

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ПРЕ- И ПОСТПРАНДИАЛЬНЫЙ ПЕРИОД НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ КУР-НЕСУШЕК

В.Г. Вертипрахов, доктор биологических наук,
А.А. Грозина, кандидат биологических наук, **К.В. Борисенко**, аспирант

*Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства,
141311, Московская область, Сергиев Посад, ул. Птицеградская, 10
E-mail: vertiprakhov63@mail.ru*

Представлены результаты исследования биохимических показателей крови кур кросса Хайсекс белый 46-недельного возраста при добавлении в рацион биологически активных веществ: ферментного препарата (Астра PRO, 100 г/т), подкислителя, содержащего фумаровую кислоту (Менацид 330, 100 г/т), усилителя вкуса (Garlic allacin, 100 г/т). Установлено, что биохимические показатели крови в опытный период не имеют существенных отклонений от контроля, за исключением активности щелочной фосфатазы, которая уменьшается при добавлении в корм препарата протеазы на 47,8%. Наблюдается увеличение активности липазы на 66,7% при добавке к корму подкислителя и на 45,8% – усилителя вкуса. Следует отметить, что из всех исследуемых показателей наиболее лабильными в постпрандиальной фазе являются активность трипсина, в отдельных случаях – липазы и содержание глюкозы, которые увеличиваются по сравнению с состоянием до кормления в 1,7-2,1 раза, на 35,7% и на 20,0-21,0% соответственно.

EFFECTS OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN THE PRE- AND POSTPRANDIAL PERIOD ON THE BIOCHEMICAL PARAMETERS OF THE BLOOD IN LAYING HENS

Vertiprakhov V.G., Grozina A.A., Borisenko K.V.

*All-Russian Research and Technological Institute of Poultry
141311, Moskovskaya oblast, Sergiev Posad, ul. Ptitsegradskaya, 10
E-mail: vertiprakhov63@mail.ru*

The paper presents the results of biochemical blood tests in chicken Hisex White, 46 weeks of age when biologically active substances are added to the diet: an enzyme preparation (Astra PRO, 100 g/t), an acidulant containing fumaric acid (Menacid 330, 100 g/t), flavor enhancer (Garlic allacin, 100 g/t). It was established that biochemical blood parameters in the experimental period do not have significant deviations from the control, with the exception of alkaline phosphatase activity, which decreases when the protease is added to the feed by 47.8%. An increase in lipase activity is observed by 66.7% with the addition of an acidulant to the feed and by 45.8% – a flavor enhancer. It should be noted that of all the studied parameters, the activity of trypsin is the most labile in the postprandial phase, in some cases lipases and glucose content, which increase respectively compared to the state before feeding 1.7-2.1 times, by 35.7% and by 20.0-21.0%.

Ключевые слова: куры, активность пищеварительных ферментов в плазме крови, протеаза, подкислитель, усилитель вкуса

Key words: laying hens, activity of digestive enzymes in blood plasma, protease, acidifier, flavor enhancer

Для профилактики желудочно-кишечных заболеваний животных среди добавок известны подкислители кормов, кормовые ферменты, усилители вкуса, которые улучшают пищеварение и препятствуют развитию патогенной микрофлоры в кишечнике. Установлено положительное влияние препаратов, содержащих органические кислоты, на пищеварение у мясных кур, продуктивность и использование корма птицей [1-3].

Использование экзогенных ферментов для преодоления негативных эффектов антипитательных факторов, улучшения переваримости компонентов рационов и продуктивности птицы стало нормой в кормлении птицы. Несмотря на широкое использование кормовых ферментов, результаты их применения не всегда бывают положительными, поэтому необходимо найти ответы на целый ряд вопросов. Основываясь на опубликованных на данный момент результатах исследований [4], можно сделать вывод, что экзогенные ферменты могут переваривать от 25 до 35% от той части питательных веществ рациона, которые в норме не перевариваются эндогенными пищеварительными ферментами организма. С учетом того, что переваримость

питательных веществ в рационах, содержащих трудно-гидролизующие компоненты, составляет всего 75%, использование ферментов имеет широкую перспективу.

