

УДК 636.32/.38.087:57.21:591.132

© 2015

*І.А. Помітун,**доктор сільсько-  
господарських наук**Т.Ю. Трускова,**кандидат  
біологічних наук**В.І. Россоха,**кандидат сільсько-  
господарських наук**О.Г. Грицина**Н.С. Ємельянова**Інститут  
тваринництва  
НААН*

## **МІКРОБІОТА ВМІСТУ РУБЦЯ ОВЕЦЬ ЗА ЗГОДОВУВАННЯ ШРОТУ З ГЕНЕТИЧНО МОДИФІКОВАНОГО СОНЯШНИКУ**

**Мета.** Дослідити вплив генетично модифікованих компонентів у складі кормів на мікробіоту вмісту рубця овець. **Методи.** Дослідження проведено на трьох групах-аналогах 7-місячних баранців, підготовчий період — 8 діб. Упродовж місяця тварини контрольної групи отримували раціон відповідно до їх фізіологічної норми, а тваринам дослідних груп частину раціону замінили соняшниковим шротом з умістом 12 та 100% ДНК промотору 35S відносно геномної ДНК сої (відповідно, шрот/12 та шрот/100). Після забою баранців у вмісті рубця загальноприйнятими методами визначили загальну кількість мікроорганізмів, інфузорій, мезофільних аеробних і факультативно анаеробних мікроорганізмів, лактобактерій, мікроскопічних грибів, активність редуктаз та целюлозолітичну активність, загальну кислотність і показник концентрації іонів водню (рН). **Результати.** У тварин, яким згодовували шрот/100, порівняно з тими, до раціону яких входив шрот/12, виявлено більшу загальну кількість мікроорганізмів (у 40 разів,  $P > 0,95$ ), меншу кількість інфузорій (в 1,75 раза,  $P > 0,95$ ), вищу загальну кислотність (в 1,2 раза,  $P > 0,95$ ) та вищу активність редуктаз. **Висновки.** Зменшення кількості інфузорій у вмісті рубця баранців, до раціону яких входив шрот/100, свідчить про наявність чинників, несприятливих для розвитку інфузорій.

**Ключові слова:** генетично модифікований соняшник, шрот, баранці, мікробіота вмісту рубця, кількість, активність.

Головним джерелом енергії та білка для худоби є кукурудза, соя та олійні культури, серед яких останнім часом переважають генетично модифіковані організми (ГМО). Відповідно, збільшується споживання тваринами кормів, що містять ГМО.

Особливість травлення жуйних тварин полягає в тому, що у рубці в процесі мікробної ферментації перетравлюється близько 85% усієї перетравної сухої речовини. Мікроорганізми рубця, з одного боку, забезпечують первинне перетравлення корму,

з другого — є джерелом мікробіальних білків і біологічно активних речовин для організму тварин. Рубець можна порівняти з високо-ефективною системою безперервного культивування мікроорганізмів, серед яких переважають анаеробні бактерії та найпростіші. Продуктивність цієї системи, насамперед, визначають рівні співвідношення й джерела поживних речовин, що надходять з кормом. Отже, першою реакцією на зміни якості корму, що споживає жуйна тварина, мають бути зміни кількості певних груп мікроорганізмів

у вмісті рубця. Незважаючи на те, що донині не виявлено негативного впливу на мікрофлору вмісту рубця жуйних тварин за застосування у складі кормів ГМ кукурудзи та сої [11–14], багато науковців вважають, що потрібно продовжувати дослідження *in vivo* на високопродуктивних сільськогосподарських тваринах для визначення безпечності та поживної цінності ГМО.

**Мета** — дослідити вплив генетично модифікованих компонентів у складі кормів на мікробіоту вмісту рубця овець.

**Матеріали та методика досліджень.** Було сформовано 3 групи-аналоги баранців віком 7 міс. по 3 гол. у кожній з живою масою 32–40 кг. Упродовж підготовчого періоду тривалістю 8 діб тварини споживали корми відповідно до їх фізіологічної норми.

Протягом наступних 33-х діб тварини контрольної групи отримували той самий раціон, що і в підготовчий період, а тваринам дослідних груп частину раціону замінили соняшниковим шротом із різним умістом ГМО. Після завершення дослідів у тварин відбирали кров для визначення гематологічних показників, зважували, забивали, відбирали вміст рубця та зразки внутрішніх органів і тканин для подальшого дослідження.

