

³УДК 577.112:577.122:579.222Калачнюк М.С.¹, студентМельничук Д.О.¹, д.б.н., професор, академік НАНУ і НААНУ,Калачнюк Л.Г.¹ д.б.н., доцент;Мароунек М.² д.б.н., професорСавка О.Г.², к.б.н.Калачнюк Г.І.^{1,2}, д.б.н., професор¹Національний університет біоресурсів і природокористування України² Інститут фізіології і генетики тварин Чеської АН, Прага, Чеська Республіка

ЕНЗИМНА АКТИВНІСТЬ КЛІТИН ОКРЕМИХ МІКРООРГАНІЗМІВ-СИМБІОНТІВ РУБЦЯ ЗА ДІЇ ЕКЗОГЕННИХ ЧИННИКІВ

Проведено дослідження ензимної активності клітин окремих мікроорганізмів-симбіонтів за умов токсичної дії найбільш поширеного в довкіллі біоциду - пентахлорфенолу (ПХФ) та протекторної здатності природного сорбенту - кліноптилоліту, поклади якого тільки у Закарпатті перевищують 1 млрд. тонн.

Показано, що клітини чистих рубцевих штамів (*Butyrivibrio fibrisolvens*, *Streptococcus bovis* і *Megasphaera elsdenii*) за активністю семи ключових внутрішньоклітинних ензимів чітко відрізняються між собою. За дії навіть малої дози ПХФ (40 мкМ) активність досліджуваних ензимів вірогідно знижується у клітинах дуже чутливої до біоциду бактерії *B. fibrisolvens*. У клітинах менш чутливих до токсиканту штамів бактерії (*S. bovis* і *M. elsdenii*) активність всіх ензимів вірогідно зменшується тільки за впливу у 2,5 раза вищої ПХФ. Додавання кліноптилоліту до інкубаційного бактеріального середовища з пентахлорфенолом у вказаних дозах вірогідно підвищує ензимну активність у клітинах усіх досліджуваних чистих штамів мікроорганізмів-симбіонтів рубця.

Ключові слова: внутрішньоклітинні ензими, чисті штами мікроорганізмів рубця, біоциди, пентахлорфенол, природні сорбенти, кліноптилоліт.

Раніше [1-7] зверталась увага на те, що відносна постійність обміну речовин у рубці підтримується багатьма факторами і вона спрямована передусім на ефективну реалізацію симбіотичних взаємовідносин організму жуйної тварини з мікроорганізмами, що заселяють її передшлунки і весь травний тракт. Вартують окремої уваги результати вивчення тканинного метаболізму тварини-господаря і, зокрема, взаємозв'язуючої ролі слизової оболонки рубця [4, 5]. Потребує ретельного аналізу інформація про особливості метаболічної активності мікробної екосистеми, створеної багатьма видами бактерій, протозоа і грибків [1-3]. При цьому слід завжди враховувати, що рубцеве середовище є анаеробним і редукуючим [2, 3]. Кисень сюди потрапляє

тільки з кормами та із крові. Факультативними анаеробами рідини чи адгерованими на слизовій оболонці рубця він швидко утилізується [1]. Також варто зазначити, що життєдіяльність різних мікроорганізмів травного тракту підтримується певною величиною редокс-потенціалу (Eh) і рН та багатьма іншими екзо- і ендогенними чинниками [1-3].

Однією із екзогенних дуже токсичних речовин у доквіллі вважається пентахлорфенол (ПХФ) і саме тому Агентство захисту навколишнього середовища у кінці ХХ століття занесло його до списку найнебезпечніших забруднювачів природи [6, 8, 9]. Після цього було розпочато інтенсивне вивчення дії ПХФ на всі ланки екосистеми, в тому числі і на стан здоров'я людини й тварин та на пошук реальних можливостей деградації його мікроорганізмами [6, 8, 9].

Метою цієї роботи було показати дію біоциду (ПХФ) на ензимну активність клітин окремих мікроорганізмів-симбіонтів рубця і протекторну здатність природного сорбенту (кліноптилоліту), поклади якого тільки у Закарпатті складають понад 1 млрд. тонн [6, 10-12].

