

**АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ
БИОЛОГИИ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ**

**Материалы второй Международной конференции
5 — 8 сентября 1995 г**



Боровск, 1997

ББК 45.2
А43
УДК 636.018:577.1:612

ОРГКОМИТЕТ

консультативный комитет:

Л.К.Эрнст	А.М.Материкин	Л.А.Заболотнов
Б.Д.Кальницкий	В.Л.Владимиров	П.Н.Курилов
А.В.Черкаев	В.П.Радченков	М.П.Кириллов
Н.Г.Беленький	В.И.Дудин	Н.Г.Григорьев
В.Н.Старых	С.Г.Кузнецов	В.Г.Шевченко
Г.И.Белостоцкая	В.А.Матвеев	
В.Б.Решетов	Б.В.Тараканов	

исполнительный комитет:

Б.Д.Кальницкий — председатель	
В.И.Дудин — зам. председателя	
М.И.Материкина — секретарь	
С.Г.Кузнецов	В.Б.Решетов
Б.В.Тараканов	В.Г.Шевченко
В.А.Матвеев	В.П.Радченков
Л.А.Заболотнов	А.М.Материкин

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Б.Д.Кальницкий академик РАСХН (главный редактор), В.И.Дудин кандидат биологических наук, А.М.Материкин доктор биологических наук, В.А.Матвеев кандидат биологических наук, В.П.Рябых кандидат биологических наук, Г.Г.Черепанов доктор биологических наук, В.Г.Шевченко кандидат биологических наук.

Информация о второй Международной конференции “Актуальные проблемы биологии в животноводстве”

С 5 по 8 сентября 1995 г. на базе ВНИИ физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных (Боровск, Калужской области) проходила вторая Международная конференция “Актуальные проблемы биологии в животноводстве”. На конференцию представили сообщения ученые из 17 стран: России, Украины, Белоруссии, Киргизии, Казахстана, Армении, Молдавии, Эстонии, Чехии, Словакии, Польши, Румынии, Монголии, Китая, Германии, Англии, Болгарии.

На симпозиуме по физиологии и биохимии питания сельскохозяйственных животных прослушали 18 ключевых докладов ведущих ученых. В выступлениях и прениях отмечены успехи и недостатки в работе научных исследователей по теоретическому обоснованию основных принципов питания высокопродуктивных животных, оценке метаболических реакций животных на корма и рационы. Многолетняя детализация норм кормления сельскохозяйственных животных сопровождалась углубленным изучением обмена энергии, протеина, структурных и неструктурных углеводов, биологически активных веществ, в результате чего расширили число нормируемых показателей и во многом пересмотрели теорию и практику кормления. В соответствии с принципами детализированного питания стали учитывать не только структуру рационов и их химический состав, но и соотношение широкого спектра питательных и биологически активных веществ, их взаимодействие, доступность, эффективность использования; разработали энергетическую и протеиновую системы питания животных; активизировали исследования по субстратному обеспечению метаболизма на уровне промежуточного обмена. Выступившие на конференции ученые — Л.А.Заболотнов, В.В.Щеглов, Н.Г.Григорьев, В.И.Агафонов, С.Г.Кузнецов, А.М.Материкин, А.И.Фицев, Г.Г.Черепанов, И.П.Духин, Ю.В.Маркин, А.И.Илчев добились значительных результатов в работах по теоретическим проблемам нормирования питательных веществ и энергии, по разработке алгоритмов расчета потребности животных в соответствии с принципами детализированного кормления и субстратного обеспечения продуктивных процессов. В комментариях академиков РАСХН А.П.Калашникова, Н.И.Клейменова, В.П.Дегтярева, Б.Д.Кальницкого подчеркивалось, что представленные на симпозиуме разработки позволяют на высоком теоретическом уровне, более правильно, чем раньше, оценивать рационы, планировать кормление животных в различных стадиях их физиологического цикла и в самых разнообразных условиях существования. Вместе с тем высказывалось сожаление по поводу скудного финансирования фундаментальных проработок проблем питания и практически полного прекращения вложений средств во внедрение полученных результатов в производство. К сожалению также, среди российских учреждений по животноводческой науке наиболее крупные и перспективные разработки представили только ВНИИ физиологии, биохимии и питания, ВНИИ животноводства, ВНИИ кормов, ВНИИ генетики и разведения. Вклад в эти исследования других институтов резко упал. В результате оживленной дискуссии наметили приоритетные направления в дальнейших исследованиях: совершенствование детализированных норм кормления и создание принципиально новых интегрированных систем и алгоритмов прогнозирования метаболизма и оценки рационов, в том числе с позиций субстратного обеспечения продукционных процессов в организме, учитывающих и наиболее полно раскрывающих детализированное питание сельскохозяйственных животных.

На симпозиуме по регуляции метаболизма и продуктивности прозвучало 19 сообщений. В ходе дискуссии обсуждены итоги и перспективы научных исследований, связанных с регуляцией метаболизма и, как следствие, продуктивности сельскохозяйственных животных. В последние годы в сельскохозяйственной эндокринологии произошел пересмотр приоритетности научных проблем. Если раньше больше внимания уделялось исследованию действия на метаболизм экзогенных гормонов, то на симпозиуме докладчики основной акцент сделали на поиске подходов к реализации генетического потенциала продуктивных животных путем воздействия на синтез и секрецию эндогенных гормонов.

Так, В.А.Галочкин продемонстрировал собственные исследования по регуляции аппетита и полового поведения путем иммунокоррекции; Ю.Н.Шамберев представил материалы, показывающие возможность увеличения продуктивности на 5...20 % за счет активации эндокринной системы с помощью парентерального введения пролонгированных форм аминокислот. В докладе В.А. Матвеева был сделан акцент на результатах работ по исследованию взаимосвязи между потенциальными возможностями эндокринных желез у жвачных животных и уровнем их мясной и молочной продуктивности, а также по поиску кормовых факторов, способствующих реализации потенциала эндокринной системы; В.И.Иванов акцентировал внимание участников симпозиума на целесообразности применения гормональных тестов для отбора животных с хорошими адаптационными способностями и высоким потенциалом продуктивности.

На конференции определили главные направления дальнейших исследований: процессов биосинтеза и секреции гормонов и других биологически активных веществ в клетках, органах и тканях животных; механизмов гормональной регуляции с учетом взаимодействия нервной, эндокринной и иммунной систем; количественных параметров регуляции биосинтеза белков, углеводов и липидов в организме высокопродуктивных животных; специфики обмена веществ в организме трансгенных животных.

На симпозиуме по молекулярной биологии и биотехнологии наиболее широко обсуждены исследования по разработке технологий получения трансгенных сельскохозяйственных животных. Доклады В.Г.Шевченко и В.П.Рябых были основаны на исследованиях ВНИИ физиологии, биохимии и питания по изучению особенностей регуляции физиолого-биохимических процессов у трансгенных свиней под влиянием повышенных уровней гормонов соматотропинового каскада. Проблеме изучения генома сельскохозяйственных животных были посвящены доклады И.А.Захарова, Т.Е.Сулимовой и Н.П.Корохова. Отмечено, что в настоящее время интенсивно ведутся исследования по разработке молекулярно-генетических маркеров с целью генотипирования животных по хозяйственно ценным признакам. Начаты работы по поиску информативных молекулярно-генетических зондов для картирования генома животных с целью выяснения ассоциаций последовательностей ДНК, связанных с продуктивностью. Было обращено внимание на необходимость активного внедрения в селекционную практику уже разработанных молекулярно-генетических тест-систем, для чего целесообразно разработать программу по зоогенетическому мониторингу стад и популяций.

На симпозиуме была затронута проблема создания новых рекомбинантных штаммов молочно-кислых бактерий с целью разработки пробиотиков, с помощью которых можно предупреждать кишечные инфекции у молодняка, стимулировать рост и продуктивность у сельскохозяйственных животных. Исследования, проведенные в этом направлении, были представлены в докладах В.А.Лившица и Б.В.Тараканова, а также в сообщениях других ученых.

Основательную проработку получили также исследования по проблеме дозревания и оплодотворения ооцитов скота и других видов животных вне организма. Анализ материалов показывает, что к настоящему времени технология дозревания, оплодотворения ооцитов скота и культивирование эмбрионов, полученных из этих ооцитов, достигла такой стадии, что может быть с успехом применена при получении трансгенных животных, при их клонировании и в других биотехнологических процедурах, за счет обеспечения недорогими эмбрионами ранних стадий развития. Вместе с тем существуют пути дальнейшего повышения эффективности этой технологии, о чем свидетельствуют доклады Г.П.Маленко и Н.Ю.Сахаровой.

Конференция считает целесообразным продолжить фундаментальные исследования в области физиологии и биохимии питания в следующих направлениях:

количественные аспекты образования и всасывания субстратов и метаболитов в пищеварительном тракте;

регуляция количественного и качественного состава субстратов и эффективности их использования в тканевом обмене;

параметры физиологически адекватного углеводного, липидного, белково-аминокислотного, витаминного и минерального питания высокопродуктивных животных;

оптимизация потока субстратов и управления качеством животноводческой продукции.

Необходимо акцентировать внимание:

в области регуляции обмена веществ: на изучении процессов биосинтеза и секреции гормонов и других биологически активных веществ в клетках, органах и тканях животных; исследовании механизмов гормональной регуляции в условиях взаимодействия нервной, эндокринной и иммунной систем; изучении количественных параметров регуляции биосинтеза белков, углеводов и липидов в организме высокопродуктивных животных; исследовании специфики обмена веществ в организме трансгенных животных.

в области биотехнологии: на совершенствовании технологии получения трансгенных животных; создании генно-инженерных конструкций, включающих структурные гены, обуславливающие хозяйственно-полезные признаки у сельскохозяйственных животных, и регуляторные участки, обеспечивающие экспрессию трансгенов в определенных органах и в заданное время; разработке новых методов введения чужеродных генов в геном животных; совершенствовании технологии клонирования животных путем трансплантации ядер диплоидных клеток в яйцеклетки; создании высокоэффективных штаммов бактерий для животноводства и кормопроизводства.

Кроме того, перспективными исследованиями можно считать разработку систем мониторинга научных основ и технологий получения животноводческой продукции с предельно допустимой концентрацией вредных и ядовитых веществ.

Итоги и перспективы научных исследований в области физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных

Б.Д.Кальницкий

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания
сельскохозяйственных животных,
г. Боровск, Россия*

Создание Всесоюзного научно-исследовательского института физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных ровно 35 лет назад явилось своевременной реализацией получившей развитие в мире идеи соединения физиологии и биохимии с практической деятельностью специалистов медицины и сельского хозяйства, в том числе животноводства. История института является отражением борьбы двух генеральных постановок научно-исследовательской работы. Одна из них состоит в "обнаучивании" в рамках биохимии и физиологии существующих и появляющихся в животноводстве технологических приемов, другая — в углубленном изучении физиологических процессов во всем многообразии взаимосвязей с тем, чтобы, исходя из полученных знаний, предложить практике системы питания и способы оптимизации метаболизма для получения продукции в необходимом количестве и, самое главное, желаемого качества. Несмотря на то, что и та, и другая постановка имеет право на существование, первая пассивна, вторая — активна, так как она предполагает научный поиск.

С момента основания института профессором Н.А.Шманенковым — его первым директором, коллектив ученых имел возможности для научного поиска. В это время были заложены основные научные школы. К наиболее сильным, хорошо известным в нашей стране и за рубежом, следует отнести школы: академика ВАСХНИЛ, проф. Н.А.Шманенкова в области белкового и аминокислотного метаболизма, чл.-корр. ВАСХНИЛ, проф. Н.В.Курилова в области исследований процессов пищеварения у жвачных животных, проф. А.А.Алиева в области межклеточного обмена веществ, проф. В.П.Радченкова в области гормональной регуляции метаболизма, проф. Е.А. Надаляка в области обмена энергии, проф. Л.М.Двинской в области витаминного питания, доц. В.М.Газдарова в области энзимологии, проф. И.К.Медведева в области биохимии и физиологии лактации, чл.-корр. РАСХН Н.Г.Григорьева в области биосинтеза компонентов мяса и др. На протяжении этих лет наш институт для многих физиологов и биохимиков бывшего СССР был координирующим и методическим центром. Большое количество ученых, ведущих биологические исследования в стране, являются или нашими выпускниками, или соисполнителями координируемых институтом научных проблем, или прошли у нас аттестацию на степень доктора или кандидата наук. В целом институт подготовил около 550 кандидатов и 50 докторов наук.

Научные форумы — это подведение итогов работы за определенный период времени и обсуждение перспектив дальнейшей работы, это общение ученых, которое нужно нам как воздух.

Первая Международная конференция "Биологические основы высокой продуктивности сельскохозяйственных животных" проходила у нас в сентябре 1990 года. На ней были обсуждены и определены наиболее важные направления дальнейшей работы. Особое внимание было уделено белковому и энергетическому обмену и питанию, поскольку молочная и мясная продуктивность определяется, в первую очередь, этими процессами. Все другие направления научных изысканий в значительной мере им подчинены, не являясь при этом менее значимыми. Конференция 1990 года была чрезвычайно

представительной. Для института она стала итоговой апробацией новых систем оценки и нормирования протеина и энергии в рационах жвачных животных, подытожив работу коллектива и соисполнителей за 20 лет. Конференция одновременно дала пищу для наших умов в отношении дальнейшего развития исследований в области питания животных. Несмотря на то, что на конференции не было ни одного прямого сообщения по субстратному питанию, в кулуарах возможность и целесообразность такой постановки уже активно обсуждалась. И в целом, как ни тяжело было наше финансовое положение, институт был верен этому новому направлению поиска. Было тяжело всем начинать новое дело, тем более в нынешних условиях, но начало положено и на этой конференции проблема субстратного питания вынесена для всестороннего обсуждения и выработки стратегии научно-исследовательских работ в этой области на будущее.

В свое время в результате исследований в области физиологии и биохимии питания жвачных были получены обширные научные данные, раскрывающие принципиальные особенности пищеварения и обмена веществ. На этой основе были разработаны детализированные нормы кормления. Переход на детализированные нормы кормления в нашей стране оказался эффективным в практическом плане.

В то же время используемые сейчас системы оценки и нормирования питания основаны, как известно, на показателях обменной или чистой энергии, переваримого протеина и других питательных веществ корма. Но становится все более очевидным, что такая характеристика недостаточна для того, чтобы спрогнозировать, например, образование компонентов молока или динамику отложения в теле жира и белка. Так, система оценки и нормирования по обменной энергии не позволяет оценить распределение энергии между молокообразованием и другими функциями организма. Это возможно сделать только на основе количественной оценки продуктов переваривания в желудочно-кишечном тракте, необходимых для образования составных частей молока и мяса.

Действующая у нас в стране система оценки кормов и нормирования протеинового питания не отражает информации о процессах превращения протеина в пищеварительном тракте, об усвоении и использовании аминокислот. При одинаковом потреблении переваримого протеина из разных кормовых источников не всегда достигаются идентичные показатели продуктивности животных.

Несомненно, что традиционные принципы и системы нормирования кормления животных отнюдь не исчерпали своих возможностей и в ближайшем будущем еще будут определять решение многих задач в животноводстве. Однако, ведя речь о совершенствовании систем питания исходя из новых научных данных, мы имеем в виду высокопродуктивных животных, рассчитывая на расцвет нашего животноводства в будущем. Поэтому параллельно необходимо разрабатывать и внедрять элементы новой системы нормирования питания, основанной на более глубоком изучении биологических процессов, протекающих в организме продуктивных животных, что дает возможность определять потребность в субстратах, необходимых для биосинтеза компонентов молока, прироста массы тела и улучшения качества получаемой продукции. Исследования показали, что потребность животных обеспечивается в итоге набором субстратов, не только поступающих с кормом, но и образующихся в процессе пищеварения и вторичного метаболизма в тканях. Учет этих процессов позволит оптимизировать условия питания на основе тестирования межклеточного обмена веществ, но для этого необходимы дополнительные исследования.

Одной из основных задач биологической науки в области животноводства является познание и раскрытие биологической сущности высокой продуктивности животных и возможностей ее

управления. Важно знать, какими морфофизиологическими и биохимическими механизмами она определяется и какие условия требуются для максимального проявления генетического потенциала высокой продуктивности, насколько генетически детерминирована высокая продуктивность и какие факторы влияют на качество и количество продукции, в том числе за счет изменения направленности метаболических потоков в организме животных, какие существуют резервы и возможности для получения животных с заданным потенциалом продуктивности, в том числе с помощью биотехнологии и геной инженерии.

На нашей 2-ой Международной конференции "Актуальные проблемы биологии в животноводстве" мы подвели итоги исследований и обсудили проблемы развития физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных в области:

пищеварения, всасывания и усвоения питательных веществ у высокопродуктивных животных;

регуляции обмена веществ и энергии у сельскохозяйственных животных в связи с ростом, продуктивностью и физиологическим состоянием;

молекулярно-биологических основ биосинтеза компонентов молока, мяса и яйца;

регуляции роста, воспроизводительной функции и лактации сельскохозяйственных животных.

По проблеме биосинтеза продуктов животноводства в нашей стране ведутся поисковые исследования и разрабатываются теоретические основы роста, дифференцировки и функциональной активности клеток молочной железы, мышечной и жировой ткани у животных, выращиваемых на мясо. Изучаются критические этапы и лимитирующие факторы биосинтеза компонентов молока, мяса и яйца. На этой основе устанавливаются функциональные границы биосинтеза и возможности его усиления с помощью различных пищевых субстратов и регуляторов роста.

При изучении биосинтеза компонентов молока установлены основные субстраты, из которых образуются жир и белок молока у продуктивных жвачных животных. Идентифицированы гормоны и раскрыт ряд важнейших молекулярно-биологических и ультраструктурных закономерностей роста и развития молочной железы, обоснованы условия энергетического и протеинового питания для максимального образования и использования субстратов — предшественников молока у коров.

Выявлены и количественно охарактеризованы основные структуры и процессы, обуславливающие темпы наращивания массы скелетной мускулатуры в ходе онтогенеза. Разработана имитационная модель роста крупного рогатого скота, позволившая раскрыть ряд системных закономерностей и наметить пути комплексного биоэкономического анализа технологий выращивания и откорма скота.

Разработка принципиально новых методов исследования и значительный прогресс в техническом обеспечении исследовательской работы предопределили качественный скачок в развитии эндокринологии. За последние годы разработаны высокочувствительные и специфические методы анализа гормонов в биологических жидкостях, выделен, очищен и охарактеризован ряд пептидных гормонов, выполняющих регуляторную роль в организме животного, освоены промышленные способы получения гормонов с использованием методов геной инженерии. Все это позволило изучить многие вопросы секреции, транспорта и метаболизма гормонов в организме животных. Делаются попытки изучения механизмов гормональной регуляции метаболизма на уровне генома. Интенсивно ведутся исследования по изучению взаимодействия гормонов с рецепторами в органах — мишенях, которые в конечном итоге

определяют эффективность функционирования эндокринной системы. Эффект влияния гормонов на обмен веществ и, соответственно, на формирование продуктивных качеств сельскохозяйственных животных является результатом весьма сложного интегрирующего взаимодействия гормонов, субстратов и нервной системы. Развитие этого направления в эндокринологии позволит сделать качественно новый прорыв в понимании процессов регулирования метаболизма у животных и послужит фундаментом для создания новых методов и приемов, обеспечивающих производство животноводческой продукции необходимого качества и в нужном объеме.

Разработка биотехнологических методов нормализации и регулирования воспроизводительной функции сельскохозяйственных животных стала возможной благодаря достижениям современной науки в области эндокринологии воспроизведения сельскохозяйственных животных. Успехи, достигнутые в области эндокринологии за последние годы, заставили переосмыслить и существенно дополнить наши представления о механизмах процесса воспроизведения. Высокая специфичность и целенаправленность действия гормонов на репродуктивные органы животного позволяют с точностью до нескольких часов контролировать сроки овуляции и осеменения, исключить пропуски половой охоты и, благодаря этому, значительно сократить сервис-период и межотельный интервал.

За последние 15–20 лет практически не было открыто новых витаминов. Однако были достигнуты определенные успехи в раскрытии функций отдельных витаминов и их метаболизма в организме животных. Эти успехи связаны, в первую очередь, с открытием активных форм витамина Д (25-оксихолекальциферол, 24,25-диоксихолекальциферол, 1,25-диоксихолекальциферол), в виде которых этот витамин выполняет свои функции в организме, а также с выявлением ключевой роли 1,25-диоксихолекальциферола в регуляции и поддержании гомеостаза кальция в организме.

Значительно укрепилось мнение исследователей об определяющей роли витамина Е в стабилизации биологических мембран, о его способности тормозить перекисное окисление тканевых липидов и поддерживать антиоксидантный статус организма на определенном стационарном уровне.

Уточняется роль отдельных метаболитов витамина А (ретинола, ретинина, ретиноевой кислоты и др.) в обмене веществ. Предполагается, что ретиноевая кислота, которая ранее считалась инертным метаболитом витамина А, обладает ростстимулирующим действием, стимулирует всасывание цинка и связана с синтезом цинкозависимого белка. Выявляется А-витаминная активность отдельных каротиноидов и их физиологическая роль в организме. Значительно расширились исследования по изучению иммунокорректирующих свойств витаминов и их влияния на резистентность организма. В прикладном плане ведутся исследования по уточнению потребности животных различных возрастных групп, физиологического состояния и продуктивности в отдельных витаминах. Разрабатываются витаминные премиксы и добавки, ищутся новые тесты для прижизненной оценки витаминной обеспеченности животных и меры профилактики гипо- и авитаминозов. Изучается доступность витаминов из отдельных кормовых средств и факторы, на нее влияющие; апробируются новые кормовые формы витаминных препаратов и антиоксидантов для их использования в рационах с целью повышения продуктивности животных. Определенные успехи достигнуты в разработке прогрессивных методов определения витаминов в биологических субстратах с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии, которая, хотя и медленно, но внедряется в практику отечественных научных учреждений.

Отмечая основные направления исследований в области сельскохозяйственной витаминологии, следует указать, что в нашей стране за последние годы ослабли приоритетные исследования по изучению метаболизма и механизма действия витаминов. Мало уделяется внимания разработке прижизненных тестов для оценки витаминной обеспеченности, унификации и стандартизации методов определения витаминов, что связано со слабой материальной оснащённостью большинства лабораторий и кафедр, где ведутся исследования в области витаминного питания сельскохозяйственных животных.

Среди факторов питания важное значение имеют минеральные вещества, недостаток или избыток которых наносит значительный ущерб животноводству, сдерживает рост поголовья, снижает продуктивность, плодовитость, вызывает заболевания и падеж, ухудшает качество продукции. В последние годы как у нас в стране, так и за рубежом получены новые данные о потребности различных половозрастных групп крупного рогатого скота, овец, свиней, птицы, пушных зверей в минеральных элементах. В опытах с использованием синтетических рационов доказана важность их балансирования по ряду новых, ранее ненормируемых элементов (кремний, литий, мышьяк, ванадий, алюминий и т.д.).

В настоящее время в некоторых странах производят балансирование рационов с учетом биологической доступности минеральных элементов, что позволяет более полно удовлетворять потребность в них организма, рациональнее использовать корма и добавки, объективнее оценивать новые кормовые средства и способы подготовки кормов к скармливанию. Предложен ряд новых, более эффективных минеральных добавок. Изучалась биодоступность макро- и микроэлементов из природных источников, в том числе из бентонитов, цеолитов, фосфатов.

Новые сведения о биологической роли минеральных веществ в организме животных, их участии в регуляции ферментных систем, гормональной активности, иммунитета позволили уточнить биохимические критерии обеспеченности животных железом, медью, цинком, марганцем, кобальтом, йодом, селеном, молибденом, кадмием, свинцом. Изучались вторичные факторы, влияющие на обеспеченность организма микроэлементами. Например, сейчас обнаружено более 300 гойтрогенных веществ, которые способствуют развитию вторичной недостаточности йода. Предложены дополнительные методы установления минеральной недостаточности (физические, биомеханические, радиометрические, функциональные нагрузки и др.).

На основе учета взаимосвязи минеральных веществ в кормах и организме с другими биологически активными веществами разработаны более совершенные рецепты премиксов. Получены новые данные о механизмах всасывания ряда микроэлементов. Выясняется патогенез болезней обмена веществ, связанных с нарушением условий минерального питания интенсивно растущего молодняка, беременных и лактирующих животных. Разработаны эффективные методы терапии и профилактики гипомикроэлементозов. В последние годы большое внимание уделяется развитию исследований в области биотехнологии. Одной из стратегических проблем развития биотехнологии следует считать создание животных с заданными признаками. Вопрос, по существу, состоит в целенаправленном изменении генома животных. Здесь можно выделить два основных направления — клеточную и генную инженерии.

Примером использования метода эмбриогенетики и клеточной инженерии служит метод трансплантации ранних эмбрионов, быстро вошедший в практику скотоводства. Сейчас разработаны методы деления эмбрионов, которые, во-первых, позволяют существенно повысить эффективность трансплантации, а во-вторых, получать

генетические копии животных, что открывает новые возможности в оценке генотипа. Интенсивно ведутся исследования по разработке других, более эффективных методов клонирования животных путем введения ядер клеток в энуклеированную зиготу. Достигнуты определенные успехи в разработке и совершенствовании методов дозревания и оплодотворения ооцитов вне организма и способов обработки животных для вызывания суперовуляции.

Одной из важнейших задач биотехнологии является создание новых типов животных, по своему генетическому потенциалу заметно превосходящих существующие популяции. Из всех хозяйственно ценных признаков следует выделить темпы роста, молочную и мясную продуктивность, а также качественные показатели продуктов животноводства. Поэтому основная проблема заключается в получении трансгенов с интегрированными генными конструкциями, связанными с воспроизводством, гормональными регуляторами роста, молочной и мясной продуктивностью. И, несмотря на имеющиеся методические трудности, связанные с созданием экспрессирующих генных конструкций, неразработанностью реальных способов интеграции чужеродных генов и трудностью теоретического характера — незнанием молекулярных механизмов, определяющих развитие полигенно контролируемых признаков продуктивности, при успешном их преодолении будут созданы животные нового поколения.

Другим важным направлением в генной инженерии сельскохозяйственных животных является получение таких особей, которые производили бы в организме биологически активные вещества, необходимые для человека. Такие трансгенные животные могут стать "ферментерами" по производству биологически активных веществ.

Методы трансгенеза не являются единственным направлением использования молекулярной генетики в животноводстве. Заслуживают внимания новые подходы в селекции крупного рогатого скота с привлечением комплекса молекулярно-генетических маркеров, разрабатываемых на основе полиморфизма длин рестриктных фрагментов ДНК, генетической дактилоскопии и проведения трудоемкой работы по картированию генов в геноме основных видов сельскохозяйственных животных.

С использованием методов иммунохимической инженерии и иммунологической технологии разрабатываются способы оперативного мониторинга функционального состояния иммунной системы, информативные тесты для прогнозирования, а также практические приемы регуляции. Разрабатываются теоретические основы и способы иммунокоррекции метаболизма с целью биологического "конструирования" животных новых типов с заданными признаками по резистентности, стрессустойчивости, качеству производимой продукции и низкими затратами кормов на ее производство.

В области биотехнологии препаратов ведутся исследования по созданию пробиотиков. Разработаны регламенты производства стрептофагина и целлобактерина, экологически чистых, безвредных пробиотиков, направленных на оптимизацию рубцового пищеварения. Отсеlectionированы штаммы бактерий, активно продуцирующих пропионат, а также бактерий, обеспечивающих восстановление нитратов до аммония в рубце жвачных. В будущем на их основе могут быть разработаны пробиотики для консервирования и производства экологически чистых кормов. Начата работа по получению рекомбинантных штаммов микроорганизмов.

Не остались без внимания вопросы теоретического обоснования и практического использования биохимических препаратов для получения высококачественных кормов.

Таким образом, разработка биологических основ высокой продуктивности животных охватывает широкий фронт исследований и

предполагает освоение принципиально новых методов и подходов, которые должны будут войти в практику животноводства XXI века. Необходимо сконцентрировать усилия на изучении фундаментальных закономерностей питания и синтеза компонентов продуктов животноводства с целью оптимизации использования генетического потенциала продуктивности сельскохозяйственных животных, регуляции количественного и качественного состава субстратов и эффективности их использования в тканевом обмене. В этом направлении должны проводиться исследования по изучению количественных аспектов образования и всасывания субстратов и метаболитов в пищеварительном тракте жвачных. Особое внимание должно быть сосредоточено на обосновании параметров физиологически адекватного углеводного, липидного, белково-аминокислотного, витаминного и минерального питания высокопродуктивных животных. Для высокопродуктивных особей, при высокой напряженности обменных процессов большое значение приобретает их метаболическая индивидуальность, когда дисбаланс по любому субстрату может привести к срыву продукционного процесса и к нарушению здоровья. В этой связи целесообразно при разработке нормативов кормления исходить не от стандартных кормовых рационов, подвергая испытанию обмен веществ животного, а, наоборот, основываясь на знании метаболизма, подбирать для него кормовые рационы. При этом посредником между кормовым рационом и метаболическими структурами выступают субстраты, непосредственно участвующие в межклеточном обмене. Новый подход к нормированию кормления несомненно более наукоемок, чем принятый в настоящее время, однако он позволит обеспечить высокую продуктивность животных. Работы по совершенствованию принципов нормирования кормления животных, как я упоминал выше, уже ведутся. Пока это начальные стадии, направленные на изучение обусловленности потоков первичных субстратов условиями кормления в качественном и количественном плане. Дальнейшие исследования должны быть направлены на изучение затрат субстратов на энергетические и пластические цели, как на организменном, так и органном, клеточном и субклеточном уровнях. Требуется также разработать стандарты на содержание в основных кормах молочного и мясного скота и свиней сухого переваримого вещества, обменной энергии и доступного протеина. В этой связи следовало бы оценивать заготавливаемые корма по содержанию в них сухого переваримого вещества, энергии и доступного протеина вместо существующей оценки кормов по величине физической массы и таким характеристикам, как кормовые единицы и переваримый протеин. Использование принципа субстратного обеспечения метаболизма для нормирования кормления выгодно не только для поддержания высокой продуктивности, но и для управления качеством продукции, так как позволяет оптимизировать потоки субстратов. Необходим поиск и других путей воздействия на животный организм, например, с целью переключения потоков субстратов с биосинтеза жира на биосинтез мышечных белков. Для этого возможно использование биологически активных веществ, таких как бета-агонисты.

Перспективно создание трансгенных животных, в частности, по генам соматотропинового каскада, когда животное не лишается возможности регулирования экспрессии трансгена.

Результаты этих научно-исследовательских работ при их внедрении в практику позволят существенно повысить эффективность использования кормов в животноводстве за счет более точной оценки потребностей организма с учетом их генотипа; более точной оценки питательной ценности кормов; прогнозирования продуктивного действия рациона и качественных показателей продукции; оптимизации режимов кормления с учетом хозяйственно-

экономических факторов; снижения выбраковки животных; улучшения воспроизводительной функции. Применение практических способов адекватного питания обеспечит повышение продуктивности животных, продление сроков продуктивного использования маточного поголовья при одновременном повышении качества и обеспечении стандартов экологически чистой продукции.

Одна из важнейших фундаментальных проблем современного животноводства — это раскрытие молекулярно-генетической и физиолого-метаболической природы взаимосвязей между процессами белкового и липидного синтеза у растущих животных и разработка способов выращивания продуктивных животных с максимально возможным количеством в органах и тканях белка и минимальным количеством жира. Отложение белка — это результат интеграции серии метаболических процессов, контролирующих процессы синтеза и деградации белка. Недавние исследования показывают, что скорость синтеза белка в 5–9 раз превышает величину его отложения у растущих животных. Следовательно, около 15–20 % потребностей животных в энергии расходуется на синтез белка, причем только одна пятая этого белка отложится в тканях. Поскольку количество энергии и аминокислот на синтез белков предопределено биохимически, из этого следует, что именно затраты на деградацию белка и окисление аминокислот определяют эффективность чистого отложения белка. Можно полагать, что имеются огромные возможности для увеличения скорости и эффективности роста животных регулированием баланса между синтезом и расщеплением белка в организме. Одним из возможных подходов для этого является торможение деградации белка в организме.

Важной проблемой является изучение биологической природы высокой продуктивности, создание моделей оптимальных метаболических типов животных для использования в селекционно-племенной работе, биотехнологических разработках и системах питания. При исследовании природы высокой продуктивности оказалось, что коровы разного направления продуктивности характеризуются неодинаковым распределением энергии и пластических субстратов по физиологическим функциям. У высокопродуктивных коров при любом уровне кормления и на любой стадии лактации большая часть энергии корма используется молочной железой, в то время как у менее продуктивных животных энергия питательных веществ используется преимущественно в тканях. Различия по степени трансформации корма в молоко или на прирост тела имеют большое экономическое значение, однако физиологические механизмы, по всей видимости связанные с балансом (синтезом, ретенцией и деградацией) в организме гормонов, лежащие в основе распределения питательных веществ между процессом образования молока, с одной стороны, и метаболическими и физиологическими нуждами других органов и тканей, с другой, исследованы недостаточно. Исследования этой проблемы могут дать новые способы повышения эффективности использования корма и прогнозирования генетического потенциала продуктивности животных для выявления особей с наиболее эффективным использованием на продукцию молока тканевых энергетических и пластических резервов и их восстановлением в конце лактации и в период сухостоя.

Важное значение в раскрытии природы высокой продуктивности имеет разработка молекулярно-генетических ее аспектов. Большую перспективу имеют методы молекулярной гибридизации РНК-ДНК и выявление полиморфизма длин рестриктных фрагментов ДНК с одновременным поиском маркеров, "сцепленных" с определенными хозяйственно полезными и неполезными признаками животных. В результате выполнения этих исследований будут разработаны теоретические основы и практические способы интенсификации

биосинтеза компонентов животноводческой продукции и определены перспективные типы продуктивных животных, разработан комплекс новых тестов для оценки генетического потенциала продуктивности, который позволит улучшить селекционно-племенную работу за счет достижения лучшей сбалансированности продуктивных и метаболических параметров, выбора комплекса селекционируемых признаков, снижения нежелательных последствий селекции на жизнеспособность животных, нормированного кормления, адекватного генотипу. Использование новых способов оценки генетического потенциала и регуляции процессов биосинтеза обеспечит повышение выхода высококачественной животноводческой продукции.

Современные подходы к проблеме прогнозирования продуктивности и адаптивно-метаболическая концепция нормирования питания животных

Г.Г.Черепанов

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания
сельскохозяйственных животных,
г. Боровск, Россия*

При совершенствовании приемов рационального кормления животных большое значение имеет теоретическое обоснование методов оценки потребностей организма в основных питательных веществах, энергии, витаминах, микро- и макроэлементах. Для определения потребностей традиционно используется два подхода: 1. эмпирическое определение размеров суммарной потребности в отдельных факторах питания из расчета на голову путем проведения серий кормленческих опытов и 2. факториальная оценка затрат на отдельные физиологические функции (поддержание основного обмена, прирост живой массы, развитие плода, молокообразование и т.д.). Эмпирический метод очень трудоемок, исследования проводятся десятилетиями, тогда как получаемые в виде сводных таблиц данные в свете современных требований представляют собой слишком статичный и недостаточно гибкий инструмент для зоотехника. Несколько большие возможности для учета различных комбинаций факторов имеет второй метод, но недостатком факториальных схем является то, что они также статичны, не учитывают взаимодействия факторов, игнорируют размах варьирования и ограничиваются арифметическим усреднением параметров.

Теория сбалансированного питания предполагает достижение равенства текущего притока и расхода нутриентов за счет комбинаторики (балансирования) двух числовых множеств — показателей питательной ценности корма и физиологических потребностей в предположении отсутствия взаимодействий и временных эффектов. С другой стороны очевидно, что говорить о потребностях в смысле совокупности независимых чисел можно лишь в определенных границах. Если речь не идет о незаменимых факторах, то на уровне ткани и клетки можно говорить лишь о балансе реакций, опосредующих входы и выходы метаболической системы, поскольку существуют эндогенные источники, перекрестные влияния и циклы взаимопревращений, подчиняющиеся логике ауторегуляций. Общий итог сети реакций, по-видимому, можно предсказать, составляя баланс интермедиатов и кофакторов в точках сопряжения метаболических путей с использованием элементов теории физиологического управления [5,15].

В общем можно выделить группу ключевых вопросов, которые трудно или вообще невозможно разрешить в рамках традиционных

подходов: а) наличие взаимодействий (ассоциативных эффектов) и неопределенности границ физиологических потребностей в основных элементах питания; б) статистический характер табличных норм, полученных путем усреднения гетерогенного эмпирического материала с введением условно устанавливаемых коэффициентов страхового запаса; в) неоднозначность критериев сбалансированности рациона по отношению к различным физиологическим функциям и подсистемам организма; г) влияние на потребности долговременных эффектов питания, вынуждающее в ряде случаев рассматривать потребность в качестве функционала, зависящего от "траектории кормления"; д) зависимость потребностей от генотипа.

Таким образом, представление физиологических потребностей в виде совокупности постоянных независимых величин по существу имеет смысл лишь в рамках ориентировочной характеристики сложного процесса питания. С другой стороны, на практике важно знать не столько цифру потребности, сколько уметь предсказать, в какой степени животные определенного типа в определенных условиях кормления и содержания реагируют на изменения в уровне кормления или в структуре рациона и где лежит граница между нормой и областью возможных метаболических отклонений, срыва адаптаций и развития патологий. Поэтому ориентировочная оценка баланса метаболических реакций (физиологических потребностей) должна дополняться прогнозированием продуктивного эффекта и контролем за полноценностью кормления.

Основные требования к разрабатываемым проектам новых систем питания могут состоять в следующем:

- характеристика корма (рациона) должна производиться в рамках химических сущностей самого корма, а продуктивный эффект должен прогнозироваться с учетом биохимических процессов, протекающих в организме, в понятиях биохимической кинетики и термодинамики;

- должны учитываться не только отдельные субстраты, но и взаимодействия между субстратами на уровне пищеварительного тракта и тканей;

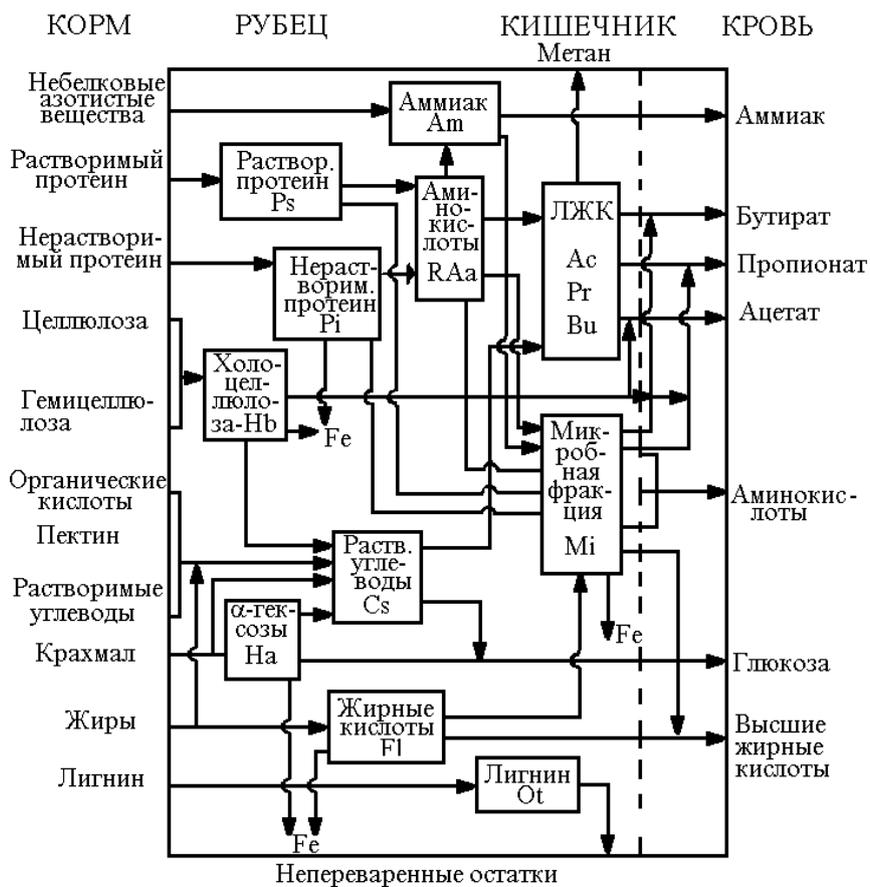
- должны учитываться эффекты замещений и компенсаций в ходе метаболической трансформации всосавшихся нутриентов;

- должны быть известны (хотя бы в общих чертах) логика и механизмы адаптивно-регуляторных изменений параметров обменных процессов при смене условий кормления, при различных воздействиях и физиологических состояниях организма.

Другим важным моментом является выбор аппарата описания и прогнозирования (модели). Анализ мировой литературы и наши собственные исследования показывают, что вышеперечисленным требованиям в наибольшей мере удовлетворяют многопараметрические динамические модели, использующие обобщенные кинетические уравнения в квазистационарном приближении [1, 3, 8, 15].

Рис.1. Схема основных метаболических потоков в процессе пищеварения и всасывания у жвачных, учитываемых в субмодели пищеварения.

В рамках этого подхода по данным ингредиентного состава рациона, включающим характеристику химических фракций клетчатки, крахмала, протеина, с учетом физической формы кормов с помощью субмодели рубцового пищеварения прогнозируются потоки всасывания основных субстратов [6, 9, 10, 13] (рис.1). Последние используются в качестве входных данных в субмодели интер медиарного обмена для оценки общего баланса энергии, размеров



метаболических потоков и продукции компонентов молока. При этом описание обменных процессов проводится в рамках теории компартментного анализа, с использованием минимальной структуры гомогенных метаболических пулов и аналитических выражений для потоков по количественно наиболее важным реакциям, протекающим с участием ЛЖК, глюкозы, аминокислот, высших жирных кислот при общем балансе АТФ, триозофосфатов и НАДФ. Входные данные — потоки всасывания субстратов, выходные — пулы и концентрации метаболитов, теплопродукция, скорость молокообразования, потребление кислорода и дыхательный коэффициент, баланс энергии и свыше 100 значений внутренних метаболических потоков [5, 8, 13] (рис. 2). Результаты предварительных исследований указывают на удовлетворительную для первого этапа степень соответствия поведения модельной системы имеющимся опытными данным (рис.3). Трудность количественной адаптации модели к конкретным условиям и рационам заключается в отсутствии необходимого достаточно полного набора измерительных данных по химическому составу рациона и параметрам, характеризующим конституционально-метаболический статус животных. По мере накопления такой комплексной информации будет совершенствоваться прогностическая эффективность системы.

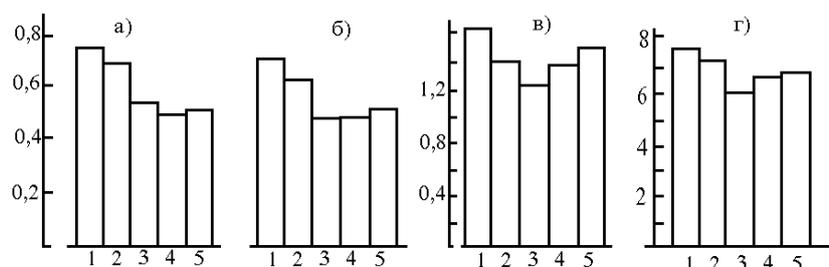


Рис.3. Прогнозирование валовых показателей пищеварения у коров для пяти рационов с помощью субмодели процессов ферментации в рубце и всасывания конечных продуктов в кишечнике.

а) коэффициент переваримости энергии; б) коэффициент переваримости органического вещества; в) выход микробной массы, кг/сут; г) всасывание аминокислот, моль/сут;

1 — высококонцентратный рацион; 2 — обычный рацион с соотношением концентраты:грубые корма 50:50; 3 — безконцентратный рацион; 4 — добавка к безконцентратному рациону небелковых азотсодержащих соединений; 5 — добавка к безконцентратному рациону легкоферментируемых углеводов. Подробная характеристика модельных рационов приведена в работе [6].

Модельные оценки метаболического профиля и показателей продуктивности коров при использовании типового рациона (с соотношением концентраты : грубые корма 50:50) для двух уровней кормления приведены в таблице 1.

Таблица 1

Стационарные значения концентраций метаболитов для центрального метаболического пула (интерстициальная жидкость и плазма крови) и общие показатели обмена у коров при двух уровнях кормления (прогноз по модели)

Показатель	Уровень потребления сухого вещества, кг/сут	
	15	17,9
Глюкоза, мМ	2,63	3,15

Ацетат, мМ	0,83	1,11
Аминокислоты, мМ	1,92	1,61
НЭЖК, мМ	0,69	0,35
Дыхательный коэффициент	0,92	0,97
Энергия субстратов, абсорбированных в ЖКТ, МДж/сут	157,8	189,4
Энергетический эквивалент отложений в теле, МДж/сут	-23,6	2,89
Энергия, выведенная с молоком, МДж/сут	81,8	76,24
Суточный удой, кг	27,9	28,04
Содержание жира в молоке, %	3,72	3,27
Содержание белка в молоке, %	3,27	3,07
Теплопродукция, МДж/сут	95,91	106,54

Быстрый прогресс вычислительной техники позволяет рассчитывать на то, что технические трудности работы с большими многопараметрическими моделями в ближайшие годы будут постепенно преодолеваются. Кажущийся более легким путь в направлении поиска неких статических коэффициентов использования субстратов не годится ввиду того, что продуктивный эффект складывается не аддитивно для разных субстратов, но опосредуется метаболическими взаимодействиями. Так, при повышенном потреблении жира снижается содержание белка в молоке [12], при нагрузках глюкозой и ацетатом изменяется окисление НЭЖК, глюконеогенез из аминокислот, мочевинообразование и ряд других процессов [4]. Скорость потребления глюкозы молочной железой в большей степени зависит от величины АВ-разницы по ацетату, нежели от концентрации глюкозы в притекающей крови [14]. Игнорирование эффектов взаимодействий может не иметь заметных последствий на стадии научных опытов, если они проводятся в узкой области с использованием типовых рационов, но ошибка прогнозирования может резко увеличиться при расширении диапазона условий кормления. Искусственное введение постоянных коэффициентов нежелательно и по той причине, что основная польза от оценки субстратных потоков состоит как раз в возможности учета отклонений от средней тенденции, которая достаточно хорошо отражена в существующих системах, а также в возможности контролировать полноценность кормления по метаболическим отклонениям от нормы.

Процессы тканевого обмена исключительно сложны и многообразны, а возможности съема информации ограничены. Используемые при этом подходе обобщенные топографические карты метаболических потоков и значения некоторых кинетических параметров (аффинности, стехиометрические коэффициенты и др.) не связаны с конкретными условиями и особенностями животных и в этом смысле они инвариантны, аккумулируют в себе весь предшествующий опыт мировой науки, что облегчает задачи прогнозирования, а основные трудности связаны с достижением количественно согласованной интерпретации общих (валовых) физиологических показателей обмена в терминах и понятиях биохимических циклов и трансформаций для данных конкретных условий, что означает поиск комбинации значений параметров, отражающих индивидуальные условия (например, максимальные скорости, зависящие от массы органа и функциональной активности его). Существующие методы решения обратных задач кинетики позволяют, по-видимому, справиться с проблемой идентификации множественных метаболических параметров по набору измерительных данных, конечно, при условии, что структура модели правильно отражает топографию внутренних сетевых взаимодействий. Многопараметрические модели успешно используются в различных областях техники, поэтому на современном уровне знаний вопрос о

том, чтобы определить численные значения параметров обменных процессов, в частности, значения максимальных скоростей по основным статьям расхода субстратов по данным обследования конкретной группы животных при наличии соответствующего матобеспечения не представляет принципиальных трудностей (рис.4). После такой первичной "настройки" параметров модель может использоваться практически для анализа рационов путем прогона программы для различных комбинаций входных переменных.

Более сложной проблемой в настоящее время, как нам кажется, является проблема прогнозирования метаболических адаптаций. Наблюдаемые в опытах бесконечно разнообразные сочетания концентраций субстратов, также как и метаболических потоков в известной мере могут быть обусловлены изменениями в текущих значениях потоков всасывания субстратов за счет проявления динамических эффектов инвариантных кинетических структур. Второй источник вариабельности — адаптивные изменения параметров этих структур, проявляющиеся в ходе воспроизводительного цикла или при резкой смене уровня кормления и структуры рациона. Поэтому здесь имеются две проблемы: 1) идентификация инвариантных структур межклеточного обмена, опосредующих эффекты краткосрочных колебаний всасывания субстратов и 2) теоретическое описание метаболических адаптаций. Острота первой проблемы в определенной мере снята проведенными исследованиями. Изучение метаболических адаптаций на уровне ключевых реакций и циклов межклеточного обмена — наименее изученная область и слабое звено в проектах разрабатываемых новых систем нормирования питания животных, учитывающих субстратные потоки. Параметры реакций (V_m , K_m , K_i) зависят от комплекса анаболических и катаболических гормонов, изменяющихся в ответ на те или иные вариации в соотношении между сложившимися темпами биосинтеза и поступлением питательных веществ в организм, а гормональное равновесие обеспечивает гомеостатирование некоторых наиболее важных метаболитов. Поэтому гормональные влияния можно учитывать косвенно, вводя зависимость параметров реакций от концентрации ключевых метаболитов [4, 5]. Значения максимальных скоростей реакций (при расчете на орган) детерминируются в определенной мере процессами дифференциации и пролиферации клеток, также входящими в комплекс адаптивных изменений.

Учитывая исключительную сложность и многоаспектность проблемы, необходимо отметить, что, как и в любой другой области науки и техники, переход от эмпирического уровня на принципиально новый уровень развития должен характеризоваться появлением фундаментальных исследований и теорий высокой степени общности. Требование конкретности результата не является альтернативой известному из области изобретательства принципу обобщающей переформулировки задачи. Хотя к изложенной постановке задачи нас подтолкнули вопросы нормирования питания, оказалось, что эти вопросы не могут быть решены без решения более общей проблемы построения функционально-метаболической концепции и теории продукционных процессов, тогда как практическую пользу при успешной разработке этой проблемы могут получить не только питание, но и такие направления, как контроль функционально-клинического состояния, обеспечение нормального воспроизводства и продуктивного долголетия маточного стада, тестирование метаболического типа животных для селекции, прогнозирование эффектов экспрессии генно-инженерных конструкций и др.

Новые принципы моделирования и прогнозирования продуктивных реакций не должны, как нам кажется, отменять существующие системы, доказавшие свою эффективность в решении определенных практических задач, но они могут как бы отталкиваться

от них, решая более тонкие вопросы в некоторых узловых точках, что напоминает принцип прицельного микрокопирования в гистологии. Новые и старые системы могут использоваться совместно в составе итеративных процедур [7], в экспертных и диагностических системах [2, 16]. Вычислительные модели должны быть дополнены базами данных и знаний, в частности архивами данных по контролю за полноценностью кормления и по метаболическому профилю высокоценных стад коров. В отличие от существующих эмпирических систем нормирования питания, будущие разработки, по-видимому, будут представлять собой не что иное, как теорию продукционного процесса, облеченную в форму, удобную для практического применения. Иными словами, это будет теоретическая зоотехния, организованная средствами информационных систем и размещенная на рабочем месте специалиста. Выбор ключевых точек в этих разработках, проведение экспертизы проектов, также как и направления практического использования новых систем должны определять компетентные коллегии, состоящие из специалистов разного профиля (кормленцев, биохимиков, математиков и т.д.), которые необходимо создавать на соответствующем отраслевом и государственном уровне.

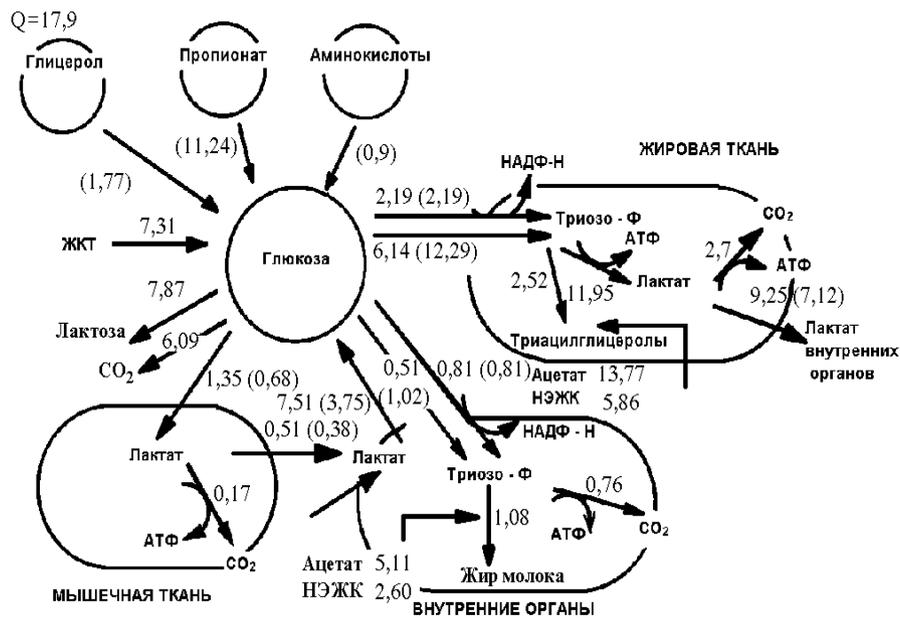


Рис.4. Схема основных метаболических потоков, связанных с обменом глюкозы у коров при использовании рациона с соотношением грубых и концентрированных кормов 50:50 и уровне потребления сухого вещества 17,9 кг/сут (прогноз по модели). Цифры в скобках обозначают величину потока в моль/сут, выраженную по отношению к молекулярной массе продукта, цифры без скобок — то же самое по отношению к молекулярной массе субстрата

Литература

1. Гарфинкель Д. Моделирование биохимических систем. В кн: Вычислительные устройства в биологии и медицине. М.: Мир, 1967, 346-372.
2. Гирола дель Пино М.Э. Исследование принципов создания баз знаний для экспертных диагностических систем на примере экспертной системы в области ветеринарной медицины. Автореф. дис...ктн. М.,1990.
3. Рубин А.Б. и др. Кинетика биологических процессов.М.:Изд. МГУ, 1977.
4. Черепанов Г.Г., Решетов В.Б., Морозова А.Ю. Прогнозирование продуктивного действия рациона и состояния метаболизма у телок с помощью системно-кинетической модели. Докл. РАСХН, 1995, 3: 35-37.
5. Черепанов Г.Г., Жиркова И.Н., Решетов В.Б. Количественный анализ процессов интермедиарного обмена у коров (эскизная модель). С.-х. биология, 1994, 4: 123-134.
6. Черепанов Г.Г., Кузина И.Н. Количественный анализ процессов микробной ферментации и всасывания субстратов у коров (вычислительная модель). С.-х. биология, 1993, 4: 118-131.
7. Черепанов Г.Г. Современные подходы к построению теории роста сельскохозяйственных животных и оптимизации биоконверсии корма в продукцию. С.-х. биология, 1992, 6: 3-17.
8. Baldwin R.L., Crist K. et al. The synthesis of model to describe metabolism and its integration. Proc.Nutr.Soc., 1981, 40, 1:139-145.
9. Baldwin R.L., Thornley J.H., Beaver D.E. Metabolism of the lactating cow. II. Digestive elements of a mechanistic model.J.Dairy Res., 1987, 54: 107-131.
10. Beaver D.E.,Black J.L.,Faichney G.J. Simulation of the effects of rumen function on the flow of nutrients from the stomach of sheep. Part 2 — Assesment of computer predictions. Agr.Syst., 1980-1981,6: 221-241.
- 11.Black J.L. et al. Simulation of the effects of rumen functions on the flow of nutrients from the stomach of sheep: Part 1 -Description of computer program. Agr. Syst., 1980-1981, 6: 195-219.
- 12.Casper D.P.,Schingoethe D.J. Model to describe and alleviate milk protein depression in early lactation dairy cows fed a high fat content. J. Dairy Sci., 1989, 72, 12: 3327-3335.
- 13.Danfaer A. A dynamic model of nutrient digestion and metabolism in lactating dairy cows. 671 Report from the National Institute of Animal Science, Denmark, Amsterdam, 1990:9-389.
- 14.Miller P.S. et al. Patterns of nutrient uptake by the mammary glands of lactating dairy cows. J.Dairy Sci., 1991,74: 3791-3799.
- 15.Reich J.G., Selkov E.E. Energy metabolism of the cell: a theoretical treatise. N.Y., 1982.
- 16.Spahr S.L. et al. Expert systems — their use in dairy herd management. J. Dairy Sci., 1988,71: 879-885.

Актуальные проблемы прогнозирования и субстратной оценки состояния метаболизма у сельскохозяйственных животных

Л.А. Заболотнов

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания
сельскохозяйственных животных,
Боровск, Россия*

Современные исследования по созданию интегрированных систем биологически и экономически обоснованного ведения молочного скотоводства, базируются на использовании новейших экспериментальных данных, методов системного анализа и компьютерного моделирования (Baldwin et al.,1976, 1984,1987 a,b,c;

Gill, 1984,1986; Graham et al.,1976; Greco, 1986; Heinrich, Rapoport, 1977).

Процесс совершенствования норм кормления значительно расширил число нормируемых показателей, способствовал проведению большого объема исследований по детализированной оценке кормов и определению потребности животных в питательных веществах и энергии, что, в конечном итоге привело к необходимости совершенствования теории и практических приемов кормления. В процессе разработки детализированного нормирования питания стали учитывать не только структуру рационов, но и соотношение в них широкого спектра питательных и биологически активных веществ, их взаимодействие, степень участия в обмене. Ранее были разработаны энергетическая и протеиновая системы питания жвачных. В настоящее время активизировались исследования по оценке субстратного обеспечения метаболизма на уровне межклеточного обмена.

Наукой и практикой было показано, что лактационной и воспроизводительной функцией у коров можно управлять прежде всего условиями питания. Получение максимального удоя, сохранение нормального уровня всех физиологических функций организма, при условии обоснованного планирования интенсивности лактации, использования и накопления резервов тела, должно обеспечиваться за счет полноценного кормления коров во все физиологические циклы их жизни.

Для улучшения количественных и качественных характеристик молока, повышения сроков продуктивного использования коров, наряду с совершенствованием: породного состава поголовья животных, должны быть решены вопросы повышения эффективности трансформации питательных веществ в организме животных в продукцию, путем разработки соответствующих систем питания животных, которые предполагают оптимизацию метаболизма белков, углеводов, липидов и биологически активных веществ в организме. Должны быть выяснены процессы регуляции и управления качеством продукции и ее контроля по комплексу показателей, соответствующих мировым стандартам.

Разработка новых систем питания животных диктует необходимость теоретического обоснования и совершенствования экспериментальных подходов для поиска надежных генетико-физиолого-биохимических критериев оценки потенциала продуктивности сельскохозяйственных животных и эффективных способов управления метаболизмом.

Современные системы питания жвачных животных не в полной мере учитывают биологические процессы в организме при отклонениях в питании животных от имеющихся норм. Например, при кормлении высокопродуктивных жвачных животных часто завышается или занижается содержание сырой клетчатки, крахмала и сахаров. Имеются отклонения в энерго-протеиновом отношении, содержании жира в рационе и т.д., что приводит к перерасходу кормов и удорожанию продукции. В связи с этим возникает проблема адекватности питания при несоответствии содержания питательных веществ в рационе с зафиксированными в нормах и применяемых без учета взаимозаменяемости питательных веществ и кормов в рационе, а также изменений условий окружающей среды, способа содержания, сроков стельности и лактации и многих других факторов, определяющих потребности животных в реальных условиях.

В разрабатываемой нами системе питания учтены современные тенденции детализированного нормирования питательных веществ и энергии с учетом многих факторов, что позволит избежать погрешностей в определении реальной потребности животных в питательных веществах и энергии. Потребность в питательных веществах и энергии, зафиксированная в справочниках, начиная с 1985

г, представлена в валовом выражении потребности в веществах, за исключением обменной энергии. Новая система питания должна базироваться на принципах протеиновой системы, учитывающей доступный протеин и потребность в аминокислотах, а также на системах углеводно-липидного, минерального, витаминного питания коров, учитывать фонд субстратов межучасточного обмена, непосредственно формирующего теплопродукцию, синтез молока, отложение в теле и плоде. Поэтапная разработка, совершенствование этих систем и включение их в единый пакет обеспечения субстратного питания коров позволит адекватно оценивать корма, рационы и уровень метаболизма и получать максимальную продуктивность.

В связи с вышеизложенным во ВНИИФБиП сельскохозяйственных животных разрабатывается и отлаживается ряд взаимно дополняющих программ, которые будут рассчитывать потребность крупного рогатого скота в питательных веществах и энергии на конкретные сутки, оперативно создавать справочники потребности коров в питательных веществах и энергии на заданные промежутки времени от отела до отела, с выводом интегральных показателей за весь период кормления. Эти программы позволят по среднесуточным характеристикам метаболитов крови коров рассчитывать транзит питательных веществ через органы и ткани, устанавливать коэффициенты утилизации метаболитов, рассчитывать баланс субстратов в конечных реакциях межучасточного обмена по данным, получаемым при формулировании рациона на основе детализированных данных химического состава кормов и потребности животных в питательных веществах, энергии и субстратах с оценкой конверсии питательных веществ в различных отделах пищеварительного тракта.

При совершенствовании алгоритма определения потребности коров в питательных веществах и энергии охватывался широкий круг вопросов питания, регуляции обмена веществ, пищеварения, межучасточного обмена, принципов оценки кормов и факторов потребности животных в питательных веществах и энергии, что позволило сформулировать концепцию системы и оценить ее в экспериментальных исследованиях.

Система питания в современном понимании — это наукоемкий продукт, объединяющий большое количество научных разработок в области питания высокопродуктивных животных и позволяющий комплексно их использовать, а также удобно ассимилировать новые знания по питанию, метаболизму и регуляции процессов биосинтеза. При определении энергетических затрат на теплопродукцию у коров использована новая, более совершенная схема вычислений, которая позволяет полнее учитывать тепловые инкременты, чем в существующих разработках и раскрывать наиболее весомые статьи формирования теплопродукции у коров (рис. 1). Расчеты в энергетической системе питания коров основываются на последовательном приближении базовых затрат энергии на поддержание в комфортных условиях к реальным, с учетом факторов теплоприращения на терморегуляцию, механическую работу, биосинтез, структуры потребляемых рационов, использования энергии в продуктах отложения в теле и секрети их с молоком. Система энергетического питания коров состоит из блока формирования потребности в энергии на поддерживающем уровне обмена при нулевом балансе азота и энергии в комфортных условиях. Добавочный расход энергии к поддерживающему уровню формируется из затрат энергии на биосинтез, терморегуляцию, механическую работу и энергии, отложенной в теле, плоде и выделенной с секреторируемым молоком. Сумма затрат энергии на поддержание в комфортных условиях и добавочный расход энергии при продуктивном обмене составляет общий уровень затрат организма.

При настройке системы на определенную породу скота используется блок показателей; численные значения коэффициентов в данной работе справедливы для черно-пестрой и холмогорской пород коров и многократно проверены в экспериментах.



Рис. 1. Схема прогнозирования теплопродукции в комфортных и некомфортных условиях
Теплопродукция органов и тканей и факторы ее формирования

В основу расчетов взята метаболическая (обменная) масса тела, используемая в мировой практике при расчетах по питанию, при дозировке фармакологических препаратов, которая пропорциональна уровню метаболизма у животных с массой тела от нескольких граммов до нескольких тонн (Kleiber, 1932; Hemmingsen, 1960).

$$A00 = M^{0.75} \text{ — обменная масса животного.}$$

Минимально возможную теплопродукцию A01 при поддержании в комфортных условиях, в расчете на 1 кг обменной массы тела, для коров черно-пестрой и холмогорской пород принимали равной 0.33 МДж.

Таблица 1

Обменная масса животных (A00)

М	A00	М	A00	М	A00	М	A00
400	89.4	480	102.5	560	115.1	640	127.2
420	92.8	500	105.7	580	118.2	660	130.2
440	96.1	520	108.9	600	121.2	680	133.2
460	99.3	540	112.0	620	124.2	700	136.1

Таблица 2

Минимальная теплопродукция (A01) при нулевом балансе азота у коров в зависимости от массы тела (МДж на 1 кг обменной массы)

М	A01	М	A01	М	A01	М	A01
400	29.5	480	33.8	560	38.0	640	42.0
420	30.6	500	34.9	580	39.0	660	43.0
440	31.7	520	35.9	600	40.0	680	44.0
460	32.8	540	37.0	620	41.0	700	44.9

Биосинтез компонентов тела сопровождается дополнительным выделением тепла, которое пропорционально массе отложенных в теле веществ. При этом приращение теплопродукции A02 при приросте массы тела X приравняется $EXP(.6*X)$.

Таблица 3

Коэффициент теплоприращения (A02) к теплопродукции в комфортных условиях в связи с приростом массы тела у коров

Прирост, кг	A02	Прирост, кг	A02	Прирост, кг	A02
0.1	1.06	0.4	1.27	0.7	1.52
0.2	1.13	0.5	1.35	0.8	1.62
0.3	1.20	0.6	1.43	0.9	1.72

Животные чутко реагируют на температурный режим окружающей среды, повышают теплопродукцию при снижении температуры воздуха и стабилизируют термогенез в комфортных условиях.

$A03=0.0008*(T-WO)$ — теплоприращение при изменении температуры окружающей среды (WO) и температуры тела (T). Этот коэффициент связан с разностью температуры тела животного и окружающего воздуха.

Таблица 4

Коэффициент теплоприращения (A03) в зависимости от разности температур тела животного и окружающей среды

Разность температур	A03	Разность температур	A03	Разность температур	A03
6	.0048	18	.0144	30	.024
10	.0080	22	.0176	34	.027
14	.0112	26	.0203	38	.034

Обменная энергия, затрачиваемая на перистальтику желудочно-кишечного тракта, жвачку у животного зависит от соотношением грубых, сочных и концентрированных кормов в рационе. При увеличении доли концентрированных кормов в рационе снижаются затраты энергии на пищеварение, которые можно учитывать посредством уравнения:

$$A04=0.504-0.00072*K,$$

где A04 — теплоприращение при варьировании содержания концентрированных кормов в рационе (K — процентное содержание сухого вещества концентрированных кормов в рационе).

Таблица 5

Коэффициент приращения теплопродукции в зависимости от содержания концентрированных кормов в рационе

К %	A04	К %	A04	К %	A04
10	.497	30	.468	50	.468
20	.489	40	.475	60	.461

Коэффициент A04 включает энергию, затрачиваемую желудочно-кишечным трактом на механическую работу — перистальтику, которая сохраняется и при голодании животных.

При повышении влажности окружающего воздуха возрастает теплопроводность шерстного покрова коров и в связи с этим процессы теплоприращения должны компенсировать дополнительные потери тепла с поверхности тела для стабилизации температурного режима. Коэффициент приращения теплопродукции у коров черно-пестрой и холмогорской пород при повышении влажности воздуха можно описать следующим уравнением: $A05 = \text{EXP}(.00446 * (E - 50))$, где A05 — коэффициент приращения теплопродукции при варьировании влажности воздуха — E (относительная влажность в %).

Таблица 6

Коэффициент теплоприращения при повышении влажности воздуха выше 50 %.

E-50	A05	E-50	A05	E-50	A05
5	1.023	20	1.093	35	1.169
10	1.046	25	1.118	40	1.195
15	1.069	30	1.143	50	1.222

При повышении влажности воздуха до 100 % теплопродукция у коров в среднем повышается на 22 %.

Накопление резервов тела в организме обходится всегда дороже, в энергетическом выражении, чем их использование — $A08 = 32 * X$ и $A09 = 24 * X$, где A08 и A09 — средние удельные энергетические характеристики прироста массы тела и их использования. Вместе с тем следует иметь в виду, что использование резервов тела энергетически не выгодно и в конечном итоге оценивается 40 — 42 МДж/кг. Именно поэтому, с практической точки зрения, следует экономно расходовать резервы тела у коров в первую фазу лактации и не допускать снижения массы тела коров в последующие периоды.

Включение резервов тела в метаболизм у коров повышает уровень теплопродукции пропорционально их массе и составляет: $A06 = \text{EXP}(-0.33 * X)$, где — A06 теплоприращение при использовании резервов тела — X (кг/сут).

Таблица 7

Коэффициент теплоприращения (A06) к теплопродукции в комфортных условиях в связи с использованием резервов тела у коров

Использовани е резервов, кг	A06	Использовани е резервов, кг	A06	Использовани е резервов, кг	A06
0.1	1.03	0.4	1.14	0.7	1.26
0.2	1.07	0.5	1.18	0.8	1.30
0.3	1.10	0.6	1.22	0.9	1.35

Из данных, представленных в табл. 7 следует, что голодный обмен у животных выше с коэффициентом A06, чем поддерживающий.

Чистая энергия молока взаимосвязана с его химическим составом и в большей мере зависит от варьирования в нем молочного жира. $A07=(1.377+.444*Z)$ — энергетическое содержание 1 кг молока в зависимости от его жирности — Z (%).

Таблица 8

Содержание энергии в 1 кг молока в зависимости от содержания в нем жира, МДж/кг

Z	A07	Z	A07	Z	A07
3.0	2.709	3.6	2.975	4.2	3.242
3.2	2.800	3.8	3.064	4.4	3.331
3.4	2.887	4.0	3.153	4.6	3.419

Можно использовать и более точные уравнения, включающие дополнительные компоненты химического состава молока.

Выделение тепла (МДж) при биосинтезе 1 кг молока оценивают в зависимости от его химического состава и, в частности, от содержания жира в молоке: $\text{ЭТМ} = .99782 * Z^{0.5332}$, где Z — % содержания жира в молоке.

У стельных коров значительно возрастают затраты энергии и питательных веществ в связи со сроками беременности. Динамика роста плода значительно возрастает в последние месяцы стельности коров. Затраты энергии на рост плода можно рассчитать по уравнению: $A18=1.13*\text{EXP}((.00001*M+.006)*B)$, где M — масса тела (кг); B — сроки стельности (дни).

Таблица 9

Затраты энергии на формирование плода у коровы с массой тела 500 кг, МДж/сут

B	A18	B	A18	B	A18
30	1.57	120	4.23	210	11.38
60	2.18	150	5.88	240	15.84
90	3.04	180	8.18	270	22.03

В первую фазу лактации коровы активно используют резервы тела на биосинтез компонентов молока. Поэтому у коров с отрицательным балансом белка и энергии теплопродукцию рассчитывают по уравнению:

$$A50=(A00*A01*A06*C+\text{ЭТМ}*V+A00*(A03+A04))*A05,$$

где C — коэффициент способа содержания (равный 1 — при привязном содержании без прогулок, от 1.0 до 1.12 — при привязном содержании с прогулками различной интенсивности с приращением коэффициента на 0.02 на каждый км пройденного пути и при коэффициенте свыше 1.12 содержание животных считают беспривязным; V — суточный удой; ЭТМ — теплоприращение при биосинтезе 1 кг молока, которое может изменяться в зависимости от химического состава синтезируемого молока и генетических производных животного. В связи с этим коэффициент доступности обменной энергии для отложения энергии в компонентах молока, например с 4.4 % жирностью составляет $3.331/(3.331+2.2) = .602$. При снижении теплообразования при процессах биосинтеза 1 кг молока коэффициент доступности обменной энергии повышается.

Пример 1. Корова с массой тела 500 кг, удоем 28 кг/сут, использованием резервов тела со скоростью .5 кг/сут, при привязном содержанием с прогулками 3 км, при среднесуточной температуре

воздуха 12⁰С относительной влажности воздуха 90 % и содержании концентрированных кормов в рационе 25 % будет иметь теплопродукцию $A50=110.89$ МДж/сут:

$$A50=(500^{.75}*.33*\exp(-.33*-.5)*1.06+2.2*28+500^{.75}*(.0008*(38.5-12)+(.0504-.00072*25)))*\exp(.00446*(90-50))$$

Энергию продукции рассчитывали по уравнению:

$$A52=A07*V+A18$$

Согласно входным данным примера 1 и жирности молока равной 4 %, при нулевом сроке стельности энергия продукции у этой коровы будет составлять:

$$A52=(1.377+.444*4)*28 \quad A52=88.28 \text{ МДж/сут}$$

Обменная энергия потребленных веществ корма и резервов тела равнялась:

$$A53=A50+A52$$

$A53$ — характеризует обменную энергию животного, т.е. сумму обменной энергии потребленных кормов и использованных резервов тела и согласно данным примера 1: $A53 = 110.89 + 88.28$, $A53 = 199.17$ МДж/сут.

Затраты обменной энергии на продукцию за счет потребленных кормов определяли по уравнению:

$$A33=A07*V+A09*X+A18$$

По данным примера 1:

$$A33 = 88.28+24*-.5 \quad A33=76.28$$

Обменная энергия потребленных питательных веществ корма:

$$A35=A50+A33$$

По данным примера 1:

$$A35=110.89+76.28 \quad A35=187.17$$

При этом удой от потребленных питательных веществ корма равнялся:

$$A36=V+A09*.8/A07$$

По данным примера 1:

$$A36=28+24*(-.5)*.8/3.153 \quad A36=24.96 \text{ кг/сут,}$$

т.е. за счет резервов тела синтезировалось 3.04 кг молока.

Во вторую фазу лактации коровы восстанавливают утраченные резервы тела, а их молочная продуктивность, практически полностью, определяется количеством и качеством потребленных кормов.

У коров с положительным приростом массы тела теплопродукцию определяли по уравнению:

$$A50=(A00*A01*A02*C+2.2*V+A00*(A03+A04))*A05$$

Энергия продукции $A52$ при этом была представлена суммой энергии удоя молока, прироста массы тела и энергии, затраченной на отложение в плоде:

$$A52=A07*V+A08+A18$$

Обменная энергия потребленных питательных веществ корма рассчитывалась по уравнению:

$$A35=A50+A52$$

Теплопродукцию сухостойных коров вычисляли по уравнению:

$$A50=(A00*A01*A02*C+A00*(A03+A04))*A05$$

Энергия продукции сухостойных коров:

$$A52=A08+A18$$

Коровы с продуктивностью свыше 6000 кг молока за лактацию должны потреблять больше кормов, в расчете на сухое вещество, чем коровы с меньшей продуктивностью.

Максимальную поедаемость сухого вещества потребляемых кормов для коров с удоем до 6000 кг молока за 300 дней лактации рассчитывали по уравнению:

$$ПСВ=.114*A00+SQR(A07*V)-3-2.827*10^{(-.0311*DL)},$$

где V – суточный удой (кг); DL – день лактации

Из уравнения следует, что потребление сухого вещества рационов у коров хорошо увязано с химическим составом и количеством секретлируемого молока, массой тела и сроками лактации.

Наиболее сильное влияние на потребление сухого вещества кормов оказывает первая фаза лактации. В последующее время потребление сухого вещества кормов у коров стабилизируется на относительно постоянном уровне.

Таблица 10

*Потребление сухого вещества кормов коровами
в первую фазу лактации, кг/сут*

Суточный удой, кг	Сроки лактации, дн				
	5	10	20	30	90
10	11.7	12.3	13.0	13.4	13.7
15	12.8	13.4	14.1	14.4	14.7
20	13.6	14.2	14.9	15.3	15.6
25	14.4	15.0	15.7	16.1	16.4

Несколько сложнее расчеты потребления сухого вещества у высокопродуктивных коров. Потребление сухого вещества коровами с удоем свыше 6000 кг молока за 300 дней лактации определяли по уравнениям:

$$СВКК = A35 * K / 100 / EK$$

$$СВГСК = (A35 - СВКК * EK) / КРГ1$$

$$ПСВ = СВКК + СВГСК,$$

где СВК — потребление сухого вещества концентрированных кормов; K — планируемый % концентрированных кормов от сухого вещества рациона; EK — концентрация обменной энергии в 1 кг сухого вещества концентрированных кормов; СВГСК — потребление сухого вещества грубых и сочных кормов рациона; КРГ1 — концентрация обменной энергии в грубых и сочных кормах рациона. К вычисленному потреблению сухого вещества кормов рациона вводилась поправка, если температура окружающего воздуха была выше 22 градусов по Цельсию. В связи с этим потребность в сухом веществе рациона составила:

$$ПСВt=ПСВ*(2.01104-.16304*WO+.0008633*WO^2-.0001524*WO^3),$$

где WO — температура окружающего воздуха.

Минимальную потребность коров в сырой клетчатке рассчитывали из расчета 14 — 17 % от потребляемого сухого вещества рациона, максимальную в рационе по уравнению:

$$СК=ПСВ*(29.5692-0.473822*K+0.007701*K^2-0.00005*K^3)*10,$$

где ПСВ — потребление сухого вещества, кг; К — содержание концентрированных кормов в рационе в % от сухого вещества рациона.

Максимальное потребление сырой клетчатки может быть достигнуто на летних рационах, включающих зеленые корма и при отличном качестве грубых и сочных кормов в зимне-стойловый период. При этом потребность в сыром протеине связывали с уровнем общего обмена и продуктивностью коров и рассчитывали по ниже приведенному алгоритму. Потребность в сыром протеине рассчитывали согласно новой системе оценки и нормирования протеинового питания коров, разработанной во ВНИИФБиП с.-х. животных в 1989 г с небольшой модификацией. При этом потребность в белке для поддержания в расчете на 1 кг обменной массы принимали как:

$$PBP = 2.2$$

Таблица 11

Чистая потребность в белке у коров при поддерживающем уровне кормления

Обменная масса тела	Потребность в белке	Обменная масса тела	Потребность в белке
89.4	196.7	115.1	253.2
92.8	204.2	118.2	260.0
96.1	211.4	121.2	266.6
99.3	218.5	124.2	273.2
102.5	225.5	127.2	279.8
105.7	232.5	130.2	286.4
108.9	239.6	133.2	293.0
112.0	246.4	136.1	299.4

Коэффициент доступности белка на поддержание оценивали как:

$$KDBP = 0.7$$

Потребность в доступном белке на поддержание рассчитывали по уравнению:

$$PDBP = PBP / KDBP * M^{0.75}$$

Потребность в белке на прирост:

$$PBT = X * 150 \text{ при } X > 0 \text{ и при } X < 0 \quad PBT = X * 100$$

При этом коэффициент доступности белка на прирост КРВТ приравнивали:

$$KРВТ = 0.5$$

Отсюда потребность в доступном белке на прирост равнялась:

$$PВРТ = PBT / KРВТ$$

Содержание белка в 1 кг молока принимали (если есть данные по содержанию белка в молоке, то в расчетах следует использовать их):

$$BM = 34 \text{ (г/л)},$$

а доступность белка для биосинтеза молока приравнивали (доступность белка для биосинтеза молока может незначительно варьировать):

$$DPBM = 0.72$$

Отсюда потребность в доступном белке для биосинтеза молока составляла:

$$PВВМ = BM / DPBM * V$$

Потребность в белке на биосинтез плода и его обеспечение составляла:

$$PBPPM = -4.494734 + .2515092 * V - .00294698 * V * V + .0000145 * V * V * V,$$

где V — срок стельности в днях.

При этом доступность белка на прирост плода и его обеспечение приравнивали:

$$KPPPM = 0.5$$

и потребность в белке корма на обеспечение плода составляла:

$$PPPM = PBPPM / KPPPM$$

Потребность коровы в доступном белке равнялась:

$$DB = PDBP + PBPT + PBVM + PPPM$$

Потребность в микробиальном доступном белке взаимосвязана с обменной энергией потребленных кормов и рассчитывается по уравнению:

$$DBM = A35 * 7.16 * 0.8 * 0.8$$

Доступный нерасщепляемый белок:

$$DBN = DB - DBM$$

Доступный нерасщепляемый белок в сыром протеине определяли с коэффициентом 0.7:

$$PNSP = DBN / 0.7$$

Потребность в сыром расщепляемом протеине вычисляли по уравнению:

$$PRSP = 7.16 * A35 / 0.8$$

Отсюда потребность в сыром протеине составляла:

$$SP = PNSP + PRSP$$

Потребность в крахмале, сахарах, сыром жире, соли поваренной, кальции, фосфоре, магнии, калии, сере, железе, меди, цинке, марганце, кобальте и йоде определяли по уравнениям:

$$Pi = E * (K1 * Y + K)$$

где Pi — потребность в i-том веществе; E — обменная энергия корма, МДж/сут; Y — суточный удой в кг; K — коэффициент.

Потребность дойных коров с отрицательным и положительным приростом массы тела в крахмале, сахаре, сыром жире, соли поваренной, кальции фосфоре, магнии, калии, сере, железе, меди, цинке, марганце, кобальте, йоде, каротине, витамине D и E составляла:

$$KRACH = A53 * (.2344 * V + 7.624)$$

$$SAHA = A53 * (.1563 * V + 5.048)$$

$$SZIR = A35 * (.04375 * V + 2.05)$$

$$SPOV = A35 * (.00313 * V + .525)$$

$$KALC = A35 * (.0032 * V + .525)$$

$$FOSF = KALC * .7$$

$$MAGN = A35 * (.19 - .00125 * V)$$

$$KALI = A35 * .65$$

$$SERA = A35 * .21$$

$$ZELE = A35 * (.025 * V + 6.5)$$

$$MEDI = A35 * (.0103 * V + .618)$$

$$ZINK = A35 * (.0625 * V + 4.1)$$

$$MARG = ZINK$$

$$KOB = .0000725 * A35^2 + .0631 * A35 - 1.561$$

$$\begin{aligned} \text{IOD} &= \text{A35} * (.000938 * \text{V} + .0525) \\ \text{KAROT} &= \text{A35} * (.0406 * \text{V} + 3.076) \\ \text{VITD} &= \text{A35} * .09 \\ \text{VITE} &= \text{A55} * (.0125 * \text{V} + 3.3) \end{aligned}$$

Потребность в сыром протеине, сырой клетчатке, крахмале, сахаре, сыром жире, соли поваренной, кальция, фосфоре, магнии, калии, сере, железе, меди, цинке, марганце, кобальте, йоде, каротине, витамине D и E для сухостойных коров составляет:

$$\begin{aligned} \text{KRACH} &= \text{A53} * 10.4 \\ \text{SAHA} &= \text{A53} * 8.6 \\ \text{SZIR} &= \text{A35} * 3.1 \\ \text{SPOV} &= \text{A35} * .35 \\ \text{KALC} &= \text{A35} * .83 \\ \text{FOSF} &= \text{A35} * .8 \\ \text{MAGN} &= \text{A35} * .17 \\ \text{KALI} &= \text{A35} * .61 \\ \text{SERA} &= \text{A35} * .2 \\ \text{MEDI} &= \text{A35} * .86 \\ \text{ZINK} &= \text{A35} * 4.3 \\ \text{MARG} &= \text{A35} * 4.3 \\ \text{KOB} &= \text{A35} * .06 \\ \text{IOD} &= \text{A35} * .06 \\ \text{KAROT} &= \text{A35} * 4.7 \\ \text{VITD} &= \text{A35} * .095 \\ \text{VITE} &= \text{A55} * 3.4 \\ \text{ZELE} &= \text{A35} * 6 \end{aligned}$$

На основе уравнений потребности коров в питательных веществах и энергии возможна разработка детализированных справочников потребности в питательных веществах и энергии для коров в период от отела до отела или за любой промежуток их физиологического цикла с выводом суммарных показателей потребности за весь исследуемый период времени, с целью получения исходных данных планирования заготовки кормов, гарантирующих полноценное кормление коров и удовлетворение их потребностей в питательных веществах и энергии. В соответствии с изложенным выше во ВНИИФБиП сельскохозяйственных животных разработана компьютерная программа "INFORM" для создания справочников по потребности коров в детализированном питании, которая рассчитывает потребность коров в питательных веществах и энергии за каждый прожитый день от отела до отела, или за любой заданный промежуток времени жизни согласно входным данным для компьютерной программы, характеризующим массу тела, скорость роста, суточный удой, жирность молока, содержание концентрированных кормов в рационе, удельное содержание энергии в концентрированных кормах и остальной части рациона, способ содержания, температуру окружающей среды и относительную влажность воздуха. Эта разработка представляет собой оригинальный программный продукт, позволяющий создавать собственные, для конкретных животных, с учетом реальных условий их жизни более точные детализированные справочники потребности коров в питательных веществах и энергии за любой интервал времени жизни животного с заданным шагом и выводом в итоговом столбце таблицы интегрированных данных, позволяющих планировать производство, заготовку кормов, и составление усредненного рациона. В создаваемом компьютерной программой "INFORM" справочнике дополнительно прогнозируется динамика массы животных, суточного удоя, срока стельности и лактации, суточного прироста массы тела, концентрации обменной

энергии в 1 кг сухого вещества рациона, расщепляемого и нерасщепляемого протеина, всего 32 показателей.

Выходные данные справочника можно записать на диск, распечатать на бумаге, создать библиотеку потребностей коров в различных условиях кормления и содержания. Графа вывода интегрированных данных за заданный временной интервал создается путем суммирования потребностей коровы за каждые сутки.

Программа "INFORM" является базовой при разработке технологий получения продукции от коров. Кроме того, алгоритм расчета потребности коров в питательных веществах и энергии включен в компьютерную программу оптимизации рационов. Программа "DIETA", оптимизирующая рацион, позволяет формулировать детализированные рационы для крупного рогатого скота и необходимую рецептуру премикса для данного набора кормов в рационе, анализировать применяемые в хозяйствах рационы, определять потребность крупного рогатого скота в питательных веществах и энергии, создавать библиотеки химического состава кормов, распечатывать рационы, химический состав используемых кормов, корректировать химический состав кормов. В целом это оригинальная, быстродействующая программа оптимизации рационов для крупного рогатого скота и единственная из существующих программ, учитывающая воздействие окружающей среды, способа содержания и физиологического состояния животных на их потребности в питательных веществах и энергии, что повышает точность нормирования питательных веществ в реальных условиях жизни животного, адекватность и эффективность рациона.

Этими разработками решена задача создания электронных справочников, включающих как детализированную потребность коров в питательных веществах и энергии, так и в конечных субстратах межклеточного обмена. Определены коэффициенты конверсии питательных веществ кормов и рационов. В определенной мере расшифрованы механизмы регуляции потребления кормов.

Вместе с тем, разработанные к настоящему времени способы прогнозирования потребления сухого вещества кормов еще не обладают достаточной универсальностью и точностью. Все они слабо учитывают качество грубых кормов, физиологическое состояние животных, эффект замещения кормов и взаимодействие между ними в процессе переваривания при их одновременном введении в рацион. Недостаточно раскрыты количественные аспекты пищеварения и всасывания питательных веществ отдельных кормов.

В целом проблема питания сельскохозяйственных животных нуждается в фундаментальной проработке взаимосвязи факторов и механизмов потребления и превращения кормов в конечные субстраты, оценки интенсивности метаболизма и синтеза компонентов животноводческой продукции с учетом интенсивности эксплуатации генетического потенциала животных и эффективности биоконверсии кормов в продукцию. В связи с этим целесообразно:

- выявить ключевые факторы, определяющие потребление, переваривание и усвоение питательных веществ корма в зависимости от генетически обусловленного уровня продуктивности;
- изучить механизмы интеграции метаболизма питательных веществ и энергии в процессе синтеза компонентов животноводческой продукции и разработать обобщенные динамические модели продуктивных циклов;
- разработать интегрированную систему питания, ориентированную на достижение оптимальной биоконверсии корма в животноводческую продукцию;
- изучить факторы, определяющие адаптационные способности животных, разработать тесты оценки и оперативного контроля состояния функциональных систем организма;

— изучить специфичность метаболизма высокопродуктивных животных при разном уровне реализации генетического потенциала, оперативного контроля и профилактики нарушений обмена веществ;

— разработать методы прижизненной функциональной оценки систем и органов на субстратном уровне в связи с продуктивностью и физиологическим состоянием.

Реализация поставленных задач позволит создать экономичную научно-обоснованную систему получения продуктов животноводства.

Коровы разного уровня продуктивности характеризуются неодинаковым распределением энергии и субстратов по физиологическим функциям. У высокопродуктивных коров на любой стадии лактации большая часть энергии корма используется молочной железой, в то время как у менее продуктивных животных энергия питательных веществ используется преимущественно на резервные отложения в тканях. Различия по степени трансформации корма на поддержание функций, молоко или рост тела значительно сказываются на экономике животноводства. В практическом плане содержание двух коров на один уровень молока более накладно.

Повышение продолжительности продуктивного использования коров позволит снизить затраты на воспроизводство дойного стада. Высокоудойные стада и группы, хотя и не так многочисленные как за рубежом, имеются и в России. Однако кратковременные сроки использования высокопродуктивных коров из-за незнания их метаболических особенностей не позволяют в полной мере использовать генотипический фонд этих ценных животных для улучшения существующих и выведения новых пород и линий. В связи с этим необходимы генетико-физиологические исследования, прямо или косвенно связанные с выяснением сущности формирования признаков высокой продуктивности животных и длительности их эксплуатации. Неоценимую помощь в этом деле окажет система питания коров, основанная на субстратном обеспечении функций организма.

В распоряжении ученых имеются многочисленные исследования по изучению количественной трансформации метаболитов в пищеварительном тракте и поступлению субстратов в кровь, но моделирование этих процессов не носит характера целенаправленного изучения характеристик кормов и рационов по этому принципу. Проведены некоторые исследования по выявлению эффективности использования субстратов в синтезе компонентов молока и мяса, но в целом эта проблема нуждается в основательной экспериментальной проработке, в теоретических обобщениях, обосновывающих новые способы формулирования и трактовки рационов с использованием последних достижений в области физиологии регуляции потребления кормов, пищеварения, всасывания продуктов переваривания в кровь и использования их в организме, с тем чтобы оценивать корма и рационы на основе конечных субстратов межклеточного обмена.

На данном этапе развития животноводства в России дефицит кормового белка (до 40 %) является одной из причин, сдерживающих рост продуктивности животных и качество получаемой от них продукции. Для покрытия дефицита кормового белка, наряду с интенсификацией кормопроизводства и расширением посевов высокоурожайных сортов белковых культур, необходимо изыскание путей повышения эффективности его использования в организме животных и способов увеличения конверсии азотистых метаболитов в организме в белки молока и мяса. Следовательно, интегральные разработки, направленные на решение вопросов рационального протеинового питания высокопродуктивных животных, разработку технологий приготовления белковых кормов, повышение эффективности трансформации протеина корма в белки тела животного, а также на идентификацию факторов и условий,

лимитирующих или индуцирующих высокий уровень конверсии белков корма в животноводческую продукцию является и решением проблемы пищевого белка для человека.

В настоящее время показано, что до 30 %, а в отдельных случаях и более, поступающего фонда аминокислот при несбалансированности энергетического питания, может расходоваться на энергетические цели. В критических ситуациях, при дефиците энергии и белка, у высокопродуктивных коров идет мобилизация тканевых белков, используемых на образование и секрецию молока, что приводит к истощению организма и, соответственно, к снижению продуктивности. В связи с этим в биологической науке особое внимание уделяется вопросам регуляции органного и тканевого метаболизма азотистых веществ в организме животных в тесной взаимосвязи с условиями протеинового и энергетического питания. Очевидно, что регуляция распределения питательных веществ достигается за счет стимулирующего влияния гормонов на органы и ткани и ингибирующего действия на другие, чем устанавливается приоритет тканей и органов на доступные питательные вещества. Отсюда могут быть выявлены способы повышения эффективности использования корма и прогнозирования генетического потенциала продуктивности коров.

При разработке алгоритмов для расчета субстратного обеспечения питания коров следует, в первую очередь, уточнить коэффициенты синтеза субстратов: ЛЖК, ацетата, пропионата, бутирата, глюкозы и лактата из компонентов клетчатки, крахмала, сахаров, липидов, а также уточнить коэффициенты участия в образовании тепла в целом организме, энергетике матки и плода и в отложениях в теле коровы и секретирваемом молоке — ацетата, лактата, глюкозы, кетонов, высокомолекулярных жирных кислот, аминокислот, гликогена, лактозы. Рассчитать расход конечных субстратов межучасточного обмена: ацетата, лактата, глюкозы, кетоновых тел, высокомолекулярных жирных кислот, аминокислот в энергетическом и массовом выражении на следующие функции:

- теплопродукцию;
- синтез молока;
- синтез жира, белка, гликогена;
- синтез тканей плода.

Следует уточнить коэффициенты образования субстратов из питательных веществ рациона и зафиксировать поступление метаболитов и субстратов из желудочно-кишечного тракта в кровь: ацетата, пропионата, бутирата, глюкозы, лактата. Необходимо уточнить коэффициенты выхода свободных аминокислот из сырого протеина, поступление ВЖК из желудочно-кишечного тракта, дополнительный синтез ВЖК в организме на энергетические и пластические нужды, уточнить объём синтеза глюкозы и кетоновых тел из промежуточных продуктов: пропионата, аминокислот, ВЖК и др. и на этой основе сформировать алгоритм субстратного обеспечения функций организма.

Литература

1. Baldwin R.L. et al. Theoretical model of ruminant adipose tissue metabolism in relation to the whole animal. Fed. Proc. 1976, 35: 2314-2318.
2. Baldwin R.L. et al. Modelling Ruminants Digestion and Metabolism, Proc. 2nd Intern. Worksh. Davis, CA: Univ. of Calif., 1984.
3. Baldwin R.L. et al. Metabolism of the lactating cow. 1. Animal elements. J. Dairy Res., 1984a, 54: 77-105.
4. Baldwin R.L. et al. 1987b Metabolism of the lactating cow. 2. Digestive elements of a mechanistic model. J. Dairy Res., 1987d, 54: 107-131

5. Baldwin R.L. et al. 1987c Metabolism of the lactating cow. 3. Properties of mechanistic models suitable for evaluation of energetic relationships and factors involved in the partition of nutrients. J. Dairy Res., 1987c, 54: 133-145
6. Gill M. Modelling the partition of for growth. In : Modeling Ruminant Digestion and Metabolism. Proc. 2nd Intern. Worksh., Davis, CA: Univ. of Calif. Press., 1984: 75-79.
7. Graham N. McC et al. Simulation of growth and production in sheep. Model 1. A computer program to estimate energy and nitrogen utilisation, body composition and empty liveweight change day by day for sheep of any age. Agric. Syst., 1976, 1: 113-138.
8. Greco W.R. The role of simulation in biomatematical modeling. Bull. Math. Biol., 1986, 48: 241-251.
9. Heinrich R., Rapoport T.A. Metabolic regulation and matematical models. Progr. Biophys. Mol. Biol., 1977, 32: 1-82
10. Hemmingsen A.M. Energy metabolism as related to body size and respiratory surfacces, and its evolution. Reports of the Steno Memorial Hospital and Nordisk Insulinlaboratorium, 1960, 9: 1- 110.
11. Kleiber M. Body size and metabolism. Hilgardia, 6, 315-353, 1932

Результаты и задачи изучения процессов пищеварения при разработке систем оценки и нормирования питания жвачных животных

**А.М.Материкин, Е.Л.Харитонов, Н.Н.Семина,
И.А.Долгов, Н.Д.Мысник**

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания
сельскохозяйственных животных,
г. Боровск, Россия*

Современное высокопродуктивное животноводство, учитывая сложившиеся экономические, экологические и социальные условия, требует создания новых систем питания и кормления сельскохозяйственных животных.

Разрабатываемые системы питания должны отвечать двум основным требованиям — быть адекватными физиологии и биохимии животных и экономичными при производстве продуктов животноводства. Развитие аналитических, физиологических методов исследований и компьютерной техники дали возможность теоретически обосновать и применить новые принципы оценки корма и планирования рационов для жвачных животных. На основании данных детального химического анализа корма, его переваримости и потребности животных в энергетических и пластических веществах рационы оцениваются по комплексу субстратов и метаболитов, необходимых для поддержания жизни и производства молока и мяса. К таким субстратам-метаболитам относятся в первую очередь летучие и высшие жирные кислоты, аминокислоты и глюкоза. Большая часть субстратов образуется в желудочно-кишечном тракте — это начальный и определяющий этап метаболизма и усвоения питательных веществ рациона. Наличие у жвачных животных преджелудков и микробное превращение в них почти всех компонентов корма вносят принципиальные отличия в переваривание и всасывание как питательных веществ корма, так и образовавшихся метаболитов. Поэтому для разработки или совершенствования систем питания жвачных и физиологически обоснованной оценки питательности кормов и рационов необходимы дополнительные знания о количественном превращении основных компонентов отдельных кормов в различных участках пищеварительного тракта, то есть необходимо знать истинную переваримость питательных веществ отдельных кормов. Вместе с тем отсутствие информации о рециркуляции целого ряда элементов и

метаболизм продолжает оставаться сдерживающим моментом для определения истинной переваримости и всасывания из пищеварительного канала (см. схему).