Вкусовая чувствительность важна для формирования кормовых предпочтений и пищевого поведения. Органами, которые отвечают за восприятие вкуса, являются вкусовые сосочки, преобразующие вкусовые стимулы в нервные сигналы. Ранее считалось, что у кур число вкусовых сосочков невелико, поэтому они характеризуются низкой остротой вкуса. Однако последние исследования показывают, что у кур хорошо развита система вкуса, и что число и площадь распределения вкусовых сосочков у них значительно больше, чем принято было считать [5-9]. Однако механизм положительного влияния вкуса корма на пищеварительную систему остается до конца не изученным. Учитывая взаимосвязь пищеварительных ферментов в кишечнике и плазме крови птицы [10, 11], целью настоящей работы было изучение влияния биологически активных веществ на биохимию крови у кур-несушек на фоне пре- и постпрандиальной фазы пищеварения.

Методика. Исследования проведены в 2018 г. на

20 курах кросса Хайсекс белый. В период выполнения опытов куры содержались в виварии Всероссийского научно-исследовательского и технологического института птицеводства при соблюдении условий кормления и содержания, рекомендуемых для соответствующего кросса птицы. Было сформировано 4 группы животных по 5 голов в каждой (средняя живая масса – 1540±162,1 г, возраст – 46 недель). Исследования выполняли в трех повторностях, схема опыта представлена в табл. 1.

Табл. 1. Схема опыта

Группа	Рацион
Контрольная	Основной рацион, сбалансированный по всем питательным веществам, согласно нормам ВНИ-ТИП (Методическое руководство по кормлению сельскохозяйственной птицы, 2015)
Опытная 1	Основной рацион + протеаза Axtra pro, 100 г/т
Опытная 2	Основной рацион + подкислитель Менацид 330, 100 г/т
Опытная 3	Основной рацион + препарат Garlic allicin, 100 г/т

Кровь получали из подкрыльцовой вены до и через один час после приема корма. В пробирки добавляли свежеприготовленный раствор цитрата натрия, кровь центрифугировали при 5000 мин⁻¹ в течение 5 мин, полученную плазму изучали биохимическими методами. Исследования общего белка, щелочной фосфатазы, холестерина, триглицеридов, глюкозы в крови кур выполняли на проточном биохимическом полуавтоматическом анализаторе Sinnowa BS3000P («SINNOWA Medical Science & Technology Co., Ltd», Китай) с использованием биохимических наборов («ДИАКОН-ВЕТ», Россия). Плазму крови исследовали на активность амилазы и липазы на приборе Chem well 2900 (T) («Awareness Technology», США) с использованием наборов реагентов («Human GmbH», Германия). Активность трипсина оценивали на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Sinnowa BS-3000P («SINNOWA Medical Science & Technology Co., Ltd», КНР) [12].

Статистическая обработка результатов исследований выполнена с использованием компьютерной программы Excel. Достоверность разности оценивали по t-критерию Стьюдента. Разность считали статистически достоверной при p<0,05.

Результаты и обсуждение. Известно, что активность трипсина в плазме крови птицы коррелирует при изменении состава рациона с протеазами желудочно-кишечного тракта. Поэтому одной из задач настоящего исследования было изучение активности пищеварительных ферментов в плазме крови кур при добавлении к корму различных биологически активных веществ (табл. 2, 3).

Достоверные изменения отмечены в активности щелочной фосфатазы при использовании в рационе препарата протеазы (100 г/т корма). Активность фермента в данном случае уменьшалась на 47,8% по сравнению с контролем, что, по-видимому, связано с изменением секреторной функции печени и нормализацией уровня фермента в крови. Активность липазы увеличивалась при добавке к корму подкислителя на 66,7% (p<0,05) и усилителя вкуса на 45,8% (p<0,05). Остальные биохимические показатели плазмы крови при использовании в рационе кур биологически активных добавок оставались без изменений, что согласует-

Табл. 2. Биохимические показатели крови кур при использовании в их рационе биологически активных добавок

