

N-КАРБАМОИЛ ГЛУТАМАТ ПОЛОЖИТЕЛЬНО ВЛИЯЕТ НА МИКРОБИОТУ 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

**Докладчик
Колоскова Елена Михайловна**

Барнаул | 2022

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

Оптимизация **протеинового питания** и обменных процессов в организме жвачных животных путём создания условий для эффективного использования азотистых компонентов корма, снижение выброса неиспользованного азота с экскрементами являются актуальной задачей сельскохозяйственной науки.

Протеин корма состоит из белков и амидов. Протеин – незаменимый источник аминокислот для синтеза белка животного происхождения. Амиды — это небелковая часть протеина, имеющая значение для жвачных животных.

Протеиновый обмен - неотъемлемая часть **азотистого обмена**, конечными продуктами которого являются **мочевина и аммиак**.

Аммиак - токсичное соединение. Его предельно допустимый уровень в крови 60 мкмоль/л.

Уровень интермедиатов цикла мочевины, в том числе токсичного аммиака, можно регулировать, воздействуя на активность ключевых ферментов цикла.

N-карбамоилглутамат (НКГ) (неметаболизируемый аналог N-ацетилглутамата, аллостерического активатора первой ферментативной реакции цикла мочевины) – эффективный агонист и регулятор карбамоилфосфатсинтетазы-1.

Особенно важно это для **жвачных животных**:

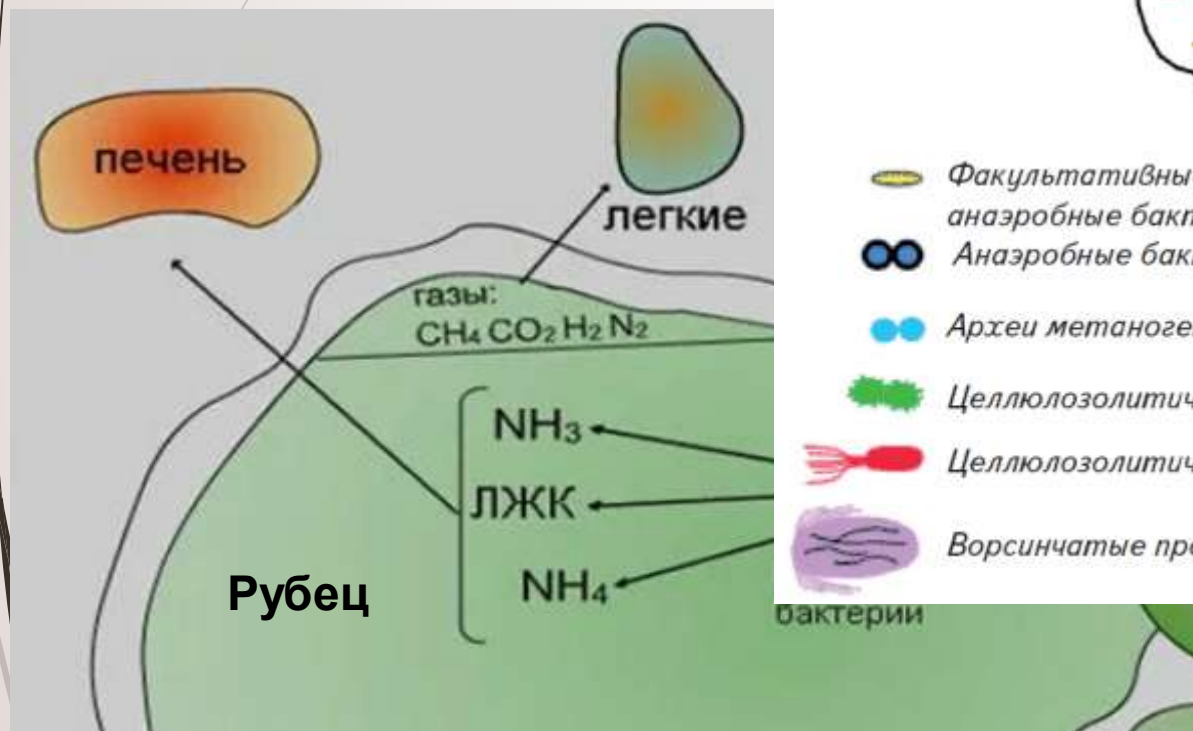
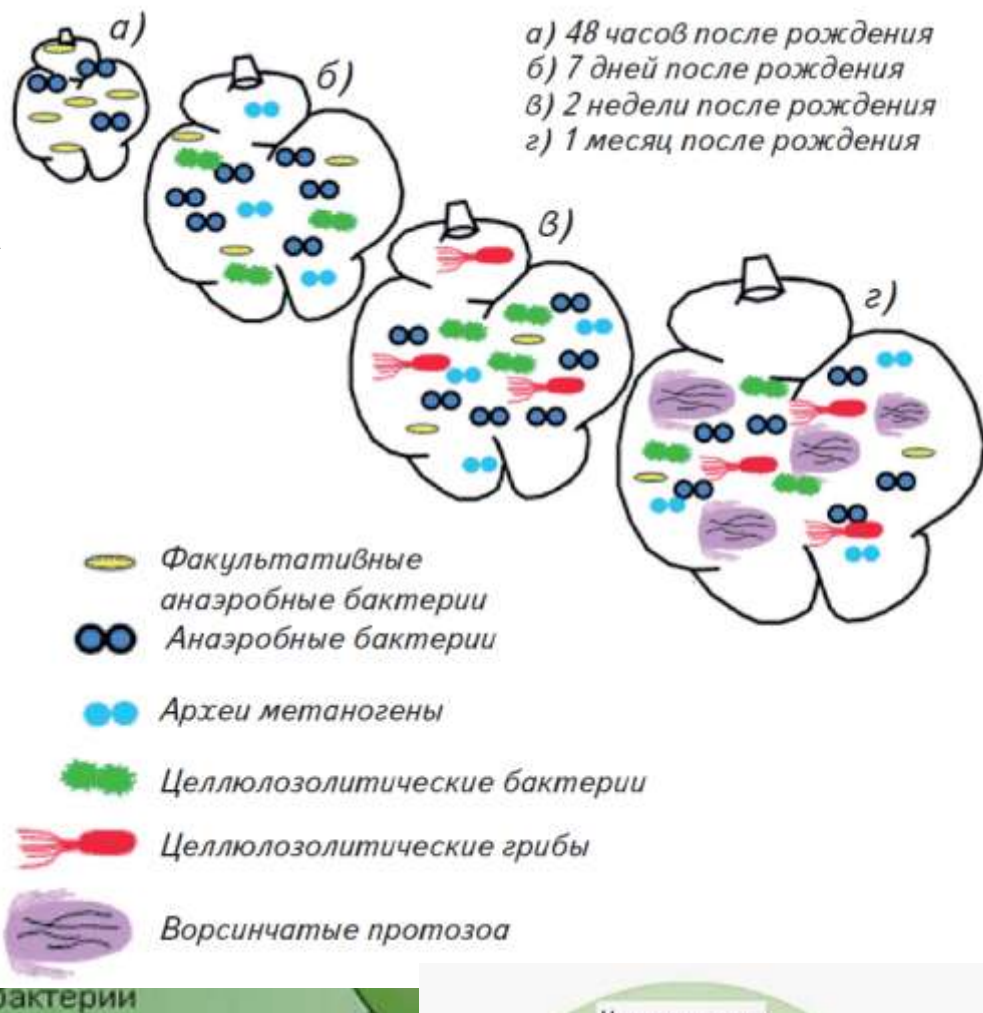
- 1) микробиота рубца в результате ферментации протеинов корма выделяет аммиак
- 2) микробиота рубца способна утилизировать мочевины.