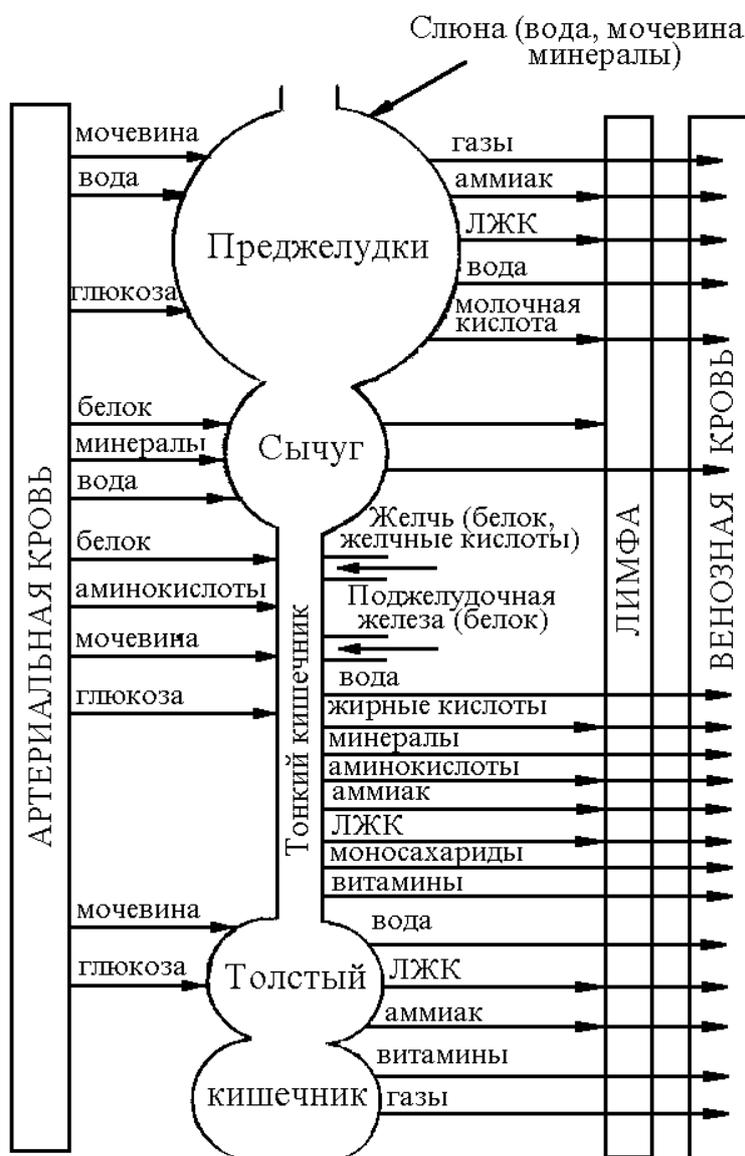


Схема всасывания и экскреции в пищеварительном тракте жвачных

Недостаточно данных о влиянии на процессы переваривания стадии лактации, сухостоя, уровня кормления и структуры рациона. В связи с вышеизложенным в задачу исследований входило:

- разработать, усовершенствовать и применить в исследованиях ряд хирургических и физиологических методов для исследования функций пищеварительного тракта жвачных животных;
- определить у молочных коров количественные параметры использования в сложном желудке и кишечнике основных питательных веществ в зависимости от уровня кормления, структуры рациона, фазы лактации и в период сухостоя;
- определить поступление эндогенного белка в желудок и начальный участок двенадцатиперстной кишки у овец и коров;
- изучить переваримость протеина и углеводов отдельных кормов в рубце и кишечнике жвачных животных;

— определить количественно поступление из пищеварительного тракта субстратов в зависимости от уровня кормления и физиологического состояния коров.

Поставленные задачи решали в опытах на бычках, овцах и молочных коровах в различные стадии лактации и в период сухостоя. В зависимости от целей и условий эксперимента животным хирургическим путем накладывали фистулы рубца и двенадцатиперстной кишки, внешние дуоденальные анастомозы, канюли на дистальном участке подвздошной кишки. Часть исследований выполнена на интактных коровах, содержимое рубца от них получали при помощи пищеводного зонда.

Методы физиологических исследований включали дифференцированное кормление животных, определение эндогенного поступления белка в сложный желудок, переваримости питательных веществ отдельных кормов в рубце, тонком и толстом кишечнике. Для определения поступления эндогенного белка в сложный желудок у овец и коров был разработан и применен метод замещения дуоденального химуса от доноров с использованием меченого ^{15}N сернокислого аммония и мочевины, что сводило до минимума рециркуляцию ^{15}N . Переваримость отдельных кормов определяли при помощи инкубации в мешочках в рубце и мобильных мешочков в кишечнике. Переваримость питательных веществ корма у коров во всем пищеварительном тракте определяли в балансовых опытах.

В исследованиях с использованием опорожнения рубца от содержимого, которое извлекалось через большую фистулу рубца, установлено, что отсутствие в рубце механических и химических раздражителей и всасывания продуктов превращения корма приводит к полному прекращению эвакуации из сложного желудка и прекращению секреции желчи и панкреатического сока. Эвакуаторная деятельность желудка возобновлялась вскоре после заполнения рубца объемными синтетическими волокнами и введения буферного раствора солей летучих жирных кислот. Вместе с тем, за шестичасовой период наблюдений через дуоденальный анастомоз прошло лишь половина того количества химуса, которое проходило при обычном кормлении. За это же время с химусом прошло 22 г общего азота, что также составило лишь 50 % того количества, которое поступало при кормлении. Удаление из рубца содержимого сопровождалось снижением потребления кислорода и выделения углекислого газа. После возвращения содержимого в рубец на следующий день не было установлено нарушений в клиническом состоянии животных. Коровы потребляли такое же количество корма, как и до опорожнения. Опорожнение рубца сроком до 12 часов с последующим возвращением содержимого, хранившегося в холодильнике, не приводило к существенным изменениям ни в составе микроорганизмов рубца, ни в состоянии животных и этот прием может быть использован в физиологических исследованиях на жвачных.

В опытах на лактирующих коровах установлено, что снижение уровня кормления с продуктивного до приблизительно поддерживающего приводит к относительному возрастанию роли кишечника в переваривании и усвоении питательных веществ. Это в большей степени относится к сухому, органическому веществу и протеину (табл.1). При высоком уровне протеина более 30 % его переваривалось в желудке (видимая переваримость). При поддерживающем уровне видимой переваримости не наблюдалось. Напротив, из сложного желудка в кишечник поступало азота больше, чем было принято с кормом. При этом снижалась доля белкового азота и увеличивалась — небелкового. При снижении уровня протеина в рационе увеличивалось эндогенное поступление его в преджелудки. Баланс азота при низком уровне кормления был отрицательным. Необходимо отметить, что роль преджелудков в абсолютном

количестве переваренных питательных веществ с повышением уровня кормления не снижается. В этих же исследованиях установлено, что потребление воды коровами находилось в прямой зависимости от потребления сухого вещества рациона. На низком уровне кормления относительно возрастало эндогенное выделение воды на уровне сложного желудка.

Для определения поступления эндогенного белка в сложный желудок жвачных исходили из того, что количество поступающего в рубец кормового азота (К) в сумме с азотом эндогенного белка (Э) и азотом эндогенной мочевины крови (М) равно поступлению общего азота в химус двенадцатиперстной кишки (Х) в сумме с аммиаком, всосавшимся из преджелудков в кровь (Ав). В свою очередь, общий азот химуса представляет собой сумму кормового транзитного (нераспавшегося) протеина, микробного азота, эндогенного транзитного белка и невсосавшегося рубцового аммиака.

Таким образом, выполняется равенство:

$$K + \text{Э} + M = X + \text{Ав},$$

Т а б л и ц а 1

Переваримость питательных веществ в желудке и кишечнике коров при различном уровне кормления

Показатели	Сухое вещество			Энергия, МДж			Протеин		
	И	II	III	И	II	III	И	II	III
Уровень кормления									
Потреблено, кг	18,6	15,5	6,4	322,4	274,9	111,7	468,5	378,0	+61,0
Переварено в желудке, %	61,3	58,1	51,6	49,7	54,9	52,1	32,0	23,4	-4,8
Переварено в кишечнике от принятого, %	10,2	11,6	25,0	19,7	18,9	23,4	38,7	43,3	81,8
Переварено в желудочно-кишечном тракте, %	71,5	69,7	76,5	69,4	73,8	75,4	70,7	68,1	77,0

следовательно, поступление эндогенного белкового азота равно:

$$\text{Э} = X - K - M + \text{Ав}$$

По данным исследований установлено, что эндогенный белок поступает в желудок овец и коров в количестве 0,3–0,4 г азота белка на 1 кг обменной массы (масса 0,75). Так, у коровы массой 450 кг (4-й месяц лактации) при потреблении с кормом 2030 г сырого протеина в желудок поступало в сутки около 200 г эндогенного белка или 0,32 г белкового азота на 1 кг обменной массы, что составило 9,8 % азота от принятого с кормом и 12 % общего азота химуса, поступившего в тонкий кишечник.

Эндогенный азот, поступающий в желудок жвачных, складывается из белка слюны, белка слущенного эпителия стенок камер желудка, диффундирующих через стенки желудка белков крови и белков сычужного сока. Величины поступления эндогенного белка в желудок у овец и коров в пересчете на обменную массу были довольно близкими и, вероятно, являются величинами более стабильными, в отличие от небелкового эндогенного азота, поступление которого весьма вариабельно и зависит от уровня и качества протеина в рационе.

В опытах на интактных лактирующих коровах, проведенных с целью изучения влияния структуры рациона на переваримость и усвоение питательных веществ установлено, что животные с более высоким процентом в рационе грубых кормов больше потребляли сухого, органического вещества и структурных углеводов и меньше — сырого протеина. У этих коров переваримость сухого вещества и структурных углеводов возрастала как в процентном (относительном), так и в абсолютном выражении. Животные, получавшие больше грубых кормов, имели более высокий показатель рН и более низкие концентрации аммиака и ЛЖК в содержимом рубца. В составе ЛЖК было больше уксусной кислоты и меньше — пропионовой. Изменение структуры рациона повлияло на количество и активность микроорганизмов рубца (табл. 2).

Таблица 2

Показатели ферментации корма в преджелудках лактирующих коров при различной структуре рациона

	Группы животных		
	I	II	III
Аммиак, мг %	9,6	8,7	7,9
ЛЖК, мм/100 мл	14,0	12,0	11,8
C ₂ , моль %	64,0	66,6	65,1
C ₃	27,1	25,3	24,8
C ₄	9,0	9,0	10,1
Общее количество микробов, млрд/мл	8,35	9,76	12,7
Инфузории, тыс/мл	432,7	484,5	537,5
Амилолитическая активность, ед/мл	49,6	44,5	39,0
Целлюлозолитическая активность, %	3,37	5,1	3,6
Протеолитическая активность, ед/мл	10,7	13,4	10,6

В этих исследованиях установлено, что количественные изменения в поступлении субстратов и метаболитов из пищеварительного тракта в большей степени зависят от питательности рациона, периода лактации и в меньшей степени — от структуры рациона. По поступлению аминокислот различия между группами с различной структурой рациона не превышали 5 %, между периодами лактации различия достигали 10 %. По всасыванию ЛЖК различия между рационами составили 8 %, а по периодам лактации — 18 % (табл. 3).

Процессы пищеварения и поступление субстратов из желудочно-кишечного тракта при различных физиологических состояниях животных были изучены на двух группах коров в период сухостоя и начала лактации. Коровы в группах отличались потенциалом продуктивности. Установлено, что направленность ферментативных процессов в преджелудках и переваримость основных питательных веществ зависит не от физиологического состояния животных, а от количества потребленного корма. После отела ферментативные процессы в рубце характеризовались более низким показателем рН, высоким уровнем аммиака (на 27 %) и ЛЖК (на 19 %). Уменьшилось общее количество микроорганизмов и несколько снизилась целлюлозолитическая активность их. У лактирующих коров установлено относительное снижение переваримости протеина и структурных углеводов (табл. 4).

Таблица 3

**Поступление субстратов из желудочно-кишечного тракта коров
по периодам лактации**

	Периоды лактации		
	I	II	III
Аминокислоты, г	1158	1140	1215
Глюкоза, г	762	715	711
Ацетат, г	2994	2773	2770
Пропионат, г	1470	1286	1283
Бутират, г	665	633	616
Высшие жирные кислоты, г	192	209	251

Таблица 4

Показатели ферментации в рубце коров в периоды сухостоя и лактации

Показатели	Сухостой		Лактация	
	Группы животных			
	I	II	I	II
Общее количество: микробов, млрд/мл	8,43	11,22	6,90	8,56
инфузорий, тыс/мл	179,3	275,0	166,7	320,0
Количество отдельных микроорганизмов, млн/мл:				
иодофильных	56,7	92,6	47,0	94,5
селеномонад	44,6	90,8	40,0	59,3
спирилл	53,0	103,8	54,0	83,7
Ферментативная активность рубцовой жидкости:				
амилазная, ед/мл	34,7	38,6	33,7	54,9
целлюлозолитическая, %	7,7	7,23	6,0	5,1
протеолитическая, ед/мл	3,45	2,57	3,39	1,9
рН	6,90	6,95	6,40	6,40
Аммиак, мг %	7,20	6,70	5,26	4,9
ЛЖК, ммоль/100 мл	10,60	10,10	12,30	12,46
C ₂ , моль %	63,90	65,20	66,70	67,40
C ₃	25,30	24,70	26,20	24,50
C ₄	10,80	10,10	7,10	8,10

В соответствии с потреблением корма и его переваримостью находилось изменение поступления субстратов из пищеварительного тракта. Различия между группами не превышали 20 %. Увеличение поступления субстратов в основном связано с повышенным потреблением корма после отела (табл. 5).

Таблица 5

**Поступление субстратов и метаболитов из желудочно-кишечного
тракта коров**

Субстраты, г/сут	Сухостой		Лактация	
	Группы животных			
	I	II	I	II
Аммиак	55,0	64,2	88,0	101,6
Аминокислоты	806,0	965,0	1280,0	1486,0
Глюкоза	428,0	518,0	699,0	800,0
Ацетат	1730,0	2076,0	2900,0	3520,0
Пропионат	788,3	960,0	1420,0	1720,0
Бутират	383,0	462,6	679,0	821,0
Высшие жирные кислоты	87,3	104,0	134,6	153,3

Поскольку субстраты, обеспечивающие потребности организма жвачных, образуются и всасываются в различных отделах пищеварительного тракта, важно знать место и степень переваривания питательных веществ отдельных кормов. Истинная переваримость также необходима для оценки корма и рациона. В опытах на бычках и коровах были исследованы зерно ячменя, пшеницы, кукурузы, соевый и подсолнечный шроты, кукурузный глютен, сено злаковое, силос кукурузный, свекла кормовая. Наиболее интенсивно в рубце распадается протеин пшеницы, ячменя, подсолнечного шрота. Наименее распадается протеин кукурузы и кукурузного глютена. Промежуточное положение занимает протеин соевого шрота, сена и силоса. Переваримость в кишечнике нераспавшегося в рубце протеина зависит от продолжительности пребывания корма в рубце. Зависимость переваримости в кишечнике от расщепляемости в рубце у различных кормов выражена по-разному. В то же время, для всех исследованных кормов отмечена параболическая зависимость переваримости в кишечнике от расщепляемости в рубце. С повышением расщепляемости протеина корма в рубце установлена тенденция к ухудшению аминокислотного состава нерасщепленной части протеина, в основном за счет разрушения незаменимых аминокислот. Снижение переваримости протеина в кишечнике при длительном пребывании корма в рубце показывает, что белков, доступных для протеолитических ферментов кишечника, остается мало и они, вероятно, связаны с лигноцеллюлозным комплексом.

Из классов углеводов корма наиболее труднопереваримыми являются структурные углеводы, связанные с лигнином. В свою очередь, их больше всего содержится в грубых и силосованных кормах. Намного меньше их в концентрированных кормах (табл. 6).

Таблица 6

**Содержание фракций структурных углеводов в кормах
(% на сухое вещество)**

Корма	НДК	КДК	Лигнин	Гемицеллюлоза	Целлюлоза
Сено злаковое	62,4	36,3	6,9	26,1	29,4
Силос кукурузный	56,6	30,6	6,5	26,0	24,1
Свекла кормовая	19,5	10,5	2,8	9,0	7,7
Шрот соевый	28,4	14,6	4,0	13,8	10,6
Зерно пшеницы	26,3	5,7	2,8	20,6	2,9
Зерно кукурузы	28,3	8,4	3,4	19,9	5,0
Зерно ячменя	28,5	6,9	3,6	18,6	3,3

Основная часть нейтрально-детергентной и кислото-детергентной клетчатки как грубых, так и зерновых кормов переваривается в преджелудках. В кишечнике переваримость их, как правило, не превышает 10 %, причем местом переваривания может быть только толстый кишечник (табл. 7).

Таблица 7

**Переваримость структурных углеводов зерновых кормов в рубце
и кишечнике коров, %**

Вид корма	НДК	КДК	Лигнин	Гемицеллюлоза	Целлюлоза
Переваримость в рубце					
Шрот соевый	22,4	21,1	2,8	26,8	29,0
Пшеница	36,4	23,9	—	40,4	36,0
Ячмень	27,9	16,1	1,8	37,2	28,9
Кукуруза	18,6	28,0	3,0	14,2	41,4
Переваримость в кишечнике					
Шрот соевый	10,0	6,9	—	22,3	10,5
Пшеница	5,9	3,1	—	7,0	6,4

Ячмень	7,2	9,2	—	5,2	7,5
Кукуруза	8,1	3,4	—	7,0	5,9

Для снабжения жвачных глюкозой кроме основного процесса — глюконеогенеза определенное значение имеет переваривание в кишечнике крахмала зерновых злаков — ячменя, пшеницы и кукурузы. Установлено, что при общей высокой переваримости в пищеварительном тракте имеются значительные различия между кормами по перевариванию в различных отделах. Наиболее интенсивно переваривается в рубце крахмал пшеницы. При высоком проценте переваримости крахмала пшеницы в кишечнике общее его переваривание в этом отделе пищеварительного тракта не превышало 7 %. Менее интенсивно в рубце переваривался крахмал кукурузы. Переваримость этого крахмала в кишечнике была наиболее высокой и около 25 % от общего количества его переваривалось в этом отделе пищеварительного канала. Среднее положение по перевариванию в рубце и кишечнике занимал крахмал зерна ячменя (табл. 8).

Таблица 8

Переваривание крахмала и липидов отдельных кормов в рубце и кишечнике коров

Вид корма	Переварено в рубце, % от принятого	Переварено в кишечнике		Переварено в желудочно-кишечном тракте
		% от поступившего в кишечник	% от принятого с кормом	
К р а х м а л				
Кукуруза	73,4	90,9	24,1	97,5
Ячмень	77,8	84,6	18,7	96,5
Пшеница	91,8	84,2	6,9	98,7
Л и п и д ы				
Сено злаковое	71,4	28,2	8,0	78,4
Кукуруза	81,4	80,9	16,0	97,0
Ячмень	80,7	75,9	14,6	95,3
Пшеница	93,1	62,4	4,3	97,4
Соевый шрот	80,5	67,8	13,2	93,7

Несколько иная зависимость установлена для переваривания общих липидов отдельных кормов. Наименьшая переваримость в рубце и кишечнике оказалась у липидов сена. Наибольшее количество переваривалось в рубце липидов пшеницы. При сравнительно низком проценте переваримости этих липидов в кишечнике общее переваривание их там составило немногим более 4 %. Для липидов кукурузы, ячменя и соевого шрота была характерна высокая переваримость и в рубце, и в кишечнике, но основная масса их подвергалась превращениям в рубце.

Необходимо отметить, что несмотря на имеющийся обширный экспериментальный материал для реализации субстратного принципа оценки рационов и нормирования питания жвачных животных необходимы исследования по целому ряду вопросов. Предстоит уточнить потребность в отдельных энергетических и пластических субстратах. Необходимы исследования по определению степени и предела взаимозаменяемости субстратов и метаболитов. Крайне мало исследований по оценке возможности целенаправленной регуляции образования количества и соотношения субстратов в пищеварительном тракте. Недостаточно изучена большая проблема регуляции и регулирования потребления корма. Ощущается потребность в разработке комплекса методов, направленных на регулирование

образования субстратов в пищеварительном тракте с тем, чтобы кормовыми, химическими и биологическими факторами изменять и корректировать направленность процессов превращения и переваривания корма в различных отделах пищеварительного тракта.

Разработка адаптивно-вариабельных норм кормления молочных коров

Н.Г.Григорьев, А.П.Гаганов

*Всероссийский НИИ кормов им. В.Р.Вильямса,
Луговая, Московской обл., Россия*

В настоящее время в Российской Федерации осуществляется переход на систему оценки энергетической питательности кормов и рационов крупного рогатого скота по обменной энергии (1, 2). Обменная энергия (ОЭ) представляет доступную для использования животным часть валовой (общей) энергии корма. Превращение обменной энергии в энергию продукции животных осуществляется с разной эффективностью и зависит от вида продукции (молоко, мясо, шерсть), концентрации обменной энергии (КОЭ) в сухом веществе кормов и общей сбалансированности рационов по всему комплексу питательных и биологически активных веществ и в первую очередь по протеину (3, 4, 6–10, 15, 17, 19). С наибольшей эффективностью обменная энергия используется (табл. 1) крупным рогатым скотом для поддержания (69–76 %) и с наименьшей — для воспроизводительной функции и в процессе развития плода (16–25 %). Вопрос об эффективности использования скотом обменной энергии кормов рациона для различных физиологических функций достаточно полно освещен как в зарубежной, так и в отечественной литературе (3, 4, 6–9, 18, 19, 22). При этом под эффективностью продуктивного или поддерживающего использования обменной энергии (КЭИ) понимается ее отложение в продукции или затраты

Таблица 1

Эффективность использования ОЭ кормов сбалансированных рационов в зависимости от концентрации ОЭ в сухом веществе корма (8)

КОЭ в 1 кг сухого вещества рациона МДж	Коэффициент эффективности использования ОЭ кормов рациона (КЭИ)			
	на поддержа- ние существования (основного обмена)	на производство продукции		
		молока и прирост дойных коров	молока за счет потери массы	на прирост сухостойных коров
8	0,69	0,46	0,37	0,28
9	0,70	0,51	0,41	0,31
10	0,72	0,57	0,46	0,35
11	0,74	0,63	0,50	0,38
12	0,75	0,68	0,54	0,42

на основной обмен, выраженные в десятичных долях или процентах к общим затратам обменной энергии на продукцию (сверхподдерживающие затраты) или на поддержание (включая теплопродукцию при переваривании и использовании корма для обеспечения основного обмена и сам основной обмен). В соответствие с эффективностью использования обменной энергии кормов в сбалансированных рационах происходит и использование переваримого протеина кормов рациона у скота (6–8, 11–14, 17).

На протяжении последних 15 лет во ВНИИ кормов отработывалась, проверялась и уточнялась система оценки энергетической и протеиновой питательности кормов и рационов жвачных животных и крупного рогатого скота в особенности. В 1965 году МСХ РФ опубликовало одобренные НТС рекомендации института "Определение содержания в кормах и рационах крупного рогатого скота обменной энергии и переваримого протеина и нормирование потребности в них" (15). В последние годы проводили их детализацию, проверку и уточнение в научных экспериментах и хозяйствах Московской, Ленинградской, Кировской и Тамбовской областях. Особенно активную проверку вели в Раменском районе Московской области. Совершенствование системы факториального нормированного кормления крупного рогатого скота сочетали с совершенствованием структуры кормовой базы в районе, увеличением урожайности лугов и кормовых культур, повышением качества заготавливаемых кормов, преимущественно на основе увеличения в их сухом веществе концентрации обменной энергии и протеина. Благодаря этому удой молока на фуражную корову за десятилетие с 1981 года увеличился с 3200 кг до 5026 кг, а среднегодовые темпы прироста продуктивности на поголовье в 16,6 тыс. коров колебались в пределах 4–9 %. Основное внимание уделяли улучшению энергетического и протеинового питания животных на основе расширения посевов многолетних и однолетних бобовых трав, оптимизации сроков и улучшения качества заготавливаемых кормов. Важное значение придавали заготовке провяленного силоса из трав с 25–40 % сухого вещества, содержащего 13–16 % и более сырого протеина. Это позволило в 1987–88 гг. подготовить усовершенствованные "Рекомендации по кормлению молочных коров и молодняка крупного рогатого скота" (8). Наряду с научно-производственной проверкой в опытных хозяйствах института на поголовье более 6000 коров отработывали технологию применения адаптивно-вариабельных норм кормления, учитывающих, с одной стороны, величину и качество (состав) продукции (молока, прироста, развитие плода) коров, и с другой — общее содержание по сухому веществу и его качеству (энергия, протеин и его фракции, витаминный и минеральный состав) в кормах рациона коров. На этом поголовье за десятилетие с 1981 по 1990 гг. среднегодовая продуктивность коров увеличилась более чем на 1000 кг молока и по всем шести хозяйствам достигла 5017 кг надоя на фуражную корову. Основная часть проведенных исследований обобщена в коллективном труде "Биологическая полноценность кормов" опубликованном в 1989 г (7).

В лабораторных и научно-производственных исследованиях определение обменной энергии и переваримого протеина кормов и рационов проводили на основании данных опытов по их переваримости в соответствии с методическими указаниями и рекомендациями ВАСХНИЛ (9, 23–25). В соответствии с этими же рекомендациями (9, 23, 24) изучали факториальное распределение обменной энергии и переваримого протеина и проводили оценку продуктивного действия кормов и рационов. Растворимый и расщепляемый протеин определяли по методическим указаниям ВАСХНИЛ (24). Химический состав кормов и рационов определяли по стандартам ВНИИ кормов (19, 28) и в соответствии с руководством П.Т.Лебедева и А.Т.Усович (21). Потребность в нерасщепляемом протеине кормов рациона в зависимости от удоя коров определяли по разработанному нами уравнению:

$$\text{НРП} = 11 + 0,9 (\text{ССУ} - 10),$$

где НРП — процентное содержание нерасщепляемого протеина в общем (сыром) протеине кормов рациона, ССУ — среднесуточный удой (кг) в пересчете на 4 %-ное по жирности молоко. Концентрацию обменной энергии (КОЭ, МДж в 1 кг сухого вещества рациона) в

производственных условиях определяли в соответствии с описанием в журнале "Зоотехния", 1991, N8(16) по формуле:

$$\text{КОЭ} = 13,3 - 14 \text{ СК},$$

где СК — содержание сырой клетчатки (кг/кг сухого вещества рациона). В целом рационе во всей массе сухого вещества (СВ, кг) содержание обменной энергии (ОЭ, МДж) определяли по той же формуле:

$$\text{ОЭ} = \text{СВ} (13,3 - 14 \text{ СК})$$

Наряду с приведенной формулой для определения концентрации обменной энергии в сухом веществе кормов рациона использовали формулу, учитывающую также концентрацию в нем сырых жира и золы (29):

$$\text{КОЭ} = \text{СВ} (13,66 - 0,17 \text{ СК} - 0,183 \text{ СЗ} + 0,261 \text{ СЖ}),$$

где СК, СЖ, СЗ — концентрация в сухом веществе кормов рациона сырых клетчатки, жира и золы соответственно в %. СК определяли общепринятым методом Ганеберга и Штомана, СЖ по Сокслету, СЗ методом сухого озоления в муфельной печи (19, 21, 26).

Определение сырых клетчатки (СК) и протеина (СП) в ряде случаев проводили стандартными методами (ГОСТы 13496.2-84 и 13496.4-84). В соответствии с двумя приведенными выше способами расчета содержания обменной энергии в рационах крупного рогатого скота, проводили и ее определение в сухом веществе объемистых кормов. Такое определение необходимо для правильного расчета количества включаемых в рацион концентратов и корнеклубнеплодов, которые по содержанию обменной энергии в сухом веществе близки к концентратам. Для расчета в производственных условиях количества обменной энергии в сухом веществе концентратов и очищенных (вымытых) корнеплодов, имеющих относительно стабильные коэффициенты переваримости питательных веществ при низком содержании клетчатки (не более 13 %), использовали данные зоотехнического анализа по содержанию в этих сырых кормах питательных веществ (%):

$$\text{КОЭ} = 0,12 \text{ СП} + 0,31 \text{ СЖ} + 0,05 \text{ СК} + 0,13 \text{ СБЭВ},$$

где КОЭ — концентрация ОЭ, МДж/ кг сухого вещества концентратов; СП, СЖ, СК, СБЭВ — содержание в сухом веществе концентратов сырых протеина, жира, клетчатки и безазотистых экстрактивных веществ соответственно, %.

С учетом взаимосвязи переваримости протеина кормов сбалансированного рациона крупного рогатого скота и концентрации обменной энергии в этих рационах переваримость сырого протеина (П, %) в производственных условиях определяли по разработанному нами уравнению:

$$\text{П} = 55 + 5 (\text{КОЭ} - 8),$$

где П — переваримость сырого протеина (без протеина САВ) сбалансированного рациона, %, КОЭ — концентрация обменной энергии, МДж/кг СВ рациона.

Планируемую и фактическую продуктивность коров (продукция молока и прирост) оценивали по энергетической ценности и содержанию сырого протеина в 1 кг молока и прироста и по количеству молока и прироста (8). Наряду с этим у стельных коров учитывали отложение энергии и протеина в плоде, матке и молочной железе в ходе репродуктивного цикла. Прогнозирование продуктивного действия фактических рационов и состава разрабатываемых рационов осуществляли на основе применения коэффициентов эффективности использования обменной энергии (КЭИ ОЭ) и переваримого протеина (КЭИ ПП) для отложения (синтеза) в продукции (молоке, приросте), поддержания и развития плода. В соответствии с мировой научной и производственной практикой эффективность использования

переваримого протеина (ПП) принимали приблизительно равной таковой для обменной энергии (ОЭ). Эффективность использования обменной энергии и переваримого протеина для обеспечения стельности принимали равной 16–25 % (в среднем 20 %). Коэффициенты (табл. 1) эффективности использования энергии и переваримого протеина взаимоувязывают энергетическую и протеиновую питательность кормов рациона с содержанием энергии и протеина в продукции и позволяют дать оценку продуктивным возможностям рациона, в том числе и по продуктивной (чистой) энергии. При отсутствии возможности прямого определения энергетической и протеиновой ценности молока в производственных условиях их определяли по разработанным во ВНИИ кормов уравнениям (8):

$$\text{ЭЦ} = \text{ССУ} (1,404 + 0,431 \text{ ЖМ}),$$

где ЭЦ — энергетическая ценность молока, МДж; ЖМ — содержание сырого жира в молоке, %; ССУ — среднесуточный удой молока, кг.

$$\text{ПЦ} = 1,9 + 0,4 \text{ ЖМ},$$

где ПЦ — содержание сырого протеина в молоке, %; ЖМ — жир молока, %.

$$\text{ПП} = \text{ССУ} (15,1 + 9,2 \text{ ЖМ}),$$

где ПП — потребность коров в переваримом протеине для производства молока, г; ССУ — среднесуточный удой, кг; ЖМ — жир молока, %.

Как уже отмечалось, коровы более эффективно используют энергию и протеин кормов (3, 4, 6–9, 17) для поддержания жизни. Затем по эффективности продуктивного использования идет образование молока и прироста дойных коров непосредственно за счет энергии и протеина кормов (КЭИ = 46–68 %). Если рацион высокопродуктивных коров не обеспечивает полного процесса молокообразования, то молоко может образовываться за счет потери массы коровы (сдаивания тела). В этом случае энергия и протеин кормов используются для образования молока в целом менее эффективно (КЭИ = 38–56 %), чем непосредственно за счет энергии и протеина кормов рациона. За счет энергии в 1 кг массы тела (в среднем около 25 МДж) половозрелой коровы образуется примерно 20 МДж энергии молока или 6–8 кг молока, в то время как из протеина 1 кг теряемой массы (в среднем примерно 100 г) тела коровы может синтезироваться только 80 г протеина молока или 2,1–2,7 кг молока, т.е. почти в 3 раза меньше. У лактирующих коров отложение энергии и протеина в приросте идет с той же эффективностью, как и процесс молокообразования (4, 6, 17, 18, 22), а у сухостойных коров этот процесс менее эффективен (примерно на 24 %), по сравнению с образованием молока за счет потери массы тела и на 39 % менее эффективен, чем образование молока непосредственно за счет протеина и энергии кормов. Эффективность использования сверхподдерживающей обменной энергии и протеина кормов рациона для прироста сухостойных коров соответствует этому показателю для растущего молодняка. Использование энергии и протеина кормов для воспроизводительной функции (включая развитие плода) еще ниже и, как уже отмечалось, составляет 16–25 %.

В соответствии с факториальным методом потребность коров в протеине и энергии складывается из потребности на поддержание, на образование продукции (молока и прироста) и на обеспечение воспроизводства (роста и развития плода, матки, молочной железы) в период стельности. В таблице 2 представлены данные по потребности коров на поддержание как в период лактации, так и в сухостойный период, а в табл. 3 — данные по затратам энергии и протеина кормов рациона на образование 1 кг молока. Учитывая жирность молока данной коровы или группы коров и КОЭ сухого вещества кормов

потребляемого или планируемого рациона кормления, из таблицы 3 выбирают соответствующую норму затрат энергии, протеина, кальция, фосфора и каротина на синтез 1 кг молока и, умножив их на фактический или планируемый среднесуточный удой, получают норму сверхподдерживающих затрат энергии и основных факторов питания на этот удой.

При расчете поддерживающих затрат для стельных коров в сухостойный период из таблицы 2 выбирают какой-либо один вариант подсчета из двух, включенных в таблицу. При учете затрат на стельность коров в ее последней половине их добавляют к затратам на поддержание жизни дойных коров. В этом случае уже не учитывают затраты раздела таблицы на поддержание жизни и на стельность в сухостойный период.

Пользуясь таблицами 2 и 3, путем сложения соответствующих граф, легко подсчитать потребность коров любой массы и продуктивности в основных питательных веществах и энергии суммарно как на поддержание жизни, так и на лактацию, а при необходимости — на прирост и стельность или сухостой. К этому лишь стоит напомнить, что в 1 кг теряемой массы при раздое полновозрастных коров содержится 25 МДж чистой энергии и 100 г сырого протеина, которые используются на образование молока с эффективностью около 80 % (4,8). Если учесть, что в 1 кг молока содержится около 3 МДж чистой энергии и около 33 г сырого протеина, нетрудно подсчитать, какое количество молока образуется за счет потери живой массы. При определении норм потребности на прирост учитывают величину прироста и соответственно этому корректируют затраты питательных веществ.

Таблица 2

Среднесуточная потребность коров разной массы в сухом веществе и доступных энергии, протеине, кальции и каротине на поддержание и стельность при КОЭ рациона 10 МДж/кг СВ и на 1 кг прироста при разных значениях КОЭ

Показатели	Потребность в							
	СВ, кг	ОЭ, МДж	ПП, г	СП, г	Са, г	Р, г	каротине, мг	повар. соли, г
ЖМ, кг	на поддержание жизни дойных коров ^{х) xx)}							
400	4,2	42,4	238	366	19	16	46	24
500	5,1	50,9	287	442	24	23	58	30
600	6,0	59,5	336	517	29	28	70	36
700	6,6	68,1	384	591	34	33	81	42
	на поддержание жизни и стельность в сухостойный период ^{х) xx)}							
400	6,1	61,4	448	689	35	24	84	48
500	7,2	71,9	527	811	42	32	105	54
600	8,3	82,5	606	932	49	38	127	60
700	9,1	93,1	684	1052	56	44	147	66
КОЭ рациона, МДж, кг СВ	на прирост 1 кг живой массы в период лактации							
8	6,9	54,8	329	598	35	10	130	3
9	5,4	48,7	292	487	33	10	115	7
10	4,4	43,9	263	408	32	9	104	6
11	3,6	39,9	239	341	30	9	96	6
12	3,0	36,5	219	292	29	8	86	5
	на прирост 1 кг живой массы в сухостойный период							
8	11,2	89,3	537	976	35	10	211	8
9	8,8	79,4	476	793	33	10	188	7
10	7,1	71,4	429	660	32	9	169	6
11	5,9	64,9	390	557	30	9	154	6

12	5,0	59,5	357	476	29	8	141	5
месяцы стельности	на стельность в ее последней половине							
5	0,5	5	60	92	1	1	12	8
6	0,7	7	80	123	2,4	1	17	12
7	0,9	9	105	162	4,0	2	23	17
8	1,5	15	170	262	20	9	36	25
9	2,3	23	270	415	22	10	55	24

^{х)} При более низкой КОЭ (например, 9 или 8 МДж) нормы увеличиваются соответственно на 2,5 % и 5 %, нормы СП — на 7,5 и 15%; а при более высокой (11 или 12 МДж) снижаются на 2,5 и 5 %, а нормы СП — на 7,5 и 15 %.

^{хх)} У первотелок норму увеличивают на 20 %, у коров второй лактации — на 10 %.

Таблица 3

Затраты на образование 1 кг молока разной жирности в зависимости от концентрации обменной энергии в сухом веществе рациона (без учета затрат на поддержание, стельность и прирост)

КОЭ рациона, МДж	% жира в молоке	СВ, кг	ОЭ, МДж	ПП, г	СП, г	Са, г	Р, г	каро- тин, мг	повар. соль, г
8	3,0	0,74	5,9	70	127	2,8	2,1	15,0	2,3
	3,5	0,80	6,4	74	135	3,1	2,2	15,5	2,4
	4,0	0,86	6,9	79	143	3,2	2,3	16,0	2,5
	4,5	0,92	7,3	83	151	3,3	2,4	17,0	2,6
	5,0	0,98	7,8	88	160	3,4	2,5	18,5	2,7
9	3,0	0,58	5,3	62	103	2,7	2,0	13,5	2,0
	3,5	0,63	5,7	66	110	2,9	2,1	14,0	2,1
	4,0	0,68	6,1	70	117	3,0	2,2	14,5	2,2
	4,5	0,72	6,5	74	123	3,1	2,3	15,5	2,3
	5,0	0,77	6,9	78	130	3,2	2,4	16,0	2,4
10	3,0	0,48	4,7	56	86	2,6	1,9	12,0	1,8
	3,5	0,51	5,1	60	92	2,8	2,0	12,5	1,9
	4,0	0,55	5,5	63	97	2,9	2,1	13,0	2,0
	4,5	0,59	5,9	67	102	3,0	2,2	14,0	2,1
	5,0	0,63	6,3	70	103	3,1	2,3	15,0	2,2
11	3,0	0,39	4,3	51	72	2,5	1,8	11,0	1,6
	3,5	0,42	4,6	54	77	2,7	1,9	11,5	1,7
	4,0	0,45	5,0	57	82	2,8	2,0	12,0	1,8
	4,5	0,48	5,3	60	86	2,9	2,1	12,5	1,9
	5,0	0,52	5,7	64	91	3,0	2,2	13,5	2,0
12	3,0	0,33	4,0	47	62	2,4	1,7	10,0	1,5
	3,5	0,35	4,3	50	66	2,6	1,8	10,5	1,6
	4,0	0,38	4,6	53	70	2,7	1,9	11,0	1,7
	4,5	0,41	4,9	55	74	2,8	2,0	11,5	1,7
	5,0	0,43	5,2	59	78	2,9	2,1	12,0	1,8

Основным фактором, ограничивающим нормирование питания коров, является способность коров к потреблению сухого вещества кормов рациона. В среднем коровы потребляют в зависимости от стадии лактационного цикла, стельности и сбалансированности рациона от 2 до 3 кг сухого вещества кормов на 100 кг живой массы. Высокопродуктивные коровы на 100 кг живой массы могут потреблять на пике лактационной фазы (вторая треть) до 3,5–4,0 кг сухого вещества энергонасыщенных, сбалансированных по протеину и другим питательным и биологически активным веществам кормов, содержащих оптимальное количество клетчатки (16–22 % в сухом веществе). У коров-рекордисток по удою потребление с рационом сухого вещества кормов может превысить и 4 кг на 100 кг живой массы, а потеря массы в период раздоя может достигать в пересчете на сырой жир 150 кг (17) или около 6000 МДж (6 ГДж), которые

обеспечивают примерно 1500–1600 кг удоя. В среднем считается, что высокопродуктивные коровы при раздое за счет потери массы по энергии могут обеспечить до 1200 кг, а по протеину — до 400 кг удоя.

Таблица 4

**Среднесуточная потребность в основных факторах питания
полновозрастной коровы массой 550 кг или коровы на 2-й лактации массой
500 кг при жирности молока 3,6–3,8 % без учета затрат на изменение
массы и стельность в дойный период при минимальной КОЭ (МДж/кг СВ
рациона)**

Удой, кг	Среднесуточная потребность									
	СВ, кг	ОЭ, МДж	ПП, кг	СП, кг	Са, г	Р, г	каро- тина, мг	повар. соли, г	ОЭ, МДж (КОЭ)	СП, %
5	11,5	92	0,73	1,32	45	35	150	50	8,0	11,5
10	13,5	116	1,04	1,76	60	45	210	60	8,6	13,0
15	15,5	143	1,33	2,25	75	55	270	70	9,2	14,5
20	17,5	170	1,67	2,63	90	65	330	80	9,7	15,0
25	18,5	189	1,8	2,83	100	75	370	85	10,2	15,3
30	19,0	205	2,02	2,96	110	85	410	90	10,8	15,6
35	19,5	220	2,20	3,12	120	95	440	95	11,3	16,0
40	20,0	236	2,34	3,26	130	105	470	100	11,8	16,3
1 ^x	7,9	72	0,48	0,80	47	35	101	58	9,1	10,1
2 ^{xx}	7,9	79	0,59	0,90	48	35	119	59	10,0	11,4
3 ^{xxx}	7,4	59	0,33	0,60	30	27	66	35	8	6,1

^{x)} — 1-ый месяц сухостоя; ^{xx)} — 2-ой месяц сухостоя; ^{xxx)} — в т.ч. на поддержание жизни

Высокий уровень концентрации питательных и биологически активных веществ в сухом веществе кормов рациона особенно важен для коров с годовым удоєм свыше 4-х тыс. кг молока в год. Чем выше удои коровы, тем большая концентрация энергии, протеина и других питательных веществ требуется в кормах рациона. В таблице 4 представлены минимальные, по концентрации обменной энергии, нормы потребности в энергии, протеине и других основных факторах питания полновозрастной коровы массой 550 кг, или коровы по второй лактации массой 500 кг, или первотелки массой 450 кг при средней жирности молока 3,6–3,8 %. Используя аналогичный подход на основе табл. 2 и 3 можно рассчитать нормативы потребности в основных факторах питания коровы любой массы с любым удоєм с учетом жирности молока, стадии лактации, стельности и качества кормов рациона (по энергии и протеину). Рассчитываемые подобным образом нормы потребности коров в основном соответствуют общепризнанным в мире нормам США, Англии, Франции, Германии (6, 10) и в значительной мере — рекомендациям РАСХН (28). Пользуясь приведенными нормативами потребности, на основе общеизвестных подходов легко составить рацион питания коров на заданную (планируемую) продуктивность с учетом генетического потенциала продуктивности и качества кормов рациона. В таблице 5 приведены данные по сопоставлению предлагаемых нормативов потребности коров в энергии и протеине с результатами научных экспериментов Н.И. Денисова и его сотрудников (27). Приведенные в таблице данные подтверждают научную обоснованность предлагаемых нормативов. Наиболее полное совпадение отмечается по энергетической части норм. Более существенные расхождения наблюдаются в протеиновой части нормативов, что по-видимому объясняется многофакторностью влияния на изменчивость эффективности использования и переваримости сырого протеина кормов рациона у коров. Очевидно, эта сторона норм заслуживает дальнейшей более глубокой и широкой научной проработки и конкретизации.

Литература

1. Попов И.С. Новая кормовая единица. Животноводство, 1963, 12: 9-21.
2. Дмитроченко А. П. Теоретические основы энергетического питания животных. Вестник с.-х. науки, 1978, 9: 57-67.
3. Дмитроченко А. П. В кн: Потребность жвачных животных в питательных веществах и энергии. М.: Колос, 1968.
4. Цюпко В. В. Физиологические основы питания молочного скота. К.: Урожай, 1984.
5. Григорьев Н. Г., Волков Н. П. Новая система оценки энергетической питательности кормов для жвачных. Кормопроизводство, 1984, 4: 14-17.
6. Бурлаку Г. Главные современные системы по оценке питательности кормов и кормовые нормы для жвачных. Бухарест: Агроинформ, 1982.
7. Григорьев Н. Г., Волков Н. П., Воробьев Е. С. и др. Биологическая полноценность кормов. М.: Агропромиздат, 1989.
8. Григорьев Н. Г., Волков Н. П., Воробьев Е. С. и др. Рекомендации по кормлению молочных коров и молодняка крупного рогатого скота. М.: Госагропромиздат, 1987, 1988.
9. Авраменко П. С., Постовалова Л. М. и др. Оценка энергетической и протеиновой питательности кормов и рационов для крупного рогатого скота. Западное отделение ВАСХНИЛ, БелНИИЖ, 1989.
10. Григорьев Н. Г. Кормовые ресурсы животноводства и оценка кормов в Европе. Вестник с.-х. науки, 1991, 9: 170-173.
11. Фицев А. И., Воронкова Ф. В. Современные тенденции в оценке и нормировании протеина для жвачных животных. М.: ВНИИТЭИСХ, 1986.
12. Неринг К. Кормление сельскохозяйственных животных и кормовые средства. М.: Сельхозгиз, 1959.
13. Кремптон Э. И., Харрис Л. Э. Практика кормления сельскохозяйственных животных. М.: Колос, 1972.
14. Кэмпбелл Дж. Е., Маршалл Р. Т. Производство молока. М.: Колос, 1980.
15. Григорьев Н. Г., Волков Н. П., Горбунов Ю. В. Определение содержания в кормах и рационах крупного рогатого скота обменной энергии и переваримого протеина и нормирование потребности в них (рекомендации). М.: Россельхозиздат, 1985.
16. Григорьев Н. Г. Определение обменной энергии кормов и рационов. Зоотехния, 1991, 8: 34-37.
17. Холманов А. М., Пиатковский Б., ред. Использование питательных веществ жвачными животными. М.: Колос, 1975.
18. Блекстер К. Дальнейшее развитие системы кормления жвачных животных на основе обменной энергии. В кн: Новейшие достижения в исследовании питания животных. М.: Колос, т.1, 1982: 107-120.
19. Методы анализа кормовых растений и кормов. Стандарты предприятия. Сб. тр. ВНИИ кормов им. В.Р.Вильямса, 1984.
20. Григорьев Н. Г., Волков Н. П. Оценка качества кормов и рационов молочных коров по обменной энергии. Вестник с.-х. науки, 1986, 10: 87-94.
21. Лебедев Н. Т., Усович А. Г. Методы исследования кормов, органов и тканей животных. М.: Сельхозиздат, 1969.
22. ARC. Energy allowances and feeding systems for ruminants. Technical Bulletin 33, HMSO, L.: MAFF, 1976.
23. Григорьев Н. Г., Волков Н. П. и др. Методические рекомендации по определению энергетической питательности кормов для жвачных. М. ВАСХНИЛ, 1984.
24. Григорьев Н. Г., Волков Н. П. и др. Методические указания по оценке энергетической и протеиновой питательности кормов для жвачных животных. М. ВАСХНИЛ, 1988.
25. Григорьев Н. Г., Воробьев Е. С. и др. Методические рекомендации по оценке кормов на основе их переваримости. М. ВАСХНИЛ, 1969.
26. Григорьев Н. Г., Попов В. В. и др. Методические рекомендации по разработке производственной оценки качества кормов. М. ВАСХНИЛ, 1987.
27. Денисов Н. И. Научные основы кормления коров. М.: Госсельхозиздат, 1960.

28. Калашников А. П., Клейменов Н. И. и др. Нормы и рационы кормления с.-х. животных. М.: Агропромиздат, 1985.
29. Блекстер К В кн.: Новейшие достижения в исследовании питания животных. Вып.4, М.: Агропромиздат, 1985: 218-287.

Новые аспекты нормирования питания лактующих и сухостойных коров

В.В.Щеглов

*ВНИИ животноводства,
Подольск, Московская обл., Россия*

На всех этапах развития отечественного животноводства нормы кормления всегда являлись одним из решающим факторов его прогресса. Об этом наглядно свидетельствует анализ состояния этого вопроса начиная с 20-х годов текущего столетия. Так, нормы Е.А.Богданова (с 1923 по 1930 г), при контроле питания животных по двум показателям, были рассчитаны на следующую продуктивность: удой на корову в год 1500–2000 кг, суточный прирост живой массы молодняка крупного рогатого скота — 450–500 г, свиней — 300–350 г при затратах корм. ед. на 1 кг прироста соответственно 9,5–10 и 7,0–8,0. Нормы И.С.Попова (1930–1956 гг) учитывали 4 показателя и обеспечивали в среднем удой на корову в год 2500–3000 кг, суточный прирост живой массы крупного рогатого скота — 550–600 г, свиней — 350–450 кг. Затраты корм. ед. на 1 кг прироста крупного рогатого скота 8,7–9,5, свиней — 6,0–6,5. Нормы М.Ф.Томмэ (ВИЖ) — 1956–1983 (контроль питания по 6 показателям) обеспечивали удой на корову в год 3500–4500 кг, суточный прирост живой массы крупного рогатого скота 700–800 г, свиней — 500–600 г при затратах корм. ед. на 1 кг прироста 7,5–8,2 и 5,0–5,5 соответственно. В 1985 году зоотехническая наука и практика приняли к внедрению новые детализированные нормы кормления всех животных, знаменующие собой переход от овсяной кормовой единицы к более прогрессивной оценке кормов и нормирования питания по обменной энергии и комплексу питательных веществ. Детализированные нормы, при контроле питания по 20–30 показателям, обеспечивают удой на корову в год 5500–6500 кг, суточный прирост живой массы крупного рогатого скота 1100–1350 г, свиней — 700–800 г и затраты корм. ед. на 1 кг прироста 7,0–7,5 и 4,0–4,5.

За 10-летний период испытания новой системы нормирования в практических условиях выявлены как положительные ее стороны, так и определенные недостатки, требующие дальнейшего совершенствования. Несомненным преимуществом детализированных норм кормления является то, что в отличие от прежних они предусматривают четкое разграничение энергетической питательности кормов по видам животных. Это в итоге обеспечивает более рациональное их использование. Нормирование питания по детализированным нормам позволяет более полно удовлетворять все потребности животного как на физиологические отправления, так и на образование продукции. При этом учитывается уровень потребности животного по всему комплексу органических веществ, макро- и микроэлементов и витаминов. Эффективность детализированных норм доказана широкой производственной проверкой и подтверждена практикой кормления высокопродуктивного скота во многих хозяйствах.

Вместе с тем появилась необходимость уточнения отдельных параметров потребности в связи с новыми экспериментальными данными, полученными в последние годы. Особенно это относится к

нормированию энергетического и протеинового питания крупного рогатого скота и прежде всего — лактирующих коров. Так, совершенно очевидна необходимость нормирования энергии с учетом концентрации в сухом веществе рациона, а протеина — в зависимости от его доступности (растворимости, расщепляемости, доступности для обменных процессов) в рубце.

Как показали исследования, контроль нормирования питания по этим показателям должен осуществляться с учетом месяца лактации, изменения как продуктивности, так и живой массы и физиологического состояния коров. Следует контролировать нормы питания также в зависимости от периода беременности. В наших исследованиях и в исследованиях других авторов показано, что изменения в потребности коров в зависимости от периода беременности могут быть достаточно значительными, особенно в последнюю треть.

Одним из важнейших показателей нормирования питания является установление оптимального уровня в рационе сухого вещества, так как от этого зависит обеспеченность потребности в энергии и питательных веществах. Известно, что физиологические возможности животного в потреблении сухого вещества ограничены и зависят прежде всего от живой массы, физиологического состояния, качественных характеристик корма (структуры, физического состояния, переваримости органических веществ, вкусовых качеств корма) и некоторых других факторов.

В английской системе (ARC) потребность коров в сухом веществе определяют по формуле:

$$ПСВ = 0,025 ЖМ + 0,1 Суд,$$

где ПСВ — потребность в сухом веществе, кг, ЖМ — живая масса, кг, Суд — суточный удой, кг.

В детализированных нормах потребность в сухом веществе также устанавливается исходя из этих показателей. Так, для лактирующих коров на каждые 100 кг живой массы рекомендуется 2,5–3,0 кг сухого вещества. Такой подход к нормированию сухого вещества без учета концентрации в нем энергии и питательных веществ нельзя признать обоснованным.

На основании проведенных исследований и обобщения научных данных нами разработано следующее уравнение регрессии, которое позволяет в условиях производства быстро рассчитать ПСВ лактирующей коровы:

$$ПСВ = 15 + 0,54 Суд - 1,43 КОЭ + 0,011 ЖМ,$$

где КОЭ — концентрация обменной энергии (ОЭ) в сухом веществе (СВ) рациона, МДж. В данном случае учитывается не только живая масса и удой, но и КОЭ в СВ рациона, что позволяет более объективно судить о фактической потребности коров в сухом веществе (табл. 1).

Таблица 1

Потребность лактирующих коров в СВ в зависимости от уровня продуктивности, живой массы и КОЭ в рационе

КОЭ в 1 кг СВ рациона, МДж	Живая масса, кг					
	500			600		
	Суточный удой, кг					
	10	20	30	10	20	30
8,00	14,40	—	—	15,60	—	—
8,50	13,80	—	—	14,80	—	—
9,00	13,00	18,40	—	14,10	19,50	—
9,50	12,30	17,70	—	13,40	18,80	—
10,00	11,60	17,00	22,40	12,70	18,10	23,50
10,50	—	16,30	21,70	—	17,40	22,80

11,00	—	15,60	21,00	—	16,70	22,10
11,50	—	14,90	20,30	—	15,90	21,40
12,00	—	14,20	19,50	—	15,30	20,60

Так, для коровы с ЖМ 500 кг и суточным удоем 20 кг ПСВ составит: при КОЭ в СВ рациона 9 МДж — 18,4 кг, 10 МДж — 17 и 11 МДж — 15,6 кг. ПСВ зависит от потребления СВ объемистых (травяных) кормов (ПСВо.к.).

На основании обобщения экспериментальных данных и собственных исследований нами разработано следующее уравнение регрессии, позволяющее прогнозировать ПСВо.к. в расчете на 100 кг ЖМ:

$$\text{ПСВо.к.} = 0,395 \text{ КОЭо.к.} - 0,033 \text{ Суд} - 1,66,$$

где КОЭо.к. — концентрация ОЭ в сухом веществе объемистого корма.

Прогнозирование возможного потребления сухого вещества объемистых (травяных) кормов имеет большое практическое значение, так как это позволяет более рационально использовать концентрированные корма. Требуемое количество концентратов (ПК) может быть рассчитано по следующей формуле:

$$\text{ПК} = (\text{ПОЭ} - \text{ПСВо.к.} \times \text{КОЭо.к.}) / \text{КОЭконц}$$

Таблица 2

Вероятное потребление СВ объемистых кормов в зависимости от КОЭ в них и уровня продуктивности, в расчете на 100 кг ЖМ

КОЭ в 1 кг СВ о.к., МДж	Потребность СВ при удое коров, кг/100 кг ЖМ				
	10	15	20	25	30
8,00	1,20	1,00	0,90	до 0,80	до 0,60
8,50	1,40	1,20	1,00	0,90	0,70
9,00	1,60	1,40	1,20	1,10	0,90
9,50	1,80	1,60	1,40	1,30	1,10
10,00	2,00	1,80	1,60	1,50	1,30
10,50	2,20	2,00	1,80	1,70	1,50
11,00	2,40	2,20	2,00	1,90	1,70

где ПОЭ — потребность в ОЭ, МДж, КОЭконц. — концентрация ОЭ в сухом веществе концентратов. Потребность в сухом веществе сухостойных коров (ПСВсух) можно определить по следующей формуле:

$$\text{ПСВсух} = (0,1 \text{ ЖМ} + 0,0125 \text{ Пл.уд} + 0,03 \text{ Т}) / \text{КОЭрац},$$

где Пл.уд. — планируемый годовой удой, кг.

Для коровы с ЖМ 500 кг Пл.уд. 5000 кг на 200 дн. стельности ПСВсух. составит: при КОЭрац. 9 МДж — 13,2 кг, 10 МДж — 11,9, 10,5–11,3 кг.

В прямой зависимости от ПСВ находится удовлетворение потребности животных в обменной энергии (ПОЭ). Как известно, суммарная потребность коров в ОЭ включает потребности на поддержание, беременность и продукцию:

$$\text{ПОЭ} = \text{ОЭпод} + \text{ОЭ бер} + \text{ОЭ прод},$$

где ОЭпод — ОЭ поддержания, МДж, ОЭбер — ОЭ беременности, МДж, ОЭпрод — ОЭ продукции, МДж.

Все эти факторы, определяющие суммарную потребность в ОЭ, нельзя рассматривать изолированно друг от друга, поскольку в процессе обмена веществ они тесно взаимосвязаны. Поэтому при разработке зоотехнических норм необходимо проведение специальных опытов по кормлению животных. Вместе с тем в производственных

условиях часто не представляется возможности соблюсти все оптимальные условия, диктуемые нормой. В этих условиях специалист должен иметь возможность установить потребность животного в конкретных условиях кормления и содержания. В данном случае факториальный метод, т.е. установление потребности на поддержание, беременность и продуктивность, вполне допустим.

Обобщив результаты мирового опыта и данные собственных исследований нами разработана следующая система определения потребности лактирующих коров в питательных веществах факториальным методом.

Потребность ОЭ на поддержание определяется исходя из потребности в чистой энергии (ЧЭпод). ЧЭпод с учетом резервной надбавки составляет в среднем по результатам исследований около 0,36 МДж на 1 кг обменной массы животного (0,36 ЖМ^{0,75}). Потребность же в ОЭпод зависит от эффективности ее использования Коэффициент использования ОЭ на поддержание в зависимости от КОЭ в рационе (от 8 до 12 МДж) составляет 0,68–0,74 или в среднем 0,72 и может быть определен по следующему уравнению регрессии (ARC, 1977):

$$K_{\text{под}} = 0,55 + 0,016 \text{ КОЭ}$$

Исходя из этого:

$$\text{ОЭпод} = \text{ЧЭпод}/0,72 \text{ или } \text{ОЭпод} = 0,5 \text{ ЖМ}^{0,75}.$$

Это соответствует уравнению регрессии, полученному в наших исследованиях:

$$\text{ОЭпод} = 9,8 + 0,083 \text{ ЖМ} \text{ или } \text{ОЭпод} = 8,3 + 0,091 \text{ ЖМ} \text{ по данным ARC (1977).}$$

В практических условиях наиболее удобно определять потребность ОЭпод по данным табл. 3.

Таблица 3

**Потребность коров в обменной энергии на поддержание
(ОЭпод = 9,8 + 0,083 ЖМ)**

ЖМ, кг	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
300	36,04	36,94	37,83	38,71	39,59	40,46	41,32	42,18	43,03	43,88
400	44,72	45,56	46,39	47,21	48,04	48,85	49,66	50,47	51,27	52,07
500	52,87	53,66	54,45	55,23	56,01	56,79	57,56	58,33	59,09	59,86
600	60,62	61,37	62,12	62,87	63,62	64,37	65,11	65,85	66,58	67,31
700	68,84	68,77	69,50	70,22	70,94	71,66	72,37	73,09	73,80	74,51

В американской системе NRC применяется следующая формула для определения ЧЭпод в период лактации (NELM, Мкал), учитывающая возраст коровы в лактациях:

$$\text{По 1-й лактации ЧЭ} = 1,2 (0,080 \text{ ЖМ}^{0,75})$$

$$\text{По 2-й лактации ЧЭ} = 1,1 (0,080 \text{ ЖМ}^{0,75})$$

$$\text{По 3-й лактации ЧЭ} = 0,080 \text{ ЖМ}^{0,75}.$$

Потребность ОЭ на беременность стельных лактирующих коров определяется в большинстве случаев по формуле, предложенной в английской системе ARC: ОЭбер = 1,08 e^{0,0106 T}, где e — основание натурального логарифма (e = 2,718), T — дни стельности. В системе NRC ОЭбер определяется по формуле:

$$\text{ОЭбер} = 0,040 \text{ ЖМ}^{0,75} \text{ (Мкал).}$$

Материалы наших исследований позволили разработать более простую формулу для оценки ОЭбер:

$$\text{ОЭбер} = 1 + 0,00028 T^2.$$

В практических условиях для определения ОЭ бер рекомендуем использовать данные таблицы 4.

Таблица 4

**Потребность коров в ОЭ бер в зависимости от периода стельности
(ОЭ бер = 1 + 0,00028 T²)**

Т-дней стельности	ОЭ, МДж	Т-дней стельности	ОЭ, МДж	Т-дней стельности	ОЭ, МДж
10	1,03	110	4,39	210	13,35
20	1,11	120	5,03	220	14,55
30	1,25	130	5,73	230	15,81
40	1,45	140	6,49	240	17,13
50	1,70	150	7,30	250	18,50
60	2,01	160	8,17	260	19,93
70	2,37	170	9,08	270	21,41
80	2,79	180	10,07	280	22,95
90	3,27	190	11,11		
100	3,80	200	12,20		

Потребность в ОЭ на продукцию определяется также на основе чистой энергии (ЧЭмолока) по формуле:

$$\text{ОЭпрод} = \text{ЧЭмол} / \text{КПИ},$$

где ЧЭмол — чистая энергия 1 кг молока, МДж; КПИ — коэффициент продуктивного использования ОЭ (КПИ = 0,057 КОЭ).

Чистая энергия молока изменяется в зависимости от содержания в нем жира, белка и лактозы и определяется по формуле:

$$\text{ЧЭмол} = 0,8 + 0,6 \times \% \text{ жира}$$

или по уравнению:

$$\text{ЧЭмол} = 0,4 \times \% \text{ жира} + 0,2 \times \% \text{ СОМО} - 0,24.$$

В 1 кг молока 4%-ной жирности содержится около 3,2 МДж ЧЭ. В зависимости от содержания жира в молоке количество ОЭ изменяется следующим образом (табл. 5).

КПИ зависит от концентрации ОЭ (КОЭ) в сухом веществе. В зависимости от уровня продуктивности и КОЭ в рационе КПИ варьирует от 0,66 до 0,51 и определяется по формуле:

$$\text{КПИ} = 0,057 \text{ КОЭ}.$$

Таблица 5

Зависимость количества ОЭ от содержания жира в молоке

% жира в молоке	МДж/кг молока	% жира в молоке	МДж/кг молока
2,80	2,48	3,90	3,14
2,90	2,54	4,00	3,20
3,00	2,60	4,10	3,26
3,10	2,66	4,20	3,32
3,20	2,72	4,30	3,38
3,30	2,78	4,40	3,44
3,40	2,84	4,50	3,50
3,50	2,90	4,60	3,56
3,60	2,96	4,70	3,62
3,70	3,02	4,80	3,68
3,80	3,08	4,90	3,74
		5,00	3,80

При оптимальной КОЭ в сухом веществе рациона, установленной в наших исследованиях (при удое 28–32 кг — 11 МДж; 23–27 кг — 10,5; 18–22 — 10; 13–17–9,5; 8–12 кг — 9 и до 8 кг — 8,5 МДж), потребность коров в ОЭ на продукцию будет соответствовать показателям, приведенным в табл. 6.

Суммарная потребность в ОЭ (ПОЭ) лактирующей стельной коровы может быть определена исходя из формулы:

$$\text{ПОЭ} = \text{ОЭпод} + \text{ОЭбер} + \text{ОЭпрод.}$$

Пример: Потребность в ОЭпрод лактирующей коровы живой массой 500 кг, суточный удой 20 кг молока 4%-ной жирности, 100 дней стельности, КОЭрац 10 МДж, КПИ = 0,57.

Таблица 6

**Потребность коров в ОЭ на продукцию молока 4%-ной жирности
(ОЭпрод = ЧЭмол/КПИ)**

КОЭ в СВ рациона, МДж	Удой, кг	ОЭпрод., МДж	КОЭ в СВ рациона, МДж	Удой, кг	ОЭпрод., МДж
8,5	8	52,84	10,3	26	141,71
8,6	9	58,75	10,4	27	145,75
8,7	10	64,53	10,5	28	149,71
8,8	11	70,18	10,6	29	153,59
8,9	12	75,69	10,7	30	157,40
9,0	13	81,09	10,8	31	161,14
9,1	14	86,37	10,9	32	164,82
9,2	15	91,53	11,0	33	168,42
9,3	16	96,59	11,1	34	171,96
9,4	17	101,53	11,2	35	175,44
9,5	18	106,37	11,3	36	178,85
9,6	19	111,11	11,4	37	182,21
9,7	20	115,75	11,5	38	185,51
9,8	21	120,30	11,6	39	188,75
9,9	22	124,76	11,7	40	191,93
10,0	23	129,12	11,8	41	195,06
10,1	24	133,40	11,9	42	198,14
10,2	25	137,60	12,0	43	201,17

Расчет:

1) ОЭпод = $\text{ЖМ}^{0,75} * 0,5 = 500^{0,75} * 0,5 = 52,50$ МДж

2) ОЭбер = $1,08 e^{0,0106 * 100,0} = 4,0$ МДж

3) ОЭпрод = ЧЭмол * Суд/КПИ = $((0,8 + 0,6 * 4,00) 20,0) / 0,57 = 112,28$ МДж
 ПОЭ = ОЭпод + ОЭбер + ОЭпрод = $52,5 + 4,0 + 112,28 = 168,78$ МДж

Потребность в ОЭ для сухостойных коров (ПОЭсух) определяется по следующей формуле:

$$\text{ПОсух} = \text{ОЭпод} + \text{ОЭбер} + 0,0135 \text{ Пл.уд.} - 14,7,$$

где Пл.уд. — плановый годовой удой, кг.

Пример:

Живая масса коровы 600 кг, плановый удой — 6000 кг, 245 дней стельности:

$$\text{ПОсух} = 600^{0,75} * 0,5 + 1,08 * 2,718^{0,0106} * 245 + ((0,0135 * 6000) - 14,7) = 141,41 \text{ МДж.}$$

В общем виде система нормирования сухого вещества и обменной энергии для лактирующих и сухостойных коров определяется следующими уравнениями:

Лактирующие коровы

- 1) ПСВ = 15 + 0,54 Сут.удой – 1,43 КОЭ + 0,011 ЖМ
- 2) ОЭпод = 9,8 + 0,083 ЖМ
- 3) ОЭбер = 1 + 0,00028 Т²
- 4) ОЭпрод = ЧЭмол * Суд/КПИ

Сухостойные коровы

- 1) ПСВсух = (0,1 ЖМ + 0,0125 Пл.уд. + 0,03 Т)/КОЭрац
- 2) ОЭсух = ОЭпод = 9,8 + 0,083 ЖМ + 1 + 0,00028 Т² + 0,0135 У – 14,7

Таким образом, данная система оценки потребности лактирующих и сухостойных коров в сухом веществе и ОЭ может применяться в практических условиях всех форм хозяйств.

Важным условием применения предлагаемой системы нормирования энергетического питания животных в условиях производства является доступность метода определения ОЭ. Существующие методы определения ОЭ (в респирационных камерах на животных, в балансовых опытах, по уравнениям регрессии на основе переваримых питательных веществ) достаточно трудоемки и дорогостоящи. В связи с этим рядом НИУ предложены косвенные методы на основе химического состава и уравнений регрессии.

По материалам наших исследований разработаны уравнения регрессии, позволяющие с достаточно высокой точностью определять содержание ОЭ в кормах по данным химического состава. На основе линейной регрессии для жвачных животных разработаны следующие уравнения для расчета ОЭ в объемистых кормах по содержанию в них клетчатки:

сено, сенаж: ОЭ = 10,6 – 0,072 СК
солома: ОЭ = 7,97 – 0,0373 СК
силос: ОЭ = 9,61 – 0,0236 СК
корнеклубнеплоды: ОЭ = 13,78 – 0,154 СК
зеленые корма: ОЭ = 10,8 – 0,024 СК,
где СК — сырая клетчатка в сухом веществе, %.

Разработаны также уравнения множественной регрессии для расчета ОЭ с учетом содержания в корме всех органических веществ по видам животных:

Крупный рогатый скот

сено, сенаж, травяная мука и резка:
ОЭ=10,678+0,088 СП–0,332 СЖ–0,075 СК+0,006 БЭВ
солома: ОЭ=13,126–0,24 СП+1,707 СЖ–0,006 СК–0,198 БЭВ
силос: ОЭ=10,365+0,026 СП+0,275 СЖ–0,176 СК+0,047 БЭВ
корнеплоды: ОЭ=1,65+0,96 СЖ+1,12 СК+0,594 БЭВ –55,266
з/корма: ОЭ=3,761–0,049 СП+1,472 СЖ–0,088 СК+0,078 БЭВ
зерно зл. и боб.:
ОЭ=16,45–0,062 СП+0,16 СЖ–0,145 СК–0,026 БЭВ
жмыхи, шроты, дрожжи:
ОЭ=2,795+0,111 СП+0,16 СЖ–0,031 СК+0,149 БЭВ

Свиньи

силос, сенаж:
ОЭ=31,949+0,179 СП+1,099 СЖ–0,151 СК–0,616 БЭВ
сено, травяная мука:
ОЭ=0,298 СП–0,652 СЖ+0,015 СК+0,204 БЭВ–4,113
з/корма: ОЭ=178,904–2,389 СП+0,416 СЖ–2,052 СК–1,709 БЭВ
зерно зл. и боб.:
ОЭ=56,448+0,831 СП+0,967 СЖ+0,466 СК+0,204 БЭВ
жмыхи, шроты, дрожжи:

$OЭ=20,11-0,061 СП-0,419 СЖ-0,297 СК+0,155 БЭВ$

Овцы

сено, силос, сенаж, з/корма

$OЭ=14,25-0,055СП+0,124 СЖ-0,13 СК-0,024 БЭВ$

зерно зл. и боб.:

$OЭ=17,6-0,056 СП+0,122 СЖ-0,132 СК+0,024 БЭВ,$

где ОЭ — обменная энергия, МДж в 1 кг СВ; СП, СЖ, СК, БЭВ — сырой протеин, сырой жир, сырая клетчатка, безазотистые экстрактивные вещества, % в СВ. На основе полученных уравнений регрессии разработана компьютерная программа для расчета содержания ОЭ в кормах по видам животных, которая позволяет значительно упростить задачу расчета содержания в кормах или в рационах валовой, переваримой и обменной энергии, а также для перевода ОЭ в кормовые единицы и наоборот.

Зоотехническое и физиологическое обоснование эффективности использования протеина жвачными животными в связи с его качеством

А.И.Фицев

*Всероссийский НИИ кормов им. В.Р.Вильямса,
Луговая, Московской обл., Россия*

В организации полноценного кормления животных, в том числе жвачных, одной из нерешенных проблем остается обеспеченность их протеином. Несмотря на неослабевающее внимание к этой проблеме, в течение 20 лет дефицит протеина в кормовом балансе страны не снижается. Многие годы причиной этому был опережающий по сравнению с кормовой базой рост поголовья скота, а также несоблюдение технологических требований при выращивании и заготовке кормов, особенно объемистых.

Наряду с указанными причинами следует отметить недостаточное использование в практике кормления достижений науки по вопросам протеинового питания животных, суть которых сводится к обеспеченности их определенным количеством аминокислот. На этой основе наукой разработаны эффективные способы рационального использования белковых кормов, в том числе животного происхождения.

Большой практический интерес представляют новые подходы в нормировании протеина для жвачных животных. Многочисленными исследованиями показано, что жвачные животные также как свиньи и птица нуждаются в необходимом количестве аминокислот, определяющих их потребность в протеине. При нормировании протеинового питания жвачных по сырому и переваримому протеину предполагалось, что количество всосавшихся аминокислот составляет постоянную относительную величину независимо от качества скармливаемого протеина. Исследования последних лет показали однако, что та часть протеина корма, которая попадает в кишечник избежав расщепления в рубце, непостоянна и оказывает существенное влияние на общую протеиновую обеспеченность животных, особенно высокопродуктивных. Непостоянным также является размер синтеза микробного белка, который представляет собой основной источник аминокислот, поступающих в тонкий кишечник. В связи с вышеизложенным, потребность в протеине жвачных в настоящее время рассматривается как потребность микроорганизмов рубца в доступном (растворимом и расщепляемом) азоте, а самого животного — в

аминокислотах, поступающих в организм из кишечника за счет микробного белка и нерасщепленного протеина корма.

Принципиально новый подход к протеиновому питанию жвачных предполагает разработку системы оценки качества протеина кормов и рационов, основными показателями которой являются содержание сырого протеина в кормах, его растворимость, расщепляемость, а также аминокислотный состав микробного и нерасщепленного в рубце протеина корма.

Начиная с 1975 года во ВНИИ кормов им. В.Р.Вильямса проводились исследования по совершенствованию системы оценки качества протеина для жвачных животных, а также зоотехническое и физиологическое обоснование приемов повышения эффективности использования протеина при кормлении овец, молодняка крупного рогатого скота и высокопродуктивных лактирующих коров.

В результате проведенных исследований было показано, что интенсификация кормопроизводства, характеризуемая применением высоких доз минеральных удобрений, особенно азотных, внедрением прогрессивных технологий заготовки кормов существенным образом влияет на качество корма, в том числе протеина, а также на его использование животными. Установлено, что эффективность кормления существенно зависит от качественных характеристик протеина рациона, уровня микробиального синтеза, существенным образом влияющего на выход доступного для синтеза продукции протеина. Обобщение полученного в экспериментах материала позволило выявить ряд закономерностей. Всего было проанализировано 19 рационов овец, 12 — молодняка крупного рогатого скота и 11 — лактирующих коров ($n=42$).

Прежде всего представляет интерес зависимость и размеры микробиального синтеза, обеспечивающего основную долю доступных аминокислот, от качественных характеристик рациона (табл. 1). В наших исследованиях процент микробиального азота в протеине химуса в среднем составлял $49,50 \pm 14,0$. У коров и молодняка этот параметр был выше, чем у овец и равен $62,24 \pm 14,35$ и $52,04 \pm 14,95$ соответственно против $37,05 \pm 12,07$. Указанный показатель коррелировал на уровне умеренной тесноты связи ($r=0,43$) с содержанием в рационе легкоферментируемых углеводов (сахар+крахмал) и с отношением их к клетчатке ($r=0,56$). Выход микробиального белка на 100 г переваримого органического вещества отрицательно коррелировал с растворимостью на уровне выше умеренной тесноты связи ($r=-0,62$) и в меньшей степени — с расщепляемостью протеина ($r=-0,32$). Средний выход микробиального белка по общей выборке составил $11,84 \pm 3,43$ г, в том числе по коровам — $12,79 \pm 0,94$ г, по бычкам — $10,30 \pm 3,01$ Г. Количество белка, синтезируемого на 100 г ферментируемого в рубце органического вещества, отрицательно коррелировало с растворимостью и расщепляемостью протеина рациона при $r= -0,59$ и $-0,57$ соответственно.

Выход микробиального белка в расчете на 100 г сырого протеина находился в довольно тесной корреляционной зависимости со многими характеристиками рациона. Отрицательная взаимосвязь этого показателя наблюдалась с общим уровнем протеина рациона ($r= -0,32$), его растворимостью ($r= -0,59$) и расщепляемостью ($r= -0,38$). Количество сахара, приходящееся на единицу растворимого протеина, тесно коррелировало с выходом микробного белка в расчете на 100 г протеина рациона ($r=0,69$). Этот показатель в большей степени отражает указанную зависимость, чем сахаро-протеиновое отношение (отношение сахара к переваримому протеину). Переваримость протеина отрицательно коррелировала ($r= -0,41$) с синтезом микробиального белка, что свидетельствует о переваримости протеина у жвачных как показателе, в значительной степени характеризующем

исчезновение азота из пищеварительного тракта, а не о его усвоении, причем эта взаимосвязь преобладает по мере роста содержания протеина в рационе ($r = -0,32$). Статистически достоверная связь обнаружена между наличием в рационе легкоферментируемых углеводов (ЛФУ) и общим уровнем сырого протеина и его качественными характеристиками.

В таблице 2 приведены данные, характеризующие взаимосвязь выхода доступного для усвоения протеина (всосавшегося в кишечнике) и степени использования сырого протеина с некоторыми характеристиками рациона и микробиальным синтезом. Установлена довольно тесная корреляционная связь использования принятого протеина с процентной долей микробиального белка в химусе ($r = 0,71$). Она выражается уравнением регрессии: $y = -17,317 + 0,640 x$, где y — использование принятого азота, %; x — доля микробиального белка в протеине химуса, %. Поскольку использование азота (протеина) в процентах от принятого существенно зависит от величины микробиального синтеза, наблюдается умеренно тесная корреляция первого показателя с наличием в рационе доступной энергии в виде сахара и крахмала ($r = 0,47$), отношением этих углеводов к клетчатке ($r = 0,65$) и выходом микробиального белка в расчете на 1 МДж обменной энергии ($r = 0,52$).

Процентная доля всосавшегося в кишечнике (доступного) протеина находилась в достоверной отрицательной взаимосвязи с растворимостью протеина ($r = -0,61$), но положительно коррелировала с количеством сахара, а также легкоферментируемых углеводов (сахар+крахмал), приходящихся на единицу растворимого протеина при $r = 0,69$ и $0,61$ соответственно. Обращает на себя внимание тот факт, что отношение сахара к сырому протеину, в сравнении с переваримым, в большей степени коррелировало с выходом доступного протеина ($r = 0,43$).

Эффективность использования протеина на продуктивные цели в высокой степени коррелировала с наличием в рационе сахара, а еще выше — с содержанием суммы легкоферментируемых углеводов. Особенно высокие коэффициенты корреляции обнаружены при анализе взаимосвязи эффективности использования обменного протеина и легкоферментируемых углеводов. Можно заключить, что наличие сахара и крахмала в изучаемых рационах являлось лимитирующим фактором роста микробиального белка, от выхода которого зависит количество доступного для усвоения протеина и эффективность использования не только обменного, но также сырого и переваримого протеина.

Наблюдалась почти прямолинейная тесная зависимость эффективности использования сырого, переваримого и обменного протеина от отношения легкогидролизуемых углеводов к клетчатке при $r = 0,89$, $0,86$ и $0,90$ соответственно (табл. 3). Высокие коэффициенты корреляции для указанной зависимости свидетельствуют о необходимости контроля данного соотношения при составлении рационов.

Эффективность использования протеина тесно коррелировала с количеством азота, выделенного с мочой (в % от принятого). Коэффициенты корреляции сырого, переваримого и обменного протеина, использованных на продукцию, с выделенным азотом мочи были равны $0,86$; $0,87$ и $0,83$ соответственно. Этот странный на первый взгляд факт также связан с уровнем синтетических процессов в рубце и непосредственно с составом бактериальных клеток. Согласно данным Ерскова Е.Р. (1985), Курилова Н.В. и др., а также наших исследований, в бактериях 75–85 % азота представлено белками, пептидами и свободными аминокислотами, а 15–25 % приходится на долю нуклеиновых кислот. Это свидетельствует о том, что приблизительно одна из четырех частей кормового азота, превращаясь в бактериальный

протеин, трансформируется в нуклеиновые кислоты. Большая часть азота этих кислот не усваивается организмом и экскретируется с мочой в виде аллантаина и мочевины. Размер потерь поэтому тем больше, чем выше валовый объем биосинтеза микробного белка. Коэффициент корреляции процентной доли микробного азота в азоте химуса с количеством азота мочи (процент от принятого) в наших исследованиях составил 0,63, а для использования азота в % от принятого и от переваренного — 0,93 и 0,91 соответственно. Увеличение тесноты корреляционной зависимости связано, по-видимому, не только с выходом микробного белка, но и с качественными характеристиками протеина. Эффективность использования протеина на продукцию, несмотря на потери азота с мочой в связи с синтезом белка в рубце, объясняется повышением биологической ценности всосавшейся из кишечника смеси аминокислот, обогащенной микробным белком. Так, количество аминокислот, всосавшееся из кишечника в процентах от заданного коррелировало с выделенным азотом с коэффициентом корреляции, равным 0,91, а количество аминокислот в процентах от обнаруженного в химусе — 0,98.

Таким образом, опыты, проведенные на оперированных коровах, бычках и овцах с фистулами рубца и внешними анастомозами на двенадцатиперстной кишке позволили установить ряд закономерностей, связанных с уточнением принципов организации кормления жвачных животных с учетом качественного состава кормов, в том числе с учетом обеспечения их доступными для усвоения белком и энергией. При включении в рацион протеина, более устойчивого к разрушению в рубце, обеспечивается лучшее переваривание питательных веществ корма и, в том числе — клетчатки.

Степень поступления в кишечник белка микробного происхождения является определяющим фактором эффективности использования протеина рациона. Количество доступного для переваривания (обменного) протеина зависит от возможно полной реализации микробного синтеза, с одной стороны, и от "защиты" той части расщепляемого протеина, которая не может быть использована в синтезе микробного белка, с другой. Средняя величина микробного синтеза по нашим данным составляет 7,68 г микробного белка на 1 МДж обменной энергии или 1,22 г азота расщепляемого протеина (n=42).

Эффективность новой системы оценки и нормирования протеина для жвачных показана в наших исследованиях на овцах, молодняке крупного рогатого скота и на лактирующих коровах. Основные способы подготовки кормов и балансирования рационов: подбор кормов, физические способы защиты (экструдирование, искусственная сушка, брикетирование), химическая защита (КНМК, Вихер). Подбор кормов следует считать наиболее приемлемым приемом балансирования рационов в современных условиях, так как он не требует дополнительных энергозатрат и основывается на информации по растворимости и расщепляемости протеина разных кормов. Точность его ограничивается недостатком данных об изменении соотношения между доступным азотом и энергией в рубце в определенные промежутки времени. Анализ полученных данных показал, что эффективность использования протеина возрастает, когда рацион обеспечен не только сахаром, но также и суммой ЛФУ по отношению к расщепляемому в рубце протеину. Коэффициент корреляции эффективности использования протеина (сырого, переваримого и обменного) с отношением сахара к расщепляемому протеину рациона составляет 0,47; 0,45 и 0,49, а сахара+ крахмала — 0,53; 0,52 и 0,47 соответственно.

Прежде всего при балансировании рационов путем подбора ингредиентов необходимо учитывать качество протеина основных (объемистых) кормов. Скармливание сена, сенажа, силоса,

искусственно высушенных кормов в качестве единственного объемистого корма при кормлении овец и молодняка крупного рогатого скота показало существенные различия в использовании протеина. Связаны они с изменениями в химическом составе кормов и доступностью питательных веществ, в том числе протеина, в процессе пищеварения. При скармливании искусственно высушенных кормов (резка, брикеты, гранулы) в кишечник из преджелудков поступает значительно большее количество доступного для усвоения протеина, чем при скармливании сена, сенажа и особенно силоса. Происходит это за счет более эффективного микробиального синтеза, обусловленного снижением расщепляемости протеина и сохранением в этих кормах легкоферментируемых углеводов.

На рационах, где в качестве основного корма скармливали силос, выход микробиального белка на 1 МДж обменной энергии снижался на 15–25 % и более, по сравнению со смешанными рационами, включающими сено и корма искусственной сушки. При откорме овец и молодняка крупного рогатого скота лучшие приросты живой массы были получены на кормах с меньшей растворимостью и расщепляемостью протеина. Количество сырого протеина, затраченного на 1 кг прироста массы овец на рационе, включающем брикеты из злаковых трав, было на 7,5 % меньшим, чем на сennom и на 4,1 %, чем на силосном, переваримого — на 7,6 и 27,6 %, чем на силосном, а затраты корма (обменной энергии и кормовых единиц) — на 36,2; 31,7 и 15,86; 25,4 % соответственно. Затраты сырого протеина на 1 кг прироста массы бычков были меньше на смешанном рационе (брикеты + силос) — на 9,5 %, переваримого — на 15,3 %, обменной энергии и кормовых единиц — на 11,1 и 13,4 % соответственно.

Как показали наши исследования, повышения эффективности использования протеина силосных рационов можно достичь также путем обработки объемистых кормов в период заготовки химическими консервантами (Вихер, КНМК). При кормлении коров сенажом, заготовленным в фазу трубкования и консервированным "Вихером", суточный удой 4 %-ного молока возрос на 11,4 %, а затраты сырого протеина на 1 кг молока снизились на 2,9, переваримого — на 7,3 %. Эффективность использования переваримого протеина при скармливании консервированного сенажа, заготовленного в фазу трубкования, возросла на 4,6, в фазу колошения — на 8,5, а в фазу цветения практически не изменилась.

Особенно эффективным оказалось балансирование по качеству протеина рационов высокопродуктивных коров (удой 6,5 тыс. кг молока за лактацию) в летний период, когда в траве наблюдается не только высокая расщепляемость протеина, но и избыточное его количество. Замена части травы брикетами позволила сбалансировать рацион по качественному составу фракций протеина до нормы, снизить его расщепляемость в рубце и повысить эффективность использования для отложения в организме и на продукцию. В опытной и контрольной группах получен одинаковый суточный удой, равный 21 кг. Однако в опытной группе на 1 кг 4 %-ного молока было затрачено сырого и переваримого протеина на 22,1 и 36,6 % меньше, чем в контрольной.

Балансирование рационов с учетом растворимости и расщепляемости можно достичь путем обработки консервированных кормов, особенно белковых, с помощью экструдирования, где корм подвергается баротермической обработке. Применение экструдированных добавок при кормлении овец, молодняка крупного рогатого скота и высокопродуктивных коров повышало использование азота на образование животноводческой продукции на 19,5–20,7 % у овец, на 10,8 % у коров при снижении затрат протеина на 1 кг молока на 9,04 %.

Обобщенные данные показывают, что наиболее эффективное использование протеина при кормлении высокопродуктивных коров в

новотельный период и молодняка в период выращивания достигается, когда уровень растворимого и расщепляемого протеина в рационе составляет 30–35 и 60–65 % соответственно. Это подтверждается результатами производственной проверки.

Таким образом, балансирование рационов жвачных животных с учетом качественных характеристик протеина является важным условием для получения высокой продуктивности и максимальной реализации их генетического потенциала. Согласно нашим данным

новая система оценки и нормирования протеина при производстве молока позволяет снизить затраты сырого протеина на 7–10 %, при производстве мяса — на 8–15 %. Расчеты показывают, что даже при усредненных значениях вышеприведенных параметров экономия протеина составит при производстве 100 млн.т молока 0,9 млн. т, а при производстве 10 млн. т мяса — 1,08 млн. т кормового протеина.

Сопоставление двух систем оценки протеина, скармливаемого жвачным животным

А.А.Илчев

*Высший зооветеринарный институт (Фракийский университет),
Стара Загора, Республика Болгария*

Различное использование обменной энергии у лактирующих животных и у животных, поставленных на откорм, а также неточность переваримого протеина (ПП) в качестве меры оценки протеиновой питательности кормов для жвачных вызвали необходимость в разработке в Болгарии новых систем оценки энергии и протеина при кормлении скота и овец (Тодоров, 1990, 1992). Внедрение этих систем в практику началось в 1990 г. Параллельно с ними продолжается использование старых систем оценки с использованием КЕ и ПП.

Согласно новой системе оценки протеиновая питательность кормов и потребность животных в протеине характеризуются тремя показателями: сырой протеин (СП), протеин, перевариваемый в кишечнике (ППК) и баланс протеина в рубце (БПР). По значениям ППК учитывается потенциальная протеиновая питательность отдельных кормов при оптимальном течении бродильных процессов в преджелудках животных. Показатель БПР указывает на разницу между распадом и синтезом протеина в преджелудках жвачных животных.

В 1990 г в Болгарии были разработаны новые нормы и внедрены в практику в качестве официальных при кормлении коров и буйволов (Тодоров, 1990), а в 1994 — нормы кормления овец и коз (Тодоров, 1994). В этих нормах потребность животных в энергии и протеине отражена новыми единицами.

При разработке новых систем оценки энергии и протеина и составлении норм кормления жвачных учитывались новые научные достижения в области кормления животных ряда ведущих стран мира: Франции (INRA, 1989), Англии (ARC, 1980), США (NRC, 1985), России (Калашников и сотр., 1985) и др.

Практических исследований в Болгарии в области кормления животных по новой системе оценки энергии и протеина немного. Проводить такие исследования необходимо с целью утверждения этих систем, а также для совершенствования норм кормления. Поэтому целью настоящей работы было сравнить обе системы оценки протеина при кормлении ягнят-откормочников. Опыт был проведен на трех группах баранчиков (по 15 голов в каждой) при следующей схеме кормления:

Схема опыта

Группы	Способ кормления
I	ОР* + минеральные добавки
II	ОР + КМС**, скармливаемая с концентратами
III	ОР + КМС — лизунцы

* ОР — основной рацион; ** КМС — карбамидо-минеральная смесь.

В течение 74 дней всем группам ягнят предоставляли одинаковый ОР, содержащий луговое сено и концентрированные смеси (табл. 1). С этим рационом ягнята 1-й группы получали дополнительно минеральные добавки, прибавленные к концентрированной смеси, а ягнята 2-й и 3-й групп — КМС. Животным 2-й группы скармливали КМС в рассыпном виде вместе с концентратом, который предоставляли животным двукратно, а ягнятам 3-й группы скармливали в виде лизунцев *ad libitum*.

Таблица 1

Принятое количество корма, КМС и минеральных добавок, г/сут

Суточный рацион	Группы		
	I	II	III
Луговое сено	341	339	345
Смесь концентратов*	757	760	757
КМС**	—	22	22
Минеральные добавки***	15	—	—

* Состав смеси концентратов по месяцам:

I — 50% кукурузной дерти; 34,5% ячменной дерти; 10% подсолнечного шрота; 5% люцерновой муки; 0,5% ВП.

II — 55% кукурузной дерти; 37,5% ячменной дерти; 7% подсолнечного шрота; 0,5% ВП.

III — 60% кукурузной дерти; 39,5% ячменной дерти; 0,5% ВП.

** Использовались КМС с эквивалентом протеина — 130.

*** Состав минеральных добавок, %: поваренная соль — 41, дикальций фосфат — 41, сульфат кальция — 12, сульфат магния — 5, микроэлементы — 1.

Для того, чтобы животные получали одинаковое количество карбамида и минеральных добавок, суточные дозы КМС для ягнят 2-й группы определялись в зависимости от количества лизунцев, потребляемых животными 2-й группы, причем дозы еженедельно контролировались.

Среднесуточные рационы, скармливаемые ягням во время откорма (табл. 2), обеспечивали им необходимое количество энергии (несмотря на то, какими единицами она учитывается — КЕ или КЕР) и минеральных веществ для поддержания жизни и получения высокого среднесуточного прироста. Основные различия при кормлении животных отдельных групп состояли в разной степени обеспеченности животных протеином. В зависимости от применяемой системы (ПП или ППК) балансирование рационов разное. Когда питательность протеина исчисляется по ПП, то в корме животных 1-й группы недостаток протеина составлял приблизительно 29%. Если рацион оценивается по новой системе, то оказывается, что ППК приблизительно на 14% больше, чем это необходимо для откорма ягнят. На первый взгляд существует большая разница между двумя системами оценки протеина. Это в большой степени является результатом включения в новую систему оценки показателя распадаемости протеина (РП) в рубце. Для того, чтобы дать характеристику действительной протеиновой питательности рационов, содержащих корма низкой степени РП, необходимо использовать и показатель БПР.

Таблица 2

Нормы кормления ягнят и питательность суточного рациона

Показатели	СВ, кг	КЕ	КЕР	ПП, г	ППК, г	БПР, г	Са, г	Р, г	Соль, г
Нормы кормления*									
	0,97	0,97	1,20	112	87	—	4,8	3,3	4,9
Питательная стоимость рационов (по группам)									
I	0,96	1,09	1,25	80,1	99,1	-30	4,7	4,3	6,0
II	0,98	1,09	1,25	108,9	99,4	-30	5,2	4,3	5,6
III	0,98	1,09	1,25	108,5	99,2	-30	5,2	4,4	5,5

* Средние нормы откорма ягнят, имеющих живую массу от 15 до 40 кг по Алексиеву А и др., 1984 и Тодорову Н., 1994.

По вычислениям, сделанным нами, чтобы сбалансировать рацион животных 1-й группы по старой системе, необходимо компенсировать недостаток ПП в 32 г включением 16 г карбамида ($112 - 80 = 32/2 = 16$) или полностью изменить состав рациона, включая естественные белковые корма. В системе, однако, не указано, какой из двух вариантов более целесообразный и какой эффект продуктивности можно ожидать при полной сбалансированности рациона по ПП.

Новая система оценки протеина и нормы кормления жвачных, принятые в Болгарии, дают возможность точно определить необходимое количество протеина как для поддержания жизни, так и для обеспечения определенного прироста. В нашем конкретном случае для поддержания жизни ягнят необходимо 30 г ППК ($2,5 \text{ г/ЖМ}^{0,75}$). Остальное количество ППК пойдет на образование массы тела (ожидаемый среднесуточный прирост — около 270 г).

По данным, приведенным в табл. 3, у животных 1-й группы суточный прирост составлял 253 г, т.е. значительно ниже теоретически вычисленного значения. Разница появляется в результате того, что в системе оценки протеина не используется показатель БПР. Когда значения этого показателя отрицательны (как в данном случае), в рацион необходимо включить некоторое количество карбамида или другого NPN. Точное количество карбамида можно определить, разделив значение БПР (-30) на его протеиновый эквивалент (2, 3). Следовательно, чтобы сбалансировать корм животных по протеину, необходимо включить в рацион 13 г карбамида ($30:2,3 = 13$).

Таблица 3

Данные по росту ягнят

Показатели	Группы		
	I	II	III
Живая масса в начале опыта, кг	17,3±0,32	17,5±0,26	17,5±0,19
Живая масса в конце опыта, кг	36,0±0,81	37,3±1,06	38,9±1,29
Привес за период опыта, кг	18,7±0,53	19,8±0,81	21,4±0,84
Среднесуточный прирост:			
кг	0,253±0,01	0,268±0,01	0,289±0,01
%	100,0	105,9	114,2

Приблизительно таково (около 12 г) было и количество карбамида, принятого животными 2-й и 3-й групп за счет включения КМС в их рацион. Таким образом, корм ягнят этих групп обеспечен достаточным количеством небелкового азота, необходимого для оптимизации микробального синтеза в их преджелудках. Это, по всей вероятности, способствует получению значительно большего среднесуточного прироста в этих группах (разница в приростах 1-й и 3-й групп статистически доказана при $P < 0,05$).

В то же время существовали различия в приростах животных 2-й и 3-й групп, получавших вполне одинаковые рационы. У ягнят 2-й группы среднесуточный прирост составлял 268 г (ожидаемый прирост 270 г), в то время как у ягнят 3-й группы — 289 г. Эту разницу в приростах можно объяснить различным способом скармливания карбамида. В ряде исследований (Алексиев, 1975; Илчев, 1989 и др) доказано, что использование КМС в виде лизунцев, скармливаемых *ad libitum*, обеспечивает лучшее усвоение небелкового азота, чем при скармливании NPN вместе с концентрированным кормом.

Таким образом, новая система оценки протеина, принятая в Болгарии, и нормы кормления жвачных, базирующиеся на ней, с успехом можно применять при откорме ягнят. Их преимущества состоят в более точной сбалансированности рационов жвачных по протеину, возможности сравнительно точно предсказать эффект продуктивности и возможности вычислить количество NPN, необходимого для удовлетворения потребностей микроорганизмов преджелудков в азоте. Недостатком системы является в основном обстоятельство, что она не учитывает влияния способа скармливания NPN на степень усвоения небелкового азота микроорганизмами.

Литература

1. Алексиев А.Д. Диссертация, София, 1975:275.
2. Алексиев А.Д., Стоянов В.И. Нормы за хранене на селскостопанските животни и таблици за хранителната стойност на фуражите. С.:Земиздат,1984: 302.
3. Дарджонов Т. Към създаване на официално приети норми за овце. Селскостопанска наука, 26(6), 1990: 37-49.
4. Илчев А.А. Диссертация, Стара Загора, 1989: 125.
5. Калашников А.П., Клейменов Н.И. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных. М.: Агропромиздат, 1985: 350.
6. Тодоров Н.А. Нормы за хранене на говеда и биволи. С.: Земиздат, 1994: 150.
7. Тодоров Н.А. Нормы за хранене на овце и кози, 1994. (под печат)
8. ARC The Nutrient Requirements of Ruminant Livestock. Commonwealth Agricultural Bureaux, UK, 1980: 351.
9. Jarrige R. (ed) Ruminant Nutrition. Recommended allowances and feed tabbled. INRA, Paris and John Libbey Entotext, London-Paris, 1989: 389.
10. NRC. Nutrient Requirement of Sheep 6th Ed. National Research Council National Academy Press, Washington, DC, 1985: 99.

Нормирование энергии у жвачных животных по принципу субстратной обеспеченности метаболизма

В.И.Агафонов

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания
сельскохозяйственных животных,
Боровск, Россия*

По вопросам питания жвачных животных в последние годы проведен ряд фундаментальных исследований. Разработаны системы протеинового и углеводного питания жвачных и, в целом, новые варианты нормированного кормления животных (5, 6, 8–10). В качестве примера можно привести систему нетто-углеводов и протеина, разработанную в Корнелле, США (10). В рамках нетто-энергии в эту разработку вошли все накопленные знания по обмену углеводов и протеина у жвачных на основе учета распадаемости протеина корма в преджелудках и новой классификации структурных и неструктурных углеводов, в том числе оценка структурных углеводов по признакам экстрагируемости детергентами (10). Благодаря фундаментальным исследованиям (6) накоплены данные, позволяющие проследить судьбу основных метаболитов начиная от поступления питательных веществ с

кормом, их трансформации в пищеварительном тракте, поступление в кровь, обмен в органах и тканях, преобразование в компоненты продукции. Изучаются количественные потоки метаболитов в крови, в печени, в молочной железе (6, 8, 9).

