

М. В. Павлова, Н. В. Боголюбова, В. Н. Романов, О. А. Артемьева

Процессы пищеварения и микробиоценоз содержимого кишечника в организме овец при использовании в питании «защищенной» формы бетаина

Аннотация.

В процессе поддержания обменных процессов желудочно – кишечного тракта жвачных животных важным звеном является обеспечение полноценного рациона кормления. Изучение применения добавки бетаина в «защищенной» от опосредованного воздействия микрофлоры рубца форме показало положительную динамику в отношении процессов пищеварения, микробиального состава рубца и кишечника овец. В условиях физиологического двора ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л. К. Эрнста проведен физиологический опыт на баранчиках – валушках помесей романовской породы и катадинов в возрасте 8-9 месяцев, имеющих хронические фистулы рубца по Басову (n=3). В контрольный период животные получали основной рацион, в опытный 1 – основной рацион + незащищенный бетаин в дозировке 0,05 г/кг живой массы, во 2 опытный период – «защищенную» добавку бетаина в дозировке 0,05 г/кг живой массы. Продолжительность каждого периода составляла 30 дней. В учетный период были отобраны среднесуточные пробы кала по общепринятой методике. Для изучения рубцового пищеварения в конце каждого периода у животных через фистулу рубца по Басову были взяты пробы содержимого. В результате применения как «защищенной», так и нативной формы бетаина масса микроорганизмов рубцового содержимого стала выше, чем в контрольный период. При добавлении к рациону животных «защищенной» формы бетаина общая переваримость питательных веществ корма имела тенденцию к улучшению. Во 2 опытный период по сравнению с контролем в толстом отделе кишечника овец увеличился уровень бифидобактерий на 1,63 КОЕ/г, в несколько раз снизился уровень содержания патогенных дрожжевых грибов.

Ключевые слова: овцы; обмен веществ; бетаин; защищенная форма; переваримость; микрофлора.

Авторы:

Павлова М. В. – аспирант; e-mail: m.a_pavlova@mail.ru;

Боголюбова Н. В. – доктор биологических наук; e-mail: 652202@mail.ru;

Романов В. Н. – кандидат биологических наук; e-mail: romanoff-viktor51@yandex.ru;

Артемьева О. А. – кандидат биологических наук; e-mail: vijmikrob@mail.ru.

Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста; 142132, Московская область, городской округ Подольск, поселок Дубровицы, д. 60.

Введение. Обеспечение жвачных животных полноценным рационом кормления является одним из главных факторов, влияющих на продуктивность и здоровье поголовья. Процессы и функции пищеварения жвачных напрямую зависят от состояния и состава микрофлоры рубцового содержимого, а также факторов внешней среды. Необходимым является создать благоприятные условия, при которых симбионтная микрофлора могла бы размножаться и расти, что обеспечило бы поддержание гомеостаза организма животных. Для обеспечения биологически правильного кормления необходимым является поступление в организм, помимо основного рациона, дополнительных энергопластических, питательных веществ [1, 2].

Реакции переметилирования положительно влияют на метаболические процессы в организме

жвачных животных, регулируя проницаемость мембран клеток, улучшая гормональный статус, тем самым давая возможность более полноценной реализации генетического материала [3]. Являясь триметильным производным глицина, бетаин характеризует себя как антиоксидант, осмолит, донор метильных групп в реакциях переметилирования, благодаря чему бетаин способен нейтрализовать негативный эффект гиперосмотического стресса, которому подвергаются жвачные животные при высоких температурах окружающей среды [4-7]. Как гепатопротектор, бетаин участвует в регуляции обмена липидов в организме и улучшает функцию печени [3, 8]. Добавление подкормки с бетаином к рациону жвачных ведет к улучшению их продуктивных качеств, в частности в период гиперосмотического стресса [9].

На сегодняшний день актуальным является применение в рационах жвачных животных метилсодержащих соединений в «защищенном» от разрушающего воздействия простейшими и бактериями рубца виде. Применение «защищенных» форм метилсодержащих веществ способствует снижению количества образования азота в организме, при этом в тонком отделе кишечника повышается количество незаменимых аминокислот и обменного протеина, что благотворно сказывается на продуктивности [10-12].

«Защищенная» форма бетаина, применяемая в опытный период эксперимента, была разработана в отделе физиологии и биохимии с/х животных (заявка на патент РФ № 2023106829 от 22.03.2023).