Матеріали і методи. За об'єкт досліджень правили чисті штами рубцевих бактерій. Найбільше уваги було зосереджено на *Butyrivibrio fibrisolvens* 787, що утилізує целюлозу, глюкозу, ксилозу тощо; *Streptococcus bovis* АО 24/85, що використовує крохмаль та інші вуглеводи, а також *Megasphaera elsdenii* LC8, що засвоює лактат та інші інтермедіати мікробної ферментації. Штами бактерій одержували із Інституту фізіології і генетики тварин Чеської АН (*Praha*), Інституту фізіології тварин Словацької АН (*Košice*), Роветського науково-дослідного інституту (*Aberden, United Kingdom*). Зазначені штами вирощували на середовищі М-10 з деякими модифікаціями. Окрім того, до середовища для *M. elsdenii* додавали лактат натрію (до кінцевої концентрації 0,8%) і тіогліколеву кислоту (до 0,3%).

Вивчення дії ПХФ на кінетику росту чистих штамів проводили за умов їх інкубації у середовищах із додаванням інактивованої (105°C – 1 год) безбактерійної рубцевої рідини (5000 об/хв. – 30 хв), одержаної від тварин, що поїдали високий рівень легкодоступних поживних речовин і целюлози. Для оцінки дії ПХФ створювали три варіанти інкубацій: I- контрольний, К (культуральне середовище зі змішаною рубцевою мікробною популяцією без добавок ПХФ), дослідні: II - у культуральне середовище яких добавляли ПХФ у концентраціях 40 мкМ (для *B. fibrisolvens* 787) або 100 мкМ (для *S. bovis* і *M. elsdenii*) і III - К + ПХФ + 3 г/пробу Кл [6]. Дію ПХФ на активність внутрішньоклітинних ензимів бактерій вивчали після 24 год інкубації за експоненціальної (логарифмічної) фази росту. Клітини збирали за допомогою центрифугування (5000 об/хв., 30 хв при 4°C). Зібрані клітини двічі промивали 20 мМ К-На-фосфатним буфером (рН 7,5). Концентрацію клітин доводили до 1 мг/мл і заморожували, додаючи до суспензії 1/3 об'єму скла (піску). Руйнування клітин проводили на холоді (4°C) з використанням планетарного вібратора К-23 (Німеччина) при 1000 об/хв. протягом 6 хв., або ж ультразвуковою дезінтеграцією клітин при 22 кГц протягом 15 хв з інтервалом 30 сек при 0-2°C

на диспергаторі УЗДН-1. За температури 2-4°C шляхом центрифугування (18 000 об/хв., 30 хв) одержували цитоплазматично-мікросомальну фракцію бактеріальних клітин. У ній визначали вміст білка (за Лоурі та спів.) і активність ензимів: лактатдегідрогенази (ЕС 1.1.1.27), малатдегідрогенази (ЕС 1.1.1.37), ізоцитратдегідрогенази (ЕС 1.1.1.42), малік-ензиму (ЕС 1.1.1.40), форміатдегідрогенази (ЕС 1.2.1.2), аконітази (ЕС 4.2.1.3) і фумарази (ЕС 4.2.1.2). Активність перших п'яти ензимів визначали спектрофотометрично і виражали у нмоль NADH/NADPH за 1 хв на 1 мг білка. Методи визначення активності всіх ензимів та інших біохімічних показників описано раніше [2, 3, 6-9]. Всі біохімічні аналізи проводили у п'яти повтореннях. Одержаний цифровий матеріал опрацьовували статистично з використанням критерію Стьюдента «t».

Результати і обговорення. Одержані результати наведено на рис. 1 -3.

За дії порівняно низької дози біоциду пентахлорфенолу (40 мкМ), активність усіх досліджуваних ензимів у клітинах *B. fibrisolvens* знижується вірогідно і переважно в 3 - 6 разів (рис. 1). Найчутливішими ензимами до дії токсиканта виявилися малатдегідрогеназа й фумараза. Форміатдегідрогеназа, малікензим і лактатдегідрогеназа є менш чутливими за попередні ензими, а аконітаза й ізоцитратдегідрогеназа є порівняно найменш чутливими. Додавання кліноптилоліту до культурального середовища вірогідно підвищує активність усіх ензимів. Очевидно, природний сорбент не здатний повністю відновити попередні рівні активності ензимів і різниці, порівняно з контролем, залишалися ще вірогідно значними.

