

Микробиом рубца жвачных: современные представления

Георгий ЛАПТЕВ, доктор биологических наук
Лариса ИЛЬИНА, кандидат биологических наук
Валентина СОЛДАТОВА, кандидат сельскохозяйственных наук

Микробиом рубца жвачных включает несколько тысяч постоянно взаимодействующих между собой видов микроорганизмов. Ученые считают, что от состояния микробиома рубца зависит не только эффективность переваривания кормов, но и формирование иммунитета, уровень продуктивности, здоровье и долголетие сельскохозяйственных животных.

Симбиотические взаимоотношения

Уникальной особенностью жвачных животных, таких как крупный рогатый скот, овцы, козы, северные олени, является возможность потребления растительной биомассы в качестве источника питательных веществ и усвоения их благодаря сложившемуся в течение эволюции симбиозу представителей микробиоты рубца.

Микроорганизмы рубца, используя собственные ферментативные системы, расщепляют растительные полисахариды, белки, липиды на различные питательные соединения и витамины.

По современным оценкам, в 1 мл рубцовой жидкости содержится около 10^{11} бактерий, 10^3 – 10^7 грибов, 10^9 архей и 10^6 простейших. Их взаимодействие и совместное обитание в этой многокомпонентной системе связано с многообразием источников растительной клетчатки и разнообразием спектра продуцируемых микроорганизмами целлюлаз и других ферментов.

Сложность исследований

Оказалось, что состав микробиома рубца изучен еще недостаточно: среди тысяч видов детально исследованы лишь десятки. В этом и кроется глав-

ная причина отсутствия понимания роли микробиоты рубца как в процессах пищеварения, так и в жизнедеятельности животного в целом.

Основные причины сложности изучения микробиоты рубца обозначили еще в 50-е гг. XIX в. Тогда было установлено, что значительная часть микроорганизмов рубца представлена строго анаэробными видами, а это является важным лимитирующим фактором при выделении чистых культур на питательных средах.

Исследуя изоляты бактерий и грибов, ученые столкнулись с новой проблемой. Так, даже кратковременное снижение температуры воздуха приводило к гибели большинства штаммов.

Сегодня выявлен ряд недостатков классических микробиологических методов, использующихся при изучении микробных сообществ (например, отсутствуют питательные среды, пригодные для поддержания роста всех жизнеспособных микроорганизмов рубца).

Оказалось, что и идентификация микроорганизмов при помощи традиционных способов имеет погрешности, поскольку морфологические и метаболические свойства одних и тех же штаммов при различных условиях культивирования различаются. Поэтому и сегодня определять коли-

чество и видовую принадлежность целого ряда симбионтов (особенно грибов, архей и простейших) традиционными методами невозможно. Это нередко приводит к неправильной интерпретации результатов исследований, получению ложных корреляций и искажению реальной картины пищеварения и метаболизма в организме животных.

Тем не менее до 90-х гг. прошлого столетия изучение микробиоты рубца проводили с использованием классических методов микробиологии. Ученым удалось выделить ряд изолятов, определить их видовую принадлежность и изучить свойства.

В нашей стране исследования проводили во ВНИИФБиП под руководством доктора биологических наук Б.В. Тараканова и в ВИЖ им. Л. К. Эрнста под руководством доктора биологических наук И.Г. Пивняка. Во ВНИИСХМ подобные работы были начаты кандидатом биологических наук Н.Н. Федулиной и продолжены доктором биологических наук Г.Ю. Лаптевым, что стало заделом для дальнейшего развития этой тематики в компании «БИОТРОФ», но уже с использованием современных молекулярно-генетических подходов.

