

**ВЛИЯНИЕ РАЗНОГО УРОВНЯ В РАЦИОНЕ ОБМЕННОГО ПРОТЕИНА
И НЕРАСПАДАЕМОГО ПЕРЕВАРИМОГО КРАХМАЛА НА
МОЛОЧНУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СУБСТРАТОВ
В МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЕ У КОРОВ**

Макар З.Н., Харитонов Е.Л., Черепанов Г.Г.

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания животных - филиал ФНЦ
животноводства – ВИЖ им. Л.К. Эрнста, Боровск Калужской обл.,
Российская Федерация*

Цель работы – изучение влияния рационов, обеспечивающих дополнительное поступление в метаболический фонд аминокислот и глюкозы, на молочную продуктивность и использование субстратов крови в молочной железе у коров. На 10-й день лактации были сформированы две группы коров чёрно-пестрой породы по 4 каждая (живая масса 500 кг, среднесуточный удой 25-30 кг); эксперимент состоял из двух периодов, в обоих периодах в рационах опытной и контрольной групп варьировали содержание нераспадаемого переваримого крахмала (НПК) и обменного протеина (ОП): в первом периоде НПК (контроль и опыт) – 686 и 797 г, во втором периоде – 680 и 731 г; ОП в первом периоде – 1287 и 1494, во втором – 1611 и 1789 г соответственно. В конце каждого периода проводили балансовый опыт, брали пробы молока и крови из яремной и молочной вен перед утренним кормлением и через 3 ч после кормления. В плазме крови определяли содержание α -аминоазота (свободных аминокислот), глюкозы и триацилглицеролов. С учётом того, что концентрация свободных аминокислот в крови яремной вены различается незначительно от таковой в артериальной крови, объёмную скорость плазмотока оценивали по величине отношения выхода α -аминоазота с молоком к разнице его концентраций в крови яремной и молочной вен. Активность транспорта субстратов в клетки молочной железы (АТ) оценивали по величине отношения поглощения органом к их концентрации в плазме венозной крови. В первом периоде в опытной группе были выше среднесуточный удой, продукция белка и жира молока – на 32,6 ($P<0,05$), 27,7 и 39,4% ($P<0,05$); во втором периоде – среднесуточный удой, продукция белка и жира молока – на 28,6, 31,0 ($P<0,05$) и 37,5% ($P<0,05$) в сравнении с контролем. Скорость плазмотока в опытной группе в обоих периодах была выше, чем в опытной ($P<0,05$), поглощение α -аминоазота в первом и втором периодах было выше в опытной группе на 23 и 35% ($P<0,05$). Величина АТ в обоих периодах по глюкозе и α -аминоазоту была выше, чем в контроле, наибольшие различия отмечены в первом периоде по глюкозе ($P<0,05$), во втором периоде – по α -аминоазоту ($P<0,05$). В обоих периодах не выявлено существенных межгрупповых различий по величине артерио-венозной разности концентрации и эффективности извлечения водорастворимых субстратов из крови. Заключение, что скармливание коровам на ранней стадии лактации рационов, обеспечивающих дополнительное поступление в метаболический пул аминокислот и глюкозы, оказывает положительное влияние на суточные удои и продукцию молочного белка и жира. Выявленный продуктивный эффект был обусловлен увеличенным поглощением молочной железой аминокислот, глюкозы и триацилглицеролов за счёт повышения плазмотока в органе и активности транспорта аминокислот и глюкозы в клетки молочной железы.

Ключевые слова: молочные коровы, обменный протеин, нераспадаемый переваримый крахмал, молочная продуктивность, использование субстратов крови, белок и жир молока

Проблемы биологии продуктивных животных, 2019, 4: 81-93

Введение

Проблема максимальной реализации продуктивного потенциала молочного скота с минимальными потерями по эффективности конверсии питательных веществ корма в составные части молока остаётся ещё далеко от своего решения. Повысить конверсию корма в продукцию молока можно посредством решения задач по двум направлениям: 1) повышение трансформации питательных веществ корма в конечные продукты пищеварения и субстраты всасывания в кишечнике и 2) повышение конверсии в компоненты молока тех низкомолекулярных веществ, которые составляют пул субстратов для макромолекулярных синтезов в молочной железе, тем самым понизив их окислительные потери в процессах интермедиарного обмена. По первому направлению проведено большое количество исследований и достигнуты известные успехи (Харитонов, Материкин, 2001; Кальницкий, Харитонов, 2005; Bateman et al., 2005), но поиски решения по второму направлению в большей части входят в задачи будущих исследований. К настоящему времени всё еще мало известно о физиологических механизмах, посредством которых состояние питания у жвачных животных влияет на использование субстратов в молочной железе, но их изучение имеет практическое значение, поскольку может послужить основанием для разработки эффективных способов управления процессом молокообразованием.

Ассортимент способов, применяемых для стимуляции образования молочного белка, весьма ограничен по сравнению с аналогичными средствами, используемыми для управления продукцией молочного жира. Это связано с тем, что регуляция образования молочного белка осуществляется по более сложной схеме, включающей межорганное распределение свободных аминокислот и ассоциативные связи в системах азотистого, энергетического обмена и матричного синтеза в секреторном эпителии молочных желез (Mackle, Bauman, 1998; Cherepanov et al., 2000; Черепанов и др., 2004).

При попытках повысить продукцию молочного белка за счет дополнительного введения аминокислот иногда наблюдается положительный эффект, но в целом результаты мало воспроизводимы и продуктивный отклик плохо прогнозируется на современном этапе. По мере роста отношения доступного для усвоения протеина к величине удоя наблюдается спад эффективности конверсии протеина в молочный белок, индуцируются процессы катаболизма аминокислот, и избыток азота выводится с мочой (Metcalf et al., 1996; Bauman, Mackle, 1997; Bequette et al., 1998; Hanigan et al., 1998; Черепанов, Макара, 2004). С другой стороны, накапливаются данные о том, что повышенное поступление в организм энергетических субстратов может влиять на конверсию аминокислот в белок молока (Purdie et al., 2008; Huhtanen et al., 2002; Rigout et al., 2003; Rulquin et al., 2004; Raggio et al., 2006; Макара и др., 2007; Макара, 2012, 2015, Макара, Черепанов, 2018). В основе этого эффекта могут лежать как общие закономерности взаимодействия протеина и энергии на уровне организма, так и специфические адаптивные сдвиги в кровоснабжении и метаболизме секреторных клеток железы. В опытах с инфузиями субстратов в пищеварительный тракт нами выявлен эффект стимуляции синтеза молочного белка у коров при дополнительном поступлении в метаболический пул аминокислот в сочетании с глюкозой (Макара и др., 2007; Макара, 2012).

