

Л.О. Солодка
В.М. Войціцький

Державна агроекологічна
академія України,
м. Житомир

Характер зв'язків між окремими представниками мікрофлори рубця при хронічному надходженні ^{137}Cs з кормами

The character of association between some representatives of paunch microflora in chronic administration of Cs-137 with forage

Цель работы: Изучение реакции микрофлоры рубца жвачных на хроническое поступление ^{137}Cs с кормами.

Материалы и методы: В пробах содержимого рубца, отобранных за 1 ч. до и после утреннего кормления у 4 волов черно-пестрой породы с большой фистулой рубца, определяли удельную активность ^{137}Cs и количество аэротолерантных бактерий и актиномицетов разных трофических групп. Дважды в сутки животные получали рационы, одинаковые по химическому составу и разные по количеству ^{137}Cs в злаково-разнотравном сене. Данные по численности микроорганизмов были обработаны с помощью корреляционного анализа по методу Терентьева.

Результаты: Скармливание загрязненных кормов изменяет структуру микробного комплекса, а не степень организованности. Стабильность структуры микробного комплекса обеспечивается связями между представителями разных морфологических групп. После перевода животных на чистые корма структура микробного комплекса через полтора месяца наблюдения так и не возвращается к первоначальному виду, характерному для чистого рациона.

Выводы: Резкие колебания удельной активности ^{137}Cs в рационе не влияют на степень организованности комплекса у аэротолерантных микробов, но сопровождаются перераспределением связей между ними.

Ключевые слова: микрофлора рубца, аэротолерантные бактерии и актиномицеты, структура микробного комплекса.

Objective: To study the reaction of the paunch microflora in ruminant animals to chronic administration of Cs-137 with forage.

Material and Methods: Specific Cs-137 activity and the amount of aerotolerant bacteria and actinomycetes of different trophic groups were determined in the samples of the paunch contents taken 1 hour before and after morning feeding in 4 oxen of black motley breed with a large paunch fistula. Two times a day the animals received the forage with the same chemical composition but with different Cs-137 amount in grass hay. The information about the amount of the microorganisms were processed with the use of correlation analysis according to Terentiev.

Results: Feeding with a contaminated forage changed the composition of the microbial complex, but the degree of organisation remained unchanged. The stability of the structure of the microbial complex was provided by the associations between the representatives of different morphophysiological groups. After the animals had been transferred to a clean forage the structure of the microbial complex did not return to the initial state characteristic for a pure forage during 1.5 months of the observation.

Conclusion: Fluctuations in Cs-137 specific activity in the forage do not influence the degree of organisation in the complex of aerotolerant microbes, but are accompanied by redistribution of associations between them.

Key words: paunch microflora, aerotolerant bacteria and actinomycetes, structure of microbial complex.

Вплив різних типів іонізуючого випромінювання на чисті культури мікроорганізмів вивчається з початку 20-го сторіччя. Змішані мікробні культури потрапили в поле зору вчених у період глобальних випадань радіонуклідів. Але особливої актуальності проблема реакції мікробіоти на радіонуклідне забруднення довкілля набула після Чорнобильської аварії. Спостереження, які з 1986 року проводилися в районах із різним рівнем забруднення, дозволили встановити: при значному підвищенні рівня радіонуклідів у ґрунтових та водних біоценозах домінуюче положення посідають радіостійкі види та штами мікробів, реєструються коливання кількості видів та фізіологічних груп мікроорганізмів [1–4].

Обробка даних методами математичної екології виявила, що ослаблення функціо-

нальних зв'язків між представниками ґрунтового комплексу — характерна особливість їх розвитку в забрудненій зоні [5]. Мета даної роботи — вивчення реакції мікроорганізмів рубця жуйних у відповідь на хронічне надходження ^{137}Cs до травної системи тварин.