Цель исследования заключалась в сравнительном изучении влияния добавок «защищенной» и нативной форм бетаина на показатели переваримости корма, состояние микрофлоры рубца и микробиоценоза толстого отдела кишечника овец.

Материалы и методы. Исследования проведены в условиях физиологического двора ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста на баранчиках – валушках помесей романовской породы и катединов в возрасте 8-9 месяцев.

Эксперимент проводился методом групп – периодов: 1 контрольный и 2 опытных, продолжительность каждого периода составляла 30 дней. В контрольный период овцы получали основной рацион, состоящий из сена и концентратов, в 1 опытный – к основному рациону добавляли бетаин в нативной форме в дозировке 0,05 г/кг живой массы, во 2 опытный – «защищенный» от воздействия симбионтной микрофлорой рубца бетаин также давали в дозировке 0,05 г/кг живой массы по действующему веществу. Овцы находились в индивидуальных стойлах, корм задавался 2 раза в сутки с интервалом в 12 часов, поение осуществлялось вволю. Рацион кормления был сбалансированным, составленным согласно нормам кормления данной половозрастной группы овец. Балансовый опыт по переваримости кормов проводили с применением

общепринятых методик, включающих уравнительный период (14 дней), предварительный период (21 день) и учетный (7 дней). Во время предварительного и учетного периодов проводился учет задаваемых кормов и их остатков. В учетный период отбирались среднесуточные пробы кала по общепринятой методике. Для изучения рубцового пищеварения в конце каждого периода у животных через фистулу рубца по Басову были взяты пробы содержимого (масса сухого вещества бактерий и инфузорий) за 1 час до кормления и через 3 часа после кормления. Рубцовое содержимое фильтровалось через 4 слоя марли, в жидкой части определяли методом дифференцированного центрифугирования биомассу простейших и бактерий. Микробиологический анализ образцов содержимого толстого отдела кишечника овец исследовали методом высева последовательных десятикратных разведений на накопительные и дифференциально-диагностические среды глубинным (1,0 мл) и поверхностным (0,2 мл) методами, с последующим подсчетом количества колониеобразующих единиц (КОЕ/г).

Видовую идентификацию микроорганизмов проводили по следующим критериям: оценка морфологии и результатов микроскопии колоний, выросших на дифференциально-диагностических средах; результаты биохимической идентификации на микробиологических средах («ФБУН ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии», Московская обл., «HiMedia Laboratories Pvt. Ltd», Индия) и панелях тест-систем («BioMerieux», Франция). Изучались следующие группы микроорганизмов: КМАФАнМ, молочнокислые микроорганизмы, энтерококки, дрожжи, плесень. Лабораторные исследования проводились в отделе физиологии и биохимии с.-х. животных и в лаборатории микробиологии ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста.

Результаты и обсуждение. В результате анализа проб на определение массы сухого вещества микроорганизмов, находящихся в 100 мл микробиальной массы рубцового содержимого, в таблице 1 видно, что в контрольный период до

Таблица 1. Содержание микробиальной массы в рубцовом содержимом (n=3)

Период	В 100 мл рубцового содержимого, мг					
	До кормления			Через 3 часа после кормления		
	Бактерии	Простейшие	Всего	Бактерии	Простейшие	Всего
Контрольный	239 ± 20	222 ± 17	461 ± 22	284 ± 10	250 ± 30	534 ± 20
1-опытный	280 ± 28	327 ± 58	607 ± 20*	363 ± 10	404 ± 46	767 ± 36**
2-опытный	305 ± 26	291 ± 45	569 ± 42	331 ± 39	376 ± 60	707 ± 61

Примечание: $p \leq 0,05$, $**p \leq 0,01$

кормления масса бактерий составила 239 мг, а инфузорий 222 мг. Однако в 1 и 2 опытный период до кормления масса бактерий была на уровне 280 и 305 мг/100 мл, инфузории составили массу 327 и 291 мг/100 мл. Увеличение суммарной массы микрофлоры рубцового содержимого после кормления произошло на 233 мг — в 1 период и на 173 мг — во 2 по сравнению с контрольным периодом эксперимента. При использовании «защищенной» и нативной формы бетаина масса как простейших, так и инфузорий, а также их суммарный показатель оказался выше, чем в контрольный период.

Создание благоприятных условий, ведущих к увеличению массы симбионтной микрофлоры рубца, является необходимым условием для оптимальной работы пищеварительной системы и усвоения питательных веществ корма.