Поступление субстратов к местам синтеза компонентов молока может лимитироваться на уровне транспорта внутрь клеток. Активность транспорта водорастворимых субстратов из внеклеточной фазы в клетки органа можно оценить *in vivo* по данным измерения кровотока и концентрации субстратов в артериальной и венозной крови (Черепанов и др., 2003; Черепанов, Макара, 2010). Для метаболитов, поступающих в клетку по механизму активного транспорта, эта величина (измеряемая в единицах клиренса) представляет собой тот компонент величины общего потока поглощения, который не зависит от концентрации в интерстиции, но обусловлен величиной пула мембранных транспортеров. Для липидных компонентов плазмы измеряемое в опыте поглощение триацилглицеролов определяется суммарным действием липопротеинлипазы, локализованной в эндотелии капилляров, и средней величиной

проницаемости плазматической мембраны клеток для образующихся незатерифицированных жирных кислот.

Цель данной работы – изучение влияния рационов, обеспечивающих дополнительное поступление аминокислот и глюкозы в метаболический пул, на молочную продуктивность и использование субстратов крови в молочной железе у коров на протяжении первых месяцев лактации.

Материал и методы

Эксперименты проводились в условиях вивария института методом групп-периодов на двух группах коров чёрно-пестрой породы, второй лактации, по 4 животных (живая масса 500 кг, среднесуточный удой 25-30 кг), в первые 2 месяца лактации. Опыт состоял из двух периодов, в которых коровы получали рацион с содержанием концентрированных кормов на уровне 50-60%. Кормление животных проводили в 8 и 20 ч равными дачами кормов рациона. Доеение трёхкратное, содержание животных привязное. Ежедневно учитывали поедаемость корма и суточный удой. В конце каждого периода опыта брали пробы молока и крови из яремной и молочной вен перед утренним кормлением и через 3 ч после кормления.

Первый период. С 10-го дня лактации коровы контрольной и опытной групп получали комбикорм, содержащий разное количество распадаемого и нераспадаемого протеина и крахмала. Рацион составлен для получения 25 кг молока и состоял из силоса вико-овсяного, сена из козлятника, патоки кормовой и комбикорма (табл. 1, 2). На этом фоне *контрольная группа* коров получала рацион с уровнем распадаемого протеина, обеспечивающим эффективность микробного синтеза на уровне 24 г микробного азота на 1 кг видимо переваримого органического вещества и с содержанием обменного протеина (переваримый микробный белок плюс переваримый трудно распадаемый в рубце протеин корма) необходимым для продукции 25 кг молока с 3.4%-ным содержанием белка (Харитонов, Материкин, 2001); при этом расчётный вклад глюкозы в обменную энергию составлял 10%. Во *второй группе (опытной)* количество распадаемого протеина рассчитывалось на более реальную эффективность микробного синтеза – 20 г азота на кг ВПОВ, а вклад глюкозы в обменную энергию обеспечивался на уровне 12% за счет большей доли кукурузы в комбикорме. Варьируемые по периодам уровни протеина и крахмала в рационах приведены в табл. 1.

Таблица 1. Рационы кормления и состав кормов коров по периодам опыта.

Корма	Первый период		Второй период	
	Группы			
	контроль	опыт	контроль	опыт
Сено козлятниковое	4	4	4	4
Силос вико-овсяной.	21	21	21	21
Патока кормовая	1	1	0,8	0,8
комбикорм	9	9	9	9,75
Кукуруза	30	55	28	20
Ячмень	29	16	27	43
Пшеница	17		17	15
Соевый шрот	4	25	10	18
Подсолнечный шрот	16		14	
Премикс П-60-1	1	1	1	1
Соль поваренная	1,5	1,5	1,5	1,5
Трикальций фосфат	1,5	1,5	1,5	1,5

Таблица 2. Питательность кормов по периодам опыта.

Показатели	Первый период		Второй период	
	Группы			
	контроль	опыт	контроль	опыт
Обменная энергия, МДж	166,8	165,2	189,6	197,0
Сухое вещество, г	17928	17874	20470	20470
Сырой протеин, г	2662	2731	3131	3141,8
Распадаемый протеин, г	1599	1504	1819	1775
Нераспадаемый протеин, г	1062	1226	1311	1365
Обменный протеин	1287	1494	1611	1789
Сырой жир, г	393	411	521	558
НДК, г	6609	6607	8067	8100
Крахмал+сахар, г	6901	6733	6775	6806
Распадаемый крахмал,г	2318	2092	2195	2584
Переваримый нераспадаемый крахмал, г	686	797	680	731
Зола, г	1360	1389	1832	1742
Сырая клетчатка,г	3443	3186	4541	4632
Соль поваренная, г	100	100	100	100

На 30-35-й день лактации был проведен балансовый опыт по учёту потребления, выделения мочи, кала, а также отобраны образцы крови до- и через 3 ч после утреннего кормления.

Второй период. После проведения балансового опыта (с 35-го дня лактации) количество обменного протеина в контрольной группе устанавливали с учётом планируемого уровня молочной продуктивности (при 100%-ной обеспеченности) (в основном, за счет подсолнечного и соевого шрота). В опытной группе количество обменного протеина в рационе было выше, чем в контрольной, на 11% при том же уровне обменной энергии. При этом уровень обменной энергии в рационе был также больше обеспечен за счёт глюкозы – на 7,5%. Рационы кормления, состав кормов и данные по их питательности приведены в табл. 1 и 2.

