

М. А. ТЕР-КАРАПЕТАН, Т. Г. АРХТЮНЯН, Г. А. СЕМЕРДЖЯН

ИНФУЗОРИИ СОДЕРЖИМОГО РУБЦА ЖВАЧНЫХ, ИХ СУТОЧНАЯ ДИНАМИКА И АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ

В настоящее время установлена симбионтная роль инфузорий—обитателей рубца жвачных животных, как источников животного белка, дополняющих исключительно растительный рацион хозяина незаменимыми аминокислотами. Однако имеется еще мало данных как о химической деятельности инфузорий, так и о путях синтеза белков инфузориями в условиях рубца. Одним из них—это выделение инфузорий из свежеевзяттого содержимого рубца через хронические фистулы и дальнейшее изучение особенностей их химического состава в зависимости от природы корма и других физиологических факторов, присущих животному-хозяину. Такая возможность создавалась благодаря разработке доступных методов выделения инфузорной фракции содержимого рубца как суммарно, так и по отдельным группам.

Цель настоящей работы—определить в суточной динамике весовое количество, содержание общего и аммиачного азота, а также аминокислотный состав суммарной инфузорной фракции, выделенной из рубца овцы.

Методика. Опытными животными служили валухи помесной породы (топкорунный $\times$ балбас), возрастом в 2—3 года. Животные носили хронические фистулы на рубце, физиологическое состояние их было нормальным.

Суточный рацион составлялся вообще из люцернового сена среднего качества—1 кг, из комбикорма—0,2 кг, а за долгое время в периодах исследования содержимого рубца—исключительно из сена. В периоды отбора проб корм давался один раз в день, в 9 час. утра; вода давалась тоже один раз с кормом, но вволю.

Предполагается, что при таком режиме кормления создаются условия для циклического роста инфузорий с периодом повторения цикла продолжительностью в одни сутки, о чем свидетельствует динамика суточных изменений числа инфузорий и химического состава содержимого рубца [1, 3]. Однако в отличие от обычных микробных культур цикл роста простейших в рубце протекает в открытых условиях: в присутствии богатой бактериальной микрофлоры, отсутствия полного истощения питательных веществ среды и постоянного потока содержимого рубца в последующие камеры преджелудка.

Пробы содержимого рубца брались 4 раза в сутки: в 9 час. утра—натощак, через 3, 6, 9 час. после скармливания.

Изолирование инфузорной фракции проводилось суммарно непосредственно после отбора пробы по описанной методике [2].

Принцип метода заключается в том, что в процессе инкубирования при 38—40°, выделенного из организма животного целого содержимого рубца с добавкой 0,5% глюкозы, происходит интенсивное брожение, в силу чего основная часть остатков кормов поднимается в верхние слои, бактериальная масса остается в средних слоях, а фактически все инфузории оседают на дне сосуда (делительная воронка), откуда можно легко их отделить.

Степень очищения инфузорной фракции от частиц корма и бактериальных тел проверялась микроскопически. Чистота фракций оценивалась не ниже 98%.

Однако в отличие от ранних описаний, полученная в наших опытах инфузорная фракция содержала не только представителей равноресничных из родов *Isotricha* и *Dasytricha*, но также значительную долю малоресничных из родов *Ophryoscolex*, *Metadinium*, *Entodinium* (рис. 1).



а



б

Рис. 1. а) Содержимое рубца $\times 150$, р — остатки растительных тканей и — инфузории; б) инфузории содержимого рубца после их отделения от остатков кормов и бактерий $\times 600$.

Анализу подвергалось множество серий проб, из которых приведены средние значения от трех серий, взятых у одного животного. Проводились они следующими методами: сухое вещество всего содержимого рубца и изолированной от параллельной пробы инфузорной фракции путем высушивания при 90°C; общий азот этих проб определялся методом микрокельдаля; распределение и количественное определение аминокислот — методом одномерной бумажной хроматографии после гидролиза всех фракций 6N HCl. В этих же гидролизатах определялся аминокислотный азот как всего содержимого рубца, так и инфузорной фракции.

1. Сухие вещества, общий и аминокислотный азот инфузорной фракции. Экспериментальные данные приведены в табл. 1.