Методика дослідження

У дослідах використовували волів черно-рябої породи (4 гол.), яким, додержуючись правил проведення робіт із використанням експериментальних тварин, було зроблено хірургічну операцію з фістулізації рубця. Експеримент тривав 175 днів і складався з трьох періодів: контроль — згодовування чистих кормів (1–83-тя доба); дослід 1 — згодовування забруднених кормів (83–133-тя доба); дослід 2 — згодовування чистих кормів та виведення ^{137}Cs з організму тварин (133–175-та доба).

Двічі на добу, рівними порціями, тваринам згодовували раціони, які склалися з сіна (7,7 кг/добу), силову (2,5 кг/добу), концентратів (2,0 кг/добу) та пато-

ки (0,6 кг/добу). Через нестачу в раціоні окремих мікроелементів щодоби до нього, у вигляді розчинів, додавали сірчаноокислу мідь (102 мг/добу), сірчаноокислий цинк (450 мг/добу) та йодистий калій (5 мг/добу). Всі корми, крім сіна для досліду 1, заготовляли в зоні, де рівень забруднення ґрунту ^{137}Cs був нижчим 37 кБк/м², а сіно з підвищеним вмістом радіонукліда — на лісових сінокосах Кліщівського лісництва (поблизу с. Мотейки Народицького району Житомирської області, коливання радіоактивного забруднення ґрунту ^{137}Cs — 600–900 кБк/м²).

Протягом усього експерименту в тварин за 1 год. до та через 1 год. після ранкової годівлі відбирали проби вмісту рубця, які для звільнення від частинок корму та інфузорій центрифугували 20 хв при 3,0 тис. об/хв. Аеротолерантні рубцеві бактерії та актиноміцети целюло-, протео-, аміло- та ліполітичної груп виділяли з рідини рубця шляхом висівання на спеціальні агарові живильні середовища методом серійних розведень [6, 7]. Облік колоній мікроорганізмів проводили методом автоматичного підрахунку на приладі ПСБ. Структуру зв'язків між мікроорганізмами різних трофічних груп характеризували за допомогою кореляційного аналізу.

Активність радіонуклідів у зразках кормів та вмісті рубця вимірювали гамма-спектрометрами типу LP-4900B «AFORA» з германієвим детектором та АМА-ОЗФ із сцинтиляційним детектором. Похибка вимірювання питомої активності не перевищувала 10%. Експериментальні дані обробляли за допомогою програм Microsoft EXCELL та STATISTICA.

Результати та їх обговорення

У зразках забрудненого сіна, заготовленого для досліду 1, визначали кількість та співвідношення γ -випромінюючих радіонуклідів (табл. 1).

Таблиця 1 — Питома активність γ -випромінюючих радіонуклідів у зразках сіна
Specific activity of γ -emitting radionuclides in the hay samples

Радіонуклід	Питома активність (Бк/кг)	Кількість від вмісту ^{137}Cs (%)
Цезій-137	6525±2657	100
Цезій-134	364±143	5,6
Рутеній-106	159±23	2,4
Рутеній-108	39±5	0,6
Церій-144	117±11	1,8

Дані табл. 1 свідчать, що основним дозуютьчим виявився ^{137}Cs , а внесок інших радіонуклідів не перевищував 11% від його активності. При проведенні досліду 1 саме забруднене сіно вносило в раціон приблизно 98% добової активності.

Дослідні раціони були практично тождіжні за хімічним складом та поживністю (табл. 2), але дещо розрізнялись за вмістом кальцію, магнію (у забрудненому раціоні цих макроелементів було на 2–3% менше) та крохмалю (в забрудненому раціоні його було на 8–10% більше). Їх поживність і співвідношення вуглеводних фракцій та

Таблиця 2 — Хімічний вміст раціонів, використаних протягом експерименту
Chemical composition of the forage used in the experiment

Компонент	Кількість речовини у певний період експерименту(г/добу)	
	чистий раціон	забруднений раціон
Суха речовина	9812,1±352,6	9875,2±106,5
Сирий протеїн	1023,5±86,7	1064,3±95,2
Сира клітковина	3598,8±160,9	3598,8±107,0
Сирий жир	253,5±10,2	245,8±11,0
Сира зола	954,5±39,3	877,5±39,3
Цукор	1062,0±82,3	1185,2±321,0
Крохмаль	889,1±23,9	996,9±47,0
Кальцій	97,4±1,3	88,9±4,4
Магній	95,5±1,5	87,0±4,6
Фосфор	45,5±4,4	44,0±3,1