Внутрішньоклітинні ензими амілолітичного штаму *S.bovis* (рис. 2) виявилися значно стійкішими до дії біоциду. Вони вірогідно знижували свої активності, але не такою високою мірою як у клітинах целюлозо- і пектинолітичної бактерії *B. fibrisolvens*. Необхідно тут додати те, що в експериментах, за яких вивчався вплив пентахлорфенолу на активність ензимів у клітинах *S. bovis*, доза його була в 2,5 раза вищою (100 – проти 40 мкМ), а за умов внесення кліноптилоліту в культуральне середовище з ПХФ спостерігається на 12 – 30% підвищення їхньої активності. У цілому, активність усіх ензимів наближалася майже до рівня контролю завдяки відносно вищій антиоксидантній стійкості бактерій *S. bovis* та протекторної здатності доданого сорбенту. Як видно із експериментальних даних, різниці у відмінностях ензимних активностей, порівняно з контролем, залишаються лише в межах (15 – 48 %), тоді як для *B. fibrisolvens* вони є вищими (50 – 80%).

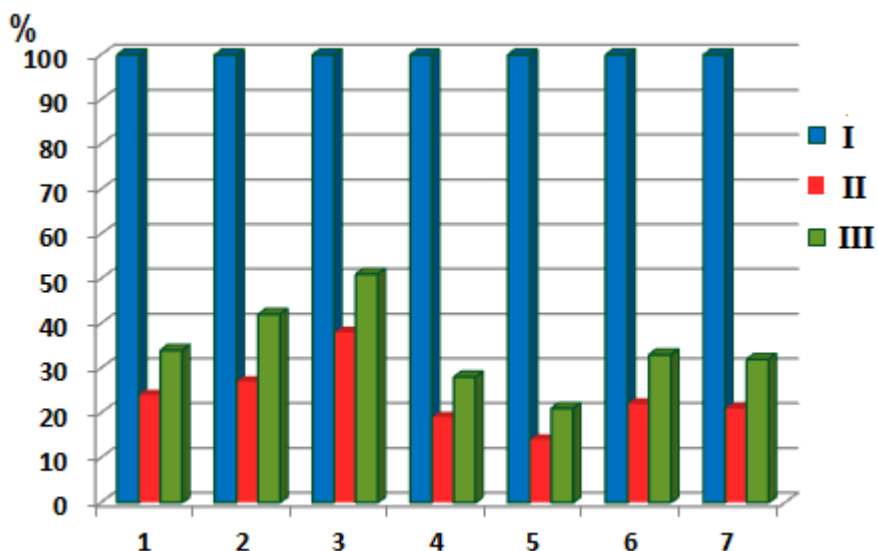


Рис. 1. Дія пентахлорфенолу та кліноптилоліту на активність внутрішньоклітинних ензимів *Butyrivibrio fibrisolvens* 787 ($M \pm m$; $n=5$; I - контроль, К; II – К + 40 мкмоль ПХФ; III – К + 40 мкмоль ПХФ + 3 г/пробу Кл; 1- лактатдегідрогеназа, 2 - аконітаза, 3- ізоцитратдегідрогеназа, 4 - фумараза, 5 - малатдегідрогеназа, 6 - малікензим, 7 - форміатдегідрогеназа).

