

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК

**ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ФИЗИОЛОГИИ, БИОХИМИИ И ПИТАНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ
ЖИВОТНЫХ**

ТРУДЫ

**ВСЕРОССИЙСКОГО
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ИНСТИТУТА
ФИЗИОЛОГИИ, БИОХИМИИ И ПИТАНИЯ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ**

Том XLIV

Боровск, 2005

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК

**ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ФИЗИОЛОГИИ, БИОХИМИИ И ПИТАНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ
ЖИВОТНЫХ**

ТРУДЫ

**ВСЕРОССИЙСКОГО
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ИНСТИТУТА
ФИЗИОЛОГИИ, БИОХИМИИ И ПИТАНИЯ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ**

Том XLIV

ВНИИФБиП с.-х. животных



Боровск, 2005

УДК 636.084:577.1:579.6 : 636.082.4
ББК 45/46+28.9
Т 78

Труды Всероссийского научно-исследовательского института физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных. Сборник экспериментальных статей. Боровск, 2005, т.44, 259 с.

Редакционная коллегия: Матвеев В.А., Тараканов Б.В., Черепанов Г.Г.

Адрес: 249013 Боровск, Калужской области, ВНИИФБиП
Телефон: (095) 546-34-15
Факс: (08438) 4-20-88

ISBN 5-901656-09-1

© Коллектив авторов
© ВНИИФБиП с.-х. животных

СОДЕРЖАНИЕ

Г.Г. Черепанов, З.Н. Макар

Развитие представлений о факторах и механизмах, лимитирующих синтез компонентов молока 6

Г.Г. Черепанов

Оценка дифференциальных эффектов, детерминирующих продукцию белка и удой на уровне молочной железы (модельное исследование)..... 15

Г.Г. Черепанов, З.Н. Макар

Оценка активности транспорта аминокислот в секреторные клетки молочной железы: сопоставление прямого и косвенных методов 23

З.Н. Макар, М.И. Сапунов, Р.И. Корнеева, И.А. Бояршинов, Г.Г. Черепанов

Особенности метаболизма и молокообразования у коз при обогащении рациона протеином и энергетическими субстратами..... 33

Е.Л. Харитонов, В.И. Агафонов, А.В. Лысов, Л.В. Харитонов

Нормирование питания коров в начале лактации с учетом количества и соотношения конечных продуктов переваривания корма 44

В.И. Агафонов, В.Б. Решетов, Р.И. Волобуева, В.В. Михайлов, В.П. Лазаренко

Апробация норм потребности коров в энергетических субстратах 54

Е.Е. Комкова, В.А. Матвеев

Функциональное состояние инсулярного аппарата и щитовидной железы у коров в первую половину лактации 61

В.Б. Решетов, З.Н. Макар, М.И. Сапунов, Г.Г. Черепанов

Влияние скормливания трансгенного штамма лактобацилл, продуцирующих соматилиберин, на энергетический обмен и продуктивность коров 70

А.А. Фомин, В.А. Матвеев

Функциональное состояние инсулярного аппарата, щитовидной железы и показатели мясной продуктивности у бычков при применении мочевины и пропиленгликоля в составе комплексной кормовой добавки 83

В.Ф. Сухих, В.П. Галочкина, В.И. Майстров

Показатели иммунитета и неспецифической резистентности откармливаемых бычков при введении в рацион кормовой добавки 92

В.А. Галочкин, П.Е. Малиненко, В.И. Майстров

Система глутатиона как критерий антиоксидантного статуса животных 97

К.Т. Еримбетов, Д.И. Шариева, О.В. Обвинцева К вопросу регуляции обмена белка и азотистых соединений в организме растущих животных (обзор)	112
К.Т. Еримбетов, Н.С.-А. Ниязов, О.В. Обвинцева, Д.И. Шариева Метаболизм белков в организме растущих свиней при разном количестве протеина и лимитирующих аминокислот в рационе.	120
Т.Н. Дворецкая, В.А. Матвеев, А.М. Коровяцкий Влияние сбалансированности рациона по протеину и аминокислотам на использование минеральных веществ растущими свиньями.....	130
Д.Е. Панюшкин, А.В. Лысов Влияние протеина и лимитирующих аминокислот в рационе свиней на показатели липидного обмена	140
В.И. Дудин, Т.Е. Рябых Обеспеченность организма растущих свиней витаминами А, Е, В ₁ и В ₂ при различных условиях белково-аминокислотного питания	147
В.П. Рябых, А.Г. Логинов Фолликулогенез и суперовуляция: IV. Фолликулогенез в яичниках коров в период вызывания суперовуляции	154
В.П. Рябых, А.Г. Логинов Фолликулогенез и суперовуляция: V. Прогнозирование суперовуляции у крупного рогатого скота	164
В.А. Езерский, В.Г. Шевченко Выделение и клонирование нуклеотидной последовательности 5'-области гена β-лактоглобулина быка для использования в генно-инженерных конструкциях	176
Б.В. Тараканов, Т.А. Николичева, Л.Л. Полякова, А.И. Манухина Изучение острой токсичности рекомбинантного штамма Escherichia coli S 5/98 (pColap) для лабораторных животных	188
И.А. Долгов, С.И. Долгова, Е.Л. Харитонов Влияние стрептококковых фаголизатов на микрофлору рубца бычков.....	196
В.И. Волгин, Н.Н. Морозов, А.С. Бибикова, Л.В. Романенко Оптимизация углеводного питания высокопродуктивных племенных коров с целью более полной реализации их генетического потенциала молочной продуктивности	203
В.Н. Чичаева, В.Л. Кряжева	

Применение синтетического DL–метионина в кормлении коров	210
Т.П. Логинова, О.А Басонов	
Хозяйственно - полезные признаки коров черно-пестрой породы различных генотипов в Нижегородской области	216
Е.Г. Гуляев, Е.А. Тяпугин	
Фактическая энергетическая ценность и протеиновая питательность рационов – основные критерии оптимизации кормления молочных коров	220
А. И. Фицев	
Антипитательные факторы зернобобовых и их влияние на усвоение питательных веществ животными	224
А.П. Гаганов, Н.Г. Григорьев	
Использование карбамида, семян зернобобовых и рапса в составе экструдированных смесей в рационах жвачных животных.....	230
Ю.А. Победнов	
Влияние содержания сухого вещества, сахара и эпифитных молочнокислых бактерий на эффективность консервирования трав новыми бактериальными препаратами	236
Ю.А. Победнов, А.А. Мамаев	
К вопросу использования бактерий вида <i>Bacillus subtilis</i> при силосовании трав	244
Н.Н. Лоечко, А.Н. Семикрасова	
Кормовые добавки в рационах самок норок	256

РАЗВИТИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЙ О ФАКТОРАХ И МЕХАНИЗМАХ, ЛИМИТИРУЮЩИХ СИНТЕЗ КОМПОНЕНТОВ МОЛОКА

Г.Г. Черепанов, З.Н. Макар

На примере изучения синтеза компонентов молока обоснована необходимость комплексного подхода, сочетающего проведение физиологических измерений и использование современных методов компьютерного моделирования тканевого обмена.

Введение

Изучение факторов, лимитирующих молочную продуктивность, за последние десятилетия было достаточно продуктивным в некоторых аспектах, включая исследования структуры генных локусов, кодирующих белки молока, выяснение роли гуморальных и аутокринных факторов и в ряде других направлений. Менее значительны успехи в изучении механизмов субстратного лимитирования молокообразования, хотя знание минимальных потребностей в лимитирующих нутриентах имеет ключевое значение для теории и практики питания продуктивных животных.

Такое отставание можно объяснить тем, что лактация - это динамический процесс, а вопросы, касающиеся количественной динамики метаболизма – это одна из самых сложных проблем современной биологии. Учитывая, что в последние годы в этой области наблюдается определенный прогресс, целью настоящего сообщения было систематизировать литературные и собственные данные по развитию методических подходов и теоретических представлений в области изучения субстратной регуляции синтеза компонентов молока.

Общее состояние проблемы. В проблеме лимитирования молочной продуктивности важны и организменные аспекты, и процессы внутримаммарного использования субстратов. На уровне целого организма лимитировать продуктивность могут процессы пищеварения и межклеточного обмена, при этом вычленить отдельные элементы трудно в связи с наличием взаимодействий, а также из-за регуляторных влияний, которые оказывают субстраты синтеза на различные физиологические функции. На уровне молочной железы темп секреции и состав молока определяются целлюлярностью альвеолярного отдела, удельной мощностью систем транспорта и ключевых ферментов, кровоснабжением вымени и уровнем субстратов в крови (рис. 1).

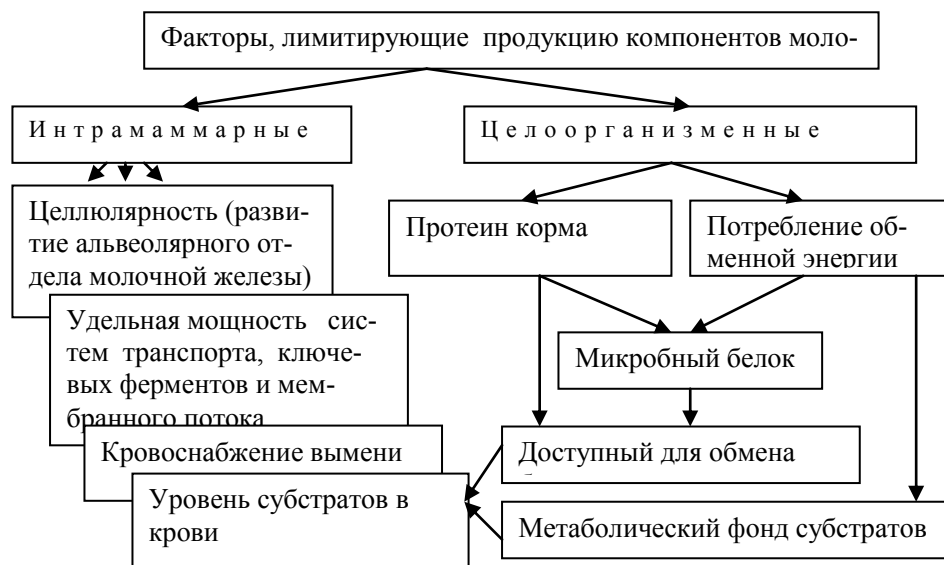


Рис. 1. Факторы, лимитирующие продукцию компонентов молока у продуктивных жвачных животных.

На конверсию протеина и энергии корма в продукцию оказывают влияние условия кормления, содержания, стадии лактации, генотипические факторы. Поэтому общие закономерности проявляют себя на фоне большого рассеяния данных, наблюдаемого, в частности, при варьировании потребления сырого протеина и обменной энергии (рис. 2). Общая тенденция отражена в нормах кормления, но в конкретных условиях значительная часть вариации остается необъясненной, т.е. мы заранее не можем сказать, будет ли эффект, или нет.

У агрономов есть технологии «программирования урожая», т.е. они прогнозируют урожай с учетом большого количества факторов для данной культуры и типа почвы, количества осадков и т.д. и с учетом этого прогноза проводят соответствующие агротехнические мероприятия. Такие мониторинговые технологии называют гибкими или адаптивными. В области зоотехнии пока преобладает эмпирический подход. Данных получаем много, но без учета механизмов обмена их невозможно содержательно интерпретировать, что сдерживает изучение факторов и механизмов, лимитирующих синтез компонентов молока.

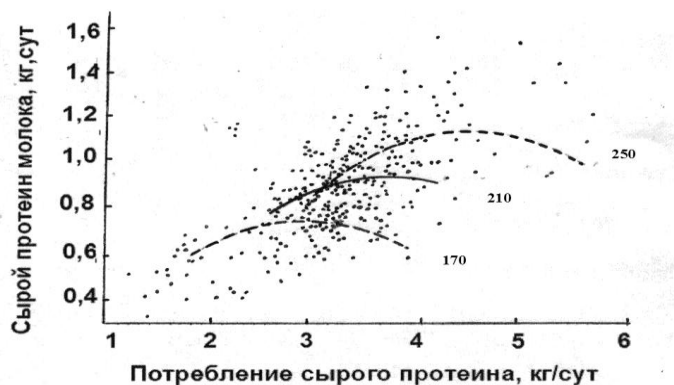
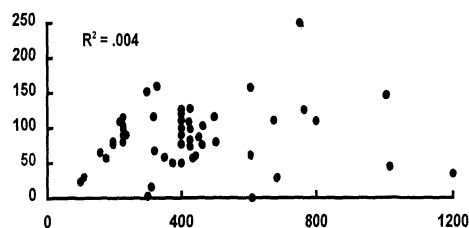


Рис. 2. Зависимость продукции молочного белка от потребления сырого протеина при разном уровне обменной энергии (170, 210 и 250 МДж/сут; по: Hanigan et al., 1998).

Помимо уровня потребления сырого протеина и энергии, продукцию молочного белка могут лимитировать отдельные аминокислоты, хотя известно, что порядок и выраженность лимитирования зависят от состава рациона, величины удоя, стадии лактации и т.д. В общем понятно, что надежно оценивать аминокислотную обеспеченность можно будет при условии, если мы научимся прогнозировать две группы величин: 1) поступление аминокислот в тонкий кишечник и 2) границы метаболического лимитирования на уровне тканевого обмена. Дуоденальный поток более-менее прогнозируется, оценивать же минимальные тканевые потребности в нутриентах мы пока не можем с необходимой степенью надежности.

О том, что здесь еще много неясного, указывают данные модельных исследований, которые ставят под сомнение универсальность гипотезы о лимитировании отдельными аминокислотами (Hanigan et al., 2001). Скорость синтеза молочного белка, возможно, является функцией всех эссенциальных аминокислот, а реакция на ту или иную аминокислоту - это динамичная реакция, зависящая от относительного уровня остальных аминокислот. Для того, чтобы разобраться в этой проблеме, в последние годы особенно тщательно изучаются количественные аспекты обмена в отдельных органах, в частности, в молочной железе.

Большая вариабельность продуктивной реакции в балансовых опытах может быть обусловлена различиями по переваримости, однако большой разброс данных проявляется и при изучении выхода молочного белка при разном уровне доступного для обмена протеина. При анализе сводных данных, полученных в 36 опытах с инфузией казеина в сычуг или дуоденум, отмечается разброс в приросте продукции молочного белка от 0 до 250 г при отсутствии достоверной дозовой зависимости в пределах от 200 до 1200 г казеина/сут (рис. 3).



Количество введенного в дуоденум казеина, г/сут

Рис. 3. Зависимость дополнительной продукции молочного белка (г/сут) от количества казеина, введенного в полость двенадцатиперстной кишки, по данным 36 опытов (Mackle et al., 1998). По вертикали – прирост продукции молочного белка, г/сутки

При анализе этих данных обращают на себя внимание два момента: 1) биологический потенциал секреторных клеток для дополнительного образования белка имеется, поскольку в некоторых опытах получен значительный прирост продукции (до 250 г/сут); 2) неясно, чем обусловлен большой разброс продуктивной реакции и почему во многих ситуациях не реализуется клеточный потенциал биосинтеза. Здесь возникает проблема прогнозирования функциональной активности клеток продуктивных органов. Если мы научимся это делать на молочной железе, то этот подход можно будет распространить и на другие системы организма.

Известно, что лимитировать молокообразование могут и другие субстраты, в том числе глюкоза. Обычно глюкоза лимитирует удой в тех ситуациях, когда содержание ее в молоке (т.е. ее внутриклеточная концентрация) меньше 3 мг% (0,17 мМ), что примерно соответствует уровню в крови 2,8 мМ (Черепанов и др., 1999). Эффект демпфирования в области более высоких концентраций глюкозы, как мы полагаем, в определенной степени может быть обусловлен влиянием α -лактальбумина (соотношением между скоростью синтеза и выведения его с молоком) (Cherepanov et al., 2000). Известно, что лактогенный эффект соматотропина сопровождается стимуляцией дифференциальной экспрессии этого белка. Поэтому его функциональную роль в лимитировании молокообразования необходимо исследовать более детально с одновременной регистрацией предшественников в крови и глюкозы в молоке.

Теоретически гликогенные источники могут оказывать азот-сберегающее действие, предотвращая использование аминокислот на энергетические нужды, хотя в опытах с инфузиями пропионата и глюкозы получают противоречивые данные, что может быть связано с ингибированием глюконеогенеза или различиями в поступлении в кишечник остаточной фракции крахмала. Окисление глюкозы в секреторных клетках молочной железы снижается при увеличении концентрации ацетата; этот эффект, возможно, лежит в основе отмечаемой в опытах стимуляции удоя и продукции молочного белка при совместных инфузиях ацетата и аминокислот и при применении ацетатсодержащих кор-

мовых добавок, хотя при нагрузках ацетатом кровотока, как правило, снижается (Макар, Черепанов, 2004). Все эти предположения носят качественный характер и потому нуждаются в количественной трактовке, т.е. нужны исследования в области изучения количественной динамики обмена.

Необходимость новых подходов. Поскольку эта тема сравнительно новая, необходимо четко оговорить, чем обуславливается необходимость нового подхода. Измерение активности ферментов в гомогенатах не информативно для оценки параметров и потоков. Применение изотопных индикаторов может быть более эффективным подходом, но, помимо дороговизны, этот метод дает лишь «моментальный снимок» метаболизма в одном конкретном случае. Таким образом, складывается такая ситуация: 1) лимитирование имеет количественную природу, поэтому «ин витровые» методы не годятся; 2) изотопные методы тоже не подходят по другим причинам; 3) эмпирические опыты тоже не могут нас устроить, так как дают противоречивые и трудно интерпретируемые результаты, и прогресса по этому пути не видно. Поэтому единственно возможный путь, который в последние годы применяется в мире - это комплексный подход, сочетающий физиологический эксперимент с компьютерным моделированием процессов тканевого обмена. В кратком изложении принцип подхода состоит в следующем.

Продукция молочного белка может лимитироваться и доступностью субстратов, и активностью матричных синтезов. Концентрации в артериальной крови и в межклеточной жидкости (которую во многих случаях отражает венозная кровь) в опытах контролируют, труднее оценить активность трансмембранного переноса и мощность (максимальную скорость) биосинтеза. Данные, полученные *in vitro*, свидетельствуют о том, что подобно любой ферментной системе, для мембранных транспортеров и белоксинтезирующей системы свойственна зависимость от концентрации субстрата, характеризуемая уровнем насыщения (максимальной скоростью) и аффинностью, т.е. точкой полунасыщения. Эти параметры для ферментов биохимии оценивают по методике косвенного измерения - приготавливают несколько концентраций субстрата, для каждой концентрации измеряют скорость переработки субстрата ферментом или скорость наработки продукта, а потом делают расчет, например, по модели Лайнеуивера-Бэрка. Но, в принципе, что мешает то же самое делать *in vivo*, изучая использование субстратов на уровне ткани?

А-В разница, mM Эффективность извлечения Белок молока, %

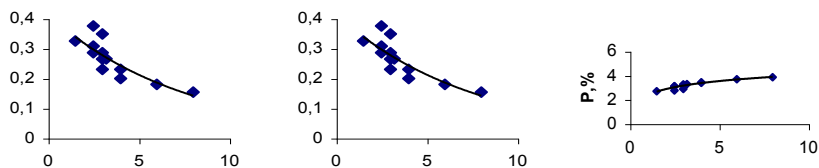


Рис.4. Эффекты кооперативности в субстратном лимитировании молокообразования (прогноз по модели, объяснение в тексте). По оси абсцисс - концентрация свободных аминокислот в артериальной крови (мМ).

Ясно, что при этом необходимо учесть дополнительные факторы - скорость кровотока, перемешивание в интерстиции, реабсорбцию в венозных капиллярах и другие. Но учет этих факторов – это дело техники построения модели. Перед тем, как построить модель кинетики фермента, проводят обширные инструментальные исследования - рентгеноструктурные, радиоспектроскопические и т.д. и эти результаты обобщенно отражены в структуре модели. Точно так же в модели тканевого и клеточного обмена обобщенно отражена разнообразная структурная информация, полученная *in vitro*. В этом смысле модель не есть умозрительная конструкция, но является отражением объективных структурных качеств, инвариантных по отношению к условиям конкретных опытов.

Трудно согласиться также и с тезисом о том, что процессы тканевого и клеточного обмена слишком сложны для анализа, - ведь многие ферментные системы тоже очень сложны. Так, в трехсубстратной реакции образования лактозы (альфа-лактальбумин фактически используется как дополнительный субстрат для галактозилтрансферазы, помимо глюкозы и УДФ-галактозы) насчитывается 14 элементарных стадий. Если для этого ферментного комплекса применяется стандартный график обратных величин, то при этом просто используется упрощенная модель кинетики, вошедшая в обиход биохимика. Точно так же могут войти в обиход модели кинетики тканевого обмена.

В эксперименте мы варьируем концентрацию, регистрируем скорость использования субстрата органом, измеряем кровоток в питающей артерии, выход продуктов синтеза с молоком. С помощью специально разработанных методов проводится идентификация, т.е. косвенное измерение внутренних параметров, в том числе активности транспорта субстратов в секреторную клетку, максимальных скоростей и текущих потоков путем сопоставления данных опыта и прогноза по модели (Черепанов и др., 2003). Это общенаучный метод параметрической идентификации. Разные субстраты в процессе транспорта и обмена взаимосвязаны через скорость кровотока и общие кофакторы, поэтому мы здесь имеем дело со сложным динамическим уравниванием системы метаболических потоков. Разобраться в этой системе и найти лимитирующие звенья практически невозможно, не обращаясь к количественному анализу; в свою очередь провести такой анализ трудно, не имея достаточно полного набора физиологических измерений.

Кооперативные эффекты субстратного лимитирования.

Как показали результаты компьютерного анализа, субстратные потоки в такой системе охвачены сложной сетью взаимных влияний и выраженность эффекта лимитирования зависит от конкретной метаболической ситуации. Так, когда при постоянных значениях параметров на модели увеличивали концентрацию только свободных аминокислот в артериальной крови, увеличивалась их артерио-венозная разность и

кровоток, но снижалась эффективность извлечения из крови, что соответствует опытным данным (рис. 4). Содержание белка в молоке увеличивалось при этом на небольшую величину (с эффектом плато), как это и наблюдается в опытах. Но когда одновременно с аминокислотами изменяли уровень в крови какого-то другого субстрата, то при некоторых сочетаниях наблюдалось повышение А-В разницы и удоя, а при других сочетаниях – их снижение, что объясняется наличием взаимодействий между субстратами при изменениях кровотока. Таким образом, из сопоставления теоретического анализа и данных опыта можно сделать заключение о том, что субстратному лимитированию свойственна кооперативность, т.е. зависимость эффекта от уровня и соотношения комплекса субстратов.

Этот кооперативный эффект наблюдается на модели даже при варьировании только концентраций на фоне постоянства биохимических параметров (ассоциативная изменчивость), но дополнительная вариабельность может возникать при адаптивных изменениях активности транспорта и матричных синтезов (параметрическая изменчивость). На основе анализа данных литературы мы провели сопоставление прямого (с использованием ^{13}C) и косвенного (по артериовенозному балансу) методов оценки активности транспорта аминокислот в клетки молочной железы в условиях *in vivo* и с помощью модифицированного косвенного метода оценили сдвиги в активности транспорта при дефиците, избытке аминокислот и при внутривенных инфузиях инсулина на фоне нормогликемии у коров и коз. При этом оказалось, что при дефиците индивидуальной аминокислоты активность транспорта ее увеличивается, а при избытке – снижается; действие нагрузок инсулином на фоне нормогликемии сопровождается увеличением активности транспорта аминокислот внутрь клеток и стимуляцией продукции молочного белка (Черепанов, Макар, 2005).

Таким образом, суммарный трансмембранный перенос аминокислот в секреторную клетку молочной железы в значительной степени может регулироваться самой клеткой в соответствии с ее метаболическими нуждами. Аналогичные адаптивные изменения активности транспорта аминокислот ранее были выявлены при кратковременных сдвигах в уровне питания (Макар, Черепанов, 2003). Поэтому второй вывод состоит в том, что система внутриклеточной регуляции синтеза молочного белка характеризуется способностью к адаптивным изменениям трансмембранного переноса аминокислот при сдвигах в условиях питания.