Состав молока определяли на анализаторе молока LactoStar («Funke-Dr.N.Gerber Labortechnik GmbH», Германия). В плазме крови определяли содержание α -аминоазота, т.е. свободных аминокислот (Mitsukawa et al., 1971), глюкозы – глюкозооксидазным методом, триацилглицеролов – энзиматическим методом (набор реагентов фирмы «Витал Диагностик СПб. Поскольку концентрация указанных субстратов в артериальной крови и крови яремной вены у продуктивных жвачных животных различается незначительно (Gagliostro et al., 1991; Lykos, Varga, 1996; Nielsen et al., 2001), вместо показателей артериальной крови использовали данные по крови яремной вены.

Объёмную скорость плазмотока в вымени (Q) определяли расчётным путём по величине отношения выхода α -аминоазота с молоком к разности концентрации α -аминоазота в плазме крови яремной и молочной вен (Yang et al., 1978); оценивались также эффективность извлечения α -аминоазота и глюкозы из крови (E), их поглощение органом (P) и активность транспорта в клетки молочной железы (T):

$$E=100*(c_a - c_v)/c_a; P=Q(c_a - c_v); T = P/c_v,$$

где c_a и c_v – концентрация субстрата в плазме крови яремной и молочной вен соответственно.

Результаты и обсуждение

Первый период. В первом периоде (первый месяц лактации) скормливание коровам рациона, обеспечивающего повышенное поступление в метаболический пул аминокислот и глюкозы (опытная группа) не оказало существенного влияния на состав молока, однако

значительно повысило среднесуточный удой, продукцию белка и жира молока (соответственно на 32,6 ($P<0,05$), 27,7 и 39,4% ($P<0,05$) в сравнении с контролем) (табл. 3).

Таблица 3. Молочная продуктивность коров по периодам опыта ($M\pm m$, $n=4$).

Показатели	Первый период		Второй период	
	Группы			
	контроль	опыт	контроль	опыт
Среднесуточный удой, кг	18,1±2,8	24,0±2,2*	18,9±2,3	24,3±2,0
Белок, %	3,51±0,07	3,39±0,08	3,37±0,12	3,42±0,14
Жир, %	3,37±0,12	3,51±0,27	3,26±0,14	3,46±0,22
Выход белка, г/сутки	632±86	807±36	628±56	822±41*
Выход жира, г/сутки	608±89	848±131*	611±76	840±89*

Примечание: здесь и далее в таблицах: * $P<0,05$ по t -критерию при сравнении с контролем.

Определение баланса азота в организме коров показало, что при увеличении в рационе содержания доступного протеина в первую очередь снижалось выделение азота с калом и мочой, что и определило повышенное выделение азота с молоком ($P<0,05$) (табл. 4).

Перед кормлением наблюдалась тенденция к снижению содержания α -аминоазота и к повышению концентрации глюкозы и триацилглицеролов в крови яремной вены у животных опытной группы по сравнению с контролем (табл. 5).

Таблица 4. Баланс азота у коров по периодам опыта ($M\pm m$, $n=4$).

Показатели	Первый период		Второй период	
	Группы			
	контроль	опыт	контроль	опыт
Принято, г	401±8	417±11*	459±16	484±25
Выделено с калом, г	141,6±6,5	135,6±8,2	160,9±4,8	165,9±8,2
Выделено с мочой, г	162,6±14,1	155,8±14,2	161,8±13,1	171,6±10,1
Выделено с молоком, г	103,1±14,3	130,5±9,1*	105,1±12,6	125,3±9,2
Отложено, г	-0,11±10,5	-4,5±20,4	30,9±7,2	21,6±11,6

Через 3 ч после кормления не наблюдалось существенных межгрупповых различий по содержанию основных предшественников молока в крови яремной вены (табл. 6).

Таблица 5. Содержание основных предшественников молока в плазме крови яремной вены перед кормлением по периодам опыта ($M\pm m$, $n=4$).

Показатели	Первый период		Второй период	
	Группы			
	контроль	опыт	контроль	опыт
α -аминоазот, мг/100 мл	4,69±0,39	4,12±0,34	4,93±0,17	4,68±0,09
Глюкоза, мМ	3,00±0,17	3,20±0,22	2,85±0,07	3,11±0,10
Триацилглицеролы, мг/100 мл	9,73±0,50	12,77±1,06	9,74±0,47	9,26±0,92

Таблица 6. Содержание основных предшественников молока в плазме крови яремной вены через 3 ч после кормления по периодам опыта ($M\pm m$, $n=4$).

Показатели	Первый период		Второй период	
	Группы			
	контроль	опыт	контроль	опыт
α -аминоазот, мг/100 мл	4,24±0,25	4,00±0,05	4,32±0,155	4,17±0,20
Глюкоза, мМ	2,88±0,24	2,86±0,23	2,68±0,08	2,87±0,24
Триацилглицеролы, мг/100 мл	10,43±0,92	9,85±1,64	8,57±0,50	8,88±0,17

Эффективность использования азота по показателю % выделения азота с молоком от принятого и от переваренного в организме коров в первом периоде в опытной группе была выше, чем в контрольной (табл. 7).

Таблица 7. Эффективность использования азота в организме коров в двух периодах ($M \pm m$, $n=4$).

Показатели	Первый период		Второй период	
	Группы			
	контроль	опыт	контроль	опыт
Выделено с молоком от принятого, %	25,6±3,3	31,2±1,9*	22,8±2,1	25,8±1,0
Выделено с молоком от переваренного, %	38,6±4,3	46,5±4,1*	35,1±2,5	39,2±1,3
Усвоено от принятого, %	25,5±4,8	29,9±4,2	29,5±4,0	27,2±2,9
Усвоено от переваренного, %	38,4±6,8	44,3±6,1	45,4±4,6	41,7±4,4

У коров опытной группы перед кормлением наблюдалась тенденция более низких величин АВР концентраций по α -аминоазоту и глюкозе в сравнении с контролем, а по триацилглицеролам она, напротив, была положительной (табл. 8). Через 3 ч после кормления у коров опытной группы межгрупповых различий АВР по α -аминоазоту, глюкозе и триацилглицеролам не выявлено (табл. 9).

