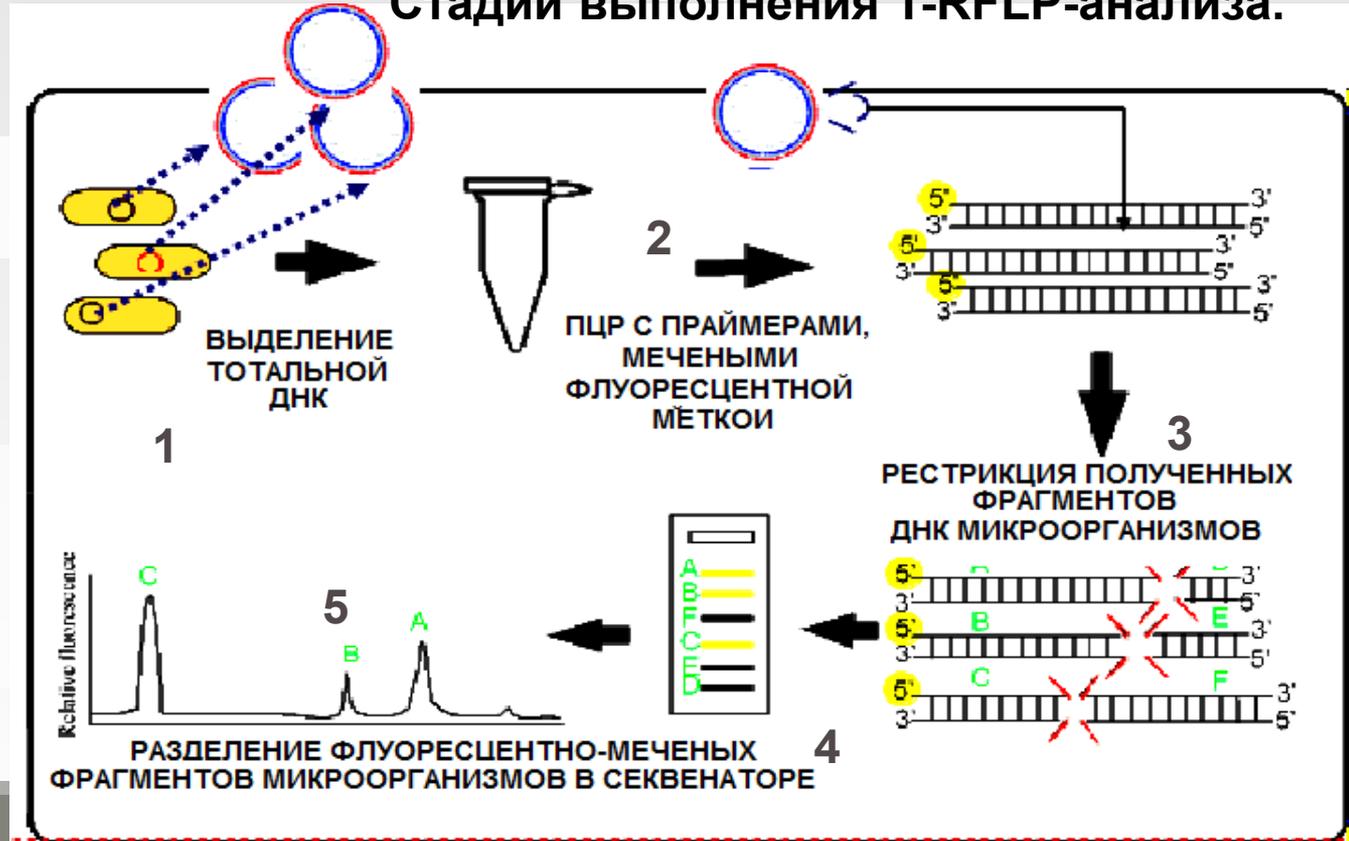
V1V9 – амплификаты,  
около 1400 п.н.