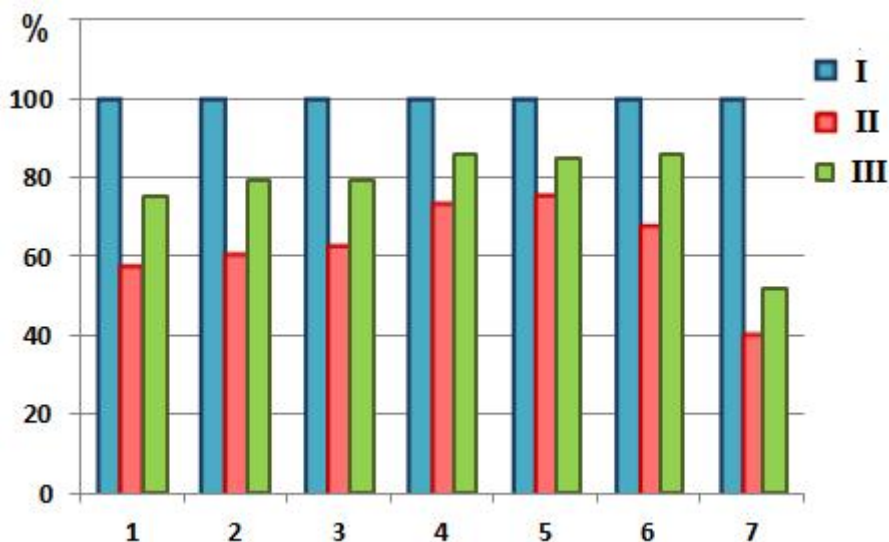


Рис. 2. Дія пентахлорфенолу та кліноптилоліту на активність внутрішньоклітинних ензимів *Streptococcus bovis* AO 24/85 ($M \pm m$; $n=5$; I - контроль, К; II – К + 40 мкмоль ПХФ; III – К + 100 мкмоль ПХФ + 3 г/пробу Кл; 1- лактатдегідрогеназа, 2 - аконітаза, 3- ізоцитратдегідрогеназа, 4 - фумараза, 5 - малатдегідрогеназа, 6 - малікензим, 7 - форміатдегідрогеназа).

Згідно з даними рис. 3 клітини *M. elsdenii* ще менше реагували на токсичну дію пентахлорфенолу. За винятком аконітази, яка під дією токсиканта (за дози його 100 мкМ) знижувала свою активність на 42 %, решта ензимів знижували свою каталізуючу здатність переважно на 25 – 30 %. Можливо, що внутрішньоклітинні ензими, які функціонують майже на рівні інтактних клітин, достатньою мірою захищаються сорбуючою здатністю кліноптилоліту. Передусім, це стосується лактатдегідрогенази, активність якої під дією ПХФ знижується лише на 27% порівняно з контролем, а в присутності сорбенту зростає на 22 %, тобто відновлюється майже до рівня активності контрольного варіанту. При аналізі зрушень активності малатдегідрогенази відмічаються подібні зміни за дії токсиканта й сорбенту, тоді як решта ензимів змінюють свої активності майже в таких межах, як внутрішньоклітинні ензимні системи *B. fibrisolvens* та *S. bovis*.

Раніше було виявлено, що клітини *M. elsdenii* мають найвищу стійкість до токсичної дії підвищених доз пентахлорфенолу. Наведені на рис. 1-3 дані узгоджуються із результатами досліджень щодо визначення рівнів кінцевих продуктів ферментації досліджуваних чистих штамів, а також з кінетикою їх росту [9]. Стосовно аналізу окремих ензимів слід відмітити, що активність лактатдегідрогенази (рис. 1–3) є в декілька разів нижчою в клітинах *B. fibrisolvens*, порівняно із *S. bovis* та *M. elsdenii*. Це, мабуть, вказує на різну інтенсивність відновлення в них пірувату до лактату.

Враховуючи те, що в таких лактатутилізуючих бактерій, як *M. elsdenii* метаболізм спрямований у протилежний бік [1, 7], то можна стверджувати, що перетворення лактату в піруват (зворотна лактатдегідрогеназна реакція) відбувається на дуже високому рівні в клітинах цієї бактерії.