В скандинавских странах проводятся исследования по пересмотру принципов оценки питательности кормов, в частности, по возможному переходу от принципов энергетической оценки корма к оценке по комплексу субстратов, образующихся в желудочно-кишечном тракте из питательных веществ корма (8). Однако при этом возникает необходимость в определении потребности животных в каждом субстрате и в разработке способов оптимизации их соотношения на уровне желудочно-кишечного тракта, в органах и тканях.

Субстратная оценка кормов и рационов не является самоцелью, необходимо знание механизмов, обеспечивающих питание на тканевом и клеточном уровне. В последние годы в нашем институте проводятся исследования по совершенствованию системы питания жвачных животных на основе оценки субстратной обеспеченности метаболизма (1). Сущность данной концепции заключается в возможности оценки и регуляции обменных процессов с целью достижения оптимального уровня субстратов в органах и тканях, специфичных для каждой функции и биосинтеза компонентов продукции (2–4).

Предполагается, что существующая система оценки и нормирования питания, основанная на принципах обменной энергии, будет дополнена оценкой обменных процессов, протекающих в желудочно-кишечном тракте и в тканях, начиная с трансформации питательных веществ корма в доступные для усвоения субстраты, их преобразования в стенке кишечника, печени, молочной железе, в мышечной и жировой ткани. Концепция субстратной обеспеченности метаболизма исходит из предпосылок современного этапа развития физиологических и биохимических исследований по определению потребности животных в энергии и основных питательных веществах, а также в отдельных ключевых субстратах и метаболитах, лимитирующих синтез компонентов продукции. Особую значимость здесь представляет изучение механизмов формирования и оптимизации фондов субстратов, распределения потоков метаболитов в основных биохимических циклах, регуляции эффективности их использования, регуляторной роли субстратов в клетках в отношении реакций, связанных с окислительными процессами и биосинтезом. Известно, что скорость ферментативной реакции связана с концентрацией субстрата до момента достижения стационарного состояния реакционной системы (2–4). Поэтому скорость поступления субстрата в клетку является основным механизмом субстратной регуляции обменных процессов.

Новая система оценки и нормирования питания разрабатывается в рамках представлений об обменной энергии, дополняя их новыми данными по количественной оценке отдельных субстратов, образующихся в желудочно-кишечном тракте и тканевом обмене, и их использованию на энергетические цели и биосинтез. Разработаны прямые и косвенные методы расчета фондов субстратов на разных этапах их образования, трансформации и использования. В частности, разработана методика расчета количества субстратов, образующихся в сложном желудке и кишечнике, исходя из их энергетических эквивалентов. Вводится понятие — "суммарная энергия субстратов, образующихся в желудочно-кишечном тракте", которую определяют в эксперименте или расчетным путем из энергии переваримых питательных веществ. Она представляет собой часть энергии переваримых питательных веществ (ПЭ) за вычетом энергии метана (Э_{CH_4}) и теплоты ферментации (Эф):

$$\text{Эсубстр.} = \text{ПЭ} - (\text{Э}_{\text{CH}_4} + \text{Эф}) \quad (1)$$

Суммарная энергия субстратов отличается от величины обменной энергии количеством энергии, содержащейся в моче (Эмочи):

$$ОЭ = ПЭ - (Э_{СН4} + Эф + Эмочи) \quad (2)$$

В опытах энергию метана и теплоту ферментации определяли прямыми измерениями. Расчетный способ исходит из приравнивания их к 25 % от энергии питательных веществ корма, переваренных в преджелудках и толстом кишечнике, где образуются метан и теплота ферментации. Оставшаяся часть энергии переваримых питательных веществ в преджелудках и толстом кишечнике представлена летучими жирными кислотами, количество которых рассчитывали исходя из соотношения ЛЖК в рубцовой жидкости и их калорических эквивалентов. Пищеварение в тонком кишечнике связано с незначительными потерями энергии, которые можно не учитывать в расчетах. Здесь учитывается количество аминокислот, образующихся из протеина корма и протеина микроорганизмов по методике, предложенной в новой системе протеинового питания коров (10). Количество доступных для усвоения высших жирных кислот определяли от переваримого сырого жира с использованием коэффициента 1,2, исходя из среднего значения содержания липидов в микроорганизмах, поступающих в двенадцатиперстную кишку. Количество образующейся в тонком кишечнике глюкозы определяли по ее энергетическому эквиваленту (16,5 кДж/г), исходя из остаточного количества энергии переваренных питательных веществ в тонком кишечнике после расчета энергии, содержащейся в аминокислотах и высших жирных кислотах.

Субстратная оценка рационов является первым звеном новой системы питания молочных коров. На последующих этапах после всасывания субстратов происходит дальнейшая их трансформация, распределение и использование в тканевом обмене: в стенке желудочно-кишечного тракта, в печени и других органах, в мышечной и жировой тканях, в молочной железе. Однако ввиду сложности количественной оценки метаболизма субстратов во всех органах и тканях можно ограничиться анализом конечных этапов обеспеченности субстратами физиологических функций и биосинтеза компонентов продукции. Анализ химического состава продукции (молока, прироста и др.) отражает чистые потребности в субстратах на продукцию.

Набор и количество субстратов, вовлеченных в энергетический обмен, включает всю остальную часть усвоенных субстратов. Рассмотрим способ расчета количества и соотношения субстратов, участвующих в энергетическом обмене. Окисление азотсодержащих веществ в тканях у лактирующих коров рассчитывали по азоту, выделенному с мочой, с использованием энергетических эквивалентов азота и белка. Затем из общей суточной теплопродукции животного вычитали величину энергии в окисленных азотсодержащих веществах. Остальное количество энергии в животном организме образовалось за счет окисления углеводов и липидов. Их процентное участие в энергетике определяли в каждом конкретном случае исходя из величины дыхательного коэффициента (отношения выделенного углекислого газа к поглощенному кислороду). При окислении углеводов, а также ацетата, молочной кислоты дыхательный коэффициент равен 1,0, а при окислении высших жирных кислот — 0,7. У лактирующих коров при использовании сбалансированных рационов дыхательный коэффициент колеблется от 0,85 до 0,95. Например, при дыхательном коэффициенте 0,9–67 % энергии образуется за счет окисления ацетата, глюкозы и лактата и 33 % — за счет окисления высших жирных кислот.

Таблица 1

Анализ теплопродукции у коров (живая масса коров 530 кг; удой 18 кг; суточная теплопродукция 91,3 МДж)

Суточная теплопродукция, МДж	Величины дыхательного коэффициента	Окисление субстратов		
		Азотсодержащие вещества, г	Ацетат, глюкоза, молочная кислота, г	Высшие жирные кислоты, г
91,3	1,00	780	4764	—
91,3	0,95	780	3895	335
91,3	0,90	780	3100	670
91,3	0,85	780	2286	1005
91,3	0,80	780	1461	1340
91,3	0,75	780	635	1675
91,3	0,70	780	—	2010

В таблице 1 приведена принципиальная схема расчета субстратов, использованных в энергетическом обмене. При коэффициенте 0,90 здесь приведены фактические данные, полученные в респирационных опытах. При одинаковой величине суточной теплопродукции соотношение углеводов, ацетата и высших жирных кислот, необходимых для окисления, существенно изменяется. Если ацетат образуется в преджелудках и непосредственно используется в качестве субстрата окисления, то создаются предпосылки для повышения эффективности энергетического обмена. При предварительном синтезе липидов из ацетата и последующем использовании в качестве субстратов окисления высших жирных кислот эффективность энергетического обмена снижается. Объем синтеза и распада липидов может изменяться в значительных пределах (максимально — в 6 раз) (табл. 1). Исходя из приведенного соотношения субстратов и их энергетических эквивалентов можно рассчитать их количество при различных уровнях теплопродукции и изменениях дыхательного коэффициента.

На основе расчета теплопродукции и химического анализа продукции (молоко, прирост) можно выявить потребность животных в конечных субстратах, необходимых для биосинтеза и осуществления физиологических функций.

Таблица 2

Потребность в субстратах у лактирующей коровы. ЖМ – 530 кг, удой – 18 кг, жира – 3,6 % (данные обменных и респирационных исследований)

Субстраты	Количество и энергетический эквивалент	
	г	МДж
I. Теплопродукция		
Белок (аминокислоты и пр.)	780	14,00
Жир, ВЖК, кетоны	670	27,00
Ацетат, глюкоза и др.	3100	50,30
Итого	—	91,30
II. Молоко		
Белок (аминокислоты и пр.)	650	15,56
Молочный жир	650	25,47
Молочный сахар	830	13,35
Итого	—	54,38
III. Прирост массы тела		
Белок (аминокислоты и пр.)	185	4,44
Жир (ВЖК и пр.)	863	34,52
Итого	—	38,96

<u>IV. Общие потребности</u>		
Белок (аминокислоты и пр.)	1570	37,70
Глюкоза	1440	23,44
Ацетат и др.	2530	37,10
Жир (высшие жирные кислоты, кетоны)	2160	86,40
Итого	—	184,64
<u>V. Субстраты рациона</u>		
Ацетат	3710	54,35
Пропионат	1300	26,95
Бутират	1000	25,10
Лактат, глюкоза	900	13,60
Высшие жирные кислоты	667	26,94
Аминокислоты	1570	37,70
Итого	—	184,64

В таблице 2 приведены экспериментальные данные, отражающие потребность в конечных субстратах на энергетические нужды, на молоко, прирост и фактическое образование субстратов в желудочно-кишечном тракте у лактирующих коров при использовании кормов в сбалансированном рационе. В данном варианте расчетов предлагается проводить контроль обмена субстратов, исходя из их энергетических эквивалентов. Это необходимо для одновременного нормирования энергетического и субстратного питания животных, так как суммарная энергия субстратов должна соответствовать потребности животных в энергии. Данный способ позволяет сохранить преемственность принципа нормирования, основанного на определении потребности животных в обменной энергии и дополнить его характеристиками потребности животных в субстратах.

С целью разработки экспериментальных методов определения потребности и обеспеченности обмена в отдельных субстратах проведены исследования на 3-х лактирующих коровах с использованием инфузии ацетата натрия в рубец и глюкозы в двенадцатиперстную кишку. Рационы коров были сбалансированы по детализированным нормам. Ацетат натрия в дозе 352 г химически чистого вещества инфузирвали после разбавления в 3-х л дистиллированной воды в течение 6 часов, создавая условия поступления ацетата в физиологических концентрациях. Действие дополнительного (сверх нормы) количества ацетата на обмен веществ изучали по показателям легочного газообмена. Установлено существенное повышение теплопродукции у коров в период инфузии, по величине превосходящее содержание энергии в 352 г ацетата натрия. Сделан вывод о полной обеспеченности обменных процессов ацетатом у коров при использовании детализированных норм кормления.

Инфузия глюкозы в дозе 284 г химически чистого вещества дополнительно к сбалансированному рациону вызывала незначительное повышение теплопродукции и оказывала положительный эффект на молочную продуктивность коров. Сделан вывод о возможном дефиците предшественников глюкозы в рационе.

Дальнейшие исследования по совершенствованию системы нормированного кормления молочных коров будут связаны с изучением основных потоков субстратов в тканях, с изучением возможностей субстратной регуляции с целью повышения эффективности их использования на синтез компонентов продукции.

Литература

1. Агафонов В.И., Надальяк Е.А. Основные достижения в разработке принципов энергетического питания сельскохозяйственных животных. В кн.: Биологические основы высокой продуктивности сельскохозяйственных животных. Боровск, 1991: 12-24.

2. Кагава Я. Биомембраны. Пер. с англ., М.: Высшая школа, 1985: 303.
3. Ленинджер А. Биохимия. Пер. с англ., М., 1976: 960.
4. Скулачев В.П. Энергетика биологических мембран. М.: Наука, 1989: 564.
5. Blaxter K.L. Energy metabolism in farm animals: past, present and future. EAAP Publication, N 43, 1980: 379-384.
6. Baldwin R.L., Shon H.M.T., Beever D.E. Metabolism of the lactating cow. II. Digestive elements of a mechanistic model. J. Dairy Res., 1987, 54: 107-131.
7. Herdt T.H. Fuel homeostasis in the ruminant veterinary clinics of North America. Feed animal practis, 1988, 4, N 2.
8. Riis P.M., Danfaer A., Hvelpland T. et al. A model for the efficient use of new information within physiology, nutrition and breeding of dairy cows. Tryk. Frederiksberg Bogtrykneri a-s, 1990: 68.
9. Spornly R. Aspects on ration formulation based on a substrate system. Norveg. J. Agric. Sci., 1990. Suppl., 5: 83-87.
10. The Cornell Net Carbohydrate and Protein System for Evaluating Cattle Diets. Wash., 1990, N 34.

Косвенные методы определения энергетической и протеиновой питательности рационов для жвачных

Ю.В.Маркин

*ВНИИ животноводства,
Подольск, Московской обл., Россия*

В связи с изменившимися условиями содержания животных, созданным генетическим потенциалом их продуктивности, повышением интенсивности ведения животноводства возникла необходимость разработки новой, основанной на современных научных достижениях системы нормирования питания и оценки питательности кормов и рационов.

Широкое применение обменной энергии как показателя энергетической питательности рационов началось фактически в 1985 году, когда в первом издании справочника "Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных" были приведены содержание обменной энергии в кормах и уравнение для расчета энергетической питательности кормов и рационов по переваримым питательным веществам. Для крупного рогатого скота уравнение для расчета обменной энергии кормов и рационов имеет вид:

$$OЭ=17,48 пП+31,23 пЖ+13,85 пК+14,78 пБЭВ,$$

где пП — переваримый протеин, г, пЖ переваримый жир, г, пК — переваримая клетчатка, г, пБЭВ — переваримые безазотистые экстрактивные вещества, г. Однако определение энергетической питательности по содержанию переваримых питательных веществ по вышеприведенному регрессионному уравнению возможно только в научно-исследовательских работах. Поэтому Дж. Аксельсоном, Валигурой В.И., Григорьевым Н.Г., Щегловым В.В. были предложены регрессионные уравнения для расчета энергетической питательности кормов по их химическому составу. Разработка таких уравнений, полученных на обширном фактическом материале, является шагом к более быстрому определению питательности кормов и их эффективному использованию в практике кормления жвачных животных.

Однако общая питательность отдельных кормов в рационе зависит от их качества и состава, от сочетания с другими кормами и от количественных соотношений в рационе. Таким образом, при изучении общей питательности рациона приматом является не отдельный корм, а рацион (Денисов Н.И., 1960). Определение обменной энергии рациона на основе составляющих его питательных веществ позволяет оценивать энергетическую ценность рациона по совокупности, не подразделяя его

на отдельные корма и их питательность и устранить один из самых крупных, на наш взгляд, недостатков существующего подхода, когда питательность отдельного корма считается неизменной при разных типах кормления и сочетаемости кормов. Разбивка рационов по типу кормления позволяет учитывать суммарное взаимодействие входящих в рацион кормов на переваримость и использование питательных веществ и делает возможным более точное определение общей энергетической питательности рациона.

Существование двух подходов к определению энергетической питательности рациона — 1. общепринятого, как суммы питательностей кормов, определенных в прямых опытах на животных или рассчитанных по регрессионным уравнениям и 2. по содержанию в рационе питательных веществ без подразделения на отдельные корма, сторонником которого был Н.И.Денисов, ставит необходимою как минимум проведение их сравнительного анализа. Причем, если расчет питательности рационов как суммы питательностей отдельных кормов имел математическое оформление в виде регрессионных уравнений и методики определения, то определение питательности по содержанию питательных веществ в рационе, кроме общей концепции и многочисленных экспериментов, подтверждающих ее достоверность, требовал математического обеспечения. Поэтому первым этапом нашей работы была обработка значительного экспериментального материала по подбору регрессионных уравнений, позволяющих определить энергетическую питательность рационов по содержанию в них сырых питательных веществ.

При разработке новых методов определения энергетической питательности рациона не следует упускать из виду второй важнейший показатель — сырой протеин. Используемый в настоящее время показатель "переваримый сырой протеин" как критерий оценки потребности жвачных животных в протеине уже не соответствует уровню современных знаний о закономерностях использования азотистых веществ, так как не учитывает особенностей процессов пищеварения жвачных. Поэтому возникла необходимость нормировать жвачным животным доступный для обмена протеин. Имея конечной целью количество резорбируемых в кишечнике аминокислот существует два пути для их определения: 1. по выходу микробияльного и нераспавшегося в рубце кормового протеина и 2. по регрессионным уравнениям, учитывающим содержание в рационе сырых питательных веществ. При последнем способе не требуется делать различия между микробияльным и нераспавшимся кормовым протеином.

Теоретической предпосылкой определения энергетической и протеиновой питательности рационов по потребляемым питательным веществам является тесная коррелятивная связь между потреблением питательных веществ и энергетической питательностью рациона и поступлением сырого протеина в тонкий кишечник. Коэффициенты корреляции между содержанием обменной энергии в рационе и потребленным и переваренным органическим веществом (суммой питательных веществ) на смешанном и силосно-концентратном рационе составляют 0,97; 0,91 и 0,98; 0,98, т.е. это показатели одного порядка. Аналогично и с поступлением сырого протеина в двенадцатиперстную кишку, коэффициенты корреляции между потребленным органическим веществом и поступившим в двенадцатиперстную кишку сырым протеином составили на смешанном и силосно-концентратном рационах 0,85 и 0,73. Причем коэффициенты детерминации, показывающие долю изменений в показателях энергетической и протеиновой питательности рационов за счет изменений потребленных питательных веществ на силосно-, сенажно- и сено-концентратных рационах по обменной энергии, составили 0,90; 0,79; 0,95 и по дуоденальному сырому протеину — 0,81; 0,69; 0,78. Особенно устойчивая связь между потреблением

питательных веществ и показателями энергетической и протеиновой питательности рационов наблюдается на смешанном рационе, что достигается, вероятно, за счет относительно постоянного химического состава и структуры рациона при многообразии кормов и невозможности для отдельного корма оказать значительное влияние на вышеперечисленные показатели.

Обработка на ЭВМ результатов балансовых опытов позволила подобрать регрессионные уравнения для расчета энергетической питательности и поступления в двенадцатиперстную кишку сырого протеина в зависимости от содержащихся в рационе питательных веществ с учетом вида и структуры составляющих его кормов для наиболее распространенных типов кормления крупного рогатого скота.

Тип кормления

Силосно-концентратный n=32

$$OЭ = 7,97 - 0,0059 СП + 0,026 СЖ + 0,0076 СКл + 0,01155 БЭВ$$
$$Y = 0,106 СП + 1,08 СЖ - 0,0168 СКл + 0,1028 БЭВ + 292,2$$

Сенажно-концентратный n=16

$$OЭ = 0,01055 СП + 0,0001 СЖ + 0,0099 СКл + 0,0054 БЭВ + 15,73$$
$$Y = 0,0382 СКл + 1,0234 БЭВ - 0,192 СП - 5,336 СЖ - 1377,2$$

Сено-силосно-концентратный n=43

$$OЭ = 0,02518 СП + 0,0052 СЖ + 0,0198 СКл + 0,00156 БЭВ + 0,52$$
$$Y = 0,3736 СП + 2,304 СЖ + 0,1424 СКл - 0,01028 БЭВ - 70,4,$$

где OЭ — обменная энергия, МДж; Y — количество сырого протеина, поступающего в двенадцатиперстную кишку, г; СП — сырой протеин, г; СЖ — сырой жир, г; СКл — сырая клетчатка, г; БЭВ — безазотистые экстрактивные вещества, г.

Экспериментальная часть исследований представлена опытами на коровах, бычках и телках черно-пестрой породы, проведенными методом латинского квадрата 3x3, где в первом варианте энергетическая питательность рациона рассчитывалась по сумме питательности кормов, определенных по химическому составу; во втором — по регрессионным уравнениям, учитывающим потребление питательных веществ и в третьем расчет энергетической питательности проводили, как и во втором варианте, а уровень протеина, исходя из потребности в обменном протеине через его поступление с сырым дуоденальным протеином и возможности рациона обеспечить необходимое поступление. В предварительном периоде по итогам контрольных доек и взвешиваний были рассчитаны потребности животных в энергии и питательных веществах согласно детализированным нормам кормления с использованием компьютерной программы "Кормление" (Щеглов В.В. и др.). Согласно рассчитанным потребностям были составлены матрицы для программы Simplex, где жестко задавался требуемый уровень обменной энергии, в то время как значения остальных питательных веществ могли колебаться. Рационы кормления животных были составлены таким образом, чтобы добиться их практически полного поедания.

В качестве эталона, объективно позволяющего оценивать энергетическую питательность рациона, было взято регрессионное уравнение для расчета энергии по переваримым питательным веществам ("Нормы и рационы...", 1985). Поэтому для получения данных по количеству переваренных питательных веществ рационов были проведены обменные опыты.

Сравнение на стадии составления рационов показателей расчетов энергетической питательности рациона обычным методом — как суммы содержания обменной энергии каждого корма, по сравнению с расчетами по предлагаемым регрессионным уравнениям показало завышение энергетической питательности рациона на 10—12 %.

В опытах на коровах, телках и бычках теоретические предпосылки были подтверждены фактическими данными (табл.).

Сравнительная характеристика двух методов расчета обменной энергии сено-силосно-концентратных рационов показывает, что отличие значений обменной энергии, определенной по сырым питательным веществам и по сумме питательностей кормов рациона, от значений, рассчитанных по переваримым питательным веществам, составило соответственно 6,7 и 13,3 %, иначе говоря, составляя рацион для удовлетворения потребностей животных в энергии суммированием питательностей отдельных кормов, мы имеем уровень удовлетворения от необходимого в 86,7 %, а при использовании регрессионных уравнений — 93,3 %. Поэтому так часто встречающийся в печати эффект повышения продуктивности при увеличении норм энергии в рационах на 10–15 % есть не что иное, как устранение ошибки расчета энергетической питательности рациона и восполнение ее до требуемого уровня.

Таблица

Сравнительная оценка различных методов расчета обменной энергии рациона

Сено-силосно-концентратный рацион					
	Обменная энергия				за два опыта
	МДж	%	МДж	%	
Опыт на коровах	1991		1995		
Расчет обменной энергии:					
по переваримым питательным веществам рациона	126.7	100.0	111.4	100.0	100.0
по потребленным питательным веществам рациона	130.4	102.9	122.0	109.5	106.7
как сумма питательностей кормов	139.7	110.3	128.8	115.6	113.3
Силосно-концентратный рацион					
	Обменная энергия				за два опыта
	МДж	%	МДж	%	
Опыт на	телках		бычках		
Расчет обменной энергии:					
по переваримым питательным веществам рациона	57.9	100.0	64.9	100.0	100.0
по потребленным питательным веществам рациона	55.4	95.7	67.5	104.0	100.1
как сумма питательностей кормов	66.6	115.1	72.8	112.3	113.6
Сенажно-концентратный рацион					
	Обменная энергия				
	МДж	%			
Расчет обменной энергии:					
по переваримым питательным веществам рациона	75.3	100.0			
по потребленным питательным веществам рациона	71.0	94.3			
как сумма питательностей кормов	78.8	104.6			

Разница в продуктивном действии между двумя подходами к расчету энергии при составлении рационов кормления — по сумме питательностей кормов рациона и по сырым питательным веществам в опыте на коровах 1991 года выразилась в прибавке 0,46 кг 4 %-ного молока и 520 г прироста массы тела при использовании второго подхода.

В опыте на коровах 1995 года для устранения прогнозируемого дефицита дуоденального протеина для двух коров в 259 и 744 граммов подсолнечниковый шрот обрабатывали уксусной кислотой для

снижения расщепляемости протеина. В опыте практически не получено разницы в молочной продуктивности коров между первыми двумя вариантами, но были отличия в изменении живой массы. Так, на контрольном рационе коровы ежедневно теряли 813 г живой массы; на рационе, питательность которого была рассчитана по регрессионному уравнению — 688 г и на рационе, где энергия рассчитывалась по регрессионному уравнению, а протеин рациона нормировался исходя из потребностей в обменном протеине через дуоденальный протеин, потери живой массы составляли 625 г/сут, а продуктивность 4 %-ного молока была на 0,8 кг выше, по сравнению с первыми вариантами.

Прирост живой массы бычков-кастратов на сенажно-концентратном рационе, обменная энергия которого была рассчитана по сумме питательностей кормов, составил 707 г/сут и 776 г/сут на рационе, энергетическая питательность которого была определена с помощью регрессионного уравнения. Нормирование уровня протеина в рационе, исходя из прогнозируемого поступления протеина в двенадцатиперстную кишку, позволило снизить на 24,5 % содержание протеина в рационе при полученном приросте 759 г. В опыте на телках на силосно-концентратном рационе прирост живой массы на рационе, питательность которого была рассчитана обычным методом, составил 217 г/сут; на рационе, энергетическая питательность которого была определена по регрессионному уравнению — 579 г/сут и в варианте, где как энергетическая, так и протеиновая питательность определялись по регрессионным уравнениям, что имело следствием снижение на 11,5 % уровня протеина в рационе — 316 г/сут. Расчет энергетической питательности по регрессионным уравнениям имел следствием увеличение количества скармливаемых кормов и изменение соотношения грубых и концентрированных кормов в сторону уменьшения последних.

В опыте на бычках на силосно-концентратном рационе, проведенном согласно вышеописанной схеме, приросты по вариантам составили соответственно 780; 1080 и 1120 г/сут. Отношение прогнозируемого поступления протеина в двенадцатиперстную кишку к фактическому в данном опыте составило 107,3 %.

Таким образом, используемый в настоящее время метод определения обменной энергии рациона по сумме питательностей составляющих его кормов искусственно завышает энергетическую питательность рациона, тем самым не позволяя реализовывать потенциальную продуктивность животных. Балансирование уровня протеина в рационе по прогнозируемому поступлению его в двенадцатиперстную кишку вполне приемлемо при средних уровнях продуктивности и может приносить значительный продуктивный эффект.

Расчет потенциально возможного образования АТФ при ферментации в рубце и эффективности ее использования микроорганизмами

В.Б.Решетов

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания
сельскохозяйственных животных,
Боровск, Россия*

В исследованиях, посвященных определению объемов и оценке эффективности биосинтеза микробной массы в преджелудках жвачных при различных условиях кормления, эффективность синтеза обычно измеряют путем деления количества синтезированной массы на количество ферментированного в желудке сухого или органического

вещества корма (2, 4, 5). При этом причина значительных колебаний эффективности не всегда ясна. Имеется возможность внести в подобные ситуации некоторую ясность, используя для объяснения механизмы энергетического обмена у микроорганизмов.

Синтез микробной биомассы в преджелудках требует значительного количества АТФ, образующейся при ферментации органического вещества корма (ОВ). Основную массу последнего составляют углеводы и протеин. При окислении в организме до конечных продуктов единицы массы этих веществ освобождается практически одинаковое количество энергии — около 17,2 кДж/г. Поэтому при изучении использования этих веществ в качестве источника энергии их количество можно измерять в виде суммы их масс. Для проведения стехиометрических расчетов в рассматриваемом аспекте было предложено массу использованного органического вещества измерять в молях условной полигексозы (8).

Важнейшими по массе продуктами ферментации ОВ в преджелудках являются летучие жирные кислоты. Считается, что соотношение образующихся количеств отдельных кислот удовлетворительно характеризуется соотношением их молярных концентраций в жидкости рубца. В процессе образования ЛЖК за счет энергии ОВ из АДФ и неорганического фосфата одновременно генерируется определенное количество АТФ. Если продуктом ферментации является ацетат, то за счет 1 молекулы гексозы образуется 2 молекулы ацетата и до 4 молекул АТФ. При образовании пропионата за счет 1 молекулы гексозы образуется 2 молекулы пропионата и до 2 молекул АТФ. При образовании бутирата из 1 молекулы гексозы образуется 1 молекула бутирата и до 2 молекул АТФ. Эти цифры характеризуют максимально возможный выход АТФ. В принципе он может быть ниже.

Использование образовавшейся АТФ для синтеза микробной биомассы также может идти с разной эффективностью. Средней цифрой, характеризующей образование сухого вещества микроорганизмов в расчете на 1 моль использованной АТФ, считается 10,5 г. Эта цифра может быть значительно ниже, если при достаточном количестве энергетических субстратов для синтеза биомассы недостает каких-нибудь незаменимых факторов, например, азотистых, минеральных веществ, витаминов. При этом существенно большая часть энергии ферментированного вещества превращается в тепло. Это явление носит название несопряженной ферментации (1).

Основываясь на вышесказанном, автором разработан алгоритм расчета потенциально возможного образования АТФ при ферментации ОВ в рубце и сравнительной оценки эффективности ее использования при биосинтезе сухого вещества и протеина микробной биомассы. Для проведения расчета необходимо знать количество ферментированного в преджелудках за законченный временной цикл ОВ, соотношение образовавшихся при этом ЛЖК и количество образовавшегося за это же время микробного протеина. Эти цифры могут быть получены на животных с наружным анастомозом или фистулой начальной части двенадцатиперстной кишки. Количество ферментированного органического вещества определяют по разности: (количество ОВ в потребленном корме) – (количество ОВ, поступающего с химусом в кишечник), а количество синтезированной микробной биомассы — по количеству, поступающему из сычуга в кишку (4), т.е. количество синтезированной биомассы считаем равным ее количеству, поступающему из сычуга в кишечник.

Для проведения расчетов всю массу органического вещества, переваренного в преджелудках, измеряем в молях условной полигексозы. Как уже указывалось, считается возможным сделать это в связи с тем, что при окислении в организме белка выделяется такое же количество тепла, как при окислении углеводов. При окислении часть

энергии аминокислот остается недоступной для организма и выделяется из него главным образом в виде мочевины. Пентозы также до окисления переходят в гексозы. Трансформацией липидов ОВ корма в данном случае можно пренебречь в связи с их относительно малым содержанием в ОВ корма и фактическим отсутствием "видимого" переваривания липидов в преджелудках. Более того, общее количество липидов в химусе даже может превышать поступление их с кормом (7). Пересчет массы ферментированного ОВ, выраженного в граммах, в число молей условной гексозы производится путем умножения на коэффициент K_1 , равный 0,0062 (8). Смысл этого коэффициента заключается в следующем. Цепочка полигексозы состоит из мономеров $C_6H_{10}O_5$ с молекулярной массой 162. Для того, чтобы узнать, какому количеству молей условной гексозы соответствует выраженная в граммах масса ОВ, ее нужно разделить на 162. Это равнозначно умножению на 0,0062.

В число необходимых исходных данных входит также типичное, характеризующее использованный рацион и ферментацию у животных, молярное соотношение в рубцовой жидкости наиболее весомых по количеству ЛЖК — уксусной, пропионовой и масляной. Для характеристики используемых рационов это соотношение рекомендуют определять в рубцовой жидкости через 3 часа после кормления (3). Сумма молярных процентов этих трех кислот при достаточной чувствительности используемого хроматографического метода, из-за присутствия в пробе в небольшом количестве еще и других кислот, всегда меньше 100 %. При расчете следует пренебречь их присутствием и за их счет пропорционально увеличить молярные доли уксусной, пропионовой и масляной кислот так, чтобы в сумме они составляли 100 %. Для этого их молярные доли следует умножить на один и тот же для всех кислот коэффициент K_2 . Величину его вычисляем путем деления 100 (%) на фактическую сумму молярных долей трех указанных кислот (также в %). Назовем полученное соотношение скорректированным.

Далее следует вычисление долей общего количества условной гексозы, при ферментации которой образовалось вычисленное ранее скорректированное молярное соотношение ацетата, пропионата и бутирата. Поскольку из 1 молекулы гексозы образуется 2 молекулы ацетата, то сначала скорректированную молярную долю ацетата умножим на 0,5. То же делаем для расчета доли пропионата, т.к. из 1 молекулы гексозы образуется также 2 молекулы пропионата. Долю, соответствующую бутирату, умножаем на 1, то есть оставляем без изменений, т.к. при ферментации 1 молекулы гексозы образуется 1 молекула бутирата. Затем все количество ферментированной гексозы (в молях) делим на три части пропорционально вычисленным долям, пошедшим на образование каждой из трех учитываемых кислот.

Теперь, зная количество гексозы, пошедшей на образование каждой из трех кислот, можно вычислить общее количество образовавшихся при этом молей АТФ. Поскольку при ферментации 1 молекулы гексозы с образованием ацетата образуется 4 молекулы АТФ, то для определения количества молей АТФ, синтезированных одновременно с образованием за счет гексозы ацетата, следует количество молей ферментированной гексозы (иными словами, долю гексозы, пошедшей на образование ацетата), умножить на 4. Для вычисления количества АТФ, синтезированного за счет энергии гексозы при образовании пропионата, по аналогичной причине соответствующую долю гексозы в молях умножаем на 2. Для определения количества синтезированной при образовании бутирата АТФ соответствующую бутирату долю гексозы в молях умножаем на 2. Путем сложения полученных величин получаем общее количество АТФ (условный максимум), которое могло бы образоваться за счет ферментированного в преджелудках количества гексозы.

Далее, используя содержащиеся в литературе указания (1, 4, 6), что за счет 1 моля АТФ в среднем может быть синтезировано 10,5 г сухого вещества микробной массы, вычисляем, какое количество сухого микробного вещества может быть синтезировано за счет всего количества образованной АТФ. При необходимости может быть также приблизительно рассчитано количество содержащегося в определенном только что количестве микробной биомассы микробного протеина. Для этого можно воспользоваться указанием, что доля сырого протеина в сухом веществе рубцовых микроорганизмов составляет около 10,5 % (8).

Эффективность использования АТФ при синтезе измеряется величиной, получаемой при делении фактически синтезированного количества микробной массы на расчетное ее количество и умножения на 100. Поскольку ряд использованных в этом алгоритме величин представляет собой приблизительные или усредненные значения, то полученное частное не обязательно будет равно или меньше 100 %. Поэтому область применения данного метода приходится ограничить сериями опытов, проводимых в близких условиях.

В качестве примера использования описанного подхода в физиологических исследованиях приводим материалы двух опытов на коровах, имевших фистулы рубца и наружный анастомоз двенадцатиперстной кишки. В рассматриваемых опытах распадаемость протеина и количество микробного азота были определены сотрудниками лаборатории пищеварения ВНИИФБиП.

Первый опыт проведен методом латинского квадрата с продолжительностью периодов по одному месяцу. В опыте использовано три рациона, состоявших из 5 кг сена, 15 кг кукурузного силоса, 10 кг кормовой свеклы и 5 кг комбикорма различного состава. При изготовлении трех вариантов комбикорма смешивали постоянную по составу часть, в которую входили кукуруза, ячмень, пшеница и овес в соотношении по массе 25:32:20:15 и минеральные добавки, с высокобелковыми компонентами. Распадаемость протеина зерносмеси в рубце составляла 58,8 %. В комбикорме I белковым компонентом был подсолнечный жмых, введенный в количестве 36 % по массе и имевший распадаемость протеина 69,5 %. В комбикорме II — кукурузный глютен, введенный в количестве 16 % и имевший распадаемость протеина 30 %. В комбикорме III — кукурузный глютен и рыбная мука в количестве 13 и 3 % соответственно. Распадаемость протеина рыбной муки составляла 33,8 %. Доля обменной энергии в комбикорме от общего ее содержания в рационе равнялась 35 %. Содержание обменной энергии в сухом веществе I, II и III рационов равнялось соответственно 9,4; 9,6 и 9,4 МДж/кг, а содержание сырого протеина 127; 123 и 118 г/кг. Характеристика энергетического обмена у коров при использовании опытных рационов дана в таблице.

Таблица

Обмен энергии у коров (МДж/сут)

Показатели	Рационы		
	I	II	III
Валовая энергия корма	190.7±1.2	202.2±5.1	205.4±6.1
Переварено	132.4±0.5	143.6±1.4	142.6±2.4
Переваримость, %	69.4±0.5	71.1±0.2	69.4±0.1
Энергия мочи	8.1±0.05	7.4±0.3	6.9±0.1
Обменная энергия	109.2±0.4	118.5±1.1	117.6±2.0
Теплопродукция	60.5±2.1	69.1±3.0	72.9±2.0
Энергия удоя	51.1±0.8	49.9±2.3	46.3±0.1
Баланс энергии	-2.4	0.5	-1.6

Использование обменной энергии для синтеза продукции зависело от состава использованного комбикорма. Несмотря на увеличение поступления энергии в организм во II и III вариантах, самая низкая величина энергии продукции была в III варианте. Обусловлено это ростом теплопродукции от I ко II варианту на 14 % и от II к III — на 5,6 %. Причиной роста теплопродукции, по-видимому, было увеличение количества легкодоступного для ферментации в рубце крахмала за счет глютена (комбикорм II), а при введении в комбикорм III рыбной муки, кроме того, могло оказать влияние значительное содержание в ней йода.

При близкой переваримости валовой энергии всех рационов во всем желудочно-кишечном тракте доля энергии, переваренной в сложном желудке, существенно отличалась, равняясь во вариантам соответственно 47,0±3,0; 59,3±1,9 и 63,3±5,1 %. Можно полагать, что во II и III вариантах сыграла роль высокая степень дисперсности частиц глютена, обеспечивавшая их более полное переваривание в рубце.

Расчет возможного образования АТФ в преджелудках дал по вариантам соответственно 95, 111 и 122 моль/сут. Среднее количество эвакуированного в кишечник микробного азота по вариантам изменялось иначе: 126,0±1,8; 101,0±1,9 и 101,0±1,9 г/сут. Эффективность использования АТФ, что следует из сопоставления этих цифр, была наибольшей при использовании комбикорма с подсолнечным жмыхом.

Второй опыт, в котором отмечено значительное расхождение в эффективности использования микроорганизмами энергии АТФ, заключался в следующем. На трех коровах изучено использование энергии двух рационов, различие между которыми состояло в содержании нативного подсолнечного шрота или обработанного формальдегидом в дозе 1 г на 100 г сырого протеина. В результате обработки распадаемость протеина шрота снизилась на 10,4 %. Шрот в количестве 23 % вводили в комбикорм. Всего в рационе было 5 кг комбикорма, 25 кг кукурузного силоса и 2 кг злаково-разнотравного сена.

Использование рациона с обработанным шротом обеспечило повышение потребления сухого вещества кормов на 8 % при повышении переваримости энергии с 61,7 до 72,1 %. Доля энергии корма, переваренная в кишечнике, увеличилась на 5 %. При этом общая теплопродукция была на 8,9 МДж/сут ниже, а общая энергия продукции на 28,0 МДж/сут больше. Расчетная эффективность использования энергии АТФ для синтеза микробной биомассы при этом увеличилась с 52,1 до 70,4 %.

Таким образом, используя знание механизмов энергетического обмена микроорганизмов, предлагаем алгоритм для расчета потенциально возможного образования АТФ при ферментации микрофлорой преджелудков органического вещества корма и эффективности использования АТФ при биосинтезе микробной биомассы. Исходными величинами служат количество переваренного в желудке органического вещества, соотношение образующихся при этом ЛЖК и количество микробной биомассы, поступающей с химусом из сычуга в кишечник.

Литература

1. Иванов В.Н. Энергетика роста микроорганизмов. Киев, 1981.
2. Коршунов В.Н. Метаболизм протеина в пищеварительном тракте и использование азота жвачными животными. Автореф. дисс... дбн, ТСХА, 1992.
3. Курилов Н.В. и др. Изучение пищеварения у жвачных животных. Методические указания. Боровск, 1987.

4. Мак-Мениман Н.П., Бен-Гедалиа Д., Армстронг А.Г. Взаимосвязь азота и энергии в процессах рубцового пищеварения. В кн.: Белковый обмен и питание. Пер. с англ., М.: Колос, 1980: 152-161.
5. Новая система оценки и нормирования протеинового питания коров. Сост. Курилов Н.В. и др. Боровск, 1989.
6. Роуз Э. Химическая микробиология. М.: Мир, 1971.
7. Синешкоков А.Д. Биология питания сельскохозяйственных животных. М.: Колос, 1965.
8. Использование питательных веществ жвачными животными. Пер. с нем. М.: Колос, 1978.

Уровень распадаемости протеина кормов в рационах коров и их продуктивность

П.И.Викторов, А.А.Солдатов

*Кубанский госагроуниверситет,
Краснодар, Россия.*

В своей работе мы поставили цель определить особенности рубцового пищеварения у лактирующих коров в зависимости от различного сочетания факторов питания. Для выполнения поставленной задачи было проведено три физиологических опыта на коровах черно-пестрой породы с фистулами рубца и дуоденальными анастомозами и производственный опыт. Коров в группы подбирали по принципу аналогов с учетом продуктивности, времени отела, периода лактации, содержания жира в молоке, живой массы, суточного удоя. Средняя живая масса коров составляла 450–500 кг, продуктивность 4500–5000 кг; в производственном опыте соответственно 500–550 кг и 5500–6000 кг. Кормили коров согласно рационам, составленным на основе детализированных норм (1985). В физиологических опытах продолжительность подготовительных периодов составляла 20 дней, учетных — 6–9 дней, а в производственном — 20 и 94 соответственно. Распадаемость протеина корма в рубце изучали методом нейлоновых мешочков. Степень распадаемости протеина кормов центральной зоны Краснодарского края, используемых для кормления коров, приведена в табл. 1.

В период проведения физиологических опытов учитывали количество съеденного корма, проводили сбор кала, мочи и трехсуточный учет количества химуса. Опыт был проведен на двух группах коров. Животные обеих групп получали рацион, рассчитанный на продуктивность 14–15 кг молока. Рационы состояли из одного и того же набора кормов с той лишь разницей, что коровам опытной группы дополнительно скармливали 100 г мочевины. В структуре рациона сочные корма занимали в %: 31 и 31, грубые — 27 и 28, концентрированные — 42 и 41. На 1 кормовую единицу приходилось по 100 г переваримого протеина. Уровень клетчатки составлял 20 %, концентрация энергии в 1 кг сухого вещества — 10,5 МДж, распадаемость сырого протеина соответственно 60 и 74,4 %. Существенной разницы в поедаемости кормов между группами не наблюдалось.

Результаты исследований показали, что переваримость протеина и клетчатки была достоверно выше у животных опытной группы (табл. 2).

Таблица 1

Распадаемость протеина кормов центральной зоны Краснодарского края

Корма	Средняя распадаемость протеина, %	Корма	Средняя распадаемость протеина, %
<u>Зеленые корма</u>		<u>Сочные корма</u>	
Рожь озимая	78,00±0,83	Силос кукурузн, I кл.	58,00±0,61
Люцерна, убранный в фазе:		Свекла кормовая	75,00±0,52
— бутонизации	94,00±0,41	<u>Концентрированные корма</u>	
— цветения	92,00±0,61	Дерть пшеничная	71,00±0,75
— конец цветения	89,00±0,89	Дерть ячменная	72,00±0,37
Суданка	88,00±1,09	Дерть гороховая	70,00±0,89
Кукуруза	90,00±1,53	Дерть овсяная	70,00±0,63
<u>Грубые корма</u>		Жом свекловичный сухой	68,00±0,63
Сено люцерновое, убранный в фазе:		Дерть кукурузная	41,00±0,57
— бутонизации	81,00±0,81	<u>Протеиновые добавки</u>	
— цветения	80,00±0,88	Дерть сои	68,00±0,56
— конец цветения	78,00±0,76	Дерть сои жареной	55,00±0,67
Сено суданки	74,00±0,81	Соевый шрот	51,00±0,72
Брикеты, сечка люцерновоя, I кл.	42,00±0,05	Соя тостированная	57,00±0,82
Гранулы люцерн. I кл.	42,00±1,00	Шрот подсолнечный	71,00±0,37
Мука люцерн. I кл.	45,00±0,48	Отруби пшеничные	70,00±0,92
Сенаж люцерн., I кл.	58,00±0,36	Рыбная мука	30,00±0,22
		Глютен кукурузный	30,00±0,18

Таблица 2

Коэффициенты переваримости питательных веществ рационов у подопытных коров (M+m)

Показатели	Группа		P
	I—контрольная	II—опытная	
Сухое вещество	65,7±1,13	65,9±2,06	
Органическое вещество	67,8±1,66	67,8±2,00	
Сырой протеин	51,5±3,17	57,3±0,24	< 0,05
Сырая клетчатка	58,7±1,51	62,3±1,17	> 0,05
Сырой жир	41,0±3,06	35,7±1,02	< 0,05
БЭФ	76,8±2,23	80,1±1,48	> 0,05

Использование кальция и фосфора животными из рациона с низкой распадаемостью протеина в рубце было лучшим, чем у коров, получавших мочевины. Рацион с низкой распадаемостью протеина повышал выделение химуса из желудка и одновременно снижал концентрацию питательных веществ в нем по сравнению с рационом с высокой распадаемостью (соответственно 137,85 и 109,98 л). При этом у животных контрольной группы улучшалось усвоение азота микрофлорой рубца, повышалось его всасывание в кишечнике, снижалось выделение с мочой и увеличивалось отложение его в теле. Одновременно в опытной группе возрастали потери азота в рубце, снижалось всасывание в кишечнике, увеличивалось выделение его с мочой и снижалось удержание в теле (табл. 3).

Таблица 3

Переваримость сухого вещества и показатели метаболизма азота и аминокислот в желудочно-кишечном тракте лактирующих коров

Показатели	Сухое вещество		Азот		Аминокислоты	
	Группы					
	I	II	I	II	I	II
Принято с кормом, г	18766	18909	205	229	1553	1655
Поступило в дуоденум, г	6111	5577	232	209	1126	1085
Переварилось в желудке, г	12655	13332	+27	-20	427	570
%	67	70		8,7	27	34
Выделено в кале, г	3976	3927	89	98	365	433
Переварилось в кишечнике, г	2135	1650	143	111	761	652
– от поступившего, %	34,9	29,6	61,7	53	67	60
– от принятого, %	11,4	8,7	69,7	48,5	49	39
Видимая переваримость, г	14790	14982	116	131	1188	1222
%	78,8	79,2	55,6	57,2	76	73
Выделено с мочой, г			30	62		
– от поступившего, %			13	29,6		
– от принятого, %			14,6	27,0		
Выделено с калом+ мочой+ молоком, г			168	209		
Баланс ±, г			+37	+20		

Животные на рационе с низкой распадаемостью протеина меньше усваивали аминокислот в желудке (на 33 %) и больше — в кишечнике (на 16 %) по сравнению с рационом с высокой распадаемостью. Показатели рубцовой жидкости коров подопытных групп приведены в табл. 4.

Высокая распадаемость протеина в рубце обусловила увеличение образования аммиака в рубцовой жидкости, который не успевал усваиваться микрофлорой, в результате чего его концентрация в рубце возросла по сравнению с контрольной группой.

Изучены также особенности рубцового пищеварения при скармливании лактирующим коровам в составе рациона зеленой люцерны и люцернового сена. Опыт проведен на коровах чернопестрой породы с удоем 16–18 кг в сутки, имеющих фистулы рубца и дуоденальные анастомозы. Для проведения опытов было отобрано 6 коров. Коровы 1-й (контрольной) группы получали рацион с сеном из люцерны, животные 2-й (опытной) группы — зеленую люцерну. В рационе контрольной группы доля распадаемого в рубце протеина составляла 66,7, в опытной — 78,7 %.

Таблица 4

Показатели рубцовой жидкости у подопытных коров

Группа	Количество инфузорий в 1 мл, тыс.	рН	Содержание ЛЖК, моль/100 мл			Аммиак, мг%	
			общее	в том числе в %			
				уксусная	пропионовая		масляная
До кормления							
I*	390	6,6	8,1	67,8	20,1	12,1	20,4
II*	379	6,6	8,1	69,3	20,6	10,1	27,6
II в % к I	97	100	100	102	102	83	135
Через 1 час после кормления							
I*	419	5,9	9,9	69,3	20,6	10,1	22,9
II*	431	5,9	10,3	69,5	19,0	11,5	34,2
II в % к I	103	100	104	100	92	113	149

	Через 3 часа после кормления						
I*	439	6,1	10,3	66,4	22,1	11,5	20,6
II*	479	6,3	9,7	68,8	20,1	11,1	33,0
II в % к I	109	103	94	103	91	97	160

* — I – контрольная, II – опытная

В результате исследований установлено, что коэффициенты переваримости питательных веществ в сравниваемых группах были близкими. Баланс азота, кальция и фосфора у животных обеих групп был положительным. Количество выделяемого химуса у коров на рационе с сеном из люцерны было на 35 % больше по сравнению с животными опытной группы (соответственно 118,41 и 87,52 кг). Переваривание сухого вещества зеленой люцерны в основном происходило в желудке, а сено переваривалось как в желудке, так и в кишечнике. Баланс азота в сравниваемых группах также был положительным (33–31 г). Использование азота при кормлении сеном было лучше, чем на рационе с зеленой люцерной за счет снижения потерь его в желудке на 24 % и с мочой на 6 % и за счет повышения усвоения в кишечнике.

Несмотря на видимую одинаковую переваримость протеина, аминокислоты из рациона с люцерновым сеном использовались коровами лучше по сравнению с рационом с зеленой люцерной также за счет сокращения потерь в желудке и повышения усвоения их в кишечнике. После кормления концентрация аммиака в рубцовой жидкости возрастала на 27–18 % у коров опытной группы.

Гематологические показатели у всех животных были в пределах физиологической нормы. Однако концентрация мочевины у коров опытной группы была выше, чем у контрольной, что связано с высокой распадаемостью протеина зеленой люцерны. В результате возросла концентрация аммиака в рубцовой жидкости на 18 % (через 3 часа после кормления), повысился уровень мочевины в крови также на 34 % и, как следствие, увеличилось выделение азота с мочой на 6 %. Таким образом, использование азота и аминокислот из рациона с сеном значительно выше, по сравнению с зеленой люцерной за счет снижения потерь в желудке и увеличения усвоения его в кишечнике.

Была также изучена зависимость переваримости питательных веществ в рубце от величины сахаро-протеинового отношения. В группах было по 4 коровы черно-пестрой породы. Суточная молочная продуктивность коров в среднем составила 14–16 кг. Кормили коров по одному рациону с той лишь разницей, что животным опытной группы дополнительно скармливали по 0,450 кг кормового сахара на голову в сутки. Сахаро-протеиновое отношение в контрольной группе было 0,54:1, в опытной 1:1. Уровень распадаемого протеина в рационе обеих групп был равен 63 %.

Результаты показали, что сахаро-протеиновое отношение в пределах 0,5:1 и 1:1 не оказало заметного влияния на коэффициенты переваримости питательных веществ. Сахаро-протеиновое отношение 1:1 в рационе коров снижало переваримость сухого вещества в желудке и повышало его переваримость в кишечнике, а 0,5:1, наоборот, повышало переваримость сухого вещества в желудке и снижало в кишечнике.

Низкий уровень сахара в рационе коров, по сравнению с нормой, увеличивал потери азота в желудке, выделение его с калом и мочой, снижал усвояемость в кишечнике. Баланс азота в обеих группах был положительным.

Нормальный уровень сахара в рационе благоприятно отразился на ферментативных процессах в рубце, стимулировал синтез аминокислот в рубце, повышал их количество и улучшал усвоение в кишечнике на

20 % (табл. 5), а также повышал уровень ЛЖК и снижал концентрацию аммиака на 12–31 % по сравнению с контрольной группой (табл. 6).

Следовательно, низкое сахаро-протеиновое отношение (0,5:1) увеличивает потери азота с калом и мочой и одновременно снижает его в кишечнике, нормальное сахаро-протеиновое отношение стимулирует синтез аминокислот в рубце, повышает их количество и улучшает усвоение в кишечнике. По окончании научно-хозяйственного опыта была проведена производственная апробация результатов исследования на коровах черно-пестрой породы с удоем 22–24 кг в сутки.

Таблица 5

Переваримость сухого вещества и показатели метаболизма азота и аминокислот в желудочно-кишечном тракте подопытных коров

Показатели	Сухое вещество		Азот		Аминокислоты	
	Группы					
	I	II	I	II	I	II
Принято с кормом, г	14667	13328	284	260	1346	1219
Поступило в дуоденум, г	3676	6800	221	257	1343	1467
Переварилось в желудке, г	8991	6528	63	32	3	248
%	61	48	22	1	0,2	20
Выделено в кале, г	5464	4631	150	125	432	391
Переварилось в кишечнике, г	212	2169	71	132	911	1076
– от поступившего, %	4	31	32	51	68	73
– от принятого, %	11	16	25	50	68	88
Видимая переваримость, г	9203	8697	134	135		
%	62	65	47	52		
Выделено с мочой, г			62	52		
– от поступившего, %			28	20		
– от принятого, %			21	2		
Выделено с калом+ мочой+ молоком, г			258	215		
Удержано в теле, г			26	45		

Таблица 6

Показатели рубцовой жидкости у подопытных коров

Группа	Количество инфузий в 1 мл, тыс.	рН	Содержание ЛЖК, моль/100 мл			Аммиак, мг%	
			общее	в том числе в %			
				уксусная	пропионовая		масляная
До кормления							
I*	370	6,0	7,2	68,3	18,7	13,0	8,6
II*	385	6,5	6,1	76,4	15,7	7,9	7,6
II в % к I	104	108	84	111	84	61	88
Через 1 час после кормления							
I*	390	5,2	8,2	74,7	18,7	8,5	9,7
II*	404	5,6	10,8	71,6	15,7	9,1	7,9
II в % к I	104	107	131	96	84	93	81
Через 3 часа после кормления							
I*	397	5,3	6,3	74,1	14,4	11,4	8,3
II*	457	5,1	12,2	71,6	19,3	13,2	6,6
II в % к I	115	96	193	96	134	115	79

* – I – контрольная, II – опытная

В предварительном периоде коров обеих групп содержали на рационах с расщепляемостью протеина в рубце 68 %, а в учетный период коров контрольной группы содержали на том же рационе, а опытной группы — на рационе с расщепляемостью протеина 58 %.

Исследования показали, что снижение расщепляемости протеина с 68 до 58 % за счет включения в состав комбикорма кукурузной и жареной соевой дерти, травяной муки вместо ячменной дерти и подсолнечного жмыха сопровождалось увеличением удоев и жирности молока. Средний удой натурального молока в опытной группе составил 23,16 кг с жирностью 3,82 %, а в контрольной — 20,99 и 3,70 %, что в переводе на базисную жирность молока (3,6 %) означает на 14 % больше.

Таким образом, уровень распадаемости протеина в рубце оказывает влияние на его переваримость, но не определяет его усвояемость. Высокая распадаемость протеина в рубце повышает коэффициенты переваримости, но снижает усвояемость за счет потерь в желудке. Доказано, что количество доступного для переваривания протеина возрастает за счет нераспавшегося в рубце протеина корма, в результате чего повышается переваривание протеина и всасывание аминокислот в кишечнике. Все это оказывает благоприятное влияние на продуктивность животных.

Новые подходы к оценке протеина кормов для жвачных

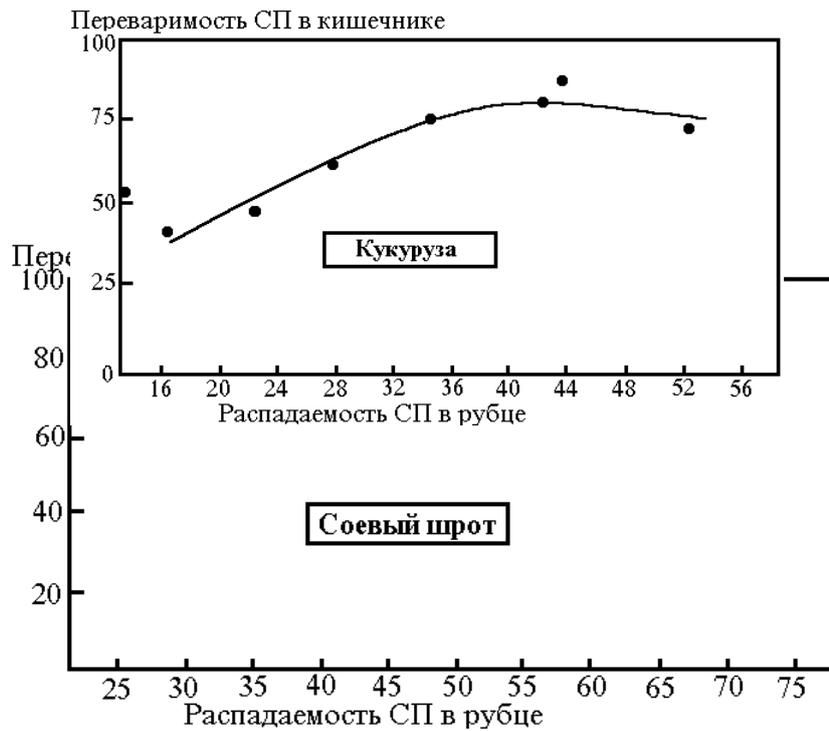
Е.Л.Харитонов, А.М.Матеркин

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания
сельскохозяйственных животных,
Боровск, Россия*

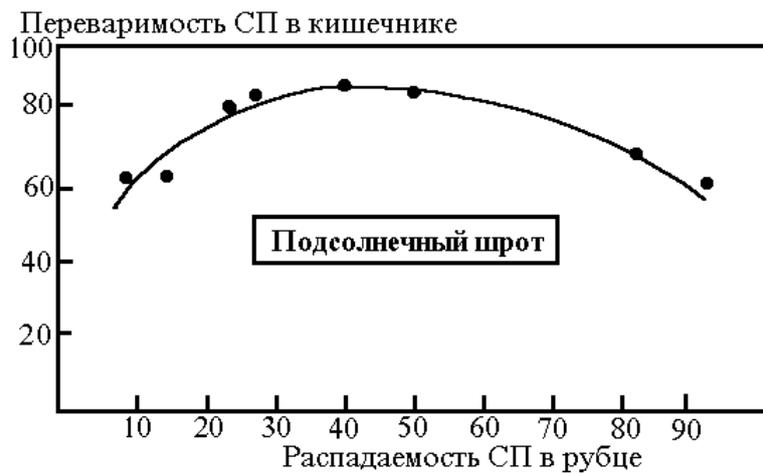
Существующие подходы к оценке и нормированию протеина кормов для жвачных животных предусматривают подразделение пищеварения на преджелудочное и кишечное. При этом оценивается распадаемость протеина каждого корма в преджелудках и принимается постоянная величина (60–80 %), показывающая переваримость нераспавшейся части кормов рациона в кишечнике. Поскольку степень распада протеина кормов в рубце может значительно варьировать, то и состав нераспавшейся части сырого протеина (СП) одного и того же корма может быть различным. В связи с этим имеется возможность регулировать степень переваримости СП нераспавшегося корма в кишечнике. Существующие системы этого не предусматривают, принимая переваримость СП в кишечнике за постоянную величину, что не позволяет точно оценивать и направленно изменять поступление аминокислот корма из пищеварительного тракта.

Задачей настоящей работы являлось определение переваримости нераспавшейся части СП отдельных кормов в кишечнике, при разной степени его распада в преджелудках. В работе обобщены наши исследования последних лет по проблеме протеинового питания крупного рогатого скота. В опытах на бычках и коровах в период сухостоя и разных стадий лактации, на различных типовых рационах определяли переваримость СП отдельных кормов в кишечнике при разной степени их распада в преджелудках. Разную степень распада протеина отдельных кормов обеспечивали предварительной инкубацией образцов корма в мешочках из синтетической ткани в рубце подопытных животных. Переваримость определяли *in sacco* путем пропускания мешочков малого размера через кишечник и последующим определением СП в непереваренных остатках.

Результаты исследований показали, что переваримость СП в кишечнике для всех изученных кормов (сено, силос, свекла кормовая, соевый и подсолнечный шроты, ячмень, кукуруза, пшеница, овес и горохово-овсяная зеленая смесь) в большой степени определяется воздействием микрофлоры на корм в преджелудках (рис.1 - а, б, в, г, е), которое проявляется в показателе "распадаемость". Для всех кормов отмечена параболическая зависимость переваримости протеина от



распадаемости его в преджелудках. В тоже время характер этой зависимости для разных кормов носил и свои особенности, которые во



многом определялись фракционным составом протеина и его использованием (табл.1).

Рис. 1 Зависимость переваривания СП в кишечнике от распадаемости СП в преджелудках

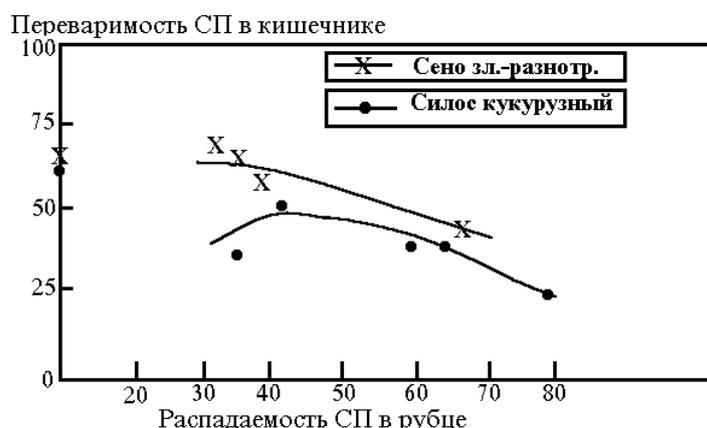
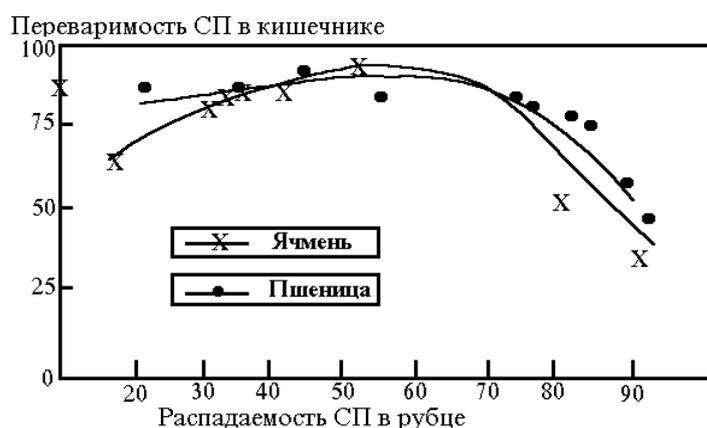
а), б)

в), з), е)

Таблица 1

Фракционный состав СП кормов и его использование

Фракции, %	куку- руза	соевый шрот	сено зл. разн.	шрот подсолн.	переваримость в кишечнике, %
Растворимый СП (НБА, АА)	24	3	15	35	100
Глобулины и альбумины	0	17	5	15	100
Глютелины	55	77	30	30	100



Проламины и азот связан. с НДК	13	2	40	20	80
Продукты реакции Мейларда, азот связ. с лигнином	8	1	10	10	0

Нативные корма без предварительной инкубации имели более высокую переваримость в сравнении с кормами с удаленной растворимой частью СП. При увеличении сроков инкубации корма в рубце переваримость СП всех кормов в кишечнике сначала повышалась, а затем неуклонно снижалась. Увеличение показателя переваримости в начальной части кривой указывает на параллелизм в изменении переваримости клетчатки и СП. Между переваримостью клетчатки в рубце и переваримостью протеина в кишечнике установлена прямая коррелятивная связь ($r > 0,9$). Эта связь определяется наличием фракции протеина структурно связанной с клеточными стенками (табл.1). Именно эта фракция для некоторых кормов в связи с низкой потенциальной переваримостью и определяет переваримость СП в кишечнике. Разрыв связи при микробной

ферментации клетчатки увеличивает доступность внутриклеточных белков для протеолитических ферментов кишечника. При недостаточном разрушении клеточных стенок значительное количество белков остаются изолированными целлюлозной оболочкой, что приводит к снижению переваримости СП растительных кормов. Максимальная переваримость наблюдается при достаточной степени гидролиза клеточных стенок в преджелудках. Дальнейшее увеличение сроков инкубации приводит к росту распадаемости СП в рубце, но к снижению переваримости в кишечнике, что обусловлено снижением доли белков, доступных для действия пищеварительных протеолитических ферментов кишечника в остатках корма и возрастанием доли белков, имеющих низкую переваримость. В кормовых остатках значительно повышается доля азота, связанного с лигнин-целлюлозным комплексом, который в кишечнике не переваривается.

Анализируя зависимость переваримости от распадаемости по группам кормов следует отметить, что эта связь выражена в разной степени. Так, переваримость соевого шрота менее зависит от процессов распада в рубце, чем подсолнечного. Эта разница определяется, на наш взгляд, меньшим содержанием нейтрально-детергентной клетчатки и растворимых форм азота в соевом шроте. То же можно сказать о ячмене и пшенице. В ячмене содержится больше азота, связанного с клеточными стенками, поэтому снижение переваримости при высоких показателях распадаемости для него более выражено.

Исходя из выявленной зависимости переваривания нераспавшихся растительных белков в кишечнике от степени их распада в преджелудках, следует оптимизировать набор кормов для каждого рациона с целью наиболее эффективного использования аминокислот корма. Для этого возможно применение показателя эффективности использования СП, характеризующего степень общего извлечения СП из корма. Пример такого подхода показан в табл.2

Таблица 2

Эффективность использования СП кормов, %

подсолнечный шрот								
Распадаемость	16,6	24,4	25,9	41,8	58,2	86,7	91,8	
Переваримость	68,2	85,8	87,8	85,5	86,6	72,4	63,7	
Эффективность использования	66,1	78,5	77,8	74,5	68,8	58,2	56,6	
соевый шрот								
Распадаемость	26,4	28,8	33,4	39,4	44,6	45,5	47,8	61,6
Переваримость	62,4	82,7	90,2	97,0	96,5	94,0	90,2	87,1
Эффективность использования	60,7	75,0	78,7	80,8	78,4	76,7	73,8	67,9

Из табл. 2 видно, при каких значениях распадаемости СП этих кормов использование СП будет неэффективно. Если в данных условиях нельзя изменить структуру рациона и его состав, что и определяет степень распадаемости, следует подобрать другой протеиновый корм или провести мероприятия по изменению распадаемости этого корма (защита протеина или повышение доступности). Как видим из табл. 2, диапазон эффективного использования соевого шрота более широк, чем подсолнечного. В ближайшее время следует расширить исследования протеиновых кормов и протеиновых добавок по определению этой зависимости.

Таким образом выявленная зависимость переваримости СП кормов от их распадаемости в преджелудках позволяет направленно оптимизировать рационы по эффективности использования их протеиновой части и обоснованно применять мероприятия по защите кормовых белков.

Кишечный химус и процессы всасывания : новые аспекты

В.И.Георгиевский, Е.П.Полякова

*Московская сельскохозяйственная академия им. К.А.Тимирязева,
Москва, Россия*

Работа посвящена принципиально новым аспектам в области энтерологии и является логическим развитием теории пристеночного пищеварения. Основным положением этой теории считается то, что поступление питательных веществ из тонкой кишки во внутреннюю среду осуществляется благодаря организации и свойствам мембраны эпителиальных клеток кишечника с помощью пищеварительно-транспортной системы энтероцитов.

Кишечные ферменты входят в состав мультиэнзимных комплексов, которые фиксированы на мембране микроворсинок в виде мозаики дискретных единиц. При контакте олигомеров с ферментными ансамблями происходит гидролиз олигомеров до мономеров и сопряженное всасывание. Однако в этой стройной теории неясен механизм контакта олигомеров с ферментными ансамблями микроворсинок.

Вместе с тем при рассмотрении пищеварительных и транспортных процессов в тонкой кишке необоснованно исключен слой слизистых наложений, в состав которого входит слизь, фрагменты слущенных эпителиальных клеток, мембранные везикулы и т.д. Основным структурным и связующим компонентом пристеночного слоя кишечного эпителия является слизь. Она в большом количестве секретируется бокаловидными экзокриноцитами эпителиального пласта. Слизь в значительной степени определяет строение и свойства пристеночного слоя и его проницаемость. Вследствие присутствия слизи в пристеночном слое его назвали слизистым слоем или слоем слизистых наложений. Непрерывный слой слизи, покрывающий всю поверхность слизистой оболочки был обнаружен еще в 19 столетии и до сих пор считают, что слизь выполняет только защитную функцию. Однако в середине 80-х годов в нашей стране появились публикации о функциональной значимости этого слоя в кишечном пищеварении.

В настоящее время ряд отечественных ученых рассматривает слой слизистых наложений в качестве реакционной зоны, где происходит активный гидролиз. Огромное количество публикаций за рубежом относительно этой структуры связано с проблемой язвенной болезни и протективной роли муцина при данной патологии. Функция слизи проявляется и за пределами пристеночного слоя, поскольку она участвует в образовании пищевого кома, химуса и каловых масс, входя в состав так называемой плотной эндогенной фракции химуса. Эта фракция начинает формироваться в дуоденуме в результате слияния кислого желудочного содержимого со щелочным кишечным и десквамирующим слоем слизистых наложений. Плотная эндогенная фракция способствует топографическому сближению полостных ферментов с субстратом и, по-видимому, структурирует химус. Таким образом, принципиально новым в вопросах энтерологии является обнаружение двух новых реакционных зон кишечника — слоя слизистых наложений и плотной эндогенной фракции химуса, функции которых обусловлены строением слизи.

Мы, работая над вопросами всасывания микроэлементов в кишечнике птицы, обнаружили очень низкий процент абсорбции некоторых микроэлементов (особенно марганца) как из кормов, так и из минеральных солей элемента. Однако положительное влияние добавок марганца на птицу проявлялось и без увеличения всасывания элемента. Этот факт позволил нам предположить, что марганец участвует в процессах гидролиза и абсорбции питательных веществ в кишечнике. Для проверки этой гипотезы в опытах на курах,

получавших рационы с добавками и без добавок марганца (содержание элемента в рационе соответственно 100 и 50 мг/кг корма), мы исследовали кровь, притекающую к кишечнику и оттекающую от него в разные периоды после кормления.

Результаты исследования показали, что через 1 и 2 часа после приема корма в портальной крови птиц, получавших рацион с добавкой марганца, увеличивается концентрация аминного азота и кальция, в то же время концентрация марганца в этой крови практически не возрастает. Отсюда мы сделали вывод, что марганец каким-то образом облегчает всасывание аминокислот и кальция, при этом сам элемент во внутреннюю среду не поступает. С точки зрения теории пристеночного пищеварения этот факт невозможно объяснить, поскольку ни для одного из кишечных ферментов марганец не является специфическим активатором. Однако его комплексообразующие свойства в этом аспекте остаются вне поля зрения. Этот вопрос не исследован совершенно, поэтому мы решили для начала определить кишечную фракцию, в которой концентрируется элемент.

Опыт проводили на курочках, получавших корм с добавкой и без добавки марганца. В периоды натощак (12 ч после приема корма), через 1, 2 и 3 часа после кормления у убитых птиц извлекали кишечник. Стенку двенадцатиперстной, тощей, подвздошной и прямой кишок разделяли на серозу с мышечным слоем и мукозу; химус, по разработанной нами методике, на следующие фракции: растворимую, плотную эндогенную и пищевые частицы, отмытые от слизи.

В этом опыте плотную эндогенную фракцию химуса впервые рассматривали как функциональную структуру кишечника, количественные характеристики которой неизвестны, поскольку химус в настоящее время рассматривается как смесь пищевых частиц с кишечными ферментами. Вместе с тем известно, что в полость кишки поступает слизь бокаловидных клеток и десквамирующая слизистая оболочка и соотношения слизи и пищевых частиц не изучены. Поэтому одной из наших задач было определить сухую массу этой фракции относительно стенки кишки и других фракций химуса. Приняв за 100 % сумму сухой массы серозы, мукозы и всех фракций химуса, мы рассчитали процентную долю каждой из них.

В результате исследований установлено (табл. 1), что плотная эндогенная фракция химуса, представленная в основном слизью, увеличивается в каудальном направлении и в сухом виде составляет около 3 % от сухой массы двенадцатиперстной кишки, 6 % — тощей, 10 % — подвздошной и 15 % — прямой, причем наиболее высокие показатели, как это видно из табл. 1, отмечены в подвздошной и прямой кишках через 1 и 2 часа после приема пищи. Сухая масса пищевых частиц также увеличивалась в каудальном направлении, составляя 0,1–0,3 % в двенадцатиперстной, 5–8 % в тощей, 10–17 % в подвздошной и 26–30 % в прямой. И так же наиболее высокие показатели наблюдались в подвздошной и прямой кишках.

Эти данные свидетельствуют о том, что плотная эндогенная фракция имеет значительную сухую массу, сопоставимую с массой пищевых частиц. В нормальном же химусе плотная эндогенная фракция вследствие гидратации слизи увеличивает в несколько раз свой объем, чего не происходит с пищевыми частицами. Отсюда следует, что основной объем химуса представлен плотной эндогенной фракцией, а не пищевыми частицами. Последние плотно окружены слизью и как бы вкраплены в эту слизистую массу.

Исследуя содержание марганца в стенке кишок и фракциях химуса (табл. 2), мы обнаружили, что концентрация элемента в серозе мало зависит от уровня его в рационе. В мукозе наблюдается четко выраженная тенденция к увеличению концентрации марганца в группе с добавкой элемента. Только во фракциях химуса наблюдается существенное увеличение марганца (почти вдвое) в группе с добавкой

элемента. Причем самая высокая концентрация, как это видно из табл. 2, обнаружена в плотной эндогенной фракции. Это свидетельствует о том, что в группе без добавки марганца этот элемент освобождается из пищевых частиц и кумулируется плотной эндогенной фракцией химуса. В группе с добавкой элемента плотная эндогенная фракция адсорбирует на себе элемент из химической соли и кормовой. Причем, чем дальше кишка расположена от желудка, тем более выражено это явление.

Таблица 2

Концентрация марганца в кишечной стенке и фракциях химуса, мг % в сухом веществе

Кишки	Группа	Время после кормления, ч	Мукоза	Сероза	Фракции химуса			
					рфх	пэф	пч	
12-перстная	ОР	12	1,4±0,1	0,49±0,05	4,2±0,6	8,9±5,7		
		1	1,3±0,5	0,46±0,06	3,9±1,4	26,4±20,1		
		2	1,3±0,3	0,44±0,05	5,3±1,1	3,9±1,7		
		3	1,2±0,1	0,42±0,05	6,0±1,1	6,9±2,9		
	ОР+Mn	12	1,1±0,3	0,60±0,06	3,2±0,7	2,2±0,8		
		1	1,4±0,3	0,53±0,06	7,7±2,1	39,4±20,6		
2		2,1±0,8	0,62±0,11	12,4±3,3	9,9±3,9			
Тошная	ОР	12	1,5±0,4	0,65±0,1	5,5±2,3	6,7±2,3	10,6±8,1	
		1	2,1±0,7	0,5±0,04	9,8±3,7	35,0±16,1	3,1±1,3	
		2	2,4±0,5	0,47±0,07	13,7±1,2	50,0±6,1	9,7±1,8	
		3	0,0±0,18	0,60±0,03	20,3±3,5	34,6±10,8	6,6±2,3	
	ОР+Mn	12	1,9±0,5	0,61±0,04	13,2±4,5	44,3±25,6	8,0±1,7	
		1	4,0±0,8	0,98±0,19	22,6±4,9	64,1±25,2	9,5±2,3	
		2	4,5±0,4	1,03±0,35	29,2±3,1	88,0±13,8	12,1±1,7	
		3	2,8±0,7	0,83±0,11	43,0±15,7	23,0±6,2	6,3±0,8	
	Подвздошная	ОР	12	1,1±0,2	0,45±0,08	8,2±2,1	19,2±6,8	3,1±0,8
			1	0,6±0,05	0,25±0,02	17,9±7,9	28,2±8,3	3,4±0,8
			2	1,1±0,2	0,32±0,02	30,6±2,6	70,5±9,2	6,3±1,0
			3	1,6±0,1	0,41±0,04	38,0±6,6	69,7±18,7	6,5±1,4
ОР+Mn		12	1,2±0,2	0,37±0,06	19,3±9,2	60,5±29,6	5,9±1,9	
		1	1,4±0,3	0,59±0,1	44,0±2,8	101±3,4	12,1±2,7	
	2	2,7±0,21	0,52±0,11	72,0±23,0	159±21	10,2±1,2		
Прямая	ОР	12	1,6±0,6	0,54±0,12	24,7±0,1	18,7±12	3,6±1,6	
		1	1,9±0,6	0,41±0,08	32,9±8,5	36,3±3,6	9,3±5,1	
		2	1,9±0,2	0,41±0,06	33,0±7,7	76±11	7,9±1,1	
		3	2,2±0,3	0,39±0,04	62,0±8,2	68±4,4	5,7±2,0	
	ОР+Mn	12	1,7±0,5	0,39±0,04	30,6±12,8	48±35	2,7±0,14	
		1	3,6±0,21	0,56±0,04	31,7±8,5	110±47	3,5±0,0	
		2	4,1±0,64	0,48±0,03	75,0±17,0	172±41	15,2±2,7	
		3	3,6±0,48	0,46±0,11	82,0±21,0	120±18	19,3±2,7	

Зная концентрацию марганца в стенках кишок и фракциях химуса и их сухую массу, мы рассчитали валовое содержание марганца в кишке и его распределение в серозе, мукозе и по фракциям химуса. Эти данные, представленные в табл. 3, свидетельствуют, что в двенадцатиперстной кишке, в группе без добавки марганца 60 % абсолютной массы элемента обнаруживается в стенке кишечника. Около 30 % находится в растворимой фракции. Поскольку в этой группе марганец в рацион не добавляли, это говорит о том, что элемент начинает освобождаться из пищевых частиц и переходит в растворимую фракцию химуса. В тонкой кишке в этой группе уже 45 % марганца обнаруживается в плотной эндогенной фракции. В подвздошной и прямой кишках кумуляция марганца плотной эндогенной фракцией усиливается и доходит до 70 %. В группе с добавкой сернокислой соли марганца в двенадцатиперстной кишке элемент обнаруживается в основном в растворимой фракции. Поскольку кумуляция марганца мукозой не увеличивается, это свидетельствует о том, что дополнительно введенный элемент, по-видимому, не всасывается в этом участке кишечника и плотной эндогенной фракцией еще не связывается. В тощей кишке основная масса марганца обнаруживается в плотной эндогенной фракции (до 45 %). В подвздошной и прямой кишках содержание марганца закономерно увеличивается, доходя до 60–70 %.

Таким образом, в нашем опыте увеличение массы плотной эндогенной фракции химуса сопровождалось увеличением кумуляции ею марганца. Однако в подвздошной и прямой кишках эта фракция составляла 8–20 % от сухой массы всей кишки, а содержание марганца в них доходило до 60–70 %. Это говорит о том, что, по-видимому, плотная эндогенная фракция имеет сродство к марганцу. Отсюда следует, что мы приблизились к пониманию причин низкого всасывания марганца в кишечнике. Этот катион, а возможно и другие катионы, связываются плотной эндогенной фракцией химуса и тем самым либо ограничивается уровень его абсорбции, либо марганец, как активный комплексообразователь, взаимодействует с мукополисахаридами плотной эндогенной фракции химуса, способствует формированию последней и химуса в целом, участвуя тем самым в гидролизе и абсорбции пищевых веществ. Обе точки зрения представляют большой теоретический интерес.

Функции тонкой кишки в эмбриогенезе

Л.П.Тельцов

*Мордовский госуниверситет им.Н.П.Огарева,
Саранск, Россия*

Пищеварение, как часть специфического обмена веществ организма, складывается из четырех основных процессов: 1 — выделения соков, ферментов и гормонов; 2 — экскреции веществ; 3 — моторики или сокращения; 4 — всасывания продуктов расщепления (1, 17). В зависимости от локализации действия ферментов принято различать три типа пищеварения: 1) Внеклеточное или дистантное, полостное пищеварение, которое обеспечивается ферментами полостей за пределами клеточных территорий (17,18). 2) Внутриклеточное пищеварение или расщепление субстратов, проникающих внутрь клетки; ферменты локализуются в лизосомах клетки (20); 3) Мембранное пищеварение, осуществляемое ферментами на поверхности клеточных мембран и на щеточной каемке энтероцитов (7, 17). Ферменты могут быть синтезированными клетками и

адсорбированными из полости. Мембранный гидролиз является механизмом, превращающим пищеварение и всасывание в единый процесс конвейерного типа (7).

Для осуществления этих типов пищеварения и их физиологической регуляции требуется определенная конструкция органа и специфическая дифференцировка его тканей и клеток. Если для взрослого животного это положение принимается как должное, то для доказательства "зрелости" структур кишечника у плодов млекопитающих потребовались специальные исследования (16). Исследования показали, что пищеварительная система уже к 4,5–5-месячному возрасту плода человека и животных (крупный рогатый скот) структурно оформляется и осуществляет "эмбриональное пищеварение".

Специфичность "эмбрионального пищеварения", как первого этапа формирования функций пищеварительной системы, впервые обоснована в 1969 г (8, 11, 14). Эмбриональное пищеварение у плодов млекопитающих качественно отличается от пищеварения у новорожденных и взрослых по набору ферментов, локализации и активности их (6, 12), специфичностью межклеточного обмена веществ, протекающего в условиях низкого гравитационного фактора (2, 12, 13).

"Эмбриональное пищеварение" у высших млекопитающих включает три основных типа: первоначально формируется (до 5–5,5-месячного возраста плода коровы) внутриклеточное пищеварение, затем — мембранное (до 7–7,5 мес.), позднее — полостное (от 7–7,5 мес. до рождения). "Эмбриональное пищеварение" в тонкой кишке у плодов коров и человека до 7–7,5 мес. протекает преимущественно по типу внутриклеточного и мембранного, а позднее оно дополняется полостным (9).

Однако становление функций тонкой кишки в эмбриогенезе у высших млекопитающих изучено недостаточно (16). Развитие пищеварительных органов происходит в конкретных условиях внутриутробного питания, которое определяется морфофункциональными особенностями внезародышевых провизорных органов и плацентарных взаимоотношений. Туловищная кишка служит источником образования желточного мешка, аллантаоиса и пищеварительных органов желудка, печени, поджелудочной железы, тонкого и толстого кишечника (3). На зародышевом и предплодном этапах органы пищеварения, участвуя совместно с провизорными органами в гистотрофном и гемотрофном питании плода, осуществляют всасывание и экскрецию различных веществ. На плодном этапе развития, в связи с дальнейшим развитием гемотрофного и амниотрофного питания, всасывательная и экскреторная функции тонкой кишки не утрачиваются, а наоборот усиливаются.

Экскреторная функция тонкой кишки формируется вначале как функция энтодермы туловищной кишки (на 20–40 сутки эмбриона), затем как экскреторная функция энтероцитов и слизистой оболочки временного органа (на 45–90 сутки), а позднее — как функция всей кишечной стенки definitivoного органа (от 5–5,5 мес. до рождения). Всасывательная функция тонкой кишки формируется первой из всех функций одновременно с формированием туловищной кишки, как функция клеток энтодермального зачатка, эпителиального слоя стенки кишечника и энтероцитов. Позднее всасывательную функцию осуществляет слизистая оболочка и вся кишечная стенка. Специализация функций тесно связана с развитием кровеносной и лимфатической систем слизистой оболочки и всей кишечной стенки, кровоснабжением тонкой кишки и адаптацией пищеварительной системы к питанию плода. Эти процессы сопровождаются глубокой специализацией белкового, нуклеопротеидного и углеводного обмена энтодермального эпителия, щеточной каймы и базальной мембраны

энтероцитов. Существенное влияние на обменные процессы, всасывание и экскрецию тонкой кишки играет гемотрофный тип питания плода. Однако экскреторная функция тонкой кишки является производным гистотрофного питания, а не гемотрофного, как указывает в своей работе Л.В.Давлетова (4). Интенсивность экскреторных процессов пищеварительной системы у плодов сельскохозяйственных животных зависит от строения плаценты. Чем теснее связь хориона со слизистой матки, тем менее выражены экскреторные процессы. Поэтому экскреторные функции пищеварительных органов у плодов свиньи выражены сильнее, чем у плодов коровы, овцы и человека (9). Амниотрофное питание оказывает меньшее влияние на обменные, всасывательные и экскреторные процессы тонкой кишки, особенно на белковый обмен, чем гистотрофное питание. Как показали люминесцентно-микроскопические исследования, эндогенный белок (он флюоресцирует темно-зеленым цветом) из плазмы крови и лимфы капиллярной сети стенки тонкой кишки поступает значительно раньше, т.е. на предплодном этапе. Эндогенный белок на плодном этапе образуется также при гидролизе отторгнувшихся дегенерирующих эпителиальных клеток переднего отдела пищеварительной системы, желудка и кишечника в процессе гистогенеза и формообразовательных процессов, главным образом, в результате участия кишечной стенки в межтучном обмене системы "мать → плод → мать".

Синтетическая функция (секреция сока, ферментов и гормонов) тонкой кишки у плода коровы возникает позднее экскреторной и всасывательной. Секреторная функция осуществляется бокаловидными энтероцитами (БЭ, 70–105 сут), секреторирующими структурами — криптами (70–95 сут.) и дуоденальными железами (3–3,5 мес.), функциональная деятельность которых происходит одновременно с их формированием. Содержимое тонкой кишки у зародыша коровы до 70-сут. возраста является результатом деятельности только экскреторных и обменных процессов энтероцитов, так как БЭ и крипты к этому возрасту еще не закладываются. В формировании кишечника плода от 70 до 135 сут. принимает участие секреторная деятельность формирующихся БЭ и крипт, а позднее и дуоденальных желез (9, 10, 11).

Гидролитические ферменты биологическими исследованиями в содержимом тонкой кишки у плодов коровы до 4,5–5-мес. возраста не выявляются. Гистохимическими методами обнаруживается невысокая активность липазы, лейцинаминопептидазы и щелочной фосфатазы. Следовательно, синтетическая функция тонкой кишки первоначально складывается из секреции сока. Ферментовыделительная функция формируется начиная с 5–7-мес. возраста, хотя активность ферментов в содержимом кишечника невысока. Одновременно с ферментовыделительной функцией формируется и гормональная. Таким образом, содержимое тонкой кишки плода коровы, начиная с 5-мес. возраста и до рождения, является продуктом экскреторной, соковыделительной, ферментовыделительной и гормональной функций (8, 11).

Сократительную функцию стенки кишечника выполняет ее мышечный аппарат. Дифференциация миобластов из мезенхимных клеток и закладка внутреннего мышечного слоя в стенке тонкой кишки происходит у зародыша коровы на 30–45 сут. Наружный мышечный слой формируется позднее — на 50–70 сут. К 4-мес. возрасту плода образуется мышечная система ворсинок и слизистой оболочки. Гистохимические исследования гладкомышечной стенки тонкой кишки плодов коровы показали, что она к 4,5–5-мес. возрасту достигает высокого уровня и вступает в специфический период развития, который характеризуется: а) сформированными пучками внутреннего и наружного мышечного слоя; б) специфическим строением мышечных

слоев из высокодифференцированных гладкомышечных клеток; в) наличием в гладкомышечных клетках миофибрилл, высоким уровнем белкового и углеводного обмена, стабильным ядерно-цитоплазматическим отношением; г) хорошо сформированным трофическим и опорным аппаратом мышечной ткани; д) развитой регулирующей нервной системой (13). Толщина мышечной оболочки имеет во всех отделах тонкой кишки высокий относительный прирост в % по Броди на 3, 6, 9 мес. Первый подъем связан с формированием мышечной оболочки, а второй и третий — с интенсивной деятельностью мышечной системы в эмбриогенезе. Проведенные нами визуальные наблюдения по моторике тонкой кишки у плода коровы, гистологические и цитохимические исследования и данные литературы по сократительной деятельности кишечника плодов человека и животных (2, 5, 19) дают основания заключить, что тонкий кишечник во второй половине утробного развития осуществляет сократительную деятельность. О выполняемой дефинитивной функции гладкой мышечной ткани тонкой кишки свидетельствуют исследования S.G.Luigi (22). В опытах *in vitro* автором показано, что реакция на холинэргические агенты качественно одинакова на кусочках тонкой кишки у плодов и взрослых животных.

Таким образом, тонкая кишка коровы к 5–5,5-мес. возрасту формирует все составляющие элементы процесса пищеварения — всасывание, экскрецию, секрецию сока и ферментов, выделение гормонов и моторику. Во второй половине утробного развития эти функции тонкой кишки не только регистрируются, но и анализируются.

Выполненная работа открывает новое направление в физиологии — изучение "эмбрионального пищеварения" как первого этапа становления специфической пищеварительной функции. Познание его в возрастном, эволюционном и сравнительном аспектах является необходимым элементом в системе биологического управления развитием и повышения продуктивности животных.

Литература

1. Голиков А.Н. и др. Физиология сельскохозяйственных животных. М.: Агропромиздат, 1991: 432.
2. Ефимов А.Е. и др. О некоторых закономерностях формирования и развития функций пищеварительной системы крупного рогатого скота в онтогенезе. Претв. в жизнь...Матер.научн. конф. Л., 1971: 84-85.
3. Давлетова Л.В. Биология развития органов пищеварения жвачных и всеядных животных. М.: Наука, 1974: 135.
4. Давлетова Л.В. Обменные функции желудочно-кишечного тракта плода млекопитающих как форма его участия в процессах внутриутробного развития. С.-х. биология, 1976, 1:74-84.
5. Кобакова Е.М. Нервная регуляция двигательной функции тонкого кишечника в онтогенезе. Л.: Наука, 1968.
6. Криницин Д.Я., Тельцов Л.П. Эстеразная активность двенадцатиперстной кишки плодов и телят крупного рогатого скота. Биохимия, морфология, физиология с.-х. животных и пушных зверей. Омск, 1980: 56-58.
7. Смирнов К.В., Уголев А.М. Космическая гастроэнтерология. Трофические очерки. М.: Наука, 1981: 277.
8. Тельцов Л.П. Морфогистохимические и биохимические данные об эмбриональном пищеварении в тонком кишечнике крупного рогатого скота. Сб. мат. 4 научн. конф. физиол., биохим. и фармакологов Западно-Сибирского объединения. Красноярск, 1969, Т.2. Биохимия и фармакол.: 681-683.
9. Тельцов Л.П. Формирование пищеварительной функции у плодов высших млекопитающих. Тез.докл.Всесоюзн.конф.по анат., гистол. и эмбриол. с.-х. жив. М., 1972, ч.1: 136.
10. Тельцов Л.П. Формирование функции тонкого кишечника в эмбриогенезе. Тр. Костр.с.-х. ин-та, Караваево, Кострома, 1973, вып.42: 93-100.

11. Тельцов Л.П. Морфофункциональная характеристика эмбрионального пищеварения у высших млекопитающих. Фундаментальные проблемы гастроэнтерологии. Тез. докл. XII Всес.конф., Львов, 1977: 317-318.
12. Тельцов Л.П. Формирование мембранного пищеварения у плодов крупного рогатого скота. Теорет. и прикл. аспекты мембр. пищевар. Тез.докл. II Всес.симп. Рига.:Зинатне, 1978: 131-133.
13. Тельцов Л.П. Закономерности морфофункционального развития тонкой кишки крупного рогатого скота в онтогенезе. Автореф.дисс... дбн. Казань,1984.
14. Тельцов Л.П. Эмбриональное пищеварение у плодов млекопитающих. Ученые Морд. универс. в НТП. Саранск.:изд.Морд.ун-та,1989:59-60.
15. Тельцов Л.П. Эмбриональное пищеварение у плодов млекопитающих. Физиол. прод. жив. реш.продов.прогр.СССР. Матер.Всес.конф.,Тарту, 1989.Ч.2,1990:99-100.
16. Тельцов Л.П., и др. Функциональная морфология тонкой кишки в эмбриогенезе. Саранск: изд. Морд.ун-та,1993: 196.
17. Уголев А.М. Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций. Л.: Наука,1985.
18. Шлыгин Г.К. Секреторная деятельность тонкого кишечника. Физиология пищеварения. Л.: Наука, 1974: 453-474.
19. Becker R.,Windle W. Origin and extent of gastrointestinal motility in the calf and guinea pig. Amer.J.Physiol.,1941,132,2:297-304.
20. De Duve C.,Wattiaux K. Functions of lysosomes. Annu.Rev.Physiol.,1966, 28: 435-492.
21. Foetal and neonatal physiology. Cambridge: Univ.Press,1973: 86.
22. Luigi S.G. Response of bovine foetal intestine to cholinergic agents during embryogenesis. Vet.Sci.Commun.,1979,3,1: 53-63.

Механизмы всасывания летучих жирных кислот из рубца-сетки у овец и северных оленей

А.В.Чалышев

Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

В многокамерном желудке, по отношению ко всему желудочно-кишечному тракту, всасывается минеральных элементов, с учетом поступления с секретами пищеварительных желез, у овец 30–50 % и у северных оленей 50–70 % (6). Основная роль при этом принадлежит рубцу-сетке, где главным фактором, определяющим всасывание ионов, служит образование и перенос через эпителий летучих жирных кислот (ЛЖК) — ацетата, пропионата и бутирата.

Вопрос о том, сопряжен ли перенос ионов через эпителий рубца-сетки с всасыванием анионов ЛЖК остается открытым. А.Э.Вебер (2) в опытах на изолированном рубце установил, что участие в этом процессе натрия, калия, кальция и магния не является специфичным и одни катионы могут быть заменены эквивалентным количеством других. S.Oshio, I.Tahata (12) в сходных исследованиях показали, что ионы калия и натрия не оказывают влияния на скорость всасывания ЛЖК, однако последняя пропорциональна концентрации фосфата в рубцовом содержимом. По их мнению, ЛЖК увлекаются потоком раствора из полости в кровь, а фосфаты увеличивают проницаемость поверхностного эпителия рубца, состоящего из бислойных фосфолипидов. В опытах с фармакологическим воздействием на транспортные системы рубцового эпителия *in vitro* показана зависимость всасывания анионов ЛЖК от натрия (10). Такая же закономерность установлена нами в исследованиях *in vivo* (7). Движение бикарбонатов со стороны эпителия имеет, очевидно, большое физиологическое значение и, вероятно, обусловлено высоким

уровнем бикарбонатов в крови жвачных животных, хотя прямых доказательств такой зависимости не имеется. После обнаружения в эпителии рубца высокой активности карбоангидразы (8) роль главного поставщика бикарбонатов для обмена на анионы ЛЖК отводится этой ткани (3, 13).

К настоящему времени остались недостаточно выясненными как процессы котранспорта и антипорта анионов ЛЖК с другими ионами, так и особенности действия механизмов всасывания ЛЖК в зависимости от характера питания, состояния внутреннего гомеостаза у жвачных животных. Задачей данной работы стала проверка гипотез о сопряженном трансцеллюлярном переносе через эпителий рубца-сетки анионов ЛЖК с катионами натрия и калия и о влиянии на скорость всасывания этих кислот состояния кислотно-щелочного равновесия крови у домашних и диких жвачных животных.

Эксперименты были проведены в зимний и весенний сезоны года на семи баранах-кастратах (40–45 кг) и двух самках северного оленя (55 и 66 кг) с хроническими фистулами рубца. Потребление минеральных веществ у баранов-кастратов на протяжении одного опытного периода составляло 45, другого — 20 г на голову в сутки. Северных оленей (третий опытный период) содержали на ягельном рационе (3,5 г минеральных веществ на голову в сутки). Временную изоляцию рубцово-сетковой полости осуществляли по методике А.Ф.Симакова и А.Э.Вебера (4). Слюна во время эксперимента не поступала в полость рубца-сетки. В освобожденном от химуса рубце-сетке в течение трех часов с пятикратной повторностью инфузирова­ли искусственные растворы, близкие по составу ионов к натуральной рубцовой жидкости при соответственном уровне минерального питания. Взвешивали раствор и отбирали пробы в эксперименте ежечасно. В пробах определяли рН на лабораторном цифровом рН-метре, натрий, калий, кальций и магний — методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии, аммоний — по Конвею, ЛЖК (ацетат, пропионат и бутират) — методом газовой хроматографии, хлориды — потенциметрическим титрованием, фосфаты — по Фиске-Сиббароу, бикарбонаты — по Ван Слайку, кислотно-щелочной баланс в крови — методом Аструпа. Результаты обрабатывали статистически.

Гипотеза о трансцеллюлярном всасывании натрия и калия совместно с анионами ЛЖК проверена в опытах по фармакологическому влиянию на системы переноса катионов. Ингибирование карбоангидразы в организме овец и северных оленей ацетазоламидом резко сокращает ($P < 0,001$) скорость всасывания натрия и особенно калия (рис. 1 и 2), оказывая мало влияния на скорость исчезновения из растворов анионов ЛЖК (рис. 3). Включение в инфузируемый раствор строфантина К до концентрации в растворе 10^{-2} мМ приблизительно вдвое уменьшает скорость всасывания натрия ($P < 0,01$), не изменяя ее достоверно у анионов ЛЖК. Результаты опытов позволяют отвергнуть гипотезу о зависимости переноса анионов ЛЖК через эпителий рубца-сетки от натрия и калия и на основе представленных и предварительных данных (5, 7) заключить, что трансцеллюлярный котранспорт анионов ЛЖК с катионами в этом органе у овец и оленей отсутствует или его роль невелика. Характерное для жвачных животных, особенно диких, широкое отношение поступления калия к натрию (до 100–200:1) с кормами формирует определенный дефицит последнего элемента в организме. Поэтому автономный от катионов перенос через эпителий преджелудков важнейших для этих животных субстратов оправдан эволюционно.