Таблица 1

1, I — сухое вещество в 100 мл целого содержимого рубца, 2, II — общий N в 3, III — аминный N в 100 г сухого вещества целого содержимого рубца, IV — общий в 100 г сухого вещества инфузорий

Исследуемые пробы по часам	Целое содержимое			Инфузорная фракция				Соотношения $\times 100$		
	1	2	3	I	II	III	IV	I 1	II 2	III 11
9 (натошак) . . .	6,52	2,9	2,3	0,31	0,47	0,35	9,9	4,7	16,2	74
12	4,70	3,6	3,0	0,21	0,42	0,23	9,4	4,4	11,7	55
15	4,78	3,3	2,5	0,26	0,54	0,33	9,9	5,4	16,3	61
18	4,74	3,1	2,7	0,29	0,62	0,31	10,1	6,1	20,0	50

Полученные данные показывают, что доля инфузорной фракции рубца колеблется в пределах 4,4—6,1% от общих сухих веществ всего содержимого рубца с минимальным значением в состоянии натошак и постепенным увеличением по мере интенсификации бродильных процессов рубца. Необходимо подчеркнуть, что абсолютное увеличение инфузорной массы еще велико, так как после приема корма масса кормов по отношению к массе, имеющейся натошак, увеличивается в несколько раз.

Еще большую долю в содержимом рубца занимает азот инфузорной фракции, так как биомасса инфузорий (как и бактерий) богаче азотом по сравнению с остальной массой содержимого рубца (кормовые частицы). Доля азота инфузорной фракции в целом показывает минимальное значение в первые 3 часа после скармливания (11,7%) в силу двух основных факторов, а именно: падение относительного количества инфузорной массы в содержимом рубца, снижение содержания азота в клетках инфузорий (9,4%).

В период интенсификации бродильных процессов рубца от 3 до 9 час. после приема корма постепенно повышаются как содержание общего азота в биомассе (10,1%), так и доля азота инфузорий в целом содержимом (20,0%).

Причинами таких изменений являются не только относительное азотное голодание клеток за сутки после разового приема корма, но также изменения в содержании полисахаридов в клетках и интенсивный обмен азота между инфузориальными клетками и внешней средой.

О глубоких изменениях в составе азотсодержащих компонентов инфузорной клетки, в зависимости от интенсивности бродильных процессов рубца, указывают изменения соотношений аминного азота к общему (50—74%).

2. Изменение аминокислотного состава инфузорий в течение суток. Средние данные, полученные по трем образцам, взятые в разные периоды от одной овцы, приведены в табл. 2 и на рис. 2.

Полученные данные показывают, что суммарный аминокислотный состав биомассы инфузорий, развивающихся в условиях рубца, представляет периодические изменения в течение суток.

Таблица 2

Аминокислотный состав инфузорной фракции содержимого рубца.

I. г в 100 г сухого веса инфузорий и сена (средние данные)

II. Доля отдельных аминокислот в сумме взятая за 100

Амино- кислоты	Время отбора проб								Сено
	9		12		15		18		
	I	II	I	II	I	II	I	II	
Цис	0,54	1,5	0,90	2,0	1,00	1,7	0,55	1,2	0,09
Лиз	3,33	9,9	4,57	10,5	5,89	10,5	4,34	9,5	0,74
Гис	1,30	3,5	2,23	5,1	3,18	5,6	2,60	5,7	0,71
Арг	1,36	3,8	1,95	4,5	2,42	4,3	2,03	4,5	1,03
Асп	2,12	6,0	2,60	6,0	2,92	5,2	2,60	4,3	0,87
Сер	1,15	3,25	1,70	3,9	2,19	3,9	1,03	2,2	0,43
Гли	1,15	3,25	1,47	3,4	1,23	2,2	1,48	3,2	0,69
Глу	2,51	7,1	2,90	6,7	3,96	7,1	3,60	7,9	1,34
Тре	1,97	5,5	2,30	5,3	1,92	3,4	1,80	3,9	0,67
Ала	2,30	6,4	3,14	7,2	4,08	7,2	2,80	6,2	0,58
Про	3,80	10,7	4,40	10,2	5,60	10,1	6,90	15,1	1,45
Тир	0,57	1,6	0,60	1,3	1,42	2,5	1,24	2,7	0,80
Вал. мет.	5,15	14,5	6,23	14,4	6,80	14,8	4,68	10,2	0,73
Фал	5,21	14,8	4,61	10,7	7,11	17,7	7,30	16,0	0,84
Лей	2,94	8,3	3,61	8,4	6,20	11,0	3,17	6,9	0,74
Сумма аминокислот . . .	35,40	99,8	43,21	99,5	55,91	102,3	45,58	99,5	11,69