Молекулярно-генетический анализ

Появление и развитие молекулярно-генетических методов позволило совершить существенный прорыв в микробиологии рубца. Представилась возможность изучать биоразнообразие и определять количество микроорганизмов, минуя стадию их культивирования на питательных средах, а кроме того, получить более деталь-

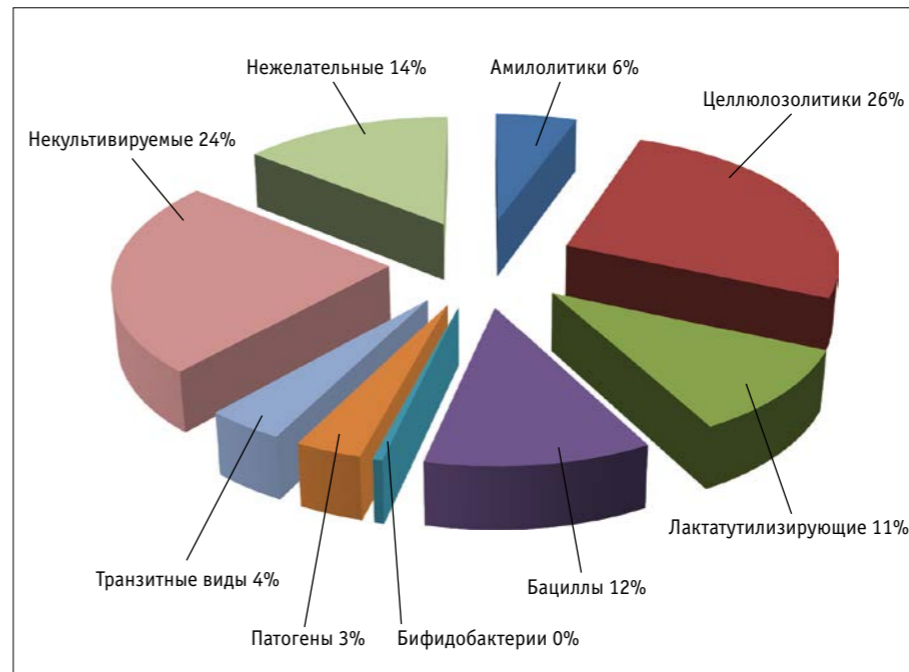


Рис. 1. Среднее содержание микроорганизмов в рубце клинически здоровой коровы

ное представление о процессах, происходящих в рубце.

В России молекулярно-генетические методы изучения микробиома рубца (NGS-секвенирование, T-RFLP-анализ, ПЦР в реальном времени) впервые оптимизировали и применили сотрудники ООО «БИОТРОФ». В 2007 г. в компании создали и оснастили современным оборудованием молекулярно-генетическую лабораторию и стали проводить исследования микробиома рубца, чтобы установить его влияние на здоровье и продуктивность крупного рогатого скота. В нашей стране лаборатория ООО «БИОТРОФ» до сих пор остается единственной, где выполняют такие сложные анализы.

Специалисты компании получили действительно интересные результаты на основе анализа микробиома рубца более 2 тыс. дойных коров, содержащихся в хозяйствах в различных регионах России.

Современный взгляд на микробиом

Выявлено, что почти 90% рубцовых микроорганизмов — некультивируемые и неизвестные ранее, причем новые некультивируемые виды были обнаружены внутри известных таксонов — руминококков, эубактерий, кластридий, лактобактерий и др.

Стало понятно, почему классические микробиологические подходы ранее не позволяли установить статистическую взаимосвязь между микробиотой рубца, рационами, здоровьем, продуктивностью и другими показателями: выявляли далеко не все искомые микроорганизмы.

Основными обитателями рубца крупного рогатого скота оказались микроорганизмы, прямо или опосредованно связанные с процессами ферментации растительных кормов (рис. 1). Прежде всего это грибы — хитридиомыцеты, которые являются основными инициаторами колонизации лигноцеллюлозных материалов, метаногенных архей, бактерии — амилолитики и целлюлозолитики (лахноспиры, руминококки и др.), а также лактатутилизирующие бактерии, ферментирующие ряд кислот, включая молочную. Уже к 2–3 месяцам в рубце телят концентрация микроорганизмов, расщепляющих растительные корма, достигает уровня, характерного для взрослого животного.