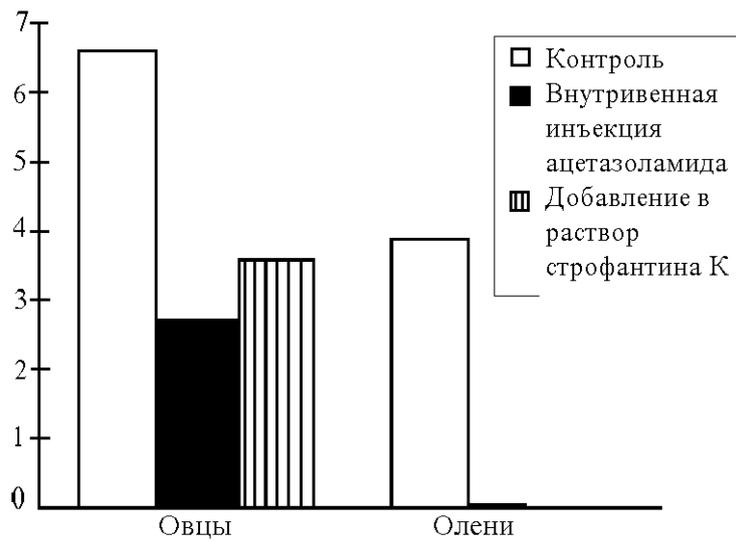


Рис. 1. Скорость всасывания натрия из рубца–сетки овец и северных оленей

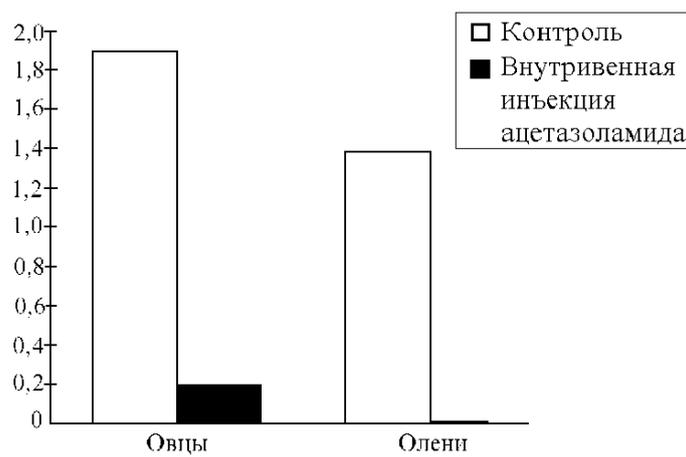


Рис. 2. Скорость всасывания калия из рубца–сетки овец и северных оленей

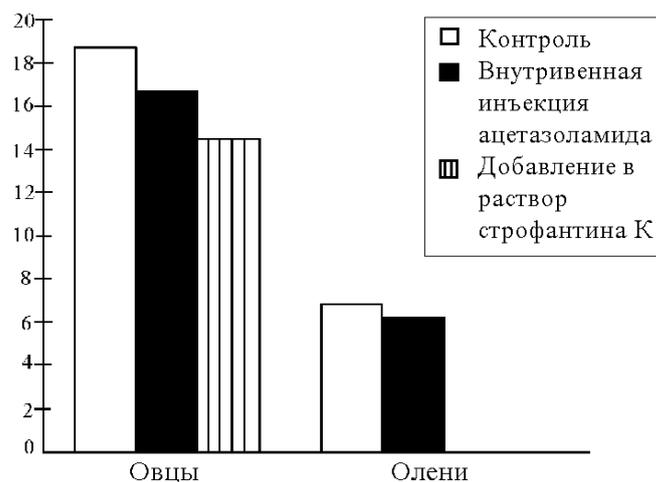


Рис. 3. Скорость всасывания летучих жирных кислот (в сумме) из рубца–сетки овец и северных оленей

Важным фактором, влияющим на скорость всасывания ЛЖК, является состояние кислотно-щелочного баланса в крови. Отведение в эксперименте слюны уменьшает количество циркулирующего в организме подопытных животных натрия, что приводит к обратимому смещению их кислотно-щелочного баланса в крови в сторону метаболического ацидоза (табл.). Параллельно резко сокращается скорость всасывания анионов ЛЖК (рис. 4).

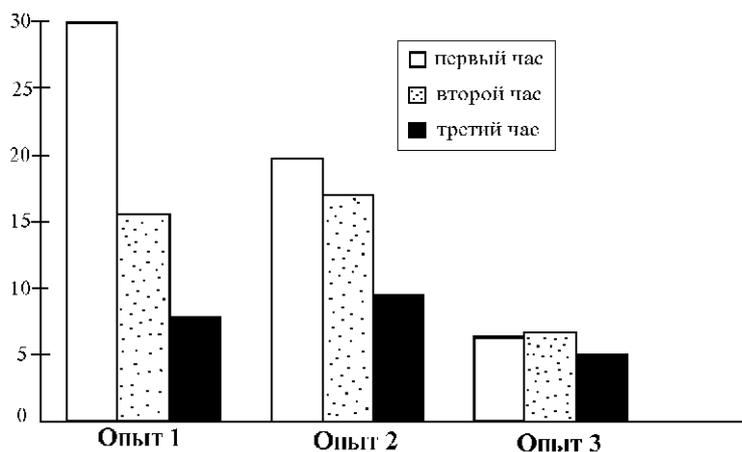


Рис. 4. Скорость всасывания летучих жирных кислот (в сумме) из рубца–сетки овец (опыты 1 и 2) и северных оленей (опыт 3) по часам инфузии

Гипотеза о влиянии состояния кислотно-щелочного баланса в крови на всасывание анионов ЛЖК проверена в опыте с инфузией во временно изолированный рубец-сетку овец раствора с одной и той же почасовой концентрацией ионов (ЛЖК = 100 мМ/л) на фоне формирования обратимого метаболического ацидоза в крови. Скорость всасывания ЛЖК в этой серии опытов уменьшалась на третий час инфузии, по сравнению с первым, на четверть ($P < 0,05$). Следовательно, при стабильном уровне кислот в инфузируемом растворе изменение кислотно-щелочного баланса в крови овец влияет на скорость абсорбции ЛЖК.

Таблица

Кисотно-щелочное равновесие в крови при инфузии искусственной рубцовой жидкости в рубец-сетку у овец

Показатели	До опыта	Часы опыта		
		первый	второй	третий
рН истинный	7,42±0,01	7,37±0,02	7,37±0,01	7,39±0,01
рН метаболический	7,44±0,01	7,36±0,02	7,34±0,01	7,34±0,01
P _{CO2} истинное, мм.рт.ст.	42,9±1,1	38,5±1,1	36,2±1,0	34,3±1,0
Сдвиг оснований, мэкв/л	+2,8±0,4	-2,9±0,9	-4,0±1,0	-3,8±0,9
Буферные основания, мэкв/л	50,5±1,3	45,1±1,3	41,0±0,9	39,4±1,0
Стандартный бикарбонат, мэкв/л	27,1±0,6	21,9±0,7	20,8±0,8	21,0±0,6
Истинный бикарбонат, мэкв/л	27,2±0,6	21,8±0,7	20,4±0,8	20,6±0,7
Общий CO ₂ , мэкв/л	28,5±0,8	23,0±1,1	21,5±0,9	21,6±1,0

Количество повторностей равно пяти.

Этот фактор наиболее отчетливо проявляется у диких по характеру питания жвачных животных. Скорость всасывания анионов ЛЖК у северных оленей, содержащихся на ягельном рационе, в 2,5–3 раза ниже, чем у овец при сопоставимых у обоих видов уровнях в исходном растворе (рис. 4, опыты 2 и 3). Благодаря обилию и длине сосочков общая поверхность рубца-сетки у северных оленей даже в зимний период года больше, чем у овец (11), поэтому относительно низкая скорость всасывания ЛЖК у оленей обусловлена не морфологическими, а функциональными причинами. Главными из них являются отмеченные А.Э.Вебером (1) низкие резервы бикарбоната и эквивалентных ему катионов натрия и калия в организме северного оленя по сравнению с овцами в зимний период года. Внутривенная инъекция ацетазоламида, усугубляющая метаболический ацидоз в организме, значительно сильнее угнетает секреторную функцию слюнных желез у северных оленей, чем у овец (9).

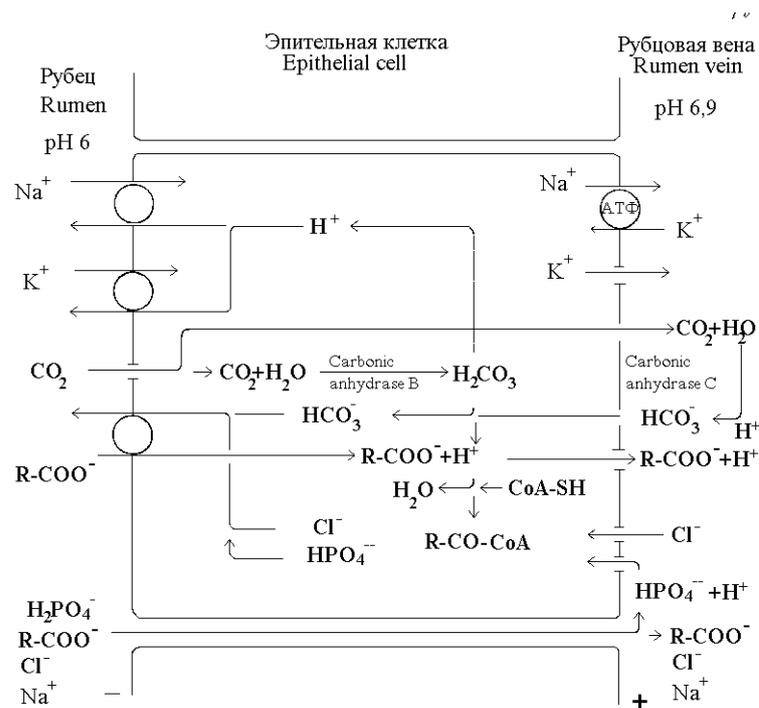


Рис. 5. Схема переноса ионов через эпителий рубца–сетки овец и северных оленей

Полученные в экспериментах на изолированном рубце-сетке овец и северных оленей данные суммированы на схеме (рис. 5). Перенос калия и натрия через апикальную мембрану клетки происходит посредством обмена на протон. Ионы натрия, поступившие в клетку, удаляются из нее натрий-калиевой АТФазой. Рециркулированный протон соединяется в рубцовой жидкости с ионом бикарбоната или аммиаком. Образующийся в процессе ферментации углеводов корма углекислый газ легко диффундирует в эпителиальные клетки, где часть его гидратируется карбоангидразой В с образованием бикарбоната и водорода, а большая часть проникает в кровь, где аналогичный процесс катализируется карбоангидразой С. Как видно, протон может использоваться в цикле неоднократно. Диффундирующий из плазмы крови бикарбонат и бикарбонат самой эпителиальной клетки покидает ее в ходе обменной диффузии на поступающие анионы ЛЖК. Часть анионов ЛЖК проникает в клетку в обмен на анионы и хлора, и фосфора, а около половины транспортируется по градиенту концентрации в направлении положительного потенциала плазмы крови межклеточным путем.

Таким образом, энтеральный и внутренний гомеостаз жвачных животных и их энергообмен связаны прямой и обратной связью через обеспечение катионами и формирование кислотно-щелочного баланса в организме. Использование диффузии углекислого газа и рециркуляции продукта его гидратации — бикарбоната в качестве движущей силы для транспорта питательных веществ является одним из важнейших приспособлений метаболизма жвачных животных к специфической трофической нише.

Литература

1. Вебер А.Э. Сезонные изменения обмена электролитов и кислотно-щелочных отношений в организме северных оленей и лосей. Автореф. дисс...кбн, Боровск, 1976.
2. Вебер А.Э. Транспорт ионов в преджелудках жвачных животных. Серия препринтов "Научн.докл." АН СССР, Коми фил., Сыктывкар, 1984, вып. 113.
3. Кочанов Н.Е. Метаболизм рубца и состояние ионного равновесия в организме жвачных животных. Серия препринт. "Научн.докл." АН СССР, Коми фил., Сыктывкар, 1982, вып. 86.
4. Симаков А.Ф., Вебер А.Э. Методика изоляции преджелудков жвачных животных. Кормление и обмен веществ у жвачных животных. Тр.Коми фил. АН СССР, 38. Сыктывкар, 1978.
5. Чалышев А.В. Физиологическая роль карбоангидразы в слюнной железе и стенке рубца жвачных. Сер. преприн. "Научн.докл." АН СССР, Коми фил., Сыктывкар, 1986, вып. 28.
6. Чалышев А.В., Вебер А.Э. Сравнительная физиология усвоения минеральных веществ у жвачных животных на Севере. Физиология пищеварения и репродукция жвачных животных. Тр.Коми научн.центра УрО РАН, 137, Сыктывкар, 1994.
7. Чалышев А.В., Витязев Д.В. Обмен электролитов и аминокислот в преджелудках овец. Обмен веществ жвачных животных. Тр.Коми научн.центра УрО АН СССР, 105, Сыктывкар, 1989.
8. Aafjes J.H. Carbonic anhydrase in the wall of the forestomachs of cows. Br.Vet.J., 1967, 123, 4: 252-256.
9. Chalyshev A.V. A low stability of reindeer rumen and blood homeostasis as compared to sheep. Intern.Conf."Arctic Town and Environment", Vorkuta, Komi Republic, Russia, Sept. 11-16, 1994. Syktyvkar, 1994:14.

10. Diernes L., Schested J. et al. In vitro absorption of sodium across the rumen epithelium of cattle — effects of SCFA concentration and amiloride. Acta Physiol.Scand., 1992, 146, 608: 157.
11. Hoffmann R.R. Evolutionary steps of ecophysiological adaptation and diversification of ruminants: a comparative view of their digestive system. Oecologia, 1989, 78:443-457.
12. Oshio S., Tahata J. Absorption of dissociated volatile fatty acids through the rumen wall of sheep. Can.J.Anim.Sci., 1984, 64, 1: 167-168.
13. Stevens C.E. Transport across rumen epithelium. In: Transport mechanisms in epithelia. N.Y.: Acad.Press, 1973: 404-426.

Некоторые особенности процесса пищеварения у коров, получавших солому в летних рационах

В.Н.Никулин

*Оренбургский государственный аграрный университет,
Оренбург, Россия*

Изменение структуры рациона за счет использования соломы способствует некоторому изменению характера пищеварения у коров. Наши наблюдения за этими изменениями начали с изучения процесса жвачки (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика жвачного процесса у коров

Показатель	При кормлении люцерной		При кормлении кукурузой	
	I	II	I	II
Количество жвачных периодов	13,83±0,89	12,00±0,71	14,33±1,08	13,50±0,35
Продолжительность одного жвачного периода, мин.	36,57±2,86	46,83±2,14	33,47±2,40	40,33±1,76
Количество пищевых комов за 1 период жвачки	42,14±2,39	44,68±2,50	47,04±1,47	50,00±1,25
Количество жевательных движений за 1 пищевой ком	49,40±3,02	51,52±2,80	45,47±2,89	47,12±3,90
Продолжительность пережевывания одного пищевого кома, сек	52,07±0,71	62,88±1,01	42,68±2,88	48,46±2,90
Время между кормлением и появлением первой жвачки, мин	19,00±2,45	15,00±3,74	20,00±2,12	17,33±1,78
Продолжительность жвачки в сутки, час	8,43±0,18	9,33±0,15	8,03±0,24	9,07±0,33

Здесь и далее в таблицах: I — контрольная; II — опытная.

Как видно из табл. 1, необходимость дополнительных затрат на механическую переработку соломы сказалась на большей продолжительности жвачки у подопытных животных. Частоту сокращений рубца можно рассматривать как один из показателей его функционального состояния. Исследования проводили на 10 животных (5 контрольных и 5 опытных) параллельно с изучением переваримости питательных веществ. Установлено (табл. 2), что у жвачных животных, получавших солому, число сокращений рубца за 10 минут во время жвачки, по сравнению с моментом приема корма уменьшалось при

кормлении люцерной на 3,4, а при кормлении кукурузой — на 3,2. В контрольной группе разница была более выражена: на 5,2 и 4,8 сокращений соответственно.

Таблица 2

Число сокращений рубца у коров за 10 минут

Группа	Число сокращений рубца	
	во время приема корма	во время жвачки
При кормлении люцерной		
I	18,60±1,04	13,4±0,57
II	18,80±1,08	16,4±0,88
При кормлении кукурузой		
I	19,20±1,00	14,4±0,57
II	19,40±0,88	17,2±0,74

Если в период приема корма по числу сокращений рубца разница была минимальной, то во время жвачки она увеличилась на 3,0 ($P<0,05$) и 2,8 ($P<0,05$). Следовательно, обогащение рациона клетчаткой способствует усилению моторики пищеварительного аппарата, так как грубоволокнистый материал повышает тоническую активность нейронов, ответственных за моторику рубца. Это обеспечивает более энергичное перемешивание химуса, способствующее активации ферментативных процессов.

Скорость, с которой пища продвигается через различные отделы желудочно-кишечного тракта, является одним из факторов, определяющих усвоение питательных веществ из того или иного корма. Как показали исследования, различный уровень концентрации структурных элементов в рационе оказал влияние на скорость прохождения корма по всему пищеварительному тракту (табл.3).

Время выделения первых порций окрашенного корма, как при использовании люцерны, так и кукурузы, существенно не различалось. Это дает основание предполагать, что увеличение в рационе клетчатки не оказало существенного влияния на время пребывания корма в сычуге и кишечнике. По времени выделения последних порций была отмечена достоверная разница ($P<0,001$), Следовательно, эта задержка связана с более длительным нахождением корма в преджелудках. Средняя длительность переваривания корма у животных опытной группы была достоверно выше. Клетчатка соломы, улучшая физическую структуру рациона, способствует задержке эвакуации содержимого из рубца в другие отделы желудочно-кишечного тракта, что способствует более глубокому ферментативному и особенно бактериальному гидролизу, в результате чего более полно перевариваются и усваиваются питательные вещества.

Таблица 3

Скорость прохождения и время пребывания корма в пищеварительном аппарате коров

Группа	Скорость прохождения первой порции, час	Время пребывания последней порции, час	Средняя длительность пребывания корма в пищевом аппарате, час
При кормлении люцерной			
I	9,52±0,12	108,22±0,29	58,87±0,17
II	9,48±0,11	121,78±0,33	65,61±0,22
При кормлении кукурузой			
I	9,36±0,15	108,35±0,44	58,86±0,28
II	9,54±0,17	120,17±1,55	64,86±0,86

Особенности процесса пищеварения и характер образующихся в рубце метаболитов обуславливает своеобразие обмена веществ у жвачных животных и использования метаболитов в тканевом обмене. Для более глубокой информации о влиянии соломы на специфику преджелудочного пищеварения дойных коров нами были изучены некоторые биохимические показатели рубцового содержимого (табл. 4).

Исследования рубцового содержимого проводили по окончании балансовых опытов. Увеличение выделения слюны в результате более продолжительной жвачки у опытных животных способствовало повышению рН на 0,64 при кормлении люцерной и на 0,56 при кормлении кукурузой. Снижение количества аммиака у животных 2-й подгруппы при кормлении люцерной на 4,57 мг % приводило к активизации деятельности микрофлоры, в результате чего их целлюлозолитическая активность увеличивалась на 1,33 % ($P < 0,05$). При кормлении кукурузой увеличению активности микрофлоры способствовало снижение уровня легкоферментируемых углеводов в рационе. В результате увеличения активности микрофлоры бактериальный гидролиз клетчатки повышался, что приводило к некоторому увеличению количества ЛЖК ($P < 0,05$).

При кормлении люцерной количество уксусной кислоты во 2-й группе возросло на 9,92 %; при кормлении кукурузой — на 5,3 %. Больше потребление протеина животными контрольной группы при кормлении люцерной сопровождалось увеличением образования пропионовой кислоты. При кормлении кукурузой у опытных животных наблюдалось некоторое снижение образования масляной кислоты.

Нормы протеина в зависимости от степени его расщепления в рубце

Н.В.Стащенко, И.К.Слесарев

Белорусский научно-исследовательский институт животноводства

Протеин кормов неодинаковый по физико-химическому составу расщепляется микрофлорой в преджелудках до простых азотистых соединений в разной степени. Чем выше степень расщепления протеина, тем больше азота в виде аммиака и мочевины выводится из организма. Основываясь на особенностях превращения протеина корма в преджелудках жвачных была проведена серия опытов по использованию в рационах специально защищенного кормового протеина. Для защиты протеина высокобелковых кормов от расщепления в рубце использовались конденсат низкомолекулярных жирных кислот, уксусная, пропионовая кислоты, формальдегид, высокотемпературная обработка и другие способы.

В исследованиях *in vivo* установлено, что протеин шротов, инкубированный в пищевой массе рубца баранов, бычков и коров, через 3,5 и 24 часа расщепляется на 70,0 и 79 %, а защищенный формальдегидом, ЛЖК и другими технологическими приемами — на 22,47 и 34,2 %; на 14,4 и 23,5 % соответственно. Положительное влияние оказывает защита протеина не только растительных кормов, но и азотистых соединений химического синтеза.

Скармливание защищенного протеина обеспечивало большее его поступление в сычуг и тонкий отдел кишечника. Использование защищенного протеина в пределах 20 % от общего его количества в рационах молодняка крупного рогатого скота, а также у коров и овец способствовало повышению продуктивности и снижению расхода питательных веществ на продукцию. Так, только по данным 9-ти физиологических и научно-хозяйственных опытов на растущем молодняке на 1 кг прироста живой массы животные расходовали на

0,3–0,7 корм.ед. меньше при снижении затрат протеина в рационе до 10 %. Положительное действие оказывает защищенный протеин кормов и химических азотистых веществ при скармливании его коровам и овцам.

Материалы исследований позволяют констатировать, что при составлении рационов необходимо учитывать не просто переваримый протеин, но и степень расщепляемости протеина в преджелудках. Поскольку ассортимент растительных кормов с труднорасщепляемым протеином в природе немногочисленный, следует использовать известные технологические приемы, методы, химические средства для его защиты от расщепления в преджелудках жвачных.

Потребность высокопродуктивных лактирующих коров в питательных веществах и энергии

П.П.Валуйский, Н.А.Никольская, С.П.Федяшева

Институт биохимии и физиологии НАН, Киргизия

Многолетние исследования потребления, переваримости, усвояемости, обмена белка, аминокислот, энергии, жизненно важных макро- и микроэлементов, а также их взаимоотношения в процессе обмена, детальное изучение рубцового пищеварения, всасывания, транспорта в молочную железу и использования для молокопродукции отдельных элементов питания послужили основанием для разработки детализированных норм кормления высокопродуктивных лактирующих коров алатауской породы с удоем 20, 25 и 30 кг в сутки, внедренных на уровне отрасли.

Балансирование рационов коров по отдельным аминокислотам и обменной энергии с учетом физиологических потребностей способствовало повышению использования энергии на молокопродукцию с 52,5 до 64,3 МДж в сутки с удоем у коров 20 кг, с 55,8 до 71,7 МДж с удоем 25 кг и с 62,5 до 94,0 МДж с удоем 30 кг при одновременном снижении потерь энергии с мочой, калом и метаном.

Суточные рационы коров были хорошо сбалансированы по общей питательности и содержали: 16,9–18,2 кг сухого вещества, 3,4–3,8 кг клетчатки, 61,3–68,4 Мкал валовой энергии или 3,6–3,8 Мкал в 1 кг сухого вещества, 168,9–177,6 МДж обменной энергии или 9,8–10,0 МДж в 1 кг сухого вещества, 2,6–2,7 кг сырого протеина или 39,4–42,4 г протеина на 1 Мкал принятой энергии, 120,7–132,4 г кальция, 59,2–65,7 г фосфора, 39,4–48,1 г серы, 4,39–4,68 мг кобальта, 42,07–45,40 мг никеля, 98,71–103,96 мг меди, 643,06–699,25 мг цинка, 783,13–833,95 мг марганца; лизина–3,64–4,80 %, гистидина — 1,59–1,70 %, аргинина — 3,30–3,80 %, треонина — 2,95–3,01, валина — 3,83–3,97, метионина — 1,44–1,70, изолейцина — 3,22–3,35, лейцина — 5,06–5,20, фенилаланина — 3,88–4,26 % от сырого протеина. Потребность высокопродуктивных лактирующих коров с удоем 4500–6000 кг за лактацию в аминокислотах на функцию молокообразования составляет: в лизине — 4,14–4,95 г/кг молока, гистидине — 1,23–1,75, аргинине — 3,55–4,08, треонине — 2,99–3,23, валине — 3,55–4,19, метионине — 1,41–1,66, изолейцине — 2,95–3,68, лейцине — 4,79–5,53, фенилаланине — 3,94–4,56 г/кг молока.

Полноценное кормление лактирующих коров по детализированным нормам обусловило повышение их продуктивности на 9–21 %.

Таблица 4

Биохимические показатели рубцового содержимого коров

Показатель	Группы	
	I	II
При кормлении люцерной		
pH	6,26±0,08	6,90±0,08
ЛЖК, ммоль/100 мл	9,37±0,24	10,15±0,15
Молярный % ЛЖК		
уксусная кислота	54,13±1,12	59,50±1,07
пропионовая	25,44±0,34	22,00±0,48
масляная	20,43±0,70	18,50±0,74
Аммиак, мг %	26,81±0,97	22,24±1,04
Целлюлозолитическая активность микрофлоры, %	8,95±0,37	10,28±0,34
При кормлении кукурузой		
pH	6,28±0,10	6,84±0,09
ЛЖК, ммоль/100 мл	9,78±0,38	10,42±0,40
Молярный % ЛЖК		
уксусная кислота	54,80±0,94	57,91±1,11
пропионовая	21,20±0,66	21,24±0,61
масляная	24,00±0,56	21,05±1,05
Аммиак, мг %	12,44±0,52	12,67±0,53
Целлюлозолитическая активность микрофлоры, %	8,60±0,21	9,75±0,29

Таким образом, обогащение рациона грубоволокнистой клетчаткой способствует нормализации процессов, происходящих в рубце. Различный уровень микробиологических процессов в рубце оказал некоторое влияние на состав крови (табл. 5).

Таблица 5

Биохимические показатели крови подопытных коров

Показатель	При кормлении люцерной		При кормлении кукурузой	
	I	II	I	II
ЛЖК, мг %	4,98±0,16	5,64±0,36	5,94±0,26	6,72±0,18
Сахар, мг %	42,03±0,97	41,82±0,81	54,12±0,75	55,09±0,72
Резервная щелочность об. % CO ₂	56,12±0,85	59,00±0,69	59,38±0,815	63,41±0,74
Кетоновые тела, мг %	7,39±0,46	7,86±0,53	7,19±0,50	7,03±0,44

Увеличение количества ЛЖК в рубце опытных коров сопровождалось увеличением их в крови при кормлении люцерной на 0,66 мг % и при кормлении кукурузой — на 0,78 мг %. Скармливание кукурузы способствовало увеличению содержания сахара в крови на 28,76 % и 31,7 %, однако существенной разницы между группами не наблюдалось. Резервная щелочность в обоих случаях в опытной группе была выше (P<0,05). По уровню накопления в крови кетоновых тел разница обнаружена не была. В целом гематологические показатели у подопытных животных находились в пределах физиологической нормы.

Комплексная оценка полученных результатов по исследуемым тестам позволяет нам сделать заключение, что введение в состав летних рационов соломы физиологически вполне обосновано. Об этом свидетельствуют как состояние моторики желудочно-кишечного тракта (сокращение рубца, скорость эвакуации химуса), так и результаты биохимических исследований рубцового содержимого и крови.

Optimization of fermentation in ruminants

M. Baran

Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Slovakia

Fermentation activity in the rumen appears to be the first of the entire complex of digestive processes in ruminants. It is one of the special factors determining physiological specificities of ruminant digestion. It is also closely connected with the motoric activity and dependent on the amount, quality and composition of feeds. At present there are efforts to influence this fermentation in a desirable direction, i.e. to increase the intensity and improve the economy of animal production.

Thus, by influencing the rumen fermentation it is possible to reach better feed conversion to animal products. Up to now two approaches are available to observe and increase the efficiency by which ruminants utilize dietary energy. They are increasing the efficiency by which the energy of feed ration is transformed into end-products of rumen fermentation, especially into volatile fatty acids (VFA), and by which the end-products of fermentation are utilized for the basal physiological processes and synthesis of animal products.

Fermentation processes in the rumen may efficiently increase and the production of undesirable digestion products (methane) efficiently suppressed in two ways: 1) by feed ration modification including feed intake and composition, and by various technological methods of feed treatment and conservation, 2) by using chemical substances — products of microbial synthesis which are able to transform metabolic processes by rumen microflora. The manipulation of rumen fermentation by treated feed rations is theoretically advantageous, however, in practice it is a complex process dependent on technological possibilities of treating and conserving single feeds, and notably on their availability and quality. The age of animals seems to be an important factor in influencing rumen fermentation by diet. More perspective appears to be to influence rumen fermentation by chemical substances as products of microbial synthesis from which polyetheric antibiotics have been mostly used in recent years.

In the future it will be necessary to orientate the theoretical and practical study of the effect of selected ionophores towards the fermentation processes in the rumen and understanding the mechanisms of their effect by means of radioisotopes; physiological and biochemical parameters of digestion, digestibility of nutrients and energy *in vivo*, *in vitro* and *in situ*, and energetic and mineral metabolism. The study of this problem has to be closely connected with the question of optimum nutrition by using traditional and non-traditional feeds.

From the theoretical point of view the research should be oriented towards: determination of the optimum roughage and concentrate ratio in diets containing ionophores, explanation of the ionophore effect on metabolic processes of rumen microorganisms and passage of metabolites through cell membranes, a complex study of the ionophore effect on other physiological processes in the ruminant organism, e.g. in pregnancy, explanation of the relation between the ionophore effect as coccidiostat and a growth stimulator. From the practical view the theoretical knowledge obtained will be used to increase the intensity of animal production, improve its economy and optimize ruminant nutrition.

The application in sacco and in vitro methods in feed quality evaluation for ruminants

Z. Ceresnakova, A. Sommer, M. Chrenkova

Research Institute of Animal Production, Slovakia

The effective degradability (EDg) and intestinal digestibility undegraded crude protein (CP) of feeds are very important characteristics in

the new protein evaluation system for ruminants. The in sacco method is convenient for degradability crude protein determination. By using this method the disappearance of crude protein from 22 concentrates was determined during 3, 6, 9, 16 and 24 hrs incubation in the rumen of cannulated bulls. The effective degradability and degradation parameters some of the tested feeds are in the table. The results of EDgCP from our experiment showed a close relation with CP content and CP solubility. Correlation for all feeds was 0,805 and within some groups of feeds (leguminoses, oil feeds, grain) was 0,99, 0,90 and 0,89. The equations can be used for EDgCP prediction.

The intestinal digestibility of undegraded feeds residues was estimated by using enzymatic in vitro method (with pepsin, trypsin and chymotrypsin). This method can be used instead mobile bag method which is more labourious than in vitro method. Agreement between the results from in vitro and mobile bag methods was close, regression coefficient was high ($r = 0,95$; $P < 0,01$).

Feeds Degradability parameters EDg CP Soluble

	a, %	b, %	c, h ⁻¹	g, kg ⁻¹	DM	CP, %
Soya	35.2	65.3	0.11	78	410	54
Rape extr. meal	29.6	58.1	0.10	65	356	39
Sunflower extr. meal	18.4	78.2	0.12	69	324	40
Wheat	24.6	72.6	0.17	78	147	28
Maize	21.6	77.3	0.03	53	101	21

Механизмы регуляции обмена веществ и пищеварения у новорожденных телят

Д.А.Мельничук, Н.А.Захаренко

Национальный аграрный университет, Украина

С целью познания механизмов адаптации жвачных к новым условиям жизни, совершенствования практических основ получения здорового жизнеспособного приплода и существующих технологий кормления и содержания новорожденных телят изучали показатели КЩС крови, энергетического, белкового и минерального обмена у коров-матерей и их приплода на протяжении первых десяти дней жизни. У телят после рождения наблюдается ацидоз крови и гипоксия тканей, которые тесно связаны с длительностью родового процесса, высокая интенсивность гликолиза и аммониегенеза в тканях, практически полное отсутствие в плазме крови α -глобулинов, низкий уровень альбуминов, церулоплазмينا и гаптоглобулина, а также меди, более высокое содержание железа и неорганического фосфора по сравнению с их уровнем у коров-матерей.

Процесс адаптации новорожденных телят к новым условиям жизни включает в себя повышение буферных и иммунологических свойств плазмы крови, биосинтетической функции печени, снижение интенсивности гликолиза, активацию окислительно-восстановительных процессов в тканях, нормализацию водно-солевого обмена. Ткани печени и слизистой оболочки тонкого кишечника телят на третий день жизни характеризуются высокой интенсивностью гликолитических и аэробных процессов, о чем свидетельствует величина редокс-состояния НАД-коферментов, активность митохондриальной СДГ и цитоплазматической ЛДГ, величина АЭЗ и потенциала фосфорилирования. В сыворотке крови телят на третий день увеличивался уровень гамма-глобулинов, однако содержание альбуминов, гаптоглобина, плазминогена, гемопексина и белков системы комплемента оставалось ниже, чем у коров-матерей.

Установлена тесная корреляционная зависимость между уровнем азота в рационе коров-матерей, интенсивностью аммониегенеза в их тканях, качеством и иммунобиологическими свойствами молозива, а

также характером обмена веществ и процессами пищеварения у новорожденных телят, что может иметь важное теоретическое и практическое значение.

Энергетическая и липогенная роль аминокислот в тканях животных

С.В.Бродин, В.Г.Янович

Институт физиологии и биохимии животных, Украина

Наряду с использованием аминокислот в синтезе белков значительная их часть в тканях животных подвергается катаболизму, а образуемые углеродные метаболиты используются в процессах глюконеогенеза, липогенеза и подвергаются окислению в цикле трикарбоновых кислот. Количественная оценка степени использования отдельных аминокислот в указанных процессах в разных органах и тканях животных изучена очень мало. В связи с этим целью нашей работы было исследование вклада лизина, триптофана, лейцина, аланина, глицина и глутаминовой кислоты в субстратное обеспечение синтеза белков, углеводов, липидов и энергетических процессов в разных органах и тканях крупного рогатого скота в условиях *in vitro*, в органах и тканях крыс в условиях *in vivo*.

Установлено, что в условиях *in vitro* радиоактивность белков, синтезированных при инкубации гомогенатов печени, почек, слизистой 12-перстной кишки, мышечной и жировой тканей крупного рогатого скота с $[U-^{14}C]$ лизином, $[U-^{14}C]$ триптофаном, $[U-^{14}C]$ лейцином, $[U-^{14}C]$ аланином, $[U-^{14}C]$ глицином и $[U-^{14}C]$ глутаминовой кислотой в печени, почках, слизистой 12-перстной кишки, сердечной и скелетной мышцах крупного рогатого скота составляет 57–72 %, радиоактивность липидов — 12–44 %, радиоактивность гликогена — 2–11 %, радиоактивность $^{14}CO_2$ — 14–36 % общей радиоактивности указанных соединений.

В меньшей мере такие же различия выявлены в степени использования указанных аминокислот в синтезе белков, гликогена, липидов и энергетических процессах в исследуемых органах и тканях крыс в условиях *in vivo*.

В синтезе белков в исследуемых органах и тканях животных обоих видов наиболее интенсивно используются лизин и триптофан, в синтезе липидов — глицин и аланин, в синтезе углеводов и энергетических процессах — аланин и глутаминовая кислота. Радиоактивность липидов, синтезированных в исследуемых органах и тканях животных из углеродного скелета аминокислот, выше по сравнению с радиоактивностью гликогена, а также по сравнению со средней радиоактивностью CO_2 . В целом полученные результаты свидетельствуют о важной энергетической и липогенной роли аминокислот в тканях животных.

Некоторые особенности сычужного пищеварения у новорожденных ягнят

Ш.Дэмберел, Г.Гэрэлцэцэг

*Монгольский научно-исследовательский и
учебный институт ветеринарии*

Вопрос об особенностях обмена веществ и процессах пищеварения у ягнят монгольских пород в литературе почти не затронут, особенно это касается периода молочного питания, а между тем, отход молодняка раннего возраста в Монголии составляет 75–80 % от общей потери поголовья. При этом на долю желудочно-кишечных заболеваний приходится 47 %.

Опыт провели в хронических условиях на 8 ягнятах монгольской породы с момента рождения до 1,5-месячного возраста.

Хирургическим путем в 1-3 дневном возрасте накладывали резиновый катетер на фундальную часть сычуга. Через 7 дней после операции жевотных использовали для опыта. Ягнят подпускали к матерям в 9 часов утра и в 6 часов вечера, днем они находились в сарае при свободном доступе к сену. Матки содержались на пастбище.

Установлено, что рН содержимого сычуга перед кормлением всегда был кислым во все возрастные периоды. После кормления он резко возрастал у 4-недельных ягнят, составляя 4,56–5,05, в 5- и 6-недельном возрасте увеличение было меньшим (3,15–4,0). Общая кислотность содержимого сычуга ягнят с 1 до 14 дня жизни увеличивалась от 89 ± 10 до 136 ± 16 титр.ед. При выпаивании молока во все периоды общая кислотность снижалась.

Появление соляной кислоты в сычуге отмечалось с 3-дневного возраста у 37 % животных, с 5-дневного у 87 % ягнят, а с 7-дневного возраста кислота обнаруживалась стабильно. Уровень молочной кислоты в сычужном содержимом ягнят наиболее высоким был перед кормлением. В первые часы после кормления количество молочной кислоты резко уменьшалось и за 6 часов пищеварения оно не возвращалось к исходному уровню.

Research on the short-chain fatty acids in cattle and buffaloes

D.Trasnea, I.Voicu, Gh.Burlacu, M.Olteanu, F.Sachelarie, Gh.Barbu

Institute of Biology and Animal Nutrition, Romania

The experiment used four males of each species, weighing 250–300 kg fitted with ruminal fistula. The animals received a) alfalfa semi-silage ad libitum, or b) a diet balanced for protein and energy content, composed of concentrate mixture and alfalfa semi-silage. The ruminal fluid concentrations of short-chain fatty acids (SCFA) were determined antepandially and 1, 2, 4, 6 and 12 h postprandially.

When the experimental animals received alfalfa semi-silage at discretion, there were not significant differences between SCFA mean concentrations in cattle and buffaloes (142.9 mmol/l in cattle and 151.5 mmol/l in buffaloes); not significant differences were also observed as concerns SCFA molar ratio (63.2 % acetic acid, 15.7 % propionic acid and 21.1 % butyric acid in cattle and 62.7 % acetic acid, 15.4 % propionic acid and 21.9 % butyric acid in buffaloes).

When the experimental animals received concentrate mixture and alfalfa semi-silage significant differences ($P < 0.05$) were noticed between cattle and buffaloes as concerns SCFA mean concentrations (175.8 mmol/l in cattle and 224.1 mmol/l in buffaloes); not significant difference were observed, however, in SCFA molar ratio (61.5 % acetic acid, 16.2 % propionic acid and 22.3 % butyric acid in cattle and 63.5 % acetic acid, 13.7 % propionic acid and 22.8 % butyric acid in buffaloes).

SCFA concentrations in the silage was between 878–1235 mmol/kg silage of which 335–687 mmol/kg acetic acid and 310–495 mmol/kg butyric acid.

Studies on the synchronous effect between wet distiller's byproduct and urea-treated wheat straw for growing cattle

Jia Qi Wang and Qian Zhang

*Animal Science Institute,
Chinese Academy of Agricultural Sciences, China*

The objective of the present study is to investigate wether non protein nitrogen (NPN) from 4 % urea treated wheat straw (UWS) and undegradable nitrogen (UDN) from distiller grain byproduct (DGB) have synchronous effect on the performance of growing cattle. In Experiment 1, nylon bag technique was used to determine the effective

degradabilities of UWS and DGB. In Experiment 2, 120 cattle were divided into four groups, average body weight was 237 kg. The four groups were fed UWS ad libitum, and supplemented 3,6 and 10 kg wet DGB respectively. After 60 days the cattle were weighed and the feed consumptions were calculated. The results of Experiment 1 showed that the effective degradabilities of DM, NDF and ADF of UWS were 57,6 and 47,2 % respectively. 68.0 % nitrogen in UWS (CP 9.7 %) is NPN. The nitrogen degradability of DGB (CP 28.3 %) is 45.1 %. The results from Experiment 2 were in the table below. The supplementation obviously improve the efficiencies of DM and total nitrogen (TN) ($p < 0.05$). For the four groups, the ratios of DM/ADG were 22.9, 14.1, 10.5 and 8.4 respectively ($p < 0.01$), the ratios of TN/ADG were 2.2, 1.9, 1.6 and 1.5 respectively ($p < 0.05$). The conclusion is that distiller grain byproduct is a good supplement of UDN for roughage diets, the optimal supplemental level is 10 kg wet DGB per day for the highest efficiency of total nitrogen utilization.

	Group 1	Group 2	Group 3	Group 4
DM intake, kg/d	3.2	4.1	5.1	6.2
Total nitrogen intake, g/d	301	557	803	1119
NPN intake, g/d	204	217	224	224
UDP intake, g/d	29.1	160	290	463
Average daily gain (ADG), g/d	140	291	486	737

Физиологические аспекты продуктивной эффективности молочного скота

И.К.Медведев

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания
сельскохозяйственных животных,
Боровск, Россия*

Превращение ресурсов в отдельные виды животноводческой продукции происходит с неодинаковой степенью эффективности. Большое значение приобретает оценка биологической эффективности производства того или иного вида продукции в связи с увеличением численности людей на Земле. Потенциал животных как продуцентов белковой пищи для человека в первую очередь связывается с энергетической эффективностью превращения корма, с возможностью животных потреблять и усваивать те корма, которые не служат непосредственными источниками пищи для людей.

Анализ прогрессивных технологий отраслей животноводства показывает, что наивысшей эффективностью отличается молочное скотоводство и бройлерное производство. На образование 1 кг белка в молоке коров и мясе бройлеров расходуется 40–45 мегакалорий. Разумеется, нельзя не учитывать того, что рацион бройлеров состоит преимущественно из зерна, в то время как рацион молочных коров — из грубых кормов. На одних только грубых кормах соответствующего качества коровы способны продуцировать около 5 тыс. кг молока в год с эффективностью 22 г белка на 1 Мкал перевариваемой энергии рациона. Однако несмотря на это, как и в любой другой с.-х. отрасли, важной задачей в молочном животноводстве продолжает оставаться повышение экономической и продуктивной эффективности скота. Поскольку затраты на корма составляют главную статью расходов в производстве молока, эффективность молочного животноводства обычно выражают количеством получаемой продукции на единицу

потребленного корма. В физиологическом и зоотехническом аспектах продуктивная эффективность есть количество молока и его компонентов по отношению к затратам корма на поддержание, лактацию и восстановление упитанности животных, в которой они находились до начала лактирования. Исходя из этого определения следует рассмотреть два важных вопроса: во-первых, выяснить, какие физиологические, метаболические, эндокринологические факторы обуславливают наблюдаемые вариации продуктивной эффективности животных, и, во-вторых, попытаться установить, в какой степени они восприимчивы к воздействию факторов внешней среды и генетическим манипуляциям.

Имеющиеся данные позволяют предположить, что некоторые из биологических компонентов продуктивной эффективности могут быть относительно легко изменены, в то время как другие вряд ли могут быть улучшены, по крайней мере при нынешнем состоянии наших знаний о природе высокой продуктивности животных. В анализе затрагиваемой проблемы рассматриваются пищеварение и всасывание, потребности на поддержание жизни, использование обменной энергии на продуктивность и распределение питательных веществ по физиологическим функциям.

Многочисленные исследования как зарубежных, так и отечественных авторов показывают, что переваримость и всасывание питательных веществ могут быть усилены манипуляциями с кормом. Важнейшее значение при этом имеют физические и химические характеристики кормов рациона, которые определяют уровень потребления сухого вещества корма, однако, как ни парадоксально, в этих исследованиях почти не ставился вопрос о возможных различиях коров разного уровня продуктивности в способности к перевариванию и всасыванию питательных веществ на одинаковых рационах. Первые впечатляющие результаты по этой проблеме в строгих балансовых опытах на коровах разного генетического потенциала были получены Флэтом и сотр. (Flet et al., 1969). По их данным коэффициенты вариации в потреблении валовой энергии рациона и секреции энергии с молоком находились в границах 18–23 %. Однако вариации в соотношении переваримой (или обменной) энергии к валовой оказались в 10 раз меньше (от 1,9 до 2,5 %). Другие авторы также не обнаружили больших вариаций среди коров в их способности переваривать корма. Причем генетические различия пищеварительной функции при свободном доступе к корму не обнаруживались ни в раннюю и позднюю фазы лактации, ни в период сухостоя. Этой несколько неожиданной для того времени физиологической унитарностью можно объяснить то, почему селекция на высокие удои не сопровождалась большими сдвигами в эффективности всасывания питательных веществ корма.

Как известно из физиологии питания, существуют заметные межвидовые и возрастные вариации в потребности на поддержание (затраты на единицу метаболической массы). Многие из этих вариаций отражают различия в таких факторах, как тип рациона и физиологическое состояние животных, оказывающих влияние на величину поддерживающих потребностей. Ван Ес (Van Es, 1961), обобщив данные своих и других балансовых опытов, получил коэффициенты вариаций потребностей на поддержание от 4 до 8 % и от 8 до 10 % — по результатам других авторов. Вплоть до 1983 года считалось, что затраты на поддержание не определяются генетическим потенциалом коров и представляют собой небольшую долю различий продуктивной эффективности среди коров. Однако Феррелом и Дженкинсом (Ferrell, Jenkins, 1983) были представлены данные о вариациях потребностей на поддержание, которые были даже больше таковых на продуктивность. Несмотря на продолжающиеся дебаты относительно величин вариаций, очевидно, имеется некий потенциал

для уменьшения потребностей на поддержание в пользу использования обменной энергии (ОЭ) на продуктивные функции.

Болдуин и др. (Baldwin et al., 1980) выделяют в зоотехническом термине "поддержание" сервисные функции и функции клеточного поддержания. Энергия сервисных функций (составляющая 35–50 % базальных метаболических затрат) используется для работы почек, сердца, печени, легких и нервной ткани. Энергия поддержания для функций на клеточном уровне (40–50 % базальных метаболических затрат) используется для липидного и белкового синтеза и ионного транспорта. Поскольку сервисные функции необходимы для поддержания целостности организма, трудно выявить специфические пункты, где бы можно было существенно повлиять на эти биологические ограничения. Допускается, что крупный рогатый скот с более высоким генетическим потенциалом продуктивности потребляет больше корма и имеет большие потребности на поддержание (Baldwin et al., 1980). Таким образом, главным фактором этого являются более высокие энергетические затраты внутренних органов у более продуктивных животных. Авторы считают (Baldwin et al., 1985), что потребности на поддержание могут быть уменьшены на 10–30 % без снижения потребления корма при условии уменьшения массы органов и тканей, потребляющих большие количества энергии. Хотя концептуально это не исключается, маловероятно, что добиться этого можно селекционным путем. К примеру, одним из лимитирующих факторов молочной продуктивности является скорость кровотока в молочной железе, следовательно, увеличить секрецию молока невозможно без усиления работы сердца. Тем не менее не исключается теоретическая возможность некоторого снижения энергетических затрат, скажем, на функцию печени и отсюда — затрат на поддержание, если бы можно было обеспечить через питание адекватный набор нутриентов (субстратов) одновременно и для молочной железы, и для печени.

Значительно дольше не удавалось оценить степень возможных различий между коровами по эффективности использования ОЭ на синтез и секрецию молока, ввиду относительно немногочисленных экспериментальных данных по этой проблеме. Анализ более трехсот энергобалансов на коровах показал, что 97 % их вариаций (скорректированных на тканевые потери, приросты, избыточное потребление азота и на стельность) были связаны с вариациями потребления ОЭ, типом рациона и в некоторой степени — с величиной метаболической массы животных (Van Es, 1961). В целом же результаты анализа показали, что животные, в том числе и разные генотипы, мало различаются по эффективности использования обменной энергии на лактацию.

В противоположность этим довольно константным физиологическим факторам, разные коровы существенно различаются по распределению в организме питательных веществ и энергии. Основопологающие факты по этой фундаментальной закономерности впервые были установлены в лаборатории обмена энергии молочной ассоциации США (Белтсвил) и с тех пор (70-е годы) получили серьезные подтверждения в других исследовательских центрах, в том числе и в нашем институте. Главную черту в этой закономерности можно сформулировать так: основные различия между коровами заключаются в количестве потребляемой энергии и характере ее распределения в теле (т.е. использовании на молоко или на отложение в жировой ткани), а не в эффективности, с которой ОЭ используется животными. Этот вывод можно проиллюстрировать сравнением первотелок (табл. 1).

**Пример различий в распределении питательных веществ у коров
в первые 67 дней после отела (Ваитан et al., 1985)**

Показатели	Корова 1	Корова 2
Исходная живая масса, кг	517	519
Потребление корма	одинаковое	
Изменение живой массы, кг	+39,1	-51,8
Среднесуточный удой, кг (3,5 % жира)	12,3	26,3

Взяты для сопоставления животные, как видно, ко времени отела имели одинаковую живую массу. Несмотря на потребление равного количества кормов из одного и того же рациона, они проявили выраженные различия в распределении нутриентов в течение первых двух с лишним месяцев лактации. В то время как корова 1 продуцировала 12,3 кг 3,5 %-ного по жиру молока и увеличила массу тела на 39,1 кг, корова 2 секретировала 26,3 кг молока и потеряла за тот же период 51,8 кг своей массы.

Сходные различия в распределении питательных веществ обнаруживаются и при сопоставлении строго идентифицированных генетически разных групп коров. Животные высокого генетического потенциала не только продуцируют больше молока, но и потребляют больше корма и более интенсивно используют свои тканевые резервы в раннюю фазу лактации, чем животные с низким генетическим потенциалом.

Среди части научной общественности бытует представление, что высокопродуктивные животные отличаются от малопродуктивных более высоким и эффективным обменом веществ. Выдающаяся рекордистка Эллен (продуктивность 25300 кг/365 дней) должна была иметь необычайно эффективный метаболизм, поскольку она якобы не могла потребить достаточное количество корма, чтобы обеспечить образование такого количества молока. Однако более вероятно, как полагают многие эксперты (Мое, 1981, и др.), высокая ее продуктивность была обусловлена другими факторами и в первую очередь балансированием такого рациона, потребление которого не нарушало физиологической способности поддерживать условия в пищеварительном тракте для максимальной скорости ферментации, переваривания и всасывания. Эллен потребляла 26 кг отличного по качеству люцернового сена и 25 кг концентратной смеси. Ее необычный потенциал к синтезу молока из доступных питательных веществ был обусловлен не эффективностью метаболизма, а необычайно большой массой железистой ткани в молочной железе (количества секреторных клеток, которые обеспечивали высокую скорость синтеза молока — до 88 кг в сутки). Иначе говоря, ее регуляторные системы позволили ей эффективно противостоять стрессу от высокого потребления корма и усиленной лактации.

Не исключено, что значительная доля прогресса в генетическом улучшении молочных коров будет находиться в усилении их способности поддерживать гомеостаз среды в пищеварительном тракте через адаптивную секрецию слюны, кишечную секрецию и пониженную чувствительность к влиянию таких факторов, как наполнение рубца и повышение уровня метаболитов в крови, тормозящих потребление корма. Важно поэтому, во-первых, изучить гомеостатические регуляторные механизмы, способствующие повышенному потреблению энергии корма высокопродуктивными животными и, во-вторых, выяснить специфику их пищеварительного процесса с целью получения новых данных для изыскания рационов с максимальной концентрацией, переваримостью и усвояемостью энергии питательных веществ. От исследований в этом направлении

ождается создание динамических моделей (количественного описания механизмов) образования и всасывания продуктов переваривания в связи с характеристиками рациона и генетическим потенциалом животных с тем, чтобы можно было перейти к более точным способам балансирования питания как альтернативы или дополнения к статическим моделям, в том числе и детализированным нормам, основанным на недостаточно реальных схемах состава кормов и потребностей животных.

В настоящее время можно твердо говорить о том, что большая эффективность высокопродуктивных коров в принципе не определяется большей эффективностью у них метаболических процессов, а обусловлена уменьшением доли затрат на поддержание в общих энергетических затратах организма. К примеру, у коров с удоем 10 тыс. кг молока за 305 дней лактации потребности на поддержание составляют около 31 % от потребляемой энергии. Если продуктивность этих животных повысить на 20 %, то в общем увеличении затрат доля энергии на поддержание составит только 26 %.

Различия по степени трансформации корма в молоко или на прирост тела имеют большое экономическое значение, однако физиологические механизмы, по всей видимости связанные с балансом (синтезом, рецепцией и деградацией) в организме гормонов, лежащие в основе распределения питательных веществ между процессом образования молока, с одной стороны, и метаболическими нуждами внемаммарных органов и тканей, с другой, недостаточно исследованы. Очевидно, регуляция распределения питательных веществ достигается за счет стимулирующего влияния гормонов на одни органы и ткани и ингибирующего воздействия — на другие. Исследования по проблеме распределения могут открыть новые способы повышения эффективности использования корма и прогнозирования генетического потенциала продуктивности животных, выявления особей с большими возможностями использования на продукцию молока тканевых энергетических и субстратных резервов и их восстановления в конце лактации и в период сухостоя. Анализ показывает, что парциальная эффективность отложения энергии в теле во время лактации (точнее в конце лактации) и последующая мобилизация для образования молока только незначительно меньше, чем непосредственное использование энергии корма в энергию молока. Таким образом, выраженная мобилизация тканевых запасов во время ранней лактации и восстановление их в позднюю фазу лактации может рассматриваться важнейшим компонентом более высокой эффективности, которая у более высокопродуктивных коров достигается через эффект снижения потребностей на поддержание.

Контроль распределения питательных веществ — несомненно мультигенный признак; в его основе лежат малоисследованные механизмы гормональной регуляции. В этой связи надлежит исследовать у высокопродуктивных коров рецепторы, переносчики и медиаторы важнейших белковых и стероидных гормонов, в первую очередь, в молочной железе, печени и жировой ткани, изучить количественные характеристики гормон-рецепторных комплексов в связи с активностью основных метаболических циклов и продуктивностью, установить закономерности наследования гормон-рецепторных белков при скрещивании животных.

В усилиях дальше повысить продуктивную эффективность нельзя не считаться с возможностью нарушения здоровья и сокращения сроков продуктивного использования животных. Однако до биологического потолка продуктивности, пожалуй, еще очень далеко (при научно-обоснованном кормлении и эксплуатации) и потому остается актуальной проблема раскрытия природы высокой продуктивности и разработка практических путей, которыми она будет достигнута. На примере генетически выдающихся коров Бичер

Арлинда Эллен (25300 кг/365 дней) и Марленгранд Рокман Мидоу (24152 кг/360 дней)(Мое, 1981) можно видеть, до какого уровня продуктивности можно повысить удои коров без риска нарушения здоровья и воспроизводства. Разумеется, должны существовать какие-то максимальные лимиты, но чем они определяются — не совсем пока ясно. Важно уже сегодня определиться, какие факторы продуктивности следует изменить, чтобы улучшить продуктивную эффективность. Как следует из табл. 2, по большинству компонентов продуктивной эффективности имеют место небольшие степени вариаций.

Таблица 2

Источники вариаций и возможности усиления продуктивной эффективности коров (Vauman et al., 1985)

Компоненты эффективности	Вариации среди животных	Источники возможного улучшения	
		Селекция	Кормление, содержание
Переваривание и всасывание нутриентов	Низкая	Небольшая	Большая
Поддержание	Низкая	Небольшая	Небольшая
Использование ОЭ на синтез молока	Низкая	Небольшая	Небольшая
Потребление и распределение нутриентов	Высокая	Большая	Большая

Возможно, здесь следовало бы иметь больше данных, особенно по вариациям переваримости и всасывания, тем более, что прежде в опытах могли быть использованы относительно выранжированные группы животных. Однако скидка на эту возможность не опровергает вывода о практически одинаковой способности животных к превращению валовой энергии корма в переваримую или обменную на данном рационе и данном уровне потребления.

Небольшими кажутся перспективы усиления продуктивности за счет снижения потребностей на поддержание. Как указывалось выше, теоретически возможно снижение потребностей на поддержание, в частности, через селекцию животных на определенное соотношение массы органов в теле, но несомненно имеется некий уровень потребности на поддержание функций организма, ниже которого проявится вредный эффект на здоровье и продуктивность. Естественный отбор, вероятно, минимизировал энергетические потери на поддержание задолго до того, как человек начал использовать животных для своих целей.

Умеренными или скорее небольшими представляются возможности повышения эффективности животных через усиление биосинтеза продукции за счет направленного изменения обменных процессов. Одна из этих возможностей заключена в идентификации и селекции высокоэффективных животных и в манипулировании белковым кругооборотом и ионным транспортом, на который в организме затрачивается значительное количество энергии. Однако способы манипулирования этими процессами пока не разработаны.

В то время как манипулирование процессами поддержания и биосинтеза молока имеет ограниченный потенциал для усиления продуктивной эффективности, улучшение возможно через изменение питания животных. Обменная энергия, как известно, усваивается с разной парциальной эффективностью в зависимости от ее использования на поддержание, лактацию, воспроизводство, рост или откармливание. На утилизацию ОЭ оказывает влияние прежде всего тип (структура) рациона. Разная степень усвоения будет зависеть от того, каким набором субстратов ОЭ представлена на данном типе

рациона. Пример влияния на эффективность ОЭ альтернативных сочетаний нутриентов, используемых на поддержание или образование продукции, показан в табл. 3.

Таблица 3

Примеры влияния использования разных субстратных сочетаний на тепловой инкремент *) образуемой продукции (Baldwin et al., 1980)

Варианты	Тепловой инкремент, %
<u>Вариант 1</u> ЛЖК → поддержание Аминокислоты → белок Жирные кислоты → жир	15,4
<u>Вариант 2</u> Жирные кислоты → поддержание Аминокислоты → белок	27,6

*) В моделях энергетики питания ОЭ, полученная в избытке к потребностям на поддержание, распределяется на энергию в продукте (чистая энергия продукции) и тепловой инкремент продукции. Последний представляет собой тепловые затраты на синтез продукции.

Видно, что меньшая величина теплового инкремента (15,4 %) имеет место в случае, если ЛЖК используются на поддержание, аминокислоты — на белковый синтез и липиды — на жиросотложение. Почти вдвое (27,6 %) повышается тепловой инкремент при использовании преформированных жирных кислот на поддержание, аминокислот в белковом синтезе и ЛЖК в синтезе жира. В других экспериментальных примерах эффективность превращения ацетата в жир молока составила 70–75 %, а кормового жира 94–97 %. Значительная выгода может быть получена, если каждый орган будет снабжаться оптимальным набором и количеством специфических для него нутриентов. К сожалению, наши знания об адекватных потребностях в субстратах отдельных тканей и органов все еще ограничены.

Как уже говорилось, среди коров имеют место весьма значительные вариации в распределении абсорбированных и откладываемых про запас нутриентов для использования в лактации. Если между распределением нутриентов и продуктивностью существует генетическая корреляция, то имеется перспектива найти селекционные критерии, основанные на учете и определении точек специфического контроля в регуляции распределения питательных веществ и энергии, что, среди прочего, позволило бы более точно устанавливать генетический потенциал молочного скота в более раннем возрасте. Успех этого подхода будет зависеть от того, существуют ли вариации среди разных по продуктивности животных по небольшому числу ключевых точек метаболического контроля.

Высокое потребление корма из сбалансированного рациона является особенно важным для поддержания высокой молочной продуктивности животных. Коровы, способные потреблять сухое вещество в количестве 3,5 кг и более на 100 кг живой массы, удовлетворяют свои потребности на продукцию молока. Имея в виду физиологические ограничения вместимости желудка требуется много усилий в разработке концепций и техники формулирования рационов, чтобы обеспечить максимум потребления сухого вещества. В практике потребности высокопродуктивных коров в энергии обеспечиваются рационами с высокой пропорцией в них концентратов. Однако поскольку такой тип кормления оказывает неблагоприятное влияние на пищеварение, метаболизм и здоровье, то уровень концентратов в рационе не может превышать 50–60 %.

С неблагоприятным влиянием высококонцентратных рационов связана проблема потребностей высокопродуктивных коров в

клетчатке. По многим данным оптимальный уровень волокнистого компонента в рационе (как часто называют сырую клетчатку) составляет 16–17 % от сухого вещества. Компоненты клеточной стенки растительных кормов напрямую связаны с потенциалом их потребления. Последние международные рекомендации предусматривают, чтобы на период от 10-й до 26-й недели лактации в клетчатке было менее 20 % кислоторастворимой фракции или около 29 % нейтральнодетергентной фракции. При этих уровнях обеспечивается суточный удой более 35 кг и поддерживается положительный баланс энергии в теле.

После энергии или наряду с энергией, протеин — главный компонент корма, лимитирующий продуктивность животных. Дефицит протеина в кормовых ресурсах — это, пожалуй, основной неблагоприятный фактор низкой эффективности нашего животноводства. Более остро стоит проблема протеинового питания для крупного рогатого скота в силу, во-первых, низкого качества кормов и, во-вторых, невозможности точного определения потребности в протеине вследствие большой сложности азотисто-белкового метаболизма и методических трудностей его исследования у жвачных животных. Только в последнее время предприняты усилия с целью оценить потребности скота в истинно доступном протеине и аминокислотах. Тем не менее прогресс в этой области знаний остается пока не столь значительным, как бы этого хотелось. К примеру, зоотехнической науке неизвестно, в каком возрасте у крупного рогатого скота, тем более, у пород с разным периодом созревания, окончательно формируется тип протеинового питания, характерный для взрослых животных, какие аминокислоты следует считать лимитирующими рост и лактационную функцию животных.

Лактирующие коровы имеют, как известно, высокие потребности в протеине. Затраты протеина на образование молока, по сравнению с затратами на поддержание жизни и стельности, видны из такого сопоставления. Перед отелом необходимое поступление сырого протеина для отложения в плоде коровы живой массой 550 кг составляет примерно 150 г/сут. После же отела, когда удои повышаются до 35 кг и более, вынос протеина с молоком резко увеличивается, достигая 800–1200 г/сут. Дефицит протеина в этот период в определенных параметрах может восполняться мобилизацией белков тела. Если бы можно было сравнить бычка живой массой 200 кг по его способности откладывать протеин и жир в такой же степени, в какой они имеют место у коровы, то он должен был бы давать прирост 8 кг/сут и достигать живой массы 600 кг за 50 дней выращивания.

Специалисты по питанию сталкиваются с очень трудной проблемой обеспечения высокопродуктивных коров адекватным количеством и спектром аминокислот. Проблема происходит от комплексного характера процессов в рубце. По существу весь небелковый азот и примерно 60 % кормового протеина деградируют в рубце до аммиака. Остающиеся 40 % протеина минуют ферментацию в рубце и проходят в сычуг и кишечник вместе с микробиальным белком, где должно быть обеспечено полное их переваривание до аминокислот. Отсюда ясно значение оптимизации синтеза микробного белка и предотвращения полной деградации белка и аминокислот в рубце для увеличения их потока в кишечник, что представляет собой возможность для улучшения как эффективности усвоения азота, так и продукции молока коровами. В этой связи надлежит иметь больше данных о деградации протеина в преджелудках для отечественных кормов; к сожалению, все еще не имеется даже стандартизированного способа определения деградируемости протеина.

Проблема обеспеченности валовой питательностью (энергией и протеином) неизбежно перерастает в установление потребностей высокопродуктивных животных в различных метаболитах-субстратах.

К настоящему времени достигнут значительный прогресс в идентификации наиболее критических нутриентов, лимитирующих образование молока. Глюкоза среди них занимает высший приоритет в метаболизме молочной железы. На пике лактации высокопродуктивные коровы используют 70–80 % доступной глюкозы на молокообразование. Вышеупомянутой корове Эллен при высшем ее суточном удое 89 кг требовалось 7 кг глюкозы в день. Расчеты показывают, что в этом количестве из пищеварительного тракта могло поступать не более 1 кг глюкозы, отражая тем самым драматическое усиление глюконеогенеза по мере роста продуктивности. Необходимыми предшественниками такого усиленного глюконеогенеза являются пропионат, лактат, аминокислоты и глицерол. Сходная метаболическая ситуация имеет место в определении потребностей в аминокислотах, липидах и минералах, особенно в раннюю фазу лактации. Требуются новые исследования по количественной оценке образования и метаболизма ЛЖК у коров. Поскольку рубец — анаэробная система, большая часть энергии ферментируемых в нем субстратов задерживается в продуктах ферментации. Сдвиги в соотношении образуемых продуктов неизбежно оказывают влияние на степень превращения энергии корма в промежуточные продукты, используемые тканями животного для образования продукции. Так, изменения молярного соотношения между ацетатом и пропионатом от 5:1 до 1:1 повышают эффективность превращения энергии субстратов в продукты синтеза от 75 до 85 %. Повышение эффективности объясняется более высоким процентом перехода в пропионат водорода и снижением его "захвата" метаном.

В промышленно- и аграрно-развитых странах продолжается неуклонный рост продуктивности и эффективности молочного животноводства. В США, например, за период от 1950 до 1990 г средняя продуктивность коров повысилась с 4160 до 8178 кг. Прогресс обусловлен комплексным использованием генетических и внешне-средовых факторов. В стадах ряда штатов, курируемых молочной ассоциацией, средняя продуктивность превысила 9000 кг, а отдельные стада имеют удои свыше 14 тыс. кг молока на корову в год. Разработка программ питания для таких стад, поскольку питание мы признаем за важнейший управляемый фактор продуктивной эффективности коров, является проблемным вызовом для науки и практики современного животноводства. Программы должны быть экономически выгодными и предусматривать, кроме продуктивности, поддержание здоровья и нормальной воспроизводительной функции животных. Однако большинство зарубежных экспертов пока не считают актуальной разработку принципиально новых систем кормления высокопродуктивных коров. Годятся, по их мнению, по крайней мере до уровня продуктивности 12–15 тыс. кг молока, недавно обновленные, улучшенные рекомендации по формулированию рационов, базирующиеся на разработках, полученных в основном на среднепродуктивных животных (NRC, 1989). В этом, по их мнению, убеждают результаты используемых технологий кормления и содержания животных на высокопродуктивных фермах США, Израиля, Голландии и других стран, а также некоторые физиологические данные. К примеру, при использовании экзогенного соматотропина, что имитирует метаболический статус высокопродуктивных животных, изменяется распределение энергии и питательных веществ в пользу молокообразования, при этом потребности на поддержание и переваримость корма остаются неизменными.

Что вообще значит высокопродуктивная корова? Пока нет критерия, чтобы дать на этот вопрос удовлетворительный ответ. Животноводы Америки считают на сегодня высокопродуктивными коров, продуцирующих более 13600 кг молока в год. Известный авторитет Мак Калах считает высокопродуктивной корову,

продуцирующую 20 и более кг молока на 1 кг массы тела животного. При среднегодовом удое 13600 кг среднесуточная продуктивность составит 37,3 кг, при условии, что все 100 % животных в стаде лактируют полный период (305 дней). Суточная продукция молока на корову будет 43,9 или 41,4 кг для стад, где лактируют только 85 или 90 % животных соответственно.

Как отмечено выше, одним из наиболее важных факторов продуктивности является потребление сухого вещества (СВ) — это ключевой атрибут управления эффективностью высокопродуктивных коров. Ранее был предложен ряд уравнений регрессии для прогнозирования потребления СВ лактирующими животными, однако они оказались непригодными или, по крайней мере, неточными для высокопродуктивных коров. Хотя энергетическая ценность корма рассматривается самостоятельной объективной категорией, на самом деле она может иметь неодинаковые численные значения при разном уровне потребления корма. Из-за положительной связи между величиной потребления и скоростью прохождения по желудочно-кишечному тракту корма, имеет место депрессия переваримости, неодинаковая для разных компонентов (фракций) корма, что делает трудными расчеты доступной энергии при росте потребления корма.

Скорость увеличения потребления корма в раннюю фазу лактации — это основной фактор, который определяет энергетический баланс животного. Нормы кормления коров в США (NRC, 1989) исходят из того, что потребление корма в этот период в среднем на 18 % меньше от максимального потребления. Предложенные в этой связи поправочные коэффициенты, основанные на учете потребления СВ в течение первой недели лактации, составляют 67 % от максимального потребления, достигнутого на 8-й неделе после отела. Попытки увеличить потребление путем форсированного увеличения после отела скармливания концентратов сопряжены с риском перекорма и отказа от корма в результате закисления в рубце.

Что причина и что — следствие во взаимосвязях между повышением продуктивности и увеличением потребления корма: молочная продуктивность определяет потребление или, напротив, потребление — продуктивность? Последняя информация от использования на коровах экзогенного СТГ, по крайней мере частично, дает ответ и на этот вопрос. Как известно, реакция по молоку проявляется уже в течение нескольких первых дней после инъекций СТГ, а увеличение потребления корма — на 4–6 недели от начала инъекций, что свидетельствует о том, что продукция молока инициирует усиление потребления. Частичный ответ имеется и в более медленном возрастании потребления корма по сравнению с ростом удоев после отела.

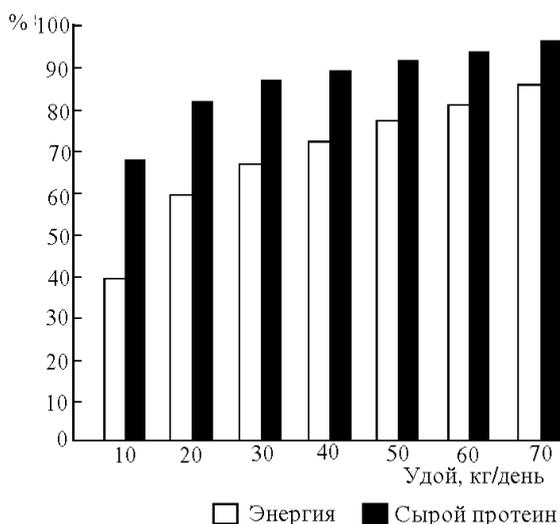


Рис.1. Доступность потребляемых питательных веществ для образования молока у коров разного потенциала продуктивности.

У высокопродуктивных коров, в отличие от средне- и малопродуктивных, по мере возрастания удоев все большая пропорция потребленных питательных веществ и энергии становится

доступной для продукции молока. На рис. 1 показаны пропорции потребляемых общей энергии и протеина, доступные для образования молока у коров разного потенциала продуктивности. Для животных, продуцирующих 60 кг молока, доступно примерно 91 % сырого протеина, чтобы поддерживать эту продуктивность. Соответствующая величина для потребления чистой энергии находится на уровне 80 %.

Пока что не получено достаточного количества данных о потреблении сухого вещества коровами с удоем 10–15 тыс. кг. По зарубежной практике, если планируется достигнуть 55 кг пика молочной продуктивности, то потребление СВ должно составить около 27 кг для коровы в энергетическом балансе. Для животного с массой 635 кг это составит 4,25 % от массы тела. Отдельные коровы, вероятно, способны потребить до 5 % и более от массы тела. На рис. 2 и 3 показана продуктивность, которую можно получить через варьирование концентрации обменной энергии и сырого протеина в рационе при разном количестве потребленного сухого вещества.

Можно полагать, что наука о питании находится в процессе своего поворотного развития — от определения потребностей в валовых показателях энергии и питательных веществах к осознанию предсказания реакций на доступные корма. Для молочных коров реакции наибольшего интереса сосредоточены на оценке и прогнозировании выхода сухих питательных веществ с молоком, на изменениях в тканях тела и возможностях животных к потреблению корма. Основная группа питательных веществ, обеспечивающая продукцию молока и нормальное физиологическое состояние животных, включает в себя двухуглеродные (ацетатные) единицы, длинноцепочечные жирные кислоты, аминокислоты, глюкозу и глюкозные предшественники. Для того, чтобы предсказать обеспеченность животных этими нутриентами (субстратами) из данного набора кормов нужны иные критерии для их характеристики. В более широком плане требуются новые концепции, принципы и процедуры для разработки новых систем оценки и нормирования питания и систем кормления высокопродуктивных коров. В проблеме распределения питательных веществ надлежит разработать способы прогнозирования распределения липидных предшественников между молочной железой и жировой тканью, аминокислот между железой и фондом протеина в теле, а также исследовать функциональные связи между секрецией молочного белка и лактозы, исходя из важной регуляторной роли альфа-лактальбумина в отношении лактозной синтазы — фермента конечной стадии биосинтеза лактозы. В целом же, чтобы развить соответствующую логическую основу для предсказания реакций, требуется уделить одинаковое внимание как характеристикам корма, так и генотипу животных.

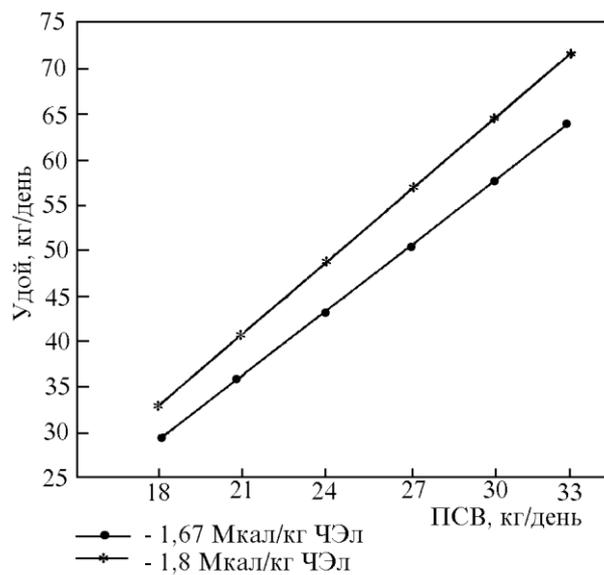


Рис.2. Прогнозируемая продукция молока при различном потреблении сухого вещества на двух разных по уровню энергии рационах (1,67 Мкал/кг и 1,8 Мкал/кг ЧЭл)

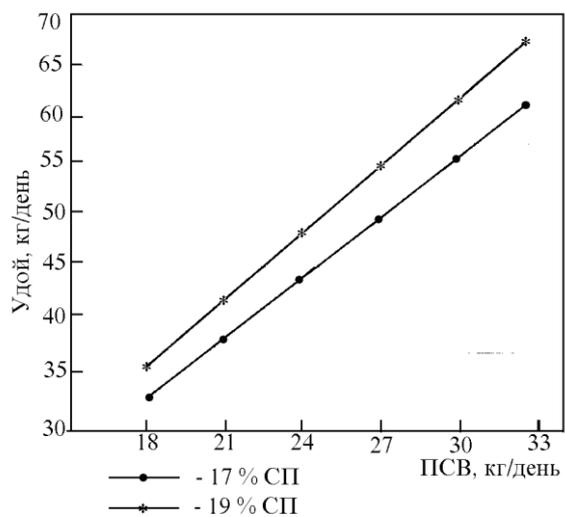


Рис.3. Прогнозируемая продукция молока при различном потреблении сухого вещества на двух разных по уровню протеина рационах (17 %СП и 19 % СП)

Успехи в молекулярной генетике, такие как картирование генома по отдельным генам и генетическим кластерам и идентификаций сайтов различных полиморфных генов и генетических маркеров, обеспечили потенциальную возможность для выявления и использования выдающихся особей в качестве родоначальников более продуктивных животных. До сих пор, как известно, генетическая оценка количественных признаков базируется главным образом на методологии популяционной генетики. В настоящее время проводятся значительные генетические исследования на молекулярном уровне с целью выявить сайты полиморфных генов, контролирующих основную долю генетических вариаций экономически важных продуктивных признаков. Следует иметь в виду, что селекция по маркерам выгодна только при условии, если она проводится в раннем возрасте. В настоящее время реальная племенная оценка быков по потомству имеет эффективность на уровне 35 %. Селекция с помощью маркеров могла бы повысить эффективность до 55 % и более, в зависимости от используемого генетического маркера.

Литература

1. Baldwin R.L., Smith N.E. et al. Manipulating metabolic parameters to improve growth rate and milk secretion. J. Anim. Sci., 1980, 51: 1416.
2. Baldwin R.L., Forsberg H.E., Hu C.Y. Potential for altering partition in lactating cow. J. Dairy Sci., 1985, 68: 3394.
3. Bauman D.E., McCutcheon S.N., Steinhour W.D. Sources of variation and prospects for improvement of production efficiency in the dairy cow: a review.
4. Ferrel C.L., Jenkins T.G. Energy utilization of Hereford and Simmental heifers J. Anim. Sci., 1983, 57(Suppl.1): 431.
5. Flatt W.P., Moe P.W., Moore L.A. In: Energy metabolism of Farm Animals (K.L. Blaxter et al., eds), 1968, Vol. 2: 123.
6. Moe P.W. Energy metabolism of dairy cattle. J. Dairy Sci., 1981, 64: 1120.
7. NRC. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 1989.
8. Van Es A. J. H. Between-animals variation in the amount of energy required for the maintenance of dairy cows. PhD. Dissertation. State Agric. Univ. The Netherland, 1961.

Гормональная регуляция метаболизма и продуктивности жвачных животных

В.А.Матвеев

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных
Боровск, Россия*

В результате многочисленных исследований с использованием высокоспецифичных и чувствительных радиоиммунологических и иммуно-ферментных методов анализа за последние два десятилетия были получены новые фундаментальные знания в области эндокринологии сельскохозяйственных животных. На наш взгляд наиболее важными узловыми моментами были:

- детальное изучение механизмов гормональной регуляции обмена веществ с обоснованием концепции "гормон - ген - фермент";
- исследование структуры рецепторов в клетках-мишенях и механизмов реализации биологического действия гормонов;
- открытие и установление химической структуры целого ряда новых гормонов;
- создание промышленных технологий производства белковых гормонов (инсулина, соматотропина и т.д.) с применением методов генной инженерии.

В тоже время до настоящего времени не ясны еще многие вопросы в реализации действия гормонов в организме животных. Например,

остаются дискуссионными суждения о механизмах гормональной регуляции распределения субстратов у продуктивных животных для обеспечения основных физиологических процессов и, в том числе, для биосинтеза компонентов молока и мяса. Продолжаются исследования по изучению механизмов регуляции биосинтеза и инкреции гормонов и взаимодействия между эндокринной и нервной системами, генетическими факторами и условиями питания животных.

При обычных ситуациях распределение субстратов в организме животных для обеспечения основных физиологических функций происходит путем изменения интенсивности отдельных метаболических потоков и находится под контролем эндокринной системы. В условиях целостного организма гормональная регуляция обмена веществ достигается в результате интегрирующего взаимодействия целого ряда гормонов. Механизм, определяющий приоритетное использование субстратов для обеспечения основных физиологических функций, у жвачных животных изучен недостаточно.

С целью изучения влияния уровня питания жвачных животных на функциональное состояние эндокринных желез провели 12 опытов на бычках холмогорской и черно-пестрой пород на разных стадиях их выращивания и откорма. Результаты этих исследований показали, что изменение уровня питания молодняка крупного рогатого скота наиболее существенно влияет на соматотропную функцию аденогипофиза и активность инсулярного аппарата поджелудочной железы. Для подтверждения данного положения приводим результаты опыта на двух группах бычков (по 4 головы в каждой) холмогорской породы 11-месячного возраста на двух уровнях питания. Продолжительность опыта 2 месяца. Рацион для животных обеих групп состоял из злакового силоса, кормовой патоки, ячменной дерти, брикетов из клеверной отавы и белково-витаминно-минеральной добавки. Уровень зерновых концентратов по обменной энергии в рационе бычков 1-й группы составил 16,2 %, а во 2-й — 43,3 %. Животных периодически взвешивали и ежедневно учитывали потребление корма. В период проведения балансового опыта определяли показатели газоэнергетического обмена масочным методом. Пробы крови брали пункцией яремной вены у бычков до кормления и через 1, 2, 3 и 4 часа после него. В течение опыта провели три серии взятия проб крови для биохимических анализов. В пробах крови определяли концентрацию гормонов радиоиммунологическим методом (1), содержание глюкозы (2) и молочной кислоты (3).

Целесообразность проведения опыта по данной схеме обоснована следующими положениями. Максимальная интенсивность поступления субстратов из желудочно-кишечного тракта в кровь и последующее распределение их для обеспечения физиологических функций обычно у жвачных животных наблюдаются в течение первых 2-4 часов после приема корма. Результаты наших исследований и данные литературы свидетельствуют, что в этот период, как правило, происходит существенное изменение уровня инсулина в крови, которое зависит от уровня питания бычков. Имеется мало данных о реакции других эндокринных желез у жвачных животных на прием корма, что затрудняет развитие концепции о гормональных механизмах регуляции метаболизма и интегрирующем влиянии гормонов.

Фактическое потребление питательных веществ рациона и продуктивность животных приведены в таблице 1. Из приведенных данных видно, что увеличение среднесуточного прироста массы тела у бычков 2-й группы по сравнению с 1-й группой было результатом того, что они больше потребляли и откладывали в организме сухого вещества, энергии и азота. Отложение азота в организме животных положительно коррелировало со среднесуточным приростом массы тела ($r = + 0,79$; $P < 0,02$), что свидетельствует о хорошем совпадении данных балансового опыта с показателями интенсивности роста

бычков. Необходимо отметить незначительное снижение переваримости питательных веществ корма при увеличении уровня питания животных.

Таблица 1

Интенсивность роста, баланс сухого вещества, азота и энергии у 12-месячных бычков

Показатель	1 группа	2 группа	% к 1 гр.
Масса тела, кг:			
в начале опыта	333±5,6	334±10,7	100,3
в конце опыта	377±6,2	395±11,2	104,8
Среднесуточный прирост, г	800±30	1105±93	138,1*
Сухое вещество:			
потреблено, кг	7,95±0,08	9,26±0,1	116,5***
отложено в теле, кг	5,44±0,05	6,44±0,09	118,4***
переваримость, %	72,4±0,2	72,6±0,24	100,3
Валовая энергия корма, МДж	134,8±1,27	154±1,80	114,2***
Переваримая энергия, МДж	96,1±0,7	107,8±1,71	112,2***
Переваримость энергии, %	71,3±0,38	70,0±0,36	98,2
Теплопродукция, МДж	67,0±0,88	70,3±2,05	104,9
Энергия продукции, МДж	14,2±0,77	20,0±2,81	140,8
Обменная энергия, МДж	81,2±0,61	90,3±1,51	111,2***
Поступило с кормом N, г	161,6±1,54	203,1±2,47	125,7***
Переварено N, г	104,9±0,85	123,5±3,27	117,7**
Отложено N в организме, г	36,9±2,67	59,1±3,71	160,2**
Переваримость N, %	64,9±0,37	60,8±1,31	93,7*

Здесь и далее: * — P < 0,05; ** — P < 0,01; *** — P < 0,001.

Затраты энергии корма на теплопродукцию у животных обеих групп не имели существенных различий. Следовательно, КПД корма в основном зависел от количества энергии, затраченной на продукцию.

Реакция организма бычков на прием корма проявилась в существенном изменении в плазме крови концентрации инсулина и соматотропина (табл. 2). Аналогичные результаты были получены нами в других опытах при изучении гормонального статуса у молодняка крупного рогатого скота (4).

Концентрация этих гормонов в плазме крови бычков обеих групп после приема корма изменялась противоположно - уровень инсулина значительно повышался, а содержание соматотропина снижалось. В дальнейшем концентрация этих гормонов приближалась к исходному уровню. На ряд метаболических процессов в организме жвачных животных эти гормоны оказывают противоположное действие. Можно предположить, что именно соотношение концентрации этих гормонов в крови определяло результат их взаимодействия с рецепторами в клетках органов и тканей и, в конечном итоге, обеспечивало определенное соотношение интенсивности таких метаболических циклов, как липолиз/липогенез и гликолиз/глюконеогенез.

Таблица 2

Концентрация соматотропина и инсулина в плазме крови 12-месячных бычков при разном уровне кормления

Группа	Время после кормления, ч				
	0	1	2	3	4
Соматотропин, пМ/л					
1	102±53,7	31±5,5	35±12,9	225±34,7	310±35,2
2	199±35,5	34±4,0	35±18,4	257±32,5	228±36,0
% к 1 гр.	195,1	109,7	100,0	114,2	73,5
Инсулин, пМ/л					

1	51±17,9	102±17,9	69±10,7	87±8,6	55±12,6
2	131±16,4	212±37,4	215±29,3	132±12,7	139±30,3
% к 1 гр.	256,9*	207,8	311,6**	151,7*	252,7
Коэффициент соотношения концентрации соматотропина и инсулина, пМ/пМ					
1	2,28±0,85	0,33±0,12	0,98±0,19	1,68±0,17	3,25±0,71
2	1,92±0,59	0,15±0,02	0,53±0,25	1,21±0,64	1,49±0,21
% к 1 гр.	84,2	45,4	54,1	72,0	45,8

Для уточнения данного положения рассчитали молярное соотношение концентрации этих гормонов в плазме крови бычков. Согласно данным, приведенным в табл. 2, после приема корма в плазме крови бычков обеих групп значительно снижалось соотношение между содержанием соматотропина и инсулина. В дальнейшем оно постепенно повышалось и приближалось к исходному уровню через 4 часа после приема корма.

Можно представить следующую схему гормональной регуляции метаболизма у бычков. На первом этапе после приема корма у животных тормозится поступление соматотропина в кровь и стимулируется функция инсулярного аппарата поджелудочной железы. В этот период еще не наблюдается повышения в крови бычков уровня глюкозы, летучих жирных кислот и аминокислот, которые в высоких концентрациях могут оказывать регуляторное влияние на синтез и инкрецию соматотропина и инсулина. Увеличение концентрации летучих жирных кислот и аминокислот в крови жвачных животных, за счет увеличения их поступления из желудочно-кишечного тракта, происходит позднее — через 2–3 часа после начала приема корма. Между динамикой уровня гормонов после приема корма и содержанием в крови указанных метаболитов мы не установили достоверной положительной связи. Это свидетельствует о том, что в регуляции секреции соматотропина и инсулина на первых этапах после приема корма принимают участие другие факторы. По-видимому, основная роль в регуляции функции эндокринных желез в этот период принадлежит нервной системе, гормонам желудочно-кишечного тракта и другим пока не идентифицированным факторам. Роль нервной системы в регуляции функции эндокринных желез подтверждают следующие данные. Если бычков в течение суток не кормить, то в периоды времени, соответствующие обычно раздаче корма, происходит достоверное изменение в крови концентрации инсулина и соматотропина. Механизм этой регуляции не ясен. Необходимы дальнейшие исследования в этом направлении.

После приема корма через определенный период времени из желудочно-кишечного тракта увеличивается поступление в кровь энергетических и пластических субстратов. При этом количество поступающих субстратов, по-видимому, превышает потребности организма на данный момент. Поэтому вполне объяснима реакция эндокринных желез. Снижение соотношения между концентрацией в крови бычков соматотропина и инсулина после приема корма обеспечивает торможение процессов липолиза и усиление липогенеза в жировой ткани. Вследствие этого, часть поступающих в кровь субстратов временно резервируется в жировых депо. В дальнейшем по мере потребностей организма животного наблюдается усиление липолиза за счет увеличения соотношения соматотропин/инсулин, что обеспечивает поступление резервируемых субстратов в кровь.

Концентрация инсулина в плазме крови бычков 2-группы во все периоды исследования была существенно выше, чем у животных 1-й группы (табл. 2). Уровень соматотропина в плазме крови не имел достоверных различий между группами бычков из-за значительных индивидуальных колебаний. Коэффициент соотношения концентрации соматотропина к инсулину у животных 2-й группы был постоянно

ниже, чем в 1-й группе. По-видимому, при повышенном уровне кормления у бычков 2-й группы больше поступало субстратов из желудочно-кишечного тракта в кровь. Снижение при этом соотношения между содержанием в плазме крови соматотропина и инсулина за счет значительного увеличения уровня инсулина, вероятно, способствовало усилению использования субстратов органами и тканями организма для обеспечения основных физиологических функций, а также обеспечивало адекватное увеличение резервирования временного избытка субстратов, в частности, за счет усиления интенсивности липогенеза в жировой ткани. Повышенное поступление энергетических и пластических субстратов в клетки мышечной ткани обеспечило усиление в них процесса биосинтеза белков, что подтверждается достоверным увеличением среднесуточного прироста живой массы у бычков 2-й группы по сравнению с 1-й группой.

Данная схема регуляции распределения субстратов после приема корма у жвачных животных подтверждается отсутствием достоверных различий между группами бычков по уровню других гормонов и метаболитов. Эти эндокринные железы функционируют в условиях относительно постоянного уровня метаболитов в циркулирующей крови и участвуют в регуляции метаболизма на других этапах.

Во многих странах продолжают исследования по разработке способов повышения мясной и молочной продуктивности животных, предусматривающих введение им различных природных или синтетических гормонов и гормоноподобных веществ. Основной проблемой, которая не решена до настоящего времени и сдерживает широкое применение данных способов в практике животноводства, является опасность использования в пищу человека продуктов питания, полученных от животных, обработанных гормонами.

В качестве альтернативы данному направлению исследований является поиск способов повышения молочной и мясной продуктивности, снижения затрат корма и улучшения качества животноводческой продукции за счет направленного воздействия на синтез и инкрецию эндогенных гормонов у животных. При этом вопрос безопасности продуктов питания будет в значительной мере решен. В качестве примера, подтверждающего эффективность данного подхода, можно привести работы профессора Ю.Н.Шамберева (5), который разработал способ повышения интенсивности роста бычков с помощью введения им определенных аминокислот, регулирующих функцию ряда эндокринных желез. Нашей рабочей гипотезой при исследовании этого вопроса является разработка способа направленной регуляции синтеза и инкреции эндогенных гормонов за счет применения определенных питательных веществ и оптимизации условий питания животных.

Для эффективного решения данной проблемы необходимы глубокие знания механизма гормональной регуляции формирования и реализации продуктивного потенциала животного. Исследований в этом направлении проведено недостаточно. Мы изучали функциональное состояние эндокринных желез у бычков, которые при одинаковых условиях кормления и содержания имели разную интенсивность роста и, следовательно, разную эффективность использования питательных веществ корма.

Опыт проведен на 8 бычках холмогорской породы в виварии института. В предварительный период опыта до 7-месячного возраста все животные были на среднем уровне кормления, который обеспечивал 700–900 г среднесуточного прироста массы тела. При данном уровне кормления не выявлено достоверных различий между бычками по скорости роста. Затем в учетный период опыта всех животных перевели на рацион, рассчитанный на обеспечение 1300–1400 г среднесуточного прироста массы тела. Рацион состоял из злакового силоса, комбикорма, соевого шрота и вико-овсяных брикетов. В 1 кг сухого вещества рациона содержалось 10 МДж

обменной энергии. Кормление животных индивидуальное. Содержание привязное. Ежедневно учитывали потребление корма и периодически взвешивали бычков. Продолжительность опыта 3 месяца. В течение опыта провели 4 серии взятий проб крови. Каждый раз у животных брали пробы крови пункцией яремной вены до приема корма и через 1, 2 и 3 часа после него. В пробах крови определяли концентрацию гормонов и метаболитов указанными ранее методами.

Перед переводом бычков на повышенный уровень кормления живая масса бычков составила $228,6 \pm 3,7$ кг и она не имела существенных различий между животными. В период интенсивного кормления у бычков проявились индивидуальные различия по скорости роста, что позволило условно разделить их на две группы по 4 головы в каждой. За 3-месячный период опыта среднесуточный прирост животных в 1-й группе составил 1017 ± 58 г, а во 2-й — 1264 ± 45 г ($P < 0,02$). Не установлено существенных различий между группами по потреблению корма.

Различия между группами по концентрации тироксина, трийодтиронина, кортизола, глюкозы и молочной кислоты, по активности лактатдегидрогеназы, малатдегидрогеназы и пируватдегидрогеназы были менее выражены и поэтому на них при обсуждении материалов данной работы детально останавливаться нецелесообразно. Наиболее существенные различия между группами животных были установлены для инсулина, соматотропина и глюкагона.

Интенсивно растущие бычки 2-й группы во всех сериях исследований отличались повышенным уровнем инсулина в плазме крови, как до приема корма, так и после него (табл. 3). Коэффициент соотношения концентрации гормона после приема корма к исходному уровню отражает относительную скорость изменения его содержания в крови. Данные представленные в таблице 5 свидетельствуют, что уровень инсулина в плазме крови бычков 2-й группы после приема корма изменялся более интенсивно, чем в 1-й группе.

Различия между группами животных по уровню соматотропина в плазме крови проявляются в меньшей степени, чем по содержанию инсулина (табл. 4), что связано с наличием существенных индивидуальных колебаний уровня гормона. Бычки 2-й группы, как правило, отличались от 1-й группы более высокой базальной (до приема корма) концентрацией соматотропина и низким уровнем его через 2 и 3 часа после приема корма. Относительная скорость снижения содержания соматотропина после приема корма у них в большинстве периодов исследования была выше, так как значения коэффициентов меньше (табл. 5).

Таблица 3

Концентрация инсулина в плазме крови бычков при разной интенсивности роста, пМ/л

Время взятия проб крови	возраст, мес.	1-я группа	2-я группа	% к 1 гр.
До приема корма	8,5	$69 \pm 7,7$	$150 \pm 10,2$	217,4
	9,0	$65 \pm 10,9$	$82 \pm 15,3$	126,2
	9,5	$62 \pm 5,5$	$109 \pm 13,6$	175,8*
	10,0	$68 \pm 7,5$	$127 \pm 15,0$	186,8*
Через 1 час после приема корма	8,5	$133 \pm 11,7$	$237 \pm 18,8$	178,2**
	9,0	$88 \pm 13,9$	$182 \pm 22,6$	206,8*
	9,5	$124 \pm 9,6$	$191 \pm 20,3$	154,0*
	10,0	$98 \pm 12,6$	$148 \pm 25,7$	151,0
Через 2 часа после	8,5	$102 \pm 3,5$	$143 \pm 21,7$	140,2
	9,0	$89 \pm 15,2$	$173 \pm 31,8$	194,4

приема корма	9,5	117±21,0	186±20,4	159,0
	10,0	114±10,5	234±37,2	205,3*
Через 3 часа после приема корма	8,5	99±15,1	201±37,5	203,0
	9,0	75±6,9	146±4,7	194,7**
	9,5	128±39,7	226±31,8	176,6
	10,0	100±9,3	232±42,6	232,0*

Таблица 4

Концентрация соматотропина в плазме крови бычков при разной интенсивности роста, пМ/л

Время взятия проб крови	возраст, мес.	1-я группа	2-я группа	% к 1 гр.
До приема корма	8,5	246±20,0	425±8,5	172,8**
	9,0	203±28,1	296±34,3	145,8
	9,5	197±30,6	187±26,2	94,2
	10,0	205±38,7	236±10,4	115,1
Через 1 час после приема корма	8,5	125±12,7	146±22,0	116,8
	9,0	100±5,5	147±36,5	147,0
	9,5	99±22,1	103±4,2	104,0
	10,0	139±19,6	146±10,0	105,0
Через 2 часа после приема корма	8,5	250±53,3	169±43,1	67,6
	9,0	188±22,7	113±22,7	60,1
	9,5	154±13,1	71±13,6	46,1*
	10,0	152±11,3	123±33,4	80,9
Через 3 часа после приема корма	8,5	286±53,6	276±41,7	96,5
	9,0	207±39,0	242±31,1	116,9
	9,5	166±29,2	118±33,0	71,1
	10,0	161±35,6	101±19,1	62,7

Таблица 5

Коэффициент соотношения концентрации гормонов после приема корма к исходному уровню у бычков при разной интенсивности роста, пМ/пМ

Показатели	возраст, мес.	1-я группа	2-я группа	% к 1 гр.
Отношение уровня соматотропина через 1 час после кормления к исходному уровню	8,5	0,69±0,15	0,50±0,12	72,5
	9,0	0,65±0,16	0,48±0,08	73,8
	9,5	0,50±0,08	0,69±0,09	138,0
	10,0	0,70±0,09	0,66±0,03	94,3
Отношение уровня соматотропина через 3 часа после кормления к исходному уровню	8,5	1,07±0,20	0,74±0,08	69,2
	9,0	0,76±0,02	0,82±0,08	107,9
	9,5	0,85±0,09	0,63±0,17	74,1
	10,0	0,86±0,12	0,35±0,04	40,7*
Отношение уровня инсулина через 1 час после кормления к исходному уровню	8,5	1,97±0,20	1,94±0,37	98,5
	9,0	1,36±0,08	2,53±0,35	186,0*
	9,5	2,04±0,33	2,59±0,42	127,0
	10,0	1,33±0,24	1,26±0,21	94,7
Отношение уровня инсулина через 3 часа после кормления к исходному уровню	8,5	1,46±0,20	1,99±0,38	136,3
	9,0	1,20±0,12	1,60±0,08	133,3*
	9,5	2,84±0,82	2,94±0,15	103,5
	10,0	1,58±0,10	1,83±0,22	115,8

Таблица 6

Коэффициент соотношения концентрации соматотропина и инсулина в плазме крови бычков при разной интенсивности роста, пМ/пМ

Время взятия проб крови	возраст, мес.	1-я группа	2-я группа	% к 1 гр.
До приема корма	8,5	4,18±0,30	2,49±0,44	59,6*
	9,0	3,67±1,24	3,80±1,25	103,5
	9,5	3,29±0,36	1,65±0,37	50,2*
	10,0	3,71±0,72	1,58±0,09	42,6*
Через 1 час после приема корма	8,5	1,15±0,20	0,67±0,08	58,3
	9,0	1,52±0,38	0,63±0,12	41,4
	9,5	0,98±0,27	0,55±0,05	56,1
	10,0	1,65±0,17	0,63±0,08	38,2**
Через 2 часа после приема корма	8,5	2,73±0,40	0,68±0,16	24,9**
	9,0	2,72±0,25	0,50±0,10	18,4**
	9,5	1,32±0,20	0,35±0,03	26,5**
	10,0	1,34±0,17	0,40±0,12	29,9*
Через 3 часа после приема корма	8,5	2,35±0,30	2,14±0,09	91,1
	9,0	2,77±0,46	1,50±0,23	54,1*
	9,5	2,09±0,39	0,56±0,18	26,8*
	10,0	1,20±0,20	0,50±0,14	41,7*

Таблица 7

Концентрация глюкогона в плазме крови бычков при разной интенсивности роста, пг/мл

Время взятия проб крови	возраст, мес.	1-я группа	2-я группа	% к 1 гр.
До приема корма	8,5	99±0,8	126±20,1	127,3
	9,0	112±4,3	128±10,5	114,3
	9,5	119±6,6	126±9,4	105,9
	10,0	101±6,0	118±15,9	116,8
Через 1 час после приема корма	8,5	97±6,6	119±8,5	122,7
	9,0	131±8,3	158±13,8	120,6
	9,5	136±12,1	158±17,5	116,2
	10,0	112±4,8	130±23,4	116,1
Через 2 часа после приема корма	8,5	89±4,9	126±13,8	141,6
	9,5	139±12,3	155±13,2	111,5
	10,0	98±8,5	131±9,7	133,7
Через 3 часа после приема корма	8,5	90±6,4	117±13,4	130,0
	9,5	142±17,0	154±20,3	108,4
	10,0	89±1,2	120±17,3	134,8

Известно, что увеличение уровня инсулина в крови жвачных животных может стимулировать синтез и инкрецию глюкогона. Поэтому более высокая концентрация глюкогона в плазме крови бычков 2-й группы по сравнению с таковой в 1-й группе (табл. 7) хорошо согласуется с этим фактом.