Перед кормлением у коров опытной группы эффективность извлечения из крови молочной железой α -аминоазота, глюкозы и триацилглицеролов существенно не отличалась от таковой в контрольной группе. Через три часа после кормления у животных опытной группы также не выявлено статистически значимых различий по эффективности извлечения молочной железой α -аминоазота, глюкозы и триацилглицеролов в сравнении с контролем.

Дополнительное поступление в метаболический пул аминокислот и глюкозы в первом месяце лактации оказало существенное стимулирующее влияние на объёмную скорость плазмотока в вымени (9,4 л/мин, 142% в сравнении с контролем, $P < 0,05$) (табл. 10). В опытной группе в сравнении с контролем повысилось поглощение молочной железой α -аминоазота, глюкозы и триацилглицеролов на 22,5, 45,5 и 61,0% соответственно.

Поглощение аминокислот и глюкозы молочной железой определяется произведением величины АВР и органного плазмотока, а со стороны базальной мембраны секреторного эпителия – произведением концентрации в межклеточной жидкости (практически равной концентрации в плазме венозной крови) и активности транспорта (количеством молекул-переносчиков в плазматической мембране клеток) (Черепанов и др., 2003; Макар и др., 2003; Черепанов, Макар, 2010). Поскольку по величине АВР и содержанию α -аминоазота и глюкозы в сыворотке венозной крови опытная и контрольная группы существенно не различались, повышенные величины поглощения этих субстратов в опытной группе были обусловлены более высокими значениями органного плазмотока и активности транспорта (выраженной в единицах клиренса при расчёте на весь орган, л/мин) в опытной группе (по глюкозе $P < 0,05$, табл. 11).

Таблица 8. АВР концентраций основных предшественников молока перед кормлением по периодам опыта ($M \pm m$, $n=4$).

Показатели	Первый период		Второй период	
	Группы			
	контроль	опыт	контроль	опыт
α -аминоазот, мг/100 мл	0,99±0,32	0,86±0,26	1,00±0,77	0,98±0,11
Глюкоза, мМ	0,95±0,27	0,90±0,21	0,90±0,15	0,83±0,17
Триацилглицеролы, мг/100 мл	3,48±1,08	4,84±1,09	2,94±0,98	2,81±1,24

Таблица 9. АВР концентраций основных предшественников молока у коров через 3 ч после кормления по периодам опыта ($M \pm m$, $n=4$).

Показатели	Первый период		Второй период	
	Группы			
	контроль	опыт	контроль	опыт
α -аминоазот, мг/100 мл	0,96 \pm 0,20	0,79 \pm 0,16	0,85 \pm 0,07	0,90 \pm 0,05
Глюкоза, мМ	0,75 \pm 0,30	0,81 \pm 0,32	1,18 \pm 0,18	1,18 \pm 0,05
Триацилглицеролы, мг/100 мл	3,63 \pm 0,72	3,18 \pm 1,34	2,79 \pm 0,41	3,31 \pm 0,40

Таблица 10. Объёмная скорость плазмотока и поглощение основных предшественников молока в вымени по периодам опыта ($M \pm m$, $n=4$).

Показатели	Первый период		Второй период	
	Группы			
	контроль	опыт	контроль	опыт
Плазмоток, л/мин	6,6 \pm 0,4	9,4 \pm 0,7*	7,4 \pm 0,5	9,6 \pm 0,3*
Поглощение:				
α -аминоазота, мг/мин	63,6 \pm 12,9	77,9 \pm 9,1	68,4 \pm 6,1	89,5 \pm 4,4*
глюкозы, ммоль/мин	5,5 \pm 0,6	8,0 \pm 0,8	8,0 \pm 0,9	9,9 \pm 0,6
триацилглицеролов, мг/мин	234 \pm 27	376 \pm 55	219 \pm 52	299 \pm 87

Второй период. Скармливание коровам на втором месяце лактации рациона, обеспечивающего повышенное поступление в метаболический пул аминокислот и глюкозы (опытная группа), не оказало существенного влияния на состав молока и значительно повысило среднесуточный удой, продукцию белка и жира молока (соответственно на 28,6, 31,0 ($P < 0,05$) и 37,5% ($P < 0,05$) в сравнении с контролем) (табл. 3).

Выделение азота с калом и мочой в группах не различалось, а выделение азота с молоком в опытной группе было выше за счёт большего отложения в теле азота у коров контрольной группы (табл. 4). По-видимому, у коров контрольной группы за счёт менее интенсивного раздоя раньше происходило перераспределение потоков всасывающихся субстратов на отложение в теле по сравнению с опытными животными. Это подтверждается данными по более эффективному использованию азота на молокообразование у коров опытной группы при практически одинаковой эффективности общего использования (на молокообразование и отложение) (табл. 5).

Перед кормлением наблюдалась тенденция к снижению содержания α -аминоазота и триацилглицеролов и к повышению концентрации глюкозы в крови яремной вены животных опытной группы в сравнении с контролем (табл. 6). Через три часа после кормления также не выявлено статистически значимой разницы по концентрации α -аминоазота, глюкозы и триацилглицеролов в контрольной и опытной группах (табл. 7).

Таблица 11. Активность транспорта аминокислот и глюкозы в секреторные клетки молочной железы по периодам опыта (в единицах клиренса) ($M \pm m$, $n=4$).

Показатели, л/мин	Первый период		Второй период	
	Группы			
	контроль	опыт	контроль	опыт
α -аминоазот	6,52 \pm 1,32	9,44 \pm 1,11	7,39 \pm 0,66	9,52 \pm 0,47*
глюкоза	6,47 \pm 0,71	9,36 \pm 0,94*	7,69 \pm 0,87	9,90 \pm 0,60

Не выявлено существенных межгрупповых различий в значениях АВР по основным предшественникам молока перед кормлением и через 3 ч после кормления (табл. 8, 9).