Перед проведенням дослідів стандартизованими або загальноприйнятими методами визначали у соняшниковому шроті наявність ДНК промотору 35S (маркер ГМО) [5–7] та

досліджували загальну токсичність [9], обсіменіння мікроорганізмами [1–4] й хімічний склад компонентів раціону для тварин. Кількість і активність мікрофлори вмісту рубця баранців визначали загальноприйнятими методами [1–4, 8].

**Результати досліджень.** Раціони тварин контрольної та дослідних груп за хімічним складом і поживністю були аналогічні й відповідали нормі для баранців живою масою 32–40 кг, за винятком того, що тварини дослідних груп отримували перетравного протеїну на 23% більше (табл. 1, 2). За живою масою між баранцями контрольної та дослідних груп протягом дослідів вірогідної різниці не виявлено.

У 1-й партії соняшникового шроту вміст ДНК промотору 35S щодо геномної ДНК сої становив 100%, у 2-й — 12%, хоча остання не мала містити ГМО (далі — шрот/100 і шрот/12). Обидві партії шроту були нетоксичні. Щодо обсіменіння мікроорганізмами, то кількість мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів (МАФАНМ) у шроті/100 була більшою, ніж у шроті/12 в 6 разів (відповідно,  $1,8 \cdot 10^6$  та  $3,0 \cdot 10^5$  колонієутворювальних одиниць (КУО) в 1 г), коагулазопозитивних стафілококів — в 6,2 раза ( $2,6 \cdot 10^3$  та  $4,2 \cdot 10^2$  відповідно), бактерій родини *Enterobacteriaceae* — однаковою (менше ніж  $2,0 \cdot 10^1$ ), а плісневих грибів — меншою втричі ( $2 \cdot 10^4$  та  $6 \cdot 10^4$  КУО/г відповідно).

Загальна кількість мікроорганізмів у вмісті рубця баранців, яким згодовували шрот,

### 1. Хімічний склад (%) і поживність використаних кормів

Показник	Корми			
	Зерно ячменю	Сіно	Шрот/100	Шрот/12
Суха речовина, м.ч.	86,25	81,95	91,43	88,09
Сира зола, м.ч.	2,71	9,59	4,44	4,62
Сирий жир, м.ч.	2,53	0,92	5,61	4,89
Нітроген, м.ч.	2,125	2,217	4,772	4,739
Сирий протеїн, м.ч.	13,28	13,86	29,83	29,62
Сира клітковина, м.ч.	16,54	31,54	27,75	25,58
БЕР, %	50,19	26,04	23,80	23,38
Кальцій, м.ч.	0,224	2,728	0,462	0,452
Фосфор, м.ч.	0,349	0,222	0,529	0,536
Коефіцієнт перетравності	0,9276	0,8908	0,9200	0,9200
ОЕ, МДж/кг СР	9,47	6,32	9,45	9,21
Кормові одиниці/кг	0,831	0,390	0,781	0,771

Примітка: м.ч. — масова частка; БЕР — безазотисті екстрактивні речовини; СР — суха речовина; ОЕ — обмінна енергія.

**2. Раціон годівлі баранців протягом дослідного періоду\***

Корми, кг/голову/добу	Група тварин		
	контрольна	I (шрот/100)	II (шрот/12)
Сіно люцернове	1,20	1,20	1,20
Зерно ячменю	0,50	0,20	0,20
Шрот	–	0,25	0,25
<i>Поживність раціону</i>			
Кормові одиниці	0,88	0,83	0,83
ОЕ, МДж	12,32	11,84	11,78
Перетравний протеїн, г	172,9	213,1	213,6
Суха речовина, г	1414,7	1384,5	1376,1

\* У підготовчий період всі тварини отримували по 1,2 кг сіна та 0,5 кг зерна ячменю, що становило 0,76 к. од., 10,90 МДж, 158,9 г перетравного протеїну та 1285,3 г сухої речовини.