НКГ 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.

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

Рубец – главный пищеварительный орган жвачных животных.

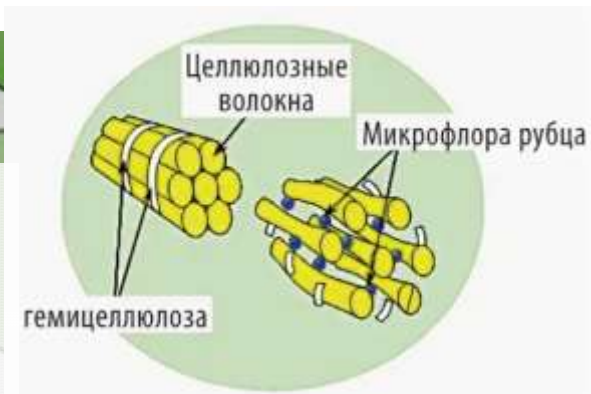
Колонизация рубца теленка микроорганизмами

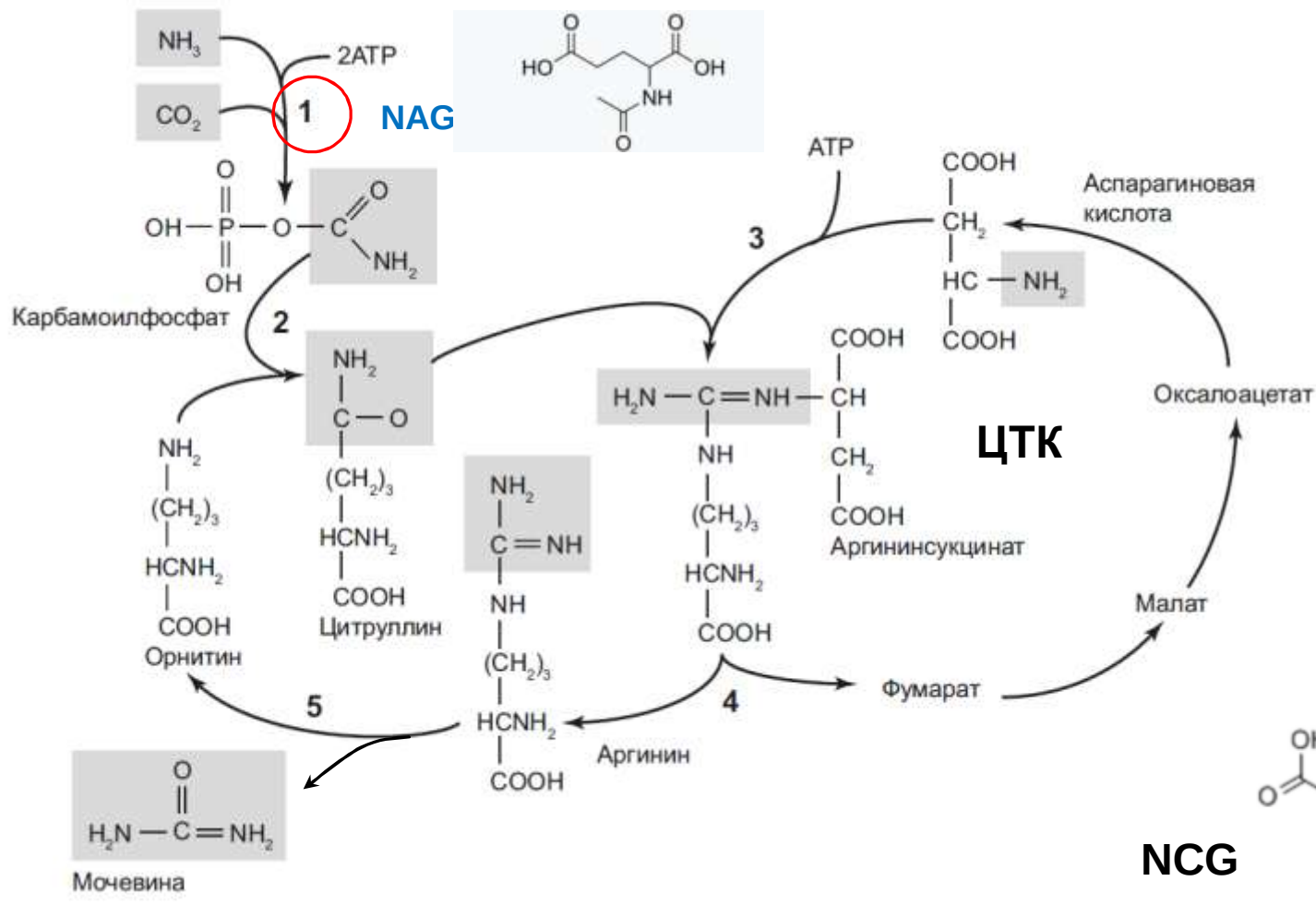


Микробиота рубца меняется параллельно изменениям в кормлении, условиях содержания, с возрастом животных, при стрессах.

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

У всех жвачных животных индивидуальный микробный баланс рубца





Орнитиновый цикл и его взаимосвязь с циклом трикарбоновых кислот. Протекает в клетках печени: первые две реакции в митохондриях, остальные – в цитозоле. Начинается с образования богатого энергией карбамоил-фосфата в присутствии **N-ацетилглутаминовой кислоты (NAG, кофактор)**, при участии фермента **карбамоилфосфатсинтетазы 1** (1). Карбамоилфосфат в реакции с орнитином образует цитруллин (2 — орнитинтранскарбамоилаза). Цитруллин и аспарагиновая кислота (из **ЦТК**) образуют аргининосукцинат (3 — аргининсукцинатсинтетаза), 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.

Цель исследований:

получение новых знаний о 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 NCG на кг живой массы

Выделение ДНК из рубцового содержимого

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



БИОТРОФ
микробиология для животноводства

T-RFLP-анализ

Анализ результатов

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 3ЦМ LOGAS MILK эконом 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.



