

УДК 577.112; 577.122

УЧАСТЬ ІНТЕРМЕДІАТІВ КАТАБОЛІЗМУ ГЛУТАМІНУ В ПРОЦЕСАХ МІКРОБНОГО АМОНІЄГЕНЕЗУ В РУБЦІ

М. С. Калачнюк¹, Д. О. Мельничук¹, Л. Г. Калачнюк¹,
М. Мароунек², О. Г. Савка², Г. І. Калачнюк¹
lilkalachnyuk@gmail.com

¹Національний університет біоресурсів і природокористування України, вул. Героїв
Оборони, 15; Київ, 03041, Україна

²Інститут фізіології і генетики тварин, Чеська академія наук, 14220 Прага,
Чеська Республіка

З допомогою класичних і сучасних методів досліджень у дослідах *in vitro* з'ясували перетворення глютаміну комплексом мікроорганізмів-симбіонтів вмістимого рубця, одержаного через фістули від телят із сформованим рубцевим типом травлення. Під час 96-годинної інкубації при кожному відборі аліквот культурального середовища проводили визначення біохімічних показників контрольних і дослідних зразків.

У дослідні культуральні середовища, крім 40 мМ глютаміну або глютаму, додавали йонофор монензин у кінцевій концентрації 5 мг/л.

Особливу увагу звертали на визначення концентрації водневих іонів (рН), редокс-потенціалу (Еh), NH₃, протеїну, глютаміну, суми й окремих індивідуальних летких жирних кислот (ЛЖК) та ін., а також активність ензимів α-кетоглутаратдегідрогенази, глютамінсинтетази, L-аспартат:2-оксоглутаратамінотрансферази і L-аланін:2-оксоглутаратамінотрансферази.

Показано, що клітини змішаної популяції мікроорганізмів-симбіонтів рубця метаболізують глютамін через утворення глютаму і піроглутамату (піролідонкарбонову кислоту) до амоніаку й низькомолекулярних карбонових кислот.

Процеси перетворення глютаміну супроводжуються специфічними змінами фізико-хімічних властивостей культурального середовища і, передусім, вірогідним зміщенням у бік менших від'ємних величин Еh та підвищенням рН, що неоднозначно позначається на ензимних реакціях, які залучені у метаболізм аміду глютамінової кислоти та його інтермедіатів (інгібується активність α-

кетоглутарат-дегідрогенази й активуються амінотрансферази на тлі зростання вмісту проміжних та кінцевих продуктів деградації глютаміну).

Монензин має здатність вірогідно захищати глютамін та такі його інтермедіати, як глютаміат і піроглутамат, від швидкої мікробної деградації, що підтверджується суттєвим зниженням рівнів рН, аміаку, суми ЛЖК, ацетату, бутирату, активності α-кетоглутаратдегідрогенази та глютамінсинтетази за паралельного підвищення рівнів редокс-потенціалу, активності амінотрансфераз і білкового фонду.

Регуляторна роль йонофору в процесах асиміляції азоту в рубцевому середовищі найбільш виразно проявляється у його селективному інгібуванні росту й розвитку грам-позитивних бактерій, будова клітинних оболонок і мембран у яких є іншою, ніж у грам-негативних мікробів та гальмуванні ензимних реакцій, задіяних у механізми метаболізму глютаміну, глютаму і піроглутамату, що, очевидно, функціонують в окремому циклі інтра- й екзоцелюлярних перетворень азотовмісних сполук.

Ключові слова:
МІКРООРГАНІЗМИ-СИМБІОНТИ
РУБЦЯ, КАТАБОЛІЗМ ГЛУТАМІНУ,
ГЛУТАМАТ, ПІРОГЛУТАМАТ,
АМОНІЄГЕНЕЗ, МІКРОБНІ ЕНЗИМИ,
ЖУЙНІ ТВАРИНИ

PARTICIPATION OF INTERMEDIATES OF CATABOLISM OF GLUTAMINE IN PROCESSES OF MICROBIAL AMMONIAGENESIS IN THE RUMEN

M. S. Kalachnyuk¹, D. O. Mel'nychuk¹, L. G. Kalachnyuk¹,
M. Marounek², O. G. Savka², G. I. Kalachnyuk¹
lilkalachnyuk@gmail.com

¹National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,
Heroiv Oborony str.,15; Kyiv, 03041, Ukraine

²Institute of Animal Physiology and Genetics, Academy of Science
of the Czech Republic, 142 20 Prague, Czech Republic

With classic and contemporary research methods, in experiments in vitro, conversion of glutamine was clarified by complex of microorganisms-symbionts of ruminal inoculates which were taken through the fistula resulting from calves with prevailing ruminal type of digestion. During the 96-hour incubation, at each selection of aliquot of the culture medium biochemical parameters of control and experimental samples were determined.

Into experimental media, it was added, besides 40 mM glutamine or glutamate, ionophore Monensin Sodium in the end-concentration 5 mg/L.

Particular attention is paid to the definition of concentration of hydrogen ions (pH), redox potential (Eh), NH₃, protein, glutamine, total and individual volatile fatty acids (VFA) etc., and also activity of the enzyme α -ketoglutarate dehydrogenase, glutamine synthetase, L-aspartate: 2-oxo-glutarate aminotransferase and L-alanine: 2-oxo-glutarate aminotransferase.