Обобщая результаты двух экспериментов, можно сделать следующее заключение. Несмотря на незначительное количество углеводов, поступающих в кровь из желудочно-кишечного тракта у жвачных животных инсулин занимает ведущую роль в регуляции метаболизма и, в конечном итоге, в реализации продуктивного потенциала животных. При проведении физиологических и биохимических экспериментов на крупном рогатом скоте для подбора аналогов в опытных группах желательнее учитывать функциональное состояние соматотропной функции аденогипофиза и активность инсулярного аппарата поджелудочной железы.

На первый взгляд может возникнуть мнение, что имеется некоторое противоречие между результатами, полученными в опытах

при разном уровне питания и при изучении состояния эндокринных желез у бычков с разным потенциалом продуктивности. Поэтому изложим общую схему реализации регуляторного влияния инсулина и соматотропина на метаболизм у жвачных животных.

В условиях среднего уровня питания основным фактором определяющим интенсивность роста бычков является количество питательных веществ, поступающих из желудочно-кишечного тракта в кровь. Функциональное состояние эндокринных желез у большинства животных при этих условиях способно достаточно эффективно распределить поток метаболитов для обеспечения основных физиологических функций организма.

При высоком уровне питания бычков основным фактором, определяющим реализацию продуктивного потенциала животных, является не количество поступивших субстратов, а способность организма эффективно использовать их для своих потребностей. На этом этапе функциональное состояние эндокринных желез может оказаться одним из лимитирующих звеньев обмена веществ. Бычки, способные поддерживать в крови высокую базальную концентрацию инсулина и соматотропина и отвечающие на прием корма существенным увеличением уровня инсулина и снижением содержания соматотропина, при этих условиях питания более эффективно используют субстраты для обеспечения основных физиологических функций. В частности, у них более интенсивно функционирует пищеварительная и сердечно-сосудистая системы, повышается синтез мышечных белков и существенно увеличивается масса жировой ткани. У животных с пониженным функциональным состоянием инсулярного аппарата при высоком уровне поступления субстратов, по-видимому, снижается эффективность их отложения в теле и увеличивается использование на теплопродукцию.

Для подтверждения данной гипотезы можно сослаться на результаты комплексной работы сотрудников института на бычках 9-месячного возраста с разной функциональной активностью инсулярного аппарата (6). Животные, способные поддерживать в крови высокий уровень инсулина, имели выше интенсивность липогенеза в подкожной жировой ткани на 271,4 %, синтеза и отложения мышечных белков — на 6,6 и 8,7 %, по сравнению с бычками с низкой функциональной активностью инсулярного аппарата.

В последние годы во многих странах были начаты исследования белков плазмы крови, обладающих высокой специфичностью к отдельным гормонам. Первые сообщения о наличии в крови человека и ряда лабораторных животных белков с высокой специфичностью по отношению к соматотропину появились в 80-х годах (7, 8). В последующие годы подтверждена их идентичность по физико-химическим и иммунологическим свойствам с рецептором на цитоплазматической мембране гепатоцитов (9). Показана множественность молекулярных форм белков связывающих соматотропин. В дальнейшем в плазме крови были найдены белки высокоспецифичные к другим гормонам, например, к соматомедину С. Высказаны многочисленные и порой взаимоисключающие гипотезы, объясняющие механизм действия гормонов и биологическую функцию акцепторных белков. Однако, несмотря на интенсивное изучение эта проблема до настоящего времени не решена. Имеется немного научных работ, посвященных этой проблеме у сельскохозяйственных животных.

Для исследования белков, специфически связывающих соматотропин в плазме крови крупного рогатого скота, мы использовали следующие методы. Образцы плазмы крови инкубировали с добавлением разного количества нативного и меченого ¹²⁵I соматотропина. В дальнейшем пробы плазмы крови фракционировали на колонках с сефадексом G-100 с применением проточного ультрафиолетового детектора при длине волны 280 нм и

определяли радиоактивность на приборе Ультра-гамма фирмы ЛКБ. Наши исследования показали, что в плазме крови крупного рогатого скота присутствует акцепторный белок, который с высокой специфичностью и аффинностью связывает соматотропин (10). Данный белок отсутствует в глобулиновой фракции белков плазмы крови, осаждаемых полиэтиленгликолем-6000 в 13%-ной конечной концентрации. Максимальное количество акцепторного белка осаждается сульфатом аммония при 50%-ном насыщении.

Для выяснения физиологической роли данного акцепторного белка в организме жвачных животных необходимо иметь методы, позволяющие определить концентрацию данного белка в биологических жидкостях организма и содержание свободной и связанной форм соматотропина. С этой целью изучали эффективность разных биохимических методов для выделения и очистки данного акцепторного белка из плазмы крови крупного рогатого скота. Наиболее эффективен метод, включающий фракционирование белков сульфатом аммония, полиэтиленгликолем и последующая очистка с применением проникающей хроматографии на колонках с Superose 12, ионообменной хроматографии на колонках с DEAE-Toyopearl и CM-Toyopearl и аффинной хроматографии на колонках с сефарозой, к которой был "пришит" соматотропин крупного рогатого скота. В настоящее время мы проводим работу по созданию специфического метода для количественного определения акцепторного белка в плазме крови крупного рогатого скота.

Литература

1. Определение гормонов в крови крупного рогатого скота и их гормональный статус (Методические указания, сост. В.П.Радченков, В.С.Аверин, Е.В.Бутров и др.). Боровск, 1985: 75.
2. Gallati H. J. Clin. Biochem. 1978, 37, 3: 699-703.
3. Gutmann J., Wahlfeld A.W. In: (H.U. Bergmeyer, ed.) Methods of Enzymatic Analysis, 2 nd ed. N-Y,L: Verlag Chemie Weineim and Academic Press, Inc.,1974, 4: 1464.
4. В.П.Радченков, В.А.Матвеев, Е.В.Бутров, Е.И.Буркова. Эндокринная регуляция роста и продуктивности сельскохозяйственных животных. М.: Агрпромиздат, 1991: 160.
5. Ю.Н.Шамберев. Взаимодействие гормонов и алиментарных факторов в регуляции обмена веществ и роста животных. Гормоны в животноводстве. М.: Колос, 1977: 180-195.
6. В.А.Матвеев. Прогнозирование, оптимизация и регулирование биосинтеза компонентов мяса. Проблемы физиологии, биохимии, биотехнологии и питания сельскохозяйственных животных. Боровск, 1994: 108-116.
7. S.I.Ymer, A.C.Herington. Evidence for the specific binding of growth hormone to a receptor-like protein in rabbit serum. Molecular and Cellular endocrinology, 1985, 41: 153-161.
8. G.Baumann, M.W.Stolar, K.Amburn et al. A Specific Growth Hormone-Binding Protein in Human Plasma: Initial Characterization. J. Clin. Endocrinol. Metab., 1986, 62, 1: 134-141.
9. D.W.Leung, S.A.Spencer, G.Cachianes et al. Nature, 1987, 330: 537-543.
10. В.А.Матвеев, В.П.Галочкина. Рецепторные белки для соматотропина в плазме крови крупного рогатого скота. Труды ВНИИФБиП с.-х. животных, Боровск, 1989: 56-57.

Научные и практические аспекты субстратной активации желез внутренней секреции животных

Ю.Н.Шамберев

*Московская сельскохозяйственная академия им. К.А.Тимирязева,
Москва, Россия*

В настоящее время обеспечение населения продуктами животноводства возможно только при использовании интенсивных технологий. В связи с этим значительно повысились требования к животным, которые кроме высокой продуктивности должны обладать хорошим здоровьем, устойчивостью к неблагоприятным факторам внешней среды и пригодностью к интенсивным технологиям. В решении этих задач наряду с использованием достижений селекции, оптимизации условий кормления и содержания, необходимо учитывать достижения биологических наук. Поэтому важной частью технологии современного животноводства в нашей стране и за рубежом стало применение стимуляторов продуктивности и адаптогенов различной химической природы.

В регуляции процессов в организме животных основную роль играет нервная система, а также гормоны гипоталамуса, гипофиза и периферических эндокринных желез. Именно они регулируют обмен веществ, воспроизводство, уровень продуктивности и адаптивные способности животных.

Положительно оценивая успехи мировой науки и практики по изучению и применению гормонов в процессе воспроизводства, повышения различных видов продуктивности и адаптивной способности животных, следует отметить ряд серьезных затруднений. Большинство стероидных гормонов и их аналогов не могут применяться в животноводстве по санитарно-гигиеническим требованиям, ввиду возможной опасности их аккумуляции тканями животных и попадания в продукты питания человека. Белковые и пептидные гормоны, хотя и безвредны, однако несмотря на биотехнологический прогресс, их производство остается дорогим, а современные генноинженерные методы полностью не лишены экологических недостатков.

Учитывая важность применения гормонов в животноводстве (соматостатин, соматотропин, инсулин и др.) лаборатория эндокринологии Тимирязевской сельскохозяйственной академии разрабатывает принципиально новый путь их использования в животноводстве. Суть его заключается в том, что для регуляции обмена веществ, стимуляции роста и мясной продуктивности не следует вводить животным сложные и дорогие экзогенные гормоны, а нужно применять специфические субстратные активаторы желез внутренней секреции. При этом повышенное производство гормонов осуществляется не за счет пуска новых цехов и заводов, а путем интенсификации эндокринной системы животных, в норме функционирующей значительно ниже своего потенциала.

Мы критически оцениваем традиционный метод применения гормонов в животноводстве. Для повышения продуктивных и адаптивных способностей животных им дополнительно вводят гормоны (СТГ, инсулин и др.), что по закону обратной связи снижает продукцию собственных эндогенных гормонов. Следовательно, положительный результат достигается за счет вводимых гормонов при угнетении образования собственных. Поскольку при промышленном производстве гормонов приходится строить новые цеха и заводы с очень сложной и дорогой технологией, а при введении их животным тормозить функцию созданных и отшлифованных эволюцией эндокринных структур — это ни биологически, ни технологически, тем более экономически не обосновано. Предлагаемые нами методы, кроме

научного, представляют большой практический интерес, они физиологичны, полностью безвредны, эффективны и экологически чисты.

Разработка теории и практики субстратной индукции эндогенных гормонов для повышения продуктивности и адаптационной способности животных является одним из направлений наших исследований. Разрабатываемые нами идеи в известной мере заимствованы из эволюции животного мира, роль гормонов в которой еще недостаточно оценена. Инсулин и его рецепторы, наряду с катехоламинами, является важным и одним из древних образований. Этот гормон, или подобные ему вещества, обнаружены у бактерий, кольчатых червей, моллюсков, иглокожих и других представителей животного мира, не имеющих панкреатической железы. Причем действие инсулина везде качественно сходно и сводится к усилению проникновения в клетку глюкозы, аминокислот и т.п. и рациональному их использованию в синтетических процессах и обмене веществ. В ходе эволюции образование инсулина совершенствовалось, на определенном этапе появились специализированные структуры — клетки, а позднее мини-эндокринный орган — островки Лангерганса поджелудочной железы, расположенный в центре пищеварительной системы и регулирующий поступление и рациональное использование питательных веществ и энергии.

В соответствии с иерархией регуляции в эндокринной системе периферические эндокринные железы получают импульс для развития и функциональной активности от гипоталамуса и тропных гормонов гипофиза, за исключением островков Лангерганса поджелудочной железы, которые не имеют своего тропного гормона.

На основе анализа литературы и исследований нашей лаборатории выдвинута гипотеза, что возбудителями, активаторами этой эндокринной железы являются питательные вещества — субстраты, обладающие секретогенным действием в отношении инсулина: глюкоза, аргинин, лизин, лейцин, жирные кислоты. Саморегуляция железы и обмена веществ осуществляется рядом гормонов островков Лангерганса (соматостатин, глюкагон, инсулин и др.).

Приведенные данные согласуются с современными представлениями о влиянии гуморальных факторов на эндокринные функции по принципу отрицательной обратной связи. При этом регулирующий метаболит может действовать как стимулятор функции железы, если гормон этой железы снижает концентрацию данного метаболита (2). Таковы взаимодействия в системах глюкоза → инсулин, пропионовая кислота → инсулин, аргинин → СТГ и т.д. Рассмотренные механизмы саморегуляции эндокринных процессов представляют один из важнейших способов поддержания метаболического гомеостаза.

Утверждение принципа субстратной индукции эндогенных гормонов в организме животных и реализация его в практике животноводства тесно связаны с выяснением ряда вопросов: чем определяется специфичность активирующего действия аминокислот на функции эндокринных структур? Какие факторы усиливают это действие? Связано ли это с метаболическими путями поступления аминокислот в организм животных? В чем состоит возможный механизм действия аминокислот в реализации секреции гормонов?

Для ответа на поставленные вопросы необходимо учитывать как данные, полученные в процессе изучения эволюции, так и результаты лабораторных исследований последних лет. Общеизвестна тесная связь развития островков Лангерганса поджелудочной железы с количеством потребляемой пищи. Так, в поджелудочной железе человека островковая ткань составляет 1–1,5 % объема паренхимы, у моногастричных животных — 2–3 %, у жвачных — до 10 %. Из этого следует, что увеличение объема поступающей пищи способствует

образованию тех морфологических структур, которые способствуют ее рациональному использованию и оптимальной утилизации в организме. Роль инсулина, вырабатываемого β -клетками островкового аппарата поджелудочной железы, в этих процессах является ведущей.

Приведенные эволюционные данные подтверждены конкретными опытами нашей лаборатории. Эндокринная система поджелудочной железы несет основную функциональную нагрузку при откорме животных, когда в ответ на поступление больших количеств питательных веществ резко возрастает потребность в инсулине. Это встречается при продолжительном или очень интенсивном откорме животных. В опытах (7) проводили откорм бычков черно-пестрой породы, рассчитанный на разный уровень среднесуточного прироста: 600 г (контрольная группа), 800 и 1000 г (опытные). При контрольном убое изучали гистоструктуру эндокринной системы поджелудочной и щитовидной желез. В первые три месяца интенсивного откорма наблюдали активизацию и усиление функции инсулярного аппарата у бычков — расширение площади эндокринной ткани, увеличение размеров островков Лангерганса и количества β -клеток в них. В последние 3 месяца наступало ослабление и понижение активности инкреторной системы железы, о чем свидетельствовало сокращение площади эндокринной ткани в 2 раза, уменьшение островков Лангерганса на 25 %, а количества β -клеток на 32 %. Процессы усиления и последующего угнетения функциональной активности инсулярного аппарата поджелудочной железы были выражены тем сильнее, чем выше был уровень кормления. Результаты опыта подтвердили роль питательных веществ в индукции инкретции инсулина.

Прямое определение инсулина в сыворотке крови кастратов при интенсивном откорме показало (4), что его уровень в процессе откорма достоверно увеличивался на 61,6 %, причем изменение произошло в основном за счет активной фракции свободного инсулина (84,1 %).

В следующем физиологическом опыте на бычках-кастратах изучали роль белковой нагрузки на эндокринную систему животных. После двухнедельного уравнивающего периода животным в течение 4-х недель скармливали избыточное количество белковых кормов (смесь концентратов) — до 7 кг в сутки на голову. В результате белковой нагрузки в сыворотке крови животных существенно возрастал, по сравнению с исходным, уровень гормона роста и тиреоидных гормонов, а содержание инсулина увеличилось на 62 % (5).

Заключает этот цикл физиологических опытов внутривенное введение животным высоких доз аминокислот — лизина и аргинина в физрастворе (до 60 г на животное). Под их влиянием уровень гормона роста в сыворотке крови повышался на 15–50 %, тиреоидных гормонов — на 45–60 %, инсулина — на 80–118 %. Причем под воздействием аргинина в большей мере повышалась концентрация в крови соматотропина и тиреоидных гормонов, а под влиянием лизина — уровень инсулина. Все это дает основание заключить, что существует принципиальная возможность направленного воздействия на функции желез внутренней секреции животных посредством специфических субстратов.

Гормоны могут оказывать свое влияние только через рецепторы, которые являются специфическими структурами, связывание с которыми является обязательным условием для проявления эффекта внеклеточного биологически активного вещества. Часть молекулы, которая обеспечивает проявление гормонального эффекта, называется эффекторным участком молекулы гормона. Эволюционно это наиболее консервативная структура. Участки молекулы гормона, через которые осуществляется связывание с рецептором, называются адресными. При анализе структуры белково-пептидных гормонов установлено, что эффекторный участок расположен в N-концевой части молекулы. Это

интересно, поскольку многие гормоны и нейромедиаторы образуются из аминокислот (катехоламины, гистамин, серотонин) и содержат аминогруппу, которая играет решающую роль в проявлении их биологических эффектов. Так, у глюкогона такой аминокислотой является гистидин, у паратгормона — аланин, у гонадолиберина — пироглутаминовая аминокислота (3). Таким образом, общие сведения о роли субстратов в индукции гормонов в организме животных, специфичности действия отдельных аминокислот, взаимодействии их с рецепторами, возможность которого увеличивается при повышенной концентрации, дают основание предполагать реальную возможность использования аминокислот для направленной регуляции секреции гормонов с целью повышения продуктивности животных.

Поэтому нами была поставлена задача перевести теоретические исследования в область практического животноводства. Было предположено, что и низкие дозы отдельных аминокислот при длительном и непрерывном поступлении в кровь, в обход обычных метаболических путей, будут индуцировать инкрецию эндогенных гормонов. В качестве фармакологической формы введения аминокислот животным были избраны прессованные гранулы, для введения которых под кожу уха использовали специальный прибор — имплантатор. Гранулы мы называем имплантатами.

Эффективность вводимых животным аминокислот в значительной мере зависит от состава и качества имплантата. Он должен быть асептичен, технологичен для введения и обеспечивать поступление аминокислот в кровь равномерно и постепенно. На основе многочисленных опытов мы избрали следующий базовый состав имплантата: L-лизин гидрохлорид, сахароза, пчелиный воск. Такой биологически и технологически обоснованный состав обеспечивает при прессовании твердую структуру гранул, постепенное их рассасывание, а сахароза повышает активность лизина, поскольку в стимуляции инкреции инсулина действие аминокислот осуществляется через глюкозу. Уже в первых опытах были получены положительные результаты от введения имплантантов лизина животным, что позволило вести исследования по выявлению оптимальных доз, влиянию на эффективность препарата возраста, пола, вида животных, условий кормления и содержания (6, 8, 9, 10).

Сводные результаты ряда опытов представлены в таблице 1. Подопытным животным однократно под кожу уха вводилась оптимальная доза имплантата лизина (телятам — 180 мг, свиньям — 240 мг, бычкам и кастратам на откорме — 300–500 мг). Оптимальные дозы препарата устанавливались в предыдущих опытах. Имплантация гранул лизина статистически достоверно повышала прирост телят на 8–13 %, молодняка крупного рогатого скота на откорме — на 12–15 %, свиней — на 15 %. При этом снижался расход корма на единицу прироста на 8–10 %. Полученные результаты подтверждены в широких производственных опытах.

Таблица 1

Влияние имплантата лизина на рост животных

Группа ¹⁾	n	Живая масса, кг		Прирост за опыт, кг	Среднесуточный прирост, г	В % к контролю
		в начале опыта	в конце опыта			
Опыт 1 (бычки)						
1	10	94,0	181,8	87,8±0,9	965	100,0
2	10	94,2	189,0	95,7±0,3**	1052	109,0
Опыт 2 (бычки)						
1	23	63,0	135,7	72,7±2,0	1124	100,0
2	23	63,4	141,8	78,4±1,50*	1104	107,8
Опыт 3 (бычки)						

1	10	79,7	173,1	93,4±4,0	1004	100,0
2	10	79,6	184,7	105,1±3,3**	1130	112,5
Опыт 4 (телки)						
1	10	65,0	95,0	30,0±4,9	461	100,0
2	10	65,0	99,0	34,6±2,8	523	113,4
Опыт 5 (бычки–кастраты)						
1	16	227,4	299,7	72,3±4,2	768	100,0
2	16	228,1	311,2	83,1±2,0*	903	115,0
Опыт 6 (бычки на откорме)						
1	16	264,6	345,1	80,5±4,2	894	100,0
2	16	264,4	354,9	90,5±2,8*	1005	112,4
Опыт 7 (свиньи)						
1	12	62,2	101,4	39,9±2,8	653	100,0
2	12	60,4	105,5	45,1±2,6*	752	115,2

¹⁾ 1–контрольная; 2–опытная

* – P<0,05; ** – P<0,01.

При изучении мясной продуктивности животных установлено, что под влиянием имплантата лизина повышается убойная масса на 5–9 кг, убойный выход на 2–3 %, существенно не изменяются химический состав и органолептические свойства мяса. Эффективность препарата зависит от уровня и характера кормления животных. Лучшие результаты получены при среднем уровне кормления на пастбище или при скармливании зеленой массы. У подопытных кастратов увеличивались процентный выход мяса высшего сорта и дегустационная оценка мяса.

Способ повышения роста и мясной продуктивности молодняка крупного рогатого скота на основе субстратной индукции эндогенных гормонов защищен патентом N 1713584 за 1993 г. Технические условия и наставление по применению имплантата лизина для стимуляции роста и мясной продуктивности молодняка крупного рогатого скота и свиней утверждены Министерством сельского хозяйства РФ и Главным управлением ветеринарии N 19-5-2/125, 1993 г. Мясо животных, обработанных стимулятором, используется в пищу без ограничений.

В физиологических и производственных опытах введение животным имплантатов лизина повышало содержание гормона роста и инсулина в сыворотке крови при снижении уровня тиреоидных гормонов и глюкокортикоидов (5, 8).

Предыдущие данные были получены на откармливаемых бычках и кастратах, в данном разделе приводятся результаты исследований уровня гормонов в крови телят, которым вводили разные дозы имплантата лизина. Гормоны определяли радиоиммунологическими методами (табл. 2).

Таблица 2

Уровень гормонов в плазме крови телят

Периоды опыта	Группа			
	Контроль-ная	120 мг лизина	180 мг лизина	240 мг лизина
Свободный инсулин, мк ед/мл				
1. До опыта	54,86±2,75	60,47±4,40	47,67±7,70	43,93±6,16
2. В среднем за опыт	46,58±8,90	52,27±5,68	62,39±6,84	41,16±6,14
3. % к исходному уровню	81,9	86,4	130,9	93,7
Тироксин, мкг%				
1. До опыта	8,32±1,10	9,03±0,41	11,62±0,50	12,66±1,40
2. В среднем за опыт	11,37±1,40	10,85±1,30	12,87±0,39	13,73±0,69
3. % к исходному уровню	136,7	120,2	110,8	108,5
Трийодтиронин, мг%				

1. До опыта	117,8±24,0	153,0±7,0	135,1±15,0	137,4±3,4
2. В среднем за опыт	128,2±6,3	144,1±8,3	153,6±4,5	146,8±6,6
3. % к исходному уровню	108,8	94,2	113,7	106,8

У животных всех групп, кроме третьей, уровень иммунореактивного инсулина в плазме крови за период опыта снижался. Это мы связываем с ухудшением условий кормления. С учетом исходного уровня у телят опытных групп оно меньше выражено, а у животных, которым имплантировали оптимальную дозу препарата, содержание инсулина превышало исходный уровень на 31 %. Сходные результаты отмечались в других опытах.

Уровень тироксина в плазме крови телят разных групп в предопытный период отличался большой вариабельностью. У животных опытных групп, с учетом исходного уровня, отмечена тенденция к его снижению, причем она более выражена у телят, которым вводили повышенные дозы имплантанта. Такие данные получены как в среднем за опыт, так и по отдельным периодам. Уровень трийодтиронина в крови телят под влиянием имплантанта лизина с учетом исходного уровня существенно не изменялся.

Повышение уровня инсулина в сыворотке крови животных, которым вводили имплантант лизина, было отмечено во всех предыдущих опытах. Такие изменения в спектре инкретируемых гормонов в организме животных вызывают преобладание в обмене веществ анаболических процессов над катаболическими, что подтверждается динамикой ряда биохимических показателей в крови. Так, у подопытных животных при одинаковом или повышенном содержании белка в плазме крови снижается содержание остаточного азота, мочевины, а также кальция, неорганического фосфора и магния, но повышается уровень холестерина и незначительно — иммуноглобулинов и пропердина.

При проведении сотрудниками лаборатории обменного опыта (10) через 4 недели после введения имплантанта лизина телятам наблюдалась тенденция к повышению переваримости как сухого, так и органического вещества рациона на 2,9 и 2,6 % соответственно. Переваримость сырого протеина в опытной группе была статистически достоверно выше, чем в контрольной на 74,9 и 69,6 % соответственно. По переваримости сырой клетчатки, сырого жира и золы не наблюдали существенных различий между животными сравниваемых групп. Отмечена тенденция более эффективного использования БЭВ телятами опытной группы.

Среднесуточное потребление кормов животными сравниваемых групп находилось на одном уровне, в связи с этим поступление азота в организм животных было практически одинаковым и составляло 50,7–50,8 г. Среднесуточные потери азота с калом у животных контрольной группы были на 2,64 г больше, чем у опытной группы, что существенно отразилось как на количестве переваренного азота, так и на коэффициенте переваримости. У животных контрольной группы были выше потери азота с мочой, по сравнению с опытной группой. Среднесуточный баланс азота у животных обеих групп был положительным и составил в контрольной группе 19,81 г, у телят опытной группы 23,4 г ($P < 0,05$).

Таким образом, имплантация гранул лизина способствовала повышению усвоения азота в организме животных. Все это, наряду с положительными сдвигами в межклеточном обмене веществ, объясняет лучший рост подопытных животных и снижение затрат корма на единицу прироста.

Однократная имплантация гранул лизина оказывает стимулирующее влияние на рост животных в течение 2,5–3-х месяцев. Однако на основе приведенных данных трудно объяснить механизм пролонгированного действия препаратов. В связи с этим были

проведены гистологические исследования поджелудочной железы откармливаемых бычков ярославской породы, которым в начале откорма однократно имплантировали разные дозы комплексных гранул лизина (11). После 3-месячного периода откорма бычков убивали на мясокомбинате, а железы внутренней секреции отбирали и фиксировали для дальнейших гистологических исследований, результаты которых представлены в таблице 3.

Таблица 3

Влияние имплантации гранул лизина на гистоструктуру островков Лангерганса поджелудочной железы бычков¹⁾

Группа	Кол-во островков на 1 поле зрения, шт	Средний диаметр островка, мкм	Площадь островка, мкм ²	Количество клеток в островке, шт
1. Контрольная	0,69	12,24	4955	52,9
2.Имплантация 120 мг лизина	0,78	13,63	6104*	77,4**
% к контролю	113,0	113,3	123,2	146,3
2.Имплантация 240 мг лизина	1,73**	14,19	6616*	75,5**
% к контролю	251,6	115,9	133,5	142,7

¹⁾ Гистологические исследования выполнены Н.И.Кузяковой.

* P<0,05 **P<0,1

Из таблицы 3 следует, что под влиянием имплантантов лизина в островках Лангерганса поджелудочной железы бычков произошло существенное изменение: средний диаметр островков увеличился на 14–16 %, площадь островковой ткани возросла на 23–34 %, количество клеток в островке — на 43–46 %. Заметно увеличилось и число островков в поле зрения микроскопа. Эти данные представляют большой интерес. Длительное и непрерывное поступление в кровь бычков лизина из имплантированных гранул активизирует функцию β-клеток островков Лангерганса и повышает инкрецию инсулина. Для более надежного обеспечения гомеостаза в поджелудочной железе животных, наряду с физиологическими, происходят и структурные изменения, связанные с появлением новых островков и увеличением количества эндокринных клеток в них. Выявленная структурная адаптация повышает возможности инсулярного аппарата в регуляторных процессах и поддержании гомеостаза в течение продолжительного периода. Эти теоретические положения представляют и практический интерес, являясь одним из объяснений пролонгированного действия имплантанта лизина на организм животных.

Наши дальнейшие исследования по изучению субстратной активации желез внутренней секреции для повышения продуктивности и адаптивной способности животных направлены на выявление более специфичных имплантантов аминокислот и оптимальной точки введения, целесообразности включения в их состав ионов кальция и других элементов, усиливающих индукцию эндогенных гормонов.

Предварительные опыты показали, что под влиянием усовершенствованных субстратных имплантантов и методов их введения повышение интенсивности роста животных почти удваивается.

Выводы. 1) Разработан метод субстратной активации островков Лангерганса поджелудочной железы на основе введения секретогенов инсулина (аргинин, лизин) сельскохозяйственным животным. 2) Однократная имплантация оптимальных доз гранул лизина повышает среднесуточный прирост телят и поросят на 12–15 % при снижении

затрат корма на единицу прироста на 8–10 %. 3) Положительное влияние имплантата лизина на рост животных связано с преобладанием в гормональном спектре анаболических гормонов, повышением переваримости питательных веществ и ретенции азота, с включением в физиологическую регуляцию инсулина структурных адаптивных изменений в островках Лангерганса поджелудочной железы.

Литература

1. Иванов И.С., Буряков Н.П., Бурякова М.А., Захарова И.Е. Рост и использование питательных веществ рациона телят при введении лизина. Известия ТСХА, 1995, 3: 174-180.
2. Розен В.Б. Основы эндокринологии. М.:Высшая школа, 2-е изд., 1984: 333.
3. Ткачук В.А. Введение в молекулярную эндокринологию. М.:Изд. Московского ун-та, 1983: 256.
4. Шамберев Ю.Н. Влияние откорма на функциональное состояние эндокринной системы молодняка крупного рогатого скота. Доклады ТСХА, 1972, 174: 41-45.
5. Шамберев Ю.Н. Влияние алиментарных факторов на секрецию гормонов у молодняка крупного рогатого скота. Известия ТСХА, 1974, 3: 164-175.
6. Шамберев Ю.Н., Гаврищук В.И. Влияние имплантации аминокислот и эстрогенов на рост и мясную продуктивность кастратов. Известия ТСХА, 1977, 1: 158-165.
7. Шамберев Ю.Н., Кузякова Н.И. Функциональная активность инкреторной системы поджелудочной и щитовидной желез бычков при разном уровне кормления. Известия ТСХА, 1978, 5: 167-175.
8. Шамберев Ю.Н., Эртуев М.М., Гаврищук В.И. Влияние имплантации лизина и гормонов на мясную продуктивность и обмен веществ у бычков. В сб.: Эндокринология и трансплантация зигот с.-х. животных. М.: Колос, 1982: 293-306.
9. Шамберев Ю.Н., Гаврищук В.И. Влияние биогенных аминов и аминокислот на эндокринную систему, обмен веществ и рост молодняка. В сб.: Повышение племенных и продуктивных качеств крупного рогатого скота. М.:ТСХА, 1987: 96-103.
10. Шамберев Ю.Н., Иванов И.С., Гаврищук В.И. Влияние имплантации лизина на уровень гормонов, обмен веществ и рост молодняка крупного рогатого скота. Известия ТСХА, 1991, 4: 110-119.
11. Шамберев Ю.Н., Иванов И.С., Кузякова Н.И. Пути применения гормонов в животноводстве. Доклады ТСХА, 1995, 266: 160-168.

Результаты и перспективы применения системного цитофизиологического анализа в исследованиях регуляции биосинтеза компонентов мяса и молока.

Г.Г.Черепанов

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания
сельскохозяйственных животных,
Боровск, Россия*

Развитие техники и технологии идет сейчас такими темпами, что возможности воздействовать на процессы биосинтеза с помощью новейших средств, включая гормоны и генные конструкции, намного опережают наше понимание закономерностей биосинтеза и формирования продуктивных качеств на уровне клеток, тканей и организма. Конечно, успех быстрее приходит там, где можно действующий фактор выделить и изучить в чистом виде, но из этого не следует, что не надо изучать структуры, которые изначально нерасчленимы. Дальнейший прогресс в понимании причинности многих биологических явлений и выработке путей управления ими зависит от того, насколько центр тяжести будет перенесен от изучения

отдельных факторов и действующих начал на вскрытие системных связей и взаимодействий. Классическая физиология и зоотехния выявили, какие факторы могут оказывать влияние на те или иные системы и функции, но зачастую остается неясным, когда, как и в каком взаимодействии эти факторы реализуются и в чем состоят механизмы функциональной интеграции генных продуктов.

Необычность такой постановки задачи для биологии сельскохозяйственных животных связана с тем, что основные силы здесь традиционно тратятся на то, чтобы получить ответ на вопрос "сколько" (больше-меньше) и значительно меньше - на вопросы "почему" и "как". Почему размеры мышечных клеток увеличиваются с возрастом? Почему падает с возрастом эффективность белоксинтезирующих процессов? Как координируются внутренние факторы, определяющие наращивание мышечной массы и живой массы растущего животного? Как клетки альвеолярного эпителия контролируют содержание белка, жира и лактозы в молоке? Если эти вопросы остаются без ответа, то значит, остаются незаполненными белые пятна между геном и признаком. Таким образом, возникает необходимость в теоретической реконструкции системных связей, т.е. в переходе от анализа изучаемых явлений к синтезу обеспечивающих это явление процессов.

Трудность здесь состоит в том, что эффекты внутриклеточной интеграции формируются в результате функционирования сложных цепочек и сетей метаболических превращений и регуляций, а построение и понимание функционирования таких сетей не может происходить по эмпирической традиции, например, путем измерений показателей, характеризующих картину крови, состав гомогенатов, вычисления корреляций и т.д. Эмпирический подход здесь должен быть дополнен естественно-научным подходом, который базируется на двух опорных точках: 1) на вскрытии наиболее общих устойчивых внутренних связей, инвариантных по отношению к вариациям условий внутренней и внешней среды и 2) на создании рабочего аппарата для описания (теоретического воспроизведения) динамики реакций, для оценки параметров, для анализа и прогнозирования системных функций.

Действительно, трудно представить себе, чтобы, например, интегральные схемы создавали бы по данным исследования их гомогенатов, без знания логики и схмотехники, а самолеты строили бы на основе корреляций без знания законов аэродинамики. Между тем мы подступаем вплотную к конструированию новых типов животных, "с заданным потенциалом продуктивности" не имея в своем арсенале аппарата теоретического прогнозирования продуктивных качеств при тех или иных молекулярно-клеточных воздействиях и модификациях. Многие успешно развивающиеся направления биологии таким инструментом располагают. Современная селекция эффективна потому, что она пользуется аппаратом популяционной генетики, который создавался по крупицам десятилетиями, в том числе трудами Фишера, Райта, Холдейна, Четверикова и др. (5). Рекомбинантные конструкции эффективны потому, что существует аппарат чтения и анализа генетических текстов (6,8). Промышленная микробиология опирается на теоретические методы биохимической кинетики (1-3) и т.д. Можно с уверенностью утверждать, что во всех случаях, когда мы имеем дело с динамикой сложных природных процессов, без развития теоретических исследований дальнейший прогресс в современных условиях невозможен. Следовательно, если ставится задача конструирования "биоинженерных животных", то, видимо, нужно думать о создании теоретического аппарата для анализа и прогнозирования динамики продуктивных функций. Возможные подходы к созданию эффективных методов анализа и прогнозирования сложных биологических функций намечены (по крайней мере в виде

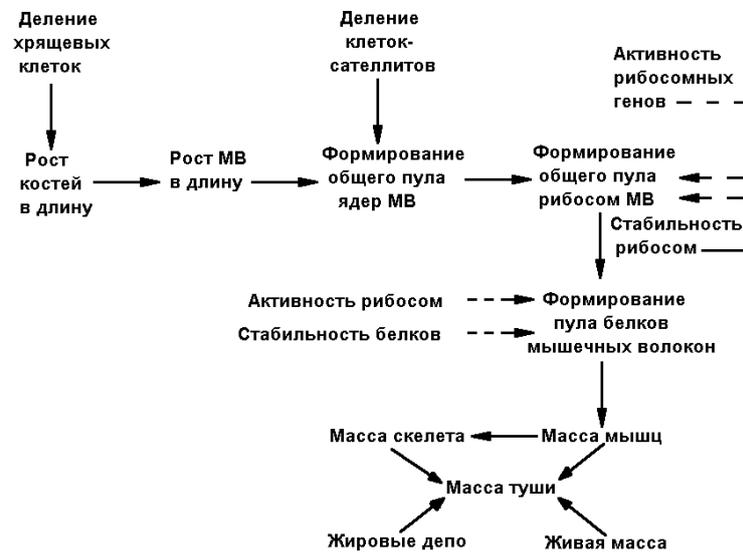
набросков теории) и освещены в ряде работ как в общебиологическом плане (1, 7, 9, 11, 14, 16), так и в аспекте применения их в области животноводства (12, 13 15).

Помимо их очевидного теоретического значения, эти вопросы непосредственно связаны с решением ряда прикладных задач, в числе которых можно назвать такие, как оценка физиологических потребностей и разработка системы питания, адекватного генотипу; прогнозирование продуктивного действия рационов и построение комплексных биолого-экономических функционалов для оптимизационных задач и др. Поскольку признаки продуктивности имеют системный характер, построение такой общей "синтетической" теории возможно на основе выявления и количественной характеристики достаточно длинных цепочек и сетей причинно-следственных и функциональных отношений, начатых от валовых показателей и доведенных до уровня отдельных генных продуктов и процессов макромолекулярного синтеза с последующим "проигрыванием" их на ЭВМ и сопоставлением с данными опытов. В этом заключается идея системного цитофизиологического подхода при построении количественной теории, связывающей экспрессию генов с метаболизмом и формированием хозяйственно-ценных признаков. Особенностью такого подхода является то, что работа проводится в два этапа: на первом этапе оболочка или остов теории строится на основе выявления базисных фундаментальных закономерностей по всему накопленному наукой опыту, а на втором этапе производится привязка этой оболочки для конкретных условий с помощью экспрессных тестов и измерений ключевых морфо-физиологических параметров. Тем самым достигается сочетание необходимой степени общности, универсальности системы с возможностью адаптации к конкретным условиям и задачам.

Применительно к процессам роста использованная нами методика состояла в последовательном выполнении следующих этапов: 1) декомпозиция сложного продуктивного признака на составляющие нижележащего уровня вплоть до молекулярных процессов биосинтеза в ключевых точках; 2) выявление тканей и органов, играющих роль лидирующего звена; 3) количественное описание динамики молекулярно-клеточных событий в лидирующих звеньях; 4) учет соподчинения и корреляции в развитии системы органов и тканей вплоть до формирования живой массы. Пользуясь этой методикой, можно проследить такую цепочку наиболее важных процессов, определяющих наращивание мышечной массы: продольный рост костей скелета — рост мышечных волокон в длину — деление клеток-сателлитов и формирование пула ядер мионов — синтез рРНК и формирование пула рибосом — синтез белка — формирование пула белка и массы мышц — формирование массы туши и живой массы (рис.1). Эти связи могут быть представлены цепочкой взаимосвязанных уравнений, которые решаются на компьютере после того, как введены соответствующие переменные, коэффициенты и начальные условия. Меняя численное значение того или иного параметра или условия внешней среды, можно проследить на модели последствия этого воздействия на изучаемые результирующие переменные и динамику роста (рис. 2).

Рис.1. Схематическое представление морфофизиологической концепции роста животных. Сплошные стрелки обозначают прямые причинно-следственные связи, пунктирные — влияние модифицирующих факторов.

В этой модели использованы следующие входные данные : возрастной интервал и шаг интегрирования, уровень питания, характеристический размер скелета и линейная концентрация ядер мышечных волокон у новорожденного и зрелого животного, параметры скороспелости и целлюлярности мышечной ткани, содержание тотального белка и РНК в мышце у новорожденного животного, параметры зависимости темпа мультпликации ядер от уровня питания и коэффициенты регрессии по составу тела, энергетическим потребностям и потреблению корма. В производственной версии модели первичными данными являются характеристика животных по породному стандарту, средний возраст и живая масса в момент формирования производственной группы, параметры микроклимата и характеристика корма. Решением является прогноз по интервалам выращивания и откорма следующих показателей: потребности в



обменной энергии и протеине, общие затраты обменной энергии, протеина и сухого вещества по периодам и за весь технологический цикл, содержание мышц, костей, белка и жира в теле и в туше, себестоимость продукции и ожидаемая прибыль на одну голову при разных вариантах реализации продукции.

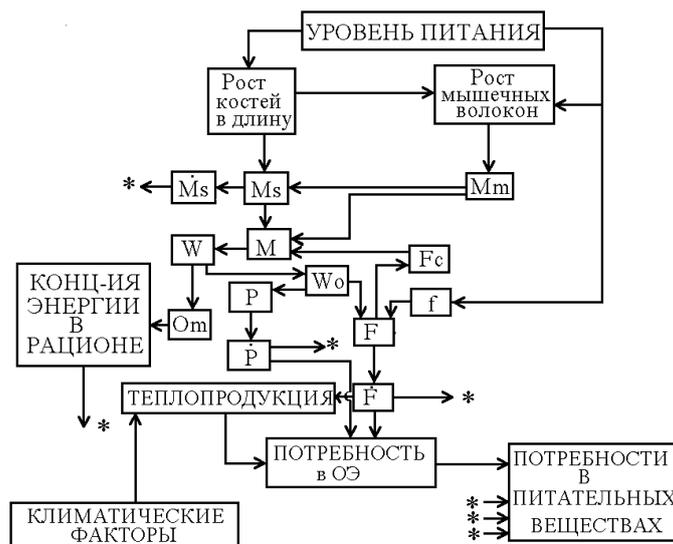


Рис.2. Структурная схема имитационной модели роста животных M_s – масса скелета; M_m – масса мышц; M_c – масса туши; F_c – масса отделяемого жира туши; W – живая масса; W_o – “пустая” масса; f – относительное содержание жира в “пустой” массе тела; F – содержание жира в теле; * P – содержание белка в теле; O_m – потребность в обменной энергии на поддержание; M_s , P , F – суточные приросты массы скелета, белка и жира в теле.

Испытания показали достаточно высокую эффективность прогноза по показателям общего роста, энергетическим потребностям, а также по динамике цитологических и биохимических показателей. Разработаны программы для прогнозирования роста бычков, телок и свиней; они могут использоваться для решения оптимизационных задач, в частности, для выбора наиболее целесообразной интенсивности кормления и сроков убоя при разной конъюнктуре цен и различных условий реализации продукции. Так, с помощью модели был сделан теоретический прогноз о существовании зоны оптимальной интенсивности роста бычков (рис. 3), который в последующем получил подтверждение в опытах, проведенных на большом поголовье в производственных условиях (10а, 14).

Касаясь общего научного значения данной разработки, необходимо отметить, что выявление устойчивых базисных механизмов и интеграция научных знаний в форме системной модели позволили интерпретировать с единых позиций разрозненные и во многом противоречивые данные многих исследований, касающиеся роли многочисленных цитофизиологических и биохимических факторов в формировании морфологического и химического состава тела растущих животных. Полученные данные позволяют в ряде случаев с совершенно новых позиций подойти к расшифровке явлений роста. В частности оказалось, что возрастное торможение роста мышц можно объяснить без привлечения гипотезы о зависящем от возраста угнетении экспрессии активных участков генома в мышечных клетках, причем с этих позиций естественную трактовку получают и такие явления, как возрастное увеличение клеточных размеров, S-образный характер ростовых кривых, возрастное снижение эффективности белкового синтеза и др. [10].

Рис.3. Прогноз эффективности использования кормов (сено-концентратный рацион) при разной интенсивности выращивания и откорма бычков черно-пестрой породы до убойной массы 500 кг. Прибыль оценена по данным 1989 г. Для трех критериев эффективности положение точки оптимума разное.

Помимо изученных долговременных эффектов роста, большой интерес представляет расшифровка процессов регуляции биосинтеза на уровне субстратных циклов. Поскольку скелетномышечная ткань в этом отношении является очень трудным объектом, мы начали исследования в этом направлении на материале, касающемся биосинтеза компонентов молока в специализированных секреторных клетках молочной железы. На основе данных литературы в квазистационарном приближении охарактеризована общая картина транспорта и внутриклеточного использования основных субстратов в молочной железе коров в условиях произвольной вариации уровня их в притекающей крови. Цель — попытаться понять, как формируется артерио-венозная разница и поглощение субстратов молочной железой с использованием как можно более полной совокупности имеющихся на сегодняшний день данных по цитофизиологии и биохимии лактации. Ключевым моментом, как мы полагаем, в данном случае является феномен сопряжения и взаимного влияния кровоснабжения, транскапиллярного массопереноса и метаболизма секреторных клеток. По каждому отдельному аспекту имеется масса опытных данных, но как работает вся система в целом, остается неясным. С учетом



известных оценок эффективности синтеза молочного белка, жира и лактозы и прогнозируемых на модели значений метаболических потоков в модели оценивается потребность в свободной энергии для компенсации теплотеря (Et) и продукция энергетических эквивалентов в ходе окисления основных субстратов в железе (Eox) за вычетом потребности на поддержание (Em) (рис. 4).

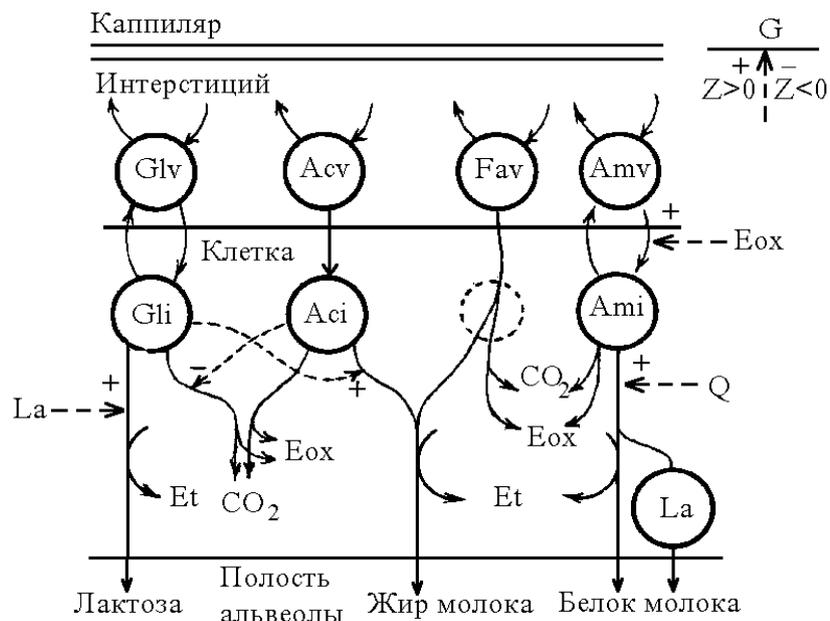


Рис. 4. Схематическое представление процессов использования основных субстратов в молочной железе с учетом сопряжения органического кровотока и метаболизма секреторных клеток. Gl—глюкоза; Ac—ацетат; Fa—НЭЖК; Am—свободные аминокислоты; La— α -лактальбумин; G—фильтрующаяся фракция плазмотока; Z—величина рассогласования между потребностью в свободной энергии для компенсации теплотеря, связанных с синтезом белка, жира и лактозы, и энергией, освобождаемой при окислении глюкозы, ацетата, НЭЖК и аминокислот. Сплошные стрелки обозначают потоки вещества, пунктирные — регуляторные влияния.

В качестве рабочей гипотезы предположено, что сигналом для включения вазомоторных реакций служит величина рассогласования ($Z = Et - Eox$) между потребностью в энергии для обеспечения сложившегося темпа синтеза и текущей энергопродукцией за счет поступления субстратов из крови. При положительном знаке Z кровоток увеличивается, при отрицательном — снижается, при этом проявляются сложные системные эффекты на уровне транспорта субстратов, за счет перекрестных метаболических влияний и вклада разных субстратов в формирование энергетического статуса клетки. В модели использовано 9 переменных состояния и 45 параметров, она адаптирована для коровы с удоем 20–25 кг. Входные данные — концентрации метаболитов в артериальной крови, выходные — вне- и внутриклеточные концентрации, скорость плазмотока, скорость молокообразования, содержание жира и белка в молоке.

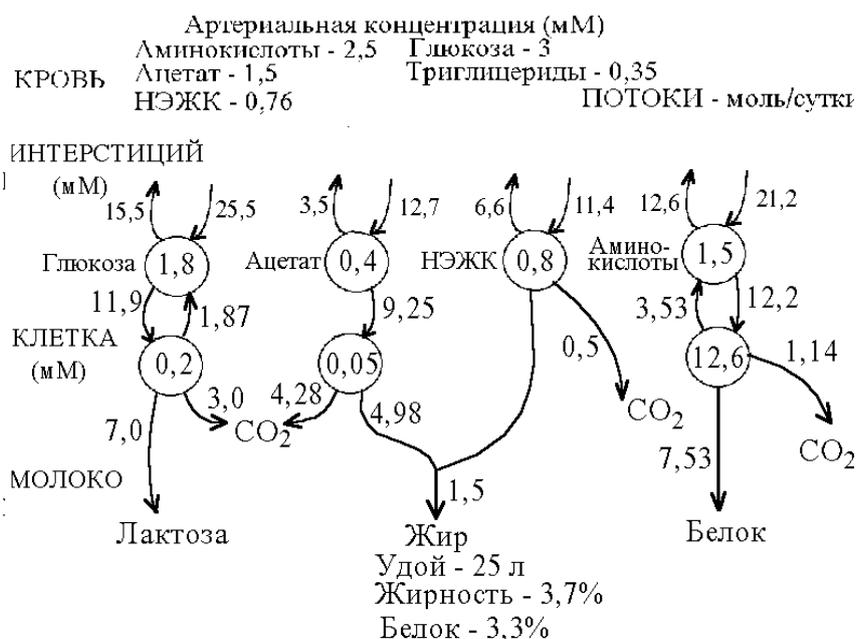


Рис.5. Стационарные значения метаболических потоков, вне- и внутриклеточных концентраций основных субстратов в молочной железе коровы при заданных значениях артериальной концентрации и удое 25 кг (прогноз по модели).

Предварительные результаты исследований показали, что модель качественно правильно предсказывает не только картину распределения метаболических потоков в молочной железе (рис. 5), но и реакции органа на различные экспериментальные воздействия (гиперболическая зависимость величины удоя от внутриклеточной концентрации глюкозы, существенное снижение А-В разницы по глюкозе при повышении скорости кровотока в условиях перфузии органа, снижение кровотока при нагрузке глюкозой и ацетатом). Исследования на модели и данные наблюдений указывают на то, что продуктивный эффект при вариациях содержания того или иного субстрата в крови складывается отнюдь не аддитивно, но опосредуется интегративными процессами на уровне обменной функции капилляров и метаболизма клетки, а наиболее значимое влияние, опосредующее эффекты изменения концентрации субстратов в крови, оказывают вариации в энергетическом статусе клетки и в уровне экспрессии регуляторных белков. Так, в одной из серий вычислительных экспериментов оказалось, что дифференциальная стимуляция синтеза альфа-лактальбумина в данной модельной системе может индуцировать цепочки ауторегуляторных сдвигов, приводящие в итоге к увеличению органного кровотока и секреции молока при неизменных значениях А-В разницы по основным метаболитам, что можно рассматривать как возможный вариант теоретического объяснения известных из опыта эффектов соматотропина.

Таким образом, на примере этих двух работ можно видеть, что системный цитофизиологический подход представляет собой комплекс новых идей и достаточно сложных методов, которые пока еще только формируются, поэтому на данном этапе сама по себе разработка теоретического аппарата имеет более важное значение, чем получаемые выводы. Тем не менее проведенные за последние 5-7 лет исследования, в том числе и в нашем институте, показали, что создание работоспособных системных моделей для прогнозирования динамики продуктивных функций возможно и целесообразно, так как они, в отличие от известных факториальных схем, обеспечивают необходимую общность и адекватность реальным процессам,

воспроизводят такие их свойства, как инерционность, эффекты замещений, взаимодействий, компенсаций, ауторегуляторные влияния. Благодаря этим исследованиям удается вскрыть фундаментальные механизмы биологической изменчивости, известной из опыта высокой вариабельности потребностей в нутриентах и, соответственно, продуктивных реакций организма. Если говорить кратко, то причины этой вариабельности коренятся в наличии внутренних многопараметрических взаимодействий и адаптаций. Поэтому центр внимания экспериментаторов на предстоящий период, по нашему мнению, должен переместиться от регистрации валовых показателей и вычисления факториальных регрессионных связей на проблемы количественной оценки состояния различных функциональных подсистем организма, на отслеживание адаптивно-регуляторных изменений в состоянии обменных процессов, на разработку экспрессных тестов и измерений конкретных метаболических параметров для введения их в модель, для привязки ее к конкретным условиям и последующего практического применения.

Литература

1. Варфоломеев С.Д., Зайцев С.В. Кинетические методы в биологических исследованиях. М.: МГУ, 1982.
2. Варфоломеев С.Д., Калюжный С.В. Биотехнология. Кинетические основы микробиологических процессов. М.: Высш.школа, 1990.
3. Гачок В.П. Кинетика биохимических процессов. Киев: Наукова Думка, 1989.
4. Гринченко С.Н., Загускин С.Л. Механизмы живой клетки, алгоритмическая модель. М.:Наука, 1989.
5. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991.
6. Компьютерный анализ генетических текстов (ред. Франк-Каменецкий М.Д.). М.: Наука, 1990.
7. Кутовой А.Э. Исследование физиологической системы регуляции внешнесекреторной функции поджелудочной железы методом имитационного моделирования. Автореф. дис... кбн., Киев, 1987.
8. Ратнер В.А. Молекулярно-генетические системы управления. Новосибирск: Наука, 1975.
9. Толокнов В.И. Биокрибернетические аспекты "искусственной бета-клетки". Итоги науки и техники, сер. Бионика. Биокрибернетика. Т.5, М.,1987.
10. Черепанов Г.Г. Системная морфофизиологическая теория роста животных. Боровск, 1994.
- 10а Черепанов Г.Г., Агафонов В.И. Обоснование режимов кормления и сроков убоя скота. Зоотехния, 1994, 3: 12-14.
11. Школьник Е.М. Динамические модели клеточного цикла. В кн: Динамика химических и биологических систем. Новосибир.: Наука, 1989.
12. Black J.L. et al. Role of computer simulation in the application of knowledge to animal industries. Austr.J.Agric.Res., 1993, 41: 541-555.
13. Danfaer A. A dynamic model of nutrient digestion and metabolism in lactating dairy cows.671 Report from the National Institute of Animal Science. Denmark, Amsterdam, 1990: 9-389.
14. Gabel M., Poppe S., Grosse F., Papstein H.-J. Einfluss der Futterungsintensitat auf die Schlachtkorperwert von Mastrindern. Wiss.Z.Rostock.N-Reihe,1990, 8: 158-165.
15. Garfinkel D. Computer-based modeling of biological systems which are inherently complex. Problems, strategies and methods. Biomed. Biochim. Acta.,1985, 44, 6: 823-829.
16. Gill M. Dynamic models - their use in understanding and predicting nutrient response. Proc. Nutr. Soc., 1986, 45, 2: 221-229.
17. Reich J.G., Selkov E.E. Energy metabolism of the cell: a theoretical treatise. N.Y., 1982.

Influence of clenbuterol on performance, carcass and meat quality in ruminants and nonruminants

N.Alexandrova, M.Petkova and Chr. Stanchev

Research Institute of Animal Science, Bulgaria

The effect of clenbuterol on both carcass and meat quality in calves, lambs and pigs was investigated. The clenbuterol supplementation did not affect daily gain, feed consumption and feed efficiency in all treated animals. There were not found differences in the carcass weight and dressing percentage between treated and untreated animals. The m. Longissimus Dorsi cross-sectional area of treated groups increased significantly. It was observed a tendency for an increase the weights of m. Longissimus Dorsi (mLD) and m. Semimembranosus (mSM). Fat content in carcass was reduced significantly as the reduction was greater in ruminants compared with nonruminants.

In pigs pH₄₅ and pH₂₄ values in mLD and mSM were unaffected by treatment. In treated calves and lambs higher pH₂₄ values were established without exceeding the standart limits of this parameter. Both muscles of all treated animals had better water holding capacity and were lighter in color as compared with untreated animals. Treated animals also had lower myoglobin and fat content in muscles and greater protein content. It was not found incidence of DFD and PSE meat.

It was found that in treated groups the percentage of glycolitic muscle fibers was significantly greater. Treated animals had greater size of muscle fibers of all metabolic types.

Роль гормонов в регуляции обмена веществ и секреции молока у лактирующих животных

Г.М.Марченко

Изучали особенности действия отдельных гормонов и их комплексов на показатели обмена углеводов, фракций гликопротеинов, липопротеинов, их артерио-венозную (а-в) разницу в молочной железе и секрецию молока и его основных компонентов у лактирующих жвачных животных в первом и втором периодах лактации.

Установлено, что под влиянием пролактина и соматотропина у лактирующих коз значительно повышается содержание в крови фракций углеводов, гликопротеинов и липопротеинов, а также их а-в разница в молочной железе, особенно во 2-м периоде лактации. Одновременно повышается секреция молока, жира, белка и лактозы. При этом эффективность действия СТГ значительно превосходит действие пролактина. В опытах на лактирующих коровах получены аналогичные результаты. Инсулин не повлиял на секрецию молока и лактозы у коров, но повысил в молоке содержание жира и белка. Синэстрол вызвал сильное торможение секреции молока и его компонентов.

Четырехгормональный комплекс (СТГ, пролактин, тироксин, АКГГ) оказал более сильное стимулирующее действие на повышение уровня в артериальной крови углеводов, фракций гликопротеинов и липопротеинов, при этом была получена более высокая а-в разница в молочной железе свободных углеводов, а также альбуминовой, $\alpha 1$, $\alpha 2$ и β -глобулиновых фракций гликопротеинов.

Заключили, что выявленное стимулирующее действие лактогенных гормонов при их введении во втором периоде лактации на секреторную активность молочной железы дает основание считать, что снижение секреции молока по ходу нормальной лактации обусловлено угасанием секреторной активности железистого эпителия вследствие снижения выделения лактогенных гормонов в этот период. Основными лактогенными гормонами являются соматотропин, пролактин и тироксин.

Динамика удоя коров при введении экзогенного соматотропина пролонгированного действия

Н.И.Васильев, И.В.Петров, Э.П.Кокорина

*Чувашский сельскохозяйственный институт, Чебоксары;
ВНИИ разведения и генетики сельскохозяйственных животных,
С-Петербург, Россия*

Продуктивность животных определяется уровнем генетического потенциала организма и наличием необходимых для его реализации факторов внутренней и внешней среды. Для повышения степени реализации генетического потенциала молочности коров широко используют биологически активные вещества, в частности, гормоны.

Впервые факт влияния экстракта передней доли гипофиза на молочную продуктивность выявлен в 30-е годы Г.И.Азимовым и Н.К.Крузе (1). М.Скаржинская (2) показала возможность длительных (в течение 3–4 мес.) инъекций лактогенного препарата с целью увеличения удоев. F.G.Young (3), работая с очищенными экстрактами гипофиза, обнаружил, что важную роль в повышении молочной продуктивности играет соматотропин.

В опытах с использованием натурального (выделенного из ткани гипофиза) соматотропного гормона крупного рогатого скота тонкой очистки было показано, что ежедневные инъекции экзогенного гормона

повышали удой на 10–40 % (4, 5). В опыте Grumby (6) на трех группах идентичных близнецов в течение 12 недель получен прирост суточных удоев плюс 5,9 кг к уровню контроля (13 кг). Введению гормона коровам в течение всего лактационного периода препятствовали малое содержание гормона и трудности его экстрагирования (7).

В начале 80-х годов соматотропин крупного рогатого скота (БСТ) был получен биотехнологическим путем. Фармакокинетические исследования показали, что рекомбинантный гормон не отличается от нативного (8). Убедительно продемонстрированы их сходная активность и влияние на лактацию (9). Практическая возможность использования БСТ значительно возросла с разработкой пролонгаторов.

В своих исследованиях мы использовали рекомбинантный бовинсоматотропин с пролонгатором фирмы "Монсанто", США. Опыт проведен методом групп-периодов. В подготовительный период (12–16 недель после отела) были подобраны 2 группы коров-аналогов (n=61) с учетом признаков: порода, возраст, тип стрессоустойчивости, срок отела, продуктивность и тип лактационной кривой за предшествующую лактацию, удой и жирномолочность в течение подготовительного периода. Основным период с введением БСТ продолжался в течение 29 недель до конца лактации. Коровы одной секции служили контролем, не получая никаких воздействий, коровы соседней секции получали инъекции БСТ один раз в две недели.

Учет молочной продуктивности в подготовительный период проводили еженедельно. После первой инъекции регистрации удоя проводили через день, чтобы выявить характер изменений молочной продуктивности в течение двухнедельного цикла. На второй день после инъекций удой повышался незначительно, а на 4-й день отмечалась существенная прибавка удоя у коров опытной группы по сравнению с коровами контрольной группы. Пик подъема продуктивности после введения гормона отмечался на 7-й день. Затем удои коров опытной группы снижались постепенно и минимального значения достигали на 14-й день. Чтобы проверить полученные результаты, мы в течение еще двух инъекций регистрировали удои аналогичным образом. Полученные результаты показали, что действительно максимальное значение удоя приходится на 7-й день, а минимальное — на 14-й день. Поэтому в дальнейшем определяли количество молока на 7-й день (максимум) и на 14-й день (минимум) после введения гормона. Жир, белок, лактозу определяли в дни учета еженедельно на приборе "Милко-Скан-203".

С начала введения БСТ рост продуктивности осуществлялся постепенно. В первую неделю не отмечалось достоверного увеличения удоя. На 7-й и 9-й неделях опыта достигался наивысший уровень продуктивности — 21–22 кг. В дальнейшем в течение всей лактации удои коров опытной группы были достоверно выше, чем у контрольных животных (рис.).



Единственный раз за экспериментальный период произошел перебой с доставкой гормона, в результате чего инъекция его была произведена не в 22-ю, а в 23-ю неделю опыта. Удой коров опытной группы тотчас снизился с уровня $14,6 \pm 0,45$ кг до $10,9 \pm 0,34$ кг — почти до уровня контрольной группы — $10,1 \pm 0,32$ кг. При возобновлении инъекций БСТ удои тотчас поднялись до прежнего уровня.

Продуктивность коров, получавших гормон, была выше ($P < 0,001$) в среднем за опытный период на $3,24$ кг 4 %-ного молока или на $20,8$ % по сравнению с удоем коров контрольной группы. В течение экспериментального периода во всех пробах молока, получаемых индивидуально от каждой коровы контрольной и опытной групп было определено содержание жира, белка и лактозы. В среднем за фоновый период жирномолочность коров контрольной группы составила $3,85 \pm 0,05$, а опытной группы — $3,86 \pm 0,03$, т.е. была одинаковой.

Перевод коров с пастбищного на стойловое содержание привел к повышению жирномолочности коров. В первую неделю после введения БСТ отмечены достоверные ($P < 0,05$) различия в содержании жира в молоке коров опытной и контрольной групп: $3,97$ и $4,20$ соответственно. Достоверное повышение содержания жира в молоке у коров опытной группы отмечено на 7-ю и 9-ю недели. Именно в это время имела место наиболее сильная реакция коров на инъекции БСТ по удою. На 22-й и 23-й неделях опыта, когда коровы опытной группы не получали гормон, отмечено достоверное снижение ($P < 0,01$) их жирномолочности. В среднем за опытный период жирномолочность коров контрольной группы составила $4,17 \pm 0,02$ %, коров опытной группы — $4,14 \pm 0,02$ %.

Содержание белка в молоке коров опытной группы было достоверно ниже в 1-ю, 3-ю, 5-ю, 9-ю, 19-ю, 28-ю недели опыта. При использовании БСТ отмечена цикличность изменений содержания молочного белка. Содержание белка в молоке было более низким в ту неделю, когда вводили БСТ, и выше во вторую неделю после инъекций. Среднее за опытный период содержание белка в молоке коров контрольной группы составляло $3,48 \pm 0,01$ %, а коров опытной группы — $3,45 \pm 0,01$ %. Подобное соотношение между группами отмечалось и в фоновый период — $3,11 \pm 0,02$ и $3,07 \pm 0,02$. Введение БСТ в отдельные недели повышало содержание лактозы в молоке, однако среднее содержание лактозы в молоке существенно не различалось, составляя $4,47 \pm 0,01$ % в опытной и $4,42 \pm 0,01$ % в контрольной группах.

Представленные данные свидетельствуют, что содержание основных компонентов молока под влиянием СТГ существенно не изменяется. Поскольку количество молока увеличивалось, а содержание его основных компонентов оставалось неизменным, параллельно с увеличением удоев возрастало общее количество молочного жира, белка и лактозы. При введении БСТ от коров опытной группы за период 168 дней было получено больше на $21,82$ кг молочного жира, $17,80$ кг молочного белка и $25,31$ кг лактозы.

При введении тех же доз БСТ, которые использовались в нашем эксперименте, D.E. Bauman получил прибавку удоя в среднем за 36 недель опыта — $3,1$ кг (9). Тот факт, что уровень молочной продуктивности не был понижен по сравнению с уровнем контрольных коров, свидетельствует об отсутствии отрицательного влияния экзогенного гормона. В работе Т.С.Чекановой (10) показано, что у животных, получавших БСТ в предыдущую лактацию, уровень эндогенного соматотропного гормона был в норме.

В большинстве работ не отмечено изменений качественного состава молока и его основных компонентов. Показано, что процентное содержание молочного жира не изменяется, если коровы при введении БСТ получают достаточно питательных веществ для удовлетворения потребностей организма. В нашем эксперименте в целом за опытный период можно отметить сохранение положительного баланса энергии.

Однако в 7-ю и 9-ю недели опыта отмечалось повышение содержания жира, что свидетельствует о появлении отрицательного энергетического баланса под влиянием БСТ. В 7-ю и 9-ю недели опыта отмечены наивысшие по удою ответные реакции на введение БСТ. Поскольку кормление коров групповое и рационы корректировались один раз в декаду, возникали моменты, когда рост продуктивности опережал прибавку рационов и коровы не имели возможности получить достаточное количество корма для покрытия своих увеличенных энергетических затрат.

Содержание молочного белка в значительной степени зависит от сбалансированности рациона коров. При положительном азотном балансе процентное содержание белка в молоке не изменяется. Если же коровы имели отрицательный азотный баланс, то процентное содержание молочного белка имело тенденцию к снижению (11). В наших опытах содержание белка в молоке было более низким в ту неделю, когда вводили БСТ и выше — во вторую неделю после инъекций. Это можно объяснить отрицательным азотным балансом в первую неделю после введения гормона. Эффективность использования сухого вещества корма составила 5,7 %. Обнаружено, что введение БСТ повышало использование энергии на производство молока в процентах от принятой с кормом энергии в среднем на 11 %. Мы считаем, что повышение коэффициента полезного действия корма происходит главным образом в результате перераспределения энергии в организме из-за усиления ее расхода на синтез молока, за счет увеличения кровоснабжения молочной железы и поглощения ею из крови глюкозы, свободных жирных кислот и других веществ при одновременном снижении поглощения их мускулатурой.

Селекция по признаку молочной продуктивности ведет к постепенному повышению содержания соматотропина в крови (9). Известно, что уровень соматотропина постепенно снижается по ходу лактации, т.е. наиболее высокий уровень наблюдается в первые месяцы лактации и в эти же месяцы — наиболее высокие удои. Исходя из этого мы начали вводить пролонгированный БСТ через 3 мес после отела, т.е. после окончания периода раздоя и осеменения. В этот же период происходит снижение содержания в крови эндогенного соматотропина.

Наши исследования подтверждают положительное влияние рекомбинантного бовинсоматотропина на лактацию и возможность использования его с целью повышения реализации генетического потенциала молочности коров.

Литература

1. Азимов Г.И., Крузе Н.К. Проблемы физиологии лактации. Успехи зоотехнических наук, М.-Л., 1936, т.3: 79-118.
2. Скаржинская М. Проблемы физиологии лактации. Успехи зоотехнических наук, М.-Л., 1936, т.3: 67-78.
3. Young F.G. Experimental stimulation (galactopoiesis) of lactation. Br.Meg.Bull., 1947: 155-160.
4. Першин В.А. Жирномолочность и ее регуляция (значение щитовидной железы, аденогипофиза и броидильных процессов). Автореф. дисс...кбн, Л., 1962.
5. Bauman D.E., Eppard P.J. et al. Responses of high-producing dairy cows to long-term treatment with pituitary somatotropin and recombinant somatotropin. J.Dairy Sci., 1985, 68: 1352-1362.
6. Brymby P.J. Milk production in first-calf heifers following growth hormone therapy. New Zealand J.Sci.Technol., 1956, 38a: 152.
7. Parlow A.F. et al. Further studies on the fractionation of human pituitary glands. Endocrinol., 1965, 77: 1126.
8. Birmingham B.K., White T.C. et al. Pharmacokinetics of sometribove, USAN (recombinant methionyl bovine somatotropin) and a naturally occurring somatotropin variant in lactating dairy cows. 83-nd annual meeting american dairy science, Alberta, 1988, 71(suppl1): 194.

9. Кокорина Э.П., Гущик Т.С., Васильев Н.И. Соматотропин и лактация сельскохозяйственных животных. С.-х. биология, 1990: 14-27.
10. Чеканова Т.С. Влияние экзогенного соматотропина на секреторную деятельность молочной железы и уровень лактогенных гормонов в крови коров. Автореф. дисс... кбн, С.Пб, 1992.
11. Peel C.J., Vauman D.E. Somatotropin and lactation. J.Dairy Sci., 1987, 70: 474-486.

Аутоиммунонейтрализация холецистокинина как возможный иммунобиотехнологический прием регуляции аппетита, обмена веществ и продуктивности свиней

В.А.Галочкин, Н.А.Назаров

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания
сельскохозяйственных животных,
Боровск, Россия*

В основе теоретической предпосылки поиска высокоэффективных способов регуляции обмена веществ лежат современные представления о тесной функциональной взаимосвязи иммунной, нервной и эндокринной систем (1). Общепринятая трактовка предполагает, что нервная система, возникшая на более поздних стадиях эволюции, воспринимает преимущественно сенсорные сигналы, иммунная — генетически чужеродные сигналы, а гуморальная система является филогенетически самым древним средством регуляции метаболизма. Однако конечное назначение функционирования этих трех систем принципиально можно свести к обеспечению взаимосвязи и взаимообусловленности всей совокупности протекающих в организме реакций по поддержанию динамического постоянства внутренней среды организма, сохранению его гомеостаза.

В последнее время в научной литературе появились новые сведения о непосредственной причастности иммунной системы к регуляции ряда физиологических процессов (1). Доказано, что в здоровом организме человека и животных способны вырабатываться аутоантитела к некоторым собственным биологическим регуляторам (2–4). Незначительное, но постоянное присутствие аутоантител к определенным биологически активным веществам позволяет организму осуществлять долговременную коррекцию физиологических процессов, подконтрольных этим веществам.

В современной иммунобиотехнологии этот заимствованный у природы принцип саморегуляции уже нашел широкое применение. Суть идеи заключается в искусственной инициации специфического антителогенеза для прицельного связывания и нейтрализации избранных регуляторных соединений (гормонов, ключевых ферментов, регуляторных пептидов и даже отдельных клеток и тканей).

В последнее десятилетие в науке сформировались основные принципы иммунобиотехнологических подходов к долговременной регуляции физиологических функций организма. Главный из них состоит в активной иммунизации животного определенным избранным биорегулятором. Причем теоретически возможно достижение иммунного ответа к любому собственному регуляторному соединению, даже низкомолекулярному и лишенному природной антигенности, для проявления которой его химически соединяют с приемлемым носителем. Возникает длительный аутоиммунный процесс, в результате которого вырабатываются антитела, способные избирательно связывать эндогенный регулятор, синтетический аналог которого был использован для иммунизации. При умеренной стимуляции ретикуло-эндотелиальной системы этот процесс может длиться годами. Биологическим следствием такого состояния являются

стойкие изменения ряда физиологических процессов, с осуществлением которых прямо или косвенно связан избранный регулятор.

В теоретическом плане описанный иммунобиотехнологический прием представляет собой самостоятельную ценность как способ выяснения функционального назначения малоизученных биологически активных веществ. В прикладном аспекте использование упомянутого методического приема позволяет реализовать возможность целенаправленного управления по-существу любым физиологическим процессом, создания физиологических вакцин принципиально нового типа. Использование подобных вакцин будет способно изменить темперамент и поведенческие реакции животных, повысить их продуктивность, увеличить выход высококачественной, экологически чистой продукции (5, 6).

Одним из значимых регуляторных пептидов в организме является гормон желудочно-кишечного тракта холецистокинин — панкреозимин (ХЦК), вырабатываемый клетками начального отдела тонкого кишечника (7). Позднее этот гормон был обнаружен почти во всех отделах головного мозга и в нервных синапсах (8, 9). ХЦК в периферической крови и центральной нервной системе присутствует главным образом в виде сульфатированного С-терминального октафрагмента (ХЦК-8), являющегося носителем его биологической и иммунологической активности. Кроме октапептида встречаются и другие производные ХЦК, состоящие из 4, 10, 12, 33, 39 и 58 аминокислот. На сегодняшний день известны следующие функции этого эндогенного регулятора: управление процессами биосинтеза и секреции ферментов поджелудочной железой, сокращение желчного пузыря, регуляция эвакуаторной функции желудка и секреции соляной кислоты, влияние на моторику тонкого отдела кишечника. Пептид обладает также анальгезирующими свойствами, проявляет выраженную нейролептическую активность и выполняет нейромедиаторные функции (10, 11). В 1973 году впервые был установлен факт снижения потребления корма крысами при введении им ХЦК или ХЦК-8 (12). Позже в печати появились сообщения, подтверждающие аппетитингибирующие свойства ХЦК у людей (13), свиней (14), обезьян (15), собак (16), овец (17). Считается общепринятым мнение, что ХЦК является одним из наиболее действенных биологических регуляторов аппетита. В последнее время с его помощью предпринимались попытки иммунорегуляции аппетита у овец (18) и свиней (19). Иммунонейтрализация эндогенного периферического ХЦК в этих опытах у овец не привела к существенному повышению потребления корма и увеличению прироста живой массы. Однако совершенно неожиданно для исследователей было обнаружено достоверное снижение количества жира в туше. Результатом аутоиммуноингибирования этого регуляторного пептида у свиней стало увеличение потребления ими корма (на 5,4 %) и повышение среднесуточных приростов (на 6,3 %). Для свиней подобное ускорение темпов роста и потребления корма не оказалось предельным. Пекас (20) показал, что при искусственном суперпитании свиньи способны потреблять корма на 30 % больше, чем при обычном кормлении, а скорость роста животных увеличивалась при этом на 40 %. В этом интересном опыте по иммуноблокированию ХЦК эффективность конверсии корма у иммунизированных свиней сохранялась на уровне контрольных животных, а не была снижена, как это довольно часто наблюдается при просто избыточном кормлении.

В настоящее время одни ученые придерживаются мнения, что при избыточном кормлении свиней происходит преимущественная конверсия корма в жир, особенно на откорме, с одновременной ухудшающейся оплатой корма. Другие считают, что при работе со свиньями высококонсолидированных пород этого совершенно не

следует опасаться (21). Приведенные выше экспериментальные данные о снижении жира в туше овец, повышении аппетита и скорости роста свиней без ухудшения оплаты корма в цитированных работах по иммунонейтрализации ХЦК, позволяют нам высказать предположение о существовании еще неизвестных биохимических путей, результатом вовлечения которых явилось преимущественное перераспределение потоков метаболитов с синтеза жира на синтез белковых компонентов мышечной ткани и, что особенно важно, это происходило на фоне повышенного потребления корма и высокой интенсивности роста животных без снижения коэффициента трансформации питательных веществ корма в продукцию.

В контексте сформулированной общей проблемы изыскания новых высокоэффективных, экологически чистых способов мобилизации внутренних резервов организма животных и более полной реализации генетического потенциала решение поставленных задач было направлено: 1) на оценку принципиальной возможности регуляции аппетита свиней с использованием индуцируемой аутоиммунонейтрализации ХЦК введением конъюгатов окта- и тетрафрагментов этого гормона с природными и синтетическими полимерными носителями; 2) на изучение влияния примененного типа воздействия на отдельные стороны метаболизма, продуктивность свиней и качество получаемой продукции. Необходимо также добавить, что с целью поиска экономически более дешевых способов иммунокоррекции нами впервые в качестве антигена был использован С-терминальный тетрафрагмент ХЦК. Эта попытка аргументирована имеющимися сведениями о том, что антитела к ХЦК-4 способны перекрестно реагировать и с ХЦК-8, и с нативным гормоном (22).

Опыт был проведен в условиях вивария ВНИИФБиП с.-х. животных на помесных подсвинках ландрас х крупная белая, начиная с 5-ти месячного возраста, в течение 107 дней. Было подобрано 5 групп животных аналогов по 5 голов в каждой группе. Живая масса подсвинков в начале опыта составила $49,6 \pm 1,2$ кг в среднем по всем группам. Животных кормили вволю два раза в день по рационам, рекомендованным ВАСХНИЛ, 1985 г (28). За время опыта животных подвергли четырехкратной иммунизации. Иммунизирующий состав вводили подкожно. Второй и третьей опытным группам вводили конъюгаты синтетического С-терминального октапептида ХЦК 26–33, соответственно, с бычьим сывороточным альбумином (ХЦК-8 — БСА) и с сополимером винилпирролидона с кротоновой кислотой (ХЦК-8 — СП). Четвертую и пятую группы иммунизировали конъюгатами синтетического С-терминального тетрапептида ХЦК 30-33 соответственно с БСА (ХЦК-4 — БСА) и с СП (ХЦК-4 — СП). Стехиометрия всех использованных нами конъюгатов была приблизительно 8–10 молекул гаптена на 1 молекулу носителя.

Первичную иммунизацию провели с полным адьювантом Фрейнда. Последующие бустерные инъекции осуществляли с неполным адьювантом на 20, 62, 88 день от начала опыта. Доза вводимых препаратов составила 1–2 мг пептида в конъюгате на голову в 1 мл масляного адьюванта на одну инъекцию. Первой группе (контрольной) вводили плацебо. Для оценки влияния иммунизации на аппетит подсвинков на протяжении всего опыта проводили ежедневный групповой учет поедаемости корма после каждого кормления. Взвешивали подсвинков ежемесячно. Образцы крови из ушной вены брали перед началом опыта и на 14-й день после каждой иммунизации до утреннего кормления. После второй иммунизации провели дополнительное взятие крови, через 4 недели.

Для оценки реакции иммунной системы на вводимые антигены определяли титры антител к окта- и тетрафрагментам ХЦК и БСА в конъюгатах разработанным нами методом иммуноферментного анализа (29). Метод представляет собой разновидность твердофазного

гетерогенного, неконкурентного иммуноферментного анализа. С целью изучения влияния аутоиммунонейтрализации эндогенного ХЦК на обмен веществ в организме свиней исследовали биохимические показатели крови (глюкозу (30), мочевины (31), общие липиды (31), общий белок (32)). Для оценки возможных негативных последствий иммунизации на функциональное состояние поджелудочной железы в сыворотке крови определяли активность альфа-амилазы (показатель, используемый в клинической диагностике заболеваний панкреатической железы) (30). В сыворотке крови определяли концентрацию соматотропина — основного анаболического гормона, регулирующего процессы роста животных и соотношение процессов биосинтеза и деградации главных компонентов мышечной ткани. Метод определения гормона, разработанный во ВНИИФБиП, представлял собой разновидность ELISA, усовершенствованный использованием стрептоавидин-биотинового комплекса. Принцип метода — твердофазный, неконкурентный, двухсайтный иммуноферментный анализ (33).

Для конечной оценки эффективности проведенной иммунокоррекции уровня эндогенного ХЦК в организме подсвинков учитывали продуктивность животных и эффективность конверсии потребленных кормов. В конце опыта был проведен контрольный убой животных с обвалкой туш и определением выхода мяса, костей и жировой ткани. Определяли вес кожи, поджелудочной железы, длину и вес тонкого кишечника. В мышечной ткани анализировали содержание влаги, сухого вещества, белка (32) и жира по стандартным методикам (34).

В результате исследований установлено, что синтетические фрагменты ХЦК-8 и ХЦК-4 сами по себе не являются иммуногенными молекулами, но конъюгированные с носителями различной природы способны приобретать свойства антигенов. Этот факт известен в литературе. Так, в 1989 г Trout et al. (18) сообщили об иммунизации ими овец против десульфатированного ХЦК-8, конъюгированного с человеческим сывороточным глобулином. Максимальный титр антител к пептиду, зарегистрированный на 16-й неделе опыта, был определен в разведении сыворотки крови 1:10000. Перекрестная реактивность антител к сульфатированному ХЦК-8 составила 29%. Сама иммунизация не оказала существенного влияния на аппетит и скорость роста животных.

Потребление корма и прирост живой массы были увеличены у боровков, иммунизированных против десульфатированного ХЦК-8 при титре антител менее чем 1:200 (23). Титр антител 1:50 у крыс линии Zucker оказался достаточным, чтобы после иммунизации животные прибавили в скорости прироста живой массы (24).

В нашем эксперименте титры антител к фрагментам ХЦК были невысокими по величине и обнаруживались при разведениях сыворотки крови после третьей бустерной инъекции во 2-й группе — 1:32, в 3-й группе — 1:16, в 4-й группе — 1:16, в 5-й группе — 1:8. Однако нет основания считать, что иммунная система подсвинков слабо реагировала на вводимые конъюгаты, поскольку при проверке титра антител к одному из использованных нами носителей пептидных фрагментов — БСА, он регистрировался после 2-й бустерной инъекции во 2-й группе в разведении сыворотки 1:10000 и в 4-й группе — в разведении 1:1000.

Исходя из анализа величин титра антител в разных опытных группах видно, что конъюгаты пептидных фрагментов с БСА оказались более иммуногенными, нежели конъюгаты с СП. Причина пониженной иммуногенности конъюгатов с СП, видимо, кроется в недостаточной молекулярной массе синтетического полимера (30–50 тыс.), т.к. согласно Р.В.Петрову с соавт. (25) иммуностимулирующая активность

в каждом данном ряду полимергомологов возникает и увеличивается лишь после достижения ими определенной степени полимеризации.

Основываясь на более ранних исследованиях (18,19,23,24) по иммунонейтрализации ХЦК, на теоретических представлениях об аутоиммунорегуляторных процессах в организме следует учесть, что небольшое по величине титра, но постоянное присутствие специфических антител в крови будет достаточным для проявления эффекта аутоиммунонейтрализации эндогенного ХЦК в периферической крови подсвинков. По нашему мнению, результатами представленных ниже исследований подтверждается высказанное предположение о достаточности малых титров для иммунонейтрализации ХЦК. Таким образом, вполне возможна реализация идеи о воспроизведении в организме искусственных аутоиммунорегулирующих концентраций эндогенных биорегуляторов систем, не выходящих за рамки физиологической нормы. Существование собственной подобной системы для ХЦК в организме подсвинков в наших экспериментах не подтверждено, т.к. наличие аутоантител к исследуемому гормону в крови животных контрольной группы не обнаружено. Хотя, это может быть связано с недостаточной чувствительностью разработанного нами метода.

За весь опытный период у подсвинков, иммунизированных конъюгатами ХЦК-8-БСА (2-я группа) и ХЦК-8-СП (3-я группа) среднесуточное потребление корма было выше, чем у контрольных животных, соответственно по группам на 17 и 9%. Конъюгаты тетрафрагмента ХЦК существенного влияния на аппетит не оказали (табл. 1).

Наибольшее влияние на потребление корма подсвинками оказали конъюгаты октафрагмента ХЦК. После первой иммунизации поедаемость корма животными 2-й и 3-й групп увеличилась по сравнению с контролем соответственно на 61 и 46%. Однако действие иммунизации на аппетит животных этих групп не было стабильным в течение всего опыта. Так, после первого бустирования во 2-й группе наблюдалось значительное снижение потребляемости корма подсвинками, которое восстановилось до уровня контроля и превысило его на 38% только после третьей бустерной инъекции. Подсвинки 3-й группы после второго и третьего бустирования потребляли корма несколько меньше, чем контрольные животные.

Таблица 1

*Динамика среднесуточного потребления корма подсвинками
по периодам иммунизации, г/сут*

№ группы	Периоды иммунизации				За весь опыт в среднем
	1 иммунизация	2 иммунизация	3 иммунизация	4 иммунизация	
1 группа контрольная	1877	1778	2632	3467	2439
2 группа ХЦК–8–БСА	3029	1229	2371	4770	2850
% к контролю	161	69	90	138	117
3 группа ХЦК–8–СП	2744	2236	2567	3098	2661
% к контролю	146	126	98	89	109
4 группа ХЦК–4–БСА	2211	1815	2728	3438	2548
% к контролю	118	102	104	99	104
5 группа ХЦК–4–СП	2105	1794	2804	3109	2453
% к контролю	112	101	107	90	101

После первой бустерной инъекции у всех животных было отмечено уменьшение титра антител к фрагментам ХЦК. Возможно, пониженный аппетит у подсвинков 2-й группы в этот период можно было бы объяснить сочетанием таких факторов, как снижение антителопродукции, вследствие избыточной антигенной нагрузки и развития компенсаторных процессов в ответ на иммунонейтрализацию ХЦК, в сторону усиления синтеза гормона с последующим включением механизмов, действующих по принципу обратной связи, т.е. избыточное количество ХЦК в крови явилось сигналом к снижению его синтеза.

У подсвинков 3-й, 4-й и 5-й групп имела место аналогичная зависимость и, вероятно, развивались сходные иммунологические и физиологические процессы с животными 2-й группы, но носившие более плавный и длительный характер, степень выраженности которых уменьшалась в ряду: ХЦК-8-СП – ХЦК-4-БСА – ХЦК-4-СП. Важно отметить, что все испытывавшиеся конъюгаты вызвали усиление аппетита у подсвинков после первичной иммунизации. В целом эффективность иммунизации подсвинков и влияние ее на аппетит снижалось в ряду конъюгатов: ХЦК-8-БСА – ХЦК-8-СП – ХЦК-4-БСА – ХЦК-4-СП, что можно объяснить различной перекрестной активностью антител к ХЦК, выработанных на каждый вид антигена.

Следует отметить, что во 2-й, 4-й и 5-й группах после каждой иммунизации а в 3-й группе после первичной иммунизации и третьей бустерной инъекции, из общего количества учитываемых дней наблюдались дни, когда подсвинки потребляли корма больше, чем обычно. Количество этих дней для разных опытных групп и в каждом отдельном временном отрезке эксперимента (от одной иммунизации до другой) было различным, но все они по времени совпадали с ответной реакцией иммунной системы на вводимые конъюгаты. По нашему мнению, именно аутоиммунонейтрализация эндогенного ХЦК в организме подсвинков привела к усилению у них аппетита.

**Динамика среднесуточных приростов живой массы
подсвинков по периодам опыта, г/сут**

№ группы	Периоды опыта (календарные даты)				
	10.03– 11.04	12.03– 04.05	05.05– 07.06	08.08– 28.06	За весь опыт в среднем
1 группа контрольная	494±24	439±21	612±20	762±42	577±27
2 группа ХЦК– 8–БСА	797±35	317±28	541±25	1029±53	671±35
% к контролю	161	72	88	135	116
3 группа ХЦК– 8–СП	712±15	552±20	597±19	700±39	640±23
% к контролю	144	126	98	92	111
4 группа ХЦК– 4–БСА	579±28	448±29	632±15	752±46	603±30
% к контролю	117	102	103	99	105
5 группа ХЦК– 4–СП	564±23	443±19	635±18	686±24	582±21
% к контролю	114	101	104	90	101

Динамика среднесуточных приростов живой массы подсвинков опытных групп имела полностью сходный характер с динамикой среднесуточного потребления корма животными (табл. 2). Наибольший эффект на скорость роста оказала первичная иммунизация. Среднесуточные приросты живой массы опытных животных превосходили среднесуточные приросты у контрольных подсвинков во 2-й группе на 61 %, в 3-й группе на 44 %, в 4-й группе на 17 %, в 5-й группе на 14 %. В последующие периоды опыта произошло выравнивание скорости роста контрольных животных и животных 3-й, 4-й, 5-й групп. У подсвинков 2-й группы прирост живой массы после первого бустирования значительно снизился, до 72 % от контроля, что вполне логично объяснить компенсаторной реакцией организма. После третьей бустерной инъекции скорость роста животных существенно увеличилась. Подсвинки в среднем за сутки прибавляли по 1029±53 г, что на 35 % превысило величину среднесуточных приростов живой массы контрольных животных.

На основании данных по титру антител к ХЦК, потребляемости корма и скорости роста подсвинков можно высказать предположение, что на использованные нами конъюгаты антитела к ХЦК-4 обладают недостаточной перекрестной активностью к ХЦК-8 и что иммунонейтрализация ХЦК-4 не оказала значимого влияния на аппетит и скорость роста животных. По-видимому, ХЦК-4 довольно слабо вовлечен в физиологическую регуляцию аппетита и скорости роста животных. Некоторый наблюдавшийся положительный эффект иммунонейтрализации ХЦК-4 на увеличение аппетита и прирост живой массы подсвинками можно объяснить тем, что антитела к ХЦК-4 все-таки способны частично нейтрализовывать ХЦК-8, который непосредственно причастен к регуляции этих процессов.

Конъюгаты фрагментов ХЦК-8 с СП определенно обладают потенциалом для выраженной специфической стимуляции антителогенеза к эндогенному ХЦК. Несомненно, большой интерес представляет испытание в будущем препаратов на основе СП с большей степенью полимеризации, как потенциально более эффективных неспецифических Т-независимых иммуностимуляторов.

M.D.Newcom et al. (26) в опытах по суперпитанию свиней показал, что избыточное потребление корма свиньями, хотя и приводит к более высоким приростам живой массы, но понижает оплату корма

продукцией. С другой стороны, по данным Кабанова В.Д. (27) у свиней с более интенсивным ростом количество корма, затрачиваемого на прирост 1 кг живой массы, обычно бывает ниже, чем у животных с умеренной скоростью роста. В нашем опыте, как и в экспериментах по иммунизации свиней против ХЦК у других исследователей, мы не получили достоверной разницы в оплате корма у контрольных и опытных животных. Этот факт позволяет говорить о возможном существовании и включении иных биохимических путей в организме иммунизированных подсвинков и обуславливающих интенсификацию процессов роста тела, синтеза компонентов жировой и мышечной тканей, улучшенную конверсию корма, в отличие от животных, получающих просто избыточное питание.

В задачу наших исследований входило также изучение влияния иммунизации против ХЦК на обмен веществ у подсвинков. Однако в условиях данного эксперимента нам не удалось выявить каких-либо достоверных изменений по всем изученным нами биохимическим показателям крови (глюкоза, мочевины, общие липиды, общий белок). Все они находились в рамках естественных биологических колебаний. Выбранные нами биохимические показатели, к сожалению, не смогли отразить качественных изменений биохимических процессов, происходящих в организме животных опытных групп после иммунизации. Тем не менее, результаты взвешивания животных, анализа состава туш и химического исследования мышечной ткани опытных животных неопровержимо свидетельствуют в пользу того, что эти изменения в действительности имели место.

Данные о влиянии иммунизации конъюгатами синтетических фрагментов ХЦК на состав туш подсвинков отражены в таблице 3.

Таблица 3

Влияние различных конъюгатов окта- и тетрафрагментов ХЦК на состав туш подсвинков

Показатели	Группы животных*				
	1	2	3	4	5
Начальная живая масса, кг	49,6±0,5	50,3±1,3	48,5±1,5	49,5±1,5	50,2±1,2
Живая масса перед убоем, кг	111,0±1,4	121,9±2,0	117,8±1,5	114,3±0,9	113,2±1,1
% к контролю	100	110	106	103	102
Вес туши, кг	68,3±0,6	76,2±0,9	73,5±0,7	71,4±0,5	71,8±0,6
% к контролю	100	112	108	105	105
% от живой массы	61,5	62,5	62,4	62,5	63,3
Вес внутреннего жира, кг	2,5±0,04	2,5±0,06	2,6±0,03	3,0±0,07	1,9±0,02
% к контролю	100	100	104	120	76
Вес подкожного жира, кг	18,4±0,4	15,6±0,6	21,4±1,5	21,3±0,8	18,2±0,4
% к контролю	100	85	116	116	99
Вес мяса без костей, кг	37,5±0,2	44,8±0,4	38,6±0,4	37,4±0,2	40,8±0,4
% к контролю	100	119	103	100	109
Вес костей, кг	12,4±0,08	15,8±0,12	13,5±0,10	12,7±0,04	12,8±0,06
% к контролю	100	127	109	102	103

* – 1–контрольная; 2–ХЦК-8-БСА; 3–ХЦК-8-СП; 4–ХЦК-4-БСА; 5–ХЦК-4-СП

Из таблицы видно, что стартовая живая масса всех животных была приблизительно одинакова. Однако опытные подсвинки в ходе эксперимента имели более высокую скорость роста, что выразилось в большем предубойном весе этих животных по сравнению с контрольными. Убойный выход туш опытных подсвинков был на 5–

12 % выше, чем в контроле. Обращают на себя внимание выраженные различия количественных и качественных изменений в составе туш подопытных животных, иммунизированных различными конъюгатами. В группах 2-й и 5-й изменения в составе туш произошли в сторону улучшения мясных качеств, что выразилось в большем абсолютном количестве мяса по отношению к массе туши, чем у контрольных животных. Так, общее содержание мяса в тушах подсвинков 2-й группы было выше на 19 %, в 5-й группе на 9 % по сравнению с контрольной группой. Из таблицы 3 видно, что в тушах подсвинков 2-й и 5-й групп было пониженное содержание подкожного и внутреннего жира. Причем интересно отметить, что у подсвинков 2-й группы, иммунизированных конъюгатом ХЦК-8-БСА, преимущественно снизилось содержание подкожного жира (на 15 %), тогда как у подсвинков 5-й группы, иммунизированных конъюгатом ХЦК-4-СП, уменьшилось больше количество внутреннего жира (на 24 %). W.L.Trout (18) получил подобный же результат, но на овцах. Авторы выявили достоверное снижение жира в тушах животных, иммунизированных против десульфатированного ХЦК-8 и рекомендовали этот прием как способ получения постного мяса у жвачных животных.

В отличие от упомянутых выше групп, в тушах подсвинков 3-й и 4-й групп, наоборот, отмечено повышенное отложение жира. В тушах этих животных содержание подкожного жира было выше, чем в контроле на 16 %. У подсвинков 4-й группы было на 20 % повышено количество внутреннего жира. Выход мяса у этих животных был несколько ниже, чем у подсвинков, иммунизированных плацебо, соответственно на 2 % в 3-й группе и на 3 % в 4-й группе.

Интересно отметить, что у подсвинков 2-й группы было повышено содержание костной ткани, что в процентном отношении соответствовало величине прироста живой массы у животных этой группы и свидетельствовало об активизации у них процессов остеогенеза.

У подсвинков 2-й и 5-й групп, в составе туш которых произошли изменения в сторону усиления мясных качеств, зарегистрирован также более высокий уровень гормона роста в крови, который составил в среднем за опыт $2,6 \pm 0,5$ нг/мл во 2-й группе и $2,6 \pm 0,68$ нг/мл в 5-й группе, тогда как в контроле, в 3-й и в 4-й группах концентрация соматотропина находилась соответственно по группам на уровне $1,7 \pm 0,37$; $1,7 \pm 0,41$ и $1,4 \pm 0,26$ нг/мл. Как известно, повышенное содержание гормона роста у свиней увеличивает выход постного мяса.