Было установлено, что содержание многих микроорганизмов в рубце крупного рогатого скота колеблется в течение суток. Это связано с процессами рубцовой ферментации, в том числе с образованием летучих жирных кислот (ЛЖК), аммиака и других веществ.

Вопреки традиционному мнению у клинически здоровых животных в рубце, помимо представителей нормальной микрофлоры, в небольших количествах выявляли возбудителей различных заболеваний — энтеробактерии (способны вызывать гастроэнтерит), фузобактерии (некробактериоз), стафилококки и кампилобактерии (мастит) и т.д. Это свидетельствует о постоянном их присутствии в рубцовой экосистеме клинически здоровых животных.

Молекулярно-генетические исследования, в отличие от традиционных посевов на питательные среды, дают возможность выявлять статистически значимые различия в составе микробиома рубца жвачных разного возраста, уровня продуктивности и здоровья.

Полученные данные впервые в мировой практике позволили определить границы нормального содержания в рубце микроорганизмов — представителей полезной, нежелательной и условно-патогенной микробиоты — в соответствии с возрастом и физиологическим состоянием животного. В хозяйствах эти нормы сегодня широко востребованы. Их применяют для оценки состояния микробиома рубца.

Особенности микробиома рубца высокопродуктивных коров

Существует ли взаимосвязь между удойностью и микробиомом рубца? Данные исследований, проведенных специалистами компании, показали, что у высокопродуктивных коров формируется особая микрофлора рубца (рис. 2), когда вместо ферментирующих клетчатку целлюлозолитиков развиваются амилолитические бактероиды (особенностью их метаболизма является разложение крахмала, содержащегося в концентратах, до молочной кислоты (лактата), что приводит к снижению pH рубцового содержимого). В результате угнетается рост и чувствительных к снижению pH лактатутилизирующих бактерий. Тем не менее такие условия оптимальны для развития и продуцентов молочной кислоты — лактобактерий, и для патогенов — фузобактерий (для них лактат служит питательным субстратом).

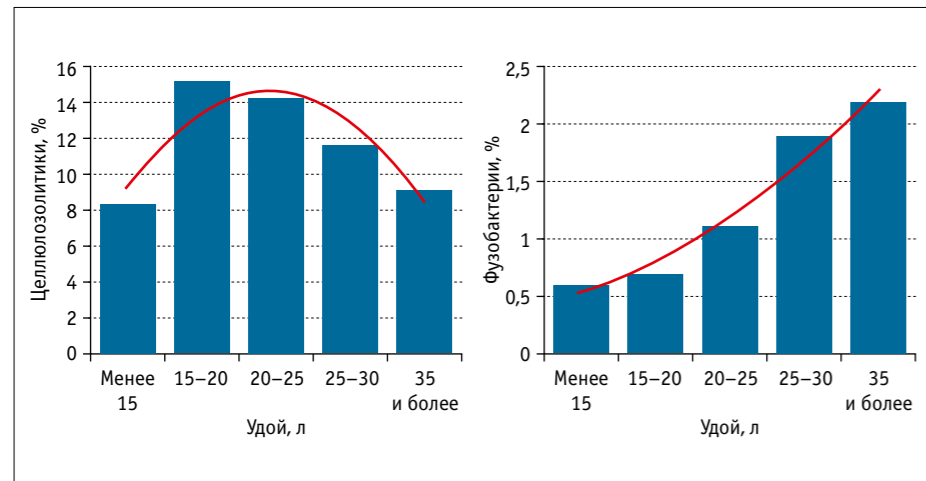


Рис. 2. Взаимосвязь между молочной продуктивностью и составом микробиома рубца коров

Таким образом, кормление высокопродуктивных коров концентратами, с одной стороны, способствует значительному увеличению удоев за короткий промежуток времени, а с другой — наносит ущерб микробиому рубца.