It has been shown that cells of mixed population of ruminal microorganisms-symbionts metabolize glutamine through producing glutamate and pyro-glutamate (pyrrolidone carboxylic acid) to ammonia and low molecular carboxylic acids.

The process of glutamine transformation accompanied by specific changes in the physico-chemical properties of the culture medium and, above all, a significantly shift towards less negative values of Eh and pH increase, which is ambiguous effect on enzyme reactions involved in the metabolism of glutamic acid amide and its intermediates (it's inhibited activity of α -

ketoglutarate dehydrogenase and activated aminotransferases on rising content of intermediate and final products of degradation of glutamine).

Monensin has the ability to protect significantly glutamine and its intermediates such as glutamate and pyro-glutamate from rapid microbial degradation, as evidenced by a significant decrease in the levels of pH, ammonia, total VFA, acetate, butyrate, activity α -keto-glutarate dehydrogenase and glutamine synthetase by a parallel increase in levels of redox potential, activity of aminotransferases and protein fund.

Ionophore regulatory role in the process of assimilation of nitrogen in the rumen is most clearly reflected in its selective inhibition of growth and development of Gram-positive bacteria (the structure of cell walls and membranes which are different both in Gram-negative bacteria) and inhibition of enzyme reactions involved in the mechanisms of metabolism of glutamine, glutamate and pyro-glutamate, which apparently operate in a single cycle of intracellular and exocellular transformations of nitrogen-containing compounds.

Keywords: RUMINAL
MICROORGANISMS-SYMBIONTS,
CATABOLISM OF GLUTAMINE,
GLUTAMATE, PYRO-GLUTAMATE,
AMMONIAGENESIS, MICROBIAL
ENZYMES, RUMINANT ANIMALS

УЧАСТИЕ ИНТЕРМЕДИАТОВ КАТАБОЛИЗМА ГЛУТАМИНА В ПРОЦЕССАХ МИКРОБНОГО АММОНИЕГЕНЕЗА В РУБЦЕ

M. S. Калачнюк¹, Д. А. Мельничук¹, Л. Г. Калачнюк¹,
М. Мароунек², О. Г. Савка², Г. И. Калачнюк⁴
lilkalachnyuk@gmail.com

The Animal Biology, 2013, vol. 15, no. 2

¹Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, ул. Героев
Обороны, 15; Киев, 03041, Украина

²Институт физиологии и генетики животных, Чешская академия наук, 14220 Прага,
Чешская Республика

С помощью классических и современных методов исследований в экспериментах in vitro выяснили преобразование глутамин-содержащего рубца, полученного через фистулы от телят со сформированным рубцовым типом пищеварения. Во время 96-часовой инкубации при каждом отборе аликвот культуральной среды проводили определения биохимических показателей контрольных и опытных проб.

В опытные культуральные среды, кроме 40 мМ глутамин или глутамат, добавляли ионофор монэнзин в конечной концентрации 5 мг/л.

Особое внимание обращали на определение концентрации водородных ионов (рН), редокс-потенциала (Еh), NH₃, протеина, глутамин, суммы и отдельных индивидуальных летучих жирных кислот (ЛЖК) и др., а также активность энзимов α-кетоглутаратдегидрогеназы, глутаминсинтетазы, L-аспартат : 2-оксоглутаратаминов-трансферазы и L-аланин : 2-оксоглутаратаминов-трансферазы.

Показано, что клетки смешанной популяции микроорганизмов-симбионтов рубца метаболизируют глутамин через образование глутамин и пироглутамин (пирролидонкарбоновую кислоту) до аммиака и низкомолекулярных карбоновых кислот.

Процессы преобразования глутамин сопровождаются специфическими изменениями физико-химических свойств культуральной среды и, прежде всего, достоверным сдвигом в сторону меньших отрицательных величин Еh и повышениями рН, что неоднозначно влияет на энзиматические реакции, которые вовлечены в метаболизм амида глутаминовой кислоты и его интермедиатов (ингибируется активность α-кетоглутаратдегидрогеназы и активируются аминотрансферазы на фоне повышения содержания промежуточных и конечных продуктов деградации глутамин).

Монэнзин обладает свойством достоверно защищать глутамин и такие его интермедиаты, как глутамин и

пироглутамин, от быстрой микробной деградации, что подтверждается существенным снижением уровней рН, аммиака, суммы ЛЖК, ацетата, бутирата, активности α-кетоглутаратдегидрогеназы и глутаминсинтетазы при параллельном повышении уровней редокс-потенциала, активности аминотрансфераз и протеинового фонда.

Регуляторная роль ионофора в процессах ассимиляции азота в рубцовой среде наиболее четко проявляется в его селективном ингибировании роста и развития грам-положительных бактерий строение клеточных оболочек и мембран в которых является иным, чем в грам-отрицательных микробов и торможении энзиматических реакций, вовлеченных в механизмы метаболизма глутамин, глутамин и пироглутамин, что, вероятно, функционируют в отдельном цикле интра- и экзоцеллюлярных преобразований азотосодержащих веществ.