Результатом иммунизации подсвинков против ХЦК явились и качественные изменения в химическом составе мышечной ткани опытных животных. Содержание в сухом веществе мышечной ткани жира и белка у подсвинков по группам составило: в контрольной группе соответственно $22,11 \pm 1,7$ % и $50,4 \pm 2,5$ %, во 2-й группе $19,5 \pm 1,2$ % и $56,1 \pm 2,4$ %, в 3-й группе $15,7 \pm 0,4$ % и $55,4 \pm 2,8$ %, в 4-й группе $15,4 \pm 0,4$ % и $54,8 \pm 2,0$ %, в 5-й группе $17,8 \pm 1,6$ % и $52,4 \pm 4,8$ %. Видно, что во всех опытных группах изменения произошли в сторону снижения содержания жира и увеличения белка в мышечной ткани. Эта информация представляет значительный интерес, поскольку предстоит осмыслить, за счет включения каких метаболических механизмов конъюгаты ХЦК оказали, с одной стороны, дифференцированное влияние на содержание внутреннего жира, жира в подкожной клетчатке и в мышечной ткани, а с другой стороны, необходимо также понять и описать метаболические пути, приведшие во всех четырех опытных группах, без исключений, к такому положительному результату, как снижение содержания жира в мышечной ткани и повышение в ней содержания белка.

Нами отмечен также факт увеличения массы поджелудочной железы у опытных животных. В среднем масса поджелудочной железы

по группам составила: в 1-й группе $118,0 \pm 1,1$ г, во 2-й группе $143,0 \pm 2,0$ г, в 3-й группе $133,0 \pm 3,0$ г, в 4-й группе $127,0 \pm 1,5$ г, в 5-й группе $131,0 \pm 3,5$ г. Гипертрофия панкреаса во всех опытных группах носила чисто функциональный характер и совершенно не связана с какой-либо патологией, поскольку определенная нами активность альфа-амилазы в сыворотке крови как контрольной, так и опытных групп находилась в пределах физиологической нормы. В клинической медицине этот показатель считается высокоинформативным тестом.

У подсвинков 2-й группы также выявлено увеличение длины тонкого отдела кишечника и его массы, по сравнению с контрольными животными. Уместно отметить, что увеличение массы поджелудочной железы, массы и длины тонкого кишечника обычно характерно для свиней с повышенной скоростью роста (27).

В настоящее время основные пути повышения продуктивности свиней и улучшения качества продукции, помимо селекционной работы, основываются на разработке новых принципов оценки потребностей животных в питательных веществах и новой системы метаболически адекватного питания. Естественно, важное место продолжает сохраняться за использованием различных стимуляторов продуктивности и совершенствованием генноинженерных приемов управления продуктивностью. Разрабатываемый нами иммунобиотехнологический подход к регуляции обмена веществ интенсивно развивается во всех передовых странах мира и по праву стал занимать ведущее положение в современной сельскохозяйственной биотехнологии. Вопрос стоит о развитии теоретических основ и разработке принципиально новых практических способов направленного изменения функционирования высших эшелонов регуляторных систем организма, контролирующих все основные физиологические отправления. На очередном конкретном примере нам вновь хотелось привлечь внимание к генерализованному принципу иммунологической коррекции метаболизма, позволяющему более полно и результативно вскрывать и использовать дополнительные резервы возможностей организма животных (5).

В результате проведенного эксперимента нами было установлено, что конъюгаты окта- и тетрафрагментов холецистокинина с полимерными носителями различной химической природы дифференцированно влияют на потребление корма, продуктивность свиней и качество продукции. Выраженным аппетитстимулирующим действием обладали оба конъюгата ХЦК-8. Они же способствовали и более интенсивному росту животных. Все испытанные конъюгаты оказали положительное влияние на химический состав мяса с увеличением содержания белка и снижением жира. Важно дополнить, что все эти изменения происходили без ухудшения оплаты корма по сравнению с контрольными животными.

Дать исчерпывающее объяснение физиолого-биохимическим механизмам действия разных испытанных конъюгатов на настоящем этапе разработки проблемы представляется затруднительным. Необходимо идентифицировать ключевые точки с тем, чтобы научиться управлять обменными процессами, следствием которых явились отмеченные изменения в организме опытных животных.

Несомненно, что полученный фактический материал нуждается во всестороннем теоретическом осмыслении и дополнительной экспериментальной проверке. Однако уже сейчас получены первые экспериментальные подтверждения самой принципиальной возможности, используя прием аутоиммунонейтрализации эндогенного холецистокинина, влиять на аппетит свиней, их продуктивность и качество продукции.

Испытанные конъюгаты и способы их применения могут служить перспективной стартовой основой для разработки и последующего включения их в качестве новых элементов более совершенных

технологий производства большего количества животноводческой продукции, улучшенного качества и со сниженными затратами кормов на ее производство.

Данная работа частично финансируется Российским фондом фундаментальных исследований, грант 94-04-12520.

Литература

1. Корнев Е.А. Иммунофизиология. СПб: Наука, 1993.
2. Данилова Р.А., Ашмарин И.П. Инверсная иммунорегуляция поведения и проблема существования регуляторных аутоантител. Успехи физиол. наук, 1994, 25, 1: 3-23.
3. Полосатов М.В., Самарцев М.А. и др. Антитела (IgG) к гастрину в крови у здоровых людей и животных. ДАН СССР, 1975, 225, 1: 235-237.
4. Chao J., Mayfield R.W., Chao L. Circulating autoantibodies to mammalian tissue kallikreins. Proc.Soc.Exp.Biol.Med.,1988, 187: 320-326.
5. Галочкин В.А., Эрнст Л.К., Триндо Л.И. и др. Иммунобиотехнологический подход к регуляции репродуктивной функции, обмена веществ и продуктивности животных. С.-х. биология, 1994, 2: 3-19.
6. Dubreuil P., Pelletier G. et al. Effects of active immunization against to somatostatin in serum growth hormone concentration in growing pigs: influence of fasting and repetitive somatostatin injections. Endocrinol., 1989, 125, 3: 1378-1384.
7. Уголев А.М. Энтеринная (кишечная гормональная) система. Л.: Наука, 1978.
8. Strous E., Yalow R.S. Species specificity of CCK in gut and brain of several mammalian species. Proc.Natl.Acad.Sci,USA, 1978, 75, 1: 486-489.
9. Rehfeld J.F. Immunochemical studies on CCK.2. Distribution and molecular heterogeneity in the CNS and small intestine of man and hog. J.Biol.Chem., 1978, 253, 11: 4022-4030.
10. Analgesia and ptosis caused by caerulein and CCK-8. Neuropharmac., 1980, 19, 5: 415-422.
11. Emson P.C., Lee C.M., Rehfeld J.F. CCK-8: vesicular localisation and calcium dependent release from rat brain in vitro. Life Sci., 1980, 26, 25: 2157-2163.
12. Gibbs J., Young R.S., Smith G.P. Cholecystokinin decreases food intake in rats. J.Comp.Physiol.Psychol., 1973, 84: 488.
13. Kissilief H.R., Pi Sunyer F.X. et al. C-terminal octapeptide of cholecystokinin decreases food intake in man. J.Clin.Nutr., 1981, 34: 154.
14. Anika S.M., Houp T.R., Houp K.A. Cholecystokinin and satiety in pig. Amer.J.Physiol., 1981, 240: R310.
15. Gibbs J., Falasco J.D., McHugh P.R. Cholecystokinin-decreased feed intake in rhesus monkeys. Amer.J.Physiol.,1976, 230: 15.
16. Levine A.S., Sievert C.E. et al. Peptidergic regulation of feeding in the dog (Canis familiaris). Peptides, 1984, 5: 675.
17. Groum W.L. Factors affecting the voluntary intake of sheep.3. The effect of intravenous infusions of gastrin, cholecystokinin and secretin on motility of the reticulo-rumen and intake. Br.J.Nutr.,1981, 45: 183.
18. Trout W.L., Pekas J.C., Schanbacher B.D. Immune, growth and carcass responses of ram lambs to active immunization against desulphated cholecystokinin (CCK-8). J.Fnim.Sci., 1989, 67: 2709-2714.
19. Pekas J.C., Trout W.E. Stimulation of food intake and growth of swine by CCK-immunization. Growth Develop. Aging, 1990, 54: 51-55.
20. Pekas J.C. Animal growth during liberation from appetite suppression. Growth, 1 5, 49: 19.
21. Терентьева А.С. Повышение качества свинины в условиях промышленной технологии. М., 1980.
22. Прусаков А.Н., Самарцев М.А., Полосатов М.В. Иммунохимическое изучение пептидов, отвечающих аминокислотной последовательности фрагментов гастрин.Биоорганич. химия, 1979, 5, 7: 1025-1032.
23. Pekas J.C., Trout W.E., Schanbacher B.D. Cholecystokinin octapeptide (CCK-8) immunization stimulation of feed intake and growth of swine. In: Proc. 77nd Annu.Mtg.Fedr.Am.Soc.Exp.Biol.Abstr.,1988, 5244: A1198.

24. McLaughlin C.L., Baile C.A., Buonomo F.C. Effect of CCK antibodies on food intake gain in Zucker rats. *Physiol. & Behav.*, 1985, 34: 277.
25. Петров Р.В., Кабанов В.А., Хаитов Р.М. Искусственные антигены и вакцины. *Журн. Всесоюз. хим. общ.*, 1988, 33, 5: 502-522.
26. Newcomb M.D., Ott R.S. et al. Effect of hyperalimentation on body composition in swine. *J. Anim. Sci.*, 1992, 71, 1: 144-150.
27. Кабанов В.Д. Рост и мясные качества свиней. М.: Колос, 1972:78.

Биотехнология — новый этап развития генетики, биохимии и физиологии сельскохозяйственных животных

Л.К.Эрнст, М.И.Прокофьев

*Российская академия сельскохозяйственных наук,
Биотехнологический центр, Горки, Московская обл., Россия*

Животноводство со времен одомашнивания играло огромную роль в развитии человечества. Это остается в силе и сегодня, это сохраняется свое непреложное значение и в перспективе. Некоторые прогнозисты считают, что в будущем успехи химии позволят получать продукты питания, не уступающие по своим качествам продуктам животноводства. Конечно, трудно представить себе то, что произойдет через сотни-тысячи лет, мысль человека безгранична. Но в обозримом будущем, по крайней мере в XXI веке, благосостояние и здоровье человека будет во многом зависеть от развития и совершенствования животноводства. Поэтому мы должны уже сейчас закладывать основы этого нового подъема животноводства. При этом, однако, не следует забывать, что Россия обладает огромным генетическим богатством в области животноводства. Не случайно ФАО в числе первых выпустило книгу генетических ресурсов животноводства СССР, которая разошлась в 120 странах мира.

Многие наши породы превосходят мировые по таким уникальным качествам, как приспособленность к местным, часто экстремальным условиям внешней среды, устойчивость к ряду заболеваний. Их востребованность в будущем, как доноров этих качеств, будет многократно возрастать. Поэтому в преддверии XXI века мы должны сохранить этот уникальный генетический фонд животноводства, используя открытия наших же российских ученых. Я имею в виду прежде всего систему криоконсервации сперматозоидов, а в последнее время и эмбрионов. Необходимо не только сохранить этот фонд, но и увеличить его. Становится все более очевидным, что в ближайшей перспективе селекция животных в мире перейдет на новый этап развития. Об этом свидетельствуют крупные успехи биотехнологии и двух ее главных ветвей — клеточной и геномной инженерии. Впервые перед селекционерами возникают перспективы не только искать и находить в море мутаций крупницы полезных изменений генома, но и совершенно сознательно регулировать изменчивость генотипа, вводя в его структуру генные конструкции с заранее известными свойствами. Становится реальной задача направленного изменения наследственных регуляторных механизмов обмена веществ животных, а это позволяет решать проблемы ускоренной селекции в направлении более полного усвоения питательных веществ кормов, т.е. повышения коэффициента полезного действия животного. Становится решаемой проблема существенного изменения качества продуктов животноводства, в частности, уменьшения содержания жира и увеличения удельного веса белка в продукции мясных животных.

В этой связи важнейшей задачей становится изучение фенотипа трансгенных животных, влияния интегрирования в геном генных конструкций на функции и формы организмов. Проведенные

исследования уже показывают, что трансгенные животные характеризуются определенными изменениями биохимических и физиологических показателей. Интеграция в геном чужеродных генов и особенно связанных с регуляторными функциями организма (гены соматотропного каскада и др.) связана с плейотропными действиями, которые затрагивают широкий спектр звеньев обмена веществ. И здесь огромное поле для исследователей в области биохимии и физиологии животных.

При всем огромном значении генотипа не меньшую роль в животноводстве играют системы и методы, позволяющие в наиболее полной степени реализовать генетический потенциал животных. Он в стране используется меньше чем наполовину. Надо отметить, что российские исследователи в области физиологии и питания сельскохозяйственных животных создали научно обоснованные системы кормления всех видов сельскохозяйственных животных, изучили кормовые ресурсы во многих регионах страны. Однако здесь еще много нерешенных задач. Требуется разработка систем питания сельскохозяйственных животных, которые позволят не только реализовать генетический потенциал продуктивности, но и обеспечат регуляцию воспроизводства, здоровье и долголетие животных и высокое качество продукции. В решение этих проблем большой вклад внесли ученые ВНИИФБиП с.-х. животных. Именно в этом институте были физиологически и биохимически обоснованы современные эффективные системы питания животных на базе глубокого изучения обмена веществ.

Сейчас, когда в руках селекционеров появился эффективный инструмент изменения генотипа животного, когда представилось возможным сочетать отдельные качества особей, принадлежащих разным видам, родам и семействам, перед биохимиками и физиологами стоят принципиально новые задачи — создать систему реализации генетического потенциала трансгенных животных, животных с принципиально новым генотипом.

Другой аспект генной инженерии. Совершенно по-новому встает проблема создания животных, устойчивых к болезням. Успехи генной инженерии уже создали прочный теоретический базис для этого направления селекции. Вероятно, уже в конце века появятся линии животных, генетически устойчивых к ряду вирусных болезней, наносящих сейчас огромный ущерб животноводству. Эта работа проводится Биотехцентром в течение ряда лет. Наибольший интерес, по-видимому, представляют полученные нами трансгенные кролики с геном асРНК против лейкоза, с геном интерферона бета- и гамма. Отработана техника введения генов, установлены некоторые приемы повышения эффективности получения трансгенных животных, наследуемости чужеродных генов. Получены данные о повышении устойчивости трансгенных животных к заболеваниям. Эти исследования переносятся уже на крупных сельскохозяйственных животных. Сконструированный нашей аспиранткой В.Бондарук ген бета-интерферона был нами передан в ВИЖ. Там пересадили его свиньям и получили первого трансгенного хряка. Недавно мы провели анализ его потомков и выявили 5 трансгенных поросят.

И, наконец, третий аспект генной инженерии. В перспективе видится значительное расширение ассортимента продуктов животноводства. Селекционеры получили в свое распоряжение генно-инженерные методы, позволяющие создавать типы животных, продуцирующих не только традиционные продукты — молоко и мясо, но и целую гамму биологически активных веществ, необходимых для медицинских и других нужд человека. Это прежде всего полученный английскими учеными с молоком трансгенных овец фактор IX, используемый в медицине при лечении гемофилии. В этой связи, по-видимому, заслуживает внимания и проводимая совместно с ВИЖем и

профессором Г.Бремом из Германии работа по получению трансгенных овец, продуцирующих с молоком фермент химозин. К настоящему времени у нас имеется одна первичная трансгенная овца и два ее трансгенных потомка — ярочка и баранчик. От барана уже накоплена и заморожена сперма. Приобретены овцы для осеменения этой спермой и в сентябре-октябре будет осеменено 50–100 овцематок. В течение двух лактаций прослежено за секрецией химозина у этой трансгенной овцы. Его концентрация в среднем 200–300 мг/л молока с колебаниями от 100 до 500 мг/л. При этом получены интересные научные факты о некоторых особенностях секреции белков молока у этой овцы. Ведутся исследования по отработке технологии выделения этого фермента из молока для промышленных целей. Вторая трансгенная овца не дала ни трансгенного потомства, ни секреции химозина с молоком и погибла без особых клинических причин.

Разумеется, в геной инженерии есть множество трудных и нерешенных проблем. Современные методы интеграции чужеродных генетических конструкций в геном реципиента не позволяют пока локализовать эти конструкции в определенных точках генома. И это иногда приводит к существенным нарушениям генотипа, невозможности получения гомозиготных трансгенных животных. По литературным данным введение чужеродных генов наугад в генетический аппарат нарушает нормальную функцию генома по меньшей мере в 10 % случаев. Проводимые работы по картированию генома сельскохозяйственных животных создают для решения этой проблемы прочную методическую базу. Вместе с тем необходима постоянная исследовательская работа по выявлению трансгенных животных с нарушением нормальной функции генома, чтобы своевременно исключить их из популяции и не допустить распространения животных с генетическими нарушениями.

Серьезной проблемой в получении трансгенных сельскохозяйственных животных является низкая эффективность метода. По сообщению W.H.Eyeston (1993) для получения трансгенной особи крупного рогатого скота требуется 1100 инъецированных зигот, трансгенной овцы — 125 зигот, козы — 83 и свиньи — 125. Отсюда высокая стоимость получения трансгенного животного. К примеру, стоимость получения одного трансгенного теленка составляет около 500000 долларов.

Низкая эффективность получения трансгенных сельскохозяйственных животных определяется главным образом низкой выживаемостью инъецированных эмбрионов. Основная эмбриональная смертность происходит в период между стадией зиготы и бластоцисты. Только 8–15 % микроинъецированных генами эмбрионов выживают до стадии, пригодной для пересадки. В контрольных экспериментах процесс микроинъекции снижал развитие развивающихся *in vitro* зигот до компактной морулы и бластоцисты до 40–50 %. Процент рождения телят из числа пересаженных бластоцист после микроинъекции составлял 17–18 % по сравнению с 50 % с пересадкой инъецированных эмбрионов, полученных после оплодотворения *in vivo* (Eyeston, First, 1987). Большая часть эмбриональных потерь из числа микроинъецированных эмбрионов связана с повреждением пронуклеуса и воздействием чужеродной ДНК, тогда как другие манипуляции, такие как центрифугирование для визуализации пронуклеуса, заметно не влияют на их развитие.

Известно несколько приемов повышения эффективности получения трансгенных сельскохозяйственных животных. Во-первых, ретровирусная трансфекция гена значительно улучшает выживание эмбрионов после введения чужеродного гена. Но этот прием имеет определенные ограничения, в частности, относительно размера генной конструкции, которая должна быть введена. Второй путь — перенос гена через сперматозоиды. К сожалению, многим исследователям не

удалось повторить этот эксперимент итальянских ученых. Вместе с тем эта работа находится в программе исследований в Бельгии, Китае и других странах. Третий прием — исследование эмбрионов на трансгенную интеграцию до пересадки их реципиентам. В принципе биопсия эмбриона может быть использована для анализа на присутствие трансгена: только эмбрионы с положительной реакцией могут быть пересажены реципиентам. На практике оказалось это трудно осуществить с высокой точностью у крупного рогатого скота. К примеру, Navot et al. (1993) использовали технику ПЦР на эмбрионах, чтобы определить интеграцию гена через 7 дней после инъекции. Примерно 60 % эмбрионов были определены трансгенными. Аналогичным образом Krisher et al. (1993) наблюдали интеграцию гена у 85 % эмбрионов через 6 дней после микроинъекции. На самом деле не все из эмбрионов, которые были определены как положительные, оказались трансгенными, так как частота интеграции гена у рожденных телят составляла лишь 4 %. В другом эксперименте только 45 %, а не 60–85 %, проанализированных на интеграцию гена через 14 дней культивирования *in vivo* (Roshlau et al. (1989) или *in vitro* (Krisher et al., 1994), были трансгенными. Это дает основание предполагать, что остаточные количества неинтегрированной ДНК могут присутствовать в эмбрионе некоторое время после инъекции. Источник ДНК, обуславливающий эти ошибочно положительные результаты, точно пока не известен. Некоторые количества ДНК могут находиться на поверхности мембраны бластомеров или на поверхности зоны пеллюциды, т.к. установлено, что неинъекцированные эмбрионы, помещенные в культуральную среду, в которую каким-то образом попала чужеродная ДНК (например, капля из шприца для микроинъекций), показывали положительную реакцию наличия гена после исследования с помощью ПЦР. Несмотря на эти недостатки все же этот прием позволяет исключить перед пересадкой значительный процент неинтегрированных эмбрионов и тем самым повысить эффективность получения трансгенных животных. Дальнейшая работа должна быть направлена на повышение точности методов, основанных на применении пициэра для определения интеграции генов в эмбрионах с целью снижения частоты ошибок установления положительного трансгенеза.

Все более широкое использование в селекции животных приобретают и методы клеточной инженерии. Трансплантация ранних эмбрионов уже стала рутинной практикой племенного дела. Определилась и главная роль этой технологии — получение эмбрионов от высокопроизводящих коров и получение главным образом быков-производителей, а не коров. Вместе с тем надо отметить, что зарубежные фермеры, по-видимому преимущественно в порядке любительства, получают от своих высокопродуктивных коров телочек с помощью этого метода. Но это не оказывает какого-либо существенного влияния на стратегию широкомасштабного улучшения племенных качеств животных. Используются в практике методы дозревания и оплодотворения яйцеклеток крупного рогатого скота вне организма. Что касается самого метода дозревания и оплодотворения яйцеклеток вне организма, то за последние годы нет каких-либо новых выдающихся достижений в его совершенствовании. Хотелось бы отметить только один момент — получение ооцитов из фолликулов путем введения в брюшную полость через стенку влагалища датчиков с иглой и контроля за этим процессом на экране ультразвукового прибора. Этот прием позволяет получать от коровы два раза в неделю примерно по 10 ооцитов, дозревать и оплодотворять их вне организма, культивировать до стадии бластоцисты и пересаживать реципиентам.

Особый интерес приобретает эта технология при клонировании эмбрионов. Она позволяет многократно получать ооциты (на протяжении нескольких месяцев) у выдающейся коровы-донора,

получать из них морулы вне организма, а затем делить на отдельные бластомеры, каждый из которых пересаживать в энуклеированные яйцеклетки и культивировать их до стадии, пригодной для пересадки реципиенту. Именно такой работой занимается уже второй год зав. лабораторией биотехцентра В.И.Захарченко в Германии. Этим методом уже получено несколько телят. В наиболее удачных экспериментах он получает из одного эмбриона до 20 новых бластоцист, пригодных для пересадки. Эта работа ведется уже на практической основе. Фермер передает в центр выдающуюся корову-донора, от нее извлекают прижизненно ооциты, дозревают и оплодотворяют вне организма. Затем клонируют и пересаживают клонированные эмбрионы коровам-реципиентам этого же фермера.

Нисколько не умаляя роль генной и клеточной инженерии в обеспечении успехов биотехнологии в животноводстве, мы не можем не сказать сегодня о роли физиологии, в частности, эндокринологии в разработке биотехнологических приемов регуляции воспроизводства сельскохозяйственных животных.

Достижения в области эндокринной регуляции функции воспроизводства у животных за последние десятилетия создали такую научную базу, которая позволяет в высокой степени управлять этой функцией у сельскохозяйственных животных. В этой связи необходимо отметить такие два важных открытия, как гипоталамический гонадотропин-рилизинг фактор и простагландин $F_{2\alpha}$. Выделение их, а затем и получение препаратов этих веществ как в натуральном виде, так и в форме аналогов (сурфагон — аналог Гн-РГ или несколько аналогов простагландина $F_{2\alpha}$ — эстрофан, анипрост и др.) позволили разработать эффективные биотехнологические приемы управления половым циклом (синхронизация охоты с помощью прогестагенов и простагландина $F_{2\alpha}$) или сроками овуляции с помощью гонадотропин-рилизинг гормона. Важную роль в разработке этих биотехнологических приемов сыграло совершенствование методической базы определения гормонов, сначала радиоиммунологическим, а затем иммуноферментными методами. Это позволило получить уже в конце 60-х и в 70-е годы данные о динамике секреции половых и гонадотропных гормонов в течение полового цикла, в послеотельный период и во время беременности. Это дало возможность составить представление о закономерностях эндокринной регуляции воспроизводительной функции у сельскохозяйственных животных и на этой основе разработать биотехнологические приемы управления сроками прихода в охоту (синхронизации охоты) и овуляции, повышения оплодотворяемости и плодовитости животных, срока отела и нормализацией целого ряда нарушений функции яичников у животных. В этой связи необходимо отметить как важное достижение проведение цикла работ по теоретическому обоснованию, созданию и широкой апробации отечественных прогестагенов пролонгированного действия — амола и диамола. Их применение путем однократной инъекции имеет целый ряд преимуществ по сравнению с применяемыми за рубежом устройствами по введению прогестагенов животным (подкожные имплантанты или внутривлагалищные спирали, пропитанные прогестероном).

Весь комплекс созданных гормональных препаратов и способов их применения позволяет в настоящее время с высокой точностью управлять процессом воспроизводства почти у всех видов сельскохозяйственных животных. К великому сожалению, эти исследования в системе РАСХН в последнее время по- существу прекратились. А это не только не поддерживает прогресс в области эндокринологии животных, но и тормозит внедрение в практику животноводства уже имеющихся разработок, так как уходят на пенсию или из жизни специалисты в этой области, а подготовка новых не проводится.

Многие годы ученые-животноводы пытались решить задачу ранней диагностики беременности у животных. Это и понятно, т.к. на содержание небеременных животных идут огромные непроизводительные затраты. Были предложены многочисленные приемы для решения этой проблемы, но ни один из них не нашел регулярного практического применения. Однако в последнее время удалось сделать настоящий прорыв в этой области. Следует отметить, что 10 лет назад во ВНИИРГЖе была отработана методика определения стельности у коров путем определения прогестерона в молоке на 19–21 дни после осеменения. Она не нашла практического применения. Одну из причин мы видели в том, что нельзя использовать радиоактивные изотопы на ферме, а доставлять пробы молока в лаборатории трудоемко и неудобно. Поэтому во всем мире стали применять иммуноферментный метод определения прогестерона в молоке. В течение трех лет и мы отработывали и апробировали этот метод. Примерно год назад мы узнали, что один оборонный завод производит ультразвуковой прибор для определения беременности у животных. Мы связались с ним, усовершенствовали датчики для определения беременности у разных видов и отработали технологию его применения на свиньях и коровах. Приоритет этого метода по сравнению с иммуноферментным несомненный. Сейчас уже этот прием включен в циклограмму работы пяти свиноводческих комплексов и ряда молочных ферм. На определение беременности у коровы затрачивается 2–3 минуты, а у свиноматок — меньше одной минуты. Точность выявления холостых животных почти абсолютная, что же касается беременных, то она определяется величиной эмбриональной смертности. В совхозе "Барыбино", например, эмбриональная смертность у коров составила в среднем около 20 %. И это заставило нас думать над тем, как ее сократить.

Насколько необходим этот прием с экономической точки зрения можно представить из следующих фактов. При определении беременности у коров на 25–30-й дни после осеменения находят в среднем 24 % яловых коров, которые не были выявлены в охоте повторно после осеменения. В результате только по этой причине сервис-период у таких животных при использовании традиционного метода ректальной пальпации через два месяца после осеменения может быть сокращен с помощью этого приема на 30–40 дней. В свиноводстве на 30-й день после осеменения выявлено в среднем 10–12 %, а в отдельных хозяйствах — 22 % небеременных свиней, которые повторно не приходили в охоту. Отсюда огромные непроизводительные затраты на содержание холостых животных.

Мы считаем, что перед животноводами встает задача реализовать современные достижения биотехнологии. Но для этого нужен тесный контакт между генетиками, биотехнологами и селекционерами. При подготовке кадров зоотехников-селекционеров необходимо ввести курс биотехнологии. При этом необходимо учитывать и разделение труда. Зоотехники-селекционеры не должны заниматься генными конструкциями — это прерогатива генных инженеров. Но они должны знать возможности создания генных конструкций, их влияние на качество животного. Они должны владеть техникой интеграции чужеродного гена и методами идентификации трансгенных животных, их оценкой с точки зрения жизнеспособности организма и развития его хозяйственно-полезных признаков, изучения этих признаков в потомстве трансгенных животных. Уже сейчас нам необходимо создать хотя бы в ряде ведущих сельскохозяйственных вузов отделения по подготовке зоотехников-селекционеров нового профиля, владеющих современными методами генетики и биотехнологии. Только это позволит нам в конце XX и в XXI веке вести селекцию животных на мировом уровне. Нам не надо гнаться за массовостью, нам не нужны тысячи селекционеров. Может быть было бы целесообразным открыть

такие отделения в 2-х–3-х научно-исследовательских институтах, где проблемы биотехнологии уже стали обычной практикой научно-исследовательской работы. Возможен и другой, более традиционный вариант — открыть отделения в 2-х–3-х ведущих вузах, но с обязательным привлечением к учебному процессу специалистов в области биотехнологии.

Примерно те же проблемы стоят и в отношении биотехнологических приемов регуляции воспроизводства и повышения продуктивности животных. Однако эти вопросы могут быть решены проще, а именно — путем издания специального учебника по регуляции размножения и продуктивности сельскохозяйственных животных биотехнологическими методами и введения курса этого предмета на зоотехнических и ветеринарных факультетах. В том и другом случае важно преодолеть психологический барьер. А для этого необходимо, по-видимому, создать инструкции для животноводов-селекционеров по применению методов генной и клеточной инженерии в животноводстве, утвержденные Минсельхозпродом. Гормональные и другие биотехнологические препараты для регуляции воспроизводства и продуктивности, как обычно, должны быть утверждены Главветупром.

Сейчас в стране заложена хорошая основа этих исследований и разработок, достижения отечественной зоотехнической биотехнологии находятся на уровне, близком к мировому. Сформировались квалифицированные коллективы исследователей, установлены хорошие связи институтов зоотехнического профиля РАСХН с коллективами исследователей РАН, Российской медицинской академии. Сложились тесные связи с целым рядом зарубежных авторитетных исследователей в области зоотехнической биотехнологии, функционирует совместная Российско-Словацкая лаборатория биотехнологии животных. Всю эту инфраструктуру зоотехнической биотехнологии следует укреплять и развивать, что даст возможность развивать современную селекцию сельскохозяйственных животных наравне со странами, обладающими развитым животноводством.

Сегодняшнему поколению молодых необходимо принять и повести эту эстафету. И именно молодые должны принять вызов времени и еще раз доказать, что "... может собственных Платонов и быстрых разумом Невтонов Российская земля рождать."

Стратегия использования генов соматотропинового каскада для получения трансгенных свиней

В.П.Рябых

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания
сельскохозяйственных животных,
Боровск, Россия*

Одним из основных факторов увеличения производства высококачественных продуктов животноводства, наряду с улучшением кормовой базы, является повышение генетического потенциала сельскохозяйственных животных с целью обеспечить более эффективное использование кормов и увеличение продуктивности. Однако для повышения генетического потенциала животных методами классической селекции требуется не одно десятилетие. Успехи, достигнутые в последние годы в области эмбрио- и генетической инженерии, позволили разработать основные принципы технологии прямого переноса дополнительных генов в геном животных, с помощью которой за одно поколение жизни животного можно будет

достичь большего генетического совершенствования, чем методами классической селекции.

Уже первые и, вероятно, не самые удачные варианты получения трансгенных животных дают основание полагать, что трансгенез может оказать неопределимое влияние на ускорение темпов селекционного процесса. Эксперименты, проведенные на мышах с 1975 года, показали, что для получения линии трансгенных мышей, гомозиготных по гену соматотропина крысы, в 2 раза превышающей по интенсивности роста нетрансгенных контрольных животных, потребовалось 4–5 поколений (21), тогда как увеличение интенсивности роста мышей в 2 раза методами классической селекции было достигнуто только через 50 поколений (4), т.е. один и тот же конечный результат был достигнут методами трансгенеза через 14 месяцев, а методами классической селекции — через 150 месяцев.

Не менее впечатляющие результаты получены по снижению содержания жира в туше у трансгенных животных. Теория и практика селекции показывает, что при средней толщине шпика у свиней в конце откорма в пределах 20 мм снижение этого показателя в результате классических селекционных программ, основанных на принципах искусственного осеменения, составляет около 2 %, т.е. 0,4 мм в год, тогда как у свиней аналогичной живой массы, трансгенных по генам человеческого или бычьего соматотропина, толщина шпика составила 7,0 и 7,9 мм соответственно (26). За одно поколение жизни свиней технология трансгенеза позволила получить селекционный эффект, на который методами классической селекции при благоприятном стечении обстоятельств потребовалось бы свыше 30 лет.

Преимущества биоинженерных технологий, основанных на прямом переносе дополнительных генов в геном животных с целью их генетического совершенствования являются:

- возможность получения селекционного эффекта по отдельным признакам в несколько раз быстрее, чем при обычной селекции;

- возможность создания генетических вариантов, которые ранее не существовали у животных данного вида (например, продукция лекарственных веществ с молоком);

- возможность изменения признаков, которые до последнего времени не поддавались селекции (например, устойчивость к инфекциям);

- возможность внедрения определенного гена в популяцию, не комбинируя при этом, как при естественном скрещивании, множеством неизвестных и часто нежелательных генов, а вводя в геном животного отдельный ген или группу генов, определяющих конкретный признак.

В настоящее время исследования по получению трансгенных сельскохозяйственных животных ведутся в следующих направлениях:

1. Повышение продуктивности и улучшение качества продукции животных путем интеграции в их геном дополнительных генов соматотропного каскада (СТГ, РГ-СТГ, соматомедины). Разработка данного направления начата несколько ранее других и уже достигнуты определенные результаты.

2. Повышение устойчивости сельскохозяйственных животных к инфекционным заболеваниям за счет введения в их геном антисмысловых РНК, комплементарных функционально важным участкам иРНК вируса, или за счет введения генов, ответственных за синтез факторов, обеспечивающих устойчивость животных к различным вирусным инфекциям (Mx-ген, гены интерферонов, иммуноглобулинов и т.д.). Важность и сложность этого направления обусловлены тем, что методами обычной селекции до сих пор не достигнуто сколько-нибудь значимых успехов в повышении устойчивости сельскохозяйственных животных к инфекциям вирусной природы, против которых трудно или почти невозможно добиться эффективной вакцинации

3. Получение трансгенных животных, продуцирующих лекарственные биологически активные вещества с молоком. Эти животные-суперпродуценты могут стать высокопродуктивными экологически чистыми биофабриками по производству биологически активных веществ, необходимых для медицины и сельского хозяйства по несравнимо низкой себестоимости. Кроме того, терапевтические препараты, которые традиционно получают из человеческих тканей, могут быть заражены вирусами СПИД, гепатита и др., тогда как препараты, полученные из молока, будут лишены этого недостатка.

4. Повышение качества продукции животных (молока, шерсти и др.) за счет интеграции в их геном нуклеотидных последовательностей, кодирующих ключевые ферменты метаболизма белков, жиров и углеводов.

Исследованиями последних лет установлено, что большинство продуктивных признаков сельскохозяйственных животных являются полигенными, т.е. их проявление зависит от функционирования многих генов. И только такой признак, как рост животных, принято считать моногенным, обусловленным деятельностью гена соматотропного гормона (СТГ). Поэтому первые трансгенные животные были получены путем интеграции дополнительных генов СТГ в геном животного-хозяина. Однако на основные процессы, связанные с ростом животных, СТГ действует опосредованно, являясь центральным звеном в цепи взаимодействий факторов соматотропного каскада.

По современным представлениям схема регуляции роста животных гормонами соматотропного каскада в общих чертах выглядит следующим образом. Секреция СТГ передней долей гипофиза находится под двойным контролем гипоталамуса, в котором синтезируются рилизинг-фактор СТГ (соматолиберин), усиливающий секрецию СТГ, и соматостатин — тормозящий ее. Под воздействием целого ряда внешних и внутренних факторов гипоталамус выделяет рилизинг-фактор соматотропного гормона (РФ-СТГ), который вызывает усиление секреции СТГ гипофизом. Повышение концентрации СТГ в крови выше определенного уровня вызывает выброс гипоталамусом соматостатина, который тормозит секрецию СТГ гипофизом, сохраняя его концентрацию на определенном уровне. Таким образом осуществляется один из основных путей регуляции секреции СТГ гипофизом по принципу обратной связи.

Одной из главных функций СТГ в организме позвоночных животных является стимулирующее влияние на линейный рост и общие размеры тела животных, однако эта функция СТГ в значительной мере утрачивается во взрослом состоянии. Но СТГ является гормоном широкого спектра действия и его физиологическая роль не ограничивается только влиянием на линейный рост животных. Он принимает активное участие в регуляции обмена веществ, поддерживая как анаболические, так и катаболические процессы, причем во взрослом организме эта функция СТГ становится главной. Большинство физиологических эффектов СТГ осуществляется не прямым влиянием его на те или иные клетки, а опосредованно, через соматомедины, среди которых ведущая роль в действии СТГ в постнатальный период отводится инсулиноподобному фактору роста-1 (ИПФР-1), который синтезируется, главным образом, в клетках печени и, возможно, других органов под влиянием СТГ. Таким образом, по современным представлениям соматотропный каскад выглядит следующим образом: рилизинг фактор СТГ → соматотропный гормон → инсулиноподобные факторы роста → клетки мишени.

Поскольку считалось, что ведущая роль в регуляции процесса роста животных принадлежит СТГ, первые работы по получению трансгенных животных основывались на использовании гена соматотропина, который дополнительно вводили в геном животных. Результаты этих работ, проведенных на мышах, дали обнадеживающие

результаты. Отдельные трансгенные особи с интегрированным геном СТГ крысы имели в крови повышенный в 100–800 раз уровень СТГ и более высокий прирост живой массы (почти в 2 раза) по сравнению с контрольными однопометными мышами (21). В последующие годы были предприняты многочисленные попытки воспроизвести на сельскохозяйственных животных результаты, полученные в экспериментах на мышах, на основе использования многочисленных генных конструкций, включающих гены соматотропина животных различных видов. Наибольшее число работ по получению трансгенных сельскохозяйственных животных было проведено на свиньях, в связи с тем, что они являются многоплодными животными, имеющими сравнительно короткий воспроизводительный цикл. Однако результаты, полученные на сельскохозяйственных животных, оказались неоднозначными и не такими впечатляющими, как на мышах.

Первые исследования, проведенные на свиньях, трансгенных по гену СТГ крупного рогатого скота, показали, что при значительной экспрессии трансгена интенсивность роста этих свиней была ниже, чем у контрольных (11) и только в последующих экспериментах, при увеличении содержания протеина в рационе подопытных животных с 16 до 18 % удалось повысить интенсивность роста на 16,5 % по сравнению с контрольными животными (24). Аналогичные результаты были получены на свиньях с интегрированным и экспрессирующим геном человеческого СТГ (6). И только в одном случае сообщалось о том, что свиньи, трансгенные по свиному СТГ, имели интенсивность роста на 60 % превосходящую таковую у однопометных нетрансгенных потомков в период роста от 20 до 90 кг живой массы (30). Но во всех экспериментах было отмечено, что под влиянием чужеродного гормона роста у свиней происходит изменение метаболических процессов, приводящее к уменьшению толщины жира на спине и увеличению мясности туши.

Однако наряду с отмеченными положительными изменениями в организме трансгенных свиней, экспрессирующих высокие уровни СТГ человека или крупного рогатого скота, очень часто наблюдались значительные патологические изменения в органах и тканях, включая гепатомегалию и гломерулярный склероз, язвы желудка, перикардиты и эндокардиты, нефриты и дегенеративные изменения в суставах и др., что чаще всего приводило к сокращению продолжительности жизни этих животных. Кроме того, у этих свиней были отмечены значительные нарушения воспроизводительной функции, заключающиеся в том, что свинки не проявляли признаков охоты, а хряки — полового возбуждения (24). И хотя исследования, проведенные при убое товарных свиней, показывают, что и у свиней обычной популяции наблюдаются язвы желудка (до 30 %) (20) и до 90 % имеют остеохондроз, который является основным заболеванием суставов и главной причиной хромоты свиней (5), но у свиней, подвергшихся длительному действию высоких концентраций СТГ, эти заболевания выражены значительно сильнее, чем у контрольных животных.

Таким образом, первые эксперименты с трансгенными свиньями показали, что животные, несущие дополнительные гены СТГ, которые способствуют созданию высокой концентрации этого гормона в крови и тканях, показали, что при постоянном бесконтрольном присутствии больших количеств гормона роста в течение всей жизни животных, наряду с повышением скорости роста наблюдаются нарушения состояния здоровья и воспроизводительной функции. В связи с этим возникает необходимость во всесторонней оценке последствий трансгенной экспрессии, в системном изучении полезных и неблагоприятных последствий длительного подъема продуктов экспрессии дополнительных генов на организм животного.

В настоящее время стало ясно, что только совместными усилиями молекулярных генетиков, физиологов и биохимиков может быть решен вопрос о выборе генных конструкций (структурных генов и промоторов) для получения полноценных трансгенных животных. Поэтому исследования физиолого-биохимических процессов, происходящих в организме трансгенных животных с экспрессирующими чужеродными генами и изучение метаболических процессов в организме животных, инъецированных экзогенным СТГ животных разных видов, позволит получить фундаментальные представления о долговременном и краткосрочном действии СТГ на организм животных и на их основе создать концепцию и стратегию трансгенеза в животноводстве с целью получения трансгенных животных с заданным потенциалом продуктивности и качеством продукции.

Анализ работ по получению животных, трансгенных по генам соматотропного каскада, и изучение особенностей процессов, происходящих в их организме, позволяет прийти к выводу, что полноценность и пригодность для селекции полученных трансгенных животных зависит, главным образом, от использованных генно-инженерных конструкций, которые интегрировались в геном хозяина. С физиологической точки зрения конструкция должна содержать такой структурный ген, который бы кодировал то или иное биологически активное вещество, имеющее ключевое значение в регуляции определенных процессов в организме животного и не вызывающее иммунного ответа на свое присутствие. Вторым важнейшим элементом конструкции является промотор, т.е. регуляторный элемент, запускающий работу структурного гена, который должен определять ткани и органы-мишени, в которых данный структурный ген будет экспрессировать, и при каких условиях.

С 1985 года, т.е. со времени начала получения трансгенных сельскохозяйственных животных, было использовано несколько генно-инженерных конструкций, включающих в качестве структурного один из генов соматотропного каскада, а в качестве промоторов — регуляторные последовательности, взятые от других генов (табл. 1). При этом некоторые из структурных генов были выделены из библиотеки геномной ДНК и содержали наряду с экзонами и интронные последовательности; другие были клонированы из библиотеки РНК, являлись комплементарными ДНК (кДНК) и не содержали интронов. В некоторых конструкциях структурная часть состояла из смеси геномной и кДНК и представляла собой минигены, содержащие несколько интронов.

Анализ результатов исследований, полученных на свиньях, трансгенных по гену СТГ крупного рогатого скота, и в экспериментах с введением обычным свиньям экзогенных СТГ, дает основание утверждать, что интеграция в геном свиней дополнительных генов СТГ различных видов животных не является оптимальным вариантом для получения полноценных трансгенных животных на современном этапе работ по трансгенезу, когда еще не решены проблемы целенаправленной интеграции трансгена в геном хозяина и четкой регуляции интенсивности его экспрессии. Основным нежелательным моментом в использовании гена СТГ является то, что соматотропный гормон является промежуточным звеном в цепи соматотропного каскада и поэтому его чрезмерно повышенный уровень в организме трансгенных животных, наряду с целевым действием на определенные клетки-мишени, оказывает множество побочных эффектов, которые приводят к нарушению состояния здоровья животных. И в большей степени это относится к конструкциям, содержащим гены СТГ животных других видов. Несмотря на то, что не существует абсолютной видовой специфичности по биологическому действию на организм свиней гетерологичных СТГ, все же предпочтительнее

использовать для получения трансгенных свиней конструкции, содержащие последовательности гена СТГ свиней. Об этом свидетельствуют факты, полученные нами в исследованиях с использованием инъекций свиньям СТГ крупного рогатого скота, в которых была отмечена возможность образования антител к этому гормону в организме свиней, а также наличие патологических изменений в большинстве внутренних органов и изменение жирнокислотного состава липидов в сторону их насыщенности.

Таблица 1

Генные конструкции, включающие последовательности генов соматотропного каскада, интегрированные в геном свиней

Аббревиатура конструкций	Просмотр	Структурная последовательность	Тип	% экспрессирующихся животных	Источник
MT-hGH	металлотионеиновый I мыши	СТГ человека	геномный	61	(10)
MT-hGH	—”—	—”—	—”—		(2)
MT-bGH	—”—	СТГ к.р.с.	—”—	89	(24)
MT-pGH	металлотионеиновый ПА человека	СТГ свиньи	кДНК	17	(30)
MLV-pGH	мелони вирус мышинной лейкемии	СТГ свиньи	кДНК		(6)
MLV-rGH	—”—	СТГ крысы	—”—	100	(6)
PLPCK-bGH	крысин. фосфоэнол пируват-карбоксиаза	СТГ к.р.с.	геномный	71	(32)
PRL-bGH	пролактин к.р.с.	СТГ к.р.с.	—”—		(25)
TF-bGH	мышинный трансферрин	СТГ человека	—”—		(25)
ALB-hGRF	мышинный альбумин	человеч. РФ-СТГ	геном./ кДНК	100	(25)
CMV-pGH	цитомегало-вирус	СТГ свиньи	кДНК		(6)
MT-hGRF	металлотионеиновый	человеч. РФ-СТГ	геномный		(23)
MT-hGRF	—”—	—”—	кДНК		(3)
MT-hIGRF-I	—”—	человеческий инсулиноподобный фактор роста	кДНК	29	(25)

Можно также предположить, что ответная реакция организма свиней на человеческий СТГ будет еще более значительной, по сравнению с СТГ крупного рогатого скота, т.к. из 191 аминокислоты, входящей в состав СТГ, различия между свиным СТГ и СТГ крупного рогатого скота наблюдаются в 18-ти позициях, а между свиным и человеческим — в 59 позициях. Кроме того, в подтверждение этого положения говорят результаты исследований (30), полученные при использовании конструкции, включающей последовательности гена свиного СТГ.

Свиньи с интегрированным геном свиного СТГ по интенсивности роста на 60 % превосходили контрольных животных, что является самым удачным вариантом трансгенных свиней с интегрированным геном СТГ.

К настоящему времени среди исследователей уже сложилось мнение, что основным недостатком использования гена СТГ для получения трансгенных животных является высокий неконтролируемый уровень СТГ в крови трансгенных животных на протяжении всего периода их жизни, который приводит к нарушению у них состояния здоровья. Эта неконтролируемость экспрессии трансгена по интенсивности и по времени обусловлена регуляторной частью генной конструкции.

В связи с тем, что в большинстве работ по получению трансгенных свиней (табл. 1) в качестве регуляторного участка был использован промотор металлотиионеинового гена мыши или человека, который не обладает строгой тканеспецифичностью, экспрессия трансгена у этих животных наблюдалась во многих тканях и органах. Так, у свиней, трансгенных по генам СТГ крупного рогатого скота или человека под металлотиионеиновым (МТ) промотором интенсивная экспрессия трансгена наблюдалась в печени, почках, поджелудочной железе и в других органах (25). Кроме того, одно из ведущих мест в активации деятельности МТ-промотора занимают соли тяжелых металлов, которые постоянно присутствуют в кормах, оказывая непрерывное стимулирующее влияние на экспрессию трансгена и поддержание высокого уровня СТГ в организме трансгенного животного.

Исходя из этого следует признать, что МТ-промотор является не совсем удачным регуляторным участком для гена СТГ, а конструкции типа МТ-СТГ не являются оптимальным вариантом для получения трансгенных свиней. Для получения полноценных здоровых свиней, трансгенных по гену СТГ, необходимы промоторы, которые обеспечивали бы строгую регуляцию экспрессии трансгена СТГ в течение 3–4 месяцев в период фазы быстрого роста у свиней. По-видимому, только в сочетании с такими промоторами ген свиного СТГ может быть успешно применен для получения полноценных трансгенных свиней, пока не решены проблемы направленной интеграции трансгена в геном хозяина и четкой регуляции его экспрессии.

Основываясь на фактах об отрицательном влиянии высокого уровня СТГ на организм свиней, были предприняты попытки создать умеренный уровень гормона роста в крови за счет интеграции в их геном гена рилизинг-фактора соматотропного гормона (РФ-СТГ), который должен усилить секрецию собственного СТГ гипофизом и, таким образом, устранить нежелательные последствия, связанные с чрезмерно высоким уровнем СТГ в организме трансгенных свиней (3, 26). Однако свиньи, трансгенные по РФ-СТГ, полученные этими группами исследователей, не отличались по интенсивности роста от контрольных животных (25). Концентрация СТГ в крови этих свиней находилась в пределах 11–16 нг/мл, несмотря на то, что концентрация РФ-СТГ в их крови была в 11–19 раз выше, чем у контрольных животных (26).

С целью изучения особенностей физиолого-биохимических процессов, происходящих в организме свиней, трансгенных по гену РФ-СТГ, нами была проведена серия экспериментов. Трансгенные животные были получены в результате хирургического осеменения свиней микродозами замороженно-оттаянного семени трансгенных хряков, полученных Бремом Г. в Мюнхенском университете. Для получения этих хряков была использована конструкция, состоящая из МТ-I промотора и синтетического фрагмента кДНК человеческого рилизинг-фактора соматотропного гормона (МТ-РФ-СТГ).

Анализ результатов этих экспериментов показал, что при 16 % протеина в рационе по интенсивности роста трансгенные свиньи не отличались от контрольных. Достоверно значимое отличие между трансгенными и нетрансгенными животными было отмечено по длине туши при достижении живой массы 100 кг ($99,6 \pm 1,3$ против $92,0 \pm 1,1$ см), что объясняется специфическим действием СТГ на рост хрящевой и костной ткани.

Исследования функционального состояния эндокринной системы показали, что уровень СТГ в крови трансгенных свиней был достоверно выше, чем у контрольных животных ($14,6 \pm 3,9$ против $4,3 \pm 3,2$ нг/мл). Однако этого уровня СТГ в крови оказалось явно недостаточно для существенных фенотипических проявлений. В исследованиях, проведенных на трансгенных мышах, было отмечено, что максимальный эффект СТГ на рост мышей наблюдался при содержании его в крови в 10 раз превышающем базальный уровень. Дальнейшее повышение уровня СТГ до $\times 1000$ раз не вызывало стимуляции роста мышей (21,10). Не исключено, что и для свиней концентрация СТГ в крови в пределах 40–50 нг/мл может оказаться оптимальной. Концентрация инсулина, тироксина и кортизола достоверно не отличалась в крови трансгенных и контрольных свиней. Принимая во внимание тот факт, что МТ-промотор активируется катионами тяжелых металлов, подопытным животным в течение 14-ти дней скармливали дополнительно к рациону по 1,5 г сернокислого цинка на голову в сутки с целью усиления экспрессии трансгена. Самым неожиданным в этом эксперименте оказалось снижение уровня СТГ в крови трансгенных животных после 14-дневного скармливания соли цинка. Возникает предположение, что этот факт обусловлен истощением соматотропцитов аденогипофиза в результате повышенной секреции рилизинг-фактора СТГ под влиянием длительного скармливания соли цинка. В связи с тем, что МТ-промотор позволяет трансгену экспрессировать во многих тканях организма животного, создавая высокую концентрацию РФ-СТГ в крови, мощное действие которого направлено на небольшое число соматотропцитов аденогипофиза, в этих клетках наступает истощение, т.к. возможности их, по-видимому, не безграничны, кроме того они постоянно находятся под повышенной нагрузкой. Небольшим числом клеток соматотропцитов в аденогипофизе, которые являются основным объектом действия РФ-СТГ, по всей вероятности и обусловлен невысокий уровень СТГ в крови свиней, трансгенных по гену РФ-СТГ.

Гистологические исследования гипофиза у свиней, трансгенных по гену РФ-СТГ, подтверждают это предположение. У опытных животных соотношение типов клеток в гипофизе не изменяется по сравнению с контролем. Однако усиливается кровоток и увеличиваются размеры клеток и ядер, т.е. наблюдается гипертрофия клеток и отсутствует гиперплазия. Характерной особенностью гипофиза трансгенных свиней является формирование клеточных ацинусов, в середине которых расположен ШИК-положительный материал, так называемый "коллоид".

Гистологические исследования основных органов трансгенных свиней свидетельствуют об усилении функциональной активности клеток печени и основных желез внутренней секреции. Из наиболее интересных находок следует отметить увеличение числа и размеров островков Лангерганса у трансгенных свиней в 2–3 раза по сравнению с контрольными животными. Каких-либо патологических изменений в органах свиней, трансгенных по гену РФ-СТГ, не обнаружено.

Таким образом, вышеизложенное дает основание заключить, что использование одного гена РФ-СТГ, без сочетания с другими генами, для получения трансгенных свиней с повышенной продуктивностью не является обнадеживающим вариантом.

Принимая во внимание тот факт, что трансгенные животные, полученные при использовании генно-инженерных конструкций, включающих последовательности структурных генов СТГ и РФ-СТГ, имеют существенные недостатки и не проявляют желаемых качеств, возникает предположение о целесообразности использования для получения трансгенных свиней гена инсулиноподобного фактора роста, т.к. воздействие на организм животных через конечное звено соматотропного каскада представляется наиболее коротким и надежным, которое должно исключить нежелательные побочные эффекты, возникающие при чрезмерном повышении уровня СТГ. Как известно, основные соматомедины представлены двумя классами соединений — ИПФР-I и ИПФР-II. Принято считать, что ИПФР-II является биологически активным главным образом в пренатальный период развития, а ИПФР-I — в постнатальный, поэтому в нашем сообщении основное внимание будет уделено ИПФР-I, как основному соматомедину, действующему в организме животного после рождения. Исследования, проведенные в последние годы *in vitro* и *in vivo* по изучению роли ИПФР-I в организме животных, свидетельствуют о том, что ИПФР-I является сильным митогеном, посредством которого СТГ вызывает пролиферацию хондроцитов и тем самым усиливает линейный рост костей (14), а также повышает пролиферацию сателлитных клеток в скелетной мышце (1), которая обуславливает постнатальный рост скелетной мускулатуры, т.е. посредством повышения уровня ИПФР-I СТГ влияет на две основные составляющие соматического роста животного — рост костей и скелетных мышц.

Кроме того, вопреки сложившемуся мнению о том, что печень является основным источником циркулирующего ИПФР-I, который эндокринным путем влияет на рост и дифференциацию других тканей, исследования последних лет, проведенные с использованием гибридизации *in situ* и гистохимических методов, показали, что иРНК ИПФР-I локализована в соединительной ткани или клетках мезенхимного происхождения в 14 органах человека, и позволили сделать предположение, что во многих тканях, включая растущий хрящ и мышцы, локально продуцируемый ИПФР-I может действовать через аутокринные и/или паракринные механизмы, хотя значение этих механизмов действия ИПФР-I пока оценить невозможно (12, 15). Аналогичные результаты были получены и на крысах, у которых иРНК ИПФР-I была обнаружена во многих органах (19). Однако во всех этих исследованиях было отмечено, что локальный синтез ИПФР-I в различных тканях регулируется соматотропным гормоном. Значение того факта, что соматогенные эффекты СТГ опосредуются через ИПФР-I, привело к экспериментам по выяснению влияния экзогенного ИПФР-I на показатели роста животных. Эксперименты с нормальными и гипофизэктомизированными крысами показали, что экзогенный ИПФР-I усиливает их рост (28). Была рассмотрена возможность обработки свиней экзогенным ИПФР-I в качестве альтернативного средства усиления их роста. К настоящему времени нет сообщений об исследованиях, в которых свиней обрабатывали бы экзогенным ИПФР-I более 3-х дней, а этот срок слишком мал для определения эффекта ИПФР-I на организм животных. Однако некоторые стороны механизмов действия СТГ и ИПФР-I наводят на мысль о том, что в то время как экзогенный ИПФР-I может повышать показатели роста у свиней, он не сможет оказывать существенного влияния на жировую ткань, т.к. исследования последних лет показали, что в отличие от других тканей действие СТГ на жировую ткань является прямым, а не опосредованным через ИПФР-I (7,29). И если СТГ оказывает на жировую ткань липолитический эффект, то ИПФР-I действует на эту ткань подобно инсулину, т.е. вызывает в ней липогенное действие, а это будет оказывать влияние на прирост жировой ткани и на состав туши.

Кроме того, недавно стало известно, что ИПФР-I в плазме крови человека циркулирует связанным с транспортными белками (ИПФР-I-ТБ) (13). В крови свиней также не удалось обнаружить свободного иммунореактивного ИПФР-I (31). По данным этих авторов (31) до 80 % ИПФР-I связано с белком массой 150 кДа, а остальной — с белком массой 40 кДа. Введение свиньям свободного ИПФР-I приводило в его быстрой элиминации из кровеносного русла (время полужизни около 6 мин.). Исследования, направленные на выяснение механизма регуляции биосинтеза основного транспортного белка ИПФР-I показали, что этот синтез регулируется СТГ, а не ИПФР-I (31). Если учесть тот факт, что повышение уровня ИПФР-I в крови животных, по принципу обратной связи вызывает снижение уровня СТГ, которое, в свою очередь, влечет за собой снижение синтеза транспортного белка ИПФР-I, то можно предположить, что введение свиньям экзогенного свободного ИПФР-I не окажет на организм животных существенного соматогенного эффекта. Но выдвинутые предположения требуют экспериментального подтверждения. С появлением возможности получения трансгенных животных с интегрированным и экспрессирующим геном ИПФР-I прояснились некоторые стороны механизма действия ИПФР-I и его взаимоотношения с СТГ. Исследования на мышах, трансгенных по гену ИПФР-I человека, показали, что экспрессия трансгена приводила к снижению уровня СТГ в крови и гипофизе. Это снижение уровня СТГ привело к снижению уровня собственного мышечного ИПФР, что свидетельствует об участии ИПФР-I в регуляции экспрессии гена СТГ по принципу обратной связи (17). Также было отмечено, что у мышей, трансгенных по ИПФР, экспрессия трансгена происходила на высоком уровне в тканях печени, поджелудочной железы и почках. Однако содержание ИПФР-I в крови было повышено всего только на 50 % по сравнению с контролем, тогда как у мышей, трансгенных по гену СТГ, концентрация ИПФР-I была повышена в 2 раза (22,10). Кроме того, у мышей, трансгенных по гену СТГ, в гипоталамусе было отмечено повышенное содержание соматостатина, чего не было отмечено у животных, трансгенных по гену ИПФР-I (18).

Изучение динамики живой массы мышей, трансгенных по гену ИПФР-I, показало, что конечная живая масса взрослых мышей с экспрессирующим геном ИПФР-I была только в 1,3 раза выше, чем в контроле (17), т.е. значительно ниже, чем у мышей, трансгенных по гену СТГ (21,10). Эти различия в росте могут быть обусловлены более низкими уровнями циркулирующих СТГ и ИПФР-I у мышей, трансгенных по гену ИПФР-I. Кроме того авторы исследований (21,17) большое значение отводят времени начала быстрого роста у трансгенных мышей. В обоих этих экспериментах повышенные уровни соответствующих гормонов были отмечены у трансгенных мышей сразу после рождения, однако различия в интенсивности роста между опытными и контрольными животными начали проявляться через 3 недели у мышей, трансгенных по СТГ, и через 5–6 недель — у мышей, трансгенных по ИПФР-I. При этом у мышей, трансгенных по гену ИПФР-I не было обнаружено признаков усиления роста скелета в течение 10-дневного периода (18), несмотря на то, что с помощью экзогенного ИПФР удается индуцировать рост костей у гипофизэктомированных крыс (9) и карликовых крыс (27). Изучение влияния экспрессии трансгена ИПФР на внутренние органы мышей не выявило каких-либо патологических изменений (18).

Информация, полученная на мышах, трансгенных по СТГ и ИПФР-I, свидетельствует о том, что ИПФР-I является конечным звеном соматотропного каскада, он не может полностью воспроизвести действие СТГ как на метаболические процессы, так и ростовые. По-видимому, наиболее вероятное объяснение взаимодействию СТГ и ИПФР-I дает теория двойного эффекта (8,14), согласно которой СТГ и ИПФР-I действуют сообща для стимуляции роста, но при этом СТГ

стимулирует дифференциацию клеток-предшественников, а ИПФР-I индуцирует их последующую клональную экспансию. Анализ результатов исследований, направленных на выяснение взаимоотношений между СТГ и ИПФР-I и влияния их повышенных уровней на организм животных (табл. 2) позволяет предположить, что для получения здоровых, полноценных трансгенных свиней со сниженным отложением жира и повышенной мясностью туши целесообразно интегрировать в геном свиней не один какой-то ген соматотропного каскада, а два — ИПФР-I и РФ-СТГ. Это предположение базируется на следующих фактах. Повышенный уровень ИПФР-I усиливает рост мышечной ткани у животных, не вызывая при этом ухудшения состояния здоровья и плодовитости, что является эффектом, желательным для селекции. Однако повышение уровня ИПФР-I вызывает снижение уровня СТГ, что свою очередь приводит к торможению синтеза транспортного белка ИПФР-I и тем самым снижает эффективность действия повышенного уровня ИПФР на ростовые процессы. Кроме того снижение уровня СТГ приводит к снижению интенсивности липолиза, а повышенный уровень ИПФР-I и пониженный — СТГ повысят интенсивность липогенеза, что является нежелательным признаком в селекции свиней. Исходя из этих рассуждений следует предположить, что интеграция в геном свиней, трансгенных по ИПФР-I, дополнительного гена РФ-СТГ позволит повысить уровень СТГ и тем самым в определенной степени устранить те нежелательные последствия, которые вызывает понижение уровня СТГ у свиней, трансгенных по гену ИПФР-I.

Таблица 2

Оценка эффектов, вызываемых у животных повышенными уровнями гормонов соматотропного каскада, с позиций создания генных конструкций для ускорения селекционного процесса

Гормон	Эффекты	
	Положительное	Отрицательное
СТГ	<ul style="list-style-type: none"> –повышение среднесуточного прироста живой массы; –снижение отложения жира в туше; –<u>увеличение мясности туши;</u> –повышение уровня ИПФР-1; –инициация синтеза транспортных белков ИПФР-1; –прямое влияние на жировую ткань; –усиление липолиза и снижение липогенеза; –повышение интенсивности синтеза белка в мышцах; –повышение эффективности использования аминокислот и глюкозы на синтез белков 	<ul style="list-style-type: none"> –ухудшение состояния здоровья; –снижение плодовитости; –снижение продолжительности жизни
РФ-СТГ	<ul style="list-style-type: none"> –невысокий уровень СТГ 	<ul style="list-style-type: none"> –недостаточно высокий уровень СТГ у трансгенных животных
ИПФР-1	<ul style="list-style-type: none"> –повышает интенсивность роста; –поддерживает рост скелетных мышц и хрящей; –не вызывает патологических изменений в органах и не снижает продолжительности жизни; 	<ul style="list-style-type: none"> –не поддерживает липолиз; –поддерживает липогенез; –снижает уровень СТГ и экспрессию собственных иРНК

	<p><u>–не снижает плодовитость;</u> не повышает уровня соматостатина; –усиливает синтез белка в мышцах</p>	
--	--	--

В настоящее время, когда исследователи располагают многочисленным поголовьем свиней, трансгенных по гену человеческого РФ-СТГ, просматриваются два возможных пути получения полигенных свиней с интегрированными генами РФ-СТГ и ИПФР-I: 1. путем микроинъекций генной конструкции МТ-ИПФР-I в зиготы получить свиней, трансгенных по гену ИПФР-I, затем получить от них потомство, гомозиготное по гену ИПФР-I, и скрестить его с имеющимися свиньями, гомозиготными по гену чРФ-СТГ; 2. использовать в качестве доноров зигот, предназначенных для микроинъекции конструкции МТ-ИПФР-I, свиней, гомозиготных по гену чРФ-СТГ; с меньшим эффектом могут быть использованы и свиньи, полузиготные по гену чРФ-СТГ.

Исходя из результатов исследований, свидетельствующих о том, что иРНК ИПФР-I локализуется в клетках многих тканей (12), включая сателлитные клетки скелетных мышц и даже мышечные волокна регенерирующей мышцы (16), следует 3. предположить, что для получения свиней, трансгенных по гену ИПФР-I, целесообразно использовать конструкцию с МТ-промотором, который не обладает строгой тканевой специфичностью и будет поддерживать экспрессию трансгена во многих тканях.

Таким образом, в данной работе рассмотрен только вопрос о возможности использования генов соматотропинового каскада для получения свиней с заданным потенциалом продуктивности и качеством продукции и не затрагиваются другие пути повышения продуктивности и качества продукции.

Анализ результатов исследований, полученных в экспериментах с введением обычным свиньям СТГ различных видов животных и на свиньях, трансгенных по генам соматотропинового каскада, позволяет заключить следующее. Повышенный уровень СТГ в организме свиней вызывает изменение метаболических процессов в сторону снижения отложения жира и увеличения отложения белка в теле. Основным недостатком использования гена СТГ для получения трансгенных свиней является высокий неконтролируемый уровень СТГ в организме трансгенных животных на протяжении всего периода их жизни, который и приводит к нарушению у них состояния здоровья. Эта неконтролируемость экспрессии трансгена по интенсивности и по времени обусловлена регуляторной частью генной конструкции. В связи с тем, что наиболее часто используемый в сочетании с геном СТГ МТ-промотор не обладает строгой тканевой специфичностью и активируется солями тяжелых металлов, которые постоянно присутствуют в кормах, оказывая непрерывное стимулирующее влияние на экспрессию трансгена, следует признать, что МТ-промотор является не совсем удачным регуляторным участком для гена СТГ, а конструкция типа МТ-СТГ не является оптимальным вариантом для получения трансгенных свиней. Пока не решены проблемы направленной интеграции трансгена в геном хозяина и четкой регуляции его экспрессии, для получения полноценных здоровых свиней с интегрированным дополнительным геном СТГ необходимы промоторы, которые обеспечивали бы строгую экспрессию трансгена СТГ в течение определенного периода фазы быстрого роста. При этом следует учитывать, что для получения трансгенных животных наиболее целесообразно использовать гомологичный ген СТГ, т.к. на СТГ гетерологичных видов может быть реакция со стороны иммунной системы. Использование для получения трансгенных животных с

повышенной продуктивностью одного гена РФ-СТГ, без сочетания с другими генами, не является обнадеживающим вариантом, т.к. действие РФ-СТГ направлено только на небольшое число соматотропоцитов аденогипофиза, которые не могут обеспечить постоянный повышенный уровень СТГ в организме свиней, достаточный для достижения необходимых фенотипических эффектов.

Анализ результатов исследований, направленных на выяснение взаимоотношений между гормонами соматотропинового каскада и влиянием их повышенных уровней на организм животных, позволяет предположить, что для получения здоровых, полноценных трансгенных свиней со сниженным отложением жира и повышенной мясностью туш целесообразно интегрировать в геном свиней не один какой-то ген соматотропинового каскада, а два — гены ИПФР-I и РФ-СТГ, т.к. несмотря на то, что ИПФР-I является конечным звеном соматотропинового каскада, он не может полностью воспроизвести действие СТГ как на метаболические процессы, так и на ростовые. Поэтому интеграция в геном свиней, трансгенных по ИПФР-I, дополнительного гена РФ-СТГ позволит повысить уровень СТГ и тем самым создать наиболее оптимальные условия для действия ИПФР-I.

Литература

1. Allen R.E. In: *Designing Foods*. Wash.: Nat.Acad.Press, 1988: 142-162.
2. Brem G. et al. *Zuchthygiene*, 1985, 20: 251-252.
3. Brem G. et al. *Occ.Publ.Br.Soc.Anim.Prod.*, 1989,12: 15-31.
4. Bunger L. et al. *Genet.Prol.Tierzucht*, 1989, 20:84-94.
5. Carlson C.S. et al. *Am.J.Vet.Res.*, 1988, 49: 396-402.
6. Ebert K.M. et al. *Molek.Endokrinol.*, 1988, 2: 277-283.
7. Etherton T.D. et al. *J.Anim.Sci.*, 1987, 64: 433-443.
8. Green H. et al. *Differentiation*, 1985, 29: 195.
9. Guler H.P. et al. *Proc.Nat.Acad.Sci.USA*, 85: 4889.
10. Hammer R.E. et al. *Nature*, 1985, 315: 680.
11. Hammer R.E. et al. *J.Anim.Sci.*, 1986, 63: 269-278.
12. Han H. et al. *Dom.Anim.Endocrinol.*, 1987, 4: 183.
13. Hintz R.L. et al. *Endocrinol.*, 1974, 94: A 71.
14. Isaksson D. et al. *End.Rev.*, 1987, 8: 426.
15. Isgaard I. et al. *Endocrinol.*, 1988, 122: 1515-1520.
16. Jenische L. et al. *Horm.Res.*, 1987, 24: 121.
17. Mathews L.S. et al. *Endocrinol.*, 1988, 123: 2827.
18. Mathews L.S. et al. *Endocrinol.*, 1988, 123: 433.
19. Murphy W.R. *Endocrinol.*, 1987, 120: 1279-1282.
20. O'Brien I.I. In: *Diseases of swine* (eds. Leman A. et al.), 1986, 6: 725-737.
21. Palmiter R.D. et al. *Nature*, 1982, 300: 611-615.
22. Palmiter R.D. et al. *Science*, 1983, 222: 809.
23. Pinkert G. et al. *Genes Devel.*, 1987, 1: 268-276.
24. Pursel V.G. et al. *J.Anim.Sci.*, 1988, 66 (Suppl.): 267.
25. Pursel V.G. et al. *Science*, 1989, 244: 1281-1288.
26. Pursel V.G. et al. *J.Reprod.Fert.*, 1990, 40 (Suppl.): 235-245.
27. Skottner A. et al. *Endocrinol.*, 1989, 124: 2519.
28. Tavakkol A.F. *Mol.Endocrinol.*, 1988, 2: 674-681.
29. Vernon R.C. *J.Biochem.*, 1982, 14: 255-258.
30. Vize P.D. et al. *J.Cell Sci.*, 1988, 90: 295-300.
31. Walton P.E. et al. *J.Endocrinol.*, 1988, 114: 123-132.
32. Wieghart M.J. et al. *J.Anim.Sci.*, 1988, 66 (Suppl.): 266.

Перспективы трансгенеза сельскохозяйственных животных: модификация состава молока и получение фармакологически активных белков

В.Г.Шевченко

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания
сельскохозяйственных животных,
Боровск, Россия*

Одной из основных задач в области молочного животноводства является получение высокопродуктивных животных, дающих молоко с большим содержанием белка, обладающего хорошими технологическими качествами. Однако селекционная работа, базирующаяся в настоящее время на классических подходах, дает для высокопродуктивных животных селекционный эффект, составляющий в лучшем случае 1–3 % за год, что не может удовлетворять потребности сегодняшнего дня. Во многом это объясняется отсутствием разработанных молекулярно-генетических основ селекции, отсутствием необходимого количества простых и точных способов идентификации генотипов животных, что в свою очередь не позволяет вести генетический мониторинг, например, на основе зоомаркерного анализа. Последнее безусловно сказывается на эффективности селекции и ускорении создания высокопродуктивных животных.

Достижения молекулярной генетики, клеточной инженерии, впечатляющее развитие арсенала биотехнологических методов, позволяющих проводить идентификацию генотипа по набору аллельных форм генов, проводить картирование геномов животных, клонировать отдельные гены и вводить их в геном реципиентов, открыли принципиально новые возможности для ускорения темпов селекционного процесса и ведения селекции на генетическом уровне.

Поэтому представляется своевременным обсудить возможности использования в животноводстве биотехнологических методов, в частности, перспективы трансгенеза в молочном животноводстве. Конечной целью работ по геной инженерии с животноводстве является создание уникальных племенных животных с заданным потенциалом продуктивности, качеством продукции и повышенной устойчивостью к вирусным инфекциям (1). В этой связи исследования по трансгенезу в животноводстве развиваются в основном по следующим направлениям:

1. Повышение продуктивности и улучшение качества продукции животных путем интеграции в их геном дополнительных копий собственных или аналогичных чужеродных генов;
2. Повышение устойчивости к инфекционным заболеваниям и стресс-факторам за счет введения генов, определяющих резистентность к некоторым вирусным инфекциям, или генов антител, или антисмысловых РНК;
3. Получение важнейших белков биомедицинского назначения путем интеграции целевых генов под специфическими регуляторными последовательностями, обуславливающими высокую экспрессию данного гена в мишеневых органах и тканях, в частности в молочной железе.

Разработка первого из этих направлений была начата ранее других и главным образом была посвящена выяснению возможности переноса генов соматотропинового каскада (GH, GHRF, IGF и SRIF). Из обобщающего анализа результатов этих работ следует, что во многих экспериментах зарегистрировано повышение экспрессии трансгена и, как следствие, ускорение роста и увеличение массы тела животных (2, 3, 4). Вместе с тем нередки случаи экспрессии трансгенов без

проявления фенотипического эффекта (5,6). Более того, часто отмечались неблагоприятные побочные явления: у животных развивалась акромегалия, склонность к артритам и потеря воспроизводительной функции. Все это свидетельствует о том, что реальный эффект от применения биотехнологических методов для изменения количественных признаков животных, имеющих полигенную природу, все еще мал. И таковым, видимо, останется, если не будет получена информация о том, какие гены являются главными при становлении и развитии признаков продуктивности и какие гены следует переносить.

Очевидно, что для успешного использования трансгенных технологий с целью изменения роста и состава тканей животных потребуется получение политрансгенных животных посредством осуществления многосупенчатой трансгенции, вероятно, еще не охарактеризованных и неклонированных генов. Возможно, этому поспособствует ускоренное развитие исследований по картированию геномов сельскохозяйственных животных и выявлению ассоциаций последовательностей ДНК с признаками продуктивности.

Вероятно, этим объясняется, что интерес большинства исследователей переключился на работу с генами, которые определяют относительно независимые морфофункциональные признаки животного, такие например, как продукция белков молока животных. В этом плане одним из перспективных направлений трансгенной технологии с.-х. животных представляется получение особей с измененным составом молока. При этом исходили из предпосылки, что состав молока, особенно содержание белка в молоке, является признаком, который напрямую контролируется экспрессией генов. И в обстоятельствах, когда продукция ограничивается количеством мРНК, ожидается, что пересадка дополнительного гена приведет к экспрессии дополнительных мРНК и, следовательно, к увеличению продукции целевого молочного белка. Если последний синтезируется на низком уровне, то регуляторные элементы высокоэкспрессируемого гена могут быть подставлены под кодирующие последовательности малопродуцируемого лактопротеина для усиления его синтеза.

Гены основных белков молока: $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ -, β - и κ -казеинов локализованы в 6-й хромосоме в виде кластера в группе сцепления U15. Лocus β -лактоглобулина включен в группу U16, проявляя слабое сцепление с U15. Лocus α -лактальбумина включен в группу U3. Биосинтез белков молока и лактозы, а также липидов осуществляется в клетках альвеолярного эпителия молочной железы. Синтезируемые на полисомах шероховатого эндоплазматического ретикулума предшественники белков депонируются в агрегируемой форме в секреторных везикулах и освобождаются из них путем экзоцитоза в протоки под действием гормональных стимулов. Нормальный уровень индивидуальных белков в молоке поддерживается за счет равновесия между казеинами и β -лактоглобулином: снижение одного из этих лактопротеинов вызывает компенсаторное увеличение другого путем накопления в клетке его более продуктивных полиморфных аллелей (7). Синтез молочного белка и жира, в свою очередь, плеiotропно связан с синтезом лактозы по принципу обратной связи.

Альфа-лактальбумин, выполняя трофическую функцию, участвует также в синтезе лактозы — дисахарида, состоящего из галактозы и глюкозы. В молочной железе α -лактальбумин специфически повышает сродство галактозилтрансферазы к глюкозе и в результате последняя использует в качестве второго субстрата реакции (первый — УДФ-галактоза) не N-ацетилглюкозамин, как в других тканях, не содержащих α -лактальбумин, а глюкозу, образуя лактозу. Последняя, как осмотически активное вещество, регулирует объем воды в молоке, определяя объемную величину удоя.

Казеины, относящиеся к фосфопротеинам, составляют около 80 % от всех лактопротеинов молока. Распределение полярных и неполярных аминокислот в каждом казеине имеет тенденцию к асимметрии, что способствует образованию молекул с гидрофобно-гидрофильной полярностью, придающей казеинам отличные функциональные свойства эмульгаторов (8). Вместе с тем серилфосфатные группы $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ - и β -казеинов (соответственно, 8, 11 и 5 на мономер) ассоциируют в молоке с комплексами фосфата кальция, образуя агрегаты. Приблизительно 500 таких агрегатов, стабилизируясь в коллоидной суспензии за счет поверхностного покрытия к-казеином, образуют казеиновые мицеллы сферической формы диаметром около 10^{-5} см.

Каппа-казеин, который составляет 15–20 % от общей массы казеинов, имеет в своей полипептидной цепи только один фосфосерин и потому растворим в среде с высокой концентрацией кальция. Предполагается, что гидрофильная часть к-казеина, содержащая СООН-группы, образует гидратную оболочку мицеллы, удерживая ее тем самым в растворе, препятствуя дальнейшей агрегации, тогда как гидрофобная часть взаимодействует с другими казеинами. В построении мицеллы участвует около 7–8 тыс. полипептидных цепей казеинов (9). Величина мицелл во многом зависит от концентрации Ca^{++} и к-казеина в молочной сыворотке. В свою очередь величина мицелл определяет стабильность коллоидной системы молока. Чем меньше мицеллы, тем устойчивее молоко при тепловой обработке, при этом уменьшается опасность желатинизации в процессе пастеризации.

Наряду с этим, будучи фосфогликопротеином, к-казеин атакуется протеазами, в частности, реннином. Фермент отщепляет гидрофильную углеводсодержащую часть — гликомакропептид, в результате оставшаяся гидрофобная и чувствительная к ионам кальция часть — пара-к-казеин теряет свойства защитного коллоида, что ведет к преципитации мицелл. Это свойство молока используется при приготовлении сыров. Более того, было установлено, что в В-форме к-казеина замена в 134 и 148 положениях цепи аминокислот треонина и аспарагина на метионин и аланин соответственно приводит к увеличению числа центров протеолиза, сокращая таким образом время обработки сычужным ферментом и увеличивая плотность образующегося сгустка свернувшегося молока из-за усиления взаимодействия между гидрофобными казеинами и ионами Ca^{++} (10).

Таким образом, казеинатную систему молока представляют как систему белковых субмицеллярных частиц, ассоциирующих в присутствии фосфата кальция до образования крупных мицелл, стабилизированных по поверхности к-казеином. Чем выше молярное содержание к-казеина в молоке, тем меньше размер мицелл и тем стабильнее коллоидно-казеиновая система молока. А в определении технологических характеристик молока важную роль играет именно физическая стабильность коллоидной мицеллы казеина.

Вышеописанные свойства молока навели исследователей на мысль попытаться изменить существующие молярные соотношения лактопротеинов в молоке животных путем дополнительного введения собственных генов. Более того, селекционной генетикой доказано, что повышенные удои связаны с аллелями А β -лактоглобулина, В $\alpha 1$ -казеина, А1 и А2 β -казеина и А к-казеина, а белкомолочность и содержание жира — с носительством генов В β -лактоглобулина, С $\alpha 1$ -казеина, В и С β -казеина и В к-казеина (7). Поэтому можно предположить, что введением тех или иных комбинаций аллельных форм генов можно будет добиться направленного изменения качества молочной продукции.

Впервые идея получения трансгенных животных, продуцирующих дополнительные лактопротеины, была практически реализована, когда ген β -лактоглобулина овцы, работающий только в молочной железе

жвачных, был интегрирован в геном мышцы, которая обычно не синтезирует этот сывороточный протеин молока. И в молоке наиболее интенсивно экспрессирующей мышцы был зарегистрирован β -лактоглобулин в концентрации 23 мг/мл, что в 5 раз превышало его концентрацию у контрольной овцы (11). В более поздних работах было также продемонстрировано, что ген кислого белка сывотки молока мышцы (WAP), который найден только у грызунов, при переносе в геном овцы и свиней экспрессируется в их молочных железах с уровнем белка до 3 % от общего уровня протеина (12).

В настоящее время выделены и клонированы практически все гены основных белков молока и начаты работы по получению трансгенных животных с желательными технологическими свойствами молока. Наиболее детально охарактеризованы следующие гены и их промоторно-регуляторные последовательности, способные вызывать экспрессию чужеродных белков в молочной железе: ген овечьего β -лактоглобулина; бычьего α s1-казеина; кроличьего, крысиного и бычьего β -казеина; мышинного, крысиного кислого сывороточного белка. Вероятно это объясняется тем, что продукция именно этих генов составляет более 80 % протеинов молока. Однако, необходимо помнить, что несколько казеиновых генов расположены одним кластером и что в дополнение к регуляторным элементам каждого казеина перед кластером, возможно, имеются элементы, необходимые как раз для высокой экспрессии всего комплекса. Возможно поэтому эдинбургская группа исследователей акцентировала свое внимание на β -лактоглобулине овцы (13). Выделенный ими ген β -лактоглобулина имел 7 экзонов, а все цис-активные последовательности, которые необходимы для тканеспецифичной экспрессии гена на высоком уровне, находятся в пределах 0,8 кб от 5'-конца (14).

Длина гена β -казеина составляет 7,5 кб и имеет 9 экзонов, первый и последний из которых не кодирующие (15). Интересно отметить, что уровень мРНК β -казеина в середине беременности повышается быстрее, чем мРНК других белков и такое положение сохраняется в течение всей беременности у большинства видов млекопитающих. Последнее указывает, что в дополнение к механизмам, стимулирующим деление клеток и развитие молочной железы, существуют и другие механизмы, регулирующие экспрессию индивидуальных генов молочных протеинов. Тем самым подтверждаются представления, что контроль синтеза белков в молочной железе характеризуется высокой комплексностью и включает в себя взаимодействие между клетками, внеклеточным матриксом и факторами, индуцируемыми различными гормонами (15,16).

Вышеизложенная стратегия трансгенеза, а также физико-химические и функциональные свойства отдельных компонентов молока определили тактические подходы к изменению в желаемом направлении свойств молока. Так, для обеспечения термостойкости молока разрабатывается программа по введению в геном дополнительных копий гена κ -казеина, что должно привести к повышению молярных соотношений κ -казеина к β -лактоглобулину, стабилизируя мицеллы и повышая их устойчивость при нагревании (17). С целью улучшения сыродельческих качеств молока предлагается вводить в геном молочных животных «В» формы κ -казеина и β -казеина с целью увеличения количества центров протеолиза казеиновых мицелл (18). Другой задачей, связанной с переработкой и хранением молока, является получение устойчивого к нагреванию молока, содержащего термостабильный лизоцим, для чего рекомендуется интегрировать в геном А-вариант гена κ -казеина и ген лизоцима (17).

Рассматривается теоретическая возможность получения безлактозного молока, которое необходимо для питания детей, страдающих наследственной непереносимостью лактозы, а также взрослых людей с "лактозной интолерантностью", т.е. дефицитом β -

галактозидазы (21,22). Это могло бы быть достигнуто либо введением гена β -галактозидазы или мутацией гена α -лактальбумина, либо блокированием синтеза последнего за счет введения стоп-кодона или генов антисмыслов РНК. Однако при этом необходимо учитывать вероятность того, что ингибирование синтеза лактозы может привести к аккумуляции ее предшественников и уменьшению объема секретируемого молока.

Таким образом, если модификацию молярных соотношений различных белков молока рассчитывают получить введением дополнительных копий соответствующих генов под контролем промоторно-энхансерных последовательностей высокоэкспрессирующих генов, то исключить образование отдельных компонентов молока планируют путем подавления работы целевых генов при помощи стоп-кодонов или специфических генов антисмысловых РНК для блокирования трансляции. Так, изучается возможность генетического подавления синтеза β -лактоглобулина, что может сопровождаться повышением продукции казеинов (20). В другой программе рассматривается возможность блокирования синтеза КоА-карбоксилазы в молочной железе с целью переключения энергетического потока с синтеза жира на синтез белка (21).

Несмотря на то, что эти подходы могут найти потенциальное применение, получение сельскохозяйственных животных с уменьшенными признаками молочной продуктивности все еще остается перспективой далеко не ближайшего будущего. Методы пересадки генов у сельскохозяйственных животных чрезвычайно дорогостоящи, а их эффективность остается очень низкой. Экономические ограничения наряду с методическими и теоретическими трудностями сдерживают интенсивное развитие исследований в этом плане.

В настоящее время инвестиции направляются в краткосрочные программы с высокоэффективной отдачей и быстрой окупаемостью. И такие программы могут быть связаны с получением животных — продуцентов высокоценных терапевтических белков в молоке. Возможность получения с молоком фармакологических веществ принципиально не отличается от вышеизложенных подходов, поскольку механизм тканеспецифической экспрессии в этом случае также определяется регуляторными последовательностями высокоэкспрессирующих генов белков молока. Только при этом в качестве целевого гена используются нуклеотидные последовательности, кодирующие биомедицинские белки. Впервые такой подход для получения биологически активных веществ был предложен более десяти лет назад (23).

Среди белков, имеющих терапевтическое значение, наибольшее внимание привлекают: фактор IX свертываемости крови, тканевой плазминогенный активатор, интерлейкин-2 человека, α -1-антитрипсин, эритропоэтин и др. Получение белков этого класса с использованием рекомбинантных прокариот в ряде случаев принципиально невозможно из-за неспособности бактерий осуществлять сложные посттрансляционные модификации синтезируемых белков: гликозилирование, β -гидроксилирование и γ -карбоксилирование, амидирование и другие модификационные трансформации полипептидной цепи, которые в совокупности обеспечивают их функциональную активность (24). Кроме того, использование этих препаратов в качестве лечебных средств ограничивается нежелательными примесями микробных белков.

В отличие от микроорганизмов, культуры клеток ткани млекопитающих в своем большинстве содержат ферментативные системы для модификации рассматриваемых белков, но при этом, поскольку требуется получение больших количеств белка, необходимо решать технически сложные и дорогостоящие задачи, связанные с

работой ферментеров для культуры клеток, а также с последующим выделением и очисткой необходимых биологически активных веществ.

Получение биологически активных белков от трансгенных животных может рассматриваться как альтернатива системам культивирования клеток или их традиционного получения из ткани и крови человека. В первом случае гарантируется экологическая чистота самих препаратов и экологическая чистота производства, которое практически сводится к эксплуатации животных-продуцентов. Здесь имеется в виду, что получение препаратов из крови не гарантирует их от заражения вирусами СПИД, гепатита и пр. Привлекательным является доступность биологически активных веществ в полученном молоке, высокая продуктивная способность молочной железы, относительно низкие рабочие затраты в случае удачного получения трансгенных животных и, наконец, потенциальная возможность ускоренного размножения животных-производителей с помощью новейших биотехнологических методов.

Работы по проблеме получения фармакологических белков успешно ведутся за рубежом как на лабораторных, так и на сельскохозяйственных животных. Так, в одной из работ, где использовали генную конструкцию, состоящую из 5'-фланкирующих последовательностей гена β -казеина кролика и структурного гена интерлейкина-2 человека, были получены кролики, секретирующие с молоком активную форму этого белка (25). В других исследованиях при использовании кДНК последовательности, кодирующей тканевый плазминогенный активатор человека, под WAP-промотором получены 4 трансгенные линии мышей, которые продуцировали биологически активный белок с концентрацией 50 мкг/л молока. Генная конструкция, содержащая промоторную область β -лактоглобулина овцы и кДНК фактора IX свертываемости крови человека, была интегрирована в геном двух овец с экспрессией 25 мг/мл молока фактора IX (26). Эффект экспрессии аналогичной конструкции, но содержащей кДНК α -1-антитрипсина, был выше, чем фактора IX свертываемости крови и достигал у мышей 7 мг/мл молока (27). При введении конструкции кДНК С-белка человека под контролем WAP-промотора мыши трансгенные лактирующие свиньи продуцировали до 1 г/л биологически активного С-белка человека, что делает уже коммерчески выгодным получение С-белка из молока свиньи (28).

Экстраординарно высокие уровни α -1-антитрипсина человека были отмечены у четырех трансгенных овец, которым была интегрирована конструкция, содержащая геномную последовательность α -1-антитрипсина человека под промотором β -лактоглобулина овцы (29). Концентрация антитрипсина на 7-й неделе лактации варьировала в пределах от 1,5 до 37,5 г/л молока овец. Несмотря на высокие уровни чужеродного белка, овцы были практически здоровы и имели нормальную продолжительность лактации и, что удивительно, уровень антитрипсина у одной из них составлял более половины всех белков молока.

Достигнутый уровень экспрессии геномной ДНК α -1-антитрипсина в этой работе резко контрастировал с ранее полученными данными в исследованиях, где использовались конструкции, содержащие кДНК антитрипсина или IX фактора свертываемости крови (26, 27). Вероятно, ключевым фактором, ответственным за высокий уровень экспрессии трансгена, явилось использование геномной ДНК структурного гена взамен кДНК в прежних работах. Эти факты полностью совпадают с результатами ранних исследований на мышах, в которых указывалось, что интеграция интронированных ДНК ведет обычно к более высоким уровням экспрессии трансгена, чем при применении той же регуляторной последовательности, соединенной с кДНК (30). Тем самым подтверждаются, по крайней мере, два предположения: что регуляторные элементы транскрипции в молочной железе происходят

от одного предка и не обладают строго специфическими для гена или вида животных свойствами; и что в некоторых случаях в интронах, возможно, локализованы нуклеотидные последовательности с онкогенными функциями.

Тем не менее представление о том, что для получения фармакологических белков в молочной железе необходимо обязательно использовать геномные структурные гены, не носит универсального характера. Поскольку интроны могут содержать специфические регуляторные элементы, направляя синтез данного белка в другой ткани, нежели в эпителии молочной железы. Так случилось с трансгенными животными, несущими ген тяжелой цепи иммуноглобулина человека под промотором гена молочного белка, когда иммуноглобулины были обнаружены в секретирующих В-клетках. Аналогично, гормон роста человека, находясь под WAP-промотором, был зарегистрирован в глиальных клетках Бергмана в концентрациях, сравнимых с уровнем кислых белков в молочной железе (31). Поэтому при разработке стратегии получения каждого отдельного биологически активного вещества необходимо учитывать возможность того, что экспрессия фармакологически активного белка может привести к нежелательным последствиям и повредить здоровью животного.

Хотя уже несколько биомедицинских белков были успешно получены с помощью трансгенной технологии, многие сложные проблемы предстоит решить, прежде чем фармакологические вещества найдут терапевтическое применение. В первую очередь это касается получения биологически активных белков, что определяется адекватной возможностью молочной железы к посттрансляционным модификациям, аналогичным тем, что происходят в организме человека. Другой проблемой, вероятность которой нельзя исключить, является стабильность чужеродных фармакологических белков, т.к. они могут служить объектом для расщепления протеазами, присутствующими в молоке. Проще говоря, должна быть уверенность в том, что полученные таким путем белки по структуре и биологическим функциям будут строго аналогичны белкам человека, чтобы не вызывать образования антител. Выделение и очистка нужных белков из молока должна гарантировать отсутствие примесей сопутствующих белков, чтобы исключить аллергические реакции.

Несмотря на то, что эффективность переноса генов остается низкой, а список генов, которые являются достойными кандидатами для изменения продуктивности сельскохозяйственных животных, короток, достижения последних десятилетий объективно свидетельствуют о перспективности развития данного направления и дают основания предполагать, что в ближайшие годы может произойти переворот в наших представлениях о продуктивности и коммерческой значимости сельскохозяйственных животных.

Литература

1. Cundiff L.V., Bishop M.D. et al. Challenges and opportunities for integrating genetically modified animals into traditional animal plans. *J.Anim.Sci.*, 1993, (Suppl.3), 71: 20-25.
2. Rexroad C.E., Hammer R.E. et al. Production of transgenic sheep with growth regulating genes. *Mol.Reprod.Dev.*, 1989, 1:164.
3. Pursel V.G., Hammer R.E. et al. Genetic engineering of swine: integration, expression and germline transmission of growth-related genes. *J.Reprod.Fertil.*, 1990,(Suppl), 41:77.
4. Pursel V.G., Pinkert C.A. et al. Genetic engineering of livestock. *Science*, 1989, 244:1981.
5. Ebert K.M., Smith T.E. et al. Porcine growth hormone gene expression from viral promoters in transgenic swine. *Anim.Biotech.*, 1990, 1: 145.

6. Nancarrow C.D., Marshall J.T.A. et al. Expression and physiology of performance regulating genes in transgenic sheep. *J.Reprod.Fertil. (Suppl.)*, 1991, 43: 277.
7. Ìàðèì-òé Æ.Å. Ñĩrðyæáííñòu ìíéí-íé ìðíáóèòèáííñòè èðòíííáí ðíáàòíáí ñèòà ñ èíìèàèñíí èíéòñíá ñòáíèáíííáí áéíèà èàçàéíá è β -èàèòíáèíáóèèíà. *Òèòíèíàèy è ááíáòèèà*, 1992, 26, 5: 48-53.
8. Swaisgood H.E. Chemistry of milk protein. In: *Development in dairy chemistry*. 1982, 1: 1-60.
9. Schmidt D.G. Association of caseins and casein micelle structure. In: *Developments in dairy chemistry*, 1982, 1: 61-86.
10. Dalgleish D.G. The enzymatic coagulation of milk. In: *Developments in dairy chemistry*, 1982, 1: 157-188.
11. Simons J.P., McClenaghan et al. Alteration of the quality of milk by expression of sheep β lactoglobulin in transgenic mice. *Nature*, 1987, 328: 530-532.
12. Simons J.P., Wilmut J. et al. Gene transfer into sheep. *Bio/Technology*, 1988, 6: 179-183.
13. Ali S., Clark A.J. Characterisation of the gene encoding ovine β -lactoglobulin. *J.Molec.Biol.*, 1988, 199: 415-416.
14. Harris S., Ali S. et al. Complete nucleotide sequence of the genomic ovine β -lactoglobulin gene. *Nucleic Acids Res.*, 1988, 16: 10379-10380.
15. Rogen J.M. Milk protein gene structure and function. In: *The Mammary Gland: Development, Regulation and Function*. N.Y.: Plenum Press, 1987: 301-322.
16. Bissel M.J., Hall H.G. Form and function in mammary gland. Role of extracellular matrix. In: *Mammary Gland: Development, Regulation and Function*, N.Y.: Plenum Press, 1987: 97-146.
17. Fox P.F. Heat-induced coagulation of milk. In: *Developments in Dairy Chemistry*, 1982, 1: 189-228.
18. Mercier J.-C. Genetic engineering applied to milk produced animals: Some expectations. In: *Exploiting New Technologies in Animal Breeding* (eds. C. Svith et al.), Oxford, 1986: 121-131.
19. Patton S. et al. Genetic engineering of the mammary gland by intramammary infusion technique. *J.Dairy Sci.*, 1984, 67: 1323-1328.
20. Bremel R.D. et al. Alteration of milk composition using molecular genetics. *J.Dairy Sci.*, 1989, 72: 2826.
21. Kang Y., Jimens-Flores R. et al. Casein genes and genetic engineering of the caseins. In: *Genetic Engineering of Animals*. N.Y.: Plenum Press, 1986: 95-111.
22. Jimenes-Flores R., et al. Genetic engineering of the caseins to modify the behaviour of milk during processing: a review. *J.Dairy Sci.*, 1988, 71: 2640-2654.
23. Palmiter R.D., Brinster R.L. Germline transformation of mice. *Annu.Rev.Genet.*, 1986, 20: 465-499.
24. Wilmut J., Archibald A.L. et al. Methods of Gene Transfer and their potential use to modify milk composition. *Theriogenology*, 1990, 33, 1: 113-123.
25. Buehler T.A., Bruyere T. et al. Rabbit β -casein promoter directs secretion of human interleukin-2 into the milk of transgenic rabbits. *Bio/Technology*, 1990, 8: 140-146.
26. Clark A.J., Bessos H. et al. Expression of human anti-hemophilic factor IX in the milk of transgenic sheep. *Bio/Technology*, 1989, 7: 487.
27. Archibald A.L., McClenagan M. et al. High-level expression of biological active human α 1-antitrypsin in the milk of transgenic mice. *Proc.Natl. Acad.Sci.USA*, 1980, 87: 5178-5182.
28. Welander W.H., Johnson J.L. et al. High level expression in the milk of transgenic swine using the cDNA encoding human protein. *Proc.Natl.Acad.Sci. USA*, 1992, 89: 12003.
29. Wright G.A., Carver A. et al. High level expression of active human α 1-antitrypsin in the milk of transgenic sheep. *Bio/Technology*, 1991, 9: 830-834.
30. Brinster R.L., Allen J.M. et al. Introns increase transcriptional efficiency in transgenic mice. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA*, 1988, 85: 886.
31. Hennighausen L.G. The Mammary Gland as a Bioreactor: Production of Foreign Proteins in Milk. *Protein Expression Purification*, 1990, 1, 1: 3-8.

Выделение и анализ (TG)n – содержащих космид из геномной библиотеки быка

Н.П.Корохов, В.Н.Симоненко

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания с/х животных,
Россия, Калужская обл., г.Боровск.*

В настоящий момент в той или иной форме существуют генетические карты почти для 30 различных видов (O'Brien et al., 1993). Среди млекопитающих наиболее подробные карты созданы для человека (Cuticchia et al., 1993) и мыши (Copeland et al., 1993). Для построения карт используют два типа генетических локусов (тип I и тип II; O'Brien, 1991). Локусы первого типа представляют собой эволюционно консервативные кодирующие последовательности, необходимые для стратегии сравнительного картирования, когда полиморфизм локуса не имеет особого значения. Локусы второго типа, гипервариабельные участки ДНК, образованные короткими тандемно-расположенными микросателлитами, высокополиморфны и, в основном, специфичны для близкородственных видов.