виявилася вірогідно більшою ( $P>0,95$ ), ніж на контролі, в середньому, у 590–23 570 разів (табл. 3). Водночас у тварин, які отримували шрот/100 (I група), цей показник був вищим

у середньому в 40 разів ( $P>0,95$ ), ніж у тих, яким згодовували шрот/12 (II група).

Кількість інфузорій у вмісті рубця баранців, до раціону яких входив шрот, навпаки, була меншою, ніж на контролі, в середньому на 46,7–81,8% ( $P>0,95$ ). При цьому у тварин, які отримували шрот/100, інфузорій було в 1,75 раза менше ( $P>0,95$ ) порівняно з тими, яким згодовували шрот/12.

Виявлено більшу порівняно з контролем кількість мікроскопічних грибів у вмісті рубця тварин, до раціону яких входив шрот (у середньому в 2 519–14 815 разів). Однак різниця за цим показником між тваринами обох дослідних груп була лише на рівні тенденції ( $P>0,90$ ).

Розбіжності за кількістю МАФАНМ, зокрема бактерій родини *Enterobacteriaceae*, та галотолерантних мікроорганізмів між тваринами різних груп були невірогідні. Щодо наявності коагулазопозитивних стафілококів у вмісті рубця тварин, яким згодовували шрот, то їх виявлено й у досліджених зразках шроту.

Активність редуказ мікрофлори вмісту рубця баранців, які отримували шрот/100, була вищою: знебарвлювання метиленового синього відбувалося втричі швидше, ніж у тварин,

**3. Склад і активність мікрофлори, водневий показник і загальна кислотність вмісту рубця баранців ( $M\pm m$ )**

Показник	Група тварин		
	I (шрот/100)	II (шрот/12)	контрольна
Загальна кількість мікроорганізмів, МТ/см <sup>3</sup>	(3,3±1,1)10 <sup>15</sup> II**, K**	(8,3±2,9)10 <sup>13</sup> I**, K**	(1,4±0,2)10 <sup>11</sup> I**, II**
Інфузорії, клітин/см <sup>3</sup>	(3,00±0,14)10 <sup>5</sup> II**, K**	(5,25±0,14)10 <sup>5</sup> I**, K**	(6,42±0,22)10 <sup>5</sup> I**, II**
МАФАНМ, КУО/см <sup>3</sup>	(6,5±2,8)10 <sup>11</sup>	(2,0±0,4)10 <sup>11</sup> K**	(7,9±1,6)10 <sup>10</sup> II**
Лактобактерії, КУО/см <sup>3</sup>	>10 <sup>7</sup>	>10 <sup>7</sup>	>10 <sup>7</sup>
<i>Enterobacteriaceae</i> , КУО/см <sup>3</sup>	(7,8±7,1)10 <sup>4</sup>	(2,7±1,2)10 <sup>2</sup>	(6,7±2,9)10 <sup>2</sup>
Коагулазопозитивні стафілококи, КУО/см <sup>3</sup>	(2,4±2,0)10 <sup>7</sup>	(1,1±0,6)10 <sup>5</sup>	<(2,0±0,0)10 <sup>3</sup>
Галотолерантні мікроорганізми, КУО/см <sup>3</sup>	(4,8±4,2)10 <sup>9</sup>	(7,3±0,0)10 <sup>5</sup> K*	(1,2±0,5)10 <sup>8</sup> II*
Мікроскопічні гриби, КУО/см <sup>3</sup>	(4,0±1,2)10 <sup>6</sup> II*, K**	(6,8±6,6)10 <sup>5</sup> I*	(2,7±1,2)10 <sup>2</sup> I**
Активність редуказ (проба з метиленовим синім), хв	2,0±0,0	6,0±0,0	8,0±0,0
Целюлозолітична активність, год	80,7±15,7	133,3±34,1	72,7±7,7
Показник концентрації іонів водню, од. рН	7,110±0,030 II**	6,890±0,020 I**	7,000±0,060
Загальна кислотність, ммоль/л	203,3±3,3 II**, K**	166,7±6,7 I**	150,0±5,8 I**

Примітка: МТ — мікробні тіла; КУО — колонієутворювальні одиниці; К — контроль; різниця між даними цієї та зазначених груп: \* на рівні тенденції ( $P>0,90$ ); \*\* вірогідна ( $P>0,95$ ).

яким згодовували шрот/12, і в 4 рази швидше порівняно з контролем.