ПЦР



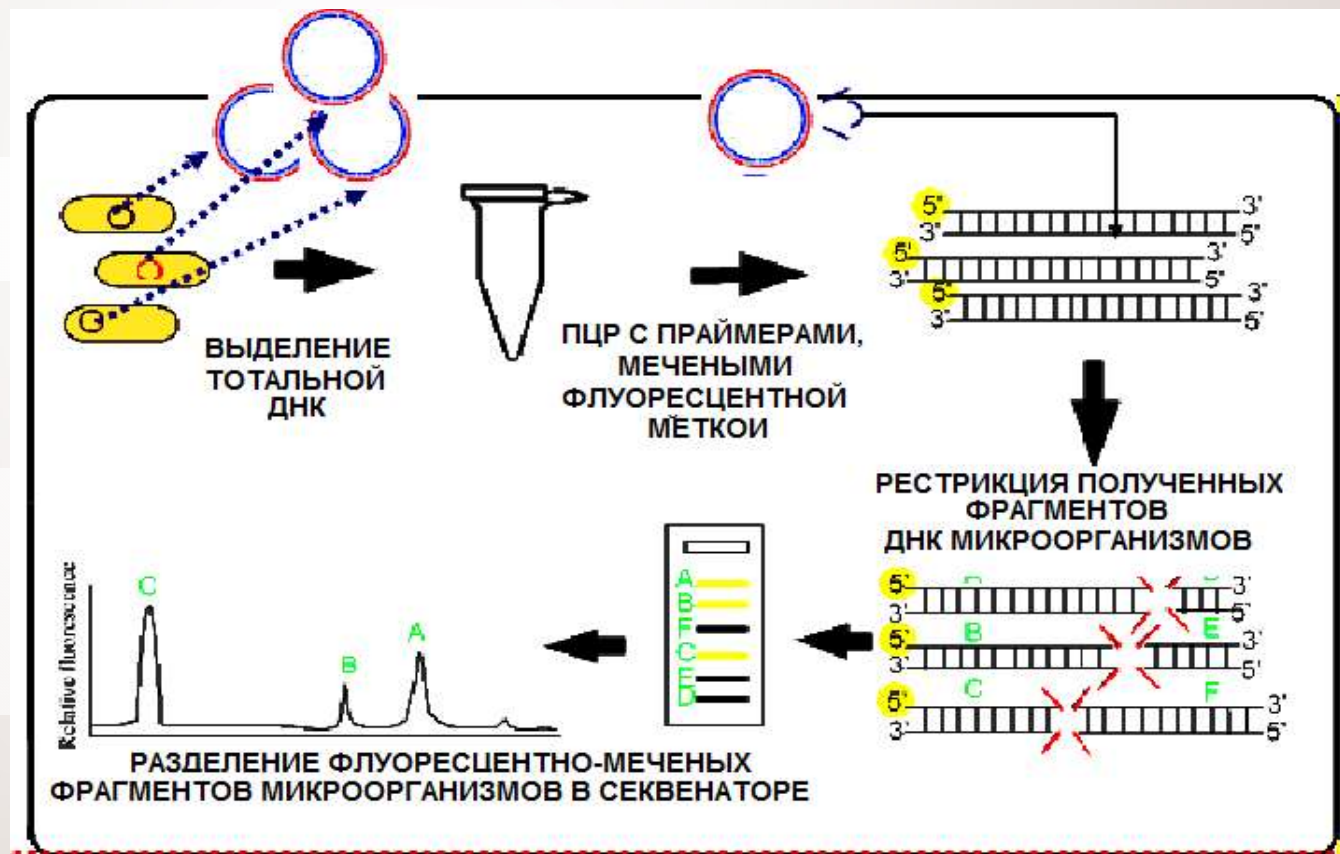
V1V9 – амплификаты,
около 1400 п.н.

Рестрикция:
HaeIII, *HhaI*
и *MspI*.



Результат:
множество меченых
рестриктных
фрагментов разного
размера

Стадии выполнения T-RFLP-анализа.



РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты взвешивания телят молочников

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

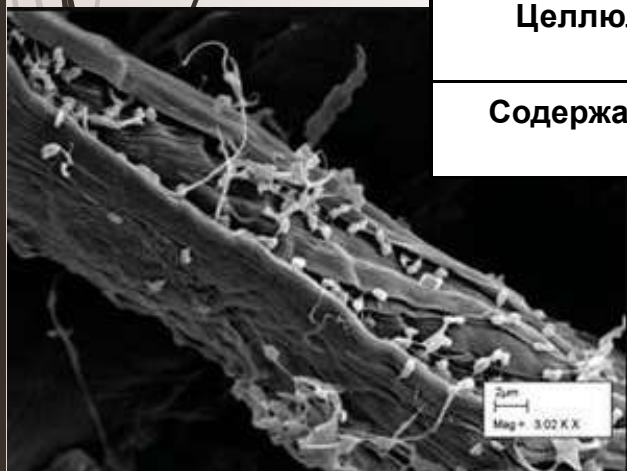
*Норма привесов молодняка голштинской породы в возрасте 0-2 мес 620-650 г/сутки

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, %

	Контроль	NCG	Референсные значения (по Ильиной, 2017)
<i>Ruminococcaceae</i>	4,07 ± 1,22	8,87 ± 3,43*	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	4,84 ± 0,75*	не < 2
<i>Clostridiaceae</i>	1,54 ± 0,32	3,78 ± 0,63**	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	
<i>Прочие</i>	0,06 ± 0,04	0,20 ± 0,18	
Итого:	18,77 ± 1,54	30,08 ± 3,05**	не < 20
Целлюлозолитическая активность, %	11,06 ± 0,35	12,77 ± 0,71*	
Содержание инфузорий, тыс.шт./г	114,6 ± 1,1	106,0 ± 0,5**	

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



Содержание и функции микроорганизмов в пробах рубца телят (*T-RFLP*-анализ), %

Микроорганизм	Роль микроорганизма	Контроль	NCG
Нормофлора			
Целлюлозолитики (сем. Lachnospiraceae, Ruminococcaceae, Eubacteriaceae, Clostridiaceae и др.)	«Полезные» микроорганизмы, расщепляющие растительную клетчатку и другие углеводы кормов	18,77 ± 1,54	30,08 ± 3,05*
Селеномонады (Veillonellaceae, Selenomonadaceae)	Способны разлагать органические кислоты, в том числе лактат	10,88 ± 1,44	9,30 ± 2,36
Bacillaceae	Обладают антимикробной активностью в отношении патогенных микроорганизмов и др. полезными свойствами	26,41 ± 2,44	21,85 ± 6,00
Bifidobacterium sp.	Обладают антимикробной активностью в отношении патогенных микроорганизмов	0,69 ± 0,12	0,94 ± 0,25*
Нежелательная или условно-патогенная микрофлора			
Lactobacillaceae	Ферментируют моносахара до молочной кислоты, снижение pH рубца	5,01 ± 2,22	2,29 ± 0,84
Энтеробактерии (Enterobacteriaceae)	Могут провоцировать гастроэнтериты	5,67 ± 0,81	4,26 ± 0,93
Филум Actinobacteria	Могут провоцировать актиномикозы	10,20 ± 1,47	5,74 ± 2,23*

Содержание и функции микроорганизмов в пробах рубца телят, %

Патогенные микроорганизмы			
Фузобактерии	Возбудитель некробактериоза	$1,41 \pm 0,69$	$2,42 \pm 0,78$
Стафилококки	Возбудители гнойно-воспалительных процессов, маститов	$1,00 \pm 0,20$	$1,01 \pm 0,47$
Пептококки		$0,41 \pm 0,19$	$0,79 \pm 0,37$
Кампилобактерии		$0,20 \pm 0,13$	$0,43 \pm 0,20$
Пастереллы	Возбудитель пастереллеза	$3,19 \pm 0,93$	$1,46 \pm 0,61$
Микоплазмы	Возбудители микоплазмозов	$1,93 \pm 0,25$	$2,10 \pm 0,75$
Транзитная микрофлора			
Псевдомонады	Не играют существенной роли	$1,11 \pm 0,40$	$2,48 \pm 0,45$
Некультивируемые	Роль не ясна	$13,10 \pm 3,45$	$14,75 \pm 3,33$

Содержание аммиака и мочевины в крови телят, ммоль/л

	Контроль	NCG	Норма
Мочевина ммоль/л	$4,8 \pm 0,2$	$3,9 \pm 0,2^*$	3,3 – 6,7
Аммиак, мкмоль/л	$124,8 \pm 9,0$	$59,1 \pm 4,3^*$	не более 50

Заключение

Впервые показано влияние NCG на состав микробиоты рубца телят молочников. Полученные данные свидетельствуют о том, что введение NCG 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, вероятно, вызванного повышенным содержанием патогенных микроорганизмов у телят обеих групп, использование NCG 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 NCG способствует повышению защиты микробиоты рубца и организма телят-молочников от негативных стресс-факторов, в частности, при состояниях, близких к гипераммониемии.

Спасибо за внимание!