Микробиом и здоровье коров
В лаборатории компании «БИОТРОФ» получены доказательства существования взаимосвязи между составом микробиома рубца и состоянием организма животных.

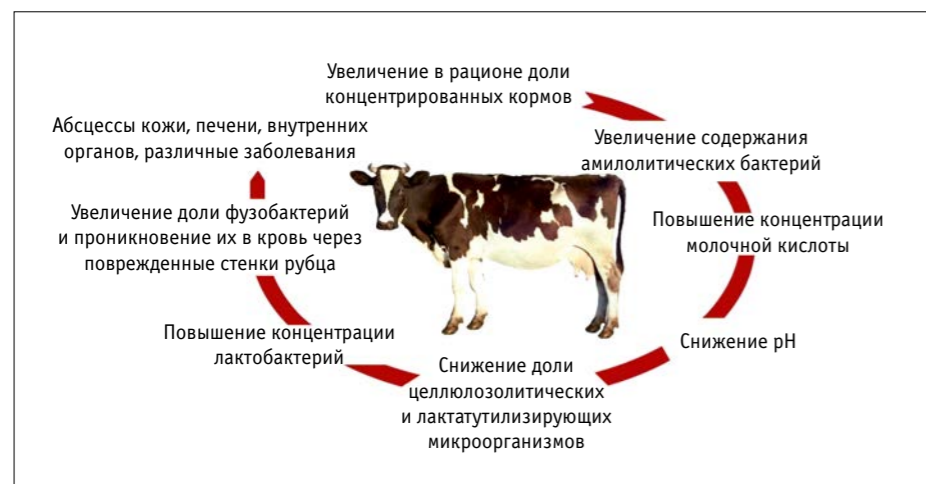


Рис. 3. Изменение микробного сообщества рубца при лактатном ацидозе

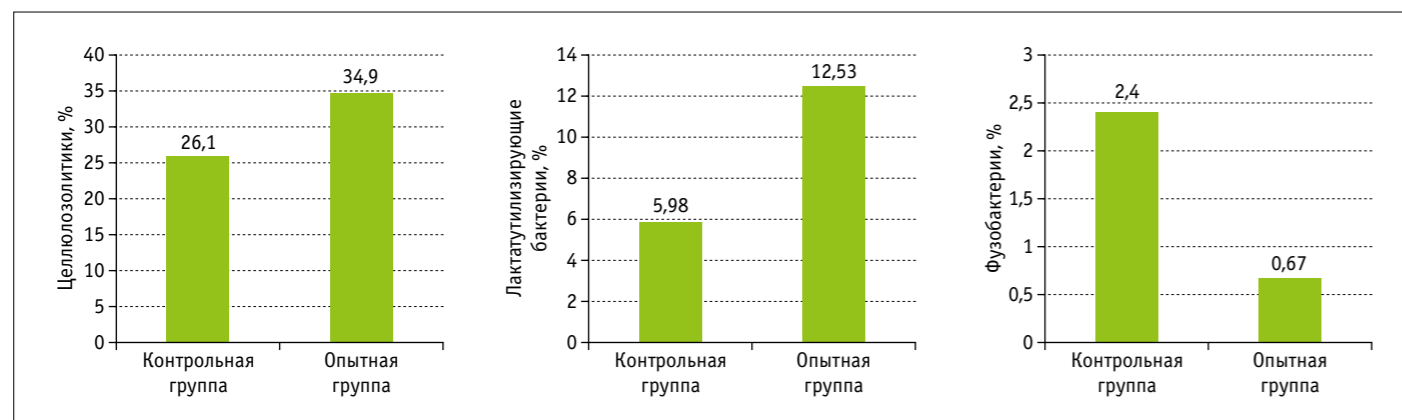


Рис. 5. Влияние препарата Целлобактерин®+ на баланс микробиома рубца коров

Анализ рубцовой микрофлоры больных и выбракованных коров с низким уровнем продуктивности, с симптомами мастита, диареи, гастроэнтерита, с проблемами воспроизводства и заболеваниями копыт показал, что у животных была нарушена микрофлора рубца и каскадно развивался лактатный ацидоз (рис. 3).