Загальна кислотність і показник концентрації іонів водню вмісту рубця тварин, до раціону яких входив шрот/100, були вищими, ніж у тих, які отримували шрот/12, та контрольних, в середньому, у 1,2 і 1,4 рази ( $P>0,95$ ), й на 0,22 ( $P>0,95$ ) і 0,11 од. рН відповідно.

За целюлозолітичною активністю мікроорганізмів вмісту рубця між тваринами дослідних і контрольної груп вірогідних відмінностей не виявлено.

Рубець є відкритою системою, тому з його вмістимого, крім анаеробних, виділяють деякі аеробні та факультативно-анаеробні види мікроорганізмів, наявні у кормі й навколишньому середовищі [10]. У нашому досліді у вмісті рубця баранців виявлено коагулазопозитивні стафілококи, бактерії родини *Enterobacteriaceae*, мікроскопічні гриби, наявні у кормі. Однак вірогідне збільшення у 40 разів загальної кількості мікроорганізмів у вмісті рубця баранців, яким згодовували шрот/100, порівняно з тими, які отримували шрот/12, не може бути зумовлено лише різницею в обміненні шроту МАФАНМ.

Наявні у фаховій літературі дані щодо впливу інфузорій на метаболізм у рубці жуйних суперечливі. Однак вважають, що ці найпростіші розщеплюють 25–30% клітковини і стимулюють її розщеплення бактеріями [10]. Є дані щодо зростання популяції бактерій у вмісті рубця після дефаунізації. Інфузорії також кращі, ніж бактерії, консументи молочнокислого ацидозу в рубці. Отже, результати наших досліджень не суперечать наведеним вище даним: загальна кількість мікроорганізмів у вмісті рубця баранців різних груп була обернено пропорційною кількості інфузорій, як і, певною мірою, загальна кислотність.

Інфузорії достатньо чутливі до впливу зовнішніх чинників, тому їх використовують як тест-організми для експрес-визначення загальної токсичності кормів і кормових добавок. З огляду на це вірогідне зменшення кількості інфузорій у вмісті рубця баранців, до раціону яких входив шрот/100, порівняно з тими, що отримували шрот/12, свідчить про вплив несприятливих для розвитку інфузорій чинників, але яких саме на цьому етапі досліджень визначити неможливо.

## Висновки

У вмісті рубця баранців, яким згодовували шрот з умістом 100% ДНК промотору 35S щодо геномної ДНК сої, порівняно з тими, до раціону яких входив шрот з умістом 12% ДНК промотору 35S, виявлено більшу загальну кількість мікроорганізмів — у середньому в 40 разів ( $P>0,95$ ), меншу в 1,75 рази кількість інфузорій

( $P>0,95$ ), вищу в 1,2 рази загальну кислотність ( $P>0,95$ ) та вищу активність редуктаз. Зменшення кількості інфузорій у вмісті рубця баранців, до раціону яких входив шрот з умістом 100% ДНК промотору 35S щодо геномної ДНК сої, свідчить про наявність у ньому несприятливих для розвитку інфузорій чинників.

## Бібліографія

- ГОСТ 10444.12–88 Продукты пищевые. Метод определения дрожжей и плесневых грибов.
- ГОСТ 29184–91 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий семейства *Enterobacteriaceae*.
- ДСТУ ISO 6887-1:2003 Мікробіологія харчових продуктів та кормів для тварин. Горизонтальний метод підрахування коагулазо-позитивних стафілококів (*Staphylococcus aureus* та інших видів). — Ч. 1. Метод з використанням агарового середовища Беард-Паркера (ISO 6887-1:1999, IDT).
- ДСТУ ISO 4833:2006 Мікробіологія харчових продуктів та кормів для тварин. Горизонтальний метод підрахунку мікроорганізмів. Техніка підрахування

- колоній за температури 30 °C (ISO 4833:2003, IDT).
- ДСТУ ISO 21571:2008 Продукты харчові. Методи виявлення генетично модифікованих організмів і продуктів з їхнім вмістом. Екстрагування нуклеїнової кислоти (ISO 21571:2005, IDT).
- ДСТУ ISO 21570:2008 Продукты харчові. Методи виявлення генетично модифікованих організмів і продуктів з їхнім вмістом. Кількісні методи на основі аналізування нуклеїнової кислоти (ISO 21570:2005, IDT).
- ДСТУ ISO 21569:2008 Продукты харчові. Методи аналізу генетично модифікованих організмів і продуктів з їхнім вмістом. Якісні методи на основі аналізування нуклеїнової кислоти (ISO 21569:2005, IDT).