Ключевые слова:
МИКРООРГАНИЗМЫ-СИМБИОНТЫ
РУБЦА, КАТАБОЛИЗМ ГЛУТАМИНА,
ГЛУТАМАТ, ПИРОГЛУТАМАТ,
АМОНИЕГЕНЕЗ, МИКРОБНЫЕ
ЭНЗИМЫ, ЖВАЧНЫЕ ЖИВОТНЫЕ

У рубцевому середовищі процесі амонієгенезу залежать від складу дієти та життєдіяльності мікроорганізмів-симбіонтів, які розщеплюють кормовий протеїн до амінокислот і дезамінують їх [1, 2]. Утворений амоніак і карбонові ланцюги переважно йдуть на формування клітин мікробів. За умов, коли обсяги продукції аміаку переважають можливості його використання, то його надлишки надходять у кров і значна частина їх екскретується із сечею [3]. У таких та багатьох інших випадках специфічну роль відіграє глутамін і ті реакції, які залучені у механізми його синтезу та розпаду [4]. У зв'язку з цим особливе значення для теорії і практики має глибоке вивчення цих механізмів у

рубці за екзогенної дії йонофорів [5–7], які мають здатність змінювати перебіг метаболічних процесів, що й послужило основою для проведення наших досліджень.

Матеріали і методи

Відібраний через фістули вміст рубця (від телят із сформованим типом рубцевого травлення) фільтрували через нейлонову матерію. Одержану рідку частину з комплексом мікроорганізмів-симбіонтів розводили буфером (20 % v/v). У 1 л цього буферного розчину було 292 мг K_2HPO_4 , 292 мг KH_2PO_4 , 480 мг Na_2SO_4 , 480 мг $NaCl$, 100 мг $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 64 мг $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, 4 мг Na_2CO_3 , і 6 г цистеїнгідрохлориду.

У контрольних пробах не було додаткових амінокислот чи пептидів. Ці проби продукували незначні кількості аміаку (< 2 мМ). У дослідні проби, у якості основного джерела азоту й енергії, додавали 40 мМ глютаміну або глютамату. Величину рН змінювали шляхом додавання розчину $NaOH$ (10 % w/v) або концентрованої HCl .

Інкубацію одержаної змішаної популяції мікроорганізмів-симбіонтів проводили при 39°C упродовж від 0 до 96 год у спеціальних мікробіологічних флаконах, закоркованих гумовими прокладками з фіксуючими металевими закрутками, щоб забезпечити підтримання постійного анаеробного стану в інкубаційному середовищі.

Серед йонофорів було вибрано монензин (Monensin Sodium — $C_{36}H_{67}O_{11}Na$ — продукт плісняви *Streptomyces cinnamonensis* — «Elanco Products Co», Indianapolis, USA). Його вводили у дослідні проби на початку інкубації (0 год) із кінцевою концентрацією 5 мг/л; до контрольних проб монензин не додавали.

При кожному відборі аліквот із усіх інкубаційних проб проводили вимірювання концентрацій водневих іонів (рН) і редокс-потенціалу (Eh) та визначення інших

біохімічних показників. Відібрані культури центрифугували (8400 g, 15 хв) і надосадову рідину заморожували та зберігали при -20°C.

Загальноприйнятими методами [2–11] у супернатанті визначали концентрацію амоніаку, протеїну, загальну кількість летких жирних кислот (ЛЖК) шляхом парової дистиляції у апараті Маркгама із наступним титруванням, окремі ЛЖК (ацетат, бутират та ін.) — на газових хроматографах («Chrom-4» mod. Laboratory Instruments, Прага, Чеська Республіка) з Фідетектором, 125 °С, за тиску 150 кПа та «Fractovar», колонкою (mod. Column 10-4 мм, 1–1,8 м, N — 25 мл/хв.) з носієм (5 % TEAP на Chromosorb WHP), активність α -кетоглутаратдегідрогенази (ЕС 1.2.4.2) за методом Sanadi, глютамінсинтетази (ЕС 6.3.1.2) за методом Elliot, L-аспартат:2-оксо-глутаратамінотрансферази (ЕС 2.6.1.1) і L-аланін:2-оксоглутаратамінотрансферази (ЕС 2.6.1.2).

Результати й обговорення

Одержані результати досліджень наведено на рисунках 1–6. Вони свідчать, що при інкубації змішаної мікробної популяції рубця з глютаміном (40 мМ) за стартового рН 6,0 спостерігається доволі швидка його метаболізація. На це вказує зростання вмісту NH_3 у середовищі (рис. 1, крива 1). Раніше Дж. Рассел і Г. Чен [7] показали, що весь глютамін цілком метаболізується за 48 годин у звичайних умовах інкубації. Згідно з нашими експериментальними даними у цей час дійсно припиняється зростання вмісту амоніаку (рис. 1, крива 1). Така ж картина спостерігалася у процесах утворення сумарної кількості низькомолекулярних карбонових кислот (рис. 2, крива 1) в тому числі ацетату й бутирату (рис. 3, криві 1 і 3). У той же час рівні редокс-потенціалу і рН змінюються по-різному: перший відхиляється в бік від'ємних величин (Eh; рис. 4, крива 1), а другий — у бік більших значень (рис. 4, крива 3).