Возникновение лактатного ацидоза происходит в тот момент, когда способные к утилизации лактата представители нормофлоры рубца замещаются патогенными фузобактериями, которые также могут усваивать лактат. Поэтому снижение уровня pH при лактатном ацидозе не всегда получается детектировать.

Размножение фузобактерий наносит серьезный вред здоровью животных. Чтобы минимизировать негативное воздействие высококонцентратного типа кормления на организм жвачных, специалисты предлагают организовать их кормление по принципу

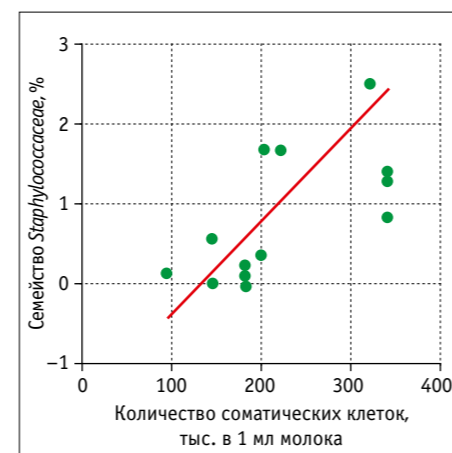


Рис. 4. Зависимость между содержанием стафилококков в рубце и соматических клеток в молоке коров

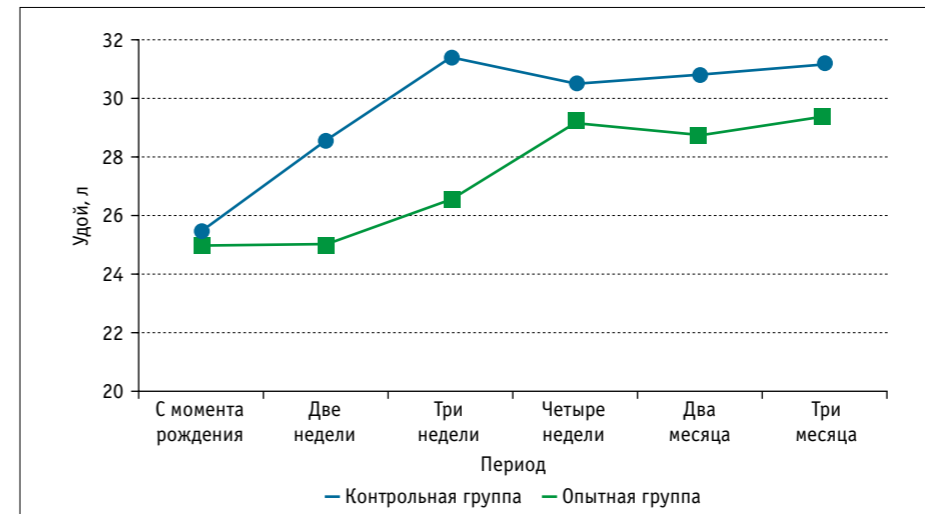


Рис. 6. Влияние препарата Целлобактерин®+ на продуктивность коров

«шведской лесенки», постепенно приучая к высоким дозам комбикорма.

Результаты исследований лаборатории компании «БИОТРОФ» неоднократно подтвердили, что нарушение микробиома рубца отрицательно сказывается на здоровье коров. Так, содержание различных патогенов в половых выделениях, соскобах с копыт и в молоке обусловлено их концентрацией в рубце. Интересно было узнать, что между уровнем стафилококков в рубце и концентрацией соматических клеток в молоке существует достоверная взаимосвязь (рис. 4).