Заключение

Клетки однослойного эпителия альвеол молочной железы можно рассматривать как биореактор, непрерывно поглощающий субстраты из межклеточной среды на базальной стороне и выделяющий продукты синтеза на апикальной стороне клеточного слоя. Концентрация в межклеточной среде зависит от скорости кровотока и от скорости переноса внутрь клеток. Темпы использования разных субстратов в

клетке взаимосвязаны через скорость кровотока и общие кофакторы, поэтому мы здесь имеем дело со сложным динамическим уравниванием системы метаболических потоков. Разобраться в работе биореактора такого типа и выявить лимитирующие звенья, по-видимому, практически невозможно, не обращаясь к количественному анализу. С другой стороны, опыт анализа подобных систем накоплен в других областях, в частности, в технической микробиологии.

Результаты теоретического анализа и данные опытов позволяют заключить, что субстратное лимитирование продукции молочного белка характеризуется эффектами кооперативности и способности к адаптивным изменениям на уровне трансмембранного переноса аминокислот внутрь клеток при изменениях в условиях питания. Высокий темп биосинтетической активности в сочетании с возможностью регистрации основных «входов» и «выходов» системы делает молочные железы продуктивных жвачных животных уникальным объектом для изучения общих проблем физиологической регуляции биосинтеза. С другой стороны, накопление данных комплексных измерений в сочетании с компьютерным моделированием необходимо для поиска путей интенсификации синтеза компонентов молока.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мака́р З.Н., Черепанов Г.Г. Исследование механизмов, лимитирующих молокообразование у продуктивных жвачных животных при кратковременных сдвигах нутритивного статуса. Прошлое, настоящее и будущее зоотехнической науки. Мат. конф., Дубровицы, 2004, 3: 29-34.
2. Мака́р З.Н., Черепанов Г.Г. Теоретическое и экспериментальное моделирование субстратного баланса и молокообразования у лактирующих коз при кратковременных сдвигах нутритивного статуса. Труды рег. конкурса науч. проектов в обл. естеств. наук. Вып. Калуга: изд. дом «Эйдос», 2005 (в печати)
3. Мака́р З.Н., Черепанов Г.Г., Бояршинов И.А., Корнеева Р.И., Матющенко П.В., Токарев Т.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, 89(8): 951-959.
4. Черепанов Г.Г., Токарев Т.Ю., Мака́р З.Н. Косвенная оценка транспорта метаболитов в клетку *in vivo* по данным измерения их артерио-венозного баланса. Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова, 2003, 89, 8: 1021-1028.
5. Черепанов Г.Г., Медведев И.К., Мартынова А.С. Теоретическое и экспериментальное моделирование динамики поглощения субстратов из крови и синтеза компонентов молока в молочной железе коров. Совр. проблемы биотехнологии и биологии продуктивных животных. Боровск, 1999: 384-394.
6. Черепанов Г.Г., Мака́р З.Н. Адаптивные изменения активности транспорта аминокислот в секреторные клетки молочной железы при сдвигах нутритивного статуса. Российский физиол. журн., 2005 (в печати)

7. Bequette B.J., Hanigan M.D., Calder A.G., Reynolds C.K., Lobley G.E., MacRae J.C. Amino acid exchange by the mammary gland of lactating goats when histidine limits milk production. J. Dairy Sci., 2000, 83: 765-775.
8. Cherepanov G.G., Danfaer A., Cant J.P. Simulation analysis of substrate utilization in the mammary gland of lactating cow. J. Dairy Res., 2000, 67: 171-188.
9. Hanigan M.D., Cant J.P., Weakley D.C., Beckett J.L. An evaluation of postabsorptive protein and amino acid metabolism in the lactating dairy cow. J. Dairy Sci., 1998, 81: 3385-3401.
10. Mackle T.R., Bauman D.E. Recent developments in the regulation of milk protein production. Proceedings of the Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers. Cornell University Ithaca, 1998: 104-113.
11. Rulquin H., Pisulewski R.M. Effects of duodenal infusion of graded amounts of His on mammary uptake and metabolism in dairy cows. J. Animal Sci., 2000, 78, Suppl.1: 164.

ОЦЕНКА ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНЫХ ЭФФЕКТОВ, ДЕТЕРМИНИРУЮЩИХ ПРОДУКЦИЮ БЕЛКА И УДОЙ НА УРОВНЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ (МОДЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)*

Г.Г. Черепанов

Методом имитационного компьютерного моделирования исследовано влияние вариаций кровотока, артериальной концентрации субстратов и параметров метаболической активности клеток молочной железы на удой и продукцию молочного белка.

Введение

Биохимические факторы, лимитирующие молокообразование и определяющие состав молока имеют количественную природу и поэтому особенно трудны для изучения. Многолетние исследования физиологической регуляции биосинтеза молочных белков, проведенные на клеточных культурах и реконструированных препаратах, дали много ценного для понимания деталей, но не функционирования системы в целом. Поэтому в последние годы применяется комплексный подход, сочетающий физиологический эксперимент с компьютерным моделированием динамики процессов (Fleet et al., 1991; Hanigan et al., 2001 а; Макар и др., 2003; Черепанов и др., 2003 а, б). Хотя разработанные модели в целом оказались перспективными для исследования интегративных аспектов молокообразования, сам по себе прогноз по машинным распечаткам часто мало что дает для понимания причины того, почему удой и продукцию белка в той или иной ситуации лимитируют те или иные факторы. Для содержательного анализа необходимы более детальные исследования, в частности, важно иметь представление о том, как может влиять на темп молокообразования каждый из трех основных действующих факторов: 1) кровотока, 2) концентрация субстратов в крови и 3) значения внутренних параметров (активностей, мощностей, максимальных скоростей, связанных с вариациями количества молекул ферментов и мембранных переносчиков).

В настоящей работе поставлена задача методом компьютерного моделирования оценить чувствительность продуктивных показателей к изменениям кровотока, параметров транспорта и максимальных скоростей синтеза, выработать ориентиры для дальнейших исследований.

*Исследования проведены при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Калужской области, проект № 04-04-97234

Материал и методы

Концептуальные положения, структура модели и полная схема вычислений, использованные при численной имитации процессов, протекающих в лактирующей молочной железе, описаны ранее (Cherapov et al., 2000; Черепанов, 2002). Для оценки влияния изменений кровотока и содержания субстратов в крови на локальные концентрации и показатели молокообразования были проведены прогоны программы с варьированием параметра кровотока G_{12} и артериальной концентрации глюкозы C_{7A} , при этом значения остальных параметров и артериальных концентраций были идентичны найденным ранее для коз в период после 26-часовой голодной выдержки (Макар и др., 2004). Роль третьей группы факторов (максимальных скоростей синтеза и активностей трансмембранного переноса субстратов из интерстиция в клетку) оценивали на модели методом исследования поверхности отклика при варьировании двух параметров, связанных с метаболизмом аминокислот (рис. 3): V_3 (максимальная скорость синтеза молочного белка в интервале 0,25 – 0,55) и K_3 (константа транспорта аминокислот в секреторную клетку (в интервале 1,0 – 1,5) и с метаболизмом глюкозы (рис. 4): V_1 (максимальная скорость синтеза лактозы: 1,0 – 2,0) и K_1 (константа трансмембранного переноса глюкозы в клетку: 0,3 – 0,6). С целью сравнительной оценки влияния факторов на показатели, имеющие разную размерность, использовали безразмерную величину силы влияния $\alpha = (\text{разность крайних интервальных значений показателя} / \text{среднее значение показателя}) / (\text{разность крайних значений фактора} / \text{среднее значение фактора})$. Для интегрирования системы уравнений применяли метод Рунге-Кутты четвертого порядка с фиксированным шагом 0,001; пределы интегрирования 0 - 6 (сутки).

Результаты и обсуждение

Результаты расчетов, представленные в табл. 1 и на рис. 1, показали, что сила влияния артериальной концентрации глюкозы на удои в исследованной ситуации приблизительно в два раза больше, по сравнению с фактором кровотока (0,610 и 0,336 соответственно).

Судя по быстрому подъему внутриклеточной концентрации глюкозы по мере повышения ее артериальной концентрации, этот эффект мог бы быть еще большим, но он демпфируется падением локальной концентрации α -лактальбумина.

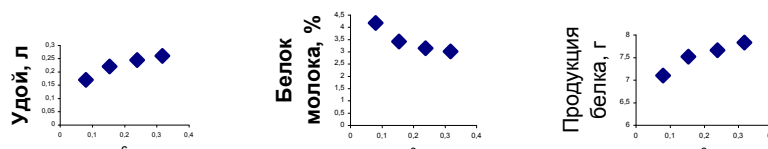
При исследовании зависимости удоя, концентрации в молоке и суточной продукции молочного белка от кровотока в широкой об-

ласти его значений выявлена тенденция к выходу на плато при больших значениях кровотока (рис. 1).

Таблица 1. Прогноз изменений внутриклеточных концентраций и продуктивных показателей при варьировании базового параметра кровотока G12 и артериальной концентрации глюкозы C7A и теоретическая оценка силы влияния этих факторов (α) на соответствующие показатели у коз*.

Показатели	G12					C7A				
	.4	.8	1.2	1.6	α	1.7	2.3	2.9	3.5	α
C7i	.074	.122	.159	.181	0.665	.12	.226	.393	.639	2.17
C8i	.995	.822	.753	.722	-0.28	.82	.664	.579	.531	-0.65
P50	.17	.22	.244	.26	0.336	.22	.27	.31	.34	0.610
G	.08	.154	.239	.318	1.0	.15	.152	.151	.150	-0.038
C4i	5.67	6.45	6.77	6.92	0.161	6.45	6.44	6.43	6.42	-0.007
Pm%	4.17	3.42	3.14	3.01	-0.28	3.43	2.77	2.41	2.21	-0.654
Tm%	5.56	5.68	5.7	5.7	0.021	5.68	4.59	3.99	3.66	-0.653
Pm, г/сут	7.07	7.52	7.66	7.83	0.084	7.55	7.48	7.47	7.51	-0.008

Примечания: сила влияния α данного фактора на исследуемый показатель выражена в виде безразмерной величины (разность крайних интервальных значений показателя/среднее значение показателя)/(разность крайних значений фактора/среднее значение фактора); P50 - удой, кг; Pm – белок молока, %; Tm - жир молока, %; C7i – внутриклеточная концентрация глюкозы, mM; C8i – локальная концентрация α -лактальбумина, мг/мл; G - объемная скорость плазмотока, (л/сут) 10^{-3} ; * значения параметров соответствуют периоду после 26-ч голодной выдержки.



Кровоток через молочную железу

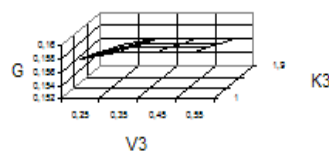
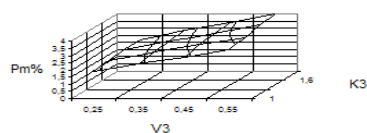
Рис.1. Модельный прогноз зависимости удоя (P50), концентрации молочного белка (Pm%) и суточной продукции белка от объемной скорости кровотока через молочную железу козы. При расчетах варьировали параметр кровотока G12; значения остальных параметров и артериальных концентраций при этом не менялись (лактатирующие козы в период после суточной голодной выдержки).

Эти данные на первый взгляд противоречат эмпирически найденной прямолинейной взаимосвязи удоя и кровотока, но корреляционная зависимость необязательно отражает функциональную связь. Корреляция, построенная по объединенным данным для разных животных и разных дней лактации, может быть обусловлена линейной зависимостью измеряемых показателей от количества функционально активных секреторных клеток. Поэтому для нахождения истинной фи-

физиологической связи «кровоток – удой» следовало бы проводить измерения с фиксированным значением этой сопутствующей переменной. На существование нелинейности указывают экспериментальные данные об отсутствии устойчивого продуктивного эффекта при введении в питающую артерию вазодилататоров (аденозина, инсулиноподобных факторов роста и др.) на фоне четкого снижения удоя при введении вазоконстрикторов (адреналина) (Fleet et al., 1991; Prosser et al., 1994, 1996). Сходная картина с эффектом насыщения прогнозируется для зависимости величины внутриклеточного парциального давления кислорода от скорости кровотока (Иванов, 2001). Модельное исследование показывает, что уровень плато для разных субстратов может определяться аффинностью мембранных транспортеров к данному агенту (Черепанов и др., 2003а).

Третья группа факторов, влияющих на молокообразование, связана с возможными изменениями параметров метаболической активности клеток молочной железы. При варьировании активности транспорта аминокислот в клетку (K3) и максимальной скорости синтеза белка (V3) (рис. 2) прогнозируется повышение удоя и белковомолочности, закономерные изменения внутриклеточной концентрации глюкозы (синфазные по отношению к вариациям K3 и противофазные по отношению к V3) и отсутствие заметных изменений объемного кровотока в области повышенных значений V3 и K3. Значение силы влияния α на продукцию молочного белка составило 1,11 по параметру V3 (при фиксированном уровне K3 = 1.6) и 0,6 по параметру K3 (при фиксированном уровне V3 = 0.45), что намного выше соответствующего значения α по кровотоку (0,084 по интервалу G12: 0.4 – 1.6 и 0.092 по интервалу G12: 0,4 – 0,8, см. табл. 1).

2.1	Белок молока, %					2.2	Кровоток, (л/сут) 10 ⁻³				
	V3						V3				
	→	0,25	0,35	0,45	0,55		→	0,25	0,35	0,45	0,55
K3						K3					
↓	1	1,92	2,43	2,92	3,39	↓	1	0,158	0,159	0,159	0,159
	1,3	2,04	2,61	3,14	3,65		1,3	0,157	0,158	0,158	0,158
	1,6	2,13	2,73	3,3	3,85		1,6	0,156	0,157	0,157	0,157
	1.9	2.2	2.83	3.42	3.99		1.9	0.155	0,156	0,156	0,156



2.3	Внутрикл. концентрация аминокислот, мМ					2.4	Суточный удой, кг				
	V3						V3				
	→	0,25	0,35	0,45	0,55		→	0,25	0,35	0,45	0,55
K3						K3					
↓	1	5,94	5,72	5,51	5,31	↓	1	0,18	0,21	0,23	0,24

1,3	7,72	7,44	7,17	6,91	1,3	0,2	0,24	0,26	0,28
1,6	9,5	9,15	8,82	8,5	1,6	0,22	0,26	0,29	0,3
1,9	11,3	10,9	10,5	10,1	1,9	0,23	0,27	0,31	0,32

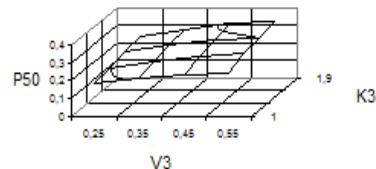
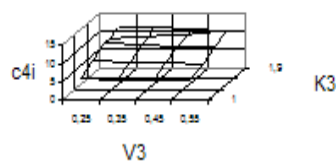


Рис. 2. Исследование поведения модели при варьировании двух внутренних параметров, связанных с метаболизмом аминокислот в лактирующей молочной железе козы: V3 (максимальная скорость синтеза молочного белка) и K3 (константа трансмембранного переноса аминокислот в секреторную клетку); c4i – внутриклеточная концентрация свободных аминокислот, мМ; Pm% – концентрация белка в молоке; P50 – суточный удой, л; G – объемная скорость кровотока в молочной железе, (л/сут) 10^{-3} .

В ситуации, представленной на рис. 3, стимуляция удоя, вызванная гиперпродукцией лактозы, сопровождалась на модели пропорциональным спадом содержания жира и белка в молоке при отсутствии заметных изменений объемного кровотока в области повышенных значений V1 (максимальная скорость образования лактозы) и K1 (активности транспорта глюкозы в клетку). Значение силы влияния α на величину суточного удоя составило 0,45 по параметру V1 (при фиксированном уровне K1 = 0,5) и 0,43 по параметру K1 (при фиксированном уровне V = 1,8).

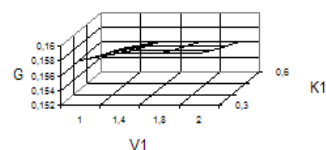
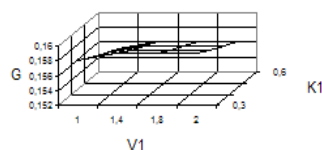
Согласно полученному прогнозу, роль кровотока примерно равна влиянию на удой изменений активности транспорта глюкозы и мощности лактозосинтетазного комплекса, но она существенно меньше в отношении продукции белка, в сравнении с факторами, связанными с транспортом аминокислот и мощностью системы синтеза белка (рис. 4). Возможно, что такое различие в отношении глюкозы и аминокислот обусловлено тем, что внутриклеточная концентрация глюкозы на порядок меньше внеклеточной концентрации, а для большинства аминокислот имеет место обратное соотношение.

3.1 Белок молока, %

	1	1,4	1,8	2
K1				
↓	3,93	3,38	3,05	2,9
	3,46	2,95	2,65	2,5
	3,2	2,7	2,41	2,3
	3,04	2,55	2,26	2,1

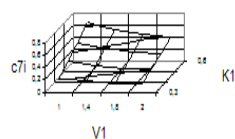
3.2 Кровоток, (л/сут) 10^{-3}

	V1 →	1	1,4	1,8	2
K1					
↓	0,3	0,16	0,159	0,159	0,16
	0,4	0,16	0,158	0,158	0,16
	0,5	0,16	0,157	0,157	0,16
	0,6	0,15	0,156	0,156	0,16



3.3 Внутриклеточная концентрация аминокислот, мМ

K1	1	1,4	1,8	2
↓	0,211	0,17	0,146	0,13
	0,331	0,27	0,225	0,21
	0,475	0,384	0,327	0,30
	0,64	0,52	0,434	0,40



3.4 Суточный удой, кг

V1 →	1	1,4	1,8	2
K1				
↓	0,3	0,18	0,21	0,23
	0,4	0,2	0,24	0,26
	0,5	0,22	0,26	0,29
	0,6	0,23	0,27	0,31

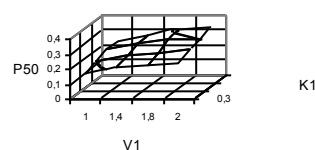
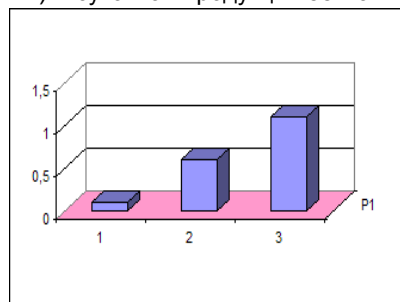


Рис. 3. Исследование поведения модели при варьировании двух внутренних параметров, связанных с метаболизмом глюкозы в лактирующей молочной железе козы: V1 (максимальная скорость синтеза лактозы) и K1 (константа трансмембранного переноса глюкозы в секреторную клетку); c7i – внутриклеточная концентрация глюкозы, мМ; Pm% – концентрация белка в молоке; P50 – суточный удой, л; G – объемная скорость кровотока в молочной железе, (л/сут) 10^{-3} .

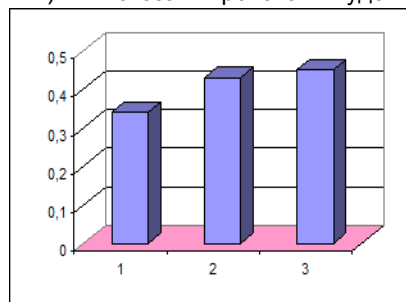
Выявленные закономерности в целом не являются специфическими для конкретного варианта «привязки» модели (лактирующие козы после суточной голодной выдержки), так как они в разных аспектах проявляются и при использовании модели, адаптированной для коров (Черепанов, 2002; Макар и др., 2003; Черепанов и др., 2003а). На данном этапе качественные предсказания так же важны, как и количественный прогноз в более отдаленной перспективе. Степень обоснованности модельного прогноза обратно пропорциональна числу принятых допуще-

а) Аминокислоты и кровотока → суточная продукция белка



1 – кровотока
2 – активность транспорта аминокислот

б) Глюкоза и кровотока → удой



1 – кровотока
2 – активность транспорта глюкозы

кислот в клетку	зы в клетку
Z – мощность системы синтеза белка	Z – мощность лактозосинтетазного комплекса

Рис. 4. Сравнительная оценка силы влияния факторов, связанных с параметрами метаболизма секреторных клеток молочной железы и органным кровотоком, на суточную продукцию белка (а) и удой (б) у коз. Высота столбиков выражает частное от деления относительной вариации продуктивного показателя к относительной вариации фактора. Под мощностью понимается V_{max} , т.е. максимальная скорость процесса при избытке субстрата, под активностью транспорта - коэффициент пропорциональности между концентрацией в интерстиции и скоростью трансмембранного переноса в клетки в расчете на орган.

ний, существенных для данного показателя. Так, в отношении формирования артерио-венозного баланса субстратов прогноз достаточно надежен (Черепанов и др., 2003б). Требуют уточнения вопросы, связанные с функцией α -лактальбумина и с механизмами ауторегуляции кровотока, хотя возможные неточности не для всех аспектов имеют критическое значение. Так, в эксперименте на козах подтвержден прогноз о том, что при кратковременном голодании объем молокообразования у продуктивных животных лимитируется глюкозой и не лимитируется аминокислотами (Макар и др., 2004).

Заключение

Результаты проведенного исследования указывают на то, что наибольшее влияние на продукцию молочного белка могут оказывать вариации активности транспорта аминокислот внутрь клеток и максимальной мощности белоксинтезирующего аппарата, тогда как учет вариаций кровотока и уровня субстратов в крови существенно важен для прогнозирования возможных изменений величины удоя и состава молока. Ценность моделей, как известно, состоит в том, что они могут давать новую, ранее неизвестную информацию об объекте исследования. Судя по результатам модельного исследования, удой и продукция молочного белка, вероятно, нелинейно зависят от кровотока через молочную железу с тенденцией к выходу на плато при больших значениях кровотока. Имеющиеся данные литературы не противоречат этим положениям, поэтому задача может состоять в постановке уточняющих экспериментов.

Несомненно, что в основе наблюдаемых в опыте колебаний в темпах молокообразования лежат определенные сдвиги в соотношениях кинетических параметров и концентраций на уровне микроциркуляции, мембранного транспорта и клеточного метаболизма. Если ставится задача научиться выявлять узкие места в этой сети взаимосвязанных процессов и предсказывать продуктивный эффект, то для этого необходимо иметь, как минимум, две теоретические разработки: 1) количественное описание системы (модель) и 2) методы идентификации узких мест на основе синтеза теории и измерительных данных. Хотя исследования биосинтетической функции молочной железы по этим двум

направлениям в настоящее время делают лишь первые шаги, непосредственный полезный эффект может состоять в том, что разрабатываемые функциональные модели позволят лучше интерпретировать опытные данные, изучить возможные следствия, вытекающие из принятых гипотез, провести проверочные эксперименты для заполнения «белых пятен». Этот путь более сложный и трудный, по сравнению с эмпирическим исследованием, но он необходим для выяснения факторов и механизмов, лимитирующих биосинтез.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иванов К.П. Основы энергетики организма. Т. 3, Спб: Наука, 2001.
2. Макара З.Н., Черепанов Г.Г., Бояршинов И.А., Корнеева Р.И., Матющенко П.В., Токарев Т.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, 89, 8: 951-959.
3. Макара З.Н., Черепанов Г.Г. и др. Исследование динамики регионального кровотока, субстратного баланса и молокообразования у лактирующих коз при кратковременных сдвигах нутритивного статуса. Труды регионального конкурса научных проектов в области естественных наук, вып.4. Калуга: изд. дом «Эйдос», 2004 (в печати).
4. Черепанов Г.Г. Системно-кинетические принципы и модели в теории питания продуктивных животных. Боровск: изд. ВНИИФБиП, 2002: 163 с.
5. Черепанов Г.Г., Макара З.Н., Решетов В.Б. Исследование физиологических механизмов регуляции использования субстратов и синтеза компонентов молока у жвачных животных. Труды регионального конкурса научных проектов в области естественных наук, вып.4. Калуга: изд. дом «Эйдос», 2003а: 218-223.
6. Черепанов Г.Г., Токарев Т.Ю., Макара З.Н. Косвенная оценка транспорта метаболитов в клетку *in vivo* по данным измерения их артерио-венозного баланса. Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова. 2003b. 89(8): 1021-1028.
7. Cherepanov G.G., Danfaer A., Cant J.P. Simulation analysis of substrate utilization in the mammary gland of lactating cow. J. Dairy Res. 2000. 67: 171-188.
8. Fleet, I.R., Davis J., Richardson, M. & Heap, R.B. 1992 The effects of recombinantly-derived insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor-II on mammary vasodilation in the goat. J. Physiol. 1991. 446: 69.
9. Hanigan M.D., Crompton L.A., Bequette B.J., Mills J.A.N., France J. Modeling mammary metabolism in the dairy cow to predict milk constituent yield, with emphasis on amino acid metabolism and milk protein production: model evaluation. J. Theoret. Biol. 2001a. 217: 311-330.
10. Hanigan M.D., Bequette B.J., Crompton L.A., France J. Modeling mammary amino acid metabolism. Livest. Prod. Sci. 2001b. 70: 63-78.
11. Prosser C.G., Davis S.R., Moore L.G., Gluckman P.D. Effects of close arterial infusion of insulin-like growth factor-II on milk yield and mammary blood flow in lactating goats. J. Endocrinol. 1994. 142: 93-99.
12. 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.

ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ ТРАНСПОРТА АМИНОКИСЛОТ В СЕКРЕТОРНЫЕ КЛЕТКИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: СОПОСТАВЛЕНИЕ ПРЯМОГО И КОСВЕННЫХ МЕТОДОВ*

Г.Г. Черепанов, З.Н. Макар

На основе анализа результатов опытов, описанных в литературе, проведено сопоставление прямого (с использованием ^{13}C) и косвенных методов и с помощью модифицированного косвенного метода (по артерио-венозному балансу и кровотоку) получены количественные данные по активности транспорта индивидуальных аминокислот в секреторные клетки молочной железы.

Введение

Обеспеченность субстратами биосинтетического аппарата клеток определяется тремя основными физиологическими факторами: уровнем субстратов в притекающей крови, объемной скоростью кровотока и состоянием системы трансмембранного переноса из интерстиция

*Исследования проведены при финансовой поддержке РФФИ и Правительства Калужской области, проект № 04-04-97234

в клетку (Park et al., 1976; Guidotti et al., 1978; Baumrucker, 1985; Davis et al., 1985; Christensen, 1990; Bequette et al., 2000; Cherepanov et al., 2000; Farr et al., 2000). Характеристика «мембранозависимой» компоненты потока (в дополнение к концентрационной) необходима при изучении факторов и механизмов, лимитирующих биосинтез молочных белков. В физиологическом опыте обычно измеряют артериальную, венозную концентрацию, кровоток, рассчитывают поглощение субстрата органом и эффективность извлечения данного субстрата из крови (относительную артериовенозную разницу как индикатор транспортной активности). Ранее было показано, что при небольшой модификации метода в таком опыте можно количественно оценить активность транспорта из интерстиция в секреторную клетку (Hanigan et al., 1998; Черепанов и др., 2003а; 2003б). Цель работы состояла в проверке работоспособности и апробации этого метода для получения количественных данных об адаптивных изменениях транспорта аминокислот в клетки молочной железы.

Материалы и методы

Суть модификации метода состоит в следующем. Известно, что системы трансмембранного переноса аминокислот не насыщены по субстрату, поэтому общую величину поглощения (моль/час) в физиологической области концентраций можно представить произведением интерстициальной концентрации (моль/л) на константу активности транспорта внутрь клеток в пересчете на орган (л/час). При высокой капиллярной проницаемости венозная концентрация отражает концентрацию

в межклеточной жидкости, контактирующей с плазматической мембраной секреторной клетки. Поэтому делением общего поглощения на венозную концентрацию в принципе можно оценить состояние системы трансмембранного переноса водорастворимых низкомолекулярных субстратов из интерстиция в секреторную клетку (Черепанов и др., 2003а; 2003б). Подробное описание условий применения кинетической модели и методики расчетов приведено ранее (Черепанов и др., 2003а).

Обозначения:

Ca – концентрация субстрата в артериальной крови (моль/л);

Cv – концентрация в венозной крови (моль/л);

Q – объемная скорость плазмотока (л/час или л/мин);

E – эффективность извлечения (относительная А-В разница);

T – активность суммарного транспорта (чистого переноса) из интерстиция в клетку в расчете на орган (л/час или л/мин);

K_{in} (или просто K) – активность однонаправленного транспорта из интерстиция в клетку (л/час или л/мин);

P – общее поглощение органом (моль/час или моль/мин);

На основе величин E и Q , приведенных в работах Bequette et al. (2000) и Cant et al. (2003), вычисление T проведено по формуле (2), приведенной в таблице 1 (Черепанов и др., 2003б).

Таблица 1. Сводка формул для расчета показателей артериовенозного баланса с использованием косвенного метода

Традиционный метод	Новый метод
$E = \frac{Ca - Cv}{Ca}$ (1)	$T = Q \frac{Ca - Cv}{Cv} = Q \frac{E}{1 - E}$ (2)
$P = Q(Ca - Cv)$ (3)	$P = T Cv$ (4)

Ограничения в применении модели, из которой вытекают формулы (2) и (4), определяются тремя основными условиями: 1) транспорт через плазматическую мембрану (поток, моль/час) линейно зависит от интерстициальной концентрации; 2) внутриклеточная концентрация изменяется пропорционально интерстициальной; 3) эндотелий капилляров для воды и низкомолекулярных субстратов высоко проницаем, так что фильтрующаяся фракция плазмотока практически равна величине плазмотока. Имеющиеся данные опытов не противоречат этим предположениям (Guidotti et al., 1978; Baumrucker, 1985; Christensen, 1990). Для оценки активности противотранспорта необходимо иметь данные измерений внутриклеточной концентрации, но если выполняется условие п.2, то, как было показано ранее (Hanigan et al., 1998; Черепанов и др., 2003а), не имея этих данных, можно оценить суммарный транспорт (чистый перенос внутрь клеток). Для клеток молочной железы п. 2, по-видимому, выполняется при физиологических концентрациях, так как последовательное внесение сбалансированной смеси аминокислот в культуральную среду сопровождается увеличением внутриклеточной концентрации аминокислот и синтеза молочных белков, по крайней мере, при анализе стационарных состояний (Bau-

mrucker, 1985; Eagle et al., 1961; Prosser et al., 1996; Park et al., 1976; Clark et al., 1980). В пользу выполнимости условия п. 3 свидетельствуют косвенные расчеты и данные прямых измерений (Davis et al., 1985; Farr et al., 2000; Cherepanov et al., 2000).

Для проверки работоспособности метода вычисленные величины T были сопоставлены со значениями константы одностороннего переноса индивидуальных аминокислот из интерстиция в секреторные клетки молочной железы (K_{in}), полученными на одних и тех же животных с использованием смеси U- ^{13}C -аминокислот, которую авторы вводили в яремную вену в течение 7 ч с периодическим взятием проб из артерии и молочной вены и регистрацией объемного кровотока (Bequette et al., 2000). После этой апробации метода расчет значений T был сделан на основе опубликованных данных опытов, проведенных на коровах с регистрацией показателей артериовенозного баланса на фоне поструминальных инфузий индивидуальных аминокислот (Cant et al., 2003)

Результаты и обсуждение

Недостаточность традиционно применяемых показателей артериовенозного баланса выявляется при математическом моделировании баланса субстратов в молочной железе (Черепанов и др., 2003а), хотя причину этого можно уяснить и на простых примерах, например, сопоставив «приток» и «отток» в ситуации, когда артериальная концентрация и поглощение клетками постоянны ($Ca = \text{const}$; $P = \text{const}$), а кровотоки изменяются от Q_1 до Q_2 . При этом имеет место равенство:

$$Q_1 (Ca - Cv_1) = Q_2 (Ca - Cv_2)$$

или эквивалентное ему соотношение:

$$\frac{Q_1}{Q_2} = \frac{Ca - Cv_2}{Ca - Cv_1}$$

Из последнего соотношения следует, что если $Q_2 > Q_1$, то $Cv_2 > Cv_1$ и, следовательно, $E_2 < E_1$ и наоборот, при снижении объемного кровотока артериовенозная разница и эффективность извлечения увеличиваются в силу эффекта разведения. С другой стороны, если кровоток не меняется, то величина E теоретически должна изменяться синфазно вариациям в активности трансмембранного переноса субстрата, хотя конкретный вид функции $E = f(T)$ в литературе не анализировался. Если изменяются и кровоток, и активность транспорта, получить количественные оценки при традиционном подходе затруднительно, а в ситуации, когда изменения кровотока количественно более выражены, по сравнению с вариацией активности транспорта, величины $Ca - Cv$ и E могут изменяться в противофазе по отношению к фактическим вариациям T .

Такая картина действительно проявилась для водорастворимых субстратов в опыте, проведенном на лактирующих козах в условиях кратковременной отмены концентратной части рациона, когда объемный кровоток в молочной железе снизился на 50% (табл. 2) (Черепанов и др., 2003б).

При сопоставлении значений K_{in} , оцененных по кинетике изотопной метки, с соответствующими значениями T , вычисленными для контрольного (+Н, инфузия сбалансированной смеси аминокислот) и опытного (-Н, смесь без гистидина) периодов, было выявлено соответствие по 9 исследованным аминокислотам (рис. 1а), хотя по абсолютной величине $T < K_{in}$, как и следовало ожидать, поскольку односторонний перенос частично компенсируется обратным транспортом из клетки. Аналогичное соответствие, хотя и с несколько большим разбросом точек, отмечено в данном опыте и для связи величин K_{in} и E в области значений E от 0 до 0,5 (рис. 1б).

Таблица 2. Влияние 24-часовой депривации концентратов на использование α -аминоазота молочной железой у лактирующих коз

Показатели	Периоды опыта		
	Исходный	Лишение концентратов	Возобновление кормления
Артериальная концентрация α -аминоазота, Ca , мг%	5,65 $\pm$ 0,33	5,37 $\pm$ 0,19	5,85 $\pm$ 0,31
А-В разница, $Ca-Cv$, мг%	1,17 $\pm$ 0,09	1,30 $\pm$ 0,11*	1,15 $\pm$ 0,10
Эффективность извлечения, E , %	20,7 $\pm$ 0,76	24,0 $\pm$ 1,17*	19,6 $\pm$ 1,20
Поглощение α -аминоазота, P , мг/мин	34,85 $\pm$ 7,9	28,1 $\pm$ 0,92	49,7 $\pm$ 8,86
Активность транспорта, T , дл/мин	7,78 $\pm$ 0,69	4,68 $\pm$ 0,10*	7,2 $\pm$ 0,82

Примечание: измерения проведены через 23 ч после утреннего кормления; * $P < 0.05$ по парному t -критерию.

Таблица 3. Значения активности транспорта аминокислот в клетки молочной железы коз, оцененные по кинетике изотопной метки $U-^{13}C$ (K_{in} , л/мин) (4) и по эффективности извлечения из крови с учетом объемного кровотока (T , л/мин)

Аминокислоты	E		K_{in} , л/мин		T , л/мин		Ca , мкмоль/л	
	+Н	-Н	+Н	-Н	+Н	-Н	+Н	-Н
Гистидин	0,17	0,74	0,14	6,05	0,094	1,747	73	8
Фенилаланин	0,45	0,21	0,56	0,25	0,377	0,163	40	46
Тирозин	0,37	0,15	0,57	0,17	0,271	0,108	44	55
Лейцин	0,72	0,49	1,63	0,77	1,186	0,590	79	88
Изолейцин	0,57	0,42	0,76	0,59	0,612	0,445	75	75
Валин	0,52	0,32	0,69	0,35	0,500	0,289	108	129
Лизин	0,41	0,19	0,32	0,2	0,321	0,144	147	182
Треонин	0,3	0,17	0,27	0,17	0,198	0,126	106	106
Пролин	0,27	0,14	0,05	0,16	0,171	0,100	126	131
Аланин	0,31	0,17	0,43	0,42	0,207	0,126	142	115
Глицин	0,01	-0,1	0,05	0,04	0,005	-0,06	897	819

Примечание: +Н: инфузия в яремную вену сбалансированной смеси аминокислот; -Н: такая же инфузия смеси аминокислот без гистидина; объемная скорость плазматического кровотока в молочной железе по этим периодам опыта: 27,68 и 36,83 л/час (0,46 и 0,61 л/мин) соответственно.

При инфузии смеси аминокислот без гистидина в данной работе кровотока через молочную железу был увеличен, поэтому величина E могла снизиться из-за рассмотренного выше эффекта разведения, однако измерения K_{in} и наш расчет величины T показали, что в этот период была снижена и транспортная активность клеток по ряду аминокислот на фоне резкого увеличения ее по гистидину. При дефиците гистидина изменялся уровень в крови свободных аминокислот, что, возможно, было вызвано сдвигами в транспортной активности мембран секреторных клеток молочной железы. При сопоставлении относительной вариации активности транспорта с относительной вариацией уровня данной аминокислоты в крови $((+H)-(-H))/+H$ положительная корреляция выявлена для четырех незаменимых аминокислот (лизин, фенилаланин, лейцин, тирозин; относительная вариация Ca : 0,238; 0,150; 0,114; 0,250 соответственно; рис. 2).

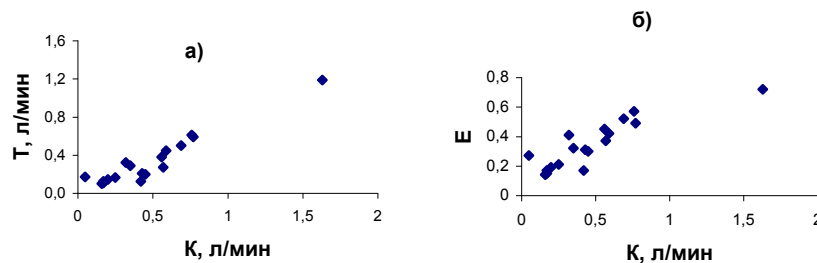


Рис. 1. Сопоставление значений активности транспорта аминокислот (K_{in}), оцененных с использованием ^{13}C (K , л/мин) (4) и по артериовенозному балансу в тех же условиях опыта (T , л/мин). а) Объединенные данные по контрольной и опытной инфузиям; приведены значения K и T для 9 аминокислот (табл. 3, без гистидина и глицина), полученные в контрольном периоде с инфузией в сычуг сбалансированной смеси аминокислот, восполняющей дефицит 23% от потребности в доступном для усвоения белке, и в опытном периоде с инфузией той же смеси без гистидина; б) то же самое для K и E ;

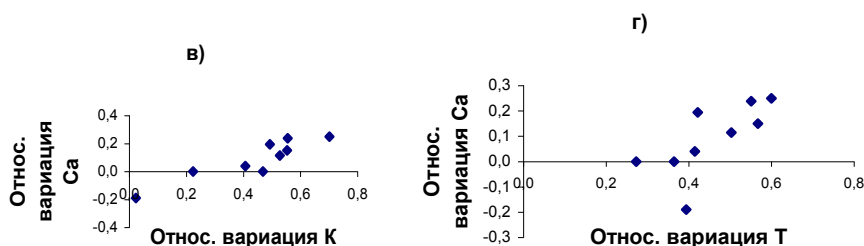


Рис. 2. Сопоставление относительной вариации значений K и T с относительной вариацией уровня в крови для 9 индивидуальных аминокислот $((+H)-(-H))/+H$. Обозначения те же, что и на рис. 1.

В обзоре (Cant et al., 2003) приведена сводка данных, полученных в серии опытов, выполненных на коровах с поструминальным введением индивидуальных аминокислот и измерениями артериовенозного баланса (E , P , Ca) и кровотока в молочной железе. В отличие от рассмотренной ситуации с дефицитом гистидина, объемная скорость кровотока при нагрузках аминокислотами (также как и активность

транспорта) в большинстве случаев снижалась, что должно было сказаться на сдвиге E в сторону уменьшения его абсолютной величины. В первом опыте (мет1) в исследованном интервале доз величина E снизилась в 3,5 раза, а величина T – в 5,6 раз; в опыте (гис1) эти значения составили 2 и 4,2 соответственно. Различие по величине сдвигов могло быть связано и с тем, что зависимость $T = f(E)$ (и соответственно $E = f(T)$) нелинейная (см. формулу (2) в табл. 1 и рис. 4а). Адаптивное снижение активности транспорта в данном опыте привело к тому, что величина артериовенозной разницы (рис. 4б) (так же как и общее поглощение аминокислоты органом) (рис. 3б) оставалась практически постоянной, несмотря на существенное увеличение концентрации в крови, что иллюстрирует малую информативность этого показателя.

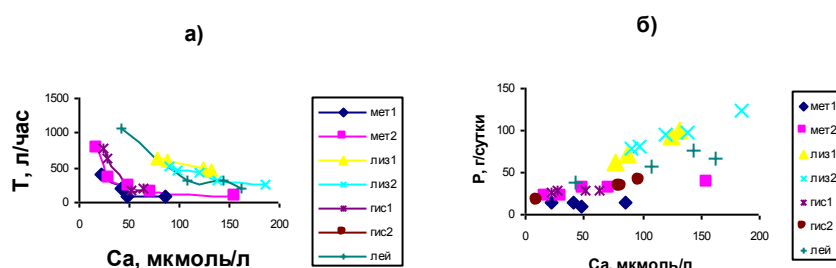


Рис. 3. Активность транспорта аминокислот в секреторные клетки молочной железы (а) и их поглощение (б) при поструминальных инфузиях индивидуальных аминокислот (Источники данных по вариантам опытов: Met1 (Guinard et al., 1995); Met2 (Varvikko et al., 1999); Lys1 (Guinard et al., 1994); Lys2 (Varvikko et al., 1999); Gic1 (Korhonen et al., 2000); Gic2 (Rulquin et al., 2000b); Лей (Rulquin et al., 2000a).

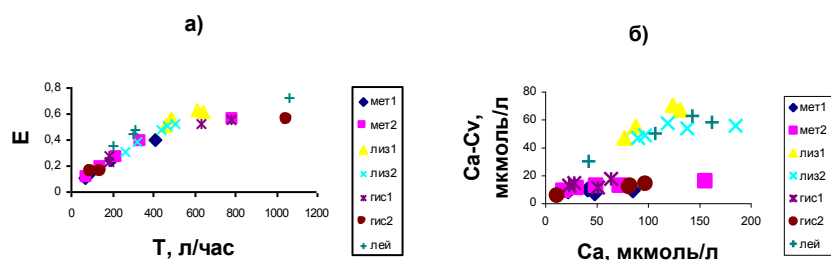


Рис. 4. Взаимосвязь величин E и T (а) и артериовенозной разницы с содержанием аминокислоты в крови (б) по данным 7 серий опытов с поструминальным введением индивидуальных аминокислот (Источники данных те же, что и на рис. 3).

В связи с тем, что один из методов идентификации лимитирующей аминокислоты состоит в ранжировании аминокислот по величине E , представляет интерес, как изменяется ранг аминокислоты при сдвигах T . Поскольку величины T и E связаны вычислительным алгоритмом, взаимосвязь их процентных изменений можно выразить ана-

литически. Для этого необходимо продифференцировать выражение (2) в табл. 1, дополнительно выразив Q как функцию от T и E :

$$\frac{\partial T}{\partial E} = \frac{T}{E(1-E)} \quad \text{или} \quad \frac{\partial T}{T} = \frac{1}{(1-E)} \frac{\partial E}{E} \quad (7)$$

Заменяв дифференциалы конечными приращениями и выразив (ΔE) как функцию от Q и T , получаем искомое выражение:

$$\frac{\Delta E}{E} = \frac{Q}{(Q+T)} \frac{\Delta T}{T} \quad (8)$$

Из выражения (8) следует, что процентное изменение (относительная вариация) E при сдвигах в активности транспорта индивидуальных аминокислот (и, тем самым, изменение ранга этих аминокислот) определяется отношением величины плазмотока к активности транспорта, а именно: если $T \ll Q$, то $\text{var } E = \text{var } T$, т.е. при большой величине отношения Q/T процентное изменение коэффициента извлечения из крови данной аминокислоты идентично изменению активности транспорта; если же $T \gg Q$, то $\text{var } E = (\text{var } T)/T$, т.е. при малом отношении Q/T величина E нечувствительна к вариациям «аффинности» ткани к субстрату. Такая тенденция проявилась в рассмотренной выше ситуации с дефицитом гистидина, когда при $T = 1,75$ и $Q = 0,61$ л/мин, кратность увеличения K_{in} , T и E составила 43,2; 18,6 и 4,3 соответственно.

Заключение

Проведенный анализ опубликованных измерительных данных и результаты наших исследований позволяют заключить, что определение активности одностороннего транспорта аминокислот в клетки с использованием ^{13}C и модифицированный метод расчета активности суммарного транспорта аминокислот по артериовенозному балансу и кровотоку дают сопоставимые оценки адаптивных сдвигов при смене условий физиологического опыта, поэтому предлагаемый косвенный метод можно использовать для количественной характеристики «мембранозависимого» транспортного параметра (коэффициента, не зависящего от концентрации, т.е. константы скорости или активности транспорта) свободных аминокислот в клетки молочной железы. Применение этого метода при анализе серии опытов, описанных в литературе, показало, что трансмембранный перенос аминокислот в секреторную клетку молочной железы в значительной степени может регулироваться самой клеткой в зависимости от складывающейся метаболической ситуации, в частности, при дефиците индивидуальной аминокислоты активность транспорта увеличивается, а при избытке – снижается, хотя поглощение органом и артерио-венозная разница при нагрузках аминокислотами в большинстве случаев существенно не изменялись. Результаты анализа показали, что активность суммарного транспорта может служить более объективным показателем «аффинности» ткани к субстрату, по сравнению с показателем эффективности извлечения из крови. Так, в ситуации, когда изменения кровотока количественно более выражены, по сравнению с вариацией активности транспорта, ве-

личины артериовенозной разницы и коэффициента извлечения из крови могут изменяться в противофазе по отношению к фактическим сдвигам в системах транспорта аминокислот. Кроме того, в силу эффекта нелинейности при малой величине отношения плазмотока к активности транспорта величина коэффициента извлечения малочувствительна к вариациям фактической «аффинности» ткани к субстрату. Установление факта адаптивных изменений транспорта аминокислот и возможность количественной оценки этих изменений в условиях *in vivo* важно в методологическом и прикладном аспектах, поскольку поиск аминокислот, лимитирующих молокообразование, остается в числе актуальных нерешенных проблем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Черепанов Г.Г., Токарев Т.Ю., Макаре З.Н. Косвенная оценка транспорта метаболитов в клетку *in vivo* по данным измерения их артерио-венозного баланса. Рос. физиол. журн. им. И.М.Сеченова, 2003а, 89, 8: 1021-1028.
2. Черепанов Г.Г., Макаре З.Н., Решетов В.Б., Токарев Т.Ю. Теоретическое и экспериментальное исследование взаимосвязи уровня кровоснабжения, артерио-венозного баланса метаболитов и биосинтеза компонентов молока в лактирующей молочной железе. Труды регионального конкурса научных проектов в области естественных наук. Выпуск 4. Калуга: изд. дом «Эйдос», 2003б: 218-223.
3. Baumrucker C.R. Amino acid transport systems in bovine mammary tissue. J. Dairy Sci., 1985, 68: 2436-2451.
4. Bequette B.J., Hanigan M.D., Calder A.G., Reynolds C.K., Lobley G.E., MacRae J.C. Amino acid exchange by the mammary gland of lactating goats when histidine limits milk production. J. Dairy Sci., 2000, 83: 765-775.
5. Cant J.P., Berthiaume R., Lapierre H., Luimes P.H., McBride B.W., Pacheco D. Responses of the bovine mammary glands to absorptive supply of single amino acids. Can J. Anim. Sci., 2003, 83: 341-355.
6. Cherepanov G.G., Danfaer A., Cant J.P. Simulation analysis of substrate utilization in the mammary gland of lactating cows. J. Dairy Res., 2000, 67: 171-188.
7. Christensen H.N. Role of amino acid transport and counter transport in nutrition and metabolism. Physiol. Rev., 1990, 70: 43-77.
8. Clark R.M., Chandler P.T., Park C.S., Norman A.W. Extracellular amino acid effects on milk protein synthesis and intracellular amino acid pools with bovine mammary cells in culture. J. Dairy Sci., 1980, 63: 1230-1234.
9. Davis S.R., Collier R.J. Mammary blood flow and regulation of substrate supply for milk synthesis. J. Dairy Sci., 1985, 68: 1041-1051.
10. Eagle H., Piez K., Levy M. The intracellular amino acid concentrations required for protein synthesis in cultured human cells. J. Biol. Chem., 1961, 236: 2039-2042.
11. Farr V.C., Prosser C.G., Davis S.R. Effects of mammary engorgement and feed withdrawal on microvascular function in lactating goat mammary glands. J. Cell Biol., 2000, 279: H1813-H1818.
12. Guidotti G.G., Borghetti A.F., Gazzola G.C. The regulation of amino acid transport in animal cells. Biochim. Biophys. Acta., 1978, 515: 329-366.
13. Guinard J., Rulquin H. Effects of graded amounts of duodenal infusions of lysine on the mammary uptake of major milk precursors in dairy cows. J. Dairy Sci., 1994, 77: 3565-3576.