Количество переваренных питательных веществ кормов в организме овец показано в таблице 2 балансового эксперимента. В результате применения «защищенной» формы бетаина (2 опытный период) переваримость практически всех питательных веществ корма имела тенденцию к улучшению. Переваримость сухого вещества во 2 период эксперимента по сравнению с

контрольным стала выше на 2,26 %, сырого жира на 4,15 %.

В таблице 3 представлена вариативность свободно культивируемых представителей микробиоты толстого отдела кишечника, состав которой в опытных периодах исследования потенциально повышает толерантность к условно-патогенным бактериям. Общее микробное число ($7,62 \log_{10}$ КОЕ/г) у животных, получавших «защищенную» форму бетаина, на порядок было достоверно выше, чем в контрольный и I опытный периоды, за счет основных бактериальных симбионтов: бифидо-, лактобактерий и энтерококков рода *Enterococcus faecalis*, которые наряду с кисломолочными микроорганизмами способны синтезировать бактериоцины второго класса — энтероцины. Также следует отметить, что бифидобактерии и представители рода *Enterobacteriaceae* (лактозоположительные микроорганизмы) оказали ряд благоприятных воздействий, главным из которых является колонизационная резистентность к гемолитическим микроорганизмам (табл. 3). Снижение числа факультативно анаэробных представителей облигатной микрофлоры, обладающей высокой антагонистической активностью в контрольном периоде, привело к увеличению числен-

Таблица 2. Переваримость питательных веществ кормов (n=3)

Показатель	Период					
	Контрольный		Опытный 1		Опытный 2	
	г	%	г	%	г	%
СВ	594,78 ±42,36	65,98±3,31	636,85 ±21,24	67,91±1,07	649,46±13,28	68,24±1,70
ОВ	560,46 ±40,64	67,43±3,38	601,62 ±19,57	69,43±1,15	616,52 ±18,43	69,90±1,62
СП	64,48 ±5,06	62,01±3,83	68,90 ±2,47	63,52±1,05	69,63 ±0,39	62,46±0,33
СЖ	12,94 ±0,61	62,64±1,43	16,50 ±0,63*	64,69±1,39	18,04 ±0,17**	66,79±0,42
СК	148,89 ±9,53	61,46±1,04	160,46 ±10,25	63,80±1,46	160,88 ±2,31	62,33±0,33
БЭВ	334,19 ±30,17	71,98±5,46	355,71 ±13,28	73,95±2,96	357,89 ±13,17	73,76±2,24

Различия по сравнению с контролем статистически достоверны при *- $p \leq 0,05$

Таблица 3. Микробиологические показатели содержимого толстого отдела кишечника овец (\log_{10} , КОЕ/г, n=3, M±m)

Показатель	Период эксперимента		
	Контрольный	1 опытный	2 опытный
Лактобактерии	4,09±0,17	4,33±0,34	4,23±0,21
Энтерококки	6,13±0,23	5,47±0,34	5,18±0,19
Бифидобактерии	4,77±0,48	5,207±0,24	6,40±0,12*
КМАФАНМ	6,38±0,30	6,79±0,47	7,62±0,29
Лактозоположительные МО группы кишечной палочки	4,26±0,22	4,10±0,12	3,10±0,72
Лактозоотрицательные МО группы кишечной палочки	2,96±0,51	2,40±0,72	1,03±0,60
Гемолитические МО	3,69±0,25	2,49±1,06	1,59±0,46
Плесени	3,24±0,20	3,24±0,47	3,38±0,45
Дрожжевые грибы	2,90±0,12	2,67±0,04	0,26±0,17***

Различия по сравнению с контролем статистически достоверны при р: *- $\leq 0,05$), ** - $\leq 0,01$), *** - $\leq 0,001$

ности патогенных микроорганизмов ($3,69 \log_{10}$ КОЕ/г), в частности (гемолитических *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Bacillus spp.*), что в свою очередь привело к незначительному увеличению дрожжеподобных грибов.

Заключение. На основании сравнительного изучения добавок бетаина в нативном и «защищённом» виде можно сделать вывод, что применение

добавки «защищенной» формой бетаина в рационе овец является целесообразной, поскольку использование защиты от разрушающего воздействия микрофлоры рубца обуславливает выраженное положительное влияние в отношении процессов пищеварения и переваримости питательных веществ, состоянии микрофлоры рубца и микробиоценоза толстого отдела кишечника овец.