Внесення в культуральне середовище 100 мкМ ПХФ, критичної в фізіологічному діапазоні кількості біоциду [9]), спричинює неоднозначний вплив на реакцію останнього етапу гліколізу навіть у таких порівняно високостійких бактерій, як *S. bovis* і *M. elsdenii*, а добавки кліноптилоліту за паралельної дії ПХФ підвищують активність лактатдегідрогенази у клітинах *B. fibrisolvens* на 41, 5 %, у клітинах *S. bovis* – на 29,8 % і в *M. elsdenii* – на 5,6 %, хоча дають різний кінцевий ефект, зважаючи на загальні об'єми виконаної ензимом роботи порівнюваних штамів різних бактерій. Отже, кліноптилоліт посилює лактогенез, правда різною мірою, як у лактатутворюючих, так і лактатутилізуючих бактерій. У цілому, на всі види бактеріального комплексу рубця вплив кліноптилоліту є позитивним, що відмічалось і при вивченні дії сорбенту на загальну популяцію рубцевих мікроорганізмів-симбіонтів [4, 6, 10-12].

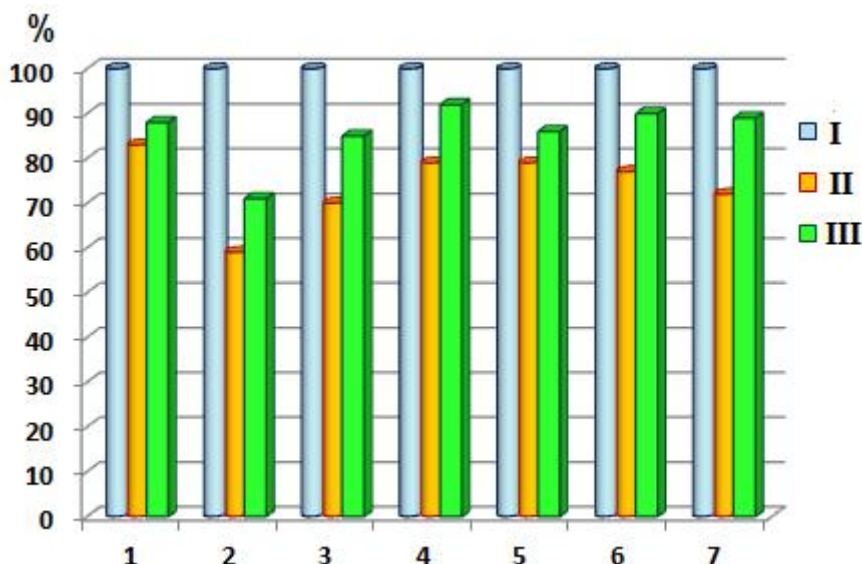


Рис. 3. Дія пентахлорфенолу та кліноптилоліту на активність внутрішньоклітинних ензимів *Megasphaera elsdenii* LC8 за умов впливу ($M \pm m$; $n=5$; I – контроль, К; II – К + 40 мкмоль ПХФ; III – К + 100 мкмоль ПХФ + 3 г/пробу Кл; 1- лактатдегідрогеназа, 2 - аконітаза, 3- ізоцитратдегідрогеназа, 4 - фумараза, 5 - малатдегідрогеназа, 6 - малікензим, 7 - форміатдегідрогеназа).

Оскільки форміат є кінцевим продуктом метаболізму лактатуутворюючих і лактатутилізуючих бактерій, то репресія й дерепресія його синтезу, в тому числі й активність NAD-залежної форміатдегідрогенази, може відповідно послаблюватися дією ПХФ і частково відновлюватися з допомогою кліноптилоліту. Ця реакція вважається однією з найхарактерніших при вивченні особливостей метаболізму в клітинах різних видів бактерій [1, 6, 7].

За оцінки ензимної здатності аконітази, яка забезпечує досягнення рівноваги в циклі трикарбонних кислот (зокрема відповідної кількості цитрату, *цис*-аконітату та ізоцитрату), було відмічено, що вона у *B. fibrisolvens* є найчутливішою до дії ПХФ, оскільки її активність у цієї бактерії зменшується утричі, а в *S. bovis* і *M. elsdenii* – майже у 2 рази. Кліноптилолітовий захист аконітази від токсичної дії ПХФ у досліджуваних клітинах бактерій відповідно складає ~ 47; 29 і 22 %, але після врахування неоднакових вихідних рівнів її активності в цих мікроорганізмів загальна протекція ензиму в них сорбентом стає відповідно такою 41,6; 78,1 і 71,2%.