Показатель	Группа			
	контрольная	опытная 1 (протеаза)	опытная 2 (подкислитель)	опытная 3 (усилитель вкуса)
Трипсин, ед/л	162±22,9	147±16,6	148±19,4	179±20,6
Амилаза, ед/л	209±26,9	214±43,1	251±31,0	227±42,5
Липаза, ед/л	48±5,0	66±13,6	80±2,6*	70±7,6
Общий белок, г/л	34,6±2,47	34,0±4,08	40,2±3,4	30,2±2,34
Щелочная фосфатаза, ед/л	1129±118,7	589±82,2*	1241±144,3	1014±177,4
Холестерин, ммоль/л	1,9±0,32	2,3±0,68	1,9±0,36	1,7±0,28
Триглицериды, ммоль/л	4,9±0,43	5,6±0,61	4,1±0,36	4,9±0,53
Глюкоза, ммоль/л	6,5±0,14	5,9±0,22	6,2±0,16	6,9±0,27

Табл. 3. Биохимические показатели крови кур в пре- и постпрандиальной фазе

Показатель	Группа			
	контрольная	опытная 1 (протеаза)	опытная 2 (подкислитель)	опытная 3 (усилитель вкуса)
Трипсин, ед/л	<u>162±22,9</u> 292±27,5*	<u>175±23,4</u> 362±56,1*	<u>162±42,5</u> 345±25,4*	<u>179±38,1</u> 310±32,3*
Амилаза, ед/л	<u>209±26,9</u> 228±29,7	<u>214±43,1</u> 218±32,7	<u>251±31,0</u> 330±52,2	<u>227±42,5</u> 242±44,3
Липаза, ед/л	<u>48±5,0</u> 55±5,8	<u>66±13,6</u> 86±1,5	<u>80±2,6</u> 79±4,8	<u>70±7,6</u> 95±2,5*
Общий белок, г/л	<u>34,6±2,47</u> 38,9±2,35	<u>39±3,8</u> 39±3,9	<u>44±5,9</u> 43±3,7	<u>30±2,8</u> 34±5,3
Щелочная фосфатаза, ед/л	<u>1129±118,7</u> 1489±123,7	<u>589±82,2</u> 1304±387,7	<u>1287±183,7</u> 1317±152,3	<u>1014±147,4</u> 1010±184,6
Холестерин, ммоль/л	<u>1,9±0,32</u> 2,4±0,21	<u>3,3±0,53</u> 2,1±0,64	<u>2,0±0,86</u> 3,2±1,01	<u>2,4±0,51</u> 1,8±0,47
Триглицериды, ммоль/л	<u>4,9±0,43</u> 4,0±0,38	<u>6,8±0,86</u> 5,3±0,48	<u>4,0±0,87</u> 3,8±0,06	<u>5,7±0,97</u> 5,1±0,67
Глюкоза, ммоль/л	<u>6,5±0,14</u> 10,8±0,32*	<u>6,2±0,35</u> 7,5±0,2*	<u>6,5±0,20</u> 7,0±0,75	<u>7,0±0,23</u> 8,4±0,42*

Примечание. Над чертой – показатели до кормления; под чертой – через один час после кормления.
* P < 0,05 по сравнению с состоянием натощак.

ся с результатами исследований секреторной функции поджелудочной железы кур.

Изучение биохимических показателей в динамике после приема корма показало, что наиболее мобильными показателями являются изменение активности в плазме крови трипсина и содержание глюкозы. Так, активность трипсина в постпрандиальной фазе пищеварения увеличивалась в контроле в 1,8 раза, при использовании в рационе подкислителя в 2,1 раза через один час после приема корма, в 2,1 раза при использо-

вании протеазы и в 1,7 раза – при добавлении в корм усилителя вкуса с чесночным ароматом. Активность липазы после приема корма достоверно повышалась при использовании усилителя вкуса на 35,7%. Содержание глюкозы в крови кур возрастало через один час после кормления в контрольной группе на 66,1%, при использовании протеазы на 21,0%, при добавлении в корм усилителя вкуса с чесночным ароматом – на 20,0% ($p \leq 0,05$). Активность щелочной фосфатазы, имеющая низкий базальный уровень в постпрандиальной фазе увеличивалась в 1-й опытной группе в 2,2 раза при $p \geq 0,05$.