Исследования проведены при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации по Государственному заданию 0445-2021-0002

Литература

1. Боголюбова Н. В. Изменения пищеварительных процессов в организме молочных коров при использовании в рационе комплексной кормовой добавки / Н. В. Боголюбова, В. Н. Романов // Ученые записки казанской государственной академии ветеринарной медицины им Н. Э. Баумана. — 2020. — № 3. — С. 29-35.
2. Орехова Е. В. Биологические особенности жвачных животных / Орехова, Е. В. // Актуальные вопросы науки и хозяйства: новые вызовы и решения. — 2021. — С. 98-102.
3. Романов В. Н. Особенности пищеварительных и обменных процессов у овец при включении в рационы источника метилирования / В. Н. Романов, А. Хер Бейк // Овцы, козы, шерстяное дело. — 2021. — № 2. — С. 38-42.
4. DiGiacomo K. Dietary Betaine Impacts the Physiological Responses to Moderate Heat Conditions in a Dose Dependent Manner in Sheep / K. DiGiacomo, S. Simpson, B. J. Leury, F. R. Dunshea // Animals. — 2016. — V. 6(9). — P. 51.
5. Mahmood M. Betaine addition as a potent rumenal fermentation modulator under hyperthermal and hyperosmotic conditions in vitro. / M. Mahmood, R. M. Petri et al. // Journal of the Science of food and Agriculture. — 2020. — V. 100. — P. 2261-2271
6. Хорн Т. Бетаин или холин с метионином? Каковы преимущества / Т. Хорн, Ж. Ремус // Комбикорма. — 2013. — № 8. — С. 64-66.
7. Zou H., The metabolism and biotechnological application of betaine in microorganism / H. Zou, N. Chen, M. Shi, M. Xian et al // Applied Microbiology and Biotechnology. — 2016. — V. 100. — P. 3865-3876.
8. Nezamidoust M. Responses to betaine and inorganic sulphur of sheep in growth performance and fibre growth. / M. Nezamidoust, M. Alikhani, G. R. Ghorbani, M. A. Edriss // Journal of animal physiology and animal nutrition. — 2014. — V. 98. — P. 1031-1038.
9. Rychen G. Safety and efficacy of betaine anhydrous for food-producing animal species based on a dossier submitted by AB Vista. / G. Rychen, G. Aquilina, G. Azimonti, V. Bampidis et al. // EFSA journal. — 2018. — V. 16. — P. 1-13.
10. Abbasi I. H. R. Rumen-protected methionine a feed supplement to low dietary protein: effects on microbial population, gases production and fermentation characteristics. / I. H. R. Abbasi, F. Abbasi, L. Liu, B. Bodinga et al. // AMB Express. — 2019. — V. 9 (1). — P. 93.
11. Osorio J. S. Biomarkers of inflammation, metabolism, and oxidative stress in blood, liver, and milk reveal a better immunometabolic status in periparturient cows supplemented with Smartamine M or MetaSmart. / J. S. Osorio, E. Trevisi, P. Ji, J.K. Drackley, D. Luchini et al. // J. Dairy Sci. — 2014. — V. 97(12). — P. 7437-7450.
12. Wang C. Effects of dietary rumen-protected betaine on lactation performance and serum metabolites of mid-lactation holstein dairy cows / C. Wang, H. Liu, Ch. Wang, J. Liu, Ho. Liu // J. Agric Food Chem. — 2020. — V. 68(46). — P. 13154-13159.

Pavlova M., Bogolyubova N., Romanov V., Artemyeva O.

Digestive processes and microbiocenosis of intestinal contents in sheep when using a «protected» form of betaine in nutrition

Abstract.

In the process of maintaining the metabolic processes of the gastrointestinal tract of ruminants, an important link is to ensure a complete feeding diet. The study of the use of betaine supplements in a form "protected" from the indirect effects of the microflora of the rumen showed positive dynamics in relation to the digestive processes, the microbial composition of the rumen and the intestines of sheep. In the conditions of the physiological yard of the Federal Science Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst conducted a physiological experiment on ramshanks of crossbreeds of the Romanov breed and katadins, aged 8-9 months, with chronic scar fistulas according to Basov (n=3). In the control period, the animals received the main diet, in the experimental 1 – the main diet + unprotected betaine at a dosage of 0.05 g / kg of live weight, in the 2nd experimental period a "protected" betaine supplement at a dosage of 0.05 g / kg of live weight. The duration of each period was 30 days. During the accounting period, average daily stool samples were taken according to the generally accepted method. To study cicatricial digestion, at the end of each period, samples of the contents were taken from animals through the fistula of the scar by Basov. As a result of the use of both the "protected" and native forms of betaine, the mass of microorganisms of the scar content became higher than in the control period. When the "protected" form of betaine was added to the diet of animals, the overall digestibility of feed nutrients tended to improve. In the 2nd experimental period, compared with the control, the level of bifidobacteria in the large intestine of sheep increased by 1.63 CFU/g, the level of pathogenic yeast fungi decreased several times.