Среди домашних животных для крупного рогатого скота создана наиболее подробная генетическая карта. Она содержит 330 генетических маркеров, разбитых на 30 сцепленных групп с определенной хромосомной локализацией (на 24 аутосомных хромосомах ($n=29$), X и Y хромосомах) и четыре не локализованные синтенные группы. Суммарная протяженность генетической карты 2464 cM (Bishop et al., 1994). Основную часть используемых маркеров составляют микросателлиты (в описанном случае это 280 из 330). Относительная простота получения и генотипирования микросателлитов в больших семьях с использованием полимеразной цепной реакции позволяет их использовать при картировании генов, определяющих моногенные и полигенные признаки. Возможности такого подхода были продемонстрированы, в частности, при определении локализации "полигенов", контролирующей молочную продуктивность (Ron et al., 1994; Georges et al., 1995). Однако, невысокая плотность расположения маркеров на отдельных участках хромосом не позволяет широко использовать полиморфные маркеры для картирования хозяйственно-полезных признаков, таким образом ограничивая возможности маркер-направленной селекции (MHC=MAS – marker-assisted-selection; Georges et al., 1993).

В основном, для получения микросателлитных маркеров используют "домашние" клонотеки, содержащие короткие фрагменты гидролизованной ДНК (Moore et al., 1994; Vaiman et al., 1994). Основной недостаток такого подхода заключается в сложности определения хромосомной локализации выделенных маркеров из-за вырожденности большей части клонированного фрагмента — основную его часть составляет микросателлит, который гибридизуется с аналогичными последовательностями из различных локусов (этот факт лежит в основе метода "геномная дактилоскопия"). Проблема может быть решена при использовании космидной геномной библиотеки (размер вставки 35–40 т.п.о.) в качестве источника микросателлитных маркеров (Fries, 1993). Это позволяет быстро и эффективно картировать космиды, содержащие микросателлиты с помощью метода FISH (fluorescent in situ hybridization, Solinas-Toldo et al., 1993), поскольку в составе вставки находятся не только последовательности, образованные короткими повторами, но и протяженные уникальные последовательности.

Из космидной библиотеки быка, любезно предоставленной Городецким С.И. (Институт биологии гена РАН, г.Москва), нами случайным образом были отобраны 400 клонов. Из каждого клона щелочным методом выделили космидную ДНК и анализировали ее с помощью слот-блот гибридизации. В качестве зондов использовали

олигонуклеотиды (САС)₅ и (ТG)₁₀. (ТG)₁₀ олигонуклеотид был выбран в качестве зонда по двум причинам:

а) (ТG)_n- и комплементарные (СA)_n-последовательности обнаружены в составе генома всех изученных на данный момент представителей эукариот;

б) количество этих повторов у млекопитающих оценивается в 100-000 копий на геном (Moore et al., 1994).

Олигонуклеотид (САС)₅ известен как высокоинформативный зонд, используемый для геномной дактилоскопии (Zischler H. et al., 1991, Raudsepp et al., 1994).

По результатам гибридизации были отобраны ТG- и ЦАЦ-положительные клоны (рис.1 А). Микросателлит-содержащие (ТG- и САС-типа) клоны составили 17 % от общего числа анализируемых клонов. Причем, все (САС)-положительные клоны (4,5 %) были и (ТG)-положительные (17 %), но не наоборот. На основе этих данных можно оценить частоту встречаемости (ТG)_n и (САС)_n микросателлитов в геноме быка: при среднем размере космидной вставки 35 т.п.о. это соответствует одному микросателлиту на 203 т.п.о. в первом случае и на 767 т.п.о. во втором. Параллельно нами был проведен анализ микросателлитных последовательностей к.р.с., приведенных в банке нуклеотидных последовательностей EMBL (Release 43, June 1995). Из 476 найденных последовательностей 218 были СA-типа, 199 – ТG-типа и только 8 – САС-типа. Причем, среди 8 найденных последовательностей САС-типа 3 содержали дополнительно (СA)_n-блок, а 4 – (ТG)_n-блок. Таким образом, низкая частота встречаемости микросателлитов (САС)-типа делает их менее интересными, несмотря на высокий полиморфизм, свойственный содержащим их локусам (Raudsepp et al., 1994).

Из всех ТG-положительных клонов была выделена космидная ДНК и подвергнута рестрикционному и блот-гибридизационному анализу (рис.1 Б, В, Г, Д). Среди полученных образцов космидной ДНК 27,5 % содержали один ТG⁺-фрагмент, 31,4 % — два, 41,1 % — больше двух. Таким образом, частота встречаемости микросателлитов ТG-типа выше, чем следует из обычного расчета. Этот же факт предполагает возможность выделения нескольких полиморфных маркеров для одного локуса, тем самым повышая информационную ценность при выполнении работ по выявлению "хозяйственно-полезных" генов.

*Рис. 1. Выделение и анализ ТG⁺ космид из геномной библиотеки быка А, Г, Д – результаты гибридизации космид с (ТG)₁₀ зондом; Б, В – разделение продуктов *Hinf*I-гидролиза космидной ДНК*

Использование генетических маркеров при выявлении генов, определяющих хозяйственно-полезные признаки и в маркер-направленной селекции предполагают существование подробной генетической карты. В опубликованных к настоящему моменту картах имеются локусы, размещенные на расстоянии 30–40 сМ, что значительно превышает предел достоверного определения сцепления двух локусов (5сМ). Для построения более подробных карт необходимы новые источники генетических маркеров (помимо клонированных в составе pUC18 или M13 векторах коротких микросателлитов), что однозначно подтверждается результатами нашего анализа TG-положительных космид. Среди них только в 38,5 % случаев микросателлит локализован в MboI-фрагменте, имеющем размер 400–600 п.о. Это размер фрагментов, которые, в основном, используются при получении клонотек для последующего выделения микросателлитов. В 9,6 % случаев TG-содержащий фрагмент имел размер меньше 400 п.о., 26,9 % — больше 600 п.о. В 25 % космид было выявлено по несколько микросателлит-содержащих MboI-фрагментов, среди которых не было ни одного, имеющего размер 400–600 п.о. Таким образом, свыше 61 % TG-содержащих локусов оказываются не задействованными при использовании традиционного подхода выделения микросателлитов TG-типа.

Одним из основных преимуществ микросателлитов при картировании генома, помимо высокого полиморфизма, является возможность их типирования с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). Это позволяет быстро и эффективно генотипировать образцы ДНК, используя следовые количества материала. Для этого необходимо, зная структуру уникальных последовательностей, окружающих конкретный микросателлит, подобрать пару праймеров, ограничивающих (TG)_n- или (CA)_n-фрагмент. С этой целью мы, для определения первичной структуры фрагментов содержащих микросателлит, переклонировали TG-положительный MboI-фрагмент (600 п.о.) одной из космид (BOV14II) в векторе pUC18. Нуклеотидную последовательность клонированного фрагмента определяли с помощью метода секвенирования ДНК с использованием терминаторов полимеразной реакции.

На рис. 2 приведен TG-содержащий участок последовательности одного из клонированных фрагментов (600 п.о.).

Таким образом, космидные геномные библиотеки являются в настоящий момент наиболее интересным источником микросателлитных маркеров. Их использование позволит получить более подробные генетические карты связанные с физическими картами хромосом.

14. Raudsepp T. et al. DNA fingerprinting in four cattle breeds using (CAC)5 microsatellite probe. Proc. Estonian Acad. Sci. Biol., 1994, v.43, p.113–118.

О возможности проникновения экстрагенетической информации в сперматозоиды при криоконсервации семени

В.А.Багиров, В.П.Кононов

ВНИИ животноводства, Подольск, Московская обл., Россия

Биотехнологические исследования последних лет подтвердили реальность переноса чужеродных нуклеиновых кислот в сперматозоиды животных. Так, Lavitrano и соавт. (1989) сообщили, что перенос их посредством сперматозоидов может иметь место в процессе оплодотворения у мышей. Аналогичные методы переноса генов также были описаны в опытах на кроликах (Brackett B.G. et al., 1971), морских ежах (Arezzo F., 1989), быках (Perez A. et al., 1991), свиньях (Gandolfi F. et al., 1989). Было показано также, что сперматозоиды баранов способны присоединять линейные фрагменты ДНК. Связь ДНК со сперматозоидами понижается, но значительное число связей остается после обработки химическими препаратами, что имеет место как при взаимодействии с ДНК, так и при индукции капацитации и акросомной реакции.

Выяснено, что связывание чужеродной ДНК со сперматозоидами происходит быстро, возможно, в течение нескольких секунд после добавления ДНК, хотя степень связывания сильно варьирует в связи с концентрациями сперматозоидов и ДНК.

Связывание меченой ДНК со сперматозоидами настолько прочное, что многократное промывание сперматозоидов фосфатным буфером не удаляет связанную ДНК. Даже обработка сперматозоидов 0,1 % тритоном X-100 в концентрации, удаляющей плазматические мембраны со сперматозоидов, не производит изменений в присоединенной ДНК (Imai H. et al., 1990). Это говорит о том, что ДНК может проникать через плазматическую мембрану сперматозоидов.

Arezzo F., 1989; Gondolfi F. et al., 1989; Lavitrano et al., 1989; Hochi S. et al., 1990; Кузнецова И.В. и др., 1993 сообщили об экспрессии чужеродных генов в эмбрионах, перенесенных сперматозоидами.

Эта способность фрагментов ДНК связываться со сперматозоидами может осуществляться и не преднамеренно в процессах технологической обработки семени при искусственном осеменении животных и последующая экспрессия может вызвать крайне нежелательные последствия, заканчивающиеся эмбриональной смертностью. Этим можно объяснить тот факт, что у коров после осеменения криоконсервированным семенем оплодотворение наступает почти в 90 % случаев, но примерно у половины животных заканчивается ранней эмбриональной смертностью (Гордон А., 1988).

В этой связи следует отметить, что видимо не случайно в необработанном семени животных обнаружена высокая активность ДНК-аз и РНК-аз (Mann T., 1965), как средств, устраняющих чужеродные нуклеиновые кислоты, а с ними и постороннюю экстрагенетическую информацию. Однако при технологической обработке семени имеет место, во-первых, многократное разбавление, во-вторых, возможное ингибирование этих ферментов компонентами среды, связывающими двухвалентные катионы, которые являются активными центрами ферментов. То и другое может предотвратить устранение из семени фрагментов нуклеиновых кислот и связанной с ними экстрагенетической информации и таким образом служить одной из причин эмбриональной смертности.

Для проверки этой гипотезы были проведены специальные исследования. В опытах использовали кроликов породы шампань и калифорнийская. Предварительно для проведения опытов нами был

разработан метод криоконсервирования семени этого вида, обеспечивающий результативность осеменения на уровне 55–60 % окролов от числа осемененных при величине гнезда 5–6 крольчат.

Семя от самцов брали с помощью искусственной вагины в режиме 2 эякулята в неделю и после общепринятой оценки разбавляли криопротективной средой в соотношении 1:3–1:4. Затем в течение 4-х часов семя выдерживали в холодильнике при температуре +2–+4 °С, после чего охлаждали до 0 °С в смеси вода+тающий лед и в экспериментальные образцы добавляли генную конструкцию рCMVLacZ в расчете 1 мкг на 1 млн сперматозоидов в виде 0,01 % раствора ДНК в ТЕ-буфере. Семя инкубировали при 0°С в течение 15–20 минут и замораживали гранулами по 0,25–0,3 мл на охлажденной в жидком азоте фторопластовой пластине в течение 5 мин. Гранулы семени переносили в сосуды Дьюара и сохраняли в жидком азоте до использования. Непосредственно перед осеменением семя оттаивали сухим методом (Кононов В.П. и соавт., 1975).

Для осеменения использовали самок как в спонтанной, так и в индуцированной охоте. В первом случае самок в состоянии охоты выявляли по изменению наружных половых органов и покрывали вазэктомированным самцом. Спустя 5–6 часов проводили искусственное осеменение (Соколовская И.И. и соавт., 1971). Для индукции охоты применяли следующую обработку. Самкам с стадии проэструса внутримышечно инъецировали 150 МЕ ГСЖК и через 72 часа проводили осеменение и сразу после осеменения внутривенно инъецировали 100 МЕ хорионического гонадотропина.

Через 44–46 часов после осеменения самок убивали, извлекали половые органы и из яйцеводов вымывали эмбрионов 0,9 % раствором NaCl. Определяли число оплодотворенных яйцеклеток, сопоставляя его с числом вскрытых фолликулов в яичниках. После морфологической оценки эмбрионов и яйцеклеток их подвергали гистохимической реакции на галактозу с субстратом X-gal (Кузнецова И.В. и соавт., 1993), после чего определяли наличие положительной реакции на β-галактозидазу. При этом в качестве положительной реакции на галактозидазу считали присутствие в цитоплазме бластомеров участков, окрашенных в отчетливый зелено-голубой цвет.

Генная конструкция рCMVLacZ, использованная в опытах, была любезно предоставлена А.В.Кузнецовым, зав. лаб. ГосНИИ прикладной микробиологии.

Результативность осеменения контрольных и экспериментальных животных приведена в табл. 1.

Таблица 1

Результаты осеменения крольчих в связи с добавкой к семени перед замораживанием генной конструкции рCMVLacZ

Группы животных	Способ вызывания овуляции	Осеменено маток	Всего овуляций	Всего вымыто		Оплодотворяемость, %
				эмбрионов	яйцеклеток	
Контрольная	Естественный	2	12	8	2	80
	Индуцированная	1	7	5	0	100
Всего по группе		3	19	13	2	87
Экспериментальная	Естественный	3	23	18	3	86
	Индуцированная	3	46	36	8	82
Всего по группе		6	69	54	11	83

Как видно из данных табл. 1, добавка чужеродной генной конструкции к замораживаемому семени не повлияла на оплодотворяемость яйцеклеток у крольчих. Из этих данных на первый взгляд можно сделать вывод, что внесенная в семя чужеродная ДНК вообще не проникает в сперматозоиды. Однако, как показали последующие анализы (табл. 2), это не так.

Результаты, приведенные в табл. 2, показывают, что добавление чужеродной ДНК к семени перед замораживанием и последующая инкубация при 0°C в течение 15–20 минут привели к появлению большого числа дегенерированных зигот, свидетельствуя тем самым о высокой эмбриональной смертности. Поскольку такого явления не было в контрольных образцах, случившуюся эмбриональную смертность мы однозначно можем объяснить действием экстратегенетической информации, заключенной в гене pCMVLacZ.

Таблица 2

**Результаты морфологического тестирования эмбрионов
в связи с добавкой к семени чужеродной ДНК**

Группы животных	Способ вызывания овуляции	Всего исследовано эмбрионов	Из них дегенерированных	
			число	%
Контрольная	Естественный	8	0	0
	Индукцированная	5	0	0
Всего по группе		13	0	0
Контрольная	Естественный	18	13	72±11
	Индукцированная	36	10	28±7 ^{**}
Всего по группе		54	23	43±7

В описанном опыте выявился один феномен, требующий специального объяснения: процент разрушающихся зигот был статистически достоверно выше среди эмбрионов, взятых от крольчих с естественной охотой и овуляцией. Выяснение причин этого явления требует дополнительных исследований, для которых мы выдвигаем следующую рабочую гипотезу.

Вероятнее всего у самок с гормонально индуцированной половой доминантой период от осеменения до овуляции был примерно в 2 раза больше, чем у маток с натуральной охотой. Соответственно сперматозоиды в половых путях у первых сохранялись в 2 раза дольше, что неизбежно привело к значительно большей пропорции погибших. Снижение при этом числа дегенерированных зигот наводит на мысль, что раньше при этом погибали сперматозоиды, нагруженные чужеродной ДНК и пропорция тех и других сместилась в сторону увеличения ненагруженных.

Чтобы окончательно убедиться, что чужеродная генетическая информация способна проникнуть в сперматозоиды в процессе глубокого охлаждения семени, может быть занесена в яйцеклетки при оплодотворении и в последующем может проявить экспрессию с производством чужеродных белков, были проведены специальные исследования, результаты которых приведены в табл. 3.

Из данных табл. 3 видно, что среди зигот, полученных от семени, обработанного чужеродной ДНК, примерно у пятой части в цитоплазме проявилась положительная реакция на продукт экспрессии внесенного в семя гена pCMVLacZ — β-галактозидазу. Это однозначно подтверждает, что наша рабочая гипотеза подтвердилась — в процессе криоконсервации семени чужеродная ДНК способна связываться со сперматозоидами или проникать в них и заноситься в яйцеклетки в

процессе оплодотворения с последующей экспрессией, продуцирующей чужеродные белки, что может быть одной из причин ранней эмбриональной смертности. Из приведенных данных видно также, что процент зигот, проявивших положительную реакцию на β -галактозидазу, значительно меньше, чем с дегенерированными blastomeres. Этот факт позволяет предположить, что для гибели эмбриона в ряде случаев достаточно проникновения чужеродной генетической информации без проявления ее экспрессии.

Таблица 3

Частота проявления экспрессии гена *pCMVLacZ* в зиготах

Группы животных	Способ вызывания овуляции	Всего исследовано эмбрионов	Из них с положительной реакцией на галактозу	
			число	%
Контрольная	Естественный	8	0	0
	Индукцированная	5	0	0
Всего по группе		13	0	0
Контрольная	Естественный	18	3	14±8
	Индукцированная	36	7	16±6
Всего по группе		54	10	19±5

Таким образом нами установлено, что в процессе криоконсервации семени кроликов присутствующий в жидкой части чужеродный генетический материал способен связываться со сперматозоидами или проникать в их эндоцеллюлярное пространство и заноситься в ооциты в процессе оплодотворения с последующей экспрессией. Экстрагенетическая информация, занесенная сперматозоидами в ооциты в процессе оплодотворения, может вызвать раннюю эмбриональную смертность. Связанная со сперматозоидами или проникшая в них чужеродная генетическая информация не изменяет их оплодотворяющей способности.

Литература

1. Гордон А. Контроль воспроизводства с.-х. животных. М.: Агропромиздат, 1988: 12-13.
2. Кузнецова И.В., Кузнецов А.В., Сигаева В.А. Использование сперматозоидов кролика в качестве вектора для чужеродной ДНК. Биотехнология, 1993, 11-12: 2-5.
3. Кононов В.П., Голышев Н.А., Хачапуридзе Э.Л. Оборудование для глубокого охлаждения и оттаивания спермы. Свиноводство, 1975, 6: 23-25.
4. Соколовская И.И., Кононов В.П. Искусственное осеменение кроликов. Кролиководство и звероводство, 1971, 3-4: 37-39.
5. Arezzo F. Sea urchin sperm as a vector of foreign genetic information. Cell Biol.Int.Rep., 1989, 13(4): 391-404.
6. Imai H., Walton C.E., Marshall J.T. Characteristics of DNA binding to sheep spermatozoa. J.Reprod.Develop., 1992, 38(4): 255-262.
7. Hochi S.-I., Ninomiya T., Mizuno A. Fate of exogenous DNA carried into mouse eggs by spermatozoa. Anim. Biotech., 1990, 1(1): 21-31.
8. Lavitrano M., Camaioni A., Faxio V.M. Sperm cells as vectors for introducing foreign DNA into eggs: genetic transformation of mice. Cell, 1989, 57:717-723.
9. Perez A., Solano R., Castro F.O. Sperm cells mediated gene transfer in cattle. Biotechnologia Aplicada, 1991, 8(1): 90-94.
10. Gandolfi F., Lavitrano M., Camaioni A. The use of sperm-mediated gene transfer for the generation of transgenic pigs. J.Reprod.Fert. 1989, 4, Abstr.: 21.
11. Brackett B.G., Baranska W., Sawicki W. Uptake of heterologous genome by mammalian spermatozoa and its transfer to ova through fertilization. Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 1971, 68:353-357.

Ген обелина как репортер в живых клетках млекопитающих

В.А.Захарченко, В.В.Галат

*Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН
Пуццино, Россия*

Обелин — биолюминесцентный белок, обнаруженный в гидроидном полипе *Obelia*, который излучает свет при связывании ионов кальция. Нами было показано, что ген обелина может быть использован как репортер для наблюдения за экспрессией генов в живых клетках млекопитающих. Для изучения экспрессии обелина в культивируемых клетках и чувствительности этой репортерной системы были сконструированы ретровирусные векторы с кДНК обелина и люциферазы из *Photinus pyralis* под контролем длинного концевой повтора вируса лейкемии молочной железы мышей и экспрессирующий вектор с кДНК обелина под контролем промотора цитомегаловируса. Полученными плазмидами трансфицировали клетки млекопитающих, изучали кинетику синтеза обелина и показали, что чувствительность экспрессирующих систем с обелином и люциферазой приблизительно одинакова. Активный обелин может быть реконструирован в живых клетках путем добавления его субстрата — целентеразина в культуральную среду. Используя кальциевые ионофоры или такие нелетальные для клетки вещества, как этанол, возможно наблюдать за ходом экспрессии обелина в живых клетках млекопитающих, а также за динамикой внутриклеточного кальция при действии на клетки различных веществ. Кроме того, полученные ретровирусные конструкции могут быть введены в клетки, упаковывающие ретровирусы и использованы в качестве высокочувствительных маркеров клеточных линий и для получения животных, трансгенных по гену обелина.

Изучение процесса криоконсервации спермы млекопитающих на лабораторном — мышь (*Mus musculus*) и диком — суслик (*Citellus undulatus*) объектах

С.А.Каурова, Н.В.Шишова

Институт биофизики клетки РАН, Пуццино, Россия

Консервация генетических ресурсов методом глубокого замораживания в жидком азоте получила в настоящее время довольно широкое применение. В мире созданы многочисленные криобанки по хранению спермы и эмбрионов различных сельскохозяйственных животных, ценных линий лабораторных животных, ведутся поиски режимов криоконсервирования геномов диких животных.

Работу проводили на мышах линии Valb и сусликах, взятых из якутской популяции. Сперму мышей получали из хвостов придатков семенников (*cauda epididymidis*), суспендировали в фосфатно-солевом растворе в модификации Дюльбекко с 3 % ДМСО и 10 % сахарозой (в конечной концентрации). Применяли два режима эквilibрации: 4 часа при 4° С или 1–3 минуты при 18 °С. Замораживали в гранулах в парах жидкого азота на охлажденной фторопластовой пластине. Результат криоконсервации — 5–10 % подвижных сперматозоидов с активным поступательным движением. Эпидидимальную сперму суслика замораживали тем же методом. При этом использовали два режима эквilibрации, различный состав сред и криопротекторов. Лучший результат — 25 % подвижных сперматозоидов получили в среде следующего состава: 5 % сахароза, 7 % глицерин, 20 % желток в фосфатно-солевом растворе Дюльбекко.

В результате работы по криоконсервированию спермы мышей и сусликов был выявлен ряд особенностей, на основании которых сделаны предварительные выводы:

— при взятии спермы у сусликов необходимо учитывать сезонность их размножения, момент получения спермы (в отличие от мышей) сильно влияет на успех криоконсервации;

— сперма сусликов (в большей степени, чем у мышей) чувствительна к осмотическому шоку, оттаивание замороженных гранул предпочтительнее проводить в среде с криопротектором (в нашей работе — с 7 % глицерином);

— длительная предварительная эквilibрация в среде с криопротектором наносит сильный повреждающий эффект на сперму мышей и сусликов; для ее консервации предпочтительнее кратковременная эквilibрация.

Оценка генетической информативности ЦАЦ₅ пробы применительно к крупному рогатому скоту

Н.П.Корохов, Т.П.Лушникова*, А.Ф.Смирнов**

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания
сельскохозяйственных животных, Боровск, Россия;*

** НИИ химической физики и биофизики, Эстония,*

***ВНИИ генетики и разведения сельскохозяйственных животных, С-Петербург, Россия*

В настоящее время ДНК пробы, позволяющие выявить полиморфные генетические маркеры, широко используются для картирования и маркирования геномов сельскохозяйственных животных. Целью данной работы явилась оценка генетической информативности картины фингерпринтинга (ЦАЦ₅, BsuR1 рестрикт) геномной ДНК *Bos taurus*. Было исследовано по 6–8 неродственных животных четырех пород (эстонские): местная-ЭМ, красная-ЭК, черно-пестрая -ЭЧП, бестужевская-Б и яков (Я).

Среднее число гибридизационных и в том числе информационно-значимых полос на индивидуум составило в среднем соответственно: 15 и 6 (ЭМ); 18 и 7,5 (ЭК); 20,5 и 8 (ЭЧП); 10,2 и 5,04 (Б); 14 и 5,3 (Я). Коэффициент сходства (BS) составлял 0,58 (ЭМ); 0,44 (ЭК); 0,57 (ЭЧП); 0,51 (Б); 0,5 (Я). Вероятность совпадения рисунка фингерпринта у исследованных индивидуумов в пределах породы составила $2,8 \times 10^{-4}$ (ЭМ); $3,8 \times 10^{-7}$ (ЭК); $9,9 \times 10^{-6}$ (ЭЧП); 1×10^{-3} (Б); 6×10^{-5} (Я). Полученные оценки совпадают в целом с имеющимися в литературе данными о степени полиморфности рисунка фингерпринта бычьей ДНК при использовании в качестве зонда ЦАЦ₅ пробы 7,32 вариабельных диска, вероятность обнаружения общих полос — 0,41 (Trommelen et al. Anim.Genet., 24, 235, 1993).

Половые различия по признаку “частота эритроцитов с микроядрами в периферической крови” у крупного рогатого скота (*Bos taurus* L.).

**М.В.Прусакова, В.Ю.Кравцов, С.Ю.Медведев,
К.Т.Янушаускас, А.Ф.Яковлев**

*ВНИИ генетики и разведения сельскохозяйственных животных,
С-Петербург, Россия; Всероссийский центр экологической медицины,
Литовская ветеринарная академия, Литва*

Настоящая работа посвящена определению спонтанной частоты эритроцитов с микроядрами (ЧЭМ) у быков и коров ряда пород из разных регионов СНГ. ЧЭМ определяли в выборках на 200 000 эритроцитов и выражали в промиллях. Всего было изучено 233 особи. Средние значения ЧЭМ в исследованных выборках коров составили 0,032 промиллей (23 особи черно-пестрой породы из Литвы), 0,025 промиллей (27 голов голштино-фризской породы г. Кант, Киргизия), 0,037 и 0,034 промиллей (15 и 22 особи помесных пород айрширская х холмогорская, айрширская х черно-пестрая соответственно, из ПО

“Ладожское” г. Волхов), 0,036 промиллей (56 особей черно-пестрой породы из ПО "Лесное" и совхоза "Пригородный" Ленинградской обл.). Средняя ЧЭМ объединенной выборки, составленной из всех исследованных коров, составила 0,033 промиллей.

Средние величины ЧЭМ у быков составили в трех исследованных выборках 0,015 промиллей (23 головы черно-пестрой породы из г. Иваново), 0,013 промиллей (32 особи холмогорской породы из г. Архангельска) и 0,010 промиллей (35 голов черно-пестрой породы из ПО "Лесное"). У быков отмечается значительно меньший размах значений ЧЭМ, по сравнению с коровами, а среднее значение ЧЭМ в объединенной выборке, составленной из всех исследованных быков, составило 0,013 промиллей. Все три исследованных выборки быков статистически достоверно отличались от всех исследованных выборок коров ($P < 0,01$).

Таким образом, среднее значение ЧЭМ в популяциях крупного рогатого скота составляет 0,033 промиллей для коров и 0,013 промиллей для быков.

Возможности использования ДНК-маркеров хозяйственно-ценных признаков крупного рогатого скота в селекционных программах

Г.Е.Сулимова

Институт общей генетики им.Н.И.Вавилова РАН, Москва, Россия

В настоящее время особое внимание уделяется поиску и разработке молекулярно-генетических маркеров, позволяющих иметь тест-системы на уровне продуктов генов (белковый полиморфизм) или на уровне генетического материала клетки (полиморфизм ДНК). Использование в качестве маркерных систем полиморфных последовательностей ДНК позволяет решить проблему насыщения генома маркерами и маркировать практически любой интересующий исследователя ген. ДНК-маркеры имеют целый ряд преимуществ в сравнении с другими типами генетических маркеров: повсеместность распространения, множественность аллелей, отсутствие плейотропного эффекта, возможность проведения ретроспективных исследований и др.

Для оценки полиморфизма ДНК используются два подхода: анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) с применением блот-гибридизации и методы, основанные на использовании полимеразной цепной реакции (ПЦР). Наибольшее распространение получили ДНК-маркеры, созданные с использованием ПЦР на основе уникальных последовательностей генов (ген-специфические ДНК-маркеры) и на основе повторяющихся последовательностей различных типов. В настоящее время созданы ДНК-маркеры для некоторых хозяйственно-полезных признаков. Например, маркеры, полученные на основе гена κ -казеина и гена DRB3 главного комплекса гистосовместимости. Для κ -казеина было показано, что В-аллель определяет выход сыра и его качество. Проведение селекции по данному признаку приводит к необходимости типирования быков-производителей и молодняка. Использование ДНК-маркеров для этой цели наиболее целесообразно и экономично. Для локуса BoLA-DRB3 продемонстрирована связь определенных аллелей с чувствительностью или устойчивостью к лейкозу крупного рогатого скота, что открывает возможность разработки и проведения селекционных программ по оздоровлению стад, неблагополучных по лейкозу, и получения линий крупного рогатого скота, устойчивых к лейкозу. Эти примеры иллюстрируют перспективность и возможности использования ДНК-маркеров для селекционной практики.

Изменение размеров ооцитов, выделенных из преантральных фолликулов неполовозрелых свинок, в процессе культивирования

Т.А.Смирнова, Д.Рат*

*ВНИИ генетики и разведения сельскохозяйственных животных,
С-Петербург, Россия;*

**Институт животноводства и поведения животных, Германия*

Ооциты размером 60–90 мкм выделяли из преантральных фолликулов неполовозрелых свинок ферментативным методом (0,4 % коллагеназа) и разделяли их на три группы в соответствии с диаметром: 1-я группа — 60–70 мкм, 2-я — 71–80 мкм, 3-я — 81–90 мкм. Клетки культивировали в течение 96 часов. Для культивирования использовали среду Waymouth 752/1 с добавлением 5,0 % фетальной сыворотки, фолликулостимулирующего гормона и эстрадиола. Размер преантральных фолликулов и ооцитов определяли окуляр-микроскопом инвертированного микроскопа. Оценка препаратов осуществлялась после фиксации ооцитов спирт-уксусной кислотой (3:1) с последующей окраской 0,1 % ацетоорсеином.

В среднем из яичников получили 4669 преантральных фолликулов (n=20 яичников) и 1520 ооцитов (n=7 яичников). Установлено, что при культивировании ооцитов в течение 96 часов диаметр их в 1-й группе (n=19) увеличился в среднем с 64,8 до 75,1 мкм, во 2-й группе (n=40) с 75,4 до 80,5 мкм и в 3-й группе (n=31) с 88,3 до 93,4 мкм, что составляет 15,8; 6,8 и 5,8 % в каждой группе, соответственно.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что ооциты размером 60–90 мкм в процессе культивирования в течение 96 часов увеличиваются в размерах, что может свидетельствовать об активации синтетических процессов в ооцитах, выделенных из преантральных фолликулов неполовозрелых свинок.

Изменения кариотипа птиц в эволюции и их значение для поиска обогащенных генами районов генома и сравнительного картирования

А.В.Родионов

*Биологический институт Санкт-Петербургского университета,
С-Петербург, Россия*

Кариотипы многих современных птиц состоят из 5-6 пар макрохромосом (Ма) и 32-36 пар микрохромосом (Ми). Сравнение Ма показало, что у многих птиц (страусы, киви, куриные, многие голубеобразные и др.) первые 4 пары Ма гомологичны. В то же время кариотипы стрижей, сов, дятлов, дневных хищных птиц представлены иным набором хромосом, найти гомологию между Ма и Ма "типичного" кариотипа не удастся. Для того, чтобы определить время возникновения типичного и "атипичных" кариотипов птиц мы сопоставили структуру кариотипов разных таксонов современных птиц с филогенетическим древом, полученным методом ДНК/ДНК гибридизации, и с палеонтологическими данными.

Сравнение показывает, что "типичный" кариотип птиц сформировался более 150 млн. лет назад, не позднее раннего мела. Два процесса привели к его формированию: 1) микрохроматинизация кариотипа предковых для птиц форм рептилий и 2) возникновение "типичных" Ма за счет хромосомных слияний и появления в них генетически инертных G-блоков.

"Атипичные" наборы Ма есть результат нескольких независимых, относительно недавних актов перестройки "типичного" анцестрального кариотипа птиц.

Мы предприняли попытку найти следы прошедших слияний хромосом с помощью FISH-гибридизации TTAGGG-зондов с

хромосомами пяти видов птиц. Выявлены архаичные интерстициальные блоки TTAGGG-последовательностей, которые могут быть следами анцестральных теломеров (Rodionov, Macgregor, 1995). Изучение распределения кроссинговеров по Ма у птиц показало, что частота рекомбинации повышена не только около современных теломеров, но и около предполагаемых следов анцестральных теломеров, что ведет к растяжению генетических карт в этих зонах. Методы комплексного нуклеотид-специфического окрашивания показали, что Ми курообразных состоят преимущественно из материала R-блоков и почти не содержат AT-богатой ДНК G-блоков. Это говорит о том, что ДНК эухроматиновых частей Ми, в сравнении с Ма, обогащена генами.

Цитогенетическое картирование лошади

С.Е.Дерюшева, Ю.А.Логинова, О.Г.Чиряева, К.Ясчак*

*ВНИИ генетики и разведения сельскохозяйственных животных,
С-Петербург, Россия;*

**Институт генетики и разведения животных ПАН, Польша*

Существующие на сегодня методы цитогенетического анализа позволяют расширить представления о молекулярно-генетической организации хромосом сельскохозяйственных животных, в том числе домашней лошади (*Equus caballus*). Несмотря на многочисленные исследования, до сих пор не существует общепринятой классификации маркерных хромосомных дисков, а также нет четкого описания ядрышкообразующих хромосом у этого вида.

Для идентификации ядрышкообразующих хромосом *Equus caballus* мы использовали *in situ* гибридизацию с ДНК-пробой, содержащей рРНК гены человека, в сочетании с репликационной R-окраской, позволяющей одновременно наблюдать флуоресцентный сигнал и дифференциально исчерченные хромосомы.

С помощью RBA-метода и компьютерного анализа изображения нами получена цитогенетическая карта прометафазных хромосом *Equus caballus* высокого разрешения (560 дисков на геном). Помимо уже известных ядрышкообразующих хромосом (1, 28, 31) мы выявили не описанную ранее ядрышкообразующую хромосому – 27.

Анализ результатов *in situ* гибридизации (26 животных, 5 пород) показал наличие полиморфизма по размеру блоков рРНК генов. Полученные данные обсуждаются.

Плодовитость и генетико-биохимический полиморфизм у овец

В.И.Глазко, Дж.Б.Овен

*Институт агроэкологии и биотехнологии, Украина;
Уэльский университет, Англия*

Несмотря на активное развитие "селекции с помощью маркеров" (Marker Assistance Selection) очевидна несводимость генетического маркирования признаков продуктивности к синтенности "главных генов" таких признаков с маркерными генами. Так, у мериносовых овец картирован ген плодовитости бурула (*booroola Fecundity — Fec B*) в хромосоме (Xp) 6 (Montgomery et al., 1994). Однако в литературе накоплено большое количество данных о связи между повышенной плодовитостью у овец и наличием аллельного варианта гемоглобина HbA. Такие связи являются непостоянными и широко варьируют в различных исследованиях (Fesus, 1994). Можно было бы ожидать, что они обусловлены синтенностью генов HbV и β-цепью фолликулостимулирующего гормона, локализованных у крупного рогатого скота в Xp 15 (Hediger et al., 1990), поскольку во многих исследованиях показано сходство генных карт крупного рогатого скота

и овец. В то же время обнаружено, что у овец при любых генотипах по НВВ генетически детерминированная низкая активность пурипнуклеозидфосфорилазы (PNL) ассоциирована со сниженной плодовитостью (Zannotti et al., 1990). С целью изучения закономерностей межлокусных ассоциаций полиморфных генетико-биохимических систем и их связей с признаками продуктивности в настоящей работе выполнен анализ "неравновесия по сцеплению" (с использованием стандартной компьютерной программы Garnier-Gere P., 1993) между локусами НВ, PN, NF у групп пород овец, разводимых в хозяйствах Украины и Англии (Украина — цигай, ост-фризы, прекос закарпатский, закарпатская тонкорунная, карпатская горная — 496 голов; Англия — горная уэльльская — ГУ, выведенная из нее и отличающаяся высокой плодовитостью порода кембридж — К и тексель — Т — 206 голов). Произведена оценка связей аллельных ассоциаций по этим локусам с максимальными значениями овуляции у овцематок К породы.

Установлено, что у овец Украины наблюдаются воспроизводимые в различных группах ассоциации между PNL и HbA, PNL и TfA, статистически достоверно отличающиеся ($P < 0,05$, $P < 0,01$) от ожидаемых, исходя из гипотезы о независимом распределении этих аллельных вариантов. Ассоциация между PNL и TfA воспроизводится и у исследованных пород Англии. Ассоциация между PNL и HbA выявлялась только у породы ГУ, не обнаружена у К, а для породы Т характерна слишком низкая частота встречаемости HbA (0,040). Можно было ожидать, что ассоциации между этими локусами обусловлены их синтенностью, однако у крупного рогатого скота они картированы в разных хромосомах (локус TF локализован в Xp 1, PN — в Xp 10, НВВ — в Xp 15). У овцематок породы К с генотипом HbAA максимальные значения овуляции оказались статистически достоверно ($P < 0,01$) выше, чем у животных с генотипами HbAB и HbBB. Среди маток с генотипом HbAA отсутствовали животные с аллельным вариантом TfA и генотипом PNL.

Полученные данные позволяют предполагать наличие связей между биохимическими маркерами и признаками продуктивности, реализуемые через генетически детерминированные особенности звеньев общего метаболизма. Обсуждается полилокусность таких связей, их стабильность и изменчивость.

Plasticity of the endocrine regulation in ontogenesis and productivity in fowls

S.M.Kisliuk, R.Grossmann*

All-Russian Institute of Farm Animal Genetics and Breeding,

**Institute for Small Animal Research, Germany*

In the ontogeny of the endocrine systems participating in adaptation there are sensitive periods when environmental signals can imprint into developmental programmes and substantially modify parameters of the mature systems. Present report is devoted to the physiological imprinting in the hypothalamo-hypjphysical-adrenal axis (HPA) and the arginine vasotocin (AVT) system in chickens.

HPA and AVP systems play an important role in the reaction of the organism to different stressors. Both systems begin to perform their regulatory functions around mid-embryogenesis. During third week of incubation secretion of their end-products, respectively, corticosteroids and VT remarkably increases. This period of rapid developmental reorganisations is at the same time period of the susceptibility to the external stimuli. Cooling of the incubation eggs 1 hour per day from 12 to 18 day of the embryonic development leads to the augmentation of the secretory activity of the HPA in newly hatched chicks, growing chickens and adults. On the contrary, AVT system as a component of osmoregulation can be

activated by disturbance of the water balance of the embryo. Incubation at low relative humidity causes additional elevation of AVT in blood during perihatching period and increased AVT responses to osmotic and nonosmotic challenges later in life. Experimental data suggest that early stimulation of the endocrine systems during embryogenesis helps organism to cope with stresses. Modulations of the endocrine activity correlate with the improvement in performance traits as viability, growth, feed efficiency, egg production.

Investigation of physiological imprinting may serve as a basis for design of the optimal incubation regimes providing complete realization of productive and adaptive genetic potential of the chicken.

Конструирование мобилизуемых векторов для молочнокислых бактерий

**Б.В.Тараканов, В.В.Алешин, В.Г.Дорошенко,
Е.В.Семенова, В.А.Лившиц**

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания
сельскохозяйственных животных, Боровск, Россия
Государственный НИИ генетики и селекции промышленных
микробактерий, Москва, Россия*

Молочнокислые бактерии и лактобациллы, в частности, относятся к наиболее полезным для человека микроорганизмам. Они широко используются в пищевой промышленности, сельском хозяйстве и медицине, являются симбионтами человека и животных и играют важную роль в их жизнедеятельности (1). Однако до настоящего времени лактобациллы остаются генетически малоизученными организмами, поскольку для них отсутствует хорошо разработанная система генетического обмена и нет удобных векторов для клонирования генов.

Наиболее технологичными способами введения ДНК в клетки бактерий, для которых отсутствует хорошо разработанный способ введения генетического материала, являются разработанные несколько лет назад электротрансформация и конъюгативная мобилизация из клеток *Escherichia coli* (2). Для мобилизации неконъюгативной плазмиды необходима цис-действующая область начала конъюгативного переноса (*oriT*), например, плазмиды IncP группы несовместимости, и транс-действующие продукты *tra*-генов соответствующей конъюгативной плазмиды-помощника, присутствующей в донорной клетке. В последние годы появились сообщения о мобилизации двуреplikативных плазмид из *E.coli* в клетки *Corynebacterium glutamicum*, *Streptomyces sp.*, *Mycobacterium smegmatis*, *Saccharomyces cerevisiae* и других видов.

Нам представлялось перспективным развитие аналогичной векторной системы для молочнокислых бактерий и, в частности, лактобацилл. Мы клонировали RP4-специфический *oriT* (3) в двуреplikонную плазмиду pHV33 (4), двуреplikонную плазмиду pCB20 (5), а также в ряд оригинальных плазмид, основанных на репликоне природной криптической плазмиды pLF1311 из *Lactobacillus fermentum* ВКМ 1311. Все полученные плазмиды удалось мобилизовать из доноров *E. coli*, содержащих плазмиду-помощник RP4, в клетки молочнокислых и других грамположительных бактерий. В табл. 1 приведены некоторые характеристики pSL201-мобилизуемой производной pHV33.

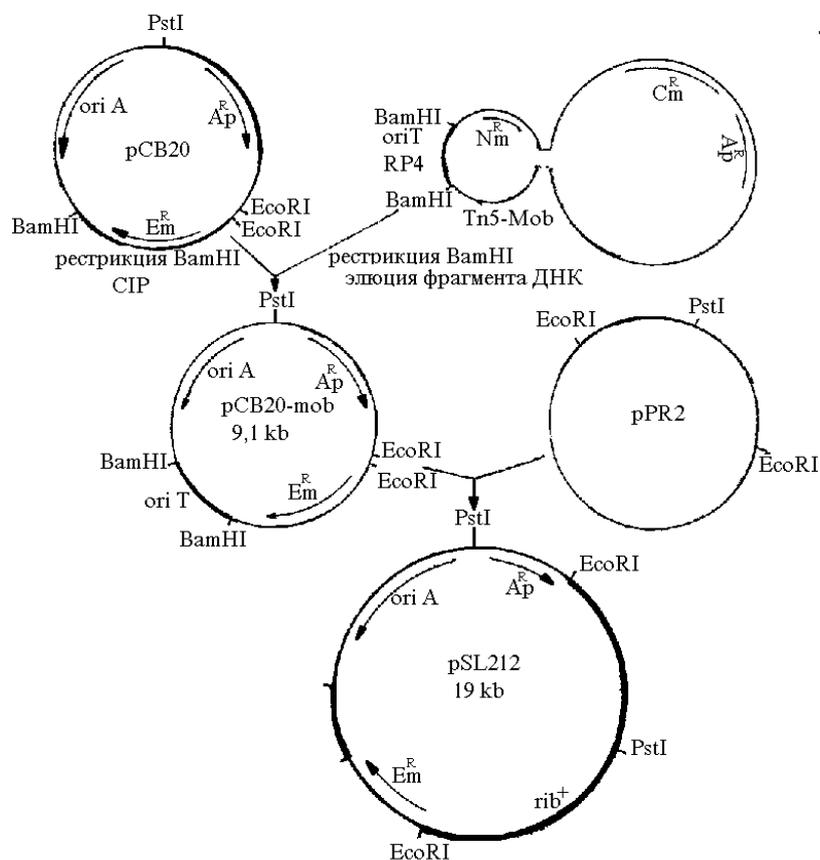
Таблица 1

**Частота мобилизации и уровень сегрегационной стабильности
в неселективных условиях плазмиды pSL201 в различных бактериях**

Реципиентный штамм	Частота мобилизации (на клетку донора)	Сегрегационная стабильность в эксконьюгантах на 40 генераций, %
Bacillus subtilis 168 Sm ^r	5×10^{-5}	8
Enterococcus faecalis OQ1	5×10^{-7}	0
Escherichia coli HB101	1×10^{-2}	92
Lactobacillus buchneri 1310	5×10^{-8}	0
Lactobacillus plantarum 578	1×10^{-8}	0

Рис. 1. Схема конструирования pCB20mob и pSL212

Один из перспективных векторов, полученных описанным способом — pCB20mob. Его репликация в грамположительных бактериях происходит за счет репликона плазмиды pSM19035 из *Streptococcus pyogenes*, гомологичного области репликации pAMβ1 — конъюгативной плазмиды грамположительных бактерий с широким кругом хозяев. Плазмиды pAMβ1 и pSM19035 реплицируются по тетра-механизму (6), это определяет высокую структурную стабильность и большую емкость векторов на их основе (7). Эти свойства позволили клонировать в векторе pCB20mob фрагмент ДНК до 10 т.п.н. (рис. 1), представляющий *rib*⁺-оперон *B. subtilis* (8,9). Рекомбинантная плазмида pSL212 была введена конъюгативной мобилизацией в



несколько видов грамположительных бактерий, причем некоторые рекомбинантные штаммы приобрели способность к

сверхнормативному синтезу рибофлавина и продуцировали значительные количества витамина в культуральную среду (табл. 2).

Таблица 2

Частота мобилизации, уровень сегрегационной стабильности pSL212 в различных бактериях и содержание витамина в культуральной жидкости рекомбинантных штаммов

Штамм реципиента	Частота мобилизации(на клетку донора)	Сегрегационная стабильность в неселективных условиях, %	Содержание витамина в культуральной жидкости, мг/л
Bacillus subtilis 168 Sm ^r trpC2	5 x 10 ⁻⁴	2	1500
B. subtilis 168 ribD recE4	5 x 10 ⁻⁴	2	1000
B. amyloliquefaciens B3157	4 x 10 ⁻⁸	0	400
B. amyloliquefaciens B1796 Sm ^r 16 ₂	4 x 10 ⁻⁸	0	40
B. amyloliquefaciens B1796 Sm ^r 7-1	4 x 10 ⁻⁸	0	10
B. thuringiensis galleriae	3 x 10 ⁻³	0	10-40
B. thuringiensis kurstaki HD-1	3 x 10 ⁻⁷	40	80-120
Lactobacillus buchneri 1310	1 x 10 ⁻⁸	10	<10
Lactococcus lactis LP1T6 Sm ^r	1 x 10 ⁻⁶	76	<10

Полученные результаты позволяют сделать вывод о возможности клонирования генов в лактобациллах на векторе pCB20mob. Вместе с тем недостаточная сегрегационная стабильность рекомбинантных плазмид в неселективных условиях заставила нас обратиться к другим природным репликонам молочнокислых.

Наиболее подробно мы исследовали криптическую плазмиду pLF1311 из *Lactobacillus fermentum*. Полностью определена ее нуклеотидная последовательность (2389 п.н.; номер X74860 в базе EMBL). Функциональные детерминанты плазмиды определяли с помощью компьютерного анализа нуклеотидной последовательности и в экспериментах по делеционному картированию. В результате была установлена минимальная область, необходимая для репликации плазмиды. Репликативная область включает две открытые рамки считывания и общий промотор (рис. 2). Первая по ходу транскрипции открытая рамка (герА) — короткая, кодирует полипептид 6 кДа высоко гомологичный ДНК-связывающим репрессорам транскрипции плазмид грамположительных (10). Вторая, протяженная рамка (герВ) кодирует полипептид 27 кДа, который, очевидно, инициирует репликацию по механизму "катящегося кольца", внося односторонний разрыв в специальный сайт (11,12). Соответствующий сайт (ori+) также найден в пределах минимального репликона как участок, способный образовать вторичную структуру по типу стебель-петля с высокой свободной энергией. Вне области минимального репликона найден еще один палиндром, менее совершенный, но более протяженный (40 п.н.). Он идентифицирован как участок преимущественной инициации репликативного синтеза второй цепи ДНК (ori-) (13). В целом pLF1311 оказалась оригинальной плазмидой, по структуре напоминающей pE194-подобные плазмиды (11); особенно она близка к pLB4, плазмиде из *L. plantarum* (14).

Поскольку генетические исследования криптической плазмиды затруднены, мы клонировали в PstI сайт pLF1311, используя линкеры, ген хлорамфениколацетилтрансферазы (cat) pC194 из *S. aureus* (положения 973—2008 по (15)). Полученная плазмиды pLF2 поддерживалась в *B.subtilis* после трансформации бациллярных клеток препаратом ДНК pLF2, pLF2 также реплицируется в клетках *E. coli*, где экспрессируется ген cat. Методом трансформации протопластов

плазмида pLF2 и ее производные были введены в клетки молочнокислых стрептококков *L. lactis* (16). Плазмида pLF2 имеет уникальные сайты для эндонуклеаз рестрикции MluI, MstI, SalI, SmaI, а также два сайта SphI, которые находятся в несущественной для репликации области и пригодны для клонирования; ее вариант, pLFVI имеет дополнительно сайты EcoRI и BamHI, введенные в составе линкера. Плазмиды pLF2 и pLFVI проявили свойства одnoreпликонных векторов, способных к репликации с использованием собственных функций как в *E. coli*, так и в *B.subtilis* и *L.lactis*. В составе pLF2 было проведено клонирование в *Lactococcus lactis* гена человеческого проинсулина (16).

Минимальный вектор из рассматриваемого семейства — pLFDI (рис. 2). Этот одnoreпликонный челночный вектор малого размера позволяет клонировать последовательности по сайтам PstI, SmaI, SalI, SphI, MstI. Встройкой в PstI сайт pLFDI гена *kan* из Tn903 (кодирует аминогликозид-3'-фосфотрансферазу, обеспечивающую устойчивость к канамицину (17)) получена плазмида pLF-K1. Хотя pLF-K1 имеет больший размер, она позволяет вести селекцию рекомбинантов по инсерционной инактивации маркера. Вектор pLF-K1 имеет следующие уникальные сайты: XhoI, PvuI (в пределах гена *kan*) и NcoI (в пределах гена *cat*).

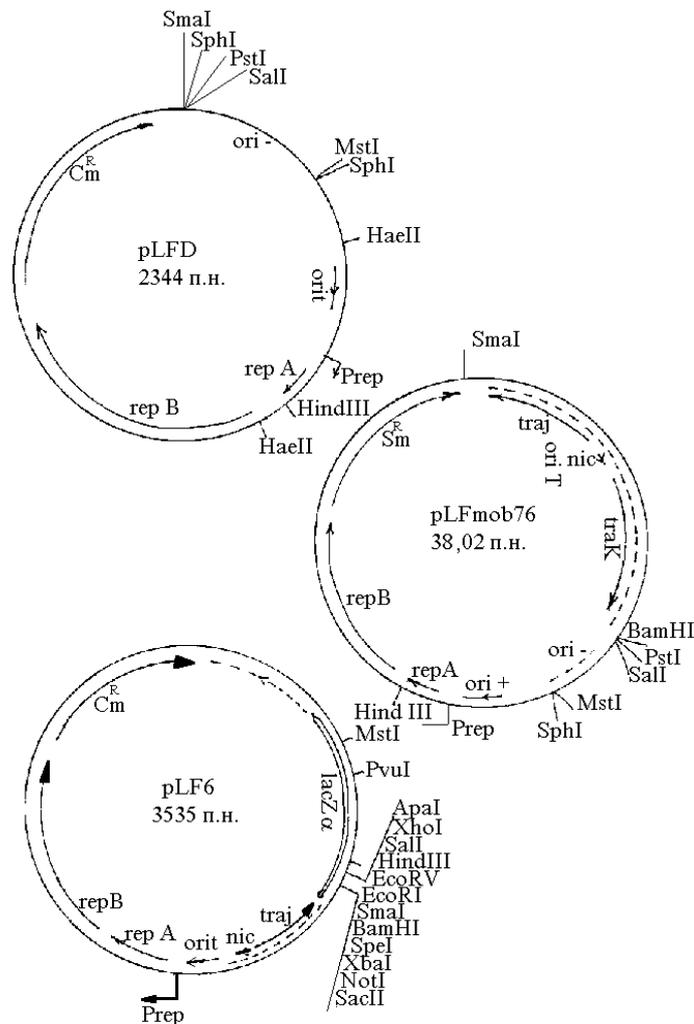


Рис. 2 Векторы для молочнокислых бактерий на основе репликона pLF1311. Обозначения: *ori+*, *ori-*, *repA*, *repB* — функциональные элементы репликона pLF1311; *Prep* — промотор репликативных генов pLF1311; *Cm^R* — ген хлорамфениколацетилтрансферазы (*cat*) из pE194 (устойчивость к хлорамфениколу); *oriT* — область начала конъюгативного переноса плазмиды

RP4 incPα группы несовместимости; nic – nick-сайт; traJ, traK – гены плазмиды RP4, участвующие в конъюгативном переносе; LacZα – ген α-пептида β-галактозидазы E.coli; oriF1 – область начала репликации нитевидного бактериофага φ1.

Поскольку репликон pLF1311 поддерживается как в грамположительных бактериях (*B. subtilis*, *L. lactis*), так и в *E. coli*, на его основе были сконструированы мобилизуемые векторы. Для получения мобилизуемой плазмиды в BamHI сайт pLFVI ввели фрагмент ДНК плазмиды pSUP5011, несущей RP4- специфичный oriT. Среди трансформантов был отобран рекомбинант, обозначенный pLFVM2, который нес oriT. В уникальный SmaI сайт плазмиды pLFVM2 был встроен EcoRI-линкер. Новый вариант был обозначен pLFRI.

Достоинством плазмид pLFVM2 и pLFRI является их способность к мобилизации, что позволяет клонировать гены в *E. coli*, а затем переносить их при конъюгации в различные грамположительные бактерии. Эти векторные молекулы содержат уникальные сайты для эндонуклеаз рестрикции, пригодные для клонирования (сайт SmaI в векторе pLFVM2 и сайт EcoRI в векторе pLFRI).

В дальнейшем были сконструированы мобилизуемые векторы меньшего размера и содержащие большее число пригодных для клонирования рестриктных сайтов. Так, мобилизуемая плазида pLF-mob76 имеет размер 3,8 т.п.н. и содержит уникальные сайты для рестриктаз BamHI, PstI, Sall, SmaI, SphI, MstI. Усовершенствованный мобилизуемый вектор pLF6 имеет еще меньший размер — 3,6 т.п.н. (рис.2). Тем не менее pLF6 содержит ген альфа-пептида β-галактозидазы из плазмиды pBluescriptSK(+). 15 уникальных, пригодных для клонирования сайтов рестриктаз (ApaI, XhoI, Sall, HindI, EcoRV, EcoRI, PstI, SmaI, BamHI, SpeI, XbaI, NotI, SacII, MstI, PvuI) позволяют проводить селекцию вставок по этим сайтам по цвету колоний *E. coli* на индикаторных чашках с X-gal и ИПТГ. Отобранные рекомбинантные плазмиды могут быть введены в различные грамположительные реципиентные бактерии из доноров, содержащих IncP-альфа-плазмиду-мобилизатор, по методике конъюгации на фильтрах (2).

Поскольку процесс конъюгативной мобилизации относительно слабо зависит от свойств реципиентного штамма, нам представлялось возможным изучить круг хозяев репликона pLF1311 среди различных лактобацилл и других грамположительных бактерий, используя мобилизуемые векторы — производные pLF1311. Подобно некоторым другим плаздам из грамположительных бактерий (pC194, pMV158, pSH71, pWV01), для которых показана их способность реплицироваться в *E. coli*, круг возможных хозяев репликона pLF1311 оказался также необычайно широким. Производные pLF1311 были введены с помощью мобилизации из *E. coli* в клетки многих видов грамположительных бактерий (табл. 3), а также в грамтрицательные бактерии *E. coli* и *Erwinia* sp.

Мы не смогли ввести векторы семейства pLF1311 в клетки *Lactobacillus acidophilus* 6a, *L. bulgaricus* B2179, *L. casei* ВКМ 535, *Leuconostoc mesenteroides* ATCC 10830, *Pediococcus* sp. ССМ 3770, *Streptococcus thermophilus* 58, *Micrococcus* sp., *Staphylococcus aureus* 3A, *Bacillus coagulans* 733, *B. licheniformis* 7, *B. stearothermophilus* 24, *Thermoactinomyces vulgaris* 936, *Corynebacterium glutamicum* 95.

Частота мобилизации и уровень сегрегационной стабильности репликона pLF1311 в различных бактериях

Реципиентный штамм	Частота мобилизации (на клетку донора)	Сегрегационная стабильность в эсконъюгантах на 40 генераций, %
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	2×10^{-6}	98
<i>B.subtilis</i>	5×10^{-5}	96
<i>B. thuringiensis galleriae</i>	2×10^{-3}	96
<i>B. thuringiensis kurstaki</i>	5×10^{-6}	50
<i>B. thuringiensis finitimus</i>	5×10^{-5}	н/о
<i>Brevibacterium flavum</i>	5×10^{-8}	4
<i>Enterococcus faecalis</i>	1×10^{-5}	100
<i>E.faecium</i>	5×10^{-7}	100
<i>Lactobacillus brevis</i>	3×10^{-8}	100
<i>L. buchneri</i>	1×10^{-7}	100
<i>Lactococcus lactis</i>	3×10^{-7}	100
<i>Escherichia coli</i>	1×10^{-2}	26

Таким образом, мобилизуемые производные pLF1311 были введены только в клетки лактобацилл (*L. brevis* и *L.buchneri*), относящиеся к гетероферментативным молочнокислым бактериям. Проще всего связать это с таксономической близостью данных видов к *L. fermentum*, природному хозяину pLF1311. Однако, как показано выше, векторы — производные pLF1311 переносятся и поддерживаются в различных неродственных бактериях.

На наблюдаемую эффективность конъюгативной мобилизации могут влиять различные факторы, например, несовместимость вводимой плазмиды с резидентными. Так, производные pLF1311 не удалось ввести в клетки штамма *L. fermentum* ВКМ1311, содержащие исходную криптическую плазмиду pLF1311. Другой важный фактор — система рестрикции ДНК в реципиентных клетках. Ее влияние было нами подробно изучено для случая мобилизации плазмид в штамм *B. amyloliquefaciens* — известный продуцент эндонуклеазы рестрикции. Частота зависела от наличия в плазмиде сайтов BamHI, их числа и степени метилирования *in vivo* в клетках донора. Влияние системы рестрикции можно предположить также для объяснения более чем тысячекратной разницы в частотах мобилизации в штаммы *B. thuringiensis ssp. galleriae* и *ssp. kurstaki*.

Кроме отмеченных выше причин, неудачные попытки мобилизации могли быть связаны и с тем, что использованные условия конъюгации были не оптимальны для некоторых реципиентов. Таким образом, не исключено, что круг хозяев производных pLF1311 может оказаться шире, чем показано в наших экспериментах по конъюгативной мобилизации.

Способность плазмид семейства pLF1311 реплицироваться в широком круге грамположительных и грамотрицательных бактерий можно объяснить, исходя из структурной организации pLF1311. Репликация этой плазмиды инициируется собственным белком RepV, закодированным в ее геноме. Поэтому для поддержания репликона pLF1311 в широком круге хозяев достаточно, чтобы промотор *repV* гена узнавался РНК-полимеразами многих бактерий. Это узнавание, очевидно, и происходит благодаря близости промотора pLF1311 к консенсусной промоторной последовательности.

Чтобы проверить возможность клонирования генов в производных pLF1311, мы клонировали в вектор pLF6 ген нейтральной протеиназы *Bacillus brevis*. Источниками гена служила плаزمида pTM261,

содержащая ген нейтральной протеиназы (5). Трансформанты кишечной палочки, устойчивые к хлорамфениколу и образующие белые колонии на чашках с хлорамфениколом, ИПТГ и X-gal, были способны к протеолизу казеина, что проявлялось в образовании на 3–4 сутки зон просветления на чашках с добавлением обезжиренного молока и хлорамфеникола. С помощью конъюгативной мобилизации рекомбинантные плазмиды, содержащие ген нейтральной протеиназы, были введены в клетки *L. buchneri* ВКМ1310, *E. faecalis* OG1, *B. subtilis* 168 Smr, *B. subtilis* A773. Можно предполагать, что дальнейшие работы по клонированию протеиназных генов на векторах с репликоном pLF1311 могли бы усилить протеолитические свойства реципиентных штаммов.

Таким образом, была сконструирована серия челночных плазмидных векторов, основанных на криптической плазмиде pLF1311 из *L. fermentum*. Среди этого семейства имеются векторы, обладающие различными полезными для манипулирования с ДНК свойствами: малыми размерами (2,35 т.п.н., pLFD1), выбором селективного маркера (хлорамфеникол или канамицин, pLF-K1), мобилизуемостью из донора *E. coli* в грамположительные бактерии (pLFVM2, pLFR1, pLFmob76, pLF6), большим числом пригодных для клонирования сайтов рестриктаз, возможностью прямой селекции рекомбинантов по цвету колоний *E. coli* (pLF6). Полученное семейство векторов на основе pLF1311 обеспечивает задачи клонирования различных генов с собственными промоторами в лактобациллах, *E. coli* и широком круге грамположительных бактерий.

Авторы выражают искреннюю признательность Иомантасу Ю.В. и Торбан Е.Б., проделавшим основную работу по конструированию pLF2 и pLFVI.

Литература

1. Пивняк И.Г., Тараканов Б.В. Микробиология пищеварения жвачных. М.: Колос, 1982: 247.
2. Trieu-Cuot P., Carlier C., Martin P., Courvalin P. Plasmid transfer by conjugation from *E. coli* to gram-positive bacteria. FEMS Microbiol. lett., 1987, 48: 289-294.
3. Simon R. High frequency mobilisation of gram-negative bacterial replicons by in vitro constructed Tn5-mob transposon. Mol.Gen.Genet., 1984, 196: 413-420.
4. Primrose S.B., Ehrlich S.D. Isolation of plasmid deletion mutants and study of their instability. Plasmid, 1981, 6: 193-201.
5. Аваков А.С. и др. Клонирование и экспрессия в *Bacillus subtilis* гена нейтральной протеазы *Bacillus brevis*. Мол. биол., 1990, 24: 1001-1009.
6. Sorokin A.V., Khasak V.E. Structure of pSM19035 replication region and MLS-resistance gene. In: (Butler L.O. et al., eds) Genetic transformation and expression, 1989: 269-281.
7. Trieu-Cuot P., Carlier C. et al. Shuttle vectors containing a multiple cloning site and a LacZ gene for conjugal transfer of DNA from *Escherichia coli* to Gram-positive bacteria. Gene, 1991, 102: 99-104.
8. Рабинович П.М. и др. Выражение рибофлавинового оперона *B. subtilis* в клетках *E. coli* в составе гибридных плазмид pPR1 и pPR2. Докл. АН СССР, 1978, 238: 1459-1461.
9. Ссылка на сборник в печати
10. Del Solar et al. Purification and characterisation of Rep A, a protein involved in the copy number control of plasmid pLS1. Nucleic Acids Res., 1989, 17: 2405-2419
11. Gruss A., Ehrlich D. The family of highly interrelated single-stranded deoxyribonucleic acid plasmids. Microbiol.Rev., 1989, 53: 231-241.
12. Sozhmannan S. et al. Plus-origin mapping of single-stranded DNA plasmid pE194 and nick site homologies with other plasmids. J.Bacteriol., 1990, 172: 4543-4548.
13. Leer R.J., Luijk N. et al. Structural and functional analysis of two cryptic plasmids from *Lactobacillus pentosus* MD353 and *Lactobacillus plantarum* ATCC8014. Mol.Gen.Genetic., 1992, 234: 265-274.

14. Bates E.E., Gilbert H. Characterization of a cryptic plasmid from *Lactobacillus plantarum*. *Gene*, 1989, 85: 253-258.
15. Horinouchi S., Weisblum B. Nucleotide sequence and functional map of pC194, a plasmid that specifies inducible chloramphenicol resistance. *J.Bacteriol.*, 1982, 150: 815-825.
16. Румер Л.М. Изучение процессов генетического обмена у молочнокислых стрептококков. Дисс... кбн, М., 1993.
17. Vieira J., Messing J. The pUC plasmids, an M13mp7-derived system for insertion mutagenesis and sequencing with synthetic universal primers. *Gene*, 1982, 19: 259-268.

Итоги и перспективы изучения минерального обмена сельскохозяйственных животных

С.Г.Кузнецов

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания
сельскохозяйственных животных,
Боровск, Россия*

В последние годы как у нас в стране, так и за рубежом получены новые данные о потребности различных половозрастных групп крупного рогатого скота, овец, свиней, птицы, пушных зверей, рыб в минеральных элементах, доказана важность балансирования рационов животных по ряду новых, ранее ненормируемых элементов (кремний, литий, мышьяк, ванадий, алюминий, лантан и др.). В качестве примера можно привести новые данные по изучению потребности молодняка крупного рогатого скота в микроэлементах (табл. 1).

Интересные данные получены при изучении обмена кремния. Истинная усвояемость элемента из рационов бычков в начале и конце откорма составила 63 и 69 %, а потребность — 71 и 65 мг/кг сухого вещества корма. Доведение уровня кремния в рационах бычков до указанных выше норм за счет органического соединения мивала или силиката натрия способствует повышению переваримости питательных веществ корма, интенсивности роста на 10–12 % и эффективности использования корма на 6–12 %. Повышение указанных норм на 25 % не оказывает отрицательного влияния на организм бычков при скорости их роста 1000 г/сут (17).

За последние годы получена обширная информация по различным аспектам минерального обмена и питания животных. Сейчас задача сводится к тому, чтобы объединить эту информацию и создать системы минерального питания животных. На основе собственных и литературных данных мы разработали проект системы минерального питания молочных коров, основные блоки которого представлены на рис. 1. Эта разработка является составной частью интегрированной динамической системы питания коров, которая создается в институте. Система минерального питания — это наукоемкий продукт, обладающий возможностью неограниченного ассимилирования новых данных по питанию, регуляции минерального обмена, регулирования продуктивности животных и качества продукции.

Система минерального питания включает следующие основные блоки: определение и прогнозирование потребности животных в минеральных веществах; оценка минерального состава кормов; балансирование рационов; контроль полноценности минерального питания; регуляция минерального обмена; регулирование продуктивности и качества продукции (молока, мяса).

Таблица 1

**Потребность молодняка крупного рогатого скота
при доращивании и откорме в микроэлементах (10)**

Элементы	Истинное усвоение, %	Эндогенные потери с калом и мочой, мг/сут	Отложено в теле, мг/сут	Потребность	
				мг/сут	мг/кг СВК*
Возраст 6 месяцев					
Марганец	14	15,0	18,8	233	47
Цинк	68	33,0	96,0	190	38
Медь	46	3,7	21,2	54	11
Кобальт	53	1,1	0,9	3,7	0,7
Молибден	40	2,0	1,9	10	2,0
Бром	92	9,0	9,2	20	4,0
Селен	46	0,24	0,24	1,0	0,2
Алюминий	1,0	1,1			60
Бор	99	51	0,2	52	8,0
Возраст 12 месяцев					
Марганец	21	30,0	50,4	375	46
Цинк	64	83,6	169	392	48
Медь	42	10,8	28,7	94	11
Кобальт	57	1,8	2,5	7,6	0,9
Молибден	47	2,5	5,7	1,7	2,1
Бром	88	17,0	14,3	35	4,4
Селен	35	0,29	0,4	2,0	0,25
Алюминий	4	1,6	17,6	18	64
Бор	99	78,0	0,2	80	8,1
Возраст 18 месяцев					
Марганец	27	37,8	98,7	500	44
Цинк	61	117	191	505	44
Медь	39	13,9	35,1	125	11
Кобальт	62	2,1	4,0	10	0,8
Молибден	54	2,8	9,1	22	1,9
Бром	82	23,0	16,7	48	4,2
Селен	30	0,38	0,4	2,7	0,25
Алюминий	4	2,8	19,0	19	51
Бор	99	100	0,2	102	8,5

* *- сухое вещество корма

	ные	рующие	лом	чай		и репроду к- тивные ткани коровы, в сутки	прироста живой массы коровы
Ca, мг	32	38	17	2,5	1210	6400	10400
P, мг	40	45	22	2,0	1030	4120	6800
Mg, мг	27	27	6,5	3,0	120	260	387
Na, мг	87	77	14	30	500	950	1350
K, мг	87	85	30	80	1400	1510	2350
Cl, мг	90	90	20	25	1100	1350	2100
S, мг	57	55	7	10	300	770	1400
Fe, мкг	25	15	280	30	2900	38000	55000
Cu, мкг	40	30	80	20	150	1630	2100
Zn, мкг	30	25	250	15	3600	7250	24000
Mn, мкг	23	15	225	6	100	420	550
Co, мкг	15	5	0,04	1	3	320	400
I, мкг	20	20	0,02	1	70	120	220
Mo, мкг	40	42	0,60	2	50	330	850
Se, мкг	30	25	0,25	0,6	10	12	25

В институте создается банк данных по минеральному составу кормов, добавок, отходов пищевой промышленности, природных минералов, питьевой воды. Эта информация по 20 элементам использована при создании и апробации компьютерной аналитической системы "Качество". Мы полагаем, что в блок оценки кормов в последующем должны включаться данные не только по валовому содержанию минеральных веществ, но и по их усвояемой фракции.

Первые два блока системы (определение потребности и состава кормов) дают возможность формулировать рацион и балансировать его по доступным для обмена минеральным элементам. Способы обеспечения животных минеральными добавками суммированы на рис. 1.

Таблица 3

Потребность в минеральных элементах коровы с живой массой 600 кг и удоем 30 кг молока 4 %-ной жирности, на 1 кг сухого вещества корма

Элементы	(9)*	(12)	(19)	(26)	(23)	(22)	(13)	(24)	(11)
Ca, г	6,5	6,6	3,4	5,8	5,7	5,9	8,2	7,3	6,5
P, г	4,6	4,7	3,1	3,7	3,8	3,8	5,5	3,9	4,7
Mg, г	1,7	1,6	1,7	2,0	1,6	1,5	2,0	2,3	1,6
Na, г	2,5	–	1,2	1,8	1,8	1,3	–	1,6	–
Cl, г	3,0	–	–	–	–	–	–	–	–
NaCl, г	6,1	6,6	–	–	–	–	6,6	–	6,5
K, г	6,7	6,7	7,4	9,0	8,0	–	6,7	7,5	6,6
S, г	1,8	2,1	–	–	–	–	2,8	–	2,0
Fe, мг	83	74	40	50	50	50	75	–	70
Cu, мг	10	10	12	10	10	10	14	11	11
Zn, мг	49	63	40	40	40	50	75	38	70
Mn, мг	43	63	40	40	40	50	86	52	70
Co, мг	0,65	0,79	0,11	0,1	0,1	0,1	1,3	0,22	0,9
I, мг	0,50	0,88	0,50	0,6	–	0,5	1,0	–	1,1
Se, мг	0,15	–	–	0,3	0,1	0,15	0,1	0,1	0,20
Mo, мг	0,33	–	–	–	–	–	–	0,37	0,15

* — (9) – ВНИИФБиП, 1995; (12) – ВИЖ, 1994; (19) – Англия, 1980; (26) – США, 1988; (23) – Япония, 1992; (22) – ФРГ, 1986; (13) – Белоруссия, 1992; (24) – Kume et al., 1991; (11) – Лебедев, 1990.

Предметная область, соответствующая блоку регуляции минерального обмена и установления роли отдельных органов и тканей в метаболизме макро- и микроэлементов на рис. 1, разрабатывается усилиями многих научных учреждений. Данных по регулированию продуктивности животных, воспроизводительной функции, иммунных реакций, качества продукции с помощью минеральных добавок имеется достаточно (10, 11, 15, 17, 22). Задача состоит в том, чтобы разрабатывать рецептуру сложных минеральных смесей и премиксов для различных регионов страны. В этом направлении многие коллективы работают довольно активно (5, 9, 10, 12, 15).

Центральное место в системе занимает блок контроля полноценности минерального питания. Нами разработана оригинальная схема дифференциальной диагностики субклинических форм минеральной недостаточности у животных (табл. 4). Схема основана на данных изучения биохимических изменений в организме с учетом вторичных факторов, взаимосвязей и биологической доступности 14 макро- и микроэлементов из кормов. Содержание минеральных элементов в крови, молоке, молозиве, костной ткани, моче, кале, слюне, рубцовой жидкости, волосяном покрове коров в норме приведено ранее (9). Схема может служить практическим пособием для специалистов ветлабораторий. Предложены дополнительные методы установления минеральной недостаточности у животных: физические, биомеханические, радиометрические, функциональные нагрузки и др. (6).

Для реализации проекта в форме практической системы минерального питания молочного скота необходимо провести дополнительные исследования в следующих направлениях: влияние генотипа и условий внешней среды на потребность животных в минеральных веществах; методы определения усвояемой формы элементов, в том числе токсичных, из кормов; эндогенная секреция минеральных элементов с калом и мочой; истинное усвоение их из типичных рационов у животных разного возраста и физиологического состояния; особенности минерального обмена и его регуляции у коров разной продуктивности; моделирование, испытание и коррекция алгоритмов и программ для коров в разные фазы лактации и стельности; апробация системы минерального питания высокопродуктивных коров в хозяйствах.

В настоящее время в некоторых странах производят балансирование рационов с учетом биологической доступности минеральных элементов, что позволяет более полно удовлетворять потребность в них организма, рациональнее использовать корма и добавки, объективнее оценивать новые кормовые средства и способы подготовки кормов к скармливанию. Например, балансирование рационов для свиней и птиц с учетом доступного фосфора позволяет более экономно использовать дорогостоящие фосфаты и избегать передозировки элемента в кормлении животных, что нежелательно и в экологическом плане. Усвояемость фитатного фосфора можно повысить за счет добавления в рацион микробной или дрожжевой фитазы, парового гранулирования, проращивания, замачивания в воде зерна, автолиза дрожжевых клеток, экструдирования кукурузы, лущения ячменя и т.д. (7). Эффективность использования фосфора в организме животных из фосфатов располагается в следующем убывающем порядке: однозамещенные > двузамещенные > трехзамещенные фосфаты; ортофосфаты аммония > калия > натрия > кальция > магния; ортофосфаты > пирофосфаты > метафосфаты > гипофосфиты (табл. 5). Применение фосфатов в кормлении животных с усвояемостью Са и Р ниже 40 % нецелесообразно (7).

Предложен ряд новых, более эффективных добавок. Так, комплексные соединения железа, меди, цинка, марганца, кобальта с

казеином, глицином, метионином, триптофаном, лизином, молочной и лимонной кислотами обладают более высокой биодоступностью, в связи с чем норму ввода этих микроэлементов в рационы животных при использовании указанных хелатов можно умень-

Таблица 5

Биологическая доступность фосфора из химических соединений для молодняка свиней 4,5–7-месячного возраста (7)

Фосфаты	Отложено Р в организме из изучаемого соединения, г/сут	Эффективность использования, % к $\text{KН}_2\text{PО}_4$	Истинное усвоение, %
Монокалийфосфат, $\text{KН}_2\text{PО}_4$	4,23±0,37	100	71
Дикалийфосфат, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$	4,21±0,21	99	69
Трикалийфосфат, $\text{K}_3\text{PО}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3,89±0,27	92	66
Метафосфат калия, KPO_3	1,11±0,37*	26	50
Гипофосфит калия, $\text{KН}_2\text{PО}_2$	-1,21±0,18*	?	40
Мононатрийфосфат, 2-водный	4,31±0,17	102	73
Динатрийфосфат, 12-водный	3,54±0,12*	84	65
Динатрийфосфат	2,52±0,37*	60	56
Тринатрийфосфат, 12-водный	3,72±0,38	88	64
Пирофосфат натрия, 10-водный	1,83±0,42*	43	53
Метафосфат натрия	1,09±0,16*	26	43
Гипофосфит калия, 1-водный	-1,09±0,27*	?	44
Моноаммонийфосфат	4,77±0,30	113	75
Диамонийфосфат	4,54±0,13	107	73
Триаммонийфосфат, 3-водный	4,00±0,15	95	69
Пирофосфат аммония	4,74±0,11	112	74
Монокальцийфосфат, 1-водный	3,83±0,25	91	69
Дикальцийфосфат, 2-водный	3,21±0,21*	76	63
Дикальцийфосфат, реактив	2,20±0,32*	52	53
Трикальцийфосфат, кормовой	2,08±0,25*	49	53
Пирофосфат кальция	1,01±0,35*	24	42
Метафосфат кальция	2,04±0,21*	48	50
Гипофосфит кальция	0,74±0,17*	18	51
Мономагнийфосфат, 4-водный	2,06±0,29*	49	51
Димагнийфосфат, 3-водный	1,48±0,45*	35	46
Тримагнийфосфат, n-водный	0,22±0,05*	5	35
Трижелезофосфат, 8-водный	0,25±0,08*	6	35
o-фосфорная кислота	3,51±0,25	83	65

* $P < 0,05$ по сравнению с $\text{KН}_2\text{PО}_4$

шить на 20–40 %. Хелаты металлов более безопасны для животных и окружающей среды, чем неорганические соединения. Для профилактики минеральной недостаточности у животных в критические периоды жизни или при особых условиях содержания (в конце беременности, пик лактации, при вторичной недостаточности, на отгонных пастбищах) предложено немало соединений кобальта, селена, йода, меди, цинка с различными аминокислотами, белками, органическими и жирными кислотами, полисахаридами, а также неорганические медленно растворимые формы. Показано, что высокодисперсные порошки металлов с размером частиц 50–100 мкм в 2 раза эффективнее сульфатов в кормлении свиней и птиц (7).

Изучалась биологическая доступность минеральных элементов из природных источников, в том числе из бентонитов, цеолитов, фосфатов, бишофита, сапропелей, отходов переработки торфа, продуктов моря и др. Установлено, что биологическая доступность минеральных веществ зависит от возраста животных, пола,

обеспеченности организма изучаемым элементом и уровня его потребления, от вида корма, его физической формы, способа подготовки к скармливанию, структуры рациона, наличия в нем хелатообразователей, антагонистов, поверхностно-активных веществ, от химической формы как катионов, так и анионов, валентности, размера частиц, содержания в молекуле кристаллизационной воды, степени очистки добавок, растворимости в химусе. Это необходимо учитывать при балансировании рационов для животных по дефицитным макро- и микроэлементам (7–11, 15, 17, 27).

Получены новые данные о механизме регуляции кислотно-щелочного состояния в организме животных. Доказано, что натрий, калий, хлор имеют важное значение в использовании некоторых аминокислот, особенно лизина. В рационах крупного рогатого скота и свиней баланс $\text{Na}^+ + \text{K}^+ - \text{Cl}^-$ следует поддерживать в пределах 100–200, а в рационах птиц — 200–300 мэкв/кг корма. Положительный баланс создают за счет обогащения рационов бикарбонатами и ацетатами, причем соли натрия более эффективны, чем калия. Можно применять полуторный карбонат, н-бутират, глутаминовую кислоту или глутамат натрия (7).

Расшифрованы молекулярные механизмы некоторых врожденных патологий минерального обмена. Создавались линии животных с заданными параметрами метаболизма минеральных элементов (например, овцы с низкой концентрацией меди в крови или с высоким содержанием селена в крови). Выяснялась взаимосвязь между концентрацией отдельных минеральных элементов в крови и хозяйственно полезными признаками (продуктивность, жирность молока, показатели воспроизводительной функции, сроки продуктивного долголетия и др.) (1, 6, 9, 10, 22).

Изучались вторичные факторы, влияющие на обеспеченность организма макро- и микроэлементами. Например, сейчас обнаружено более 300 гойтрогенных веществ, которые способствуют развитию вторичной недостаточности йода (6, 7). Разрабатывались модели обмена минеральных элементов в организме животных (1, 20, 25).

Изучалась взаимосвязь микроэлементов в кормах и организме животных с другими биологически активными веществами и на этой основе разработаны более совершенные рецепты премиксов. Установлены закономерности формирования костной ткани у крупного рогатого скота, свиней, птиц в онтогенезе, изучена роль в процессах остеогенеза минеральных элементов, витаминов, гормонов. Получены новые данные о механизмах всасывания цинка, меди, селена, свинца, кадмия и других элементов. Выясняется патогенез болезней обмена веществ, связанных с нарушением условий минерального питания интенсивно растущего молодняка, беременных и лактирующих животных. Разработаны эффективные методы терапии и профилактики минеральной недостаточности и токсикозов (1, 7, 9, 11, 18, 20).

Уточнялись и разрабатывались новые способы обеспеченности животных и человека минеральными элементами. Интересные работы проведены в Финляндии. Корма в этой стране до 1985 года содержали очень низкие количества селена. В 1984 г МСХ Финляндии приняло решение об обогащении многокомпонентных минеральных удобрений селенатом натрия (6 мг Se/кг удобрений при производстве трав и 16 мг/кг при выращивании зерновых. Сейчас для всех культур применяют 6 мг/кг). За 5 лет применения селена в составе удобрений потребление его человеком возросло в 4–5 раз, содержание в траве, силосе и сене увеличилось с 10 до 150 и даже до 1000 мкг/кг сухого вещества (СВ), в зерновых — в 20–30 раз (до 220–300 мкг/кг СВ), в говядине — с 50 до 600 мкг/кг СВ, в печени — до 1400 мкг/кг СВ, в коровьем молоке — с 30 до 175 и 225 мкг/кг СВ в летнее и зимнее время, в женском молоке — с 50 до 105–125 мкг/кг СВ, в картофеле — в 10 раз (27). Внесение селена в почву способствовало ликвидации или более легкому течению

многих болезней человека и животных, значительно повысило рентабельность животноводства и не оказало отрицательного влияния на окружающую среду (18, 21, 27).

Минеральные элементы могут играть двойственную роль в физиологии: в оптимальных концентрациях они необходимы для нормальной жизнедеятельности, тогда как при повышенном содержании большинство из них токсично и, следовательно, вредно влияет на животных и окружающую среду. В последние годы в рационах животных довольно часто наблюдается повышенное содержание многих минеральных веществ, особенно тяжелых металлов, что создает серьезные экологические проблемы. По токсичности для животных (LD_{50}) металлы располагаются в следующей убывающей последовательности: $Hg > Ag > Cu > Zn > Ni > Pb > Cd > As > Cr > Fe > Mn > Al > Be > Li$ (1, 2).

Предприятиями промышленности и сельского хозяйства ежегодно выбрасываются в окружающую среду миллионы тонн токсичных соединений. Так, ежегодный мировой выброс промышленными предприятиями и тепловыми электростанциями соединений серы достигает 120 млн т, фтора — более 1 млн т, ртути — около 20 тыс. т. В большинстве стран мира, в том числе и России, большую угрозу для окружающей среды представляют Hg , Cd , As , Pb , F , SO_2 (16).

В условиях промышленной технологии производства продуктов животноводства происходит значительное поступление минеральных элементов в навозную биомассу. Последующая ее утилизация на ограниченных по размеру площадях вызывает накопление ряда металлов (Cu , Zn , Mn , Cd , Pb , P) в почве, что представляет значительную опасность для здоровья человека и животных. Связи с этим необходима коррекция норм минерального питания в сторону снижения за счет применения более усвояемых соединений, а в ряде случаев приходится идти по пути элиминации металлов-токсикантов из кормов, получаемых в техногенных провинциях. За счет применения фермента фитазы и более усвояемых добавок фосфора использование элемента на производство 1 кг мяса можно уменьшить на 34 % (10).

Высокая концентрация фосфора в сточных водах может снизить активность зоопланктона и изменить количество водорослей. Нормальная плотность их поддерживается при концентрации фосфора в воде в пределах 100–500 мкг/л. Снижение фосфорных нагрузок на окружающую среду обычно приводит к уменьшению уровня других токсикантов (например, пестицидов) в воде (2).

В связи с радиационным загрязнением местности в результате аварии на Чернобыльской АЭС предложены солебрикеты с ферроцином, который смешивают в 10 %-ной концентрации с равным количеством поваренной соли и монокальцийфосфата. Эти лизунцы дают в виде свободной подкормки скоту, у которого загрязненность рациона не позволяет получать молоко и мясо в пределах контрольного уровня по содержанию радиоцезия. Такая техника скармливания брикетов позволяет значительно снизить загрязнение молока и мышечной ткани (15). С этой же целью применяют природные и синтетические цеолиты, а также бентониты (8). К этому следует добавить, что низкое содержание стабильного йода в рационе жвачных способствует усилению радиационных поражений организма, в первую очередь щитовидной железы, вызванных радиоактивным йодом (10).

Сравнительное испытание новых ферроцианидных препаратов на основе калий-железо (III)-гексацианоферрата (11) показало, что ферроцин-2, бифеж и цинном являются эффективными кормовыми добавками, предотвращающими поступление ^{137}Cs из рациона в организм животных. Введение этих соединений в рацион коров и откармливаемого молодняка в дозе 6–12 г действующего вещества на голову в сутки позволяет снизить содержание радиоцезия в мышечной ткани в 2–9 раз, а в молоке — в 6–60 раз, причем снижение его уровня в

молоке происходит намного быстрее, чем в мышцах. С помощью этих сорбентов можно получать "чистую" животноводческую продукцию при высоких уровнях поступления радиоцезия с кормом. Эффективность ферроцианидов зависит от длительности их применения, возраста животных и от начального содержания ^{137}Cs в организме. Очень высокое содержание радионуклида в рационе скота или нарушение регулярности поступления необходимого количества сорбента требуют увеличения его дозировки. Эффективность ферроциана-2, бифежа и циннома как антидотов радиоцезия в практических условиях была по существу одинакова (4).

Интересные данные получили ученые Новгородской с.-х. академии. В опытах на коровах они изучали продукты переработки льна-долгунца сорта К-6 и природные цеолиты. Применение лактирующим коровам натуральных семян льна в дозах 30, 50 и 80 г/сут позволило ускорить выведение цезия-137 через почки в 5–8 раз, а калия-40 — в 3–4 раза, при этом переход радиоцезия в молоко из рациона снизился в 5–8 раз по сравнению с контролем. Использование семян в кормлении коров способствовало интенсивному выделению с мочой Zn, Pb, As и снижению уровня Pb, Zn, Cu в молоке. Применение коровам цеолита в дозах 30, 40 и 60 г/сут привело к ускорению выведения цезия-137 через почки в 3–6 раз, а калия-40 — в 3–4 раза, при этом концентрация радиоцезия в молоке снижалась в 13–30 раз. Добавки цеолита способствовали более интенсивному выведению с мочой Cu, Cd, Hg, Fe и уменьшали концентрацию в молоке Zn, Cu, Pb. Менее загрязненное тяжелыми металлами молоко получено при добавлении в рационы коров 200 г мякины льняной, 200 мл отвара из мякины льняной или 200 мл отвара из стебля льна-долгунца. Более высокий вклад в "очистку" молока от Sn, Cd, Cr, Sr и Ni отмечен при скармливании животным льняной мякины. Эти продукты переработки льна способствовали интенсивному выведению с мочой Pb, Cr, Sr и не изменяли содержание в ней Cd. Добавление в рацион мякины, отвара из мякины и отвара из стебля льна привело к снижению концентрации цезия-137 в молоке в 1,5; 4 и 6 раз соответственно по сравнению с контролем. Однако отвары из мякины и стебля повышали содержание калия-40 в молоке в 1,5 и 1,3 раза, тогда как мякина снизила этот показатель на 25 % (3, 14).

На наш взгляд, перспективными направлениями исследований в области минерального питания сельскохозяйственных животных являются:

- изучение взаимосвязи условий минерального питания с качеством и биологической полноценностью продуктов животноводства;
- расширение исследований по изучению механизма действия минеральных элементов в организме, их влияния на обмен веществ, генетический аппарат, иммунную систему, воспроизводительные и продуктивные свойства животных;
- изучение роли отдельных органов и тканей в обмене минеральных веществ, выяснение механизмов адаптации организма к различным условиям минерального питания животных (недостаток, дисбаланс, избыток);
- продолжение поиска наиболее надежных и доступных критериев обеспеченности животных макро- и микроэлементами и уточнение потребности всех половозрастных групп с.-х. животных, отдельных пород и гибридов в минеральных веществах;
- усиление исследований по изучению нарушений обмена веществ, связанных с недостатком, избытком и дисбалансом макро- и микроэлементов, их влияния на экологическую ситуацию и на осложнения в организме в результате воздействия малых доз радиоизотопов вследствие аварии на Чернобыльской АЭС;

– продолжение исследований по определению биологической доступности минеральных веществ для различных видов животных из кормов, добавок и природных минеральных источников, подготовка справочных таблиц по общему содержанию и усвояемой форме макро- и микроэлементов в кормах различных зон страны;

– расширение исследований по изучению взаимодействия между микроэлементами, витаминами, антибиотиками и другими БАВ в кормах и организме животных, совершенствование рецептуры премиксов в соответствии с направлением продуктивности, возраста и вида животных;

– выяснение роли лантаноидов в обмене веществ и в питании животных;

– разработка программы кормления животных для получения экологически чистых и биологически полноценных продуктов питания;

– стандартизация методов определения макро- и микроэлементов в биологических объектах.

Литература

1. Авцын А.П. и др. Микроэлементозы человека. М., 1991: 446.
2. Бингам Ф.Т. и др. Некоторые вопросы токсичности ионов металлов. М., 1993: 368.
3. Вайзенен Г.Н. и др. Зоотехния, 1995, 9: 14-19.
4. Гащак С.П. Оценка эффективности применения ферроцианидов для снижения содержания ¹³⁷Cs в продуктах животноводства. Автореф. дисс..., Обнинск, 1995.
5. Комбикорма, кормовые добавки и ЗЦМ для животных. Справочник. М., 1990: 304.
6. Кузнецов С.Г. С.-х. биология, 1991, 2: 16-33.
7. Кузнецов С.Г. Биологическая доступность минеральных веществ для животных. Обзор. информ., М., 1992: 52.
8. Кузнецов С.Г. Использование природных цеолитов в животноводстве. Обзор. инф. М., 1994: 44.
9. Кузнецов С.Г. С.-х. биология, 1996, 2.
10. Кузнецов С.Г. Особенности минерального питания крупного рогатого скота. Обзор. инф. М., 1996.
11. Лебедев Н.И. Использование микродобавок для повышения продуктивности жвачных животных. Л., 1990: 96.
12. Нормы и рационы кормления с.-х. животных. Справочное пособие. Ч. 1. Крупный рогатый скот (ред. А.П.Калашников и др.). М., 1994: 400.
13. Рекомендации по витаминно-минеральному питанию высокопродуктивного молочного скота. Минск, 1992: 32.
14. Савин В.А. Эффективность использования продуктов переработки льна-долгунца в рационе лактирующих коров. Автореф. дисс.... СПб, 1995: 20.
15. Слесарев И.К., Пилук Н.В. Минеральные источники Беларуси для животноводства. Жодино-Минск, 1995: 277.
16. Таланов Г.А., Смирнов А.М. С.-х. биология, 1994, 2: 34-42.
17. Федин А.С., Кокорев В.А. и др. Биологическое обоснование потребности животных в кремнии. Саранск, 1993: 92.
18. Alfthan G. Norw.J.Agric.Sci., 1993, Suppl. 11:127-133.
19. ARC. The nutrient requirements of ruminant livestock. Commonw. Agric. Bureaux, 1980: 351.
20. Buckley W.T. Canad.J.Anim.Sci., 1991, 71, 1: 155-166.
21. Gissel-Nielsen G. Norw.J.Agric.Sci., 1993, Suppl., 11: 135-140.
22. Kamphues J. Ubersichten zur Tierernahrung, 1980, 18, 2: 165-176.
23. Kume S. J.Agric.Sci., 1992, 119, 3: 199-207.
24. Kume S. et al. Bull.Kyushu Natl.Agric.Exp.Stn., 1991, 26: 311-359.
25. Kuznetsov S.G. Soviet Agric.Biology, 1990, 2: 1-6.
26. NRC. Nutrient requirements of dairy cattle. Wash., 1988: 157.
27. Varo P. Norw.J.Agric.Sci., 1993, Suppl., 11: 151-158.

Повышение биологической полноценности молока на основе оптимизации витаминного и микроэлементного питания высокопродуктивных коров

Н.И.Клейменов, А.П.Ярошкевич

В настоящее время проблема качества молока и других продуктов животноводства приобрела крайне острый характер. В связи с низким качеством кормов и несбалансированным кормлением, несоблюдением ветеринарно-санитарных требований к технологиям и гигиене содержания коров снижается не только их продуктивность, но и качество молока, его биологическая полноценность. В молоке обнаруживаются нитраты, пестициды, тяжелые металлы, ингибирующие и другие вредные вещества в количествах, превышающих предельно допустимые концентрации. Это создает опасность для здоровья человека, особенно для детей. Одновременно наблюдается снижение содержания в молоке жира, белка и витаминов. Оценка молока, исходя из требований ГОСТ 13264-88, показывает, что в последние годы резко снизилось производство молока высшего сорта. Поэтому молочная промышленность испытывает серьезные проблемы с сырьем для приготовления продуктов детского и диетического питания.

Одной из причин низкого качества молока является неполноценность кормления коров. Поэтому сбалансированность рационов молочного скота по всем элементам питания является не только условием реализации их генетического потенциала, в значительной степени обуславливающим здоровье, иммунологический статус, продуктивное долголетие, воспроизводительные способности животных, но и определяющим качество и технологические свойства молока.

Среди факторов, определяющих биологическую полноценность рационов высокопродуктивных коров и качество продукции, уровни А, D, E – витаминного и микроминерального питания относятся к числу критических, лимитирующих реализацию продуктивных возможностей, что обусловлено их функциональной ролью, взаимодействием и сопряженностью.

На основе проведенных экспериментальных исследований установлено, что увеличение уровня витаминов А, D, E в рационах высокопродуктивных коров на 30–35 % по отношению к действующим в настоящее время ориентировочным нормам, обеспечивает повышение их продуктивности на 4,4–5,6 %, увеличение продукции молочного жира на 4,8–6,0 % и молочного белка на 4,9–8,2 %. Кроме того отмечено существенное повышение концентрации витаминов А и E в молоке коров, получавших витаминные добавки — соответственно на 14,2 и 13,4 %.

Одним из показателей биологической полноценности и степени экологической чистоты молока является содержание в нем нитратов. В наших опытах в молоке коров, получавших повышенную норму витаминов, отмечен минимальный уровень содержания нитратного азота — на 36,5 % меньше в сравнении с контролем.

Известно, что показатель количества соматических клеток в молоке является достоверным отражением физиологического состояния молочной железы, а также индикатором жизнеспособности и общего иммунологического потенциала организма. Результаты исследований показали закономерное уменьшение количества соматических клеток (до 84,5 тыс/мл, что соответствует требованиям международного теста) в молоке коров, находящихся на повышенном уровне витаминного питания. Это обусловлено лучшим иммунологическим статусом животных и способностью к регенерации секреторных клеток молочной железы, биологическим индуктором которой является

витамин Е. Повышенный уровень витаминного питания обеспечил также улучшение воспроизводительных функций коров.

Вторым этапом исследований явилось изучение взаимодействия витаминов и микроэлементов, оптимизация микроэлементного питания и определение оптимального уровня микроэлементов в рационах высокопродуктивных коров. Микроэлементы, как известно, играют огромную роль в активации ферментных систем организма, регулировании биохимических процессов в рубце, образовании предшественников молока, жизнедеятельности молочнокислых бактерий. Как правило, корма, входящие в рацион молочного скота, по своему составу часто не удовлетворяют потребности животных в микроэлементах. Необходимость балансирования микроминерального питания молочного скота вызвана не только их дефицитом в кормах, но и тем, что норма содержания микроэлементов в рационе зависит от их доступности к усвоению и функциональной активности.

Исследования последних лет свидетельствуют о положительном влиянии добавок цинка в рацион высокопродуктивных коров на витаминный состав молока. Цинк относится к лимитированным микроэлементам, функциональная и биологическая роль которого взаимосвязана с витаминами А, С, группы В. Биохимические функции цинка в организме животных многообразны. Он влияет на рост, развитие, обмен нуклеиновых кислот, белков, углеводов. Участие в этих процессах связано с действием ферментов, для которых цинк служит необходимым компонентом или активатором. Цинк плазмы крови, слабо связанный с белками, служит непосредственным источником цинка молока, в котором он находится в стабильном или лабильном комплексах с казеинами. Около 10 % цинка молока содержится в ультрафильтрующей фракции. С жиром и альбуминами связано незначительное количество цинка. В молозиве концентрация цинка в 3–5 раз выше, чем в молоке. Принято считать, что 88–90 % цинка в молоке связано с белками, а остальная часть его находится в ионном состоянии. С жировыми шариками цинка соединено мало, но фермент щелочная фосфатаза, которая тесно связана с мембраной жировых шариков, считается цинксодержащим ферментом. Известно, что содержание цинка коррелирует с содержанием белка в молоке. Цинк, связанный с жировой фазой, концентрируется в основном на оболочках жировых шариков и при сбивании масла переходит в пахту.