Завдяки сорбуючим та іншим властивостям кліноптилоліт здатний суттєво захищати функції аконітази у клітинах досліджуваних штамів рубцевих бактерій, особливо в амілолітичних різновидах, які переважають у бактеріальному комплексі, сформованому на концентратній дієті. Одночасно в такою ж мірою сорбентом захищаються і такі *грам*-негативні бактерії, як *M. elsdenii*, які синтрофно співіснують з амілолітичними (*S. bovis*).

Якщо окиснення ізоцитрату до α -кетоглутарату у клітинах досліджуваних бактерій контрольних варіантів знаходиться на однаковому рівні, то за впливу пентахлорфенолу ця реакція інгібується неоднаково: у *B. fibrisolvans* більше, ніж у 2 рази, у *S. bovis* – на 36,4 % і у *M. elsdenii* – на 30,1 %. Внесення кліноптилоліту в культуральне середовище підвищує активність ізоцитратдегідрогенази у клітинах *B. fibrisolvans* на 36 %, у *S. bovis* – на 24,2 і *M. elsdenii* – на 22,2 %. Отже, сорбентом здійснюється відповідна регуляторна роль, що чітко відмічається за вірогідного впливу його на вищевказаний етап перетворень, яким лімітується швидкість цілого циклу трикарбонових кислот.

Оскільки з допомогою фумарази каталізується гідратація фумарової кислоти з утворенням L-малату, то активність *транс*-приєднання H^+ і OH^- до подвійного зв'язку фумарату в *B. fibrisolvans* була значно нижчою, ніж у *S. bovis* та *M. elsdenii*. Пентахлорфенол понижує активність цього ензиму в 5 разів у клітинах *B. fibrisolvans*, на 25,7 % – в *S. bovis* і на 21,2 % у *M. elsdenii*, а доданий у середовище з ПХФ кліноптилоліт підвищує її у клітинах цих штамів відповідно на 44,3 %, на 15,2 % і на 16,7%.

Досліджувані клітини бактерій мають своєрідні особливості й межі відхилень на цьому етапі метаболізму. Аналогічна картина спостерігається з останньою реакцією циклу трикарбонових кислот – окиснення L-малату до оксалоацетату: у *B. fibrisolvans* L-малатдегідрогеназна активність є майже у 7 разів нижчою, ніж у *S. bovis* і ~ в 4 рази, ніж у *M. elsdenii*. За дії ПХФ вона інгібується найбільше в першого бактеріального штаму (у 7 разів) і тільки на 24,4 % та на 20,6 % відповідно у двох інших.

Практично подібні зміни спостерігаються і при аналізі змін рівня активності оборотної анаплеротичної реакції (L-малат + $NADP^+$ \leftrightarrow піруват + CO_2 + $NADP \cdot H$ + H^+ , каталізованої малатдегідрогеназою декарбоксилуючою – малікензимом), за рахунок якої метаболічна система поповнюється енергією й важливими інтермедіатами. Важливо відмітити те, що малікензим взагалі має найнижчу активність у *B. fibrisolvans*, тоді як вона є вищою в 4 рази у *S. bovis* і майже в 15 разів – у *M. elsdenii*. Малатдегідрогеназа декарбоксилуюча, за нашими спостереженнями, є найчутливішим ензимом до впливу ПХФ у клітинах *B. fibrisolvans*. Активність її у цих бактеріальних клітинах знижується токсикантом більше, ніж у 4 рази, а в *S. bovis* – на 31,9 % і в *M. elsdenii* – на 22,8%. При внесенні в середовище з ПХФ кліноптилоліту активність малікензиму в клітинах досліджуваних бактерій (*B. fibrisolvans*, *S. bovis*, *M. elsdenii*) зростає відповідно на 47,6 %; 26,1 % і 16,4 %.