8. *Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник/ В.В. Влізла, Р.С. Федорук, І.Б. Ратич та ін.; за ред. В.В. Влізла. — Львів: Сполом, 2012. — 764 с.*

9. *Токсикологічний контроль кормів та кормових добавок: метод. реком. — К., 1999; затв. Держ. деп. вет. медицини з держ. вет. інспекцією МінАПК України (протокол № 2 від 17–18 грудня 1998 р.).*

10. *Янович В.Г. Біологічні основи трансформації поживних речовин у жуйних тварин/В.Г. Янович, Л.І. Сологуб. — Львів: Тріада плюс, 2000. — 384 с.*

11. *Alexander T.W. Use of quantitative real-time and conventional PCR to assess the stability of the cp4 epsps transgene from Roundup Ready (R) canola in the intestinal, ruminal, and fecal contents of sheep/T.W. Alexander, R. Sharma, M.Y. Deng//J. of Biotechnology. — 2004. — V. 112, № 3. — P. 255–266.*

12. *Aumaitre A. Safety assessment and feeding value for pigs, poultry and ruminant animals of pest protected (Bt) plants and herbicide tolerant (glyphosate, glufosinate) plants: interpretation of experimental results observed worldwide on GM plants/A. Aumaitre// Ital. J. Sci. — 2004. — V. 3. — P. 107–121.*

13. *Assesment of the health impact of GM plant diets in long-term and multigenerational animal feeding trials: A literature review/C. Snell, A. Bernheim, J.-B. Berge et al.//Food and Chemical Toxicology. — 2012. — V. 50. — P. 1134–1148.*

14. *A Three-year longitudinal study on the effects of a diet containing genetically modified Bt176 maize on the health status and performance of sheep/ M. Tralbalza-Marinucci, G. Brandi, C. Rondini et al.// Livestock Science. — 2008. — V. 113. — P. 178–190.*

*Надійшла 11.11.2014.*

**ОГОЛОШЕННЯ**

**Інститут розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця  
Національної академії аграрних наук України продовжує прийом  
до аспірантури на 2015 рік навчання за спеціальностями:**

*06.02.01 – розведення та селекція тварин;*

*03.00.15 – генетика (сільськогосподарські науки);*

*03.00.20 – біотехнологія;*

*06.02.04 – технологія виробництва продуктів тваринництва,*

**а також до докторантури  
на 2015 рік навчання за спеціальностями:**

*06.02.01 – розведення та селекція тварин;*

*03.00.15 – генетика (сільськогосподарські науки).*

Форма навчання для аспірантів — денна та заочна, для докторантів — денна.

Вступникам **до аспірантури** до заяви на ім'я директора інституту потрібно додати такі документи:

особовий листок з обліку кадрів з фотокарткою, завірений печаткою установи останнього місця роботи або навчання (2 прим.);

автобіографію;

характеристику-рекомендацію;

копію диплома з додатком (2 прим.);

копію трудової книжки;

список опублікованих наукових праць або реферат з обраної спеціальності;

медичну довідку про стан здоров'я за формою № 086-у;

копію ідентифікаційного номера.

Вступникам **до докторантури**, крім того, потрібно подати:

розгорнутий план дисертації на здобуття наукового ступеня доктора наук;

копію диплома про присудження наукового ступеня кандидата наук.

Оригінали паспорта (для всіх), диплома про вищу освіту та диплома про присудження наукового ступеня кандидата наук (для докторантів) вступники подають особисто.

Вступні іспити до аспірантури (спеціальність, філософія, іноземна мова) проводяться у **вересні 2015 року**.

**Приймання документів здійснюється до 1 вересня 2015 року**

за адресою:

**08321, Київська область, Бориспільський район, с. Чубинське, вул. Погребняка, 1.**

Довідки за телефоном:

**(04595)3-00-41, 3-00-45**