14. Guinard J., Rulquin H. Effect of graded amounts of duodenal infusions of methionine on the mammary uptake of major milk precursors in dairy cows. J. Dairy Sci., 1995, 78: 2196-2207.
15. 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. Nutrition, 1998, 79: 63-78.
16. Hanigan M.D., Bequette B.J., Crompton L.A., France J. Modeling mammary amino acid metabolism. Livest. Prod. Sci., 2001, 70: 63-78.
17. Korhonen M., Vanhatalo A., Varvikko T., Huhtanen P. Responses to graded postruminal doses of histidine in dairy cows fed grass silage diets. J. Dairy Sci., 2000, 83: 2596-2608.
18. Park C.S., Chandler P.T. Response to labeled precursor amino acids, varying cell density, and graded amino acid complement for protein synthesis in mammary cell culture. J. Dairy Sci., 1976, 59: 216-223.
19. Prosser C.G., Davis S.R., Farr V.C., Lacasse P. Regulation of blood flow in the mammary microvasculature. J. Dairy Sci., 1996, 79: 1184-1197.
20. Riggs T.R., Walker L.M. Some relations between active transport of free amino acids into cells and their incorporation into protein. J. Biol. Chem., 1963, 238: 2663-2668.
21. Rulquin H., Pisulewski P. Effects of duodenal infusion of graded amounts of Leu on mammary uptake and metabolism in dairy cows. J. Dairy Sci., 2000a, 83 (Suppl. 1): 164.
22. Rulquin H., Pisulewski P. Effects of duodenal infusion of graded amounts of His on mammary uptake and metabolism in dairy cows. J. Dairy Sci., 2000b, 83 (Suppl. 1): 164.
23. Varvikko T., Vanhatalo A., Jalava T., Huhtanen P. Lactation and metabolic responses to graded abomasal doses of methionine and lysine in cows fed grass silage diets. J. Dairy Sci., 1999, 82: 2659-2673.

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА И МОЛОКООБРАЗОВАНИЯ У КОЗ ПРИ ОБОГАЩЕНИИ РАЦИОНА ПРОТЕИНОМ И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИМИ СУБСТРАТАМИ *

З.Н. Макар, М.И. Сапунов, Р.И. Корнеева, И.А. Бояришинов, Г.Г. Черепанов
Лаборатория лактации

В опыте, проведенном на трех группах коз, установлено, что добавки соевого шрота к сбалансированному рациону в сочетании с добавкой ацетата натрия или пропионата натрия способствовали увеличению удоя, продукции белков молока и эффективности использования аминокислот в обмене веществ, в сравнении с применением одной протеиновой добавки.

Введение

Повышение продуктивности с минимальной потерей в конверсии питательных веществ корма является одной из центральных задач в молочном скотоводстве. Повысить конверсию корма в компоненты молока можно за счет решения двух задач: 1) повысить трансформацию

питательных веществ корма в энергетические и пластические субстраты и 2) повысить конверсию субстратов синтеза в компоненты молока. В условиях физиологического опыта предпринимались попытки решить вторую задачу с использованием поструминальных и внутривенных инфузий аминокислот или применения «защищенных» источников, однако эффективность конверсии аминокислот, поступающих в метаболический фонд организма сверх определенного уровня, сильно варьирует, в среднем составляя около 15% (Bauman, Mackle, 1997; Bequette et al., 1998; Hanigan et al., 1998; Metcalf J.A. et al., 1996). По данным исследований, проведенных в последние годы, низкие значения конверсии аминокислот в большей степени связаны с низкой эффективностью извлечения их молочной железой (Aikman et al., 2002; Bauman, Mackle, 1997; Bequette et al., 1998; Mackle et al., 2000). С другой стороны, накапливаются данные о том, что одновременное повышение поступления в организм аминокислот и некоторых энергетических субстратов способно повысить конверсию аминокислот в белок молока (Purdie et al., 2000; Черепанов и др., 2001; Huhtanen et al., 2002; Rigout et al., 2003; Rulquin et al., 2004). 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 молочной железы.

*Исследования проведены при финансовой поддержке Российского Фонда фундаментальных исследований и Правительства Калужской области, проект № 04-04-97234

С точки зрения методологии использование коэффициентов извлечения субстратов из крови для характеристики функций клеток молочной железы требует уточнения (Черепанов, Макап, 2005). Поэтому целью исследования явилось изучение особенностей метаболизма и молокообразования у коз при обогащении их рациона протеином в сочетании с добавками натриевой соли уксусной и пропионовой кислот.

Материал и методы

Опыт провели в виварии института методом латинского квадрата на трех группах коз по три головы в каждой (табл. 1).

Таблица 1. Схема проведения опыта

Группы животных	Уравнительный период	Основной период		
		I	II	III
1	ОР	ОР+СШ	ОР+СШ+П	ОР+СШ+А
2	ОР	ОР+СШ+П	ОР+СШ+А	ОР+СШ
3	ОР	ОР+СШ+А	ОР+СШ	ОР+СШ+П

Примечание: ОР – основной рацион; СШ – соевый шрот; А – ацетат; П – пропионат.

Таблица 2. Основной рацион для подопытных коз

Корма	кг	В кормах содержится:						
		СВ г	Корм. ед.	ОЭ МДж	СП г	ПП г	Каль- ций, г	Фос- фор, г
Сено	1,8	1498	0,86	12,2	126	74,8	9,7	2,2
Пшеница	0,26	227	0,33	3,2	30,1	27,6	0,2	0,9
Ячмень	0,26	230	0,30	3,0	28,2	20,8	0,1	0,7
Шрот подсол.	0,19	169	0,19	1,8	69,5	58,4	0,6	2,3
Трикальций фосфат	0,01						3,8	2,0
Повар. соль	0,01							
Итого		2124	1,68	20,2	254	181,6	14,4	8,1

Примечание: СВ – сухое вещество; ОЭ – обменная энергия, СП – сырой протеин, ПП – переваримый протеин.

Продолжительность каждого из периодов опыта составляла три недели. Основной рацион составлялся индивидуально по детализированным нормам (Калашников и др., 2003) с учетом живой массы, продуктивности и включал: сено, размолотое зерно и подсолнечниковый шрот (табл. 2). В последующие периоды к основному рациону добавляли соевый шрот в количестве 150 г, соответствующем 10% -ному приросту доступного сырого протеина. Ацетат и пропионат натрия скармливали с комбикормом в дозе, соответствующей 3 % от обменной энергии рациона, или в среднем 90 г ацетата натрия 3-водного и 36 г пропионата натрия на голову в сутки (калорическая ценность ацетата – 0,01458 МДж/г; пропионата – 0,0208 МДж/г). Доеение и кормление подопытных коз было двухразовым. Ежедневно учитывали поедаемость корма и суточный удой. В конце каждого периода опыта брали пробы молока и крови из яремной и молочной вен. В молоке определяли содержание белка - колориметрическим методом (Постхумус, 1965), жира на анализаторе молока Milko-tester F3140 (Foss Electric, Дания), лактозы (Teles et al., 1978) и мочевины (набор Urea 450 фирмы «Лахема»). Пробы крови брали из яремной и молочной вен перед утренним кормлением и через 3 и 7 ч после него. В крови определяли содержание α -аминоазота (Mitsukawa et al., 1971), глюкозы с помощью глюкозооксидазного метода, триацилглицеролов - энзиматическим колориметрическим методом (набор реагентов фирмы «Витал Диагностикс СПб»), β -оксибутирата (Холод, Ермолаев, 1988) и НЭЖК (Duncombe et al., 1962). Плазмоток через вымя определяли расчетным путем по соотношению выхода α -аминоазота с белком молока и его артерио-венозной разности по молочной железе (среднее по трем измерениям). Для целей сравнительного анализа при вычислениях артерио-венозной разницы использовали значения концентраций в яремной вене.

Результаты и обсуждение

Как видно из таблицы 3, обогащение основного рациона протеином и энергетическими субстратами не оказало существенного влияния на концентрацию в молоке белка и лактозы. Однако в условиях

скармливания добавок соевого шрота и соевого шрота в сочетании с пропионатом наблюдалась тенденция к снижению содержания жира в молоке.

Таблица 3. Состав молока

Показатели	Периоды опыта			
	ОР	ОР+СШ	ОР+СШ+А	ОР+СШ+П
Жир, %	3,64 ± 0,17	3,14 ± 0,14	3,42 ± 0,15	3,10 ± 0,11
Белок, %	3,08 ± 0,15	3,13 ± 0,15	3,18 ± 0,14	3,14 ± 0,16
Лактоза, %	4,65 ± 0,05	4,58 ± 0,10	4,61 ± 0,09	4,65 ± 0,13

Примечание: ОР – основной рацион; СШ – соевый шрот; А – ацетат; П – пропионат.

Скармливание протеиновой добавки в сочетании с ацетатом и пропионатом способствовало повышению удоя и продукции белка молока и лактозы. Кроме того, ацетат положительно влиял и на продукцию молочного жира (табл. 4).

Таблица 4. Среднесуточный удой и суточная продукция основных компонентов молока

Показатели	Периоды опыта			
	ОР	ОР+СШ	ОР+СШ+А	ОР+СШ+П
Среднесуточный удой, г	1274±121,3	1378±155,2	1461±154,9	1443±147,2
$\Delta M \pm \Delta S_M$ к ОР				
к ОР+СШ		104±50,7	187±47,9*	169±51,7*
Жир, г	46,4±5,04	43,1±4,91	49,3±4,69	44,5±4,56
$\Delta M \pm \Delta S_M$ к ОР		-3,3±2,06	2,9±2,29	-1,8±2,20
к ОР+СШ			6,2±2,11*	1,4±2,52
Белок, г	37,9±2,59	41,5±3,45	45,1±3,71	44,0±3,73
$\Delta M \pm \Delta S_M$ к ОР		3,6±1,67	7,2±1,62*	6,1±1,85*
к ОР+СШ			3,6±1,42*	2,5±2,40
Лактоза, г	59,1±5,55	62,4±6,40	66,4±6,12	67,0±7,08
$\Delta M \pm \Delta S_M$ к ОР				
к ОР+СШ		3,3±2,28	7,3±1,74*	7,9±4,53
			4,0±1,04*	4,7±3,93

Примечание: ΔM - средняя разность; ΔS_M - стандартная ошибка средней разности; ОР – основной рацион; СШ – соевый шрот; А – ацетат; П – пропионат. $P < 0.05$ по парному t-критерию.

При обогащении рациона протеином, ацетатом и пропионатом содержание в крови β -оксибутирата, триацилглицеролов, глюкозы и аминокислот перед кормлением существенно не изменилось. При даче ацетата и пропионата наблюдалась тенденция к соответственно повышению и снижению концентрации НЭЖК (табл. 5).

Таблица 5. Содержание в крови яремной вены основных предшественников молока перед кормлением

Показатели	Периоды опыта			
	ОР	ОР+СШ	ОР+СШ+А	ОР+СШ+П
НЭЖК, мг %	3,8±0,51	4,2±0,53	5,0±0,48	3,3±0,75
$\Delta M \pm \Delta S_M$ к ОР				
к ОР+СШ		0,4±0,75	1,2±0,90	-0,5±0,39
			0,8±0,52	-0,9±0,54
β -оксибутират, мг%	2,4±0,19	2,6±0,22	2,6±0,12	2,3±0,18

$\Delta M \pm \Delta S_M$	к ОР	0,2±0,18	0,2±0,15	-0,1±0,14
	к ОР+СШ			-0,3±0,25
Триацилглицеролы, мг%	10,0±0,67	9,9±0,51	9,8±0,63	9,8±0,80
$\Delta M \pm \Delta S_M$	к ОР	-0,1±0,53	-0,2±0,40	-0,2±0,72
	к ОР+СШ		-0,1±0,53	-0,1±0,95
Глюкоза, ммоль	3,15±0,08	3,16±0,23	3,01±0,15	3,26±0,17
$\Delta M \pm \Delta S_M$	к ОР		-0,14±0,14	0,10±0,18
	к ОР+СШ		-0,15±0,32	0,10±0,30
α -аминоазот, мг%	4,3±0,22	4,3±0,34	4,7±0,38	4,5±0,43
$M_A \pm S_A$	к ОР		0,4±0,40	0,2±0,29
	к ОР+СШ		0,4±0,41	0,2±0,21

Примечание: ΔM - средняя разность; ΔS_M - стандартная ошибка средней разности; ОР – основной рацион; СШ – соевый шрот; А – ацетат; П – пропионат.

При сравнении данных измерений, проведенных через три часа после кормления, наблюдалось снижение содержания в крови триацилглицеролов при скормливания соевого шрота и соевого шрота в сочетании с ацетатом и пропионатом, в сравнении с основным рационом (табл. 6).

Добавка ацетата и пропионата соответственно повышала и понижала содержание НЭЖК (табл. 6). При этом концентрация β -оксибутирата, глюкозы и аминокислот оставалась неизменной. При сравнении данных, полученных через 7 ч после кормления, при скормливания соевого шрота в сочетании с пропионатом содержание в крови НЭЖК и триацилглицеролов еще более понизилось (табл. 7).

Таблица 6. Содержание в крови яремной вены основных предшественников молока через 3 ч после кормления

Показатели	Периоды опыта			
	ОР	ОР+СШ	ОР+СШ+А	ОР+СШ+П
НЭЖК, мг %	3,1±0,50	3,6±0,56	4,4±0,48	2,7±0,56
$\Delta M \pm \Delta S_M$	к ОР			
	к ОР+СШ	0,5±0,68	1,3±0,53*	-0,4±0,46
			0,8±0,56	-0,9±0,82
β -оксибутират, мг%	2,7±0,12	2,8±0,12	2,7±0,10	2,5±0,14
$\Delta M \pm \Delta S_M$	к ОР	0,1±0,17		-0,2±0,12
	к ОР+СШ		-0,1±0,15	-0,3±0,22
Триацилглицеролы, мг%	11,8±0,49	10,0±0,63	10,2±0,51	9,9±0,65
$\Delta M \pm \Delta S_M$	к ОР	-0,8±0,45*	-1,6±0,23*	-1,9±0,70*
	к ОР+СШ		0,2±0,66	-0,1±0,85
Глюкоза, ммоль	3,52±0,09	3,48±0,15	3,58±0,12	3,53±0,19
$\Delta M \pm \Delta S_M$	к ОР		0,03±0,17	0,01±0,26
	к ОР+СШ	-0,03±0,17	0,1±0,23	0,05±0,26
α -аминоазот, мг%	4,1±0,22	4,0±0,16	4,0±0,29	4,0±0,30
$\Delta M \pm \Delta S_M$	к ОР			
	к ОР+СШ	-0,1±0,10	-0,1±0,13	-0,1±0,14±

Примечание: ΔM - средняя разность; ΔS_M - стандартная ошибка средней разности; ОР – основной рацион; СШ – соевый шрот; А – ацетат; П – пропионат. * $P < 0.05$.

Пониженное содержание триацилглицеролов отмечено также при скормливания соевого шрота и соевого шрота в сочетании с ацета-

том. Концентрация β -оксибутирата, глюкозы и аминокислот не претерпела существенных изменений (табл. 7).

Дача животным добавок соевого шрота и соевого шрота в сочетании с ацетатом и пропионатом не оказала влияния на артерио-венозную разность глюкозы перед кормлением (табл. 8). Однако, через три часа после кормления указанные добавки понижали артерио-венозную разницу по глюкозе (табл. 9). Через 7 ч после кормления эта величина оставалась пониженной на фоне дачи соевого шрота в сочетании с пропионатом (табл. 10).

Таблица 7. Содержание в крови яремной вены основных предшественников молока через 7 ч после кормления

Показатели	Периоды опыта			
	ОР	ОР+СШ	ОР+СШ+А	ОР+СШ+П
НЭЖК, мг %	4,6 $\pm$ 0,59	3,4 $\pm$ 0,44	4,4 $\pm$ 0,36	2,4 $\pm$ 0,44
$\Delta M \pm \Delta S_M$ к ОР		-1,2 $\pm$ 0,76	-0,2 $\pm$ 0,61	-2,2 $\pm$ 0,46*
к ОР+СШ			1,0 $\pm$ 0,76	-1,0 $\pm$ 0,77
β -оксибутират, мг%	2,5 $\pm$ 0,15	2,3 $\pm$ 0,08	2,4 $\pm$ 0,12	2,3 $\pm$ 0,07
$\Delta M \pm \Delta S_M$ к ОР		-0,2 $\pm$ 0,11	-0,1 $\pm$ 0,14	-0,2 $\pm$ 0,12
к ОР+СШ			0,1 $\pm$ 0,15	
Триацилглицеролы, мг%	11,2 $\pm$ 0,41	10,9 $\pm$ 0,65	10,5 $\pm$ 0,97	9,1 $\pm$ 0,65
$\Delta M \pm \Delta S_M$ к ОР		-0,3 $\pm$ 0,80	-0,7 $\pm$ 0,91	-2,1 $\pm$ 0,62*
к ОР+СШ			-0,4 $\pm$ 0,83	-1,8 $\pm$ 0,60
Глюкоза, ммоль	2,95 $\pm$ 0,10	3,09 $\pm$ 0,23	2,83 $\pm$ 0,23	2,81 $\pm$ 0,19
$\Delta M \pm \Delta S_M$ к ОР		0,14 $\pm$ 0,28	-0,12 $\pm$ 0,27	-0,14 $\pm$ 0,17
к ОР+СШ			-0,26 $\pm$ 0,39	-0,28 $\pm$ 0,41
α -аминоазот, мг%	4,1 $\pm$ 0,19	4,1 $\pm$ 0,21	4,4 $\pm$ 0,26	4,2 $\pm$ 0,23
$\Delta M \pm \Delta S_M$ к ОР			0,3 $\pm$ 0,21	0,1 $\pm$ 0,27
к ОР+СШ			0,3 $\pm$ 0,27	0,1 $\pm$ 0,30

Примечание: ΔM - средняя разность; ΔS_M - стандартная ошибка средней разности; ОР – основной рацион; СШ – соевый шрот; А – ацетат; П – пропионат. * $P < 0.05$ по парному t- критерию

В условиях дачи как одной протеиновой добавки, так и протеиновой добавки в сочетании с энергетическими субстратами, артерио-венозная разность триацилглицеролов в молочной железе, измеренная перед кормлением, была ниже в сравнении с основным рационом (табл. 8). Через 3 и 7 ч после кормления при даче одного соевого шрота и соевого шрота в сочетании с пропионатом, артерио-венозная разность триацилглицеролов оставалась ниже, чем на основном рационе, а скормливание соевого шрота в сочетании с ацетатом ее повышало (рис. 9, 10).

Таблица 8. Артерио-венозная разность основных предшественников молока в молочной железе перед кормлением

Показатели	Периоды опыта			
	ОР	ОР+СШ	ОР+СШ+А	ОР+СШ+П
Глюкоза, ммоль	0,93 $\pm$ 0,08	1,0 $\pm$ 0,29	0,91 $\pm$ 0,26	0,95 $\pm$ 0,25
Триацилглицеролы, мг%	4,4 $\pm$ 0,40	3,7 $\pm$ 0,71	3,4 $\pm$ 0,89	3,1 $\pm$ 0,60
α -аминоазот, мг%	1,1 $\pm$ 0,13	1,5 $\pm$ 0,20	1,5 $\pm$ 0,58	1,0 $\pm$ 0,31

Примечание: ОР – основной рацион; СШ – соевый шрот; А – ацетат; П – пропионат.

Таблица 9. Артерио-венозная разность основных предшественников молока в молочной железе через 3 ч после кормления

Показатели	Периоды опыта			
	ОР	ОР+СШ	ОР+СШ+А	ОР+СШ+П
Глюкоза, ммоль	0,97±0,06	0,76±0,11	0,88±0,07	0,77±0,09
Триацилглицеролы, мг%	5,4±0,56	3,6±0,26*	5,0±0,24	2,8±0,42*
α-аминоазот, мг%	1,7±0,18	0,7±0,27*	0,8±0,20*	0,9±0,17*

Примечание: ОР – основной рацион; СШ – соевый шрот; А – ацетат; П – пропионат. * P< 0.05 по сравнению с ОР.

Введение в рацион изучаемых добавок не оказало существенно-го влияния на артерио-венозную разность аминокислот, измеренную перед кормлением (табл. 8). Однако через 3 ч после кормления артерио-венозная разность аминокислот существенно снижалась на фоне дачи всех добавок (табл. 9). Через 7 ч после дачи животным корма артерио-венозная разность аминокислот во всех периодах опыта стала практически одинаковой (табл. 10).

Таблица 10. Артерио-венозная разность основных предшественников молока в молочной железе через 7 ч после кормления

Показатели	Периоды опыта			
	ОР	ОР+СШ	ОР+СШ+А	ОР+СШ+П
Глюкоза, ммоль	0,77±0,03	0,76±0,13	0,83±0,15	0,64±0,04*
Триацилглицеролы, мг%	4,3±0,35	2,9±0,35*	4,4±0,76	2,8±0,68
α-аминоазот, мг%	1,1±0,17	0,9±0,16	0,9±0,18	1,0±0,15

Примечания: ОР – основной рацион; СШ – соевый шрот; А – ацетат; П – пропионат. * P< 0.05 по сравнению с ОР.

При сравнении данных, полученных перед кормлением, эффективность извлечения триацилглицеролов в условиях скармливания одного соевого шрота и соевого шрота в сочетании с ацетатом была выше, чем на основном рационе, а при даче соевого шрота в сочетании с пропионатом, напротив, ниже, чем в контроле (табл. 11). При измерениях, про-

Таблица 11. Эффективность извлечения молочной железой основных предшественников молока перед кормлением

Показатели	Периоды опыта			
	ОР	ОР+СШ	ОР+СШ+А	ОР+СШ+П
Глюкоза, %	29,7±2,4	32,9±7,16	28,0±7,37	28,9±6,39
Триацилглицеролы, %	25,7±2,40	30,8±4,41	28,8±7,10	21,2±5,37
α-аминоазот, %	44,4±1,26	35,0±7,62	30,8±7,61	30,9±5,32*

Примечание: ОР – основной рацион; СШ – соевый шрот; А – ацетат; П – пропионат. * P< 0.05 по сравнению с ОР.

изведенных через 3 ч после кормления, дача животным одного соевого шрота и соевого шрота в сочетании с пропионатом понижала эффективность извлечения триацилглицеролов по сравнению с основным рационом, а скармливание соевого шрота в сочетании с ацетатом – ее повышало (табл. 12). Через 7 ч после кормления эффективность экстракции триацилглицеролов молочной железой на фоне дачи соевого шрота и соевого шрота в сочетании с пропионатом оставалась пониженной

(табл. 13). С учетом ранее полученных данных можно предполагать, что эффективность извлечения ТГ из крови идентична параметру, характеризующему активность липопротеинлипазы в условиях *in vivo* (в % от притока ТГ с артериальной кровью) (Макар и др., 2003).