Дополнительное поступление аминокислот и глюкозы в метаболический пул на втором месяце лактации оказало существенное стимулирующее влияние на плазматок ($P < 0,05$) и поглощение молочной железой α -аминоазота ($P < 0,05$), глюкозы и триацилглицеролов (на 30,8, 23,8 и 36,8% соответственно) (табл. 10).

Более высокие величины поглощения этих субстратов соответствуют существенно более высоким значениям активности транспорта в секреторные клетки в опытной группе (по α -аминоазоту $P < 0,05$, по глюкозе $t = 2,1$, при пороговом 5%-ном уровне $t = 2,4$) (табл. 11).

Таким образом, дополнительное поступление в метаболический пул аминокислот и глюкозы в первые месяцы лактации в условиях проведенного исследования оказало у подопытных коров существенное стимулирующее влияние на плазматок, поглощение этих субстратов органом и активность их транспорта в секреторные клетки молочной железы. Полученные данные дают основание предположить, что лактогенное действие испытанных рационов было обусловлено совместными эффектами вариаций кровотока и активности транспортных систем в секреторных клетках молочной железы. При этом возникает вопрос, что послужило причиной наблюдаемых эффектов, а что является следствием. С учётом имеющейся научной информации и ранее полученных данных, можно предполагать, что первоначальный стимул заключался в том, что сбалансированное поступление кормового протеина и глюкозы обеспечило повышенный темп макромолекулярных синтезов, требующий соответствующего поступления источников энергии, а возникший энергетический дефицит стимулировал увеличение кровотока, т.е. снижение периферического сопротивления за счёт расширения прекапиллярных сфинктеров и мелких артериол в молочной железе. Если это предположение правильное, то в последующем в схему опытов необходимо включать дополнительные показатели, характеризующий энергетическую обеспеченность метаболизма.

С методической точки зрения немаловажным представляется тот факт, что по показателям артерио-венозной разности концентраций субстратов и эффективности их извлечения из крови не выявлено статистически значимых межгрупповых различий при измерениях до утреннего кормления и через 3 ч после него. Ранее в наших работах и исследованиях зарубежных исследователей было показано, что венозная концентрация увеличивается при повышении объёмной скорости кровотока, поэтому величины АВР и эффективности извлечения из крови при вариациях кровотока оказываются смещёнными и не дают правильной информации о поглощении органом субстратов синтеза (Prosser, 1996; Черепанов и др., 2001, 2003, 2010; Макар и др., 2003, 2007, 2018).

Такое заключение следует из рассмотрения баланса субстратных потоков в системе капилляр – интерстиций – базальная мембрана секреторного эпителия (в последовательности преобразований исходного соотношения):

$$(c_a - c_v) Q = c_v T;$$

$$c_a Q - c_v Q = c_v T; \quad c_v (T + Q) = c_a Q; \quad c_v = c_a Q / (T + Q); \quad c_v = c_a / (1 + T/Q),$$

где c_a и c_v – концентрация субстрата в плазме крови яремной и молочной вен соответственно, ммоль/л; Q – объёмная скорость плазматока в вымени, л/ч, T – активность транспорта в секреторные клетки молочной железы, л/ч.

Из последних двух соотношений следует, что в интервале небольших значений плазматока c_v повышается пропорционально увеличению плазматока, $c_v = 0,5 c_a$ при $T = Q$, а при больших значениях плазматока венозная концентрация асимптотически приближается к величине артериальной концентрации.

Таким образом, согласно рассмотренным соотношениям, во всех случаях, когда при прочих одинаковых условиях (включая артериальную концентрацию и активность транспорта в клетки) изменяется объёмная скорость кровотока, венозная концентрация изменяется в таком же направлении, а АВР и эффективность извлечения из крови – в обратном направлении. В проведенном эксперименте при значительном повышении кровотока в

опытных группах существенных межгрупповых различий по этим показателям не выявлено, венозная концентрация не увеличилась, так как «избыток» поступающих с артериальной кровью субстратов был утилизирован за счёт повышенной активности транспорта в секреторные клетки. Если бы в этой ситуации не была проведена оценка величины плазмотока, то по двум косвенным показателям (АВР и эффективности извлечения из крови) был бы сделан неправильный вывод об отсутствии межгрупповых различий по поглощению субстратов в вымени.

Судя по результатам исследований, проведенных в последние десятилетия, существует значительный биологический резерв в повышении синтеза белка в молочной железе у жвачных животных – основного поставщика молочной продукции для человека, однако попытки реализовать этот потенциал за счёт изменения условий кормления животных плохо воспроизводимы. Для решения этой проблемы необходима детальная проработка количественных аспектов пищеварения и межклеточного обмена для правильного прогноза поступления в организм конечных продуктов рубцовой ферментации и их использования в основных органах и тканях, в первую очередь, в секреторных клетках молочной железы в условиях *in vivo*. Методология такого комплексного подхода, разрабатываемая в последние годы, включает в себя оценку состава молока, объёмной скорости кровотока в молочной железе, артерио-венозного баланса субстратов – предшественников компонентов молока и вычислительные процедуры моделирования и идентификации лимитирующих факторов.