В наших предыдущих исследованиях показано, что подкислитель, содержащий фурановую кислоту, существенно не влияет на активность пищеварительных ферментов поджелудочной железы [13]. Так, через 30 мин после приема корма, когда увеличивается сокоотделение, в опытный период показатель панкреатической секреции ниже более чем в 2 раза, а через 150 мин опыта, что соответствует нейрорхимической фазе регуляции секреции, сокоотделение поджелудочной железы снижается на 27,3% по сравнению с контролем. Анализ динамики активности ферментов (амилазы, липазы и протеазы) после приема корма указывает на незначительное увеличение протеолитической активности (1,2-12,4% по сравнению с контролем) в сложно-рефлекторной фазе, связанной с вкусовыми качествами корма. Следовательно, эффективность применения подкислителя в большей мере зависит от терапевтического действия на микрофлору кишечника.

Экспериментальные данные показали [14], что использование экзогенной протеазы в пшенично-соевых рационах кур-несушек не дает положительного ответа со стороны секреторной функции поджелудочной железы, поскольку наблюдается снижение протеолитической активности секрета в первые 60 мин после приема корма. Следовательно, механизм положительного влияния данного препарата на продуктивность и конверсию корма у птицы может быть связан с гидролизом части протеина в зобе кур и состоянием микрофлоры вследствие воздействия на нее экзогенной протеазы.

Результаты экспериментов свидетельствуют [10], что куры реагируют на введение в их рацион добавки, повышающей вкусовые качества корма, изменением секреторной функции поджелудочной железы. Это еще раз доказывает наличие у них вкусовых рецепторов в ротовой полости. В опытный период (8 сут) при добавке препарата Garlic allicin у кур усиливалась амилолитическая и протеолитическая активность в 1 мл панкреатического сока, но суммарная активность ферментов в объеме сока за 180 мин существенно не изменялась. Анализ механизма адаптации в постпрандиальной фазе указывает на усиление активности фермента в сложнорефлекторный период, обусловленный реакцией рецепторов на вкус пищи и условно-рефлекторным фактором. Адаптация в течение 8 суток связана с резким (в 2 раза) повышением протеолитической активности на 3-и сутки и последующим снижением активности протеиназ до уровня исходной активности фермента.

В экспериментах на цыплятах-бройлерах кросса «Смена-8» и молодняке кур его исходных линий изучена активность пищеварительных ферментов в дуоденальном содержимом и плазме крови на фистулированных особях при использовании в рационе биологически активных добавок нескольких типов (препарат на основе спорowego пробиотика, а также комплекса фитобиотика Интебио, смесь низкомолекулярных ор-

ганических кислот, кормовая добавка с ферментативной активностью, содержащая комплекс натуральных живых бактерий; ООО «Биотроф», Россия) [15]. Установлено, что по активности амилазы в дуоденальном химусе гибриды превосходят цыплят родительской породы плимутрок на 22,0 %, корниш – на 35,8 %, по активности липазы – в 5,8 и 2,3 раза соответственно, что связано с высоким содержанием сырого жира в комбикорме бройлеров. При этом активность протеаз у гибридов оказалась ниже, чем у породы плимутрок (на 9,0%, $p < 0,05$), но выше, чем у цыплят породы корниш (на 32,3%, $p < 0,001$). Показатели активности амилолитических ферментов в плазме крови мясных кур имели обратную тенденцию по сравнению с пищеварительными ферментами в кишечнике, в динамике остальных ферментов плазмы крови существенных различий не наблюдали. Использование в рационе мясных кур низкомолекулярных органических кислот и ферментного препарата оказывает стимулирующее влияние на активность пищеварительных ферментов в дуоденальном химусе и плазме крови в соответствии с физиологическими особенностями птицы.

Таким образом, при использовании в рационе кур-несушек подкислителя, содержащего фумаровую кислоту, протеазы и усилителя вкуса с чесночным запахом (100 г/т корма) биохимические показатели крови не имеют существенных отклонений от контроля, за исключением активности щелочной фосфатазы, которая уменьшается на 47,8% при добавлении в корм протеазы. Активность липазы увеличивается на 66,7% при включении в корм подкислителя и на 45,8% – усилителя вкуса. Следует отметить, что из всех исследуемых показателей наиболее лабильными в постпрандиальной фазе являются активность трипсина, в отдельных случаях – липазы и содержание глюкозы, которые увеличиваются по сравнению с состоянием до кормления в 1,7-2,1 раза, на 35,7% и на 20,0-21,0%, соответственно.

Литература.