Таблица 12. Эффективность извлечения молочной железой основных предшественников молока через 3 ч после кормления

Показатели	Периоды опыта			
	ОР	ОР+СШ	ОР+СШ+А	ОР+СШ+П
Глюкоза, %	27,8±1,27	22,7±3,01	24,7±2,19	20,7±2,04*
Триацилглицеролы, %	43,6±2,93	36,3±5,44	47,9±4,49	26,8±4,30*
α-аминоазот, %	27,2±2,17	18,9±7,19	18,9±3,24*	21,7±4,43

Примечание: ОР – основной рацион; СШ – соевый шрот; А – ацетат; П – пропионат. * P<0.05 по сравнению с ОР.

Таблица 13. Эффективность извлечения молочной железой основных предшественников молока через 7 ч после кормления

Показатели	Периоды опыта			
	ОР	ОР+СШ	ОР+СШ+А	ОР+СШ+П
Глюкоза, %	24,8±1,10	26,3±3,87	27,1±3,07	22,7±2,21
Триацилглицеролы, %	37,1±2,69	29,8±5,02	39,6±5,05	30,9±7,72
α-аминоазот, %	24,4±3,64	19,3±4,10	21,6±3,80	21,9±2,78

Примечание: ОР – основной рацион; СШ – соевый шрот; А – ацетат; П – пропионат.

Как видно из таблиц 11-13, при включении в рацион энергетических субстратов артерио-венозная разность и эффективность извлечения молочной железой α-аминоазота из крови снижались на фоне повышенной продукции белка с молоком. Такая ситуация возможна при определенном сочетании внеклеточной концентрации, скорости кровотока и активности транспорта в клетки молочной железы. Активность транспорта аминокислот в клетки, оцененная делением величины выхода белковосвязанных аминокислот на среднюю венозную концентрацию α-аминного азота в крови молочной вены (Черепанов и др., 2001), при включении кормовых добавок была выше, чем на основном рационе (рис. 1а). При этом не было выявлено существенных отличий в активности транспорта глюкозы, оцененной по плазматокую и коэффициенту извлечения из крови (Черепанов и др., 2001).

Как видно из рисунка 1б, введение в рацион протеиновой добавки увеличило плазматок в молочной железе. Скармливание протеиновой добавки совместно с ацетатом и пропионатом оказало дополнительное стимулирующее влияние на плазматок. При скармливании соевого шрота совместно с ацетатом повышалось поглощение триацилглицеролов (рис.2а) и поглощение глюкозы (рис. 2б) молочной железой.

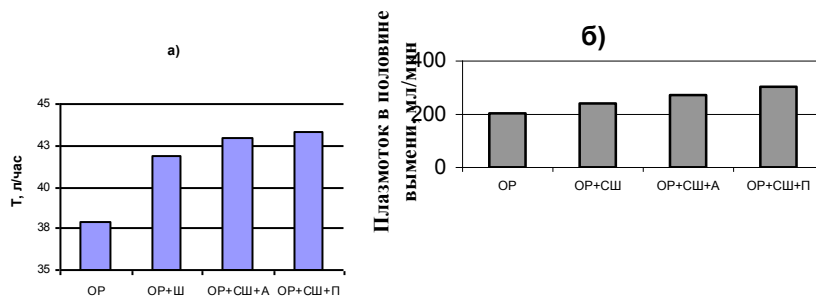


Рис. 1. Активность транспорта аминокислот в секреторные клетки молочной железы (а) и плазматок через половину вымени (б).
Примечание: ОР – основной рацион; СШ – соевый шрот; А – ацетат; П – пропионат.

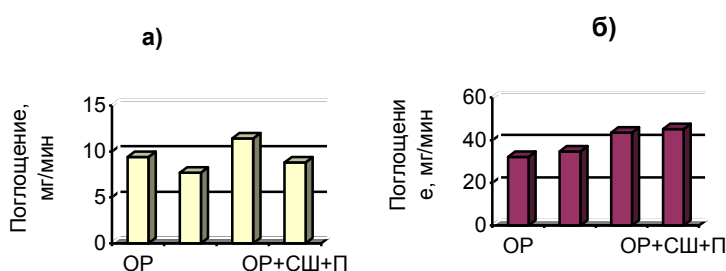


Рис. 2. Поглощение триацилглицеролов (а) и глюкозы (б) молочной железой.
Примечание: ОР – основной рацион; СШ – соевый шрот; А – ацетат; П – пропионат.

Применение ацетата и пропионата снижало концентрацию мочевины в молоке (рис. 3), которая, как известно, отражает ее среднесуточное содержание в крови. Таким образом, эти данные свидетельствуют о том, что указанные добавки повышали эффективность использования аминокислот в обмене веществ лактирующих животных.

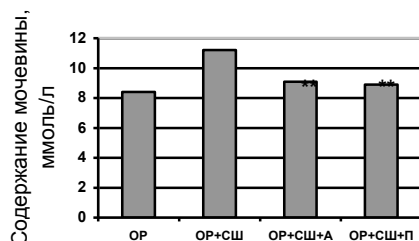


Рис.3. Содержание мочевины в молоке.
Примечание: ОР – основной рацион; СШ – соевый шрот; А – ацетат; П – пропионат. *
P< 0.05 по сравнению с ОР; ** P< 0.05 по сравнению с ОР+СШ (по парному t-критерию).

Заключение

Результаты исследования дают основание заключить, что одновременное повышение поступления в организм аминокислот (сверх ре-

комендуемых норм) и некоторых энергетических субстратов способно повысить удои и конверсию аминокислот в белок молока. Это имеет практическое значение для обоснования способов повышения продукции молочного белка. В условиях проведенного опыта добавка к сбалансированному рациону соевого шрота в сочетании с ацетатом или пропионатом натрия способствовала увеличению удоя и продукции белка молока у подопытных коз и повышала эффективность использования аминокислот в обмене веществ, в сравнении с применением одной протеиновой добавки.

Судя по результатам исследования состава крови и артериовенозного баланса субстратов в молочной железе, действие ацетата и пропионата характеризуется разной степенью влияния на показатели обмена липидов, глюкозы и аминокислот, хотя общий положительный эффект может быть связан со стимуляцией регионального кровотока и активности транспорта аминокислот в секреторные клетки молочной железы. Полученные данные подтверждают общее положение, развиваемое в последние годы о том, что продуктивный эффект при вариации энерго-протеинового соотношения в рационе существенно зависит от сдвигов в наборе всасывающихся субстратов и связанных с этим изменений в функциональной активности молочной железы. Для реализации имеющихся на этом пути продуктивных резервов необходимо продолжить детальное исследование количественных аспектов метаболизма молочной железы в условиях *in vivo*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Макаре З.Н., Черепанов Г.Г., Бояршинов И.А. и др. Динамика артериовенозного баланса метаболитов крови и их транспорта в клетки молочной железы у коров при кратковременных сдвигах в уровне питания. Труды ВНИИФБиП, Боровск, 2003: 80-94.
2. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных. Справочное пособие. 3-е издание переработанное и дополненное./Под ред. А.П.Калашникова, В.И.Фисинина, В.В.Щеглова, Н.И.Клейменова. Москва, 2003: 456с.
3. Постхумус Г. Массовые исследования содержания белка в молоке колориметрическим методом. В кн.: Методы определения белка в молоке. М., Колос, 1965: 72-86.
4. Холод В.М., Ермолаев Г.Ф. Справочник по ветеринарной биохимии. Минск. 1988: 113-115.
5. Черепанов Г.Г., Макаре З.Н., Решетов В.Б. и др. Исследование сопряженной регуляции органной гемодинамики, биосинтеза и секреции компонентов молока в лактирующей молочной железе. Труды регионального конкурса научных проектов в области естественных наук. Калуга, 2001, 2: 507-519.
6. Черепанов Г.Г., Макаре З.Н. Оценка активности транспорта аминокислот в секреторные клетки молочной железы: сопоставление прямого и косвенного методов. Сб. научных трудов ВНИИФБиП, 2005 г.
7. Aikman P.C. et al. Milk protein response to abomasal or mesenteric vein essential amino acid infusion in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 2002, 85:1079-1084.
8. Bauman D. E. and T. R. Mackle. 1997. Amino acid supply and the regulation of milk protein synthesis. Pages 196-207 in Proc. Cornell Nutr. Conf. Feed Manuf., Rochester, NY. Cornell Univ., Ithaca, NY.

9. Bequette B.J., Backwell F.R.C. and Crompton L.A. Current concepts of amino acid and protein metabolism in the mammary gland of the lactating ruminant. J. Dairy Sci 1998, 81:2540-2559.
10. Bequette B.J. et al. Protein metabolism in lactating goats subjected to the insulin clamp. J. Dairy Sci. 2002, 85: 1546-1555.
11. Duncombe, W.G., Nishi, H. The colorimetric determination of long chain fatty acids in the 0.05-0.5 μ mole range. Biochem. J. 1962, 83: 6P (230).
12. Hanigan M.D., Cant J.P., Weakley D.C. and Beckett J.L. An evaluation of postabsorptive protein and amino acid metabolism in the lactating dairy cow. J. Dairy Sci. 1998, 81: 3385-3401.
13. Huhtanen P., Vanhatalo A., and 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.
14. Mackle T. R. et al. Effects of insulin and postruminal supply of protein on use of amino acids by the mammary gland or milk protein synthesis. J. Dairy Sci, 2000, 83: 93-105.
15. Metcalf J.A. et al. The effect of dietary crude protein as protected soybean meal on mammary metabolism in the lactating dairy cow. J. Dairy Sci. 1996, 79: 603-611.
16. Mitsukawa H., Shimizu O., Nishi, H. Colorimetric determination of α -amino nitrogen in urine and plasma with ninhydrin reaction. Agric. Biol. Chem. 1971, 35: 272-274.
17. Rigout S. et al. Lactational effect of propionic acid and duodenal glucose in cows. J. Dairy Sci. 2003, 86: 243-253.
18. Rigout S. et al. Duodenal glucose increases glucose fluxes and lactose synthesis in grass silage-fed dairy cows. J. Dairy Sci. 2002, 85: 595-606.
19. Rulquin H. et al. Infusion of glucose directs circulating amino acids to the mammary gland in well-fed dairy cows. J.Dairy Sci. 2004, 87: 340-349.
20. Purdie N.G., Trout D.R., Cant J.P. e.a. Mammary responses to short term close arterial infusions of selected amino acid profiles and acetate. J. Anim. Sci., 2000, 78, Suppl. 1, J. Dairy Sci., 2000, 83, Suppl. 1: 167.
21. Teles F.F., Young C.K., Stull J.W. A method for rapid determination of lactose. J. Dairy Sci. 1978, 61:506-508.

НОРМИРОВАНИЕ ПИТАНИЯ КОРОВ В НАЧАЛЕ ЛАКТАЦИИ С УЧЕТОМ КОЛИЧЕСТВА И СООТНОШЕНИЯ КОНЕЧНЫХ ПРОДУКТОВ ПЕРЕВАРИВАНИЯ КОРМА

Е.Л. Харитонов, В.И. Агафонов, А.В. Лысов, Л.В. Харитонов

В опытах на коровах холмогорской породы в начале лактации установлено, что нормирование питания с учетом оптимизации обменной энергии по составу субстратов и обменного протеина по незаменимым лимитирующим аминокислотам, в соответствии с установленными нормами потребности, обеспечиваемое за счет подбора кормов с различными характеристиками доступности питательных веществ к перевариванию в рубце и кишечнике, позволяет повышать молочную продуктивность, эффективность использования энергии и

протеина на молокообразование, а также воздействовать на процессы мобилизации жировых депо.

Введение

На основании фундаментальных физиолого-биохимических исследований, проведенных в институте в предыдущие годы, установлено, что для эффективного синтеза компонентов молока требуется определенное соотношение субстратов, поступающих из желудочно-кишечного тракта в метаболический фонд организма. Было показано, что увеличение доли высших жирных кислот (ВЖК) в составе обменной энергии (ОЭ) приводит к повышению эффективности молокообразования за счет увеличения поступления в секреторные клетки молочной железы готовых предшественников для синтеза молочного жира (Харитонов, 2004а). В экспериментах на коровах, с использованием метода рубцовой и дуоденальной инфузии отдельных питательных веществ, по критериям молочной продуктивности и эффективности поглощения и использования молочной железой основных субстратов (ацетата, пропионата, бутирата, кетонных тел, триацилглицеролов, незестерифицированных жирных кислот), обоснованы оптимальные потребности в них, обеспечивающие высокую эффективность биоконверсии питательных веществ корма в молочную продукцию. На основании этих исследований были разработаны нормы потребности молочных коров в обменной энергии и обменном протеине с учетом оптимизации их состава в зависимости от уровня молочной продуктивности, живой массы и стадии лактации (Харитонов, 2004а, б). Установлено, что для коров в начале лактации и при продуктивности в пределах 20 кг молока оптимальный состав обменной энергии (ОЭ) обеспечивается при процентном соотношении энергетического вклада за счет ацетата, пропионата, бутирата, глюкозы, аминокислот и высших жирных кислот как 30: 18: 10: 8,5: 23,5: 10. На основании результатов этих же экспериментов нами разработаны нормы потребности молочных коров в обменных (доступных) лимитирующих аминокислотах (Кальницкий, Харитонов, 2004). Разработан также метод расчета доступности питательных веществ кормов к перевариванию в рубце и кишечнике, который позволяет соответствующим подбором кормов в рационах, обеспечивать выход необходимого набора конечных продуктов переваривания (Харитонов, 2001). Эти составляющие и явились основой нового подхода к нормированию питания лактирующих коров, обеспечивающему повышение эффективности использования корма.

Целью данных исследований являлась оценка эффективности нового способа нормирования питания лактирующих коров, заключающегося в оптимизации состава обменной энергии и протеина для коров, посредством подбора кормов с различными характеристиками доступности питательных веществ к перевариванию в рубце и кишечнике.

В задачи исследований входило: 1) определить практическую возможность формулирования рационов с заданным соотношением со-

става обменной энергии и протеина, исходя из установленных нами характеристик кормов по доступности питательных веществ к перевариванию в рубце и кишечнике; 2) определить влияние рационов с разным составом обменной энергии и протеина на молочную продуктивность и состав молока; 3) определить эффективность использования обменной энергии и обменного протеина на молокообразование; 4) определить темпы мобилизации жировых депо у коров при разном составе обменной энергии.

Материал и методы

Эксперимент проводили методом групп-периодов на половозрелых высокопродуктивных коровах в первые месяцы лактации (с 30 по 130 день). Коровы были прооперированы путем имплантации лодочки на сонную артерию и канюль на рубец и 12- перстную кишку. Опыт проведен в четыре периода (25, 55, 85 и 115 день лактации). Во все периоды эксперимента животные получали рацион с содержанием концентрированных кормов на уровне 55%. Кормление было трехразовым. Ежедневно учитывали количество потребляемых кормов и молочную продуктивность.

Химический анализ молока и кормов определяли в дни изучения легочного газообмена. Ввели ежедневный учет количества потребленных кормов, определяли химический состав кормов рациона. Взвешивали коров один раз в 30 дней. Образцы крови из сонной артерии и молочной вены отбирали пункцией сосудов до кормления, через 3 ч и через 8 ч после утреннего кормления. Для определения количества всосавшихся из пищеварительного тракта субстратов и составления баланса энергии и азота, на 55, 85 и 115 дни лактации проводили балансовые опыты, в которых изучали поступление из преджелудков и переваривание в кишечнике сухого вещества (СВ), органического вещества (ОВ), микробного и кормового протеина, аммонийного азота, липидов, ВЖК, крахмала и фракций клетчатки.

В течение 25 дней после отела животных содержали на одинаковом рационе с высоким уровнем доступности для переваривания в рубце крахмала и протеина. Затем с учетом живой массы и суточного удоя коровы были разделены на две группы. Контрольная и опытная группы получали изоэнергетические рационы (табл.1), но различающиеся по составу комбикормов (табл.2), чтобы обеспечить образование нужного количества и соотношения конечных продуктов переваривания кормов у животных этих групп. Заключительный период опыта (85-115 день лактации) вновь был проведен на рационах одинакового состава.

Рационы коров контрольной группы были составлены согласно норм потребности, разработанных ВНИИФБиП (Физиологические потребности..., 2001), в которых учитывается возможный уровень потребления СВ, нормируется количество ОЭ, исходя из стандартной парциальной эффективности использования ее для синтеза компонентов молока (62%), нераспадаемый протеин, без учета его аминокислот-

ного состава, при использовании стандартной переваримости в кишечнике (70%) на фоне постоянной эффективности микробного синтеза. Кроме этого, наши нормы предусматривают определенное содержание в рационе нейтрально-детергентной клетчатки, крахмала, сахара и липидов, без учета их доступности к перевариванию в рубце и кишечнике и жирнокислотного состава липидов. Рацион коров опытной группы был составлен с учетом выявленного нами оптимального соотношения субстратов обменной энергии, позволяющий увеличить эффективность ее использования как в процессе пищеварения, так и в процессе метаболизма, и с учетом аминокислотного состава обменного протеина (обеспечение потребности в лимитирующих незаменимых аминокислотах - метионине, лизине, лейцине и гистидине), что не достигается при традиционном нормировании. Коровы обеих групп получали одинаковое количество обменного протеина, но валовой и обменной энергии в опытной группе было на 6% меньше (4,8МДж), поскольку ранее проведенные исследования показали, что увеличение в составе ОЭ энергетической доли ВЖК приводит к повышению эффективности молокообразования.

Таблица 1. Рационы кормления коров контрольной и опытной групп по периодам опыта

Корма, кг	1 период (10-25-й день лактации)		2 период (25-55-й день лактации)		3 период (55-85-й день лактации)		4 период (85-115-й день лактации)	
	контр	опыт	контр	опыт	контр	опыт	контр	опыт
Сено	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
Силос разнотр.	15	15	15	15	18	18	21	21
Патока кормовая	0	0	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Комбикорм	8,4	8,4	9,9	9,0	10,5	9,0	8,4	8,4

Таблица 2. Состав комбикормов по периодам опыта (%)

Корма	1 период		2 период		3 период		4 период	
	контр.	опыт	контр.	опыт	контр.	опыт	контр.	опыт
Кукуруза				8,3		18		
Ячмень	40	40	40,1	29	45,4	27	45,4	45,4
Пшеница	18	18	23,2	14,1	25,6	14	25,6	25,6
Отруби пшеничные	13,5	13,5		6,2		10		
Соевый шрот			10,7	15,3	15	12	15	15
Кукурузный жмых			13,4	17,8				
Кукурузный глютен				0,83	0	0,5	0	0
Кровяная мука				2,1	0	8	0	0
Рыбная мука						2,0		

Подсолнечный шрот	25	25	8,9	0	10		10	10
Жир				2,1		3	0	0
Мочевина				0,83		1,5		
Премикс П-60-3	1	1	0,9	0,83	1	1	1	1
Соль поваренная	1	1	1,3	1,25	1,5	1	1,5	1,5
Трикальций фосфат	1,5	1,5	1,3	1,25	1,5	1,5	1,5	1,5

В конце 2, 3 и 4 периодов проводили балансовые опыты, респираторные исследования, отбирали пробы крови, рубцового и дуоденального содержимого. В плазме артериальной крови лактирующих коров определяли концентрацию гормонов: инсулина, тироксина, трийодтиронина с целью выявления зависимости уровня образования этих гормонов от количества метаболитов, поступающих из пищеварительного тракта и оценки адекватности кормления. По показателям артерио-венозной разницы судили об эффективности поглощения молочной железой глюкозы, ЛЖК, кетоновых тел, НЭЖК, триацилглицеролов, ВЖК, свободных аминокислот и мочевины и оценивали уровень обеспеченности синтеза молока метаболитами-предшественниками (Методы..., 1997).

Базовый рацион подопытных животных включал 20% сена, 30% силоса и 50% концентратов – по питательности (табл.3).

Таблица 3. Структура рационов (% от СВ)

Корма	Периоды опыта							
	опыт				контроль			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Грубые корма	55,1	49,8	53,5	57,5	55,1	47,6	49,9	57,5
Концентраты	44,9	45,5	42,1	38,2	44,9	47,8	45,9	38,2
Патока	0	4,67	4,36	4,2	0	4,46	4,07	4,2

Результаты и обсуждение

Решение первой задачи – формирование рационов с заданными характеристиками состава обменной энергии, осуществляли на основании полученных в предыдущих исследованиях данных о доступности к перевариванию в рубце и кишечнике основных питательных веществ кормов. Согласно нашим данным состав обменной энергии у коров живой массы 500кг и суточным удоом 25-30кг молока должен включать в энергетическом выражении 28; 18; 9,5; 8; 23 и 13% ацетата, пропионата, бутирата, глюкозы, аминокислот и ВЖК в начале лактации и 35; 17,2; 11; 7,2; 20 и 9,3 - с 90-го дня лактации (Харитонов, 2004). Состав обменной энергии в рационе у коров опытной группы в целом соответствовал заданному по условиям опыта количеству субстратов как в начале лактации (2 и 3 период), так и после 90-го дня лактации (4-й период) (табл.4). В составе ОЭ рационов опытной группы на 40% больше содержалось ВЖК, на 3-5% меньше аминокислот и глюкозы и на 8% меньше ЛЖК по сравнению с контрольной группой. Это обеспечивало

поступление в организм коров опытной группы (при меньшем содержании комбикорма в рационе на 10%) одинакового количества аминокислот и глюкозы. В то же время в артериальной крови коров опытной группы во 2, 3 и 4 периодах установлено повышение уровня триацилглицеролов на 12,2, 10,1 и 3,3% по отношению к контрольной группе.

Таблица 4. Образование субстратов в пищеварительном тракте коров из кормов рациона по периодам опыта (% по энергии от суммы всосавшихся субстратов)

Образованные субстраты, %	1 период (10-25-й день лактации)		2 период (25-55-й день лактации)		3 период (55-85-й день лактации)		4 период (85-115-й день лактации)	
	контр	опыт	контр	опыт	контр	опыт	контр	опыт
Ацетат	30,6	30,6	29,1	27,0	29,5	27,0	30,8	30,8
Пропионат	21,8	21,8	19,9	18,5	21,1	19,9	21,1	21,1
Бутират	11,8	11,8	11,4	11,1	12,1	10,8	12,3	12,3
Глюкоза	6,8	6,8	6,9	7,2	7,5	7,3	6,3	6,3
Аминокислоты	19,7	19,7	23,4	24,3	22,5	24,1	21,7	21,7
ВЖК	9,2	9,2	9,2	11,9	7,3	11,6	7,6	7,6
Обменная энергия, МДж	140,1	140,4	175,6	170,2	186,0	173,6	173,2	173,8

В предыдущих исследованиях нами показано, что по ходу лактации у коров снижается использование ВЖК в энергетическом обмене и увеличивается доля использования ацетата. В текущих исследованиях отмечена аналогичная закономерность по использованию этих субстратов и молочной железой, а именно валовое поглощение триацилглицеролов и НЭЖК снижалось, а ацетата и бутирата увеличивалось в основном за счет снижения концентрации в крови первых и повышения вторых, а также изменения эффективности поглощения этих метаболитов. Таким образом, подтверждено положение об избирательном поглощении молочной железой углеводных и липидных метаболитов по ходу лактации, поэтому рационы для коров должны составляться с учетом оптимального состава субстратов для каждой стадии лактации.

Решение второй задачи – оптимизировать состав обменного протеина в рационах коров опытной группы по содержанию основных лимитирующих незаменимых аминокислот, осуществляли за счет специального подбора белковых кормов с различным содержанием незаменимых аминокислот в нераспадаемом протеине. В результате в химусе опытных коров, поступающем в кишечник, содержание метионина было выше на 42%, лейцина и фенилаланина на 17%, лизина на 24,6% и гистидина на 76,3% по сравнению с коровами контрольной группы (табл.5). За счет этого состав обменного протеина у коров опытной группы обеспечивал потребность коров в незаменимых аминокислотах, а в контрольной обеспеченность составляла 80-90% (табл.6). В составе

обменного белка концентрация аминокислот была увеличена – метионина на 32,6%, лейцина на 2,1%, фенилаланина на 13,4%, лизина на 21,4%, гистидина на 74,4% по сравнению с контрольной группой (таблица 6).

Таблица 5. Содержание незаменимых аминокислот в химусе двенадцатиперстной кишки (г/100г аминокислот)

Аминокислоты	Предварительный период -25-й день лактации	Контроль 25-85-й день лактации	Опыт 25-85-й день лактации	Заключительный период 85-115-й день лактации
Метионин	1,67	1,97	2,80	2,24
Лейцин	7,94	7,47	8,75	7,60
Фенилаланин	5,38	5,33	6,37	5,47
Лизин	6,60	6,00	7,48	6,13
Гистидин	1,98	1,44	2,54	1,56

Таблица 6. Содержание незаменимых аминокислот в составе обменного белка (г/100г аминокислот)

Аминокислоты	Контроль	Опыт	Норма*
Метионин	1,53	2,03	2-2,5
Лейцин	6,94	7,09	7-8
Фенилаланин	5,00	5,67	4,5-5
Лизин	6,21	7,54	6,8-7,5
Гистидин	1,41	2,46	2,2-2,7

* - диапазон разброса по данным ряда авторов

При одинаковом поступлении обменного белка (1709 и 1725г/сут в контрольной и опытной группах во второй период и 1740 и 1741,8г в третий период), за счет его балансирования среднесуточная концентрация незаменимых аминокислот в крови коров опытной группы была выше - метионина на 13,4; лейцина на 55,5; фенилаланина на 27,7; лизина на 1,3 и гистидина на 51,5%.

Разное соотношение используемых кормов обеспечивало разное образование конечных продуктов переваривания питательных веществ корма и соответственно разный состав обменной энергии и обменного протеина, что сказалось на молочной продуктивности. На пике молочной продуктивности удой в опытной группе составил 28,9±0,87 кг, а в контрольной 27,6±1,63 кг (4,7%). На 55-й день разница в продуктивности составила 15,7%, на 85-й – 12,5% и на 115-й день (при идентичных рационах) разница сохранилась (12,5%) и даже на 153 день составила 19,6% в пользу опытной группы (рис.1). Производство молочного белка у коров опытной группы за 3 месяца опыта (с 25-го по 115-й день лактации) возросло на 11,5%, удой – на 13,4%, производство молочного жира – на 4,4%, белкомолочность – на 2,6%.

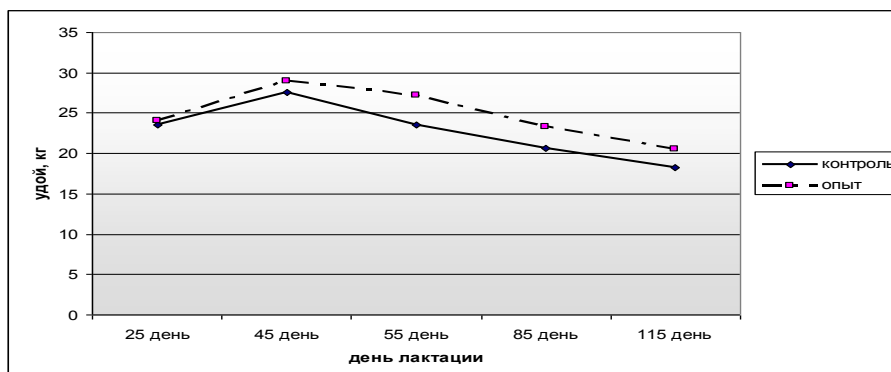


Рис.1. Молочная продуктивность коров по периодам опыта

Различия в составе обменной энергии также сказались на изменении темпов мобилизации жировых депо у коров. Коровы контрольной группы в течение двух месяцев лактации теряли по 15 кг живой массы, а затем восстанавливали ее по 0,63 кг/сутки в течение третьего и по 0,13 кг в четвертый месяц. Коровы опытной группы за второй месяц потеряли всего 5,5 кг, а восстанавливали массу по 0,4 кг/сутки за третий и по 0,06 кг за четвертый месяц (рис. 2). Таким образом, динамика изменения живой массы коров опытной группы была более выравненной.

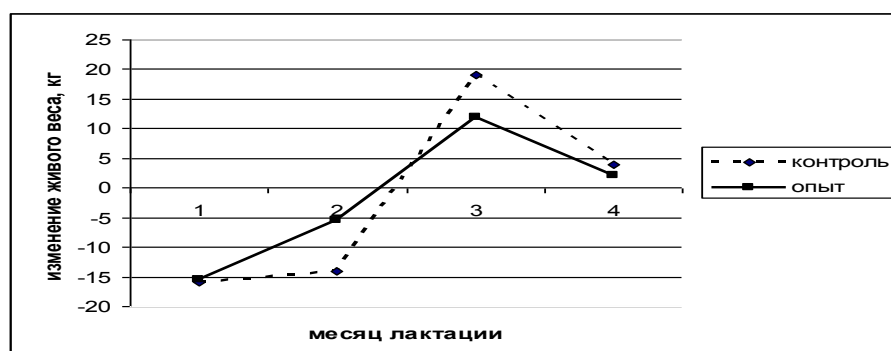


Рис.2 Динамика изменения живого веса коров в опыте

Указанные различия в темпах мобилизации у коров контрольной и опытной групп в основном обусловлены большей долей ВЖК в составе ОЭ у коров опытной группы. За счет более равномерной мобилизации жировых депо из организма коров опытной группы, доля неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК), от суммы поглощенных молочной железой липидных компонентов, во все периоды лактации была на уровне 25%, в то время как у коров контрольной группы достигала на 55 день 35%, а к 115 дню снижалась до 15% (рис.3).

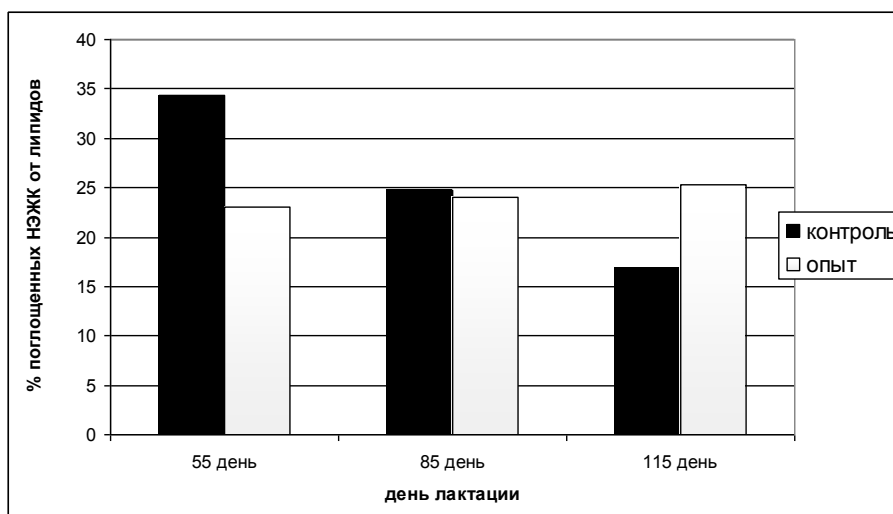


Рис.3 Относительное поглощение НЭЖК молочной железой от суммы поглощенных триацилглицеролов и НЭЖК

При этом жирнокислотный состав молока коров контрольной и опытной групп не различался, т.к. увеличенное поглощение триацилглицеролов молочной железой у коров опытной группы компенсировалось меньшим поступлением НЭЖК и большим выделением липидов с молоком.

Установлено, что на 54-й день в крови коров контрольной и опытной групп концентрация инсулина в сыворотке крови существенно возрастала как после первого, так и после второго приема корма (по данным лаборатории нейро-эндокринной регуляции). Это свидетельствует, что к концу второго месяца лактации наступила активация функциональной активности инсулярного аппарата поджелудочной железы, что оказало влияние на перераспределение потоков метаболитов в инсулинзависимые ткани лактирующих коров (жировая и мышечная ткани) и привело сначала к снижению потери массы тела, а затем к ее нарастанию. В то же время, если у контрольных животных выброс инсулина после приема корма превышал исходный уровень в 2,6 раза, то у опытных – только в 1,38 раза. Этот факт, а также существенное снижение концентрации трийодтиронина в крови коров, свидетельствует о более активном торможении мобилизации жировых депо у коров контрольной группы.

Балансовые обменные опыты показали, что с 85 дня лактации наблюдалось уже отложение энергии в тканях ($11,6 \pm 0,55$ МДж/сут), при этом избыток обменного белка также шел на отложение в тканях ($63,9 \pm 12,7$ г/сут). На процесс торможения липолиза и активацию липогенеза по ходу лактации указывает также повышение дыхательного коэффициента у коров контрольной группы до 0,88 и сохранение его у коров опытной группы на уровне первого месяца лактации – 0,78.

За счет оптимизации состава обменной энергии общая эффективность ее использования на образование молока составила в контрольной группе 46,2%; 41,1% и 36,2%, а в опытной – 55,4%, 45,4 и 40,6%, что выше на 19,9, 10,4 и 12,1 % по периодам опыта. За счет оптимизации аминокислотного питания эффективность использования азота (отношение протеина молока к переваренному протеину корма) в опытной группе достоверно возросла с 40,3 до 52,5% во второй месяц лактации, с 38,5 до 41,2 – в третий и с 37,8 до 43,2 в четвертый. Следовательно, за счет оптимизации состава обменной энергии по ее основным составляющим и сбалансированности обменного протеина по основным лимитирующим аминокислотам, можно повысить эффективность их использования на образование молока. Расход концентратов за время проведения опыта составил в контрольной группе 400г на литр молока, а в опытной – 330. В опытной группе также отмечено большее потребление грубых кормов на 133 г по сухому веществу.

Заключение

Таким образом, экспериментальная проверка эффективности нормирования питания высокопродуктивных коров с учетом субстратного обеспечения энергетических и продуктивных функций показала, что за счет дополнительной оптимизации рационов по соотношению ацетата, пропионата, бутирата, глюкозы, аминокислот и высших жирных кислот в составе обменной энергии и по соотношению метионина, лизина, гистидина и лейцина в составе обменного протеина можно повысить на 5% эффективность использования питательных веществ на образование молока, увеличить продуктивность на 10-15% и снизить темпы мобилизации жировых депо на 30%, что подтверждает обоснованность разработанного нами нового подхода к нормированию питания молочного скота на основе расчета потребности и обеспеченности животных основными субстратами и лимитирующими аминокислотами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Харитонов Е.Л. Физиологическое обоснование оптимальных соотношений субстратов в составе обменной энергии для молочных коров. Научн. Труды ВНИИФБиП, 2004, 43: 83-92.
2. Харитонов Е.Л. Физиологическое обоснование норм потребности молочных коров в субстратах. Матер. Межд. научно-практ. конф. «Прошлое, настоящее и будущее зоотехнической науки». Научн. тр. ВИЖа, Дубровицы, 2004, 3: 316-320.
3. Кальницкий Б.Д., Харитонов Е.Л. К вопросу о нормировании аминокислотного питания молочного скота. Доклады РАСХН, 2004, 3: 24-27
4. Харитонов Е.Л., Материкин А.М. Принципы расчета образования субстратов и метаболитов в желудочно-кишечном тракте жвачных животных. Доклады РАСХН, 2001, 1: 33-37.
5. Физиологические потребности в питательных веществах и нормирование питания молочных коров. Боровск, 2001.
6. Методы биохимического анализа, Боровск, 1997.

АПРОБАЦИЯ НОРМ ПОТРЕБНОСТИ КОРОВ В ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ СУБСТРАТАХ

В.И. Агафонов, В.Б. Решетов, Р.А. Волобуева, В.В. Михайлов, В.П. Лазаренко
Лаборатория энергетического питания

В условиях научно-хозяйственных опытов, при различных уровнях молочной продуктивности коров (6-10 тыс. кг молока за лактацию) установлена высокая результативность новых подходов к нормированию, исходя из потребности в субстратах энергетического обмена и субстратного спектра обменной энергии рационов, по сравнению с традиционным нормированием. Повышение молочной продуктивности коров достигало 13,9% по сравнению с контролем.

Введение

Для того, чтобы определить потребность коров в энергетических субстратах, необходимо знать основные пути их использования в энергетическом обмене. Затраты обменного протеина на энергетические цели у коров определяли следующим образом: принимали в расчет, что калорийность 1 г белка равна 23,94 кДж (Шиманн, 1969), но при биологическом окислении в тканях из 1 г белка извлекается только 18 кДж свободной энергии, т.е., часть энергии теряется, поскольку NH_2 -группы не окисляются, что снижает эффективность использования белка в энергетическом обмене. Потребность коров в обменном белке на поддержание равна 2,2 г/кг метаболической массы (Пиатковский, 1975). Например, корова с живой массой 600 кг (121 кг метаболической массы) на поддержание ежедневно тратит 266 г белка (4,788 МДж энергии) в составе суточной теплопродукции. Дополнительно при удое 20 кг молока/сутки и содержании 3,3% белка в молоке (660 г белка в суточном удое), требуется исходных 1100 г обменного протеина при эффективности его использования на образование белка молока, равной 60% (ARC, 1988). Следовательно, остальные 40% обменного протеина (440 г) используются в энергетическом обмене с выходом 7,920 МДж энергии в составе теплопродукции. Суммарные потери обменного протеина равны 706 г (12,798 МДж/сутки).

Чтобы определить количество энергии, образуемой за счет окисления ацетата, глюкозы, высокомолекулярных жирных кислот и кетоновых тел, необходимо из величины суточной теплопродукции коровы, равной 88,5 МДж (определяемой по потреблению кислорода, с учетом дыхательного коэффициента), вычесть количество энергии, образуемой за счет окисления обменного протеина:

$$88,5 \text{ МДж} - 12,7 \text{ МДж} = 75,8 \text{ МДж.}$$

При дыхательном коэффициенте – 0,931 на долю ацетата и глюкозы приходится 77%, а 23% – на окисление высокомолекулярных жирных кислот и кетоновых тел. Таким образом, энергетический обмен у коро-

вы в приведенном примере осуществлялся за счет окисления 706 г обменного протеина, 3893 г ацетата и глюкозы и 458 г высокомолекулярных жирных кислот и кетоновых тел (Агафонов и др., 1995, 1999, 2000, 2003, 2004).

На основе приведенных выше расчетов нами были разработаны нормы потребности коров в энергетических субстратах при различных уровнях молочной продуктивности, по месяцам лактации и в сухостойный период (табл. 1). В данной статье изложены результаты апробации норм в условиях хозяйств.

Таблица 1. Нормы потребности коров в энергетических субстратах (Агафонов и др., 2004)

Ме- сяцы лак- та- ции	Ж.м. 500-550 кг, сут. удой, кг	Ж.м. 500-550 кг, сут. удой до 25 кг, жир. – 3,8%	Субстраты, г			Ж.м. 600-650 кг, сут. удой, кг	Ж.м. 600-650 кг, сут. удой до 35 кг, жир. – 3,8%	Субстраты, г		
			ацетат+ глюкоза	ВЖК+ кетон. тела	амино- кислоты			ацетат+ глюкоза	ВЖК+ кетон. тела	амино- кислоты
1	72	22	1152	1138	640	84	30	1120	1370	840
2	75	25	1700	987	668	90	35	1860	1232	850
3	80	23	2665	736	667	99	30	2706	1094	935
4	83	21	3595	438	692	107	27	3710	901	951
5	88	19	3930	416	733	108	24	4248	710	960
6	90	16	4200	355	750	105	22	4480	553	933
7	90	14	4200	355	750	103	20	4530	488	915
8	88	12	4107	347	733	100	17	4467	447	889
9	86	10	4015	340	717	89	13	3975	398	791
10	84	8	3864	332	745	83	10	3707	371	738
Сухостой										
1	80	-	3680	272	710	90	-	4020	403	800
2	95	-	4170	412	870	95	-	4180	325	897

Материал и методы

Первый научно-производственный опыт провели в колхозе им. Ленина Калужской области на трех группах коров по 10 голов с уровнем молочной продуктивности за предшествующую лактацию – 4,5-5,0 тыс. кг (1-я группа), свыше 5 и до 6 тыс. кг (2-я группа) и свыше 6 тыс. кг (3-я группа). Рационы кормления коров были разработаны исходя из потребности в энергии, питательных веществах и основных субстратах с учетом уровня молочной продуктивности (Физиол. потребности..., 2000) (табл. 2). Учитывали молочную продуктивность и калорийность молока (в адиабатическом калориметре). Теплопродукцию определяли по потреблению кислорода, с учетом дыхательного коэффициента (Надальяк и др., 1986). Питательность рационов и использование субстратов в энергетическом обмене определяли расчетными методами (Агафонов, 1995).

Проверку норм потребности коров в энергетических субстратах провели также в совместном с лабораториями пищеварения и белково-аминокислотного питания опыте в совхозе «Пушкинский» Нижегородской области на двух группах коров по 10 голов, с уровнем молочной продуктивности 8-10 тыс. кг молока за лактацию. Коровам контроль-

ной группы скармливали рационы, разработанные на основе детализированных норм (Нормы и рационы..., 2003). Для коров опытной группы при разработке рационов использовали рекомендации ВНИИФБиП с.-х. животных (Физиологические потребности..., 2001).

Результаты и обсуждение

В опыте, проведенном в колхозе им. Ленина Калужской области, в кормлении коров использовали корма преимущественно 1 и 2 классов с учетом возможного увеличения их поедаемости, особенно в период раздоя. Концентрация обменной энергии в рационах коров в начальный период лактации по группам колебалась от 9,78 до 10,05 МДж/кг сухого вещества корма; сырого протеина – 15,08%; 15,28% и 15,80%; сырой клетчатки – 15,22%; 15,18 и 15,10%; сырого жира – 2,99; 3,01 и 3,02% (табл. 2).

По показателям концентрации обменной энергии и по уровню сырого протеина рационы соответствовали принятым нормам (Нормы и рационы..., 2003). Уровень сырой клетчатки в рационах был ниже принятых норм для коров с фактическим уровнем молочной продуктивности, но соответствовал рекомендациям ВНИИФБиП (Физиологические потребности..., 2000).

Таблица 2. Рационы кормления коров в зимний период

Корма, показатели питательности	Ед. измер.	Молочная продуктивность по группам, кг/день		
		1 - 24	2 - 27	3 - 28
Сено злаковое многолетних трав	кг	2	2	2
Сенаж бобово-злаковый многолетних трав	кг	20	20	20
Гранулы травяные	кг	1	1	1
Свекла кормовая	кг	10	13	15
Комбикорм	кг	8	8,5	9
Шрот подсолнечный	кг	1,5	1,7	2,0
В рационе содержалось:				
Обменная энергия	МДж	180	194	201
Сухое вещество	кг	18,4	19,4	20,0
Сырой протеин	г	2775	2965	3160
Распадаемый в рубце протеин	г	2016	2165	2315
Нераспадаемый в рубце протеин	г	759	800	845
Сырая клетчатка	г	2800	2945	3020
Крахмал	г	3550	3770	3990
Сахар	г	960	1105	1275
Сырой жир	г	550	583	604
Субстратная питательность рационов:				
Аминокислоты	г	1660	1770	1887
Ацетат	г	3590	3734	3800
Пропионат	г	1633	1797	1932
Бутират	г	890	939	971
Высокомолекулярные жирные кислоты	г	395	420	430
Глюкоза	г	910	1060	1215

Если исходить из использования обменной энергии рационов, то можно отметить, что у коров 1-й группы она включала 93,9 МДж теплопродукции: 74,4 МДж – в суточном удое и 11,7 МДж – в приросте массы тела. У коров 2-й группы эти показатели были представлены, соответственно, 94,2 МДж; 83,7 МДж и 16,1 МДж; а у коров 3-й группы – 99,6 МДж, 86,8 МДж и 14,6 МДж (табл. 2 и 3). Такие расчеты дают лишь конечные характеристики использования обменной энергии у коров.

Таблица 3. Использование субстратов в энергетическом обмене у коров

Группы коров	Теплопродукция, МДж/сутки	Дыхательный коэффициент	Субстраты, г/сутки		
			ацетат и глюкоза	ВЖК и кетоновые тела	аминокислоты
Зимний период (3 месяца лактации)					
1-я	93,9±2,4	0,815±0,017	2015	1281	833
2-я	94,2±3,3	0,790±0,031	1580	1460	840
3-я	99,6±2,2	0,778±0,044	1440	1620	910
Летний период (4 месяца лактации)					
1-я	87,8±6,3	0,947±0,054	4007	340	828
3-я	99,6±7,4	0,946±0,056	4520	392	940

Для более точного прогнозирования энергозатрат и продуктивности необходимо знать количественное распределение субстратов на эти функции. В энергетическом обмене у коров 1-й, 2-й и 3-й групп использовалось, соответственно, 830 г, 840 г и 910 г обменного протеина (аминокислот); в приросте массы тела отложилось по группам: 100 г, 130 г и 120 г белка. Остальное количество аминокислот: 730 г, 800 г и 857 г находилось в составе белка молока. Обеспеченность синтеза белка молока составляла 30-31 г/кг молока, что ограничивало уровень белка в молоке.

При переводе коров на летние рационы, в составе которых предусмотрено использование пастбищного корма в сочетании со скормливанием зеленого корма из кормушек, дачу концентратов ограничивали до 200-300 г/кг молока. В таблице 3 приведены данные исследований теплопродукции у коров в зимний и летний периоды. В летний период (4 месяца лактации) наблюдалась нормализация энергетического обмена по показателям преимущественного использования ацетата в качестве источника энергии. Молочная продуктивность коров по группам составляла 21,6 кг, 24,6 кг и 27,0 кг молока в день. Уровень обменной энергии у коров рассчитывали по сумме теплопродукции и энергии суточного удоя: у коров 1-й группы она равнялась 155 МДж, у коров 3-й группы – 183 МДж.

При анализе фонда субстратов для биосинтеза установлено, что аминокислотная питательность летних рационов обеспечивала содержание белка в молоке на уровне 34-35 г в 1 кг, что превышало необходимый уровень на 5-6%. С учетом потребности в глюкозе на энергетические цели, обеспеченность синтеза лактозы была высокой: 46-49 г/кг молока. Синтез молочного жира у коров 1-й и 3-й групп обеспечивался

достаточным количеством ацетата, бутирата, высокомолекулярных жирных кислот (из расчета 40-41 кДж на 1 г молочного жира).

Таким образом, при оптимизации рационов учитывали их субстратную питательность, количественное использование субстратов в энергетическом обмене и прогнозировали обеспеченность синтеза компонентов молока, что позволило повысить молочную продуктивность коров на 5-10% по сравнению с уровнем за предшествующую лактацию.

Второй научно-производственный опыт проведен в ПХ «Пушкинский» Нижегородской области на высокопродуктивных коровах с удоем 8-10 тысяч кг молока за лактацию, с использованием рационов, оптимизированных с учетом субстратной питательности. Были сформированы две группы коров по 10 голов, в начальный период лактации. В результате анализа хозяйственных рационов были установлены причины ограничения роста молочной продуктивности коров: низкая концентрация обменной энергии, высокая распадаемость сырого протеина и крахмала в рубце.

Рационы коров включали кормосмесь, свеклу кормовую, патоку свекловичную, комбикорма. Коровам контрольной группы скармливали хозяйственный рацион, сбалансированный по детализированным нормам (Нормы и рационы, 2003). Поэтому в состав комбикорма для коров опытной группы вводили кормовой жир, кукурузный глютен и кровяную муку с целью снижения распадаемости сырого протеина и крахмала в рубце. При скармливании одинакового количества комбикорма коровы опытной группы получали больше крахмала – на 200-390 г и сырого жира – на 200-280 г при одинаковом уровне сырого протеина.

Соответственно спектр субстратов, доступных для усвоения из рационов животными опытной и контрольной групп, был различным (табл. 4). Количество ЛЖК было выше при использовании рационов опытной группы; значительно выше уровень ВЖК; незначительно больше аминокислот по сравнению с контролем. В то же время при использовании рационов коровами опытной группы отмечено снижение образования глюкозы в тонком кишечнике (табл. 4).

Таблица 4. Энергетическая и субстратная оценка рационов в период 70-80 дней лактации

Показатели	Ед. измер.	Суточный удой, кг			
		30	35	40	
Рационы контрольной группы					
Обменная энергия	МДж	205,3	228,0	245,8	
Ацетат	г	4226	4279	4257	
Пропионат	г	1924	2145	2238	
Бутират и др.	г	1045	1195	1331	
Сумма аминокислот	г	1662	1890	2035	
Сумма ВЖК	г	530	555	566	
Глюкоза	г	1187	1225	1280	
Рационы опытной группы					
Обменная энергия	МДж	210,3	233,8	252,5	
Ацетат	г	4224	4300	4310	

Пропионат	г	2044	2236	2397
Бутират и др.	г	1070	1227	1373
Сумма аминокислот	г	1701	1934	2134
Сумма ВЖК	г	710	800	850
Глюкоза	г	1136	1075	1095

Фактическая молочная продуктивность коров в среднем по контрольной группе составляла $29,5 \pm 1,8$ кг и по опытной группе – $33,6 \pm 1,8$ кг; калорийность 1 кг молока, соответственно, 2,939 МДж и 2,899 МДж; калорийность суточного удоя: $86,7 \pm 7,9$ МДж и $97,4 \pm 5,2$ МДж.

Таким образом, за счет оптимизации энергетического и протеинового питания у коров опытной группы молочная продуктивность повысилась на 14,0% по сравнению с контролем, а энергия суточного удоя – на 12,34%. Снижение калорийности единицы продукции было минимальным – 1,36%.

В энергетическом обмене у коров опытной группы использовались азотсодержащие вещества – 18,5%, ацетат и глюкоза – 48,9%, ВЖК и кетонные тела – 32,6% от теплопродукции; в контроле, соответственно, 18,0%, 51,93%, и 30,07%. Обеспеченность аминокислотами синтеза белков молока была выше у коров опытной группы, ввиду скармливания в составе комбикорма сырого протеина с пониженной распадаемостью в рубце.

В рационе коров опытной группы было более высокое содержание сырого жира, что позволило оптимизировать энергетическое питание и липидный обмен: мобилизация ВЖК на энергетические цели была ниже, чем в контроле (410 г против 828 г).

Полученные данные по использованию субстратов в энергетическом обмене приведены в таблице 5.

Таблица 5. Использование субстратов в энергетическом обмене у коров в период 70-80 дней лактации

Показатели	Ед. измер	Контроль	Опыт
Аминокислоты и др. азотсод. в-ва	г/сут	930	945
Ацетат и глюкоза	г/сут	2440	3290
ВЖК и кетонные тела	г/сут	1178	1192
Теплопродукция	МДж/сут	96,9	110,5

Заключение

Разработка норм потребности в энергетических субстратах открывает новые возможности в прогнозировании молочной продуктивности за счет оптимизации субстратной питательности рационов. Создается возможность контроля не только величины общих энергетических затрат, но и количества основных субстратов, используемых в энергетическом обмене и для синтеза компонентов молока и другой продукции.

В проведенных исследованиях показано, что в качестве лимитирующих продуктивность факторов выступают прежде всего фонды аминокислот, ацетата, высокомолекулярных жирных кислот, глюкозы.

Эти фонды варьируют в связи с динамикой потребностей коров в энергетических субстратах по фазам лактации и сухостоя (табл. 3 и 4). Эти закономерности необходимо учитывать при разработке кормовых рационов.

Вместе с тем, необходимо продолжить апробацию норм потребности коров в энергетических субстратах, особенно во второй половине лактации и у сухостойных коров. Необходимо продолжить разработку норм применительно к коровам с живой массой – 550-600 кг и с удоем до 30 кг молока/сутки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агафонов В.И. Нормирование энергии у жвачных животных по принципу субстратной обеспеченности метаболизма. Доклады на 2-й Межд. конф., Боровск, 1995: 36-48.
2. Агафонов В.И. и др. Обеспеченность субстратами энергетических процессов при различных уровнях кормления и продуктивности. Тр. ВНИИФБиП. Боровск, 1999, 38: 375-384.
3. Агафонов В.И. и др. Особенности использования энергии корма у коров в начальный период лактации. Тр. ВНИИФБиП. Боровск, 2000, 39: 123-134.
4. Агафонов В.И. и др. Эффективность использования энергии корма у лактирующих коров в зависимости от субстратной характеристики рационов. Тр. ВНИИФБиП. Боровск, 2003, 41: 36-40.
5. Агафонов В.И. и др. Обоснование норм потребности коров в энергетических субстратах. Тр. ВНИИФБиП. Боровск, 2004, 42: 92-104.
6. Надальяк Е.А. и др. Изучение обмена энергии и энергетического питания у сельскохозяйственных животных. Боровск, 1986: 56с.
7. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных. Справочное пособие. М. 2003: 658 с.
8. Пиатковский Р. Потребность жвачных животных в питательных веществах и энергии. М. Колос. 1975.
9. Физиологические потребности в питательных веществах у коров. Справочное пособие. Боровск, 2000: 131 с.
10. ARC. Energy allowances and feeding system animals. London, 1988.
11. Riis P.M. et al. A model for the efficient use of new information within physiology, nutrition and breeding of dairy cows. Tryk. Frederiksborg Bogtrykkeri. a.z. 1990: 68p.
12. Schiemann R. Energetische Futterbewertung and Energienermen. Berlin, 1969.
13. Spornldy R. Aspects on ration formulation based on a substrate system. Norveg.S.Agr.Sci. 1990, 5: 83-87.

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ИНСУЛЯРНОГО АППАРАТА И ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У КОРОВ В ПЕРВУЮ ПОЛОВИНУ ЛАКТАЦИИ

Е.Е. Комкова, В.А. Матвеев

Лаборатория эндокринной регуляции обмена веществ и продуктивности

В опытах на коровах холмогорской породы в начале, разгаре и середине лактации изучали функциональное состояние инсулярного аппарата и щитовидной железы до и после приема корма. Установи-

ли, что уровень инсулина и тиреоидных гормонов в сыворотке крови лактирующих коров изменяется по стадиям лактации, что связано с проявлением лактационной доминанты. Показатели концентрации инсулина, тироксина и трийодтиронина в сыворотке крови коров до приема корма, через 3 часа после первого кормления и через два часа после второго целесообразно использовать в качестве дополнительного критерия физиологической адекватности уровня питания высокопродуктивных лактирующих животных.

Введение

В настоящее время не вызывает сомнения тот факт, что в развитии лактационной доминанты у крупного рогатого скота ведущая роль принадлежит эндокринной системе и, в первую очередь, аденогипофизу, инсулярному аппарату и щитовидной железе (Walsh D.S., Vesely L.A., Managaman S.J., 1980; Тараненко А. Г., 1987). В первые дни после отела у коров тормозится функция инсулярного аппарата поджелудочной железы и повышается секреция соматотропина, что позволяет обеспечить процессы биосинтеза компонентов молока за счет мобилизации субстратов из жировой и мышечной ткани (Цюпко В.В., 1984).

Результаты наших исследований свидетельствуют, что в период раздоя у коров тормозится реакция инсулярного аппарата на прием корма (Дворецкая Т.Н., 2001). У коров с более низкой концентрацией инсулина в крови на последующих стадиях лактации выше уровень молочной продуктивности (Матвеев В.А., 2001). В опытах на лактирующих коровах показано, что за счет увеличения частоты скармливания концентратов можно снизить уровень инсулина в крови животных и увеличить продукцию молочного жира (Jimenez A.A., 1985; Sutton J.D.; Hart I.C.; Broster W.H., 1986; Sutton J.D.; Hart I.C.; Morant S.V., 1988). Однако механизмы, контролирующие интенсивность синтеза и секреции гормонов и реализацию их влияния на органы и ткани животного остаются недостаточно изученными.

В течение последних 10 лет во ВНИИФБиП разрабатывается новая система питания высокопродуктивных коров, позволяющая прогнозировать и обеспечивать потребности животных в отдельных метаболитах. В целях обоснования возможности использования гормональных показателей для объективной оценки физиологической адекватности питания лактирующих коров, необходимо иметь дополнительную информацию об изменении функционального состояния инсулярного аппарата и щитовидной железы у коров в период раздоя и становления лактации при нормировании кормления по существующим нормам.

Материалы и методы

Экспериментальная часть работы выполнена в виварии института в комплексе с другими лабораториями, на четырех лактирующих коровах холмогорской породы. Опыт проведен методом периодов в

начале, разгаре и середине лактации. Кормление коров индивидуальное, 3-разовое в 8, 14 и 19 ч, доение в 6, 12 и 17 ч, поение из автопоилок. Потребление кормов и молочную продуктивность животных учитывали ежедневно. Уровень кормления коров соответствовал детализированным нормам (Калашников А.П. и др., 2003). Рацион включал злаковый силос, злаковое сено, патоку древесную и комбикорм на уровне 50% от обменной энергии (табл. 1).

Таблица 1. Рационы кормления коров по стадиям лактации

Показатели	Ед. изм	Месяцы лактации			
		1	2	3	4
Сено многолетних трав	кг	4,5	4,5	4,5	4,5
Силос злаковых многолетних трав	кг	15	15	18	21
Комбикорм	кг	8,4	9,9	10,5	8,4
Патока древесная	кг	0	1,5	1,5	1,5
В рационе содержится:					
Обменная энергия	МДж	135	167,8	177,3	166,3
Сухое вещество	кг	16,5	18,9	19,7	19,4
Сырой протеин	г	2182	2527	2698	2555
Распадаемый протеин	г	1471	1360	1468	1333
Нераспадаемый протеин	г	711	1167	1230	1222
Сырая клетчатка	г	3715	3883	4272	4539
НДК	г	73355	7451	8096	8596
Крахмал	г	2649	3285	3668	2998
Сахар	г	687	1495	1500	1393
Липиды	г	437	614	479	485

В целях обеспечения необходимого уровня образования субстратов в пищеварительном тракте коров состав комбикорма по стадиям лактации различался (табл. 2).

Во все периоды опыта у коров брали пробы крови до утреннего кормления, через три часа после первого и через два часа после второго приема корма. В пробах цельной крови определяли концентрацию глюкозы глюкозооксидазным методом (Радченков В.П. и др., 1986), а в сыворотке крови – содержание инсулина, тироксина (Т4) и трийодтиронина (Т3) иммуноферментным методом (Радченков В.П., Матвеев В.А., 1997).

Таблица 2. Состав комбикормов по периодам лактации (%)

Корма	Месяцы лактации			
	1	2	3	4
Кукуруза	-	8,3	18	-
Ячмень	40	29	27	45,4
Пшеница	18	14,1	14	25,6
Отруби пшеничные	13,5	6,2	10	
Соевый шрот		15,3	12	15

Кукурузный жмых		17,8		
Кукурузный глютен		0,83	0,5	0
Кровяная мука		2,1	8	0
Рыбная мука			2,0	
Подсолнечный шрот	25	0		10
Жир		2,1	3	0
Мочевина		0,83	1,5	
Премикс П-60-3	1	0,83	1	1
Соль поваренная	1	1,25	1	1,5
Трикальций фосфат	1,5	1,25	1,5	1,5

Полученные данные были обработаны с использованием стандартных методов биометрии (Лакин Г.Ф., 1980).

Результаты и обсуждение

Результаты проведенных исследований показали, что в период раздоя коров на 25-й день лактации концентрация глюкозы в крови снижается после приема корма (рис. 1). Это свидетельствует о том, что условия питания коров в этот период не были адекватны потребностям организма животных. По-видимому, в результате недостаточной интенсивности процессов глюконеогенеза на фоне высокой потребности в глюкозе для обеспечения процессов молокообразования в период раздоя, система гомеостаза глюкозы не смогла обеспечить стабильный уровень ее в крови коров. Как показали результаты наших ранее проведенных исследований (Дворецкая Т.Н., 2001), по сравнению с сухостойным периодом в плазме крови лактирующих животных существенно возрастает концентрация НЭЖК до утреннего кормления. Это свидетельствует об изменении соотношения между интенсивностью процессов липолиза и липогенеза в жировой ткани в сторону усиления распада депонированных липидов. В результате этого усиливается поток незатерифицированных жирных кислот из клеток жировой ткани в кровь, что способствует обеспечению процессов метаболизма этими субстратами в период значительно возросшей потребности в них у лактирующих коров. По данным лаборатории энергетического питания на этой стадии лактации незатерифицированные жирные кислоты являются основным источником энергии в организме коров.

На следующих стадиях лактации, по-видимому, снижается интенсивность мобилизации аминокислот и жирных кислот из тканей организма коров, на фоне более оптимального обеспечения метаболизма питательными веществами в результате увеличения потребления корма, что, в конечном итоге, позволяет в большей мере обеспечить гомеостаз глюкозы. Этот факт подтверждают результаты анализа концентрации глюкозы в крови, согласно которым через 2 часа после второго приема корма уровень глюкозы в крови коров был выше, чем после первого кормления (рис. 1).

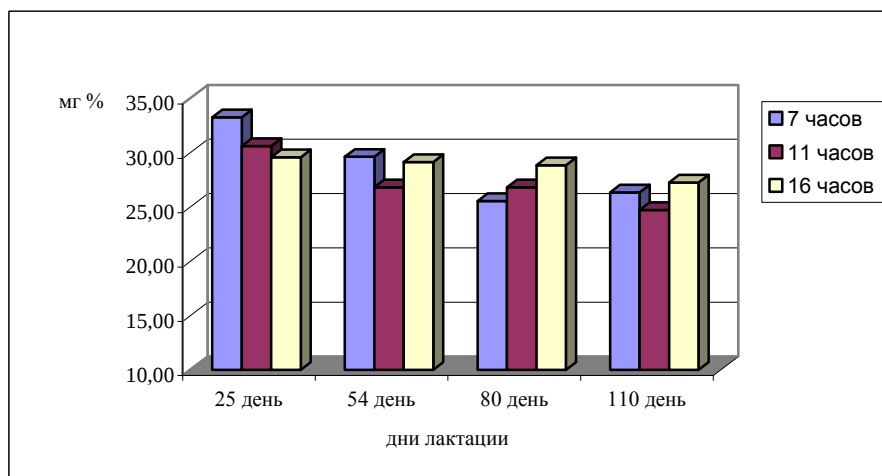


Рис. 1. Динамика концентрации глюкозы в крови, мг%

Как отмечалось выше, формирование лактационной доминанты в период отела коров происходит на фоне торможения функции инсулярного аппарата поджелудочной железы, в результате чего снижается базальный уровень инсулина в крови и повышается концентрация гормона после приема корма. Результаты проведенных исследований показали, что на 25-й день лактации у коров наблюдалось низкое содержание инсулина в сыворотке крови до кормления и не было существенной реакции на прием корма (рис. 2.). Эти результаты свидетельствуют, что условия питания коров в период раздоя были достаточно физиологичны, так как не оказали стимулирующего влияния на активность инсулярного аппарата и способствовали развитию лактационной доминанты.

В течение эксперимента сохранился низкий базальный уровень инсулина в сыворотке крови коров. Однако, на 54-й день лактации концентрация инсулина в сыворотке крови коров существенно возрастала как после первого, так и после второго приема корма. На следующих стадиях лактации также наблюдалось увеличение уровня инсулина в сыворотке крови коров после приема корма (рис. 2).

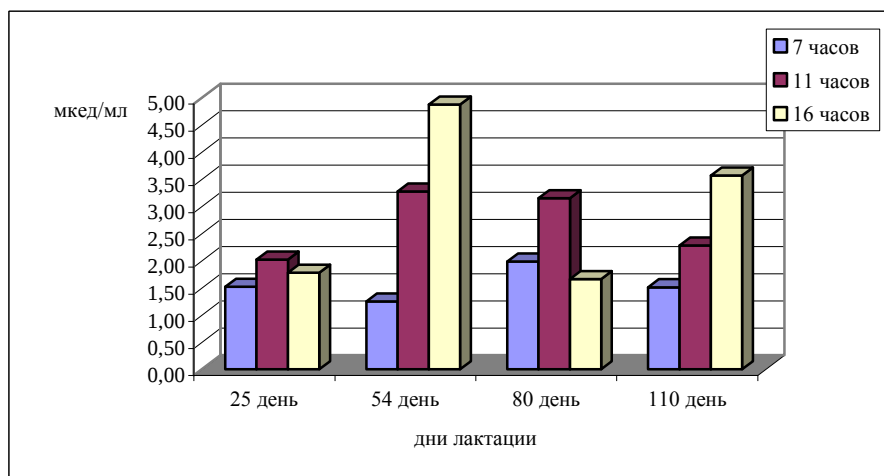


Рис.2. Динамика концентрации инсулина в сыворотке крови коров, мкед/мл

Эти результаты свидетельствуют, что к концу второго месяца лактации произошла активация функциональной активности инсулярного аппарата поджелудочной железы, что должно было оказать влияние на интенсивность и направленность потоков метаболитов, поступающих из желудочно-кишечного тракта после приема корма. Можно полагать, что увеличение концентрации инсулина в крови коров в этот период обеспечило торможение липолиза, активацию липогенеза и увеличило интенсивность потока метаболитов, поступающих после приема корма из пищеварительной системы в кровь (аминокислот, жирных кислот и глицерола), в инсулинзависимые органы и ткани лактирующих коров.

Эти результаты подтверждаются данными об изменении живой массы коров и величине удоя. За 1-й месяц лактации живая масса уменьшилась на 15,5 кг, что указывает на интенсивную мобилизацию энергетических и пластических субстратов из тканей коров. В дальнейшем темп мобилизации снизился и за 2-й месяц лактации живая масса коров уменьшилась на 5,5 кг. Увеличение функциональной активности инсулярного аппарата в этот период обеспечило усиление резервирования питательных веществ корма в тканях животных, в результате чего за 3-й месяц лактации живая масса коров увеличилась на 19 кг. В дальнейшем функциональная активность инсулярного аппарата несколько снизилась и, соответственно, прирост живой массы составил 4 кг.

Максимальным суточный удой был на 45-й день лактации и составил 27,6 кг молока. В дальнейшем он начал снижаться и составил, соответственно, 23,5; 20,7 и 18,2 кг молока на 55-й, 85-й и 115-й дни. Следовательно, при данных условиях питания коров период максимальных удоев был непродолжительным, относительно рано началось резервирование питательных веществ корма в теле и снизилось их использование на биосинтез компонентов молока.

До настоящего времени нет единого мнения о механизмах, регулирующих активность инсулярного аппарата поджелудочной железы.

Показано, что некоторые метаболиты (глюкоза, жирные кислоты с 3-8 атомами углерода и некоторые аминокислоты) являются индукторами синтеза и секреции инсулина у жвачных (M.Horino, L.J.Machlin, F.Hertelendy, and D.M.Kipnis, 1968). По условиям опыта со 2-го месяца лактации в состав комбикорма для коров контрольной группы были включены соевый шрот, кукурузный жмых, кукурузный глютен, кровяная мука, жир, уменьшено содержание отрубей и исключен подсолнечный шрот. Кукурузный жмых и глютен в настоящее время получают из зародышевой части зерна как побочный продукт при переработке кукурузы на пищевые цели. По данным химического анализа, используемая в опыте партия кукурузного жмыха содержала 11,92% общих липидов, жирнокислотный состав которых включал 58,27% $C_{18:2}$, 19,92% $C_{18:1}$ и 14,1% C_{16} . Возможно, что эти жирные кислоты, опосредованно, путем изменения интенсивности и направленности микробиологических процессов в рубце коров или непосредственно после всасывания и поступления их в метаболический пул, оказали влияние на функциональную активность инсулярного аппарата поджелудочной железы. Учитывая тот факт, что количество кукурузного жмыха на рынке кормов в нашей стране с каждым годом возрастает, представляет научный и практический интерес дальнейшее более детальное исследование его в качестве кормовой добавки для жвачных животных.

Наряду с изменением функции инсулярного аппарата поджелудочной железы по стадиям лактации у коров наблюдались изменения в активности щитовидной железы, что сопровождалось изменением содержания в сыворотке крови концентрации тироксина (рис. 3.) и трийодтиронина (рис. 4). По-видимому, эти изменения тоже связаны с участием тиреоидных гормонов в формировании и развитии у животных лактационной доминанты и могут в определенной мере отражать интенсивность и направленность использования метаболитов в организме животных и, в первую очередь, на энергетические цели и на синтез компонентов молока. Результаты анализа показали, что в течение первых трех месяцев лактации существенно не изменялся базальный уровень тироксина, но увеличивалась его концентрация после приема корма (рис. 3). Так как щитовидная железа выделяет в кровь преимущественно тироксин, то можно полагать, что базальный уровень секреции тиреоидных гормонов не изменялся на этих стадиях лактации, но эндокринная функция железы возрастала в течение дня. На 110-й день лактации уровень тироксина в сыворотке крови коров после приема корма практически не изменялся.

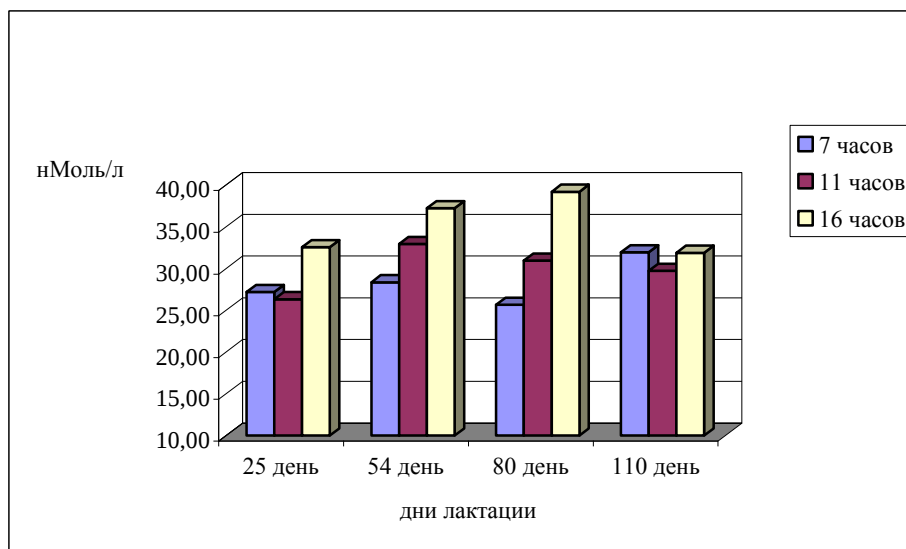


Рис. 3. Динамика концентрации тироксина в сыворотке крови коров, нМоль/л

Показано, что увеличение в крови лактирующих коров концентрации тироксина, за счет введения экзогенного гормона, вызывает усиление мобилизации субстратов из тканей организма и, соответственно, повышение молочной продуктивности и жирности молока. Полученные данные позволяют предположить, что при данных условиях питания, в целях обеспечения процессов метаболизма энергией, эндокринная система реагирует увеличением поступления в кровь тироксина, который усиливает использование субстратов на энергетические цели. Наряду с тироксином в крови животных присутствует трийодтиронин. Количество его значительно меньше, чем тироксина, но именно только он способен взаимодействовать с рецепторами в клетках «мишенях» и, соответственно, осуществлять в них биологические эффекты тиреоидных гормонов. Согласно полученным данным (рис. 4), наиболее высокое содержание трийодтиронина в сыворотке крови наблюдалось в первый месяц лактации, что, по-видимому, наряду с торможением функции инсулярного аппарата, являлось ведущим регуляторным фактором в обеспечении процессов биосинтеза компонентов молока за счет усиления мобилизации субстратов из тканей организма. На 54-й день лактации отмечено существенное снижение концентрации трийодтиронина в сыворотке крови коров.

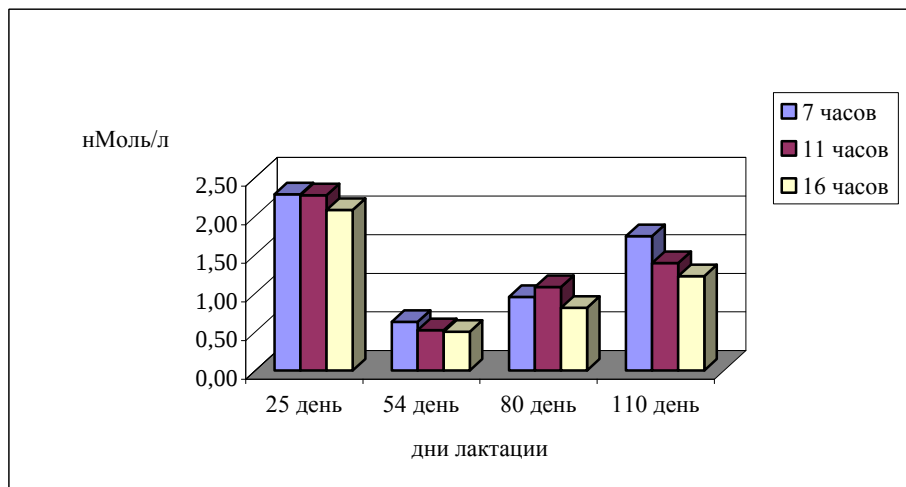


Рис. 4. Динамика концентрации трийодтиронина в сыворотке крови коров, нМоль/л

На основании этого и с учетом ранее указанного увеличения в этот период содержания инсулина можно полагать, что условия питания коров в этот период лактации не полностью отвечали физиологическим потребностям организма коров в период раздоя, так как в результате уменьшения концентрации трийодтиронина и увеличения содержания инсулина поток субстратов, поступающих в метаболический пул, должен быть в значительной мере направлен на использование в инсулинзависимых тканях и в меньшей мере – в секреторных клетках молочной железы для биосинтеза компонентов молока.

Заключение

Полученные данные подтверждают тот факт, что определение концентрации инсулина, тироксина и трийодтиронина в сыворотке крови коров до приема корма, через 3 часа после первого кормления и через два часа после второго целесообразно использовать в качестве дополнительного критерия физиологической адекватности уровня питания высокопродуктивных лактирующих животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дворецкая Т.Н. Гормональный статус у коров и выделение гормонов с молоком на разных стадиях лактации. Автореф. канд. дисс. Боровск, 2001: 21 с.
2. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биологич. спец. вузов. М.: Высш. Школа, 1980: 293 с.
3. Матвеев В.А. Особенности функционального состояния эндокринных желез у крупного рогатого скота в связи с возрастом и продуктивностью. Автореф. доктор. дисс. Дубровицы, 2001: 47 с.
4. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных: Справочное пособие. 3-е издание переработанное и дополненное. /Под ред. А.П.

- Калашникова, В.И.Фисинина, В.В.Щеглова, Н.И.Клейменова. Москва, 2003: 456 с.
5. Радченков В.П., Матвеев В.А., Аверин В.С., Бутров Е.В., Сапунова Е.Г., Сухих В.Ф. Определение потенциала функции инсулярного аппарата поджелудочной железы у молодняка крупного рогатого скота. Методические указания. – ВНИИФБиП, Боровск, 1986: 9с.
 6. Радченков В.П., Матвеев В.А. Методы анализа гормонов крови. Методы биохимического анализа (справочное пособие). Боровск, 1997: 165-200.
 7. Тараненко А. Г. Пролактин и лактация М., Агропромиздат, 1987: 128 с.
 8. Цюпко В.В. Физиологические основы питания молочного скота. К.: Урожай, 1984: 152 с.
 9. Horino M., Machlin L. J., Hertelendy F. and Kipnis D. M. Effect of Short-Chain Fatty Acids on Plasma Insulin in Ruminant and Nonruminant Species. Endocrinology. 1968, 83, 1: 118-128.
 10. Jimenez A.A. Effects of nutrition, management on milk yield updated. Feeds-tuffs, 1985, 57, 35: 8-9.
 11. Sutton J.D.; Hart I.C.; Broster W.H. Feeding frequency for lactating cows: effects on rumen fermentation and blood metabolites and hormones. Brit. J. Nutrit, 1986, 56, 1: 181-192.
 12. Sutton J.D.; Hart I.C.; Morant S.V. Feeding frequency for lactating cows: diurnal patterns of hormones and metabolites in peripheral blood in relation to milk-fat concentration. Brit. J. Nutrit, 1988, 60, 2: 265-274.
 13. Walsh D.S., Vesely L.A. Management S.J. Dairy Sci. 1980, 63, 2: 290-294.

ВЛИЯНИЕ СКАРМЛИВАНИЯ ПРЕПАРАТА ТРАНСГЕННОГО ШТАММА ЛАКТОБАЦИЛЛ, ПРОДУЦИРУЮЩИХ СОМАТОЛИБЕРИН, НА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН И ПРОДУКТИВНОСТЬ КОРОВ

В.Б. Решетов, З.Н. Макар, М.И. Сапунов, Г.Г. Черепанов

Скармливание трансгенного штамма лактобацилл, продуцирующих соматолиберин, оказало стимулирующее влияние на молокообразование; при этом возрасла мобилизация энергии из депо организма.

Введение

Достижения в области генной инженерии позволяют целенаправленно получать рекомбинантные штаммы бактерий, продуцирующих определенные биологически активные вещества, в том числе белковой природы. В частности, уже рекомендован для ветеринарной практики препарат на основе рекомбинантного штамма *B. subtilis*, продуцирующего α -2-интерферон (Рекомендации..., 1996). При пероральном применении этот препарат обеспечивает профилактический и лечебный эффект при желудочно-кишечных заболеваниях телят и поросят. Менее разработана проблема получения и использования в практике животноводства рекомбинантных штаммов, продуцирующих вещества-регуляторы метаболизма у высших животных, в частности

гормоны. К таким регуляторам относится соматолиберин.

В настоящее время созданы рекомбинантные штаммы лактобацилл, продуцирующих соматолиберин. Установленное в предварительных экспериментах положительное влияние применения с кормом препарата на основе такого штамма на рост кроликов (Тараканов и др., 2002) позволило поставить вопрос об испытании его и на крупном рогатом скоте. Положительный опыт парентерального введения лактирующим коровам рекомбинантного препарата соматотропного гормона (СТГ) пролонгированного действия уже имеется. При этом были выявлены некоторые физиологические механизмы, обеспечивающие повышение молочной продуктивности. В частности, отмечено усиление кровотока через молочную железу и мобилизации энергии из депо организма, с использованием ее для синтеза веществ молока (Макар и др., 1982; Решетов, 1998).

В данной работе представлены материалы опыта, проведенного в условиях производства с целью определения возможности повышения молочной продуктивности коров путем скармливания культуры рекомбинантного штамма *Lactobacillus* sp. 8 PA3 (pLF-SL2), продуцирующего соматолиберин. При этом была определена эффективная доза, условия и режим скармливания препарата. Доза была выбрана, основываясь на средней массе тела коров и дозе (в расчете на единицу массы тела), использованной ранее с положительным эффектом в экспериментах на кроликах разработчиком препарата – лабораторией биотехнологии микроорганизмов ВНИИФБиП с.-х. животных (Тараканов и др., 2002). Необходимое для опыта на коровах количество препарата было приготовлено в этой лаборатории.

Материал и методы

Для проведения опыта на центральной ферме ОПХ “Ермолино” были отобраны 24 коровы холмогорской породы, имевшие примесь крови голштинов. Животные соответствовали по фазе лактации и состоянию здоровья требованиям методики исследований. Содержание было стойловое, привязное, днем прогулка в загоне.

В начале предварительного периода коровы находились в среднем на 3-м месяце лактации. Исходя из результатов последней контрольной дойки, сразу было начато кормление коров по запланированному в методике принципу. Затем, с интервалом в неделю, провели 5-кратный учет молочной продуктивности. На основании показателей продуктивности по принципу парных аналогов были сформированы три группы коров: опытная, 1-я контрольная и 2-я контрольная (табл.1).

Таблица 1. Характеристика групп коров на начало предварительного периода

Группа	Лактация по счету	Месяц лактации на начало опыта
Опытная	3,6 ± 0,8	2,9 ± 0,2
1-я контрольная	4,5 ± 1,0	3,1 ± 0,2

2-я контрольная	2,8 ± 0,6	2,9 ± 0,2
-----------------	-----------	-----------

В опытном периоде все группы продолжали получать составленный по одному принципу рацион (дача зерновых концентратов с учетом суточного удоя, а других кормов – всем одинаковое количество). В рацион входили: злаковое сено, овсяная солома, размолотая зерносмесь (50 % ячменя и 50 % овса по массе), подсолнечный шрот, глютенный корм и патока (табл. 2). Зерносмесь давали из расчета – равное количество на голову плюс одинаковая добавка на литр надоев молока. По количеству сухого вещества зерносмесь и шрот с суммой составляли около 45% рациона. В среднем за период опыта содержание в рационе сухого вещества равнялось 15,0-15,5 кг/сут. В связи с дефицитом в хозяйстве грубых кормов не было возможности создать некоторый их избыток, чтобы потребление грубых кормов было вволю, а рационы не были ограничены по количеству сухого вещества.

Таблица 2. *Рацион подопытных коров*

Вид корма	Количество, кг	Сухое вещество, кг	Обменная энергия, МДж	Сырой протеин, г	Сырая клетчатка, г
Сено злаковое	2	1,66	12,6	164	542
Солома овсяная	4	3,32	21,5	156	1296
Зерносмесь	7	5,95	67,9	573	510
Патока кормовая	0,5	0,40	4,7	49	-
Шрот подсолнечный	1	0,90	10,6	320	144
Глютенный корм	5	3,00	45,0	690	300
Итого		15,23	162,3	1952	2792
<i>Содержалось в 1 кг сухого вещества рациона</i>			10,66 МДж	12,82 %	18,33 %

Учет остатков корма вели постоянно. Потребление кормов всеми коровами было практически полным. Количество остатков корма (только куски грубых стеблей) по массе было незначительным – не более 200 г/сут на корову.

В среднем рацион по содержанию обменной энергии (162 МДж) соответствовал потребностям коровы с живой массой 500 кг и удоем 20 кг при содержании 3,5-4,0 % жира (Нормы и рационы ..., 1986, 1995). При традиционной ориентировочной оценке энергетической питательности рациона в овсяных кормовых единицах (Нормы и рационы..., 1969) получается цифра около 15 к.е., что также свидетельствует о достаточности кормов данного рациона для получения удоя 20 кг. Основываясь на этих расчетах, приблизительно начиная с удоя 20-22 кг, можно было ожидать мобилизации энергии из тканей тела. Энергетическая ценность 20-22 кг молока с жирностью 4 % близка к 63-69 МДж. Появление значительной мобилизации энергии из депо при удое выше этого уровня можно видеть по показателям таблицы 5, при составлении которой применили разделение коров внутри групп на классы с определенным шагом энергии суточного удоя.

Коровы прошли естественный пик лактации еще до начала опыта, получая хозяйственный рацион. Однако с началом опыта, в связи с повышением уровня кормления, удалось сохранить достаточно высокий уровень продуктивности всех коров, а у части животных в течение опыта даже его повысить.

Опыт длился с 10 февраля по 28 мая. В основном периоде опыта коровам опытной группы в течение двух месяцев один раз в сутки в смеси с комбикормом скармливали препарат (жидкую культуру) продуцирующего соматолиберин рекомбинантного штамма *Lactobacillus* sp. 8 PA3 (pLF-SL2) в дозе 26 млрд к.о.е. Коровам 1-й контрольной группы в той же дозе скармливали препарат исходного штамма *Lactobacillus* sp. Вторая контрольная группа получала только основной рацион.

Приведенный в следующем разделе статьи анализ полученных материалов основан на сравнении показателей, определяемых в двух временных точках: в конце предварительного периода и через три недели от начала основного периода опыта. В расчетах использовали данные по всем коровам, взятым в опыт, независимо от их состояния на момент учета.

Состояние энергетического обмена оценивали по обменной энергии, содержащейся в потребленных кормах, и энергии удоя. Ожидаемую направленность баланса энергии (положительный или отрицательный) проверяли по изменениям массы тела и упитанности коров. Последнюю оценивали как тощую, нижесреднюю или среднюю. Коров высшей упитанности в опыте не было. Для количественного анализа этим трем степеням упитанности приравнивали оценку в баллах – 1, 2 и 3 соответственно.

Результаты и обсуждение

Динамика живой массы, упитанности, суточного удоя, индекса удоя (суточный удой в расчете на 100 кг живой массы) и энергии удоя для всех коров в сумме и по группам в отдельности представлена в таблицах 3 и 4. Средняя живая масса всех коров ($n = 24$) от конца предварительного к опытному периоду за три недели фактически не изменилась, равняясь 496 ± 9 и 494 ± 11 кг соответственно. Средняя упитанность животных при этом недостоверно уменьшилась на 0,04 балла (с 2,25 до 2,21). По группам живая масса коров и их упитанность изменялись различно. У коров опытной группы живая масса снизилась в среднем на 23,9 кг, а упитанность на 0,13 балла. У коров 1-й и 2-й контрольных групп, напротив, имел место небольшой прирост средней живой массы при сохранении упитанности у 1-й контрольной группы и повышении ее у животных 2-й контрольной группы в среднем на 0,13 балла. При этом имела место отрицательная корреляция изменений живой массы в среднем по группам с уровнем НЭЖК в крови. Более высокий уровень НЭЖК был у коров опытной группы, что является дополнительным подтверждением большей мобилизации энергосодержащих метаболитов из жировой ткани. Эти метаболиты могли быть использованы как в качестве субстратов для окисления (источник энергии), так и в качестве предшественников при биосинтезе веществ молока.

В опытном периоде средний удой в виде натурального молока (л/сут) по всем группам на момент регистрации был ниже, чем в предварительном периоде. Учитывая, что на интенсивность энергетического обмена влияет не физический объем удоя, а содержание в суточном удое органических веществ, а, точнее энергии, величину удоя в таблицах 3 и 4 представили также в виде валовой энергии суточного удоя (МДж/сут). При выражении молочной продуктивности в виде энергии суточного удоя изменение ее от предварительного к опытному периоду по группам носит иной характер, чем при выражении удоя просто в литрах. Соответственно по группам (опытная, 1-я контрольная и 2-я контрольная) энергия удоя изменилась следующим образом: -2,4, -9,0 и -5,1 МДж/сут, т.е. минимальное снижение энергии удоя в среднем по группе было у животных опытной группы. При выражении продуктивности в литрах натурального молока динамика продуктивности по группам имела иную приоритетность: -2,2, -2,5 и -1,7 л/сут, т.е. минимальное снижение удоя, выраженного в литрах натурального молока, было у 2-й контрольной группы. Разница обусловлена

Таблица 3. Зоотехнические и биохимические показатели коров по периодам опыта

Показатель/ Величина	Живая масса, кг	Упитанность, баллы	Удой, л/сут	Индекс удоя, л/100 кг массы тела	Энергия удоя, МДж/сут	Уровень НЭЖК в крови, мг%
Все находившиеся в опыте коровы в сумме (n = 24)						
Предварительный период						
M ± m	496,1 ± 9,2	2,25 ± 0,12	22,3 ± 1,2	4,56 ± 0,26	70,0 ± 3,9	4,96 ± 0,12
Опытный период						
M ± m	494,5 ± 11,0	22,1 ± 0,13	20,4 ± 1,0	4,19 ± 0,24	65,0 ± 3,4	5,17 ± 0,14
Коровы опытной группы (n = 8)						
Предварительный период						
M ± m	513,2 ± 11,8	2,25 ± 0,25	22,1 ± 2,4	4,34 ± 0,49	69,1 ± 7,1	5,04 ± 0,2
Опытный период						
M ± m	489,3 ± 17,3	2,12 ± 0,30	19,9 ± 2,0	4,22 ± 0,35	66,7 ± 6,1	5,33 ± 0,30
Коровы первой контрольной группы (n = 8)						
Предварительный период						
M ± m	414,1 ± 16,4	2,25 ± 0,25	21,6 ± 2,4	4,27 ± 0,50	69,1 ± 7,1	4,80 ± 0,22
Опытный период						
M ± m	529,7 ± 22,7	2,25 ± 0,25	19,1 ± 2,0	3,70 ± 0,46	60,1 ± 6,2	4,94 ± 0,22
Коровы второй контрольной группы (n = 8)						
Предварительный период						
M ± m	461,1 ± 12,5	2,25 ± 0,16	23,2 ± 1,6	5,07 ± 0,38	73,5 ± 6,6	5,06 ± 0,17
Опытный период						
M ± m	464,9 ± 9,0	2,38 ± 0,21	21,5 ± 1,7	4,65 ± 0,38	68,4 ± 5,5	5,02 ± 0,22

изменениями в составе молока. У коров 1-й и 2-й контрольных групп в опытном периоде средняя по группе жирность молока уменьшилась, а у опытной осталась без изменений. Среднее содержание белка в молоке в опытном периоде повысилось у коров всех групп, но особенно у опытной (табл. 4).

Таблица 4. Динамика продуктивности и энергетический статус лактирующих коров в середине лактации (абсолютная разница между показателями в предварительном и опытном периодах, в расчете на голову/сут)

Живая масса, кг	Упитанность в баллах	Удой, л/сут	Индекс удоя, (л/100 кг массы тела)	Энергия удоя, МДж/сут	Молоко		НЭЖК в крови, мг%
					жир, %	белок, %	
Все коровы в сумме (n = 24)							
-1,6	-0,04	-1,9	-0,37	-6,0	-0,06	+0,16	+0,21
Коровы опытной группы (n = 8)							
-23,9	-0,13	-2,2	-0,12	-2,4	0,00	+0,19	+0,29
Коровы первой контрольной группы (n = 8)							
+15,6	0,00	-2,5	-0,57	-9,0	-0,25	+0,15	+0,14
Коровы второй контрольной группы (n = 8)							
+3,8	+0,13	-1,7	-0,42	-5,1	-0,03	+0,17	-0,04

Подтверждают сделанный вывод о поддерживающем уровне лактации влиянии рекомбинантного штамма, образующего соматолиберин, материалы таблицы 5. В таблице представлены данные об индивидуальной реакции коров на скормливание препарата данного штамма. Анализ велся с учетом величины энергии удоя (разбивка на классы). В опытной группе повышение энергии удоя от предварительного к опытному периоду отмечено у 5 голов из 6, а снижение – у 3. В 1-й контрольной группе повышение энергии удоя имело место у 2-х коров из 8, а во 2-й контрольной – у 4. С повышением энергии удоя коровы приобретали устойчивую отрицательную динамику продуктивности. У коров опытной группы отрицательная динамика проявилась при более высоком уровне энергии удоя, чем у контрольных групп, что позволяет предполагать наличие у препарата рекомбинантного штамма стимулирующего молочную продуктивность действия. Граница перехода к устойчиво отрицательной динамике энергии удоя у коров опытной группы близка к прогнозирувавшейся в разделе «Материал и методы».

Необходимо отметить, что устойчивая тенденция к более высокой молочной продуктивности (выраженной в литрах) у животных 2-й контрольной группы по сравнению с опытной и 1-й контрольной группами, по-видимому, в значительной мере связана с меньшими затратами энергии у коров этой группы на поддержание, примерно на 0,5 к.е., так как средняя живая масса у коров этой группы была приблизи-

Таблица 5. Индивидуальная реакция коров на скармливание культуры рекомбинантного штамма лактобацилл с геном соматолиберина в зависимости от энергии суточного удоя в предварительном периоде (Изменение энергии суточного удоя от предварительного к опытному периоду, МДж/сут)

Границы класса по энергии удоя, МДж/сут	n	Прирост			Снижение			Без сдвига			Средняя разница в энергии суточного удоя по классу, МДж/сут			
		n			n			n						
		ОГ	K1	K2	ОГ	K1	K2	ОГ	K1	K2	ОГ	K1	K2	М
31 – 40	2	1	-	-	-	1	-	-	-	-	+2,6	-9,4	-	-3,4
41 – 50	2	1	-	1	-	-	-	-	-	-	+1,5	-	+9,5	+5,5
51 – 60	2	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-1,2	-11,4	-6,3
61 – 70	6	1	2	1	-	1	1	-	-	-	+6,8	+4,0	-4,4	+1,7
71 – 80	6	2	-	2	1	-	-	-	1	-	-1,1	0,0	+5,8	+1,4
81 – 90	2	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-10,4	-37,8	-	-24,1
91 – 100	4	-	-	-	1	1	2	-	-	-	-20,8	-35,5	-20,8	-24,5
Итого	24	5	2	4	3	5	4	-	1	-				

Примечание: ОГ – опытная группа; K1 - первая контрольная группа; K2 - вторая контрольная группа, М – все коровы вместе.

Таблица 6. *Коррелятивные зависимости между показателями продуктивного статуса коров*

Оцениваемая связь	Группы	Предварительный период	Опытный период
Масса тела (кг) – упитанность (баллы)	Опытная	- 0,46	+ 0,27
	1-я контрольная	- 0,19	- 0,12
	2-я контрольная	+ 0,50	- 0,10
Удой (л/сут) - индекс удоя	Опытная	+ 0,98**	+ 0,93**
	1-я контрольная	+ 0,97**	+ 0,94**
	2-я контрольная	+ 0,94**	+ 0,98**
Масса тела (кг) – удой (л/сут)	Опытная	- 0,17	- 0,26
	1-я контрольная	- 0,38	- 0,50
	2-я контрольная	- 0,08	- 0,13
Масса тела (кг) – индекс удоя	Опытная	- 0,37	- 0,12
	1-я контрольная	- 0,58	- 0,74*
	2-я контрольная	- 0,71*	- 0,34
Масса тела (кг) – энергия удоя (МДж/сут)	Опытная	- 0,10	- 0,50
	1-я контрольная	- 0,38	- 0,45
	2-я контрольная	+ 0,27	+ 0,18
Энергия удоя (МДж/сут) – упи- танность (баллы)	Опытная	- 0,48	- 0,72*
	1-я контрольная	- 0,37	- 0,78*
	2-я контрольная	- 0,55	- 0,68*

Примечание. Уровень значимости коэффициента корреляции: * - 5 %; ** - 1 %.

тельно на 50 кг меньше. В соответствии с традиционными нормами кормления, 0,5 к.е. достаточны для образования дополнительно 1 л молока.

Генетический потенциал продуктивности у коров всех групп явно не был реализован. Кормление же было ограниченным, так как при более высокой продуктивности на литр молока добавляли количество концентратов, не покрывавшее дополнительные затраты энергии на его образование.

Для выявления особенностей групп, сформированных только по принципу аналогии молочной продуктивности в предварительном периоде, проанализировали коррелятивные связи между парами основных показателей (табл. 6). Наиболее яркие и рационально объяснимые сдвиги в величине коэффициента корреляции и знака при нем (+ или -) от предварительного к опытному периоду имели место в следующих далее перечисленных случаях: 1) разнонаправленность сдвигов коэффициента корреляции для пары “*масса тела – упитанность*” у опытной группы – от отрицательного к слабо положительному, и у 2-й контрольной – к отрицательному, очень вероятно, обусловлена действием испытываемого препарата, который стимулировал продуктивность коров с меньшим удоем; 2) в обоих периодах высокодостоверной была положительная корреляция у пары “*удой – индекс удоя*”. Предполагаемое объяснение, связанное с положительной зависимостью затрат энергии на поддержание от живой массы коров, уже давалось выше; 3) этим же, предположительно, объясняется отрицательная корреляция у пары “*масса тела – удой*” и “*масса тела – индекс удоя*”, которая в пяти случаях из шести недостоверно выросла в опытном периоде; 4) недостоверная, но постоянно слабо положительная корреляция пары “*масса тела – энергия удоя*” у 2-й контрольной группы, в отличие от постоянно отрицательной корреляции у двух других групп, по-видимому, связана с меньшей затратой энергии на поддержание у коров с несколько меньшей массой тела; 5) у коров всех групп отмечено возрастание отрицательной корреляции до достоверно отрицательной у пары “*энергия удоя – упитанность*”, по-видимому, в связи с потерей упитанности наиболее продуктивными коровами.

Для обсуждения и сравнения величины положительного влияния на молочную продуктивность испытываемого препарата рекомбинантного штамма лактобацилл, продуцирующего соматолиберин, с величиной и механизмами аналогичного эффекта от инъекционной формы пролонгированного препарата соматотропного гормона (СТГ), рассмотрим материалы исследований прошлых лет. Опыт с соматотропином был проведