

2. Basovs'kyj M.Z. Vyroshhuvannja, ocinka i vykorystannja plidnykiv / M.Z. Basovs'kyj, I.A.Rudyk, V.P. Burkat. – K.: Urozhaj, 1992. – 216 s.
3. Katalog bugai'v molochnyh ta molochno-m'jasnyh porid dlja vidtvorennja matochnogo pogoliv'ja v 2009 roci / [Verbyc'kyj P.I., Mykutyjuk D.M., Bilous O.V. ta in.]. – K., 2009. – 202 s.
4. Krugljak O.V. Gospodars'ko-ekonomichni peredumovy zaprovadzhennja genomnoi' ocinky tvaryn u molochnomu skotarstvi / O.V. Krugljak // Ekonomika APK. – 2013. – № 9. – S. 85–91.
5. Ladyka V.I. Pleminnu ocinku – na zagal'noderzhavnyj riven' / V.I. Ladyka, L.M. Hmel'nychyj // Tvarynnyctvo Ukrainy. – 2007. – № 2. – S. 10–11.
6. Ladyka V. Genomna selekcija u skotarstvi / V. Ladyka, I. Korchagyna // Propozycja. – 2014. – № 6. – S. 10–11.
7. Plohinskij N.A. Rukovodstvo po biometrii dlja zootehnikov. – M., 1969. – 298 s.
8. Selekcija sil'skogospodars'kyh tvaryn / [Mel'nyk Ju.F., Kovalenko V.P., Ugnivenko A.M. ta in.]; za zag. red. Ju.F. Mel'nyka, V.P. Kovalenka, A.M. Ugnivenka. – K.: Intas, 2008. – 445 s.
9. Meuwissen T.H.E. Genomic selection / T.H.E. Meuwissen, B.J. Hayes // J. Animal. Breed. Genet. – 2007. – Vol. 8. – P. 323–330.
10. Teneva A. Molecular markers in animal genome analysis / A. Teneva // Biotechnology in animal husbandry. – 2009. – Vol. 25 (5–6). – P. 1267–1284.

#### **Оценка быков-производителей разных пород за собственными показателями**

**И.С. Старостенко, М.В. Бушtruk, И.В. Титаренко, В.П. Даниленко**

По материалам зоотехнического и племенного учета проведена оценка быков симментальской, голштинской и украинской красно-пестрой молочной пород по показателям живой массы, экстерьера и спермопродуктивности. Исследуемые быки-производители эффективно использовались в Киевской и Черниговской областях на маточном поголовье. Данные исследований указывают на то, что быки исследуемых пород сравнительно больше и конституционально крепкие, но в 5-летнем возрасте большую живую массу имели быки украинской красно-пестрой молочной породы. Обнаружена достоверная разница по объему эякулята и концентрации спермиев, между чистопородными быками симментальской и голштинской пород. Полновозрастные быки украинской красно-пестрой молочной породы характеризуются следующим уровнем спермопродуктивности: объем эякулята  $3,14 \pm 0,08$  мл, концентрация спермиев в эякуляте  $1,14 \pm 0,02$  млрд/мл, активность спермиев  $7,85 \pm 0,1$  баллов, число спермиев в эякуляте  $3,58 \pm 0,09$  млрд и занимают промежуточную форму наследования по этим признакам.

**Ключевые слова:** быки-производители, показатели спермопродуктивности, живая масса, экстерьер, украинская красно-пестрая молочная, голштинская, симментальская породы.

*Надійшла 18.03.2014.*

**УДК 606:636.087.8**

**БОЛОХОВСЬКИЙ В.В.,** здобувач

**МЕЛЬНИЧЕНКО О.М.,** д-р с.-г. наук

*Білоцерківський національний аграрний університет*

#### **ОПТИМІЗАЦІЯ ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩ ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ ШТАМУ *BACILLUS MACERANS* ЯК ПРОДУЦЕНТА ПЕКТОЛІТИЧНОЇ КОРМОВОЇ ДОБАВКИ**

Наведено результати досліджень відпрацювання оптимального складу поживного середовища для штаму *Bacillus macerans*. Вивчали вплив різних джерел Нітрогену (амонію сірчанокислого, амонію хлористого, амонію цавлевокислого, амонію фосфорнокислого двозаміщеного, амонію лимоннокислого, пептону, гідролізату казеїну та сечовини) у складі поживного середовища для штаму *Bacillus macerans*. Досліджували вплив дії вуглеводів (цукру, мальтози, глюкози, крохмалю, нативної целюлози, NaKMЦ, лігніну, пектину бурякового, висівок пшеничних, жому бурякового) у складі поживного середовища. Встановлено, що оптимальним джерелом Нітрогену та вуглеводів у складі поживного середовища для продуцента *Bacillus macerans* є відповідно сечовина та жом буряковий.

**Ключові слова:** поживне середовище, штам *Bacillus macerans*, ензими, сечовина, жом буряковий, пектаттранселіміназа.

**Постановка проблеми, аналіз останніх досліджень і публікацій.** У годівлі свиней та сільськогосподарської птиці застосовують комбікорми, у складі яких до 85 % становить зернова група [1]. У зерні міститься значна кількість вуглеводів, серед яких є важкодоступні – целюлоза, геміцелюлоза, пектинові сполуки, лігнін та ін.

У всіх клітинних стінках і міжклітинному просторі рослин у різних концентраціях міститься нерозчинний пектин, який має функцію зв'язувального елемента між різними молекулами некро-

хмалистих поліцукрів з елементами клітин. Пектин формує міцний каркас, тим самим перешкоджає доступності ендогенних та екзогенних ензимів до поживних речовин. Найбільше пектину міститься у паренхімі рослинної тканини.

Пектин належить до некрохмалистих поліцукрів, які майже не засвоюються у організмі моногастричних тварин і виконують роль антипоживних факторів [2, 4]. Це, у свою чергу, перешкоджає травним ферментам у шлунково-кишковому каналі гідролізувати білки, ліпіди та вуглеводи, які зосереджені в ендоспермі. Відтак, трансформація поживних речовин корму у продукцію тварин зменшується.

Гідролізуються пектини за дії низки пектолітичних ферментів, які синтезуються вищими рослинами, мікроскопічними грибами, деякими видами дріжджів та бактеріями [5].

Мало вивченим продуцентом пектолітичних ферментів є *Bacillus macerans*, що має науковий і практичний інтерес у виготовленні кормових добавок для сільськогосподарських тварин та птиці в Україні. Крім того, не відпрацьовано оптимальні технологічні режими культивування штаму *Bacillus macerans*.

У зв'язку із цим, метою роботи є встановлення впливу оптимальних джерел Нітрогену та вуглеводів на інтенсивність синтезу пектаттранселіміназу продуцентом *Bacillus macerans*.

**Матеріал і методи досліджень.** Дослідження проводили в умовах лабораторії та виробничих потужностей ПП "Біотехнологія України-Центр" м. Ладижин Вінницької області. Для виробництва комплексної кормової добавки вивчали продуцент *Bacillus macerans*.

Для отримання вегетативного посівного матеріалу свіжу робочу культуру, отриману на косяках, суспендували в 5–10 мл стерильної води і висівали на рідке поживне середовище.

Під час підбору джерела Нітрогену за основу брали середовище, яке складалось із жому бурякового – 27,5 г/л; калію сірчаноокислого – 2,0 г/л; кальцію вуглекислого – 2,5 г/л; екстракту кукурудзи – 12,5 г/л; гідроксиду калію – 0,2 г/л.

До складу основного середовища добавляли різні джерела Нітрогену: амоній сірчаноокислий, амоній хлористий, амоній щавлевоокислий, амоній винноокислий, амоній лимонноокислий, пептон, гідролізат казеїну та сечовину (контроль) із розрахунку 0,35 % за Нітрогеном.

Після вибору оптимального джерела Нітрогену, замість бурякового жому застосовували інші джерела вуглеводів: цукор, мальтозу, глюкозу, крохмаль, нативну целюлозу, NaKMЦ, лігнін, пектин буряковий, висівки пшеничні, жом буряковий (контроль) із розрахунку 2,2 % за вуглеводами.

Оптимізацію поживних середовищ проводили у трикратній повторності методом культивування штаму *Bacillus macerans* на різних середовищах в колбах для лабораторної гойдалки місткістю 750 мл.

Пектаттранселіміназну активність у культуральній рідині визначали за ГОСТ 20264.3–81 [3].

**Результати досліджень та їх обговорення.** Досліджуючи вплив різних джерел Нітрогену на інтенсивність синтезу пектаттранселімінази продуцентом *Bacillus macerans* встановили, що активність комплексу ензимів була найвищою за умов застосування сечовини – на рівні 21650 од/мл (табл. 1).

Таблиця 1 – Залежність ферментативної активності пектаттранселімінази від джерела Нітрогену у поживному середовищі *Bac. macerans*

Джерело Нітрогену	Пектаттранселіміназна активність, од/мл	% до контролю
Амоній сірчаноокислий	16800±456,7 **	77,6
Амоній хлористий	15510±345,6**	71,6
Амоній щавлевоокислий	17480±534,2**	80,7
Амоній лимонноокислий	17100±354,2**	78,9
Амоній фосфорноокислий двозаміщений	20560±463,9	95,0
Пептон	19250±853,1	88,9
Гідролізат казеїна	19100±764,2*	88,2
Сечовина (контроль)	21650±455,2	100,0

Примітка:\* –  $p \leq 0,05$ ; \*\* –  $p \leq 0,01$ .

Використання амонію сірчаноокислого та хлористого супроводжувалось зниженням активності пектаттранселімінази порівняно з контрольними показниками на 22,4 та 28,3 % ( $p \leq 0,01$ ) відповідно.

Внесення до складу поживного середовища амонію лимонноокислого та щавлевоокислого не давало високих результатів. Активність пектаттранселімінази була нижчою на 21,0 та 19,3 % ( $p \leq 0,01$ ) відповідно, порівняно із варіантом де застосовували сечовину.

Під час застосування органічних джерел Нітрогену (пептону та гідролізату казеїну) різниця з контролем у активності пектаттранселімінази була нижчою, ніж у випадках, коли поживне середовище містило амоній сірчаноокислий, хлористий, щавлевоокислий та лимонноокислий. Включення до складу поживного середовища пептону та гідролізату казеїну супроводжувалось зменшенням активності досліджуваного ензиму на 11,0 та 11,8 % відповідно, порівняно з контролем.

Серед неорганічних джерел Нітрогену найкращі результати були отримані за використання амонію фосфорноокислого двозаміщеного. За активністю цього ензиму показник поступався контролю лише на 5,0 %.

Таким чином, за глибинного культивування штаму *Bacillus macerans* на середовищах з різними нітратовмісними сполуками рівень накопичення фермента пектинліази був досить високий – від 71,6 до 95,0 %. Найвищий рівень активності фермента спостерігали в середовищах, де як джерело Нітрогену застосовували білки тваринного походження (пептон та гідролізат казеїну). Застосування Нітрогену мінерального походження знижало активність ензиму на 20–30 % за винятком амонію фосфорноокислого двозаміщеного, де зниження активності відбувалось лише на 5,0 %.

Під час заміни бурякового жому у складі поживного середовища застосовували інші джерела вуглеводів: цукор, мальтозу, глюкозу, крохмаль, нативну целюлозу, NaKMЦ, лігнін, пектин буряковий, пектин яблучний, висівки пшеничні, (із розрахунку 2,2 % за вуглеводами) (табл. 2).