Заключение

Скармливание коровам на ранней стадии лактации рационов, обеспечивающих дополнительное поступление в метаболический пул аминокислот и глюкозы, оказывает положительное влияние на суточные удои и продукцию молочного белка и жира. Выявленный продуктивный эффект был обусловлен увеличенным поглощением молочной железой аминокислот, глюкозы и триацилглицеролов за счёт повышения плазмотока в органе и активности транспорта аминокислот и глюкозы в клетки молочной железы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кальницкий Б.Д., Харитонов Е.Л. Процессы ферментации белка в преджелудках жвачных и возможности оптимального нормирования белкового (аминокислотного) питания молочных коров // Мат. конф.: «Аминокислотное питание животных и проблема белковых ресурсов» . – Краснодар: Кубанский ГАУ, 2005. – С. 131-156.
2. Макар З.Н., Черепанов Г.Г., Бояршинов И.А., Корнеева Р.И., Мещеряков П.В., Токарев Е.Ю. Взаимосвязь органного кровотока, поглощения субстратов из крови, активности транспорта в секреторные клетки молочной железы и образования компонентов молока у коров // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2003. – Т. 89. – № 8. – С. 951-959.
3. Макар З.Н., Корнеева Р.Н., Сапунов М.И., Черепанов Г.Г. О механизмах влияния факторов питания на функциональную активность молочной железы у жвачных животных // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2007. – № 1. – С. 52-61.
4. Макар З.Н. Регуляция кровоснабжения и функциональной активности молочной железы у жвачных животных: автореф. дисс. ...д.б.н. – Боровск, 2012. – 48 с.
5. Макар З.Н. Влияние разного уровня в рационе источников труднораспадаемого в рубце протеина и крахмала на продукцию молочного белка у коров // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2015. – № 2. – С. 59-66.
6. Макар З.Н., Черепанов Г.Г. Формирование субстратного баланса в молочной железе и продукция белка у коз при скармливании высокопротеинового рациона с добавками ацетата или пропионата натрия // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2018. – № 4. – С. 65-72.
7. Харитонов Е.Л., Материкин А.М. Принципы расчёта образования субстратов и метаболитов в желудочно-кишечном тракте жвачных животных // Доклады РАСХН. – 2001. – № 3. – С. 33-37.

8. Черепанов Г.Г., Макара З.Н. и др. Исследование сопряжённой регуляции органной гемодинамики, биосинтеза и секреции компонентов молока в лактирующей молочной железе // Труды регион. конк. научн. проектов в обл. естеств. наук. – Калуга: 2001. – Т. 2. – С. 507-519.
9. Черепанов Г.Г., Токарев Т.Ю., Макара З.Н. Косвенная оценка активности транспорта метаболитов в клетку *in vivo* по данным измерения их артерио-венозного баланса // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2003. – Т. 89. – № 8. – С. 1021-1028.
10. Черепанов Г.Г., Решетов В.Б., Агафонов В.И., Макара З.Н. Научно-технологические приоритеты в области производства молочного сырья // Зоотехния. – 2004. – № 12. – С. 17-20.
11. Черепанов Г.Г., Макара З.Н. Исследование физиологических факторов, лимитирующих молочную продуктивность при стимуляции лактопоеза у продуктивных жвачных животных // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2010. – № 2. – С. 80-96.
12. Bateman H.G., Clark J.H., Murphy M.R. Development of a system to predict feed protein flow to the small intestine of cattle // *J. Dairy Sci.* – 2005. – Vol. 88. – P. 282-295.
13. Bauman D.E., Mackle T.R. Amino acid supply and the regulation of milk protein synthesis // In: Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manuf. – Ithaca, Rochester, NY: Cornell Univ. Publ., 1997. – P. 196-207.
14. Bequette B.J., Backwell F.R.C., Crompton L.A. Current concepts of amino acid and protein metabolism in the mammary gland of the lactating ruminant // *J. Dairy Sci.* – 1998. – Vol. 81. – No. 9. – P. 2540-2559.
15. Cherepanov G.G., Danfaer A., Cant J.P. Simulation analysis of substrate utilization in the mammary gland of lactating cow. *J. Dairy Sci.* 2000, 67. 171-188.
16. Hanigan M.D., France J., Wray-Cahen D., Beever D.E., Lobley G.E., Reutzel L., Smith N.E. Alternative models for analysis of liver and mammary transorgan metabolite extraction data // *Br. J. Nutr.* – 1998. – Vol. 79. – P. 63-78.
17. Huhtanen P., Vanhatalo A., Varvikko T. Effects of abomasal infusions of histidine, glucose and leucine on milk production and plasma metabolites of dairy cows fed grass silage diets // *J. Dairy Sci.* – 2002. – Vol. 85. – No. 1. – P. 204-216.
18. Gagliostro G., Chilliard Y., Davicco Y.-J. Duodenal rapeseed oil infusion in early and midlactation cows. 3. Plasma hormones and mammary apparent uptake of metabolites // *J. Dairy Sci.* – 1991. – Vol. 74. – P. 59-67.
19. Lykos T., Varga G.A. Varying degradation rates of total nonstructural carbohydrates: effects on nutrient uptake and utilization by the mammary gland in high producing Holstein cows // *J. Dairy Sci.* – 1997. – Vol. 80. – No. 12. – P. 3356-3367.
20. Mackle T.R., Bauman D.E. Recent developments in the regulation of milk protein production. In: Proceedings of the Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers. Cornell University, Ithaca, N.Y., 1998, P. 104-113.
21. Metcalf J.A., Wray-Cahen D., Chettle E.E., Sutton J.D., Beever D.E., Crompton L.A., MacRae J.C., Bequette B.J., Backwell F.R.C. The effect of increasing levels of dietary crude protein as protected soybean meal on mammary metabolism in the lactating dairy cow // *J. Dairy Sci.* – 1996. – Vol. 79. – P. 603-611.
22. Mitsukava H., Shimizu O., Nishi H. Colorimetric determination of α -amino nitrogen in urine and plasma with ninhydrin reaction // *Agr. Biol. Chem.* – 1971. – Vol. 35. – No. 2. – P. 272-274.
23. Nielsen M.O., Madsen T.G., Hedeboe A.M. Regulation of mammary glucose uptake in goats: role of mammary gland blood supply, insulin, IGF-1 and synthetic capacity // *J. Dairy Res.* – 2001. – Vol. 68. – P. 337-349.
24. Prosser C.G., Davis S.R., Fair V.C., Lacasse P. Regulation of blood flow in the mammary microvasculature // *J. Dairy Sci.* – 1996. – Vol. 79. – P. 1184-1197.
25. Purdie N.G., Trout D.R., Cant J.P., Poppi D.P. Mammary responses to short term close arterial infusions of selected amino acid profiles and acetate // *J. Dairy Sci.* – 2000. – Vol. 83. – Suppl. 1. – P. 167.
26. Raggio G., Lemosquet S., Lobley G.E., Rulquin H., Lapierre H. Effect of casein and propionate supply on mammary protein metabolism in lactating dairy cows // *J. Dairy Sci.* – 2006. – Vol. 89. – No. 11. – P. 4340-4351.
27. Rigout S., Hurtaud C., Lemosquet S., Bach A., Rulquin H. Lactational effect of propionic acid and duodenal glucose in cows // *J. Dairy Sci.* – 2003. – Vol. 86. – No. 1. – P. 243-253.
28. Rulquin H., Rigout S., Lemosquet S., Bach A. Infusion of glucose directs circulating amino acids to the mammary gland in well-fed dairy cows // *J. Dairy Sci.* – 2004. – Vol. 87. – P. 340-349.
29. Sears P.M., Paape M.J., Pearson R.E., Gwazdauskas F.C. Comparison between tail vein and jugular vein cannulation in cattle // *J. Dairy Sci.* – 1978. – Vol. 61. – No. 7. – P. 974-979.
30. Yang, Y.T., Rohde J.M., Baldwin R.L. Dietary lipid metabolism in lactating cows // *J. Dairy Sci.* – 1978. – Vol. 61. – No. 10. – P. 1400-1406.