протеїну й клітковини практично не відрізнялись. Основна різниця була у вмісті ^{137}Cs , за цим показником використані раціони відрізнялися в 20–60 разів. Тому при згодовуванні чистих раціонів до організму тварин щодоби надходило з кормами $0,6\pm 0,006$ кБк ^{137}Cs , а при вживанні забруднених — $50,5\pm 20,5$ кБк.

Активність і напрямок мікробіологічних процесів у рубці визначаються не тільки чисельністю мікроорганізмів різних видів та груп, але й стабільністю зв'язків між представниками цього біоценозу. Для характеристики функціональних зв'язків між ґрунтовими мікроорганізмами успішно використовувався метод кореляційних плеяд Терентьєва [8–11].

У даній роботі значення статистично вірогідних коефіцієнтів парної кореляції ($p < 0,05$) були обчислені на основі даних табл. 3 та 4.

У період контролю й у досліді 1 відкинути нульову гіпотезу і зробити висновок про наявність тісного лінійного зв'язку між показниками виявилось можливим для коефіцієнтів кореляції $r \geq |0,83|$, а в досліді 2 — для $r = |0,99|$.

На основі коефіцієнтів було побудовано схему (рис. 1), яка характеризує стан комплексу аеротолерантних рубцевих мікроорганізмів при згодовуванні чистих (контроль, дослід 2) та забруднених (дослід 1) кормів до надходження свіжих поживних речовин в екосистему рубця й після нього.

З рис. 1 видно, що незалежно від часу відбору зразків між різними фізіологічни-

Таблиця 3 — Щільність бактеріальних популяцій протягом експерименту ($M \pm m$)
 Density of bacterial population during the experiment ($M \pm m$)

Трофічна група	Щільність популяції (кл. 10^3 /мл)					
	до зогівлі			після зогівлі		
	контроль	дослід 1	дослід 2	контроль	дослід 1	дослід 2
Амілолітична	75±5,2	1764±13,3	2084±26,0	1935±98,0	5980±301,0	3200±187,0
	166±9,6	1633±88,0	1000±11,6	1350±30,0	2840±117,0	4100±71,0
	43,7±2,6	820±31,4	702,5±20,2	5950±19,5	3200±245,0	3400±152,0
	700±37,5	1050±62,5	—	5800±407,0	1340±24,5	—
	962,5±29,5	2155±121,0	—	4700±268,0	3280±132,0	—
	2453±255,0	—	—	5920±49,0	—	—
Протеолітична	438±10,0	1662±36,1	2150±51,0	1750±103,0	4340±154,0	4900±203,0
	352,5±20,0	1050±104,0	1980±46,0	3420±225,0	3550±263,0	5020±199,0
	1965±48,0	905±22,2	500±9,2	7050±435,0	8940±339,0	3820±286,0
	1820±53,0	1032±28,4	—	1780±161,0	2760±117,0	—
	1975±85,5	1720±49,7	—	4520±208,0	2830±106,3	—
	1515±37,0	—	—	4060±82,0	—	—
Ліполітична	110±2,6	110±4,1	18,0±0,9	173,4±2,7	367,5±13,8	212,0±3,8
	19,2±0,1	54±3,5	70±2,2	162,0±9,3	99,8±5,9	207,0±5,6
	251±12,2	46,5±1,7	65,5±2,2	68,4±2,7	152,0±3,8	193,0±2,3
	52,2±0,5	51,8±2,1	—	83,0±7,3	163,0±13,2	—
	72,4±2,6	164±6,8	—	330,0±8,9	680,0±28,8	—
	44,5±2,1	—	—	557,5±30,7	—	—
Целюлолітична	12,6±0,3	162±1,7	40±0,7	16,2±0,4	40,8±1,8	35,0±0,9
	18,1±0,6	110±2,6	44,5±1,3	18,9±0,7	65,5±2,6	61,3±1,7
	23,4±0,4	76±3,3	29,5±1,5	27,0±0,7	59,3±1,1	101,3±4,0
	20,1±0,5	95±3,4	—	20,3±0,7	74,6±1,9	—
	31,3±0,8	32,8±1,3	—	38,8±0,9	23,4±1,3	—
	39,6±2,2	—	—	78,8±2,5	—	—