Таблиця 2 – Вплив джерела вуглеводів у поживному середовищі *Bacillus macerans* на синтез пектаттранселімінази

Джерело вуглеводів	Пектаттранселіміназна активність, од/мл
Глюкоза	1670±102,4***
Мальтоза	2360±203,5***
Цукроза	2050±178,4***
Крохмаль	8670±362,9***
Нативна целюлоза (хроматографічний папір)	12380±867,3***
Модифікована целюлоза (NaKMЦ)	10100±672,1***
Лігнін	4800±111,7***
Пектин буряковий	23900±673,6
Пектин яблучний	19680±1574,4*
Висівки пшеничні	13440±734,7***
Жом буряковий (контроль)	24300±835,9

Примітка: \* –  $p \leq 0,05$ ; \*\*\* –  $p \leq 0,001$

На другому етапі підбір оптимального джерела вуглеводів проводили на середовищах із сечовиною – найефективнішим джерелом Нітрогену.

Експериментально встановлено, що найнижча активність пектаттранселімінази була у варіанті, де джерелом вуглеводів виступала глюкоза. Показник був меншим у 14,6 раза ( $p \leq 0,001$ ) ніж у контролі. На поживному середовищі з умістом мальтози та цукрози, кількість синтезованого продуцентом ферменту становила 9,7 та 8,4 % відповідно, від контролю ( $p \leq 0,001$ ).

Застосування лігніну не дало високих результатів у отриманні пектаттранселімінази, показник активності ензиму був у 5,1 рази менший, ніж у контролі.

За умов включення крохмалю у поживне середовище активність пектаттранселімінази була на рівні 35,7 % від контролю ( $p \leq 0,001$ ).

У варіантах, де застосовували модифіковану целюлозу, нативну целюлозу та висівки пшеничні, рівень синтезу пектаттранселімінази продуцентом *Bacillus macerans* був вищим порівняно з легкодоступними вуглеводами і лігніном. Однак активність ензиму була нижчою у 2,4; 1,9 та 1,8 раза ( $p \leq 0,001$ ) відповідно порівняно з контролем.

За умов використання пектину бурякового та пектину яблучного показник накопичення досліджуваного фермента був найбільш наближеним до контролю. Різниця з ним становила лише 1,6 та 19,0 % відповідно.

Застосування простих цукрів як єдиних джерел вуглеводів у поживному середовищі сприяло накопиченню біомаси бактерій, однак не стимулювало синтезу ферменту. Цей факт добре узгоджується з теорією індукування специфічним субстратом синтезу відповідного виду ферментів. Таким специфічним субстратом для пектинліази є пектин, який забезпечує ферментативну активність на рівні від 80,0 до 95,0 %. Внесення в поживне середовище субстратів, які містять некрохмалисті поліцукри (целюлоза, пектин), сприяє кращому накопиченню пектинліази, ніж додавання цукрів крохмалистої природи.

Таким чином, виявлено, що оптимальним джерелом Нітрогену та вуглеводів для продуцента *Bacillus macerans* є відповідно сечовина та жом буряковий.

**Висновки та перспективи подальших досліджень.** 1. Застосування у складі поживного середовища для штаму *Bacillus macerans* сечовини як джерела Нітрогену дає змогу синтезувати ензими пектолітичною активністю  $21650 \pm 455,2$  од/мл.

2. Оптимальним джерелом вуглеводів у поживному середовищі для штаму *Bacillus macerans* є жом буряковий, що дозволяє одержати пектаттранселіміназу з активністю 24300 од/мл.