1. Джафаров А. Использование органических кислот в птицеводстве // *Комбикорма*. – 2010. – №5. – С. 67.
2. Колесень В.П. Применение подкислителей кормов в кормлении кур-несушек и цыплят-бройлеров // *Сельское хозяйство – проблемы и перспективы: сб. науч. тр.*, Т.37, Гродно, ГГАУ, 2017. – С. 91-98
3. Егоров И.А., Вертипрахов В.Г., Ленкова Т.Н., Манукян В.А., Егорова Т.А., Грозина А.А., Байковская Е.Ю. Использование смеси низкомолекулярных органических кислот в комбикормах для цыплят-бройлеров // *Птица и птицепродукты*. – 2017. – № 5. – С. 26-28.
4. Ravindran V. *Feed Enzymes: The science, practice, and metabolic realities* // *J. Appl. Poultry Res.* – 2013. – V.22, №3. – P.628-636.
5. Фисинин В.И., Егоров И.А., Ленкова Т.Н. и др. *Руководство по оптимизации рецептов комбикормов для сельскохозяйственной птицы*. – Сергиев Посад, 2014. – 155 с.
6. Liu H.-X., Rajapaksha P., Wang Zh., Kramer N.E., Marshall B.J. An update on the sense of taste in chickens: A better developed system than previously appreciated // *J. Nutr. Food Sci.* – 2018. – V. 8, № 2. – P.686.
7. Lindenmaier P, Kare M.R. The taste end-organs of the chicken // *Poult. Sci. J.* – 1959. – V. 38. – P.545-550.
8. Kudo K, Nishimura S, Tabata S. Distribution of taste buds in layer-type chickens: scanning electron microscopic observations // *Anim. Sci. J.* – 2008. – V.79. – P.680-685.

9. Kudo K., Shiraishi J., Nishimura S., Bungo T., Tabata S. The number of taste buds is related to bitter taste sensitivity in layer and broiler chickens // *Anim. Sci. J.* – 2010. – V. 81. – P. 240-244.
10. Wang Z., Yoshida Y., Kramer N.E., Kawabata F., Tabata S., Woo K. Kim W.K. and Liu H.-X. Abundant proliferating cells within early chicken taste buds indicate a potentially “built-in” progenitor system for taste bud growth during maturation in hatchlings // *Histol Histopathol.* – 2019. . – №34. – P.503-511.
11. Фисинин В.И., Вертипрахов В.Г., Грозина А.А. Новые подходы к оценке функции пищеварения у кур // *Российская сельскохозяйственная наука.* – 2018. – №1. – С. 49-53.
12. Vertiprakhov V. G., Grozina A. A., Fisinin V. I., Egorov I. A. The Correlation between the Activities of Digestive Enzymes in the Pancreas and Blood Serum in Chicken // *Open Journal of Animal Sciences.* – 2018. – V.8. – P.215-222.
13. Вертипрахов В.Г., Грозина А.А. Экзокринная функция поджелудочной железы кур при добавлении в корм подкислителя // *Сибирский вестник сельскохозяйственной науки.* – 2018. – №6. – С.63-69.
14. Mikhailova A.G., Khairullin R.F., Demidyuk I.V., Kostrov S.V., Grinberg N.V., Burova T.V. , Grinberg V.Y., Rumsh L.D. Cloning, sequencing, expression, and characterization of thermostability of oligopeptidase B from *Serratia proteamaculans*, a novel psychrophilic protease // *Protein Expres. Purif.* – 2014. – V.93. – P.63-76.
15. Борисенко К.В., Вертипрахов В.Г. Активность пищеварительных ферментов при добавке в корм бройлеров протеазы // *Птицеводство.* – 2018. – №10. – С. 20-23.
16. Фисинин В.И., Егоров И.А., Вертипрахов В.Г., Грозина А.А., Ленкова Т.Н., Манукян В.А., Егорова Т.А. Активность пищеварительных ферментов в дуоденальном химусе и плазме крови у исходных линий и гибридов мясных кур при использовании биологически активных добавок в рационе // *Сельскохозяйственная биология.* – 2017. – Т.52(6). – С. 1226-1233.

Поступила в редакцию 13.05.19
После доработки 25.05.19
Принята к публикации 07.06.19