Таблиця 4 — Щільність популяцій актиноміцетів протягом експерименту ($M \pm m$)
 Density of actinomycetes population during the experiment ($M \pm m$)

Трофічна група	Щільність популяції (кл. 10^3 /мл)					
	до зогівлі			після зогівлі		
	контроль	дослід 1	дослід 2	контроль	дослід 1	дослід 2
Амілолітична	5,9±0,27	6,9±0,2	2,0±0,07	6,9±0,3	2,0±0,07	1,8±0,09
	1,6±0,07	2,5±0,08	9,3±0,1	1,8±0,1	3,4±0,2	8,2±0,1
	12,3±0,6	30,0±0,9	5,5±0,07	8,6±0,5	2,6±0,1	3,1±0,05
	3,5±0,1	27,2±1,2	—	0,7±0,04	5,2±0,2	—
	1,8±0,1	12,0±0,7	—	2,2±0,2	1,2±0,09	—
	1,3±0,07	—	—	0,9±0,03	—	—
Протеолітична	3,1±0,1	5,0±0,2	2,1±0,1	2,0±0,2	7,0±0,1	1,7±0,08
	2,5±0,09	2,5±0,2	3,2±0,1	5,5±0,3	1,9±0,07	4,2±0,09
	4,6±0,8	18,7±0,5	5,7±1,4	19,6±0,6	3,8±0,09	1,1±0,2
	5,1±0,2	20,0±1,6	—	1,7±0,06	3,7±0,2	—
	2,5±0,2	10,5±0,9	—	3,0±0,1	1,5±0,2	—
	1,0±0,04	—	—	1,4±0,3	—	—
Ліполітична	0,2±0,09	2,5±0,1	0,9±0,07	0,16±0,01	2,3±0,3	0,75±0,02
	0,1±0,01	1,5±0,09	1,1±0,08	0,12±0,001	1,1±0,05	0,47±0,02
	0,1±0,01	2,9±0,02	0,8±0,03	0,18±0,001	1,5±0,08	0,12±0,03
	0,2±0,01	2,6±0,08	—	0,11±0,006	2,0±0,09	—
	0,3±0,01	1,9±0,09	—	0,27±0,01	2,3±0,01	—
	1,4±0,1	—	—	1,1±0,002	—	—
Целюлолітична	1,0±0,02	17,4±0,3	1,5±0,03	1,5±0,2	6,2±0,2	2,3±0,1
	2,0±0,1	12,0±0,4	3,8±0,01	5,2±0,2	3,2±0,1	4,1±0,06
	6,6±0,3	5,9±0,2	2,1±0,09	22,9±0,9	3,2±0,2	1,7±0,05
	3,7±0,2	6,6±0,1	—	1,2±0,09	2,3±0,2	—
	2,5±0,06	3,1±0,3	—	1,7±0,1	1,5±0,09	—
	—	—	—	1,7±0,1	—	—

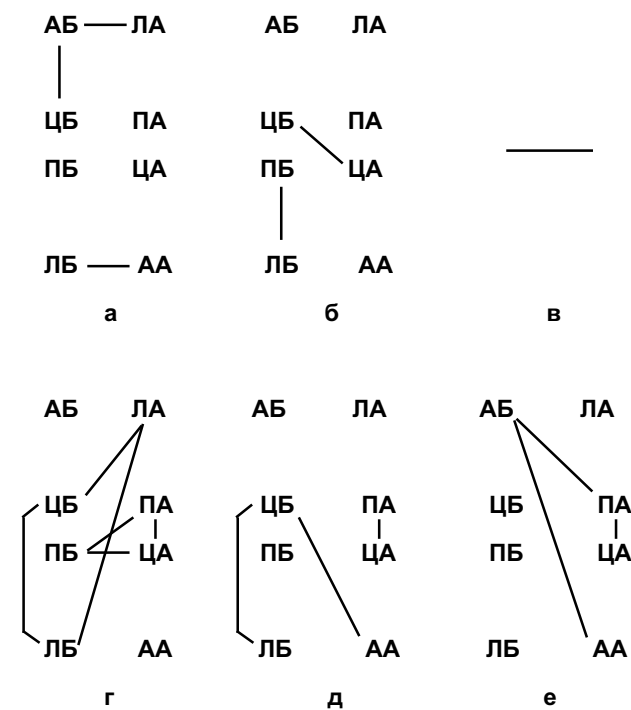


Рис. 1 — Структура кореляційних плеяд зв'язків у аеротолерантних мікроорганізмів. Раціон до годівлі: а — чистий, контроль; б — забруднений, дослід 1; після годівлі: в — чистий, дослід 2; г — контроль; д — дослід 1; е — дослід 2 (ПБ, ЛБ, АБ, ЦБ — протео-, ліпо-, аміло- та целюлолітичні бактерії; ПА, ЛА, АА, СА — протео-, ліпо-, аміло-, целюлолітичні актиноміцети)

Fig. 1 — The structure of correlation pleiads of associations in aerotolerant microorganisms. Forage: а — pure, control before feeding; б — contaminated, experiment 1 before feeding; в — pure, after feeding; г — control; д — experiment 1; е — experiment 2 (ПБ, ЛБ, АБ, ЦБ — proteo-, lipo-, amylo- and cellulolytic bacteria)

ми групами аеротолерантних мікроорганізмів утворюється від 3 до 6 зв'язків (з 28, які могли існувати в системі). Тому аеротолерантні рубцеві мікроби й не утворюють стійкого організованого комплексу.

У зв'язках, що виникають до і після годівлі, задіяні різні групи мікробів, але спільними рисами в характері їх взаємодії є утворення представниками різних фізіологічних груп тільки нестійких лінійних зв'язків типу «ланцюг» або «трикутник» та здатність до паралельного засвоєння різних типів поживних речовин (всі коефіцієнти кореляції — позитивні, тому збільшення кількості клітин в одній групі веде до збільшення чисельності в іншій).

Аналіз взаємодії мікробів після годівлі тварин дозволяє стверджувати, що на чистих кормах міцність комплексу дещо збільшується.

Але лінійні зв'язки при будь-яких змінах у системі можуть легко розриватись. Незначна зміна умов існування виникла

під час досліду 1, коли активність ^{137}Cs в рідині рубця зростає до годівлі з $10\text{--}14$ Бк/кг до 310 ± 30 , а після годівлі — до 392 ± 94 Бк/кг. І все ж мікроорганізми зреагували на появу нового фактора в досліді 1. Тривале надходження радіонуклідів з кормами призвело до розриву більшості зв'язків, що існували в період контролю. Всі новоутворені зв'язки, виявлені під час досліду 1, були лінійними (типу «ланцюг»).

Генетично різноманітна мікробна популяція рубця завжди має цілий ряд мутантних форм. Гетерогенність, що властива цій системі, є і морфологічною, і біохімічною, і фізіологічною. Перегрупування зв'язків свідчить про зміни, які відбуваються в екосистемі рубця і за яких селекційні штами в популяціях замінують первинні, а останні — вимиваються із шлунково-кишкового тракту. Можливо, саме перерозподіл зв'язків і дозволяє екосистемі рубця швидко пристосовуватись до будь-яких значних коливань параметрів на вході у шлунково-кишковий тракт. Максимальну стійкість, а відповідно і незмінний мікробний пейзаж, «демонструють» в нашому експерименті целюло- та ліполітичні бактерії, протео- та амілолітичні актиноміцети у зразках вмісту рубця, відібраного через 1 годину після годівлі.