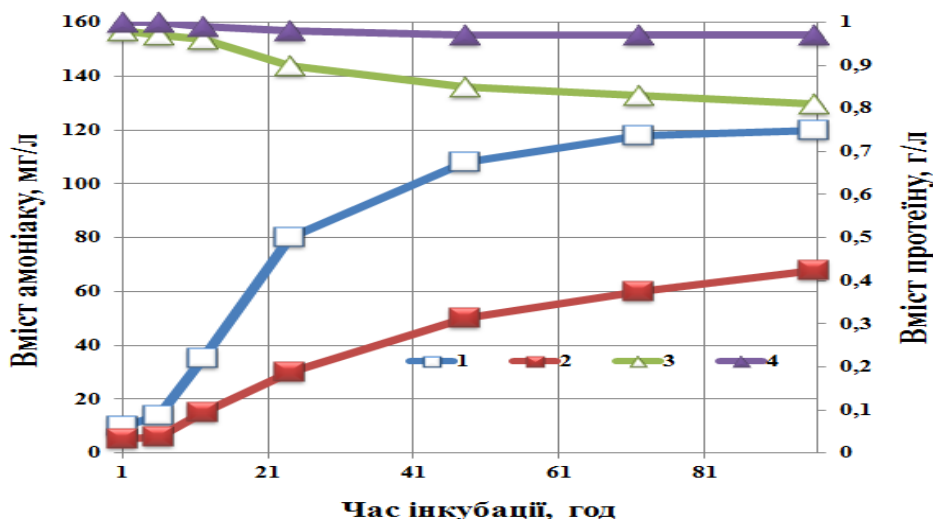


Рис. 1. Динаміка змін вмісту амоніаку (мг/л) та протеїну (г/л) в інкубаційному середовищі за умов відсутності (відповідно — криві 1 та 3) й у присутності (відповідно — криві 2 та 4) йонофору ($M \pm m$; $n=5$)

Із зниженням рівня глутаміну в середовищі виявляється також і зниження активності (у пропорційному співвідношенні) таких ензимів, як α -кетоглутаратдегідрогенази (рис. 5, крива 1) та в значно меншій мірі глутамінсинтетази

(рис. 5, крива 3), а зі збільшенням продукції утворення проміжних продуктів перетворення аміду глутамату значно зростає активність амінотрансфераз (рис. 6, криві 1, 3).

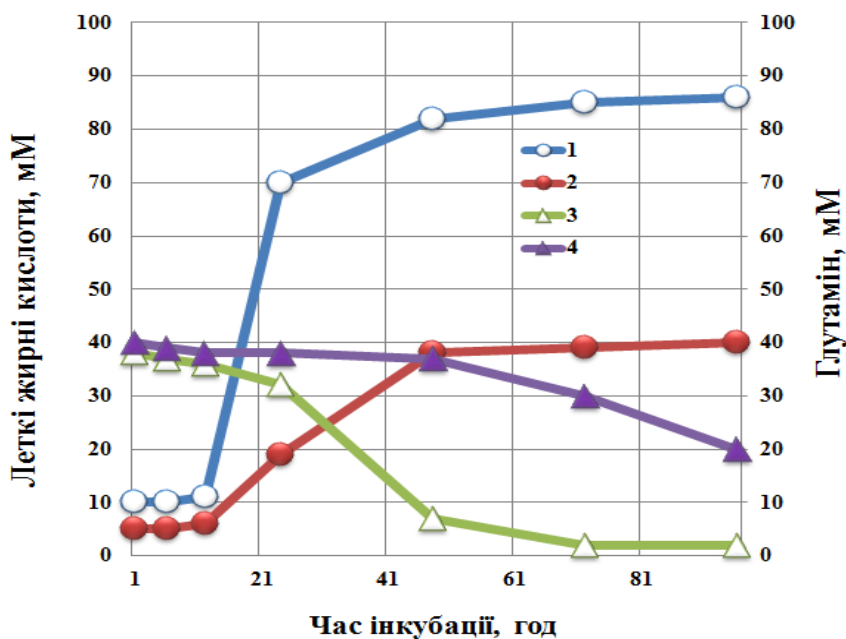


Рис. 2. Динаміка змін вмісту суми легких жирних кислот (мМ) та глутаміну (мМ) в інкубаційному середовищі за умов відсутності (відповідно — криві 1 та 3) й у присутності (відповідно — криві 2 та 4) йонофору ($M \pm m$; $n=5$)

За даними окремо проведеної інкубації протягом 24 годин швидкість утилізації глутаміну перевищує продукцію низькомолекулярних карбонових кислот. Протягом цього періоду було виявлено

утворення піроглутамату у кількостях більших за 3 мМ [7].

При додаванні до культурального середовища йонофору монензину (5 мг/л) спостерігається значне зниження ферментації глутаміну (рис. 2, крива 4; [7]),

що підтверджується нижчими рівнями нагромадження амоніаку (рис. 1, крива 2), загальної концентрації суми низькомолекулярних карбонових кислот (рис. 2, крива 2), ацетату й бутирату (рис. 3, криві 2, 4). Наведений стан сприяє утворенню піроглутамату і кількість його за таких умов може становити близько половини утилізованого глутаміну [7]. У спеціальних дослідках було показано уповільнення монензином швидкості розкладу глутамінової кислоти, понад 85 % якої залишалися недеградованими протягом 96 год інкубації і при цьому майже повністю інгібувався процес дезамінування піроглутамату, в той час як контрольні рубцеві бактеріальні культури (у відсутності йонофору) цілком його утилізували [7].