Перспективним напрямом дослідження є вивчення впливу різних стабілізаторів на збереження пектолітичної активності ензимів продукованих штамом *Bacillus macerans*.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Болоховская В.А. Основные аспекты использования ферментной добавки Мацераза в комбикормах с повышенным содержанием трудноперевариваемых компонентов / В.А. Болоховская, В.В. Болоховский // Материалы конференции «Украина. Комбикорма 2006» (26–28 апреля, 2006 г.). – К., 2006. – С. 34–38.
2. Донченко Л.В. Технология пектина и пектинопродуктов / Л.В. Донченко. – М.: ДеЛи, 2000. – 256 с.
3. Препараты ферментные. Методы определения активности пектолитического комплекса: ГОСТ 20264.3–81. – [Введен в действие 2002-01-01]. – М.: Изд-во стандартов, 1981. – 18 с.
4. Свойства фитазы, пектинлиазы и а-галактозидазы *Penicillium canescens* / О.А. Синицына, Е.А. Федорова, И.М. Вакар [и др.] // Третий москов. междунар. конгресс «Биотехнология состояние и перспективы развития», Март 14–18, – М., 2005. – С. 212.
5. Simtsyna O.A. Applications of the recombinant enzymes from *Penicillium canescens* in biotechnological processes International / O.A. Simtsyna, E.A. Fedorova, A.G. Pravilnikov // Conference Biocatalysis-2007 «Fundamentals&Applications», June 17–22, 2007. – Moscow-St Petersburg, 2007. – P. 54.

#### REFERENCES

1. Bolohovskaja V.A. Osnovnye aspekty ispol'zovanija fermentnoj dobavki Maceraza v kombikormah s povyshennym soderzhanijem trudnoperevarivaemyh komponentov / V.A. Bolohovskaja, V.V. Bolohovskij // Materialy konferencii «Украина. Комбикорма 2006» (26–28 aprlja, 2006 g.). – K., 2006. – S. 34–38.
2. Donchenko L.V. Tehnologija pektina i pektinoproduktov / L.V. Donchenko. – M.: DeLi, 2000. – 256 s.
3. Preparaty fermentnye. Metody opredelenija aktivnosti pektoliticheskogo kompleksa: GOST 20264.3–81. – [Vveden v dejstvie 2002-01-01]. – M.: Izd-vo standartov, 1981. – 18 s.
4. Svoystva fitazy, pektinliazy i a-galaktosidazy *Penicillium canescens* / O.A. Sinicyna, E.A. Fedorova, I.M. Vakar [i dr.] // Tretij moskov. mezhdunar. kongress «Biotehnologija sostojanie i perspektivy razvitiya», Mart 14–18, – M., 2005. – S. 212.
5. Simtsyna O.A. Applications of the recombinant enzymes from *Penicillium canescens* in biotechnological processes International / O.A. Simtsyna, E.A. Fedorova, A.G. Pravilnikov // Conference Biocatalysis-2007 «Fundamentals&Applications», June 17–22, 2007. – Moscow-St Petersburg, 2007. – P. 54.

#### Оптимизация питательных сред для культивирования штамма *Bacillus macerans* как продуцента пектолитической кормовой добавки

**В.В. Болоховский, О.Н. Мельниченко**

Изложены результаты исследований отработки оптимального состава питательной среды для штамма *Bacillus macerans*. Изучалось влияние аммония сернокислого, аммония хлористого, аммония фосфорнокислого двозамещенного, аммония лимоннокислого, пептона, гидролизата казеина и мочевины как источника Нитрогена в составе питательной среды для штамма *Bacillus macerans*. Исследовали влияние действия сахара, мальтозы, глюкозы, крахмала, нативной целлюлозы, НКМЦ, линина, пектина свеклы, отрубей пшеницы, жома свеклы как источника углеводов в составе питательной среды.

Установлено, что оптимальным источником Нитрогена и углеводов в составе питательной среды для продуцента есть, соответственно, мочевина и жом свеклы.

**Ключевые слова:** питательная среда, штамм *Bacillus macerans*, энзимы, мочевина, жом свеклы, пектаттранселіміназа.

Надійшла 24.03.2014.