REFERENCES

1. Bateman H.G., Clark J.H., Murphy M.R. Development of a system to predict feed protein flow to the small intestine of cattle. *J. Dairy Sci.* 2005, 88: 282-295.
2. Bauman D.E., Mackle T.R. Amino acid supply and the regulation of milk protein synthesis. In: *Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manuf.* Ithaca, Rochester, NY: Cornell Univ., 1997, P. 196-207.
3. Bequette B.J., Backwell F.R.C., Crompton L.A. Current concepts of amino acid and protein metabolism in the mammary gland of the lactating ruminant. *J. Dairy Sci.* 1998, 81, 9: 2540-2559.
4. Cherepanov G.G., Danfaer A., Cant J.P. Simulation analysis of substrate utilization in the mammary gland of lactating cow. *J. Dairy Sci.* 2000, 67. 171-188.
5. Cherepanov G.G., Makar Z.N. et al. [The study of the associated regulation of organ hemodynamics, biosynthesis and secretion of milk components in the lactating mammary gland.]. In: *Trudy regional'nogo konkursa nauchnykh proektov v oblasti estestvennykh nauk* (Proc. Region. Compet. Proj. Natur. Sci.). Kaluga, 2001, 2. 507-519. (In Russian)
6. Cherepanov G.G., Tokarev T.Yu., Makar Z.N. [Indirect evaluation of the activity of metabolites transport in a cell *in vivo* as measured by their arterio-venous balance]. *Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal imeni I.M. Sechenova - Russian Journal of Physiology.* 2003, 89(8): 1021-1028. (In Russian)
7. Cherepanov G.G., Reshetov V.B., Agafonov V.I., Makar Z.N. [Scientific and technological priorities in the field of dairy production]. *Zootekhnika – Zootechnics.* 2004, 12: 17-20.
8. Cherepanov G.G., Makar Z.N. [Study of physiological factors limiting milk productivity during stimulation of lactopoiesis in productive ruminants]. *Problemy biologii productivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology.* 2010, 2: 80-96. (In Russian)
9. Gagliostro G., Chilliard Y., Davicco Y.-J. Duodenal rapeseed oil infusion in early and midlactation cows. 3. Plasma hormones and mammary apparent uptake of metabolites. *J. Dairy Sci.* 1991, 74: 59-67.
10. Hanigan M.D., France J., Wray-Cahen D., Beever D.E., Lobley G.E., Reutzel L., Smith N.E. Alternative models for analysis of liver and mammary transorgan metabolite extraction data. *Br. J. Nutr.* 1998, 79: 63-78.
11. Huhtanen P., Vanhatalo A., Varvikko T. Effects of abomasal infusions of histidine, glucose and leucine on milk production and plasma metabolites of dairy cows fed grass silage diets. *J. Dairy Sci.* 2002, 85: 204-216.
12. Kal'nitskii B.D., Kharitonov E.L. [Processes of protein fermentation in the forestomach in ruminants and possibility of optimal rationing of protein (amino acid) nutrition of dairy cows]. In: *Mat. konf.: «Aminokislotoe pitanie zhivotnykh i problema belkovykh resursov»* (Proc. Conf.: Amino acid animal nutrition and the problem of protein reserves). Krasnodar: Kubanskii GAU, 2005, P. 131-156.
13. Kharitonov E.L., Materikin A.M. [Principles for calculating the formation of substrates and metabolites in the gastrointestinal tract of ruminant]. *Doklady Rossiiskoi Akademii Sel'skokhozyaistvennykh Nauk - Reports of Russian Agricultural Sciences.* 2001, 3: 33-37. (In Russian)
14. Lykos T., Varga G.A. Varying degradation rates of total nonstructural carbohydrates: effects on nutrient uptake and utilization by the mammary gland in high producing Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 1997, 80(12): 3356-3367.
15. Mackle T.R., Bauman D.E. Recent developments in the regulation of milk protein production. In: *Proceedings of the Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers.* Cornell University, Ithaca, N.Y., 1998, P. 104-113.
16. Makar Z.N. *Regulyatsiya krovosnabzheniya i funktsional'noi aktivnosti molochnoi zhelezy u zhvachnykh zhivotnykh* (Regulation of blood supply and functional activity of mammary gland in ruminants). Extended Abstract of Diss. Dr. Sci. Biol., Borovsk, 2012, 48 p. (In Russian)
17. Makar Z.N. [The influence of different levels in the diet of sources of protein and starch, which is difficult to decompose in the rumen, on milk protein production in cows]. *Problemy biologii productivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology.* 2015, 2: 59-66.
18. Makar Z.N., Cherepanov G.G., Boyarshinov I.A., Korneeva R.I., Meshcheryakov P.V., Tokarev E.Yu. [The relationship of organ blood flow, absorption of substrates from the blood, activity of transport into the secretory cells of the mammary gland and the formation of milk components in cows]. *Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal imeni I.M. Sechenova - Russian Journal of Physiology.* 2003, 89(8): 951-959.
19. Makar Z.N., Korneeva R.N., Sapunov M.I., Cherepanov G.G. [On the mechanisms of the influence of nutritional factors on the functional activity of the mammary gland in ruminants]. *Problemy biologii productivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology.* 2007, 1: 52-61. (In Russian)