Дія монензину вірогідно позначається як на кінетиці змін

концентрації водневих йонів, яка під час інкубації знижувалася на 50 % (рис. 4, крива 4), так на динаміці рівнів Eh , котрий зростає порівняно з контролем (рис. 4, крива 2), що й можна було очікувати, враховуючи обернену корелятивну залежність вищевказаних показників у середовищі рубця [8]. Величини редокс-потенціалу у травному тракті знаходяться в межах відхилень від -100 до $+186$ мВ, тоді як у рубці — від -100 до -400 мВ, що свідчить про істотну зміну монензином фізико-хімічних процесів у середовищі рубця. І, можливо, різке підвищення Eh на 24^ї годині інкубації (рис. 4, криві 1, 2) якраз і відображає етап перетворення глутаміну до піроглутамату. Як видно із даних рисунку, на цьому етапі йонорфор проявляє свою значну протекторну дію.

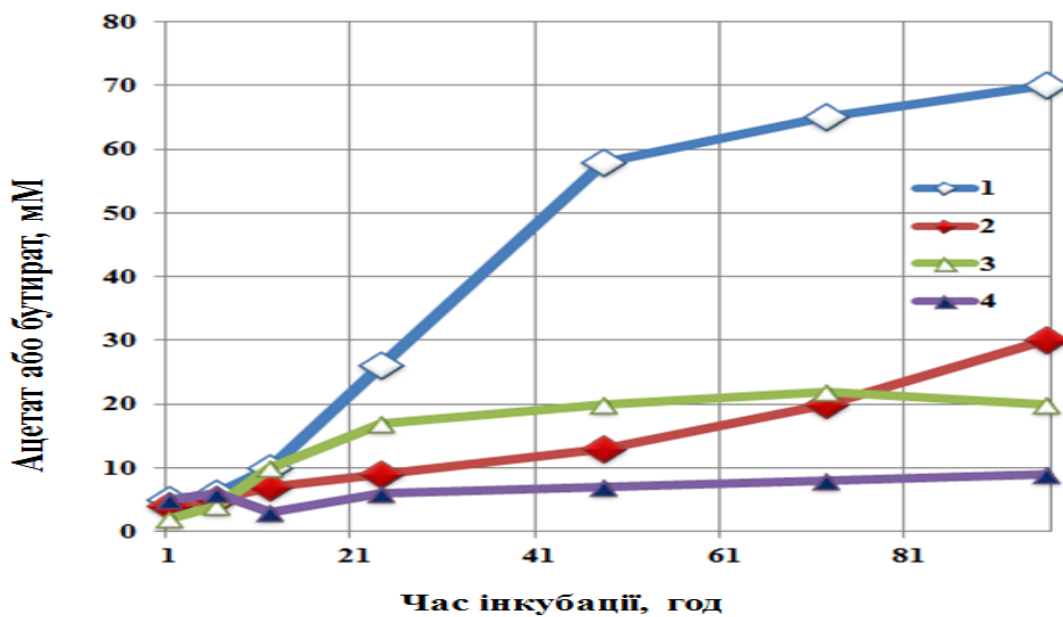


Рис. 3. Зміни утворення ацетату (мМ) та бутирату (мМ) в інкубаційному середовищі за умов відсутності (відповідно — криві 1 та 3) й у присутності (відповідно — криві 2 та 4) йонофору ($M \pm m$; $n=5$)

Суттєво посилюючи роботу L-аланін- та L-аспартат:2-оксоглутаратамінотрансфераз, йонофор знижує активність глутамінсинтетази (рис. 5, крива 4) і α -кетоглутаратдегідрогенази (рис. 5, крива 2) та помітно захищає білок від деградації (рис. 1, крива 4), кількість якого в той час у контролі з часом інкубації поступово зменшується (рис. 1, крива 3).

При збільшенні нагромадження у середовищі проміжних та кінцевих продуктів розпаду глутаміну, в тому числі NH_3 та низькомолекулярних карбонових кислот, очевидно, посилюються процеси переамінування, спрямовані на підтримання відповідного балансу вільних амінокислот, необхідних для тих груп *грам*-негативних бактерій, на які дія монензину не

поширюється. Першопричиною певної інактивації глутамінсинтетази (рис. 5, крива 4), можливо, також було зниження рівнів вільного амонійного азоту в середовищі під дією йонофору, що спостерігалось і раніше [2, 4, 5].

Слід зазначити, що у середовищі з глутаміном, як єдиним джерелом енергії й азоту, *грам*-негативні бактерії здатні продукувати піроглутамат [7], аміногрупа якого не знаходиться ззовні молекули. Це й викликало труднощі його виділення довгий час. А в останні десятиріччя минулого століття було з'ясовано, що кінцевою амінокислотою у гіпоталамічних релізінг-гормонах є піроглутамат, і зокрема, у тиреотропін-релізінг-гормоні — трипептиді піроглутамату, гістидину й проліну. Але досі невідомо яким чином піроглутамат засвоюється тваринами: чи у складі трипептидів, чи у вигляді глутамільних залишків, модифікованих посттрансляційно?

Тут доречно нагадати, що глутамінциклотрансферазу, яка присутня в

E. coli, було виявлено і в тканинах тварин, хоча вона не здатна модифікувати глутамільні залишки або тРНК, або ж відповідати за піроглутаматове включення до пептидів [10]. У слизовій оболонці глутамат акцептується тРНК, а за стимуляції її розвитку з допомогою сухої дієти інтенсивність такого процесу знижувалася удвічі [3, 9] через те, що виникає можливість паралельного використання піроглутамату та інших азотовмісних сполук. У подібних експериментах [7] контрольні культури рубцевих мікроорганізмів-симбіонтів (без монензину) утилізували весь піроглутамат, тоді як дослідні культури (з монензином) утилізували його дуже мало. За додавання йонофору майже повністю інгібувалося дезамінування піроглутамату, що підтверджується експериментальними даними *in vivo* та *in vitro*, які демонстрували гальмівну дію монензину на продукцію амонію.

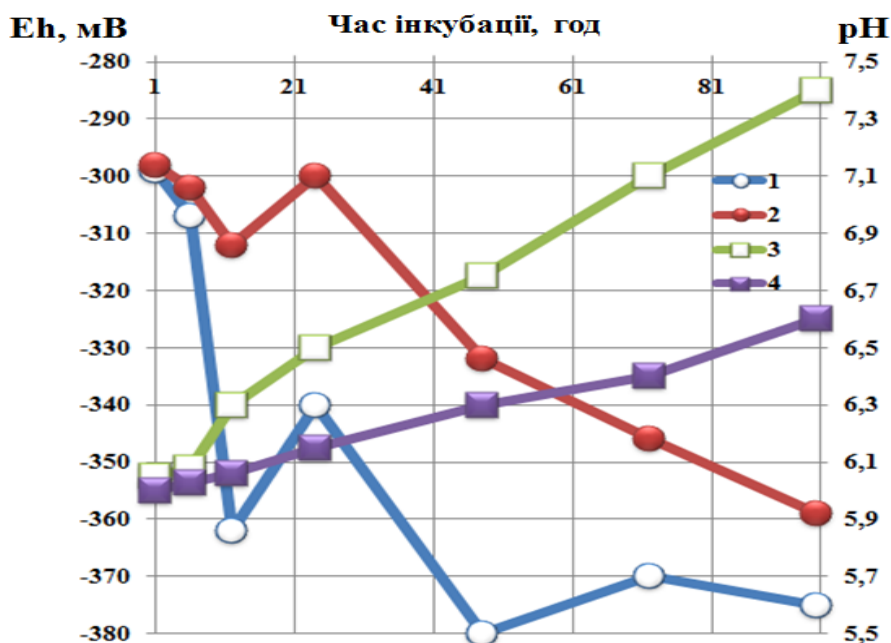


Рис. 4. Динаміка змін рівнів Eh та pH в інкубаційному середовищі за умов відсутності (відповідно – криві 1 та 3) й у присутності (відповідно — криві 2 та 4) йонофору ($M \pm m$; $n=5$)

У той час відзначалася активація *грам*-негативних амонійпродукуючих рубцевих бактерій, які резистентні до йонофорів. Не тільки *грам*-позитивні

бактерії чутливі до йонофорів, а й — протозоа, обсяги продукції амонію якими є значно меншими порівняно з бактеріями. Більшість бактерій рубця не можуть

дезамінувати амінокислоти, але такі штами, як: *Megasphaera elsdenii*, *Bacteroides ruminicola*, *Seimonas ruminantium*, *Eubacterium ruminantium*, *Butyrivibrio fibriosolvens* та лактобацили продукують певну кількість амонію, швидкість продукції якого є низькою. *Bacteroides ruminicola* вважається найактивнішою із

вказаних бактерій у телят, хоча ця активність є нижчою за таку ж для загальної суміші культур. Пептострептококи, *Streptococcus bovis* та інші бактерії продукують піроглутамат з глутаміну, а інші мікроорганізми зферментовують його [7].

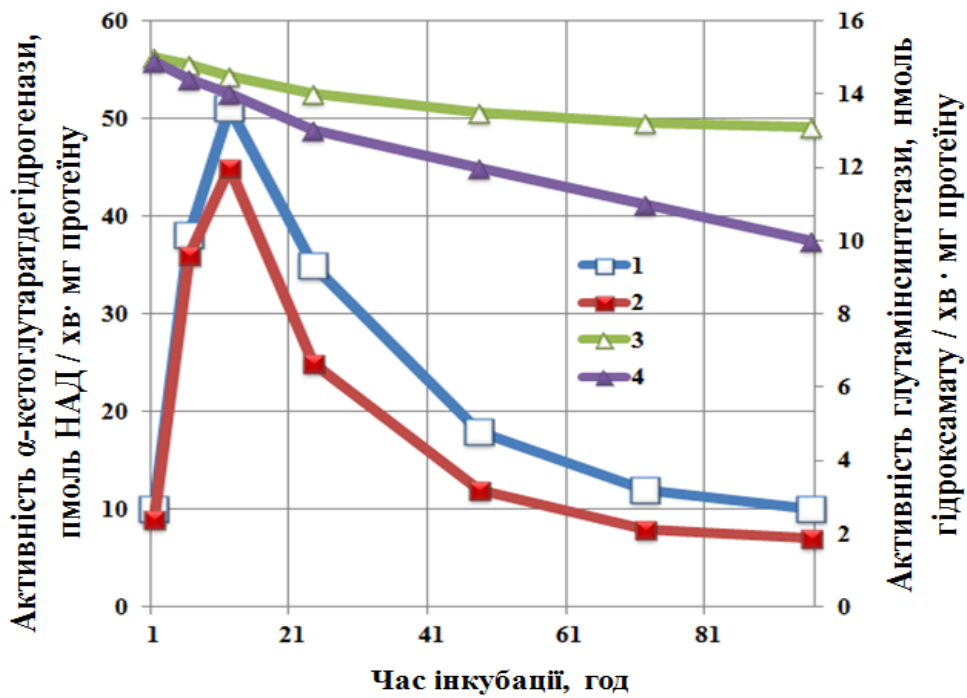


Рис. 5. Зміни рівнів активності α -кетоглутаратдегідрогенази (пмоль НАД/хв·мг білка) та глутамінсинтетази (нмоль гідроксамату/хв·мг білка) в інкубаційному середовищі за умов відсутності (відповідно — криві 1 та 3) й у присутності (відповідно — криві 2 та 4) йонофору ($M \pm m$; $n=5$)