Key words: sheep; metabolism; betaine; protected form; digestibility; microflora.

Authors:

Pavlova M. – post-graduate student; e-mail: m.a_pavlova@mail.ru;

Bogolyubova N. – Dr. Habil. (Biol. Sci.); e-mail: 652202@mail.ru.

Romanov V. – PhD (Biol. Sci.); e-mail: romanoff-viktor51@yandex.ru;

Artemyeva O. – PhD (Biol. Sci.); e-mail: vjlmikrob@mail.ru.

L. K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry; Dubrovitsy, 60, Podolsk Municipal District, Moscow Region, 142132, Russia.

References

1. Bogolyubova N. V. Changes in the digestive processes in the body of dairy cows when using a complex feed additive in the diet / N. V. Bogolyubov, V. N. Romanov // Scientific Notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine N. E. Bauman. – 2020. – № 3. – P. 29-35.
2. Orekhova E. V. The biological features of ruminants/ Orekhova, E.V.// Actual issues of science and economy: new challenges and solutions. – 2021. – P. 98-102.
3. Romanov V. N. Features of digestive and metabolic processes in sheep when the source of methylation is included in the diets / V. N. Romanov, A. Her Bake // Sheep, goats, wool. – 2021. – № 2. – P. 38-42.
4. DiGiacomo K. Dietary Betaine Impacts the Physiological Responses to Moderate Heat Conditions in a Dose Dependent Manner in Sheep / K. DiGiacomo, S. Simpson, B. J. Leury, F. R. Dunshea // Animals. – 2016. – V. 6(9). – P. 51.
5. Mahmood M. Betaine addition as a potent rumenal fermentation modulator under hyperthermal and hyperosmotic conditions in vitro. / M. Mahmood, R. M. Petri et al. // Journal of the Science of food and Agriculture. – 2020. – Vol. 100. – P. 2261-2271
6. Horn T. Betain or Kholin with methionine? What are the advantages / T. Horn, J. Remus // Compound feed. – 2013. – № 8. – P. 64-66.
7. Zou H., The metabolism and biotechnological application of betaine in microorganism / H. Zou, N. Chen, M. Shi, M. Xian et al // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2016. – V.100. – P. 3865-3876.
8. Nezamidoust M. Responses to betaine and inorganic sulphur of sheep in growth performance and fibre growth. / M. Nezamidoust, M. Alikhani, G. R. Ghorbani, M. A. Edriss // Journal of animal physiology and animal nutrition. – 2014. – V. 98. – P. 1031-1038.

9. Rychen G. Safety and efficacy of betaine anhydrous for food-producing animal species based on a dossier submitted by AB Vista. / G. Rychen, G. Aquilina, G. Azimonti, V. Bampidis et al. // EFSA journal. – 2018. – V. 16. – P. 1-13.
10. Abbasi I. H. R. Rumen-protected methionine a feed supplement to low dietary protein: effects on microbial population, gases production and fermentation characteristics. / I. H. R. Abbasi, F. Abbasi, L. Liu, B. Bodinga et al. // AMB Express. – 2019. – V. 9 (1). – P. 93.
11. Osorio J. S. Biomarkers of inflammation, metabolism, and oxidative stress in blood, liver, and milk reveal a better immunometabolic status in peripartal cows supplemented with Smartamine M or MetaSmart. / J. S. Osorio, E. Trevisi, P. Ji, J.K. Drackley, D. Luchini et al. // J. Dairy Sci. – 2014. – V. 97(12). – P. 7437-7450.
12. Wang C. Effects of dietary rumen-protected betaine on lactation performance and serum metabolites of mid-lactation holstein dairy cows / C. Wang, H. Liu, Ch. Wang, J. Liu, Ho. Liu // J. Agric Food Chem. – 2020. – V. 68(46). – P. 13154-13159.