20. Makar Z.N., Cherepanov G.G. [The formation of substrate balance in the mammary gland and protein production in goats when feeding a high protein diet with the addition of acetate or sodium propionate]. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology*. 2018, 4: 65-72.
21. Metcalf J.A., Wray-Cahen D., Chettle E.E., Sutton J.D., Beever D.E., Crompton L.A., MacRae J.C., Bequette B.J., Backwell F.R.C. The effect of increasing levels of dietary crude protein as protected soybean meal on mammary metabolism in the lactating dairy cow. *J. Dairy Sci.* 1996, 79: 603-611.
22. Mitsukava H., Shimizu O., Nishi H. Colorimetric determination of α -amino nitrogen in urine and plasma with ninhydrin reaction. *Agr. Biol. Chem.* 1971, 35(2): 272-274.
23. Nielsen M.O., Madsen T.G., Hedeboe A.M. Regulation of mammary glucose uptake in goats: role of mammary gland blood supply, insulin, IGF-1 and synthetic capacity. *J. Dairy Res.* 2001, 68: 337-349.
24. Prosser C.G., Davis S.R., Fair V.C., Lacasse P. Regulation of blood flow in the mammary microvasculature. *J. Dairy Sci.* 1996, 79: 1184-1197.
25. Purdie N.G., Trout D.R., Cant J.P., Poppi D.P. Mammary responses to short term close arterial infusions of selected amino acid profiles and acetate. *J. Dairy Sci.* 2000, 83(Suppl. 1): 167.
26. Raggio G., Lemosquet S., Lobley G.E., Rulquin H., Lapierre H. Effect of casein and propionate supply on mammary protein metabolism in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2006, 89: 4340-4351.
27. Rigout S., Hurtaud C., Lemosquet S., Bach A., Rulquin H. Lactational effect of propionic acid and duodenal glucose in cows. *J. Dairy Sci.* 2003, 86: 243-253.
28. Rulquin H., Rigout S., Lemosquet S., Bach A. Infusion of glucose directs circulating amino acids to the mammary gland in well-fed dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2004, 87: 340-349.
29. Sears P.M., Paape M.J., Pearson R.E., Gwazdauskas F.C. Comparison between tail vein and jugular vein cannulation in cattle. *J. Dairy Sci.* 1978, 61(7): 974-979.
30. Yang, Y.T., Rohde J.M., Baldwin R.L. Dietary lipid metabolism in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 1978, 61(10): 1400-1406.

Effect of different levels of metabolizable protein and undegradable digestible starch on milk productivity and substrates supply into the mammary gland in cows

Makar Z.N., Kharitonov E.L., Cherepanov G.G.

Institute of Physiology, Biochemistry and Animal Nutrition - Branch of Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry, Borovsk, Kaluga oblast, Russian Federation

ABSTRACT. The aim was to study the effect of diets providing additional input of amino acids and glucose in metabolic pool on milk productivity and the use of blood substrates in the mammary gland in cows. On the 10th day of lactation, two groups of Black-and-White cows were formed, 4 each (live weight 500 kg, average daily milk yield 25-30 kg); the experiment consisted of two periods, in both periods in the diets of the experimental and control groups, the contents of undegradable digestible starch (UDS) and metabolizable protein (MP) were varied at the levels: UDS in first period (control and experiment) 686 and 797 g, and in second period 680 and 731 g; MP in first period 1287 and 1494, in second period 1611 and 1789, respectively. At the end of each period, a balance experiment was carried out and blood samples were taken from the jugular and milk veins before morning feeding and 3 hours after feeding. The content of α -amino nitrogen (free amino acids), glucose and triacylglycerols was determined in blood plasma. Considering that the concentration of free amino acids in the blood of jugular vein differs slightly from that in arterial blood, the volume plasma flow rate in udder was estimated by the ratio of the yield of α -amino nitrogen with milk to the difference in blood plasma concentrations in jugular and mammary veins. The activity of the transport (AT) of water soluble substrates into the mammary gland cells was evaluated as the ratio of the absorption rate in the organ to substrate concentration in the venous blood plasma. In the first period, the average daily milk yield, the production of protein and milk fat were increased in the experimental group, respectively by 32.6 ($P<0.05$), 27.7 and 39.4% ($P<0.05$), in the second period by 28.6, 31.0 ($P<0.05$) and 37.5% ($P<0.05$) vs control. Absorption of α -amino nitrogen from the blood in the first and second periods was higher in the experimental group by 23 and 35% ($P<0.05$), the plasma flow rate in both periods was higher in the experimental group ($P<0.05$). The AT value in both periods for water soluble substrates was higher in the control, the largest differences were noted in the first period for glucose ($P<0.05$), in the second period for α -amino nitrogen ($P<0.05$) and glucose. In both periods, there were no significant intergroup differences in the arterio-venous concentration difference for water soluble substrates and their extraction from the blood. Concluded that at early stage of lactation, feeding cows the diets that provide additional input of amino acids and glucose into metabolic pool contributes to the increase in the dairy performance and production of milk protein and fat. The revealed effect in productive traits was due to increase in the mammary uptake of amino acids, glucose and triacylglycerols, as a result of elevated plasma flow rate and activity of amino acids and glucose transport into mammary secretory cells.

Keywords: dairy cows, metabolic protein, non-degradable digestible starch, milk production, transport and use of blood substrates, production of milk components

Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh - Problems of Productive Animal Biology, 2019, 4: 81-93

Поступило в редакцию: 14.10.2019

Получено после доработки: 08.11.2019

Макар Зиновий Николаевич, д.б.н., с.н.с., тел. 8(903)026-52-47; zinovij.makar@mail.ru
Харитонов Евгений Леонидович, д.б.н., дир., тел. 8(495)546-41-51; evgenijkharito@yandex.ru
Черепанов Гнадий Георгиевич, д.б.н., с.н.с., тел. 8(961)124-31-10; 89611243110@mail.ru