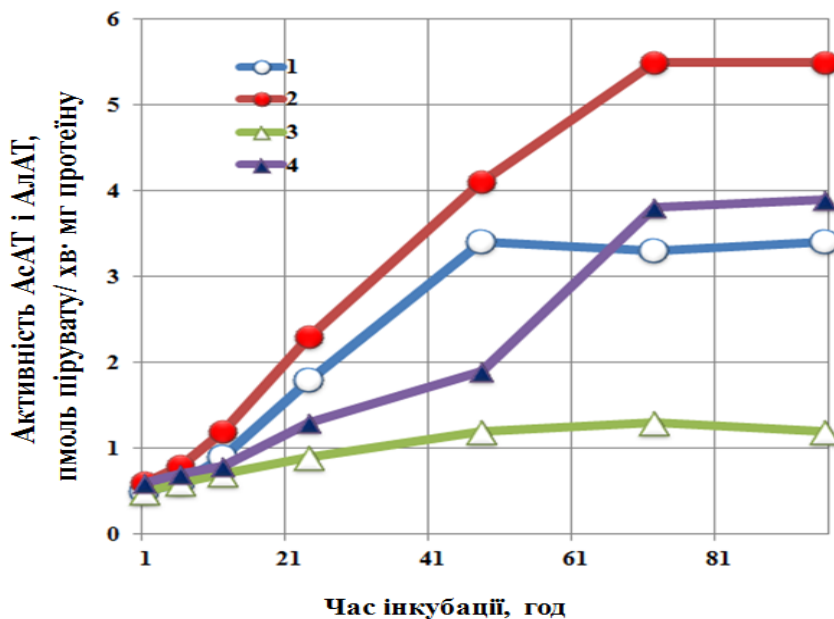


Рис. 6. Зміни рівнів активності АсАТ (пмоль пірувату/хв·мг білка) та АлАТ (пмоль пірувату/хв·мг білка) в інкубаційному середовищі за умов відсутності (відповідно — криві 1 та 3) й у присутності (відповідно — криві 2 та 4) йонофору ($M \pm m$; $n=5$)

За умов інкубації виявляються і зміни в роботі ензимів, залучених у процеси метаболізму глутаміну: з одного боку, спадає активність α -кетоглутаратдегідрогенази (рис. 5, крива 1) пропорційно до зменшення рівнів глутаміну (рис. 2, крива 3) та глутамату [7], а з іншого

— зростання активності амінотрансфераз (рис. 6, криві 1, 3).

Із вищенаведених результатів та даних літератури участь інтермедіатів катаболізму глутаміну в процесах мікробного амонієгенезу в рубці можна представити схемою Рассела-Чена [7], яка показана на рисунку 7.

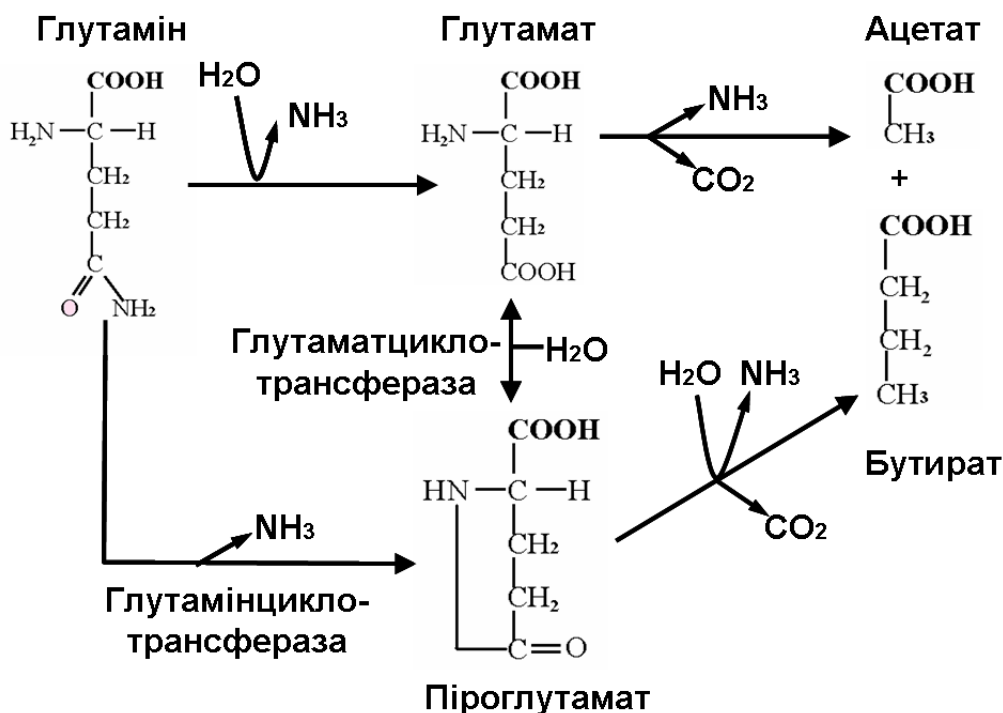


Рис. 7. Гіпотетична схема участі інтермедіатів катаболізму глутаміну в процесах мікробного амонієгенезу в рубці