3 ↓ Рестрикция:  
*HaeIII*, *HhaI*  
и *MspI*.

**Результат:**  
множество меченых  
рестриктных  
фрагментов разного  
размера

4,5

## Стадии выполнения T-RFLP-анализа.



## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты взвешивания телят молочников ( $M \pm m$ ;  $n=8$ )

Группы	Вес телят, кг		
	до исследования	через 30 дней	среднесуточный привес*
Контроль	$73,4 \pm 2,41$	$83,8 \pm 3,42$	$0,35 \pm 0,07$
Опытная группа	$72,0 \pm 1,34$	$88,0 \pm 1,87$	$0,49 \pm 0,09$

\*Норма привесов молодняка голштинской породы в возрасте 0-2 мес 620-650 г/сутки

Отъем – один из самых сильных стрессов в жизни теленка. происходит изменение режима питания, температуры, меняются внешние условия содержания. Отъем часто совпадает с транспортировкой телят, Множественные стрессы, возникающие в этих новых условиях существования, легко приводят к различным заболеваниям телят: респираторным, желудочно-кишечным – в первую очередь

## Содержание основных целлюлозолитических бактерий в рубце телят опытной и контрольной групп, %

\*p < 0,05;  
\*\* p < 0,01;

	Контроль	N-КГ	Референс.значения (по Ильиной, 2017)
<i>Ruminococcaceae</i>	4,07 ± 1,22	<b>8,87 ± 3,43*</b>	не < 5
<i>Eubacterium</i>	6,84 ± 2,34	7,24 ± 1,54	не < 2
<u><i>Lachnospiraceae</i></u> ( <i>Butyrivibrio</i> )	3,06 ± 0,63	<b>4,84 ± 0,75*</b>	не < 2
<i>Clostridiaceae</i>	1,54 ± 0,32	<b>3,78 ± 0,63**</b>	не < 5
<i>Bacteroides</i>	2,47 ± 0,81	4,24 ± 1,62	4-8%
<i>Prevotella</i>	0,73 ± 0,32	0,90 ± 0,53	
Прочие	0,06 ± 0,04	0,20 ± 0,18	
Итого:	18,77 ± 1,54	<b>30,08 ± 3,05**</b>	не < 20
Целлюлозолитическая активность, %	11,06 ± 0,35	<b>12,77 ± 0,71*</b>	
Содержание инфузорий, тыс.шт./г	114,6 ± 1,1	<b>106,0 ± 0,5**</b>	

## Содержание аммиака и мочевины в крови телят

	Контроль	N-КГ	Норма
Мочевина, ммоль/л	4,75 ± 0,16	3,94 ± 0,16*	3,3 – 6,7
Аммиак, мкмоль/л	124,76 ± 9,02	<b>59,10 ± 4,30*</b>	не более 50



## Заключение

- ▶ Впервые показано влияние N-КГ на состав микробиоты рубца телят молочников. Полученные данные свидетельствуют о том, что введение N-КГ в дозировках 20 мг/кг живой массы способствует достоверному повышению содержания целлюлозолитической микробиты рубца телят почти на 50% по сравнению с контрольной группой, снижает содержание условно-патогенной микробиоты. Целлюлозолитическая активность рубцового содержимого коррелировала с этими показателями.
- ▶ На фоне высокого уровня аммиака в крови телят контрольной группы, использование N-КГ с кормом позволило не только привести концентрации аммиака и мочевины в крови к нормальным значениям, но и улучшить биохимические и зоотехнические показатели опытных животных.
- ▶ На основе проведенных исследований впервые получены данные по влиянию N-карбамоил глутамата на микробиоту рубца телят-молочников, исходя из которых можно сделать вывод о том, что N-КГ способствует повышению защиты микробиоты рубца и организма телят-молочников от негативных стресс-факторов, в частности, при состояниях, близких к гипераммониемии.

# Спасибо за внимание!