Вищенаведені експериментальні дані, разом з іншими, вказують на досить велику різноманітність функціонування ензимних систем у клітинах різних видів бактерій, які в комплексі з іншими мікроорганізмами створюють загальний мікробний комплекс рубця, що за значенням виконаної роботи може прирівнюватися до окремого, своєрідно важливого органу травлення у жуйної тварини [4-7]. Із наведених результатів також видно, що окремі бактерії цілого мікробного комплексу, хоч і виконують кожна свою звичайну роль, але в

загальному, беруть ще й своєрідну участь у процесах зниження рівня токсичної дії ПХФ. У біологічному [6, 11] та практичному аспектах [10-12] у цьому процесі суттєву позитивну роль може відігравати також і застосування природного сорбенту – кліноптилоліту.

На даний час механізм біологічної дії одного з найбільш поширених біоцидів – пентахлорфенолу залишається невідомим. Враховуючи проблеми, що виникають після забруднення навколишнього середовища такими токсикантами, як ПХФ, особливий інтерес викликають всі аспекти їхньої біологічної дії в шлунково-кишковому тракті і передусім у тих відділах, які густо заселені мікроорганізмами-симбіонтами. Адже можна було передбачати, що певна частка токсичності біоцидів мала би знешкоджуватися мікроорганізмами-симбіонтами. У зв'язку з цим дослідження біоцидної дії ПХФ на змішані мікробні популяції, асоціації різновидів та клітин окремих чистих штамів є важливими і необхідними. Поряд з цим невідомою залишається роль сорбенту (кліноптилоліту) в процесах захисту внутрішньоклітинного метаболізму в чистих штамів рубцевих бактерій за умов токсичної дії ПХФ. Одержані нами експериментальні дані, на наш погляд, мають певне пізнавальне, науково-теоретичне й практичне значення.

Висновки.

1. Вивчалася ензимна активність клітин окремих мікроорганізмів-симбіонтів за умов токсичної дії найбільш поширеного в довкіллі біоциду - пентахлорфенолу (ПХФ) та протекторної здатності природного сорбенту - кліноптилоліту, поклади якого тільки у Закарпатті перевищують 1 млрд. тонн.

2. За активністю семи ключових внутрішньоклітинних ензимів чітко відрізняються між собою клітини чистих рубцевих штамів (*Butyrivibrio fibrisolvens*, *Streptococcus bovis* і *Megasphaera elsdenii*).

3. У клітинах дуже чутливої до біоциду бактерії *B. fibrisolvens* активність досліджуваних ензимів вірогідно знижується за дії навіть малої дози ПХФ (40 мкМ).

4. Активність всіх ензимів вірогідно зменшується у клітинах, менш чутливих до токсиканту штамів бактерій (*S. bovis* і *M. elsdenii*), тільки за впливу у 2,5 раза вищої ПХФ.

5. Ензимну активність у клітинах усіх досліджуваних чистих штамів мікроорганізмів-симбіонтів рубця вірогідно підвищує додавання кліноптилоліту до інкубаційного бактеріального середовища з пентахлорфенолом у вищевказаних дозах.

Література

1. Stewart C.S. The rumen bacteria / C.S. Stewart, M.P. Bryant // The rumen microbial ecosystem. – [Ed. P.N. Hobson]. – London-New York, 1988. – P. 21–75/
2. Marounek M. Dynamics of the redox-potential and pH in the rumen fluid of goats / M. Marounek, S. Bartoš, G. I. Kalachnyuk // Physiol bohemslov. – 1982. – Vol. 31, № 4. – P. 369–374.

3. Калачнюк Г. І. Метаболізм бактерій рубця за дії зовнішньоклітинного редокс-потенціалу / Г. І. Калачнюк, М. Мароунек, Л. Г. Калачнюк, О. Г. Савка // Укр. біохім. журн. – 1994. – Т. 66, № 1. – С. 30-41.

4. Калачнюк Г.І. Симбіоз і біотехнологічні основи підвищення продуктивності тварин / Г.І. Калачнюк // Науковий вісник ЛДАВМ ім. С.З. Гжицького. – 2000. – Т.2, №2, Ч.2. – С. 104–112.