Сумма аминокислот инфузорий, выделенных из содержимого рубца в состоянии натошак, снижается по отношению сухой биомассы до минимума (35,4%); после скормливания в связи с поступлением пищи количество аминокислот постепенно увеличивается (55,9%), затем понижается (45,6%), снова достигая минимального уровня на следующее утро.

Замечается также, что в течение суток происходит определенное изменение в соотношении азота аминокислот к протеину инфузорий. Это соотношение низко в состоянии натошак (57%), затем постепенно повышается и достигает своего максимума (90%) в наиболее бурном периоде брожения в рубце, а затем снова понижается до следующего утра. Приведенные данные свидетельствуют о глубокой перестройке азотсодержащих соединений в клетках инфузорий рубца в разных фазах их цикла роста и указывают пути для дальнейшего выяснения ее механизма.

Содержание отдельных аминокислот в биомассе инфузорий в целом подвергается также некоторым изменениям в течение суток. Так например, путем пересчета данных, приведенных в табл. 2, замечается, что концентрации цист(e)ина, лизина, аргинина, серина, пролина, лейцина и др. аминокислот повышается во время интенсивного протекания бродильных процессов до 6 часа после скормливания. Количество некоторых аминокислот увеличивается до 9 часа, как глутаминовая кислота, пролин, тирозин, фенилаланин и др.

Аминокислотный состав целой инфузорной фракции, в частности, в период бурного роста клеток, в условиях рубца, отличается высоким содержанием лизина (10,5%), фенилаланина (10,7—16,7%), валин-метионина (14,4—14,8%), пролина (6,7—7,1%), глютаминовой кислоты (6,7—7,9%), лейцина (8,4—11,0%) и др.



Рис. 2. Аминокислотный состав сена и инфузорий рубца; свид.—смеси аминокислот свидетелей, сено—гидролизат люцернового сена, инф.—гидролизат инфузорий, выделенных из проб содержимого рубца, взятых в 9 час. (патошак), 12, 15, 18 час. в течение суток. Обозначение аминокислот: 1 — цист(е)ин, 2 — лизин, 3 — гистидин, 4 — аргинин, 5 — аспарагиновая кислота, 6 — серин, 7 — глицин, 8 — глютаминовая кислота, 9 — треонин, 10 — аланин, 11 — пролин, 12 — тирозин, 13 — валин-метионин, 14 — фенилаланин, 15 — лейцин + изолейцин.

Сравнение содержания как суммы, так и отдельных аминокислот биомассы инфузорий с сеном показывает весьма высокую эффективность превращения растительных белков в животные инфузорные белки.

В ы ы о д ы

Определены изменения биомассы инфузорий и инфузорного протеина в содержимом рубца овцы в течение суток в условиях разового кормления. Установлено, что доля инфузорного протеина достигает 20% от общего протеина содержимого рубца.

Определен аминокислотный состав целой инфузорной фракции содержимого рубца. Установлено, что сумма аминокислот инфузорной

фракции в течение суток подвергается значительным изменениям. При этом значительно варьируют как соотношение аминокислот к общему содержанию, так и содержание аминокислот в биомассе инфузорий.

Показано, что в аминокислотном составе инфузорий преобладают лизин, валин-метионин, лейцин, фенилаланин и пролин, сумма которых достигает в исследуемом объекте до 49,3%.

Кафедра биохимии
Ереванского государственного университета

Получено 1.IV 1966 г.