Биологическая роль цинка, содержащегося в молоке, в значительной мере определяется его присутствием в составе многих металлоферментов и тем, что он является активатором ферментативных процессов, играющих роль в молочнокислом и спиртовом брожении (при производстве кефира, кумыса) и принимает активное участие в процессах жизнедеятельности микроорганизмов, образующих углекислоту и синтезирующих ароматические вещества (при производстве всех видов кисломолочных продуктов, сыров). Цинк играет существенную роль в синтезе витаминов группы В микрофлорой рубца и культурами молочнокислых заквасок, применяемых при выработке кисломолочных продуктов и сыров. Влияние цинка на жизнедеятельность микроорганизмов многогранно. Недостаток цинка в молоке отрицательно сказывается на жизнедеятельности микробных клеток, нарушает гликолиз, снижает образование нуклеиновых кислот и тормозит белковый синтез. Таким образом, количественное изменение содержания цинка в молоке может вызвать функциональные изменения ферментных систем молочнокислых бактерий и тем самым влиять на биохимические процессы и качество молочных продуктов, технология которых основана на использовании культур молочнокислых бактерий (все виды кисломолочных продуктов, творожных изделий, мягких и твердых сыров).

Установлена взаимосвязь между содержанием витамина А в молоке и уровнем цинка в рационе. Механизм взаимодействия между

цинком, витамином А и каротином обусловлен причастностью цинка к мобилизации витамина А из печени, синтезу ретинолсвязывающего белка и, следовательно, к транспорту витамина А кровью, а также к процессу превращения каротина в витамин А. Поскольку цинк стимулирует мобилизацию ретинола из печени и его транспорт через слизистую кишечника, можно допустить аналогичную функцию доставки и в молочную железу. Не исключено, что цинк причастен как к транспорту ретинола и каротина кровью к молочной железе, так и к метаболизму каротина и витамина А в тканях молочной железы, т.е. к лактогенезу.

Сопряженное взаимодействие цинка проявляется и в отношении других витаминов : ионы цинка активируют синтез витамина С, а витамин D оказывает влияние на всасывание цинка. Кроме того, цинк относят к биотическим элементам, ионы которых "смягчают" токсическое действие тяжелых металлов. Отмечено уменьшение уровня свинца в организме при добавках цинка в рацион.

Современная наука и практика пока не располагают абсолютно эффективными и специфическими средствами нейтрализации вредных веществ как в растительных кормах, так и в организме животных. В этой связи неизмеримо возрастает роль витаминов и микроэлементов в повышении устойчивости организма животных и человека к экологическим факторам риска.

Витамины (А, Е, С) запускают иммунологические механизмы у новорожденных, индуцируют иммунологические функции. Витамин А и бета-каротин обладают антиканцерогенными свойствами, ингибируют и выводят из организма радионуклиды. Наряду с многогранной функциональной нагрузкой витамины и макроэлементы являются антимутагенами и входят в структуру веществ, обладающих антимутагенными свойствами.

Назрела необходимость оптимизации витаминного и микроминерального питания молочного скота не только с учетом их функциональной роли, но и задачей получения экологически чистой и биологически полноценной молочной продукции.

В связи с вышеизложенным нами проведено изучение качества молока (состав, биологические и технологические свойства) при различном уровне цинка в рационе на фоне оптимальной (повышенной на 30–35 %) нормы А, D, Е-витаминной обеспеченности. Эта работа комплексная, она проводилась совместно с кафедрой физиологии и биохимии, а также кафедрой кормления сельскохозяйственных животных ТСХА.

Научно-производственный опыт проводился на ферме "Островцы" АО "Подмосковное" (с-з "Подмосковный") Раменского района Московской области на трех группах коров-первотелок (начиная с нетелей) черно-пестрой породы по 7 голов в каждой, аналогов по зоотехническим критериям оценки. На опыт отбирались нетели, полученные от матерей с удоем 5–6 тыс. кг молока за лактацию и находившиеся на 5–6 мес. стельности. Средняя живая масса животных на начало эксперимента составляла 400–415 кг. В каждой группе по 3 животных имели хроническую фистулу рубца (по Басову). Продолжительность опыта 244 дня (8 мес.).

Схемой опыта предусматривался различный уровень цинка в рационе: от 30 мг на 1 кг сухого вещества в рационе I-й (контрольной) группы до 45–60 мг в рационах II-й и III-й групп. I-я группа (контрольная) получала основной рацион + добавка препаратов А, D, Е из расчета 135 % потребности по ориентировочным нормам; II-я группа — основной рацион + витамины А, D, Е до уровня 135 % нормы и лигносульфонат цинка из расчета 45 мг/кг сухого вещества корма; III-я группа — основной рацион + витаминные препараты до 135 % нормы и лигносульфонат цинка из расчета 60 мг/кг сухого вещества корма.

Нетелям всех групп скармливали хозяйственный рацион питательностью 8–9 корм.ед., коровам-первотелкам — 18–19 корм.ед., составленный в соответствии с детализированными нормами. В течение эксперимента скот содержали на привязи и ежедневно предоставляли активный моцион в зимнестойловый период, в летний животные пользовались пастбищем и получали зеленые корма в стойле. Кормление — трехкратное, поение — из автопоилок. Основной рацион включал набор кормов, имеющихся в хозяйстве и отвечающий сезону года (сено, солома, силос, сенаж, корнеплоды, пивная дробина, концентраты). Недостающие макро- и микроэлементы вводили в виде минеральных добавок в рационы животных всех трех групп.

Витаминные препараты (сыпучие формы) добавляли в соответствии со схемой опыта ежедневно в течение 244 дней (микровит А активностью 325 тыс. МЕ/г; видеин D₃ — 193 тыс. МЕ/г; гранулит Е — 25 % активного начала). Препарат цинка — лигносульфонат, жидкая форма, дозировался ежедневно в соответствии со схемой опыта. Суточные дозы витаминов и цинка скармливали в смеси с концентратами.

Анализ продуктивности первотелок не выявил существенных различий между группами, имеющими различный уровень цинка в рационе. Не установлено достоверной разницы по среднесуточному удою, составившему 16,54; 15,63; 15,05 кг молока в I, II, III-й группах соответственно. Продукция молочного жира и молочного белка находилась в пределах близких или равных значений.

Физико-химические показатели молока, характеризующие его санитарно-гигиенические свойства (микробиологическую чистоту, свежесть) и натуральность (кислотность, плотность), у первотелок всех групп находились в пределах близких величин и соответствовали оптимальным требованиям стандарта, предъявляемым к молоку как продукту для цельного потребления и сырья для различного технологического использования и переработки (табл. 1).

Не выявлено значительной разницы между группами в составе белка и дисперсности казеина, среднем диаметре и массе его мицелл, значение которых находилось в пределах близких измерений, но с ясно выраженной тенденцией к повышению в молоке первотелок II-й группы.

Следует отметить, что молоко II-й и III-й групп характеризовалось большим содержанием сывороточных белков (на 8,4 % по сравнению с контрольной), связанных с иммунологической, защитной функцией.

Концентрация лактозы в молоке всех групп отражает породную и физиологическую норму (4,72; 4,702; 4,698), устойчивость которой обуславливает поддержание стабильности осмотического давления в молочной железе. Проявилась тенденция к повышению содержания витаминов А и Е в молоке первотелок II-й опытной группы соответственно на 3,5 и 3,2 % (табл. 2).

Таблица 1

Физико-химические показатели и состав молока

Показатель	Группа коров			В % к I группе	
	I	II	III	II	III
Плотность, °А	29,5	30,0	29,25	101,7	99,2
Кислотность, °Т	16,5	16,75	17,25	101,5	104,5
Сухое вещество, %	12,62	12,6	12,39	99,8	98,2
Содержание жира, %	3,958	3,908	3,885	98,7	98,2
Содержание белка, %	3,078	3,102	3,091	100,8	100,4
в т.ч. казеина, %	2,45	2,48	2,41	101,2	98,4
сывороточных белков, %	0,628	0,622	0,681	99,1	108,4
Средний диаметр мицелл казеина, °А	710	717,5	707	101,1	99,6

Средняя масса мицелл казеина, млн.ед.мол.м.	149,0	153,35	146,99	102,2	98,7
Содержание лактозы, %	4,72	4,702	4,698	99,6	99,5
Содержание соматических клеток, тыс.мл	49,8	54,7	43,7	109,8	87,75
Сычужная свертываемость молока, мин., сек	36 ⁴⁵	36 ¹⁰	37 ³⁵	98,4	102,3

Таблица 2

Содержание витаминов в молоке

Группа коров	А		Е	
	ИЕ/л	% к I группе	ИЕ/л	% к I группе
I	2188	100	3,1	100
II	2264	103,5	3,2	103,2
III	2143	97,9	2,85	91,9

Отмечено также повышение содержания гамма-глобулинов в сыворотке крови во II-й и III-й опытных группах по сравнению с контрольной (соответственно на 8,64 и 7,05 %). Аналогичная тенденция, но в меньшей степени, проявилась и в отношении общего белка (табл. 3).

Следовательно, повышение уровня микроминерального питания (по цинку до 45–60 мг/кг сухого вещества) на фоне сбалансированной А, D, Е-витаминной обеспеченности является стимулирующим фактором иммунологического потенциала животных.

Следует особо подчеркнуть как положительный факт низкое содержание соматических клеток в молоке коров всех групп (на границе минимального предела). В молоке первотелок III-й опытной группы, получавшей повышенное количество цинка — 60 мг/кг сухого вещества рациона, количество соматических клеток было минимальным — 43,7 тыс/мл, на 12,2 % меньше, чем в контрольной (табл. 1).

Таблица 3

Содержание общего белка и гамма-глобулинов в сыворотке крови первотелок

Группа коров	Общий белок		Гамма-глобулины	
	г %	% к I группе	%	% к I группе
I	7,56	100	29,51	100
II	7,84	103,7	32,06	108,64
III	7,68	101,59	31,59	107,05

Молоко всех групп характеризовалось хорошей сыропригодностью по основному критерию оценки технологического назначения — скорости сычужной коагуляции с лучшими показателями во II-й опытной группе, что взаимосвязано с количественным содержанием казеина и дисперсностью мицелл, образующих структурный каркас сычужного сгустка и обеспечивающих его плотность и эластичность (табл. 1).

Концентрация веществ, определяющих биологическую полноценность молока (витаминов, микроэлементов, аминокислот, ферментов и др.) зависит от породы скота и изменяется в молоке в течение лактации и по сезонам года. В пределах закономерностей действия каждого из указанных факторов (как фона) степень изменения и их общий уровень зависят от полноценности кормления (особенно по показателям витаминной активности, содержанию микроэлементов и совокупных показателей, характеризующих биологические свойства молока как среды для развития используемых молочнокислых бактерий). Важнейшим критерием оценки биологической

полноценности молока как среды для роста и развития применяемых в молочной промышленности молочнокислых бактерий, является показатель интенсивности размножения индикаторной культуры *Str. diacetylactis* по накоплению биомассы клеток.

Молоко коров всех групп характеризовалось высокой интенсивностью роста индикаторной культуры, с лучшими показателями накопления биомассы клеток во II-й опытной группе (увеличение количественного роста в суточном возрасте на 12,1 % по сравнению с контрольной) (табл. 4).

Отличительной особенностью высококачественных кисломолочных продуктов является приятный вкус и выраженный специфический аромат, создающийся в результате жизнедеятельности молочнокислых стрептококков, применяемых в технологических заквасках. Вкусовой букет этих продуктов обуславливается накоплением аминокислот, диацетила, ацетоина, летучих кислот и других ароматических веществ, из которых ведущая роль принадлежит диацетила.

Таблица 4

Рост и энергия кислотообразования *Str. diacetylactis*

Группа коров	Бактериальные клетки		Кислотность	
	млн./мл	% к I группе	°Т	% к I группе
I	365	100	78,5	100
II	409	112,1	80,5	102,5
III	342	93,7	82,0	104,5

Таблица 5

Энергия ароматообразования *Str. diacetylactis* в молоке

Группа коров	Диацетил+ацетоин		Летучие кислоты	
	мг/л	% к I группе	мл 0,1N NaOH	% к I группе
I	482	100	7,2	100
II	548	113,7	7,4	102,8
III	463	96,1	6,8	94,4

Полученные данные свидетельствуют о том, что в процессе развития индикаторной культуры синтез диацетила и ацетоина проходил интенсивно в молоке коров всех групп, при этом проявилась закономерность увеличения концентрации его в культуральной среде молока II-й опытной группы (на 13,7 % по сравнению с контрольной), что взаимосвязано с биомассой клеток и отражает аналогичную динамику.

Все образцы молока характеризовались достаточно высоким уровнем накопления летучих кислот, концентрация которых в культуральной среде находилась в пределах близких значений и составляла соответственно по группам 7,2; 7,4; 6,8 с тенденцией к повышению во II-й опытной группе (на 2,8 %).

Таким образом, суммарный уровень показателей, характеризующих интенсивность роста индикаторной культуры, биосинтез диацетила и ацетоина, летучих кислот в молоке коров II-й опытной группы с уровнем цинка в рационе 45 мг/кг сухого вещества свидетельствует о более высокой его биологической полноценности с точки зрения факторов роста, жизнедеятельности и биосинтеза молочнокислыми бактериями веществ, определяющих вкусовые достоинства и качество кисломолочных продуктов. Следовательно, добавка цинка в рацион первотелок до указанного уровня 45 мг/кг сухого вещества корма оказала положительное влияние на количественный рост тестовой культуры, стимулировала образование диацетила и ацетоина и протеолитические свойства культуры.

При изучении биологической полноценности молока как питательной среды для развития молочнокислых бактерий проводилась выработка простокваши на чистой культуре ароматообразующего стрептококка и органолептическая оценка ее в суточном возрасте. Простокваша, приготовленная из образцов молока всех групп, имела хорошо выраженный вкусовой букет и аромат, отличную консистенцию (по 5-ти балльной шкале оценки). В продукте из молока II-й опытной группы отмечен более полно выраженный специфический приятный вкус и аромат, что, очевидно, обусловлено большей концентрацией диацетила, ацетоина, летучих кислот и накоплением свободных аминокислот (табл. 6).

Таблица 6

Органолептическая оценка простокваши

Группа коров	Вкус и аромат		Консистенция	
	балл	% к I группе	Балл	% к I группе
I	4,8	100	5	100
II	5,0	100,4	5	100
III	4,96	99,6	5	100

В плане повышения экологической чистоты молока и молочных продуктов проведены исследования, имеющие целью снижение отрицательного влияния повышенного количества нитратов в кормах. Как известно, современная наука и практика не располагает абсолютно эффективными и специфическими средствами нейтрализации нитратов как в растительных кормах, так и в организме животных. Токсическое действие нитратов снижают дачей животным препаратов витамина А, аскорбиновой кислоты, тиамина, пиридоксина. Высоким терапевтическим эффектом обладает тиосульфат натрия ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). В настоящее время тиосульфат натрия в ветеринарной и медицинской практике применяют парентерально как десенсибилизирующее средство, нормализующее коллоидное равновесие крови, снижающее эозинофильную реакцию сенсibilизированного органа. Механизм действия основывается на расщеплении соединения тканями с повышенной кислотностью, в результате чего освобождается сера в состоянии высокой, близкой к молекулярной, дисперсности, которая обладает значительной биологической активностью. Положительное действие тиосульфата натрия заключается в выполнении роли активного донора электронов для всей цепочки восстановления нитратов в рубце до аммиака (благодаря наличию в его молекуле атома серы) и использованию в качестве источника неорганического сульфида для синтеза органических соединений серы микроорганизмов, повышая тем самым эффективность утилизации избыточного аммиака нитратного происхождения в микробный белок. Положительная роль тиосульфата натрия заключается в оптимизации соотношения общего азота и серы при увеличении концентрации нитратов в сыром протеине рационов, а также в индуцировании, поддержании благоприятных (оптимальных) условий среды (рН 6,0–7,0) для нитрат-нитритредуктазной активности микроорганизмов.

Установлено, что с увеличением уровня нитратного и других форм небелкового азота содержание серы в кормах уменьшается. Сера является необходимым веществом, обеспечивающим оптимальный рост микроорганизмов рубца. Дефицит этого элемента для жвачных вероятен при недостатке кормового белка или высоких концентрациях небелкового азота. Серусодержащие аминокислоты характеризуют постоянство соотношения аминокислот в микробном белке, а потребность рубцовых микроорганизмов в азоте тесно связана с их потребностью в сере.

При синтезе микроорганизмами рубца серусодержащих аминокислот реакция превращения серы сульфатной (+6) в сульфидную (-2) требует 8 электронов и 2 молекулы АТФ. Для процесса восстановления нитратного азота в аммиак также необходимы затраты энергии и источники электронов. Использование тиосульфата натрия в рационах жвачных, содержащих повышенный уровень нитратов, позволяет сократить энергетические затраты микрофлоры рубца на трансформацию серусодержащих соединений и обеспечить процесс восстановления нитратного азота дополнительным источником энергии электронов.

Исследования показали, что добавка в рацион коров тиосульфата натрия (в количестве 25 г на голову в сутки) не оказала существенного влияния на уровень молочной продуктивности коров. Это объясняется тем, что исследования проводились на фоне полноценных рационов, сбалансированных по всему комплексу питательных и биологически активных веществ, включая обеспеченность животных энергией, протеином, легкопереваримыми углеводами, макро- и микроэлементами и витаминами. Тем не менее отмечено положительное влияние тиосульфата натрия, на фоне повышенного на 35 % уровня витаминов в рационе, на некоторые показатели, характеризующие качество и биологические свойства молока: возросло содержание витамина А и каротина в молоке, снизилось содержание в нем мочевины и нитратного азота.

Таковы основные результаты исследований, определившие ряд направлений в решении проблемы повышения качества и биологической полноценности молока и молочных продуктов.

Эффективность рационов, сбалансированных по микроэлементам, в кормлении сухостойных коров

Л.В.Абгарян

*Армянский научно-исследовательский институт
ветеринарной медицины*

В условиях промышленной технологии животноводства наибольшее значение приобретают проблемы профилактики нарушений обмена веществ у коров-матерей и болезней новорожденных телят, наносящих животноводству большой экономический ущерб. Проявление микроэлементной недостаточности у животных в каждой биогеохимической провинции имеет свои зональные особенности, зависящие от различного сочетания и содержания микроэлементов в почве, воде, кормовых культурах. В связи с этим проведение работ по изучению обеспеченности животных микроэлементами в конкретных почвенно-географических зонах позволит более эффективно применять минеральные добавки животным для повышения их продуктивности, получения и сохранения здорового приплода.

Исследования, проведенные в ряде хозяйств Армении, показали, что принятые кормовые рационы, обеспечивающие потребности животных по питательным веществам, содержат недостаточное количество микроэлементов (в среднем йода на 47,6 %, меди на 28,5 %, марганца на 27,9 %, кобальта на 27,2 %, цинка на 39,6 %).

В научно-хозяйственном опыте на 60 клинически здоровых коровах, разделенных на две группы по 30 голов, изучена эффективность применения минеральной смеси, состоящей из солей дефицитных для данной зоны микроэлементов, приготовленной с учетом потребности животных и фактического содержания их в кормах, в сравнении с использованием премикса П60-1, выпускаемого комбикормовой промышленностью. С учетом содержания

микроэлементов в рационе и во внесенных добавках (в переводе на чистый элемент) коровы опытной группы получали в сутки йода 7,83 мг, меди — 101 мг, марганца — 560 мг, кобальта — 10,9 мг и цинка — 490 мг, что обеспечивало потребность животных в указанных элементах. Коровы контрольной группы дополнительно к основному рациону получали премикс П60-1.

Анализ результатов проведенных исследований показал, что введение в рацион коров опытной группы недостающих микроэлементов с учетом потребности животных и фактического содержания их в кормах, в сравнении с коровами, получавшими премикс П60-1, способствовало нормализации микро-макроэлементного, белкового обмена в материнском организме, что положительно сказалось и на состоянии новорожденных телят.

Возрастная динамика формирования и минерализации костной ткани у молодняка свиней

И.И.Стеценко

Ульяновский сельскохозяйственный институт, Ульяновск, Россия

За последние 10–15 лет значительно возросло число нарушений опорно-двигательного аппарата животных (8, 9, 11, 12), что вызвало интерес к изучению костной ткани свиней разных возрастных групп как на органном, так и на тканевом и молекулярном уровнях. Несмотря на ряд достижений в изучении биохимических структур костной ткани, современная наука не располагает стандартами, характеризующими развитие костной ткани в возрастном аспекте у различных пород свиней. В связи с этим перед нами стояла задача изучить закономерности формирования и минерализации костной ткани свиней в период антенатального развития, выращивания и откорма. Эксперименты проводили на свиньях крупной белой породы в условиях вивария ВНИИФБиП с.-х. животных. Супоросных и подсосных свиноматок, а также выращиваемый молодняк содержали на типовых рационах, сбалансированных по основным питательным веществам, витаминам, макро- и микроэлементам (6), при соблюдении соответствующих зоотехнических и ветеринарных требований. Отъем поросят от маток проводили в 28-суточном возрасте. Убой животных проводили на 45, 60, 90 суток антенатального развития и в 1, 28, 42, 60, 120, 180, 210, 240 и 270 суток постнатального онтогенеза, по 3 головы в каждый возрастной период. На анализ брали теменную, подвздошную, локтевую кости и поясничные позвонки. В сухом, обезжиренном порошке костной ткани определяли содержание оксипролина и коллагеновых белков, тирозина и неколлагеновых белков, гексозаминов и уроновых кислот, общего азота, золы, кальция, магния и фосфора методиками, описанными нами ранее (4). Поскольку очищенный препарат коллагена костной ткани свиней содержит 18 % азота (10), то количество азота коллагеновых белков определяли, умножая концентрацию коллагена на 0,18. Концентрацию лимонной кислоты определяли методом Френкеля Л.А. (7). В костной ткани определяли активность фосфогидролаз, лактатдегидрогеназы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (1, 2, 4). Во время убоя проводили обвалку полутуши с целью установления соотношения в ней мышц и костей.

Анализ показателей развития костной ткани свиней в утробный период показал, что наиболее интенсивный рост костей скелета происходит в период 45–60 сут антенатального развития, их размеры за это время удвоились. Содержание влаги в плодный период уменьшилось на 20–25 %, причем активная дегидратация скелета, отражающая процесс физиологического созревания костной ткани, наблюдалась в период от 60 до 90 суток пренатального развития. Содержание зольного остатка

костной ткани за период утробного развития возросло до 43–55 %. Причем существенное повышение содержания золы в большинстве исследованных костей наблюдалось до 90 суток внутриутробного развития, после чего, вплоть до рождения, концентрация минеральных веществ в этих костях практически не изменялась. Аналогичная закономерность обнаружена и в динамике основных компонентов минеральной фазы костной ткани — кальция, фосфора и магния. В период от 45 сут развития плода и до рождения поросят наблюдалось увеличение отношения Ca/P в костной ткани, что связано с повышением доли гидроксиапатита и уменьшением фракции аморфного фосфата кальция в процессе ее созревания. Наиболее существенное повышение этого показателя также связано с периодом 45–60 сут утробного развития. Отношение кальция к азоту, характеризующее минеральную насыщенность костного матрикса, возрастало в период до 90 сут развития плодов, что свидетельствует об активной оссификации скелета в этот период.

У новорожденных поросят отношение кальция к азоту и кальция к коллагеновым белкам имело тенденцию к понижению в большинстве исследованных костей (табл. 1), что связано с замедлением отложения зольных элементов при значительном повышении содержания коллагеновых белков. Общее же количество азотсодержащих компонентов матрикса в расчете на 100 воздушно-сухой костной ткани за период внутриутробного развития понижалось на 54–80 %. В то же время концентрация коллагеновых белков повысилась с 7–9 % у 45-суточных плодов до 12–16 % у новорожденных поросят, а содержание неколлагеновых белков за этот период уменьшилось в 2–2,5 раза и составило у новорожденных животных 4–6 г/100 г воздушно-сухой ткани костей. Активная минерализация костного матрикса плодов свиней сопровождалась увеличением концентрации в костной ткани лимонной кислоты. В период 45–60 сут пренатального онтогенеза ее содержание возросло в 3–5 раз, а у новорожденных поросят составило 3–4 ммоль/100 г костной ткани. Отличительной особенностью костного матрикса 45-суточных плодов было высокое содержание гликозаминогликанов (ГАГ)–0,73–1,07 г уроновой кислоты в 100 г сухой ткани. К 60 сут антенатального онтогенеза содержание ГАГ понизилось до 0,43–0,72 г уроновой кислоты в 100 г ткани. Эта тенденция понижения количества гликозаминогликанов сохранилась до конца плодного периода. Коэффициент отношения гексозамины:оксипролин понизился за время от 45 сут внутриутробного развития до рождения с 3,5 до 0,5, что отражает процесс созревания костного матрикса. Активность фосфогидролаз, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и лактатдегидрогеназы костной ткани повышалась в период до 90 сут антенатального развития. Доля массы костей от массы тела в конце плодного периода составляла 20–30 % от массы тела. В дальнейшем на протяжении первых 120 сут постнатального развития доля массы скелета понижалась до 17 %. Соотношение мышц и костей в туше плавно повышалось от 1,33 у 1-месячных поросят до 1,73 у 4-месячных.

Таблица 1

Динамика компонентов органического матрикса и минеральной фазы ткани подвздошной кости молодняка свиней (г/100 г обезжиренной, воздушно-сухой ткани)

Возраст (сутки)	Кальций	Фосфор	Коллаген	Уроновые кислоты	Са : общий азот
Антенатальный период					
45	2,81±0,02	3,56±0,03	7,35±0,03	1,024±0,010	0,40±0,03
60	8,55±0,31	3,08±0,08	6,66±0,17	0,678±0,067	1,17±0,02
90	9,14±0,18	6,00±0,05	11,10±1,38	0,567±0,010	1,60±0,01

Постнатальный период					
1	6,85±0,05	5,33±1,05	16,25±2,86	0,478±0,080	1,11±0,14
28	–	9,54±0,33	16,96±1,39	0,42±0,067	–
42	13,03±1,97	6,25±1,56	18,72±2,85	0,336±0,016	2,72±0,09
60	15,15±0,64	9,16±1,16	17,90±0,40	0,260±0,028	2,21±0,31
90	11,66±1,03	6,33±1,65	15,00±1,32	0,343±0,052	2,20±0,26
120	14,35±0,34	9,32±1,23	16,59±0,87	0,191±0,005	2,62±0,14
180	12,19±0,24	8,72±0,02	22,17±0,13	0,171±0,009	2,22±0,20
210	12,83±0,27	8,56±0,17	21,91±0,88	0,152±0,011	2,20±0,05
240	11,83±0,37	8,04±0,38	18,97±1,17	0,148±0,009	1,92±0,06
270	10,44±0,20	8,02±0,13	25,57±0,53	0,152±0,020	1,71±0,03

Наиболее интенсивный рост костей в длину отмечался в период до 60-суточного возраста животных, когда длина костей увеличилась в 2–2,5 раза по сравнению с новорожденными животными. Толщина стенок диафиза пястных и плюсневых костей активно увеличивалась только в течение первых 42 сут жизни животных. Это согласуется с данными других исследователей (3,6) о том, что эти кости достигают окончательной величины всех промеров раньше остальных костей конечностей.

Созревание костной ткани за первые 4 мес выращивания поросят сопровождалось дальнейшей потерей воды из костей, наиболее выраженной в периоды 28–60 и 90–120-суточного возраста животных, когда дегидратация скелета составляла от 23 до 57 %. Содержание воды в костной ткани поросят на протяжении 4-х месяцев постнатального онтогенеза менялось не существенно. Наиболее интенсивное отложение кальция, фосфора и магния наблюдалось в период 1–60 сут развития животных. Последующее увеличение минеральной насыщенности матрикса на 15–33 % обнаружено у 120-суточных поросят. Высокие значения отношения Са/Р у выращиваемых животных обнаружены в 42- и 90-суточном возрасте, что отражает накопление кристаллической фракции фосфата кальция. Содержание коллагеновых белков в период 1–42 сут постнатального онтогенеза увеличивалось на 15–69 %. К 60 суткам развития поросят уровень коллагеновых белков понижался в различных костях на 20–40 %, однако в последующие месяцы выращивания концентрация коллагена в костной ткани постепенно возрастала. Повышение содержания коллагеновых белков в костной ткани 42- и 120-суточных поросят сопровождалось одновременным сокращением других азотсодержащих компонентов матрикса. Понижение уровня гексозаминов в матриксе с 1,0–0,5 г у новорожденных до 0,7–0,2 г в 100 г костной ткани 4-месячных животных привело к уменьшению отношения гексозаминогликаны : оксипролин за этот период с 0,26–0,73 до 0,089–0,29. Концентрация лимонной кислоты повышалась в большинстве костей на протяжении первых трех месяцев постнатального онтогенеза параллельно с накоплением минерального вещества. Возрастание активности ферментных систем костной ткани к 42–60 суткам постнатального онтогенеза свидетельствует о высокой активности метаболических процессов в костной ткани в этот период.

Изучение остеогенеза у молодняка свиней в период откорма, проведенное на 20 поросятах, показало значительное опережение роста мышечной ткани в этот период по сравнению с ростом скелета, что выразилось в повышении отношения массы мышц в туше к массе костей с 1,73 у 4-месячных поросят до 5,16–к 9-му месяцу жизни животных. Доля массы костей в живой массе тела за указанный период понизилась с 17 до 10–11 %.

Плотность большинства костей возрастала от 4 до 7 мес постнатального онтогенеза. К 9 месяцу жизни животных плотность костной ткани имела тенденцию к понижению за счет уменьшения

содержания минерального компонента. Обнаружена прямая коррелятивная связь плотности костей с зольностью ($r=+0,80$). Максимальная концентрация минеральных компонентов костной ткани свиней в период откорма наблюдалась у 7-месячных животных. Содержание золы в этом возрасте составляло 55–64 г, кальция–13–15 г и фосфора–8,5–10 г в 100 г обезжиренной воздушно-сухой ткани. К 9-му месяцу постнатального онтогенеза наблюдалось понижение концентрации минеральных компонентов в костной ткани. Отношение Са/Р имело тенденцию к понижению в ряде костей в период от 4 до 6 мес жизни поросят на 8–11 % и практически не менялось до 7-го месяца постнатальной жизни. Однако к 9-месячному возрасту коэффициент Са/Р понизился во всех исследованных костях на 9–18 %, что отражает снижение кристалличности минеральной фазы. Минеральная насыщенность белков матрикса понижалась к 6-му месяцу развития на 15–34 %, что обусловлено повышением на 24–43 % содержания коллагеновых белков. У 9-месячных свиней отношение кальция к азотсодержащим компонентам матрикса было наименьшим за весь период откорма. Обнаружено понижение количества уроновых кислот и гексозаминов в костной ткани в период от 4 до 9 мес развития свиней. Соотношение гексозаминосодержащих компонентов и коллагеновых белков за период откорма понизилось до 0,07–0,127 вследствие убыли неколлагеновых белков и преобладания коллагенов в зрелом матриксе костной ткани.

Неравномерность процессов формирования и минерализации костной ткани свиней в период откорма обуславливает повышенную чувствительность этой ткани к действию внешних факторов у 6- и 9-месячных животных.

Литература

1. Абашидзе У.З. Бюллетень ВНИИФБиП с.-х. жив., 1974, 3: 76-78.
2. Беляков И.М. Ветеринария, 1976, 11: 112.
3. Джумаев М. В сб. Биоморфология сельскохозяйственных и промысловых животных. Алма-Ата, 1985: 43-47.
4. Кальницкий Б.Д. и др. Методические указания по изучению минерального обмена у сельскохозяйственных животных. Боровск, 1988.
5. Мельник К.П., Клыков В.И. Локомоторный аппарат млекопитающих. Киев: Наукова Думка, 1991.
6. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных (ред. А.П.Калашников). М.: Агропромиздат, 1985.
7. Френкель Л.А. Вопр. мед. химии, 1976, 22, 3: 410-413.
8. Bollwahn W. Schweinewelt, 1982, 7, 12:322-324.
9. Brennon J.J., Ahevne F. Can. Anim. Sci., 1986, 66, 3:777-790.
10. Diskerson J.W. Biochem. J., 1962, 82, 1: 47-55.
11. Nacono T., Brennan J.J., Ahevne F. Can. J. Anim. Sci., 1987, 67: 883-890.
12. Sabec D. Proceed. from the 6th LPVS Congr., Copenhagen, 1980: 331.

Использование природных и синтетических соединений в кормлении сельскохозяйственных животных

**К.Т.Ташенов, А.Е.Кожаметов, Казкен.Т.Ташенов,
У.А.Дербисалиев**

Институт физиологии НАН РК, Казахстан

На овцах и телятах с фистулой рубца и дуоденальным анастомозом изучали влияние бентонита, мочевины и цеолита на процессы пищеварения и обмена веществ. Установлено, что скармливание животным цеолита в количестве 5 % от общего объема рациона увеличивает в рубце содержание общего и белкового азота, повышает образование ЛЖК и расщепление клетчатки и, наоборот, снижает концентрацию аммиака и образование газов. В крови увеличивалась

резервная щелочность и уменьшалось содержание кетоновых тел и мочевины.

Включение в рацион животных бентонита оказывало такое же влияние на процессы пищеварения в рубце и показатели крови, как и цеолит. Особенность бентонита состоит в том, что он в пищеварительном тракте постепенно растворяется и высвобождает адсорбированный им аммиак, который используется микроорганизмами рубца. Учитывая эти качества бентонита, в последующей серии опытов животным скармливали бентонит с мочевиной. При этом в рубцовом содержимом и химусе двенадцатиперстной кишки увеличивалось количество общего, остаточного и белкового азота, повышалось содержание заменимых и незаменимых аминокислот. Включение в рацион мочевины с бентонитом способствовало увеличению целлюлозолитической, амилотической активности смешанной микрофлоры, численности инфузорий и бактерий.

Таким образом, можно сделать заключение, что скармливание природных соединений сопровождается не только адсорбцией газообразных продуктов, в том числе аммиака, но и оказывает воздействие на ферментативные процессы и способствует росту популяций простейших и бактерий. Добавление в корм бентонита и цеолита благоприятно влияет на азотистый обмен в организме жвачных животных. Сочетание мочевины с бентонитом при достаточном количестве обменной энергии в рационе активизирует биосинтез микробильного белка в преджелудках.

Research in to some physiological parameters in rumen content of sheep, intoxicated with metals, with or without zeolit addition.

P.Georgiev

Higher Institute of Zootechnics and Veterinary Medicine, Bulgaria

An experiment with clinically healthy sheep with weight of 60–70 kg was carried out. They were divided into two groups the one was fed a ration without zeolit and the second with a ration with zeolit (15 % of the dry weight of the ration). All the animals were treated per os in the course of 60 days with 2 LD 50 zinc sulphate (8 mg/kg/m) and with 2 mg/kg/m cuprum sulphate, lead acetate and cadmium oxide. On the 61 day all the sheep were treated once with 1 LD 50 of the indicated salts of heavy metals.

The continuous experimental intoxication of sheep with salts of heavy metals does not cause considerable changes in the concentration of the hydrogen ions, but the number of Protozoa in rumen content decreases. The addition of absorbent (zeolit) to the fodder of the sheep does not lead to considerable changes in the values of these parameters. The Protozoa of genus *Ophryoscolex* was not found in the rumen content of sheep, treated with salts of heavy metals at the amounts used in the experiment.

Protozoa of genus *Isotricha* and genus *Dasithricha* were not found in the rumen content at a continuous experimental treatment (60 to 90 days) of sheep with salts of heavy metals.

Влияние разных способов обработки зерна гороха на усвояемость аминокислот цыплятами-бройлерами

И.В.Малиевская, А.И.Фицев

ВНИИ кормов им В.Р.Вильямса,
Луговая, Московская обл., Россия

Истинная питательность корма — показатель, который складывается из потребления, переваримости и эффективности использования переваримых питательных веществ. При наличии антипитательных факторов в корме эти слагаемые могут изменяться, причем весьма существенно. Так, переваримость необработанной соевой муки, содержащей ингибитор трипсина, составляет 50 %, а после тепловой обработки — 80 % (1). Известно также, что ингибиторы, понижающие протеолитическую активность пищеварительных ферментов, присутствуют во многих видах растений, но наибольшее их количество обнаружено у бобовых. Механизм действия ингибиторов трипсина, особенно часто обнаруживаемого в сое и горохе, заключается в снижении скорости отщепления от молекулы протеина аминокислот, вследствие чего всасывание их замедляется, биологическая ценность белка понижается (2).

В настоящее время существует ряд способов, обеспечивающих улучшение протеиновой питательности зерна бобовых. Наибольший интерес представляет обработка гороха, т.к. в структуре посевных площадей зернобобовых культур он занимает свыше 75 % (3). С целью сравнительной оценки физических способов обработки (гранулирование, экструдирование, плющение) во ВНИИ кормов им. В.Р.Вильямса был проведен опыт на 5 группах цыплят-бройлеров, по 20 голов в каждой. Для опыта использовали кормовой горох-пелюшку сорта "Орпела" селекции института зернобобовых культур (г. Орел). Обработку гороха осуществляли в институте комбикормовой промышленности (г. Воронеж). Опыт проводили по следующей схеме: I-я группа — ОР (основной рацион) + рыбная мука; II-я группа — ОР + горох необработанный; III-я группа — ОР + горох гранулированный; IV-я группа — ОР + горох экструдированный; V-я группа — ОР + горох плющенный (хлопья).

Первая группа служила в опыте положительным, вторая — отрицательным контролем. Состав контрольного рациона, %: кукуруза — 50, ячмень — 10, шрот подсолнечный — 20, рыбная мука — 8, сухое молоко — 3, мясо-костная мука — 5, жир кормовой — 2, премикс — 2. В опытных группах в кормосмеси содержалось, %: кукуруза — 38, шрот подсолнечный — 20, горох — 25, сухое молоко — 3, мясо-костная мука — 5, жир кормовой — 6, премикс — 2, фосфаты — 1. Питательность комбикормов представлена в табл. 1.

Таблица 1

Химический состав комбикормов (в абс. сухом веществе)

Показатели	Группы				
	I	II	III	IV	V
Сухое вещество, %	89,24	91,10	91,62	91,23	91,90
Обменная энергия, МДж	1,285	1,296	1,296	1,296	1,296
Протеин, %	22,00	21,70	21,30	21,00	21,40
Клетчатка, %	5,62	6,56	6,57	6,51	5,60
Фосфор, %	0,86	0,85	0,87	0,85	0,86
Лизин, %	1,29	0,93	1,20	1,04	1,21
Метионин+цистин, %	0,81	0,71	0,68	0,71	0,64
Триптофан, %	0,17	0,15	0,15	0,14	0,15

Все питательные вещества цыплята как в контроле, так и в опытных группах получали по норме, за исключением серусодержащих аминокислот, дефицит которых в опытных группах составил примерно 20 %, за счет введения в опытную кормосмесь 25 % гороха, который беден метионином и цистином.

После экструдирования количество жира в горохе уменьшилось с 1,34 до 0,82 %, а клетчатки — с 5,10 до 4,6 %. Содержание БЭВ при этом возросло с 57,6 до 61,0 %. Общее количество протеина до и после обработки не изменилось. При гранулировании снизилось общее содержание аминокислот с 184,45 до 173,38 г/кг. Наблюдалось снижение содержания отдельных аминокислот в протеине: метионина+цистина с 1,1 % в необработанном до 0,68 % при гранулировании и 0,78 при плющении, лизина с 7,56 % от СП до 6,56 при гранулировании, 6,26 — экструдировании и 6,59 — плющении. Процентное содержание валина при всех обработках возрастало.

Наиболее заметным было влияние указанных выше обработок на содержание ингибитора трипсина. Если в контроле (без обработки) его количество составило 297 мг/100 г муки, то после гранулирования — 86, экструдирования — 27 и плющения — 75 мг/100 г соответственно.

Данные по переваримости питательных веществ и балансу азота представлены в табл. 2. Самые низкие коэффициенты переваримости сухого вещества, протеина, а также усвоение азота организмом было у цыплят, получавших в кормосмеси необработанный горох. Причем использование азота ниже других групп было как от принятого, так и от переваренного. Все способы обработки повышали переваримость сухого вещества, протеина, жира, клетчатки, т.е. способствовали увеличению доступности указанных питательных веществ.

Таблица 2

Переваримость питательных веществ и баланс азота

Показатели	Группы				
	I	II	III	IV	V
Коэффициенты переваримости, %					
– сухого вещества	62,07	53,30	60,05	59,17	60,67
– сырого протеина	81,43	79,21	81,30	81,46	81,53
– сырого жира	50,15	61,06	63,46	61,91	64,72
– сырой клетчатки	12,83	12,37	18,39	16,52	16,39
– БЭФ	60,22	46,32	55,76	55,30	57,70
Баланс азота:					
Принято с кормом, г	38,39	37,90	37,22	36,66	37,33
Выделено с пометом, г	17,51	22,58	18,11	19,40	17,80
Усвоено организмом, г	20,88	15,32	19,11	17,26	19,53
Процент от принятого	57,53	40,42	51,34	47,08	52,32
Процент от переваренного	59,48	45,31	56,24	51,48	57,16

Таблица 3

Усвояемость аминокислот, %

Аминокислоты	Группы				
	I	II	III	IV	V
Лизин	85,7	75,7	83,0	79,8	82,0
Метионин	65,9	80,0	80,6	95,0	75,0
Треонин	81,8	69,2	83,4	73,0	75,2
Валин	88,0	75,7	82,0	83,5	82,0
Лейцин	81,3	63,3	80,9	72,2	79,0
Изолейцин	82,4	76,4	84,9	81,5	80,7
Фенилаланин	87,7	76,6	84,9	87,5	86,2
Гистидин	78,2	66,7	75,8	75,9	73,8
Аргинин	87,5	81,6	79,0	86,3	87,0
Сумма аминокислот	83,6	71,6	80,0	81,1	80,0
В том числе незаменимых	84,3	72,7	81,0	81,0	81,3

Увеличение доступности протеина после обработки гороха подтверждается данными по усвояемости аминокислот (табл. 3). Как общая сумма, так и сумма незаменимых аминокислот усваивалась лучше цыплятами контрольной группы, получавшими в рационе рыбную муку — 83,6 и 84,3 % против 71,6 и 72,7 % в отрицательном контроле (II-я группа), где скармливался необработанный горох. Обработка позволила увеличить доступность суммы аминокислот на 8,4–9,5 %, в том числе незаменимых — на 8,3–9,1 %. При скармливании гранулированного гороха наиболее высокую усвояемость из незаменимых аминокислот имели лизин, треонин, лейцин, изолейцин; экструдированного — метионин, валин, фенилаланин; плющеного — аргинин.

Особенности переваримости и использования питательных веществ, обусловленные обработкой гороха, оказали влияние на показатели выращивания цыплят, затраты корма и протеина (табл. 4). В группе с рыбной мукой (контроль) отмечен самый высокий прирост за период опыта — 1693 г, с необработанным горохом — 1511 г, что на 8,75 % ниже I-й группы. В опытных вариантах прирост цыплят оказался ниже положительного контроля на 5,8 % (3-я группа), 6,86 (4-я группа) и на 3,6 % (5-я группа). Однако он был выше контроля с необработанным горохом на 5,56; 4,36 и 8,01 % соответственно. Обработка способствовала снижению затрат корма на варианте с гранулированным горохом на 5,4 %, экструдированным — на 4,46 %, плющеном — на 7,64 %. Затраты протеина оказались ниже на 9,12; 7,4 и 8,7 % соответственно.

Контрольный убой цыплят не показал достоверных различий по убойному выходу, весу внутренних органов. Содержание протеина и аминокислот в мясе и печени однако имело определенные различия. Во всех группах, получавших горох, содержание протеина в грудной мышце было выше контрольного варианта. Количество аминокислот (общая сумма) выше контроля было в мясе II-й, III-й и IV-й групп, а незаменимых — во всех группах, получавших горох, в том числе и необработанный. в печени общая сумма аминокислот в этих группах оказалась ниже контрольной, получавшей рыбную муку. Ярко выраженная тенденция к повышению содержания отдельных аминокислот в мясе цыплят, получавших горох, наблюдалась по треонину, валину, серусодержащим аминокислотам, фенилаланину, гистидину, аргинину. Процентное содержание изолейцина в мясе этих групп было ниже контроля. В печени особенно заметное увеличение отмечено по треонину. Содержание незаменимых аминокислот было на уровне контрольной группы или ниже.

Таким образом, указанные приемы обработки способствуют повышению переваримости цыплятами сухого вещества, протеина, жира, клетчатки, а также увеличению усвоения азота организмом как от принятого, так и от переваренного в сравнении с необработанным вариантом. При всех изученных способах обработки увеличивалась доступность суммы аминокислот на 8,4–9,5 %, в том числе незаменимых — на 8,3–9,1 %.

Литература

1. Hanrahan T. Anti-nutrition factors in feed ingredients. *Pig Internal.*, 1987, 17, 3: 40-41.
2. Чабб Л.Дж. Антипитательные факторы в кормлении животных. Новейшие достижения в исследовании питания животных. 1985, 4:27-48.
3. Кутузова А.А., Новоселов Ю.К., Харьков Г.Д. и др. Увеличение производства растительного белка. М.: Колос, 1984: 191.

Влияние новых биологически активных комплексов на физиологическое состояние, продуктивность птицы и качество получаемой продукции

И.А.Бойко, О.В.Мерзленко, Н.В.Картамышева, А.В.Зуева

*Белгородская государственная сельскохозяйственная академия,
Белгород, Россия*

Повсеместное экологическое загрязнение окружающей среды привело к накоплению в почве, кормах и воде нитратов, тяжелых металлов, радионуклидов, ядохимикатов и других токсических компонентов. Это отрицательно сказывается на качестве корма, балансе питательных и минеральных веществ в рационах животных, создает стрессовые условия, обуславливает нарушение обмена веществ, изменения физиологического состояния важнейших органов и систем. У животных при этом растет заболеваемость, снижаются резистентность и все виды продуктивности.

Для профилактики и лечения нужны комплексные препараты многопланового действия, обеспечивающие активизацию защитных функций, снижение накопления вредных веществ в организме, коррекцию всех видов обмена, стимуляцию роста, развития и повышения продуктивности. С большей эффективностью для этого можно использовать новые витаминно-минеральные комплексы, разработкой и изучением которых мы занимаемся уже несколько лет.

За истекшую пятилетку разработаны, изучены, прошли широкую производственную проверку и внедряются в практику животноводства и птицеводства семь препаратов: Кальцевит - кальция аскорбинат, Нацевит - натрия аскорбинат, Анацевит - натрия аскорбинат с витамином А, Акальцевит - кальция аскорбинат с витамином А, Аскор - калия

аскорбинат, Ферровит - железа аскорбинат. В настоящее время завершена разработка Цинковита - аскорбината цинка.

Все перечисленные препараты прошли полный токсикологический контроль по методикам, рекомендованным Ветфармкомиссией на лабораторных, сельскохозяйственных животных и птице. Установлено, что новые препараты являются безвредными, т.к. их среднесмертельная доза при внутривенном введении составляет более 5000 мг/кг. Они не обладают местнораздражающим, алергизирующим, эмбриотоксическим, канцерогенным и мутагенным действием. При длительном введении (в течение шести месяцев) не оказывают отрицательного влияния на функцию и гистоструктуру жизненно важных органов и систем, не обладают побочным действием. Убой животных и птицы после применения препаратов проводится без ограничений.

Фармакологический эффект этих препаратов обусловлен действием компонентов, входящих в комплекс. При этом общим для всех является проявление свойств аскорбиновой кислоты: оптимизация обмена веществ, повышение резистентности организма, антистрессовое и ростстимулирующее действие, а также антиоксидантное и денитрифицирующее действие. Макро- и микроэлементы в соединении с аскорбиновой кислотой обладают большей биологической доступностью по сравнению с неорганическими солями и проявляют в комплексах специфические для каждого свойства. При использовании в составе премикса эти препараты не создают агрессивную (кислую) среду, чем обеспечивается длительное сохранение жирорастворимых витаминов.

Нацевит и кальцевит оптимизируют углеводный, белковый и минеральный обмен, регулируют холестеринный обмен, нормализуют функцию желудочно-кишечного тракта, повышают сопротивляемость организма к инфекционным заболеваниям, стрессам и токсинам. Применяют для профилактики гиповитаминоза С, при инфекционных заболеваниях животных и птицы, отравлениях, нарушении функции желудочно-кишечного тракта, при нарушении минерального обмена. Целесообразно использование нацевита в составе молочных смесей и ЗЦМ для молодняка с.-х. животных вместо аскорбиновой кислоты, т.к. предотвращается створаживание молока. Включение кальцевита в рацион цыплят-бройлеров способствует предотвращению патологии развития костной ткани опорных конечностей, а у несушек положительно влияет на формирование скорлупы яиц, в связи с чем процент боя и насечки яиц снижается на 7 %.

Использование нацевита в рационах мясной птицы способствует повышению сохранности поголовья на 7–9 %, увеличению прироста живой массы на 4–6 % и снижению затрат корма на 1 кг прироста на 2–3 %. Включение нацевита или кальцевита в рацион яичной птицы вместо аскорбиновой кислоты способствует повышению интенсивности яйцекладки на 6,0–7,5 %, увеличению средней массы яиц на 10–11 % и снижению количества нитратов в яйце на 18 %. Профилактическая и терапевтическая доза составляет 50 и 100 г на 1 тонну корма соответственно.

Анацевит и акальцевит — разработаны на основе натриевой и кальциевой соли аскорбиновой кислоты и витамина А в микрогранулах. Компоненты подобраны в соответствии с физиологическими потребностями птицы. Препараты активизируют окислительно-восстановительные процессы в организме, что положительно сказывается на обмене веществ, обеспечивают нормальное состояние эпителия кожи, дыхательных путей, пищеварительного тракта и половых органов. Повышают сопротивляемость организма к стрессам, токсинам и инфекционным заболеваниям. Применяют для профилактики и лечения А и С-гиповитаминозов, как стресспротекторное средство при пониженной резистентности организма, а также для снижения отрицательного влияния нитратов и нитритов на организм птицы. При включении этих препаратов в

рационы мясной и яичной птицы регистрировали повышение сохранности на 11–17 %, продуктивности на 6–8 %, содержания витамина С в печени на 20–24 %, снижение уровня нитратов в яйце на 40–46 % и в мышечной ткани на 51–54 %.

У цыплят, которых лечили анацевитом, бактерицидная и лизоцимная активность сыворотки крови превышала контроль на 6,8 % ($P < 0,001$) и 7,9 % ($P < 0,01$), фагоцитарная активность лейкоцитов — на 3,1 % ($P < 0,05$), содержание иммуноглобулинов на 0,88 ед. ($P < 0,01$). Эти же показатели после лечения акальцевитом превосходили контроль на 6,1 % ($P < 0,001$), 6,6 % ($P < 0,001$), 3,4 % ($P < 0,05$) и 0,77 ед. ($P < 0,001$) соответственно. С профилактической и терапевтической целью препараты вводят в рацион сельскохозяйственной птицы в дозах 60 и 100 г на 1 тонну корма соответственно.

При длительном дефиците калия в рационе цыплят и индюшат наблюдается задержка роста, мышечная слабость, атония кишечника, расширение почек и мочеточников в связи с заполнением их мочекислыми солями. Препарат *Аскор* (калия аскорбинат) разработан нами и рекомендуется для использования в рационах птицы. Помимо источника калия препарат является эффективным заменителем аскорбиновой кислоты в премиксах. При этом препарат обладает ростстимулирующим, антистрессовым, антиоксидантным и денитрифицирующим действием. При использовании калия аскорбината в рационах цыплят-бройлеров, взамен аскорбиновой кислоты, сохранность поголовья повысилась на 9,5 %, среднесуточный прирост живой массы увеличился на 6,5 %, а затраты корма на 1 кг прироста живой массы снизились на 11 %. При ветеринарно-санитарной экспертизе установлено, что количество тушек первой категории было на 12 % больше по сравнению с контролем, а признаки мочекишечного диатеза у цыплят, получавших калия аскорбинат, отсутствовали. Анализируя качество мясной продукции, установили, что белковый показатель качества мяса у цыплят, получавших калия аскорбинат, был на 26 % выше, а содержание нитратов в грудной мышце на 55 % ниже, при этом уровень кадмия и свинца снизился на 14–26 %.

Препарат в рационе гибридных индюшат кросса "Хидон" с 7 до 130-сут. возраста оказал положительное влияние на клиническое состояние птицы, сохранность поголовья и мясную продуктивность. На вскрытии индюшат, не получавших калия аскорбината, регистрировали энтериты, нефриты, скопление уратов в мочеточниках, а у опытной птицы мочекишечный диатез не диагностировали. Выход потрошенной тушки у индюшат, получавших препарат, превосходил контроль: самцы на 6,7 %, самки на 5,1 %. Зарегистрировано достоверное снижение в мышечной ткани индюшат опасных для здоровья человека веществ: нитратов на 47 %, тяжелых металлов — кадмия и свинца на 29–36 %.

Испытания калия аскорбината при выращивании утят пекинской породы с 1 до 8-нед. возраста также подтвердило его высокую эффективность. Сохранность птицы повысилась на 6 %, прирост живой массы на 8 %, затраты корма снизились на 7 %. Содержание нитратов в печени было достоверно ниже на 39 %, а в мышечной ткани на 21 % по сравнению с контролем; белковый показатель качества мяса утят, получавших препарат, был на 5,4 % выше.

Изучение влияния калия аскорбината на яичную продуктивность проводили на курах-несушках трехлинейного кросса "Беларусь-9" с 23 до 46-нед. возраста. Установлено, что интенсивность яйцекладки в группе получавшей новый препарат была на 5,8 % выше. Содержание нитратов в яйце птицы на 37 %, нитритов на 41 % и кадмия на 16,7 % ниже. Таким образом, установлено, что калия аскорбинат целесообразно вводить в рационы с.-х. птицы взамен аскорбиновой кислоты, т.к. этот препарат профилактирует появление мочекишечного диатеза, повышает сохранность поголовья, мясную и яичную продуктивность птицы и, что особенно важно, снижает уровень нитратов и некоторых тяжелых металлов в продуктах птицеводства.

Аскор рекомендуется добавлять в корм с.-х. птицы из расчета 60–100 г на 1 т корма.

Ферровит — профилактирует железодефицитную анемию, оптимизирует окислительно-восстановительные реакции в организме, повышает сопротивляемость к инфекционным заболеваниям, обладает ростостимулирующим, антистрессовым, антитоксичным и денитрифицирующим действием. Отличительной особенностью его является активизация процессов кроветворения. Известно, что аскорбиновая кислота облегчает включение железа в ферритин, представляющий собой резервную форму Fe^{3+} , и ускоряет перенос его из трансферрина в гем, т.к. способствует восстановлению Fe^{3+} в Fe^{2+} , без чего невозможно начало синтеза гемоглобина в клетках крови. Ферровит применяют для профилактики и лечения железодефицитной анемии у всех видов животных и птицы, белопухости у норок, гиповитаминоза С, а также как средство, стимулирующее рост, развитие и продуктивность с.-х. животных и птицы. Потребность в препарате повышена в период беременности, лактации и интенсивного роста.

У цыплят, получавших ферровит, отмечали активизацию процессов кроветворения: содержание общего белка в сыворотке крови превосходило контроль на 9 %, количество эритроцитов на 5,7 %, насыщенность их гемоглобином на 9,4 %. Уровень железа в сыворотке крови опытных цыплят превышал контроль на 35,6 %. Сохранность поголовья увеличивалась на 3–7 %. Установлена достаточная биологическая доступность аскорбиновой кислоты и железа из препарата, о чем свидетельствуют достоверные различия по сравнению с контролем в накоплении этих веществ в печени цыплят на 25,1 и 21,9 %. Белковый показатель качества мяса цыплят, получавших ферровит, был выше на 11,8–15,3 %. Включение ферровита в рацион кур-несушек способствует увеличению сохранности поголовья на 2–4 %, интенсивности яйцекладки на 4–6 %, снижению затрат корма на 10 шт яиц — на 1–2 %.

Ферровит при использовании в рационах норок по своей эффективности превосходит сернокислое железо, а также препарат гемовит. Ферровит позволяет вырастить крупных животных со 100 % сохранностью, оптимальными гематологическими показателями и качественным мехом без признаков белопухости, в то время как в контрольной группе, получавшей железо сернокислое, зарегистрировано 12 % животных с признаками белопухости. Доза включения ферровита в рацион с.-х. птицы с профилактической и терапевтической целью: 0,6 и 1,2 кг/т корма; норкам — из расчета 3 мг Fe на голову в сутки.

По количественному содержанию в организме животных цинк занимает среди микроэлементов второе место после железа. При недостатке цинка в организме животных наблюдается задержка роста, утолщение и укорочение конечностей, изменение форменных элементов крови, расстройство половой функции, типичные изменения кожи и эпителиальных структур, которые диагностируются у свиней как паракератоз, а у других животных как дерматиты гиперкератозного типа. Многолетние наблюдения, химические анализы почвы и кормов, выполненные сотрудниками Белгородской ГСХА, выявили картину существенного недостатка этого элемента в рационах с.-х. животных и птицы в условиях Центрально-Черноземной зоны. Положение обостряется избытком в кормах ионов кальция, которые являются антагонистами цинка и снижают его доступность. В связи с этим был разработан новый препарат — **Цинковит**. Препарат получают путем нейтрализации очищенного маточного раствора аскорбиновой кислоты карбонатом цинка или сульфатом цинка в присутствии карбоната кальция. Цинковит оптимизирует обмен веществ, оказывает нормализующее влияние на костеобразовательную, кроветворную и

воспроизводительную функции, профилактует паракератоз, обладает ростостимулирующим, антистрессовым и денитрифицирующим действием. Исследованиями, проведенными на с.-х. птице, установлено, что новый препарат является эффективным источником цинка и по биологической активности и физиологическому действию превосходит неорганические соединения металла, при этом у него ярко выражены антиоксидантные и денитрифицирующие свойства. Включение цинка аскорбината в рацион мясной и яичной птицы позволяет профилактить дерматиты гиперкератозного типа и деформацию костей конечностей.

Содержание цинка и витамина С в сыворотке крови и печени птицы, получавшей цинковит, достоверно превышает контроль. Продуктивность цыплят-бройлеров увеличивается на 9 %, белковый показатель качества мяса на 18 %, при этом уровень нитратов в грудной мышце снижается на 64 %. Прирост массы тела утят повышается на 7 %, затраты корма на 1 кг прироста живой массы снижаются на 6,5 %, уровень нитратов в печени и мышечной ткани — на 56 и 52 %. Во всех экспериментах выявлена обратнопропорциональная зависимость содержания нитратов в мышечной ткани и печени птицы с назначаемой дозой препарата. Интенсивность яйцекладки кур-несушек увеличивается на 9,5 %, средняя масса яиц на 1,2 %, при этом содержание нитратов в яйце снижается на 45 %, нитритов — на 55 %. Зарегистрировано статистически достоверное снижение в мышечной ткани кур опасных для здоровья человека солей тяжелых металлов — кадмия на 7 %, свинца на 14 %. Доза введения цинковита в рацион с.-х. птицы с профилактической и терапевтической целью: 0,5 и 1,0 кг/т корма соответственно.

Новые препараты, включающие в свой состав незаменимые для животных и птицы микроэлементы, имеют значительное преимущество перед традиционно используемыми неорганическими солями микроэлементов (сульфатами, карбонатами, хлоридами), т.к. наличие хелатных связей в этих комплексах повышает их биологическую доступность и эффективность действия. Существенным является тот факт, что наряду с проявлением классической функции микроэлементов и аскорбиновой кислоты в организме, синтезированные биологически активные комплексы способствуют значительному экологическому очищению продуктов животноводства и птицеводства. Препараты технологичны, легко смешиваются с компонентами премикса и кормосмеси, не требуют дополнительного периода привыкания животных и птицы. На все разработанные препараты подготовлена нормативно-техническая документация, которая рассмотрена и утверждена Ветфармсоветом при Департаменте ветеринарии Российской Федерации. С целью производства этих препаратов в АО "БЕЛВИТАМИНЫ" смонтирован экспериментальный цех. Потенциальный объем выпуска составляет 600–800 тонн в год.

Некоторые вопросы регуляции двигательной функции вымени коровы

Н.А.Любин

Ульяновский сельскохозяйственный институт, Ульяновск, Россия

Интенсивность молоковыделения через сосковый канал во время машинного доения во многом определяет сфинктер соска; он же обеспечивает удержание молока в емкостной системе вымени в период между доениями. Исследование тонуса сфинктера соска явилось предметом целого ряда работ (1–10). Однако эти работы не позволяют получить достаточно объективного представления о тонусе сфинктера

соска при различном функциональном состоянии вымени коровы. В связи с этим мы изучили в первом цикле экспериментов динамику тонуса сфинктера соска во время молокоотдачи, вызванной экзогенным окситоцином, а также чувствительность мускулатуры сфинктера соска к этому гормону.

Опыты были проведены на трех коровах черно-пестрой породы третьей лактации, находившихся на 4–7 месяцах лактации. Среднесуточный удой составил 8,2–14,1 кг. Перед началом опыта всем коровам оперативным путем в наружную срамную артерию (н.с.а.) был введен постоянный катетер, через который инъецировали непосредственно в сосудистое русло вымени окситоцин. Длина катетера — 80 см, наружный диаметр — 0,12 см. Катетер вводили в проксимальном направлении на расстоянии в 20 см. Дистальный конец катетера, закрытый стерильной пробкой, выводили в область молочного зеркала, где его фиксировали несколькими швами к коже.

Регистрацию сократительной активности стенки и сфинктера соска проводили с помощью модифицированных тензодатчиков полиграфа фирмы "Нихон-Коден". Катетеризировали правый задний сосок и выпускали цистернальную порцию молока. На сосок надевали два П-образных датчика для регистрации циркулярной и продольной мускулатуры соска. Затем в сосковый канал вводили предварительно градуированный стерильный датчик для регистрации и измерения тонуса сфинктера соска. В течение пяти минут регистрировали исходную двигательную активность соска. Затем в наружную срамную артерию инъецировали 0,005 МЕ окситоцина. Эта доза гормона вызывала частичную молокоотдачу, при которой не наблюдалось истечения молока из соска, в который был вставлен датчик. После введения гормона двигательную активность изучали в течение 10 минут. Данные, характеризующие влияние окситоцина на тонус сфинктера соска во время осуществления молокоотдачи представлены в табл. 1 (1-я серия).

после выпуска цистернальной порции молока тонус сфинктера соска составил $9,56 \pm 1,04$ Г силы (100 %). Введение окситоцина и вызываемая им молокоотдача привели к сильному снижению тонуса сфинктера соска. Уже через 30 с после инъекции гормона наблюдалась четко выраженная тенденция к падению тонуса сфинктера соска (68,4 %). Через минуту после введения окситоцина тонус сфинктера снизился более чем в 2 раза (43,5 %). На протяжении следующих 3 минут наблюдалось дальнейшее падение тонуса сфинктера и через 4 минуты после инъекции окситоцина тонус сфинктера соска составил 21,2 % от исходного уровня. В течение последующих 6 минут тонус сфинктера колебался в пределах 24,0–26,4 %.

Полученные данные свидетельствуют о том, что молокоотдача, возникающая при введении окситоцина, сопровождается сильным падением тонуса сфинктера соска. Уменьшение тонуса сфинктера могло быть обусловлено как прямым воздействием гормона на сфинктер, вызывающим его расслабление, так и воздействием на сфинктер давления, развиваемого изгнанным в полость соска молоком.

Для проверки сделанных предположений во второй серии опыта было изучено воздействие окситоцина на тонус сфинктера предварительно опорожненного вымени. Опорожнение вымени проводили следующим образом: из правого заднего соска выпускали через катетер цистернальную порцию молока. Для изгнания альвеолярной порции в наружную срамную артерию вводили 1,0 МЕ окситоцина. Три других доли выдаивали аппаратом. Затем на задний правый сосок устанавливали датчики для регистрации его двигательной активности.

Введение окситоцина в дозе 0,005 МЕ в наружную срамную артерию предварительно опорожненного вымени не вызвало статистически достоверных изменений в тонусе сфинктера соска. Как

молока из катетеризированных сосков. Если за каждый из двух последовательных тридцатисекундных интервалов исходного периода, который начинался сразу же после завершения опорожнения цистернального отдела, из двух катетеризированных сосков выделилось в среднем 9,9 капель молока, то количество капель молока, которое выделилось за последующие 30 с стимуляции, возросло более чем в два раза (211,1 %). Максимальное количество капель молока выделилось в первые 30 с после окончания стимуляции — 255,6 %. На протяжении последующих 1,5 мин интенсивность молоковыведения снизилась до уровня, который существенно не отличался от исходного.

Учащение выделения капель молока при воздействии на корову сильного звукового раздражителя не было связано с механическим перемещением вымени, т.к. применявшийся стресс-фактор не вызывал общедвигательной реакции животного. Описанный феномен мог быть обусловлен двумя причинами: воздействием катехоламинов на миоэпителиальные клетки альвеол, а, возможно, и эфферентной иннервации на продольную мускулатуру выводных протоков вымени, сокращение которой могло вызвать их укорочение и расширение, что должно было повлечь за собой учащение выделения капель молока.

Из вышеизложенного можно заключить, что торможение рефлекса молокоотдачи, возникающее при воздействии на корову стресс-фактора, по крайней мере, сильного звукового раздражителя, не связано с сужением выводных протоков вымени. По-видимому, оно осуществляется за счет других физиологических механизмов, в частности, за счет сужения кровеносных сосудов вымени, препятствующих контакту циркулирующего в крови окситоцина с миоэпителиальными клетками альвеол.

Литература

1. Тверской Г.Б. Труды института физиологии им. И.П.Павлова, 1955, 4: 52-57.
2. Городецкая Т.К. В сб. Физиология с.-х. животных, М, 1962: 313-327.
3. Силиньш А. Тр. Латв. с.-х. академии, 1970, 30: 98-112.
4. Жестоканов О.П. Тр. ВСХИЗО, 1971, 44: 66-70.
5. Жуков А.Е. Вестник с.-х. науки, 1971, 12: 20-24.
6. Вальдман Э.К. Физиология машинного доения коров. Л., 1977: 189.
7. Bernabe G., Peeters G. J.Dairy Sci., 1980, 47: 259-275.
8. Van Deputte, Van Messom et al. J.Dairy Sci., 1984, 51: 219-226.
9. Боков Е.В. Бюлл. ВНИИФБиП с.-х. жив., 1986, 4(83): 35-37.
10. Боков Е.В. Бюлл. ВНИИФБиП с.-х. жив., 1988, 1(89): 43-46.

Воспроизводительная функция и гормонально-иммунологические показатели крови свинок в период отъема и перегруппировки в связи с рангом

И.А.Бурков, Т.П.Трубицина, О.А.Крюков

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания
сельскохозяйственных животных,
Боровск, Россия*

Отъем и перемещение поросят, связанные с их перегруппировкой, являются очень ответственным моментами в постнатальный период, требующими максимального напряжения адаптационных возможностей организма. Адаптационная реакция поросят в период отъема и перегруппировки затрагивает многие функции организма: меняется в этот период активность желез внутренней секреции и функциональное состояние клеток, определяющих естественную резистентность животного.

Таблица 1

Влияние перегруппировки свинок-отъемышей, тестированных по рангу, на уровень кортизола и иммунологические показатели крови

	До перегруппировки	После перегруппировки (сутки)		
		1	2	8
Высокоранговые животные				
Кортизол, нг/мл	28,5±6,1 ¹	35,0±6,3 ²	36,5±8,1 ³	28,9±8,8
Лейкоциты, тыс/мкл	18,8±0,9 ⁴	22,5±1,2 ⁵	20,8±2,0	20,7±1,6
Ig G, мг/мл	14,4±2,5	16,5±2,0 ⁶	14,3±1,6 ⁷	16,0±1,4
Ig M, мг/мл	1,28±0,07 ⁸	1,51±0,1	1,54±0,1 ⁹	1,70±0,2 ¹⁰
НСТ, %	3,5±0,7	0	2,2±0,8	4,2±1,0
Низкоранговые животные				
Кортизол, нг/мл	46,7±4,8 ¹¹	75,8±11,8 ¹²	85,4±13,3 ¹³	50,4±8,5
Лейкоциты, тыс/мкл	15,4±1,8	17,1±1,8 ¹⁴	19,6±1,5	19,6±1,6
Ig G, мг/мл	9,1±1,1	9,1±0,7 ¹⁵	9,7±1,0 ¹⁶	10,5±0,8
Ig M, мг/мл	1,48±0,15	1,46±0,09	1,64±0,09	1,62±0,1
НСТ, %	7,9±1,7	0	1,9±0,4	2,8±1,0

Примечание: Достоверность разницы: 4–5 (P<0,02); 8–9,10 (P<0,05); 11–12 (P<0,05); 11–13 (P<0,01); 1–11 (P<0,05); 2–12 (P<0,01); 3–13 (P<0,01); 5–14 (P<0,05); 6–15 (P<0,01); 7–16 (P<0,05).

В табл. 1 представлены данные по группе помесных (ландрас х крупная белая) свинок-отъемышей в возрасте 70–80 дней. Свинки в группы были объединены из трех пометов (по 4–5 голов из помета) и тестированы по социальному рангу. Кровь в этом опыте исследовали до перегруппировки и затем через 1, 2 и 8 суток после формирования группы. В крови исследовали: уровень кортизола, количество лейкоцитов, лейкоцитарную формулу, количество иммуноглобулинов (IgG, IgM) и активность периферической крови по НСТ-тесту. Полученные данные (табл. 1) свидетельствуют о наличии корреляции между уровнем кортизола и рангом животного. У низкоранговых животных исходно более высокий уровень кортизола под влиянием перегруппировки повысился с большей степени и в течение первых двух суток с высокой степенью достоверности превосходил уровень кортизола у высокоранговых животных. К восьмому дню уровень кортизола у животных возвратился к исходным величинам.

Иерархические отношения животных оказывают влияние на взаимоотношения гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и гипоталамо-гипофизарно-половой систем. Сказываются они и на состоянии иммунной системы. Особенно это проявляется при перегруппировке животных, т.е. в период становления иерархических отношений. Известно, что у поросят внутри помета складывается своя иерархия. При объединении разных пометов внутри вновь сформированной группы прошлый ранг животного может оказать влияние на его место в новой группе. Иммунологический профиль животного, отражая функциональное состояние, также может меняться неоднозначно. Исходя из этого соображения, мы сопоставили ранг животного в каждом помете до объединения в группу с иммунологическим профилем до объединения и после него. Особенно интересная закономерность была выявлена по количеству лимфоцитов в крови через сутки после перегруппировки. У высокоранговых свинок (по тестированному в помете рангу до перегруппировки) количество лимфоцитов до перегруппировки составило 12,1±1,0 тыс/мкл, а через сутки после перегруппировки 17,3±0,9 тыс/мкл (P<0,01). У низкоранговых, наоборот, отмечена тенденция к снижению количества лимфоцитов — до перегруппировки 12,4±0,9, а после перегруппировки 11,4±0,9 тыс/мкл. Таким образом, у высокоранговых свинок количество лимфоцитов в крови через сутки после перегруппировки было

достоверно выше, чем у низкоранговых ($P<0,01$). Эта же закономерность прослеживается и при сопоставлении ранга в сложившейся после перегруппировки иерархии (но с меньшей степенью достоверности). Как общее количество лейкоцитов (табл. 1), так и количество лимфоцитов (табл. 2) в крови высокоранговых животных через сутки после перегруппировки превышало соответствующие показатели у низкоранговых свинок ($P<0,05$).

Отмечая различия в начальный период стрессового перераспределения лимфоцитов у свинок разного ранга, необходимо отметить и более высокий уровень IgM у высокоранговых свинок. Известно (1), что в начальный период стресса вышедшие из тимуса Т-лимфоциты, поступая в костный мозг и рыхлую соединительную ткань, стимулируют стволовые клетки и клетки, дифференцирующиеся в антилепопродукенты, что следует рассматривать как мобилизацию приспособительных механизмов иммунной системы. Перераспределение клеток может создать лучшие условия для клеточного взаимодействия и генерализации иммунного ответа. Отражает приспособительную реакцию организма и картина крови по нейтрофилам. В связи с перегруппировкой животных мы наблюдали сдвиг ядра вправо и увеличение количества сегментоядерных нейтрофилов (табл. 2). Изменяется и функциональная активность лейкоцитов: через сутки после перегруппировки в периферической крови свинок не обнаруживаются НСТ-положительные нейтрофилы. Снижение активности клеток происходит и после отъема поросят, причем это происходит уже в первые часы после действия стресс-фактора.

Таблица 2

Гематологический профиль свинок-отъемышей в период перегруппировки

Форменные элементы крови	Р*	Время исследования			
		До перегруппировки	После перегруппировки (сутки)		
			1	2	8
Лимфоциты	ВР	13128±780 ¹	17010±1221 ₂	14612±1176	12998±1107
	НР	11470±1132	13320±1344	13637±1206	12946±903
Моноциты	ВР	480±108	444±45	442±77	273±25
	НР	330±69	236±29	325±25	257±18
Базофилы	ВР	75±19	81±23	63±20	68±22
	НР	68±19	94±33	80±3	50±13
Эозинофилы	ВР	305±97	335±80	341±70	185±53
	НР	316±40	489±106	322±84	338±57
<u>Нейтрофилы</u> Ю	ВР	76±29 ³	0 ⁴	7±7	36±12
	НР	62±21 ⁵	1,7±1,7 ⁶	28±12	12±6
П	ВР	1400±257 ⁷	900±249 ⁸	307±64 ⁹	293±49 ¹⁰
	НР	888±171 ¹¹	397±104 ¹²	210±34 ¹³	148±37 ¹⁴
С	ВР	2552±426 ¹⁵	3637±415	5882±769 ¹⁶	5429±1194
	НР	2267±510 ¹⁷	2563±567	5097±776 ¹⁸	5814±748 ¹⁹

Примечание: * – Р – ранг животных: ВР — высокоранговые; НР — низкоранговые; достоверность разницы: 1–2 ($P<0,05$); 3–4 ($P<0,05$); 5–6 ($P<0,05$); 7–9,10 ($P<0,01$); 11–13,14 ($P<0,01$); 10–14 ($P<0,05$); 8–12 ($P<0,05$); 15–16 ($P<0,01$); 17–18 ($P<0,02$); 17–19 ($P<0,01$); 11–12 ($P<0,05$).

Свинки находились под наблюдением до возраста 13–14 месяцев. Циклировали и были осеменены в возрасте 11 месяцев 11 свинок; у 2-х низкоранговых (12, 13 место в иерархии) в этот период не было выявлено охоты. В конце второго месяца супоросности (оплодотворяемость — 100 %) 11 свинок были убиты и у них была определена плодовитость и эмбриональная смертность. Плодовитость

во группе свинок высокого ранга (4 головы) составила в среднем 13,5 плодов, по группе свинок, занимавших среднее положение (4 головы) — в среднем 13,25 плодов и у свинок низкого ранга (9, 10, 11 места в иерархии) соответственно 10,30 (с учетом 2-х свинок низкого ранга, не пришедших в охоту, плодовитость будет еще ниже — 6,20). Самая высокая эмбриональная смертность (36,2 %) выявлена по свинкам низкого социального ранга. Эмбриональная смертность у свинок высокого ранга составила 26,9 % и у свинок, занимавших среднее положение — 13,0 %.

Большая плодовитость у доминирующих самок мышей отмечена ранее (3). В работе (4) авторы приводят данные о большей плодовитости в лабораторных популяциях самок промежуточных рангов. Животные, занимающие в иерархической структуре подчиненное положение, нередко совсем не размножаются. Эти особи составляют как-бы резерв популяции, который реализуется только при снижении ее численности в неблагоприятных условиях (5,7). В нашем опыте 2 свинки самого низкого ранга, не приходившие в охоту до 13-месячного возраста, начали циклировать после убоя остальных свинок — членов группы (популяции).

Резюмируя данные этих опытов следует подчеркнуть, что приспособительные реакции при групповом содержании у животных разного социального ранга имеют свои особенности: если у высокоранговых животных их можно расценить как реакции активации, то у низкоранговых они имеют тенденцию перехода в то состояние, которое наблюдается при более поздних стадиях стрессовой реакции. Другими словами, можно предположить, что негативные стрессовые изменения в организме низкоранговых животных могут наступать быстрее и в более выраженной форме. Это находит отражение как на состоянии иммуногенеза и эндокринной системы, так и на воспроизводительной функции животного.

Влияние ранговых отношений на воспроизводительную функцию свиноматок сказывается и в период объединения в группы после отъема поросят. Мы проанализировали данные по срокам прихода в охоту после отъема поросят 78 свиноматок. Пришли в охоту в интервале 3–5 суток после отъема 66 голов (84,6 %); из них при отъеме поросят в двухмесячном возрасте (23 головы) интервал составил $4,35 \pm 0,15$ дня, при отъеме в 40–50 дней (10 голов) соответственно $4,1 \pm 0,2$ дня, при отъеме в 30–35 дней (16 голов) — $4,5 \pm 0,2$ дня и при отъеме в 26–28 дней (17 голов) — $4,5 \pm 0,16$ дня.

Анализ группы свиноматок (12 голов — 15,4 %), пришедших в охоту в другие сроки после отъема поросят, позволил выявить, что основными причинами в изменении сроков явились: 1) иерархические отношения при групповом содержании отнятых свиноматок — у подчиненных (низкоранговых) свиноматок сроки прихода в охоту растягивались; 2) у свиноматок с малочисленным пометом охота выявлялась как в ранние сроки (1–2 дня после отъема), так и в сроки позже 7 дней после отъема, из чего можно предположить, что невыявленная охота у них проходила в период лактации; 3) у четырех свиноматок, пришедших в охоту через 8, 16, 17, 17 дней после отъема, при опоросе были выявлены мертворожденные поросята, что дает основание для предположения о наличии в репродуктивных органах этих животных каких-то отклонений от нормы. Можно полагать, что в норме животные при индивидуальном содержании после отъема должны приходить в охоту на 3–6 сутки после отъема поросят.

Таким образом, адаптационные реакции свинок в период отъема и перегруппировки затрагивают многие функции организма, на состоянии которых сказывается также при групповом содержании установление иерархических отношений. Если у высокоранговых свинок эти реакции можно расценить как реакции активации, то у низкоранговых они имеют тенденцию к переходу в то состояние,

которое наблюдается при более поздних стадиях стрессовой реакции. Таким образом, негативные стрессовые изменения в организме низкоранговых животных могут наступить быстрее и в более выраженной форме. Это находит отражение как на состоянии иммуногенеза и эндокринной системы, так и на воспроизводительной функции. Высокоранговые свинки отличаются более высокой концентрацией иммуноглобулина G, у них в период перегруппировки возрастает количество лимфоцитов, восстановление активности лейкоцитов по НСТ-тесту происходит быстрее. У низкоранговых свинок отмечена адреналовая гиперфункция, они позднее начинают циклировать, отличаются худшей плодовитостью.

Литература

1. Стресс: иммунологические аспекты. В кн.: Итоги науки и техники. Иммунология, 1983, 12: 41-62.
2. Andrejwski R. et al. Ecol.Polska, 1963, A-11: 223-240.
3. Christian J.J., Lloyd J.A., Davis D.E. In: Rec.Progr.Hormon Res. N.Y.-L.,1965, 21: 501-571.
4. Levick J., Beilharz R.J. Z.Tierpsychol., 1973, 32: 147-152.
5. Wynne-Edwards V.S. Animal dispersion in relation to social behaviour. L.: Oliver.Royal., 1962: 653.

Потребность растущих откармливаемых свиней в протеине при разных уровнях энергетического питания

Л.С. Баран

*Научно-исследовательский и проектно-технологический институт
АПК, Рязань, Россия*

Изучали влияние разных уровней энергетического питания на потребность растущих откармливаемых свиней в протеине и возможность его нормирования на единицу потребляемой обменной энергии.

Научно-хозяйственный опыт продолжительностью 164 дня был проведен на 60 поросятах-помесях ландрас х крупная белая. Опыт начат в 2,5-месячном возрасте при живой массе поросят 25 кг, из которых по принципу аналогов было сформировано 5 групп по 12 голов в каждой. Поросята I группы получали рационы в соответствии с детализированными нормами, II и III групп — такие же рационы, но с содержанием энергии на 15 и 30 % ниже нормы, IV и V групп — рационы с повышенным содержанием как энергии, так и протеина, соответственно, на 15 и 30 %. Основные результаты приведены в таблице.

Установили, что снижение энергетического и одновременно энергетического и протеинового питания на 15 и 30 % приводит к уменьшению среднесуточных привесов растущих откармливаемых свиней на 17,3; 35,9; 18,1 и 36,5 % и увеличению затрат кормов на каждый килограмм привеса на 0,7; 5,0; 3,9 и 10,5 %.

Различий по привесам между III и V группами не наблюдалось, а по затратам кормов (кормовых единиц) они были незначительными — 3,3–5,5 %. Однако, по затратам переваримого протеина на 1 кг привеса были большие расхождения. Понижение только энергетического питания привело к резкому увеличению затрат протеина, которые возрастали на 19,4–56,5 %. Одновременно снижение в рационах энергии и протеина увеличило затраты протеина на производство продукции всего на 3,1–10,2 %.

Изменение содержания в рационах энергии и одновременно энергии и протеина не оказывало существенного влияния на переваримость питательных веществ рационов. Наблюдалась прямая зависимость в использовании азота рационов от обеспеченности животных энергией. При снижении уровня энергетического и одновременно энергетического и

протеинового питания на 15 %, отложение азота в теле снижалось соответственно в 5- и 7-месячном возрасте на 12,5–10,8 и 18,3–13,6 %, а при снижении на 30 % — на 28,5–22,4 и 31,5–29,3 %.

По отложению азота в теле хотя и были некоторые преимущества у поросят, получавших пониженный уровень энергетического питания на 15 и 30 % и протеин на уровне детализированных норм, но оно было очень незначительным и составляло в 5- и 7-месячном возрасте всего 1,26–0,54 и 0,66–1,33 г, то есть эффективность использования азота корма определялась, в основном, уровнем энергетического питания. Очевидно, при недостаточном энергетическом обеспечении аминокислоты корма дезаминировались и их остатки использовались для энергетических целей.

Таблица

Влияние разных уровней энергетического и протеинового питания на продуктивность и обмен веществ свиней (в среднем на голову)

Показатели	Группы				
	I	II	III	IV	V
Содержание в рационах, % к норме:					
энергии	100	85	70	85	70
протеина	100	100	100	85	70
Живая масса, кг:					
в начале опыта	29,0	29,3	29,2	29,2	29,3
в конце опыта	135,0	116,8	97,1	115,9	96,5
Среднесуточный привес, г	646	534	414	529	410
%	100	82,7	64,1	8,9	63,5
Продолжительность опыта до достижения живой массы 110 кг, дн	129	152	192	154	193
Затраты кормов на 1 кг привеса:					
кормовых единиц	4,38	4,41	4,60	4,55	4,84
переваримого протеина, г	310	372	497	324	348
Отложено в теле азота, г:					
в 5 мес.	22,08	19,31	15,79	18,05	15,73
в 7 мес.	19,23	17,15	14,93	16,61	13,60
Масса, кг					
предубойная	131,5	118,0	96,9	116,3	96,2
убойная	107,2	94,4	75,3	91,8	74,0
охлажденной туши	82,6	71,2	56,3	70,2	55,7
в т.ч. мяса, кг	48,8	43,3	35,4	41,8	34,1
сала, кг	24,7	19,4	12,6	20,0	13,6
костей, кг	9,1	8,5	8,3	8,4	8,0
Убойный выход, %	81,5	80,0	77,7	79,0	76,9

Уровень протеинового питания не оказывал большого влияния на эффективность использования углерода. Так, при снижении уровня энергетического питания на 15 %, его отложение снизилось в 5-месячном возрасте на 25 % и в 7-месячном — на 24,1 % в сутки, а при снижении на 30 % соответственно на 47,2 и 49,1 %. При одновременном снижении содержания в рационах энергии и протеина отложение углерода в теле поросят IV и V групп уменьшилось в 5-месячном возрасте на 23 и 44,7 % и в 7-месячном возрасте — на 20,1 и 45,2 % соответственно. Сопоставление полученных данных показывает, что при снижении содержания в рационах одновременно энергии и протеина, отложение углерода в теле поросят возрастало на 6,6–13,9 и 8,4–13,4 или 2,6–5,3 и 4,7–7,7 %.

Со снижением содержания в рационах энергии на 15 и 30 % ее отложение в теле уменьшалось в 5- и 7-месячном возрасте на 25,3–24,4 % и 47,7–50,0 %, а при одновременном снижении энергии и протеина — соответственно на 22,9–20,5 % и 44,7–45,5 %. При этом в эти

возрастные периоды не было значительных различий и по отложению в теле белка и жира, то есть снижение содержания в рационах протеина не оказывало существенного влияния на отложение белка в теле (113 против 121 и 104 против 107 г в 5 месяцев, 95 г против 99 г и 85 г против 93 г в 7 месяцев).

Контрольный убой животных показал, что со снижением обеспеченности животных энергией и протеином уменьшились убойная масса, абсолютное содержание в тушах мяса и сала. При этом рельефно просматривается приоритетное значение энергетического питания. Различия между животными, получавшими рационы с пониженным уровнем энергии и одновременно энергии и протеина, были несущественными. Во II-ой группе они составляли по убойной массе 2,6 кг, по убойному выходу — 1 %, массе туши — 1 кг, а в III — соответственно, 1,3 кг; 0,8 %; 0,6 кг. В тушах поросят, получавших пониженное количество как энергии, так и протеина, содержалось несколько меньше мяса — на 1,3–1,5 кг, или на 3,5–3,7 % и больше сала на 0,6–1,0 кг или 3,1–7,9 %.

Из данных опыта следует, что потребность свиней в протеине находилась в прямой зависимости от уровня обеспечения их энергией и составляла при выращивании с 25 до 40 кг живой массы — 14,5 г сырого и 12 г переваримого протеина на 1 Мдж обменной энергии; в период откорма с 41 до 70 кг живой массы — соответственно 12,5 и 10,4 г/МДж, а с 71 до 110 кг живой массы — соответственно 10,3 и 8,0 г/МДж.

Оптимизация аминокислотного питания мускусных утят

Е.М.Буко, Я.В.Василук, Н.Т.Горячко

*Гродненский сельскохозяйственный институт,
Белорусская зональная опытная станция по птицеводству,
Республика Беларусь*

В настоящее время имеется много работ отечественных и зарубежных ученых в области протеинового и аминокислотного питания птицы. Однако вопросы аминокислотного питания у мускусных утят, получивших широкое распространение в странах с развитым птицеводством, изучены недостаточно.

В республике Беларусь мускусное утководство — относительно молодая отрасль мясного птицеводства. На Белорусскую зональную опытную станцию по птицеводству (БелЗОСП) мускусные утки были завезены из Германии в 1981 году, а в 1985-86 годах генофонд этой породы пополнился тремя линиями французского происхождения.

Мускусные утки в связи с их биологическими особенностями очень чувствительны к содержанию в рационе незаменимых аминокислот, особенно метионина и лизина. Исследования по оптимизации аминокислотного питания мускусных утят проводились с 1993 по 1994 год на БелЗОСП.

В результате исследований установлено, что добавка к рациону синтетического метионина до оптимального уровня приводит к достоверному повышению живой массы мускусных утят ($P < 0,05$). Добавка метионина наиболее эффективна в возрасте 6–8 недель, когда идет интенсивный рост пера и потребность в серусодержащих аминокислотах резко возрастает.

При дополнительном введении лизина в рационы молодняка живая масса мускусных утят увеличивалась на 7,1–26,1 % по сравнению с контролем и зависела от возраста птицы. Высокий ростстимулирующий эффект лизина отмечается в 4–5-недельном

возрасте, что обусловлено высоким приростом живой массы и интенсивным образованием пера в этот период ($P < 0,01$ и $P < 0,05$).

Сохранность молодняка за период выращивания была высокой и составила 98 %.

Добавка препаратов синтетических аминокислот способствовала повышению трансформации питательных веществ рациона.

Данные контрольного убоя и анатомической разделки тушек показали, что добавка к рациону лизина и метионина способствует значительному улучшению мясных качеств мускусных утят, а проведенные биохимические исследования крови свидетельствуют об активной роли этих аминокислот в метаболических процессах.

Содержание

Информация о второй Международной конференции
“Актуальные проблемы биологии в животноводстве”

Б.Д.Кальницкий	Итоги и перспективы научных исследований в области физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных
Г.Г.Черепанов	Современные подходы к проблеме прогнозирования продуктивности и адаптивно-метаболическая концепция нормирования питания животных
Л.А.Заболотнов	Актуальные проблемы прогнозирования и субстратной оценки состояния метаболизма у сельскохозяйственных животных
А.М.Материкин Е.Л.Харитонов Н.Н.Семина И.А.Долгов Н.Д.Мысник	Результаты и задачи изучения процессов пищеварения при разработке систем оценки и нормирования питания жвачных животных
Н.Г.Григорьев А.П.Гаганов	Разработка адаптивно-вариабельных норм кормления молочных коров
В.В.Щеглов	Новые аспекты нормирования питания лактирующих и сухостойных коров
А.И.Фицев	Зоотехническое и физиологическое обоснование эффективности использования протеина жвачными животными в связи с его качеством
А.А.Илчев	Сопоставление двух систем оценки протеина, скармливаемого жвачным животным
В.И.Агафонов	Нормирование энергии у жвачных животных по принципу субстратной обеспеченности метаболизма
Ю.В.Маркин	Косвенные методы определения энергетической и протеиновой питательности рационов для жвачных
В.Б.Решетов	Расчет потенциально возможного образования АТФ при ферментации в рубце и эффективности ее использования микроорганизмами
П.И.Викторов А.А.Солдатов	Уровень распадаемости протеина кормов в рационах коров и их продуктивность
Е.Л.Харитонов А.М.Материкин	Новые подходы к оценке протеина кормов для жвачных
В.И.Георгиевский Е.П.Полякова	Кишечный химус и процессы всасывания: новые аспекты

Л.П.Тельцов	Функции тонкой кишки в эмбриогенезе
А.В.Чалышев	Механизмы всасывания летучих жирных кислот из рубца-сетки у овец и северных оленей
В.Н.Никулин	Некоторые особенности процесса пищеварения у коров, получавших солому в летних рационах
Н.В.Стащенко И.К.Слесарев <i>Беларусь</i>	Нормы протеина в зависимости от степени его расщепления в рубце (<i>тезисы</i>)
П.П.Валуйский Н.А.Никольская С.П.Федяшева <i>Киргизия</i>	Потребность высокопродуктивных лактирующих коров в питательных веществах и энергии (<i>тезисы</i>)
М. Baran <i>Словакия</i>	Optimization of fermentation in ruminants (<i>тезисы</i>)
Z. Ceresnakova A. Sommer M. Chrenkova <i>Словакия</i>	The application in sacco and in vitro methods in feed quality evaluation for ruminants (<i>тезисы</i>)
Д.А.Мельничук Н.А.Захаренко <i>Украина</i>	Механизмы регуляции обмена веществ и пищеварения у новорожденных телят (<i>тезисы</i>)
С.В.Бродин В.Г.Янович <i>Украина</i>	Энергетическая и липогенная роль аминокислот в тканях животных (<i>тезисы</i>)
Ш. Дэмберел Г. Гэрэлцэцэг <i>Монголия</i>	Некоторые особенности сычужного пищеварения у новорожденных ягнят (<i>тезисы</i>)
D. Trasnea I. Voicu Gh. Burlacu M. Olteanu F. Sachelarie Gh. Barbu <i>Румыния</i>	Research on the short-chain fatty acids in cattle and buffaloes (<i>тезисы</i>)
Jia Qi Wang Qian Zhang <i>Китай</i>	Studies on the synchronous effect between wet distiller's byproduct and urea-treated wheat straw for growing cattle (<i>тезисы</i>)
И.К.Медведев	Физиологические аспекты продуктивной эффективности молочного скота
В.А.Матвеев	Гормональная регуляция метаболизма и продуктивности жвачных животных
Ю.Н.Шамберев	Научные и практические аспекты субстратной активации желез внутренней секреции животных
	Результаты и перспективы применения

Г.Г.Черепанов	системного цитофизиологического анализа в исследованиях регуляции биосинтеза компонентов мяса и молока
N.Alexandrova M.Petkova Chr. Stanchev Болгария	Influence of clenbuterol on performance, carcass and meat quality in ruminants and nonruminants (<i>тезисы</i>)
Г.М.Марченко Молдавия	Роль гормонов в регуляции обмена веществ и секреции молока у лактирующих животных (<i>тезисы</i>)
Н.И.Васильев И.В.Петров Э.П.Кокорина	Динамика удоя коров при введении экзогенного соматотропина пролонгированного действия
В.А.Галочкин Н.А.Назаров	Аутоиммунейтрализация холецистокинина как возможный иммуобиотехнологический прием регуляции аппетита, обмена веществ и продуктивности свиней
Л.К.Эрнст М.И.Прокофьев	Биотехнология — новый этап развития генетики, биохимии и физиологии сельскохозяйственных животных
В.П.Рябых	Стратегия использования генов соматотропинового каскада для получения трансгенных свиней
В.Г.Шевченко	Перспективы трансгенеза сельскохозяйственных животных: модификация состава молока и получение фармакологически активных белков
Н.П.Корохов В.Н.Симоненко	Выделение и анализ (TG)n – содержащих космид из геномной библиотеки быка
В.А.Багиров В.П.Кононов	О возможности проникновения экстрагенетической информации в сперматозоиды при криоконсервации семени
В.А.Захарченко В.В.Галат Институт биофизики РАН	Ген обелина как репортер в живых клетках млекопитающих (<i>тезисы</i>)
С.А.Каурова, Н.В.Шишова Институт биофизики клетки РАН	Изучение процесса криоконсервации спермы млекопитающих на лабораторном — мышь (<i>Mus musculus</i>) и диком — суслик (<i>Citellus undulatus</i>) объектах (<i>тезисы</i>)
Н.П.Корохов Т.П.Лушникова А.Ф.Смирнов Эстония	Оценка генетической информативности ЦАЦ ₅ пробы применительно к крупному рогатому скоту (<i>тезисы</i>)
М.В.Прусакова, В.Ю.Кравцов,	Половые различия по признаку “частота эритроцитов с микроядрами в

С.Ю.Медведев, К.Т.Янушаускас А.Ф.Яковлев <i>Литва</i>	периферической крови” у крупного рогатого скота (<i>Bos taurus L.</i>). <i>(тезисы)</i>
Г.Е.Сулимова <i>Институт общей генетики РАН</i>	Возможности использования ДНК-маркеров хозяйственно-ценных признаков крупного рогатого скота в селекционных программах <i>(тезисы)</i>
Т.А.Смирнова, Д.Рат* <i>Германия</i>	Изменение размеров ооцитов, выделенных из преантральных фолликулов неполовозрелых свинок, в процессе культивирования <i>(тезисы)</i>
А.В.Родионов <i>Санкт-Петербургский университет</i>	Изменения кариотипа птиц в эволюции и их значение для поиска обогащенных генами районов генома и сравнительного картирования <i>(тезисы)</i>
С.Е.Дерюшева Ю.А.Логинова О.Г.Чиряева К.Ясчак* <i>Польша</i>	Цитогенетическое картирование лошади <i>(тезисы)</i>
В.И.Глазко Дж.Б.Овен* <i>Англия</i>	Плодовитость и генетико-биохимический полиморфизм у овец <i>(тезисы)</i>
S.M.Kisliuk R.Grossmann* <i>Германия</i>	Plasticity of the endocrine regulation in ontogenesis and productivity in fowls <i>(тезисы)</i>
Б.В.Тараканов В.В.Алешин В.Г.Дорошенко Е.В.Семенова В.А.Лившиц	Конструирование мобилизуемых векторов для молочнокислых бактерий
С.Г.Кузнецов	Итоги и перспективы изучения минерального обмена сельскохозяйственных животных
Н.И.Клейменов А.П.Ярошкевич	Повышение биологической полноценности молока на основе оптимизации витаминного и микроэлементного питания высокопродуктивных коров
Л.В.Абгарян <i>Армения</i>	Эффективность рационов, сбалансированных по микроэлементам, в кормлении сухостойных коров <i>(тезисы)</i>
И.И.Стеценко	Возрастная динамика формирования и минерализации костной ткани у молодняка свиней
К.Т.Ташенов А.Е.Кожаметов Казкен.Т.Ташенов,	Использование природных и синтетических соединений в кормлении сельскохозяйственных животных

У.А.Дербисалиев Казахстан	(тезисы)
P.Georgiev Болгария	Research in to some physiological parameters in rumen content of sheep, intoxicated with metals, with or without zeolit addition (тезисы)
И.В.Малиевская А.И.Фицев	Влияние разных способов обработки зерна гороха на усвояемость аминокислот цыплятами-бройлерами
И.А.Бойко О.В.Мерзленко Н.В.Картамышева А.В.Зуева	Влияние новых биологически активных комплексов на физиологическое состояние, продуктивность птицы и качество получаемой продукции
Н.А.Любин	Некоторые вопросы регуляции двигательной функции вымени коровы
И.А.Бурков Т.П.Трубицина О.А.Крюков	Воспроизводительная функция и гормонально-иммунологические показатели крови свинок в период отъема и перегруппировки в связи с рангом
Л.С. Баран	Потребность растущих откармливаемых свиней в протеине при разных уровнях энергетического питания
Е.М.Буко Я.В.Василюк Н.Т.Горячко Беларусь	Оптимизация аминокислотного питания мускусных утят (тезисы)