5. Kmet' V. Rumen ecosystem manipulation of calves and lambs by microbial preparation / V. Kmet', M. Baran, G.I. Kalachnyuk // Opryvnovanie bachorového ekosystému teliat a jahniat mikrobiálnymi preparatami / [ed. K. Vod'a]. – Bratislava: Veda, 1990. – 112 p.

6. Калачнюк Л.Г. Молекулярні аспекти екзогенної регуляції метаболізму у клітинах мікроорганізмів-симбіонтів та тварини господаря : автореф. дис. на здобут. наук. ступ. докт. біол. наук : спец. 03.00.04 “Біохімія“ / Л.Г. Калачнюк. – Київ, 2009. – 40 с.

7. Калачнюк Г.І. Метаболізм форміату за дії лактатпродукуючих і лактатутилізууючих бактерій рубця / Г.І. Калачнюк, О.А. Войтюк, О.Г. Савка // Укр. біохім. журн. – 1994. – Т. 66, № 4. – С. 43 – 51.

8. Yokoyama M.T. Sensitivity of ruminal microorganisms to pentachlorophenol / M.T. Yokoyama, K.A. Johnson, J. Gierzak // Appl. Environ. Microbiol. – 1988. – Vol. 54, № 11. – P. 2619–2624.

9. Метаболізм мікробних популяцій рубця, сформованих на біосубстратах із різною доступністю, за дії пентахлорфенолу / Л.Г. Калачнюк, О.Є. Возна, Г.І. Калачнюк [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2002. – Т. 74, № 3. – С. 31–41.

10. Грабовенский И.И. Цеолиты и бентониты в животноводстве / И.И. Грабовенский, Г.И. Калачнюк. – Ужгород: Карпати, 1984. – 72 с.

11. Калачнюк Г.И. Физиолого-биохимическое и практическое обоснование скармливания цеолитов / Г.И. Калачнюк // Вестник с.-х. науки. – Москва: Колос, 1990. – № 3. – С. 56–64.

12. Биотехнологические основы эффективных кормосочетаний с сорбентами / Г.И. Калачнюк, Ю.Н. Лыцур, О.Г. Савка [и др.] // Актуальные проблемы биологии в животноводстве: 3-я междунар. конф. Россия, 2000 г.: тез. докл. – Россия, Боровск, 2000. – С.94–95.

Summary

**M. Kalachnyuk¹, D. Mel'nychuk¹, L. Kalachnyuk¹, M. Marounek²,
O. Savka², G. Kalachnyuk¹**

¹*National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Heroyiv
Oborony st. 15, Kyiv 03041, Ukraine*

²*Institute of Animal Physiology and Genetics, Czech Academy of Sciences, Prague,
Czech Republic*

**ENZYMATIC ACTIVITY IN CELLS OF SOME MICROORGANISMS-
SYMBIONTS UNDER EFFECT OF EXOGENOUS FACTORS**

It has been studied enzymatic activity in cells of some microorganisms-symbionts under toxic effect of the most common in the environment biocide - pentachlorophenol (PCP) and protective ability of natural sorbent - clinoptilolite, its deposits are only more than 1 billion tons in the West Ukraine (Zakarpattia). -

*It has been shown that the cells of pure ruminal strains (*Butyrivibrio fibrisolvens*, *Streptococcus bovis* and *Megasphaera elsdenii*) are different by the activity of the seven key intracellular enzymes. Under effect of a small dose of PCP (40 mM), activity of the studied enzymes significantly is reduced in cells of very sensitive to the biocide bacterium *B. fibrisolvens*. In the cells of less sensitive to toxicant strains of bacteria (*S. bovis* and *M. elsdenii*), activity of all enzymes is significantly reduced only under effect in 2.5 times higher dose of PCP. Adding clinoptilolite into bacterial incubation medium with pentachlorophenol in the above doses significantly increases the enzymatic activity in the cells of all investigated pure strains of microorganisms-symbionts of rumen.*

Key words: *intracellular enzymes, pure strains of microorganisms of rumen, biocides, pentachlorophenol, natural sorbents, clinoptilolite.*

Рецензент – д.с.-г.н., професор, чл.-кор. НААНУ Кирилів Я.І.