При виведенні радіонуклідів протягом усього досліду 2 питома активність ^{137}Cs у рубцевій рідині становила: до годівлі 101 ± 34 Бк/кг проти 310 ± 30 у досліді 1, а після годівлі — 81 ± 42 проти 392 ± 94 Бк/кг у досліді 1.

Величина питомої активності рубцевої рідини наблизилась до фонові вже на 20-ту добу досліду, коли характер зв'язків між аеротолерантними рубцевими мікроорганізмами знову змінився. Повторне повернення до кормів чистого раціону вплинуло на взаємодію між аеротолерантними мікробами навіть більше, ніж перехід на забруднений раціон. У зразках, відібраних до годівлі, зв'язки взагалі втратили лінійний характер, після годівлі відбулися зрушення у популяціях мікроорганізмів, які раніше «не помітили» переходу на забруднений раціон (целюло- та ліполітичні бактерії). Можливо, в ході згодовування кормів із підвищеним

рівнем ^{137}Cs змінились темпи розмноження або вікова структура мікробних популяцій, що і привело до підвищення чутливості мікробних клітин до зрушень факторів навколишнього середовища. В результаті змін видового складу в популяціях факультативно-анаеробних мікробів частина штамів знову елімінувалась із рубця і попередні зв'язки зникли.

Разом з цим, окремі міжгрупові зв'язки, які виникли після годівлі у досліді 2, не реєструвались у системі під час попередніх періодів експерименту (амілолітичні бактерії та актиноміцети, амілолітичні бактерії та протеолітичні актиноміцети).

Таким чином, за півтора місяця періоду виведення нуклідів (40 діб спостереження), навіть при досягненні контрольних значень питомої активності рубцевої рідини, у досліджуваному біоценозі попередні зв'язки, властиві представникам аеротолерантних видів, так і не відновлюються.

Висновки

1. Припинення надходження радіонуклідів із раціоном викликає в екосистемі рубця адаптаційні процеси більшої інтенсивності, ніж різке збільшення кількості питомої активності ^{137}Cs в кормах.

2. Після переведення тварин на чисті корми в період виведення ^{137}Cs структура слабоорганізованого комплексу за півтора місяця спостереження не повертається до виду, властивого їй у період контролю.

Література

1. Жданова Н.Н., Василевская А.И., Артышкова Л.В., Гаврилюк В.И. // Микол. и фитопатол. — 1990. — Т. 24, № 4. — С. 298–308.
2. Жданова Н.Н., Василевская А.И., Артышкова Л.В. и др. // Там же. — № 6. — С. 504–512.
3. Небрат А.А. // Гидробиол. журн. — 1992. — Т. 28, № 1. — С. 27–31.
4. Филипас А.С., Пименов Е.П., Ульяненко Л.И. и др. // Экологический статус загрязненных радионуклидами территорий: Тез. докл. междунар. раб. совещания по чернобыльской сети — Минск, 1995. — С. 76–79.
5. Жданова Н.Н., Василевская А.И., Артышкова Л.В. и др. // Микробиол. журн. — 1991. — Т. 53, № 4. — С. 3–9.
6. Руководство к практическим занятиям по микробиологии: Практик. пособие / Под ред. Н.С. Егорова. — 2-е изд. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1983. — 215 с.
7. Семенов С.М. Лабораторные среды для актиномицетов и грибов: Справочник. — М.: Агропромиздат, 1990. — 240 с.

8. Терентьев П.В. // Вестн. Ленингр. ун-та. — 1959. — № 9. — С. 137–141.
9. Терентьев П.В. Дальнейшее развитие метода корреляционных плеяд // Применение математики в биологии. — Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1960. — С. 3–8.
10. Борисова В.Н. Гифомицеты лесной подстилки в различных экосистемах. — К.: Наук. думка, 1988. — 257 с.
11. Иутинская Г.А., Остапенко А.Д., Андреюк Е.И. // Микробиол. журн. — 1993. — Т. 55, № 2. — С. 7–11.

Дата надходження: 04.05.2000.

Адреса для листування:
Солодка Лариса Олександрівна,
пров. Тютюновий, 7, кв. 27, Житомир, 10012, Україна