При оптимальном соотношении между микроорганизмами рубца патогены, постоянно поступающие с кормом, питьевой водой и воздухом, в рубце не размножаются. Однако при нарушении баланса количество патогенов, способных к колонизации других биотопов организма животных, возрастает.

Это приводит к ухудшению пищеварения и снижению резистентности к инфекциям, вызывающим заболевания вымени, копыт и органов воспроизводства. Некоторые патогены (например, фузобактерии) способны проникать в кровь и инициировать развитие абсцессов печени, поражения копыт, кожи и слизистых. По этой причине специалисты животноводческих предприятий нередко регистрируют у высокопродуктивных коров гинекологические болезни, заболевания конечностей и нарушение обмена веществ. К тому же сроки хозяйственного использования животных сокращаются.

Контроль микробиома и его регуляция

Для поддержания баланса микробиома рубца целесообразно применять биопрепараты на основе полезных микроорганизмов, которые, взаимодействуя с различными симбиотическими обитателями экосистемы рубца, оказывают многофункциональное воздействие на физиологию коров, метаболизм, уровень продуктивности и здоровье животных.

Микроорганизмы, входящие в состав биопрепаратов, должны соответствовать ряду требований: быть факультативно-анаэробными, обладать способностью к выживанию в сложной экосистеме рубца и положительно влиять на ее состав.

Ученые компании «БИОТРОФ» создали коллекцию целлюлолитических микроорганизмов рубца крупного рогатого скота, лосей, овцебыков и верблюдов. Наиболее перспективные микроорганизмы использовались для создания пробиотиков.

В ходе многолетних исследований на основе высокоэффективных штаммов бактерий, способных хорошо приживаться в экосистеме рубца и поддерживать его баланс, была разработана группа биопрепаратов (пробиотик Целлобактерин®, фитопробиотик Провитол®, сорбент Заслон® и др.). Микроорганизмы, входящие в их состав, обладают высокой ферментативной активностью и антагонистическим потенциалом против патогенов.

Ввод в рационы этих кормовых добавок способствует оптимизации мик-

рофлоры рубца коров разного возраста. У них улучшается рубцовое пищеварение (количество ЛЖК увеличивается, а уровень pH снижается), повышается молочная продуктивность и качество молока. Это было многократно подтверждено специалистами отечественных хозяйств.

Так, на базе одного из предприятий Ленинградской области провели опыт, в ходе которого установили, что обогащение рационов пробиотиком Целлобактерин®+ положительно сказывается на балансе микробиома рубца новорожденных коров (рис. 5).

Отметили, что у животных, в рацион которых включали пробиотик, на 8,3% увеличилось количество жевательных движений и улучшилось потребление корма (за период эксперимента каждая корова опытной группы съела объемистых кормов в натуральном виде на 1 кг больше, чем аналоги контрольной). Среднесуточные удои возросли на 2,8 кг, а концентрация соматических клеток в молоке снизилась на 15% (рис. 6).

Кроме того, сократилась частота заболевания коров: маститом — на 20%, эндометритом — на 10%, на 33% уменьшилось количество трудных отелов и на 75% — случаев задержания последа. Сервис-период стал короче на восемь дней, индекс осеменений снизился на 27%.

Специалисты молочных комплексов заинтересованы в проведении молекулярно-генетического анализа состояния микробиома рубца коров. Это подтверждает большое число обращений в лабораторию компании «БИОТРОФ».

Таким образом, практики получили хорошую возможность корректировать микробиом рубца путем ввода в рацион биопрепаратов на основе микроорганизмов с пробиотической и ферментативной активностью. Эффективность таких добавок многократно подтверждена на животноводческих предприятиях.

ООО «БИОТРОФ»
192288, Санкт-Петербург, а/я 183
Тел.: +7 (812) 448-08-68
Факс: +7 (812) 322-85-50
E-mail: biotrof@biotrof.ru
www.biotrof.ru