Մ. Ա. ՏԵՐ-ԿԱՐԱՊԵՏՅԱՆ, Տ. Դ. ԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ, Գ. Ա. ՍԵՄԵՐՋՅԱՆ

ՈՐՈՃՈՂ ԿԵՆԴԱՆՆԵՐԻ ԿՏՐԻՉԻ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ԻՆՎՈԻԶՈՐԻԱՆԵՐԸ, ՆՐԱՆՑ ՈՐՎԱ ԴԻՆԱՄԻԿԱՆ ԵՎ ԱՄԻՆԱԹՅՈՒՆԻՆ ԿԱՋՄԸ

Ա մ փ ո փ ու մ

Ներկայումս հայտնի է լուրջ բուսական կերերով սնվող որոճող կենդանիների կտրիչում պայթյուն ունեցող ինֆուզորիաների սիմբիոտիկ դերը, որպես յրացուցիչ կենդանական պարտակուցի աղբյուր։ Սակայն դեռ քիչ տվյալներ կան կտրիչի պայմաններում ինֆուզորիաների քիմիական դործունեության և նրանց օրգանիզմում պարտակուցի սինթեզման ուղիների մասին։ Դրանցից մեկը, դա կտրիչի թարմ պարունակությունից ինֆուզորիաների անջատումն ու նրանց քիմիական կազմի ուսումնասիրությունն է։ Այսպիսի ճանապարհություն ստեղծվել է շնորհիվ կտրիչի պարունակությունից ինֆուզոր ֆրակցիայի անջատման հատուկ մեթոդների մշակման։

Մեր կողմից որոշվել է առկական խառնածին ոչխարի կտրիչի պարունակության ինֆուզոր ֆրակցիայի կշռային քանակությունը, ընդհանուր և ամինալիս աղտոնները, ինչպես նաև ամինաթթվային կազմը օրվա զինամիկայում։

Հետազոտությունները տվել են հետևյալ արդյունքները՝

1. Կտրիչի ինֆուզոր ֆրակցիայի ընդհանուր կշիռը տատանվում է ամբողջական պարունակության չոր նյութի 4,4-ից մինչև 6,1%, ընդ որում՝ մինիմալ քանակները գտնվել են քաղցի պրության մեջ և կերը ընդունելուց հետո առաջին երեք ժամվա բնթացքում։

2. Կտրիչի ինֆուզոր ֆրակցիայի ադոսական նյութերի գումարը հասնում է կտրիչի ամբողջական պարունակության 11,7 մինչև 20,0%։ Ազոտի մինիմալ մակարդակը ներառվում է կնյալքմանը հաջորդող առաջին 3 ժամվա ընթացքում, այսպիսի իջնյումը կախված է երկու հիմնական պործոններից՝ ինֆուզոր մասսայի կշռային տեղոսի անկումը պարունակության մեջ և նրանց րջիջներում ընդհանուր ազոտի պակասումը։

3. Որվա բնթացքում ինֆուզոր ֆրակցիայի ամինաթթվների պոմարը ևնթարկվում է զգալի տատանումների, ինչպես կտրիչի պարունակած չոր նյութերի համեմատությամբ, այնպես և ինֆուզորիաների գումարային բիոմասայի համեմատությամբ։

Ինֆուզոր ֆրակցիայի ամինաթթվային ազոտի և ընդհանուր ազոտի հարաբերությունը պզալի շափով ստացանվում է օրվա ընթացքում և մաքսիմումի (90%) է հասնում կտրիչային խմորման ինտենսիֆիկացման ժամանակ:

4. Կտրիչի ինֆուզոր ֆրակցիան աչքի է ընկնում մի շարք կարևորագույն ամինաթթուների մեծ քանակությամբ, այդպիսիներն են լիզինը, վալին-մեթիոնինը, լեյցինը, ֆենիլալանինը և պրովինը, որոնց դոմարը կազմում է ամբողջական ամինաթթուների մինչև $49,3\%$:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Тер-Каранетян М. А., Оганджаниян А. М. ДАН СССР, 125 (3), 666, 1959.
2. Heald P. Y., Oxford A. E. Biochem. J., 53, 506, 1953.
3. Sugden B., Oxford A. E. J. Gen. Microbiol., 7, 145, 1952.