Регуляторна роль йонофору в процесах асиміляції азоту в рубцевому середовищі найбільш виразно проявляється в його вибіркового інгібуванні росту й розвитку *грам*-позитивних бактерій (будова клітинних оболонок і мембран відрізняється від клітин *грам*-негативних бактерій) та в гальмуванні ензимних реакцій, задіяних у механізми метаболізму глутаміну, глутамату і піроглутамату, що, очевидно, функціонують в окремому циклі інтра- й екзоцелюлярних перетворень азотовмісних сполук.

Висновки

1. Клітини змішаної популяції мікроорганізмів-симбіонтів рубця

метаболізують глутамін через утворення глутамату і піроглутамату (пірлідонкарбонову кислоти) до амоніаку й низькомолекулярних карбонових кислот;

2. Процеси перетворення глутаміну супроводжуються специфічними змінами фізико-хімічних властивостей культурального середовища і, передусім, вірогідним зміщенням у бік менших від'ємних величин *Eh* та підвищенням *pH*, що неоднозначно позначається на ензимних реакціях, які залучені у метаболізм аміду глутамінової кислоти та його інтермедіатів (інгібується активність α -кетоглутарат-дегідрогенази й активуються амінотрансферази на тлі зростання вмісту проміжних та кінцевих продуктів деградації глутаміну);

3. Монензин має здатність вірогідно захищати глутамін та такі його інтермедіати, як глутамат і піроглутамат, від швидкої мікробної деградації, що підтверджується суттєвим зниженням рівнів рН, аміаку, суми ЛЖК, ацетату, бутирату, активності α -кетоглутаратдегідрогенази та глутамінсинтетази за паралельного підвищення рівнів редокс-потенціалу, активності аминотрансфераз і білкового фонду;

4. Регуляторна роль йонофору в процесах асиміляції азоту в рубцевому середовищі найбільш виразно проявляється у його селективному інгібуванні росту й розвитку *грам*-позитивних бактерій, будова клітинних оболонок і мембран у яких є іншою, як у *грам*-негативних мікробів та гальмуванні ензимних реакцій, задіяних у механізми метаболізму глутаміну, глутамату і піроглутамату, що, очевидно, функціонують в окремому циклі інтра- й екзоцелюлярних перетворень азотовмісних сполук.

Перспективи подальших досліджень. Доцільно продовжити дослідження з вивчення мікробного амонієгенезу у рубці телят за дії різних йонофорів.

1. Pengpeng W., Tan Z. Ammonia assimilation in rumen bacteria. *Anim Biotechnol.* 2013, 24(2), pp. 107–128.

2. Kmet' V., Baran M., Kalachnyuk G. I. *Rumen ecosystem manipulation of calves and lambs by microbial preparation.* Bratislava: Veda, 1990, 112 p.

3. Kalachnyuk G. I., Savka O. G., Leskovich B. M. Metabolism status of young cattle at prolonged feeding of non-traditional feedstuffs. *Physiology of ruminant nutrition*, ed. K. Bod'a, Kosice: Slov. Akad. Sci. Press, 1987. pp. 43–57.

4. Kalachnyuk L. G. *Molekulyarni aspekty ekzogennoi regulatsiyi metabolizmu u klitynakh mikroorganizmiv-symbiontiv ta tvaryny-hospodarya. Avtoreferat doktora biolohichnykh nauk.* [Molecular aspects of exogenous regulation of metabolism in cells of microorganisms-symbionts and host animal. Dr. biological sci. diss.]. Kyiv, 2009, 513 p. (in Ukrainian).

5. Kalachnyuk G. I., Marounek M., Savka O. G., Leskovich B. M. Effect of monensin on rumen fermentation and performance of young calves. *Arch. Anim. Nutr., Berlin.*, 1989, 39 (8-9), pp. 793–797.

6. Russell I. B., Strobel H. I. Effect of ionophores on ruminal fermentation. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1989, 55 (1), pp. 1–6.

7. Russell J. B., Chen G. Effects of monensin and pH on the production and utilization of piroglutamate, a novel product of ruminal glutamine deamination. *J. Anim. Sci.*, 1989, 67 (9), pp. 2370–2376.

8. Marounek M., Bartoš S., Kalachnyuk G. I. Dynamics of the redox-potential and rH in the rumen fluid of goats. *Physiol bohemslov*, 1982, 31 (4), pp. 369–374.

9. Kalachnyuk G. I. Protein biosynthesis in the mucosa. *Asian-Australasian J. of Anim. Sci. (AJAS)*, Tokyo-Sendai, 1989. 2 (3). pp. 424.

10. Orłowski M., Meister A. Enzymology of pyrrolidone carboxylic acid. *The Enzymes.* ed. P. D. Boyer, New York: Academic Press, 1971. 4. pp. 123–151.

11. Fridemann T. E., Brook T. The identification and determination of volatile alcohols and acids. *J. Biol. Chem.*, 1938, 123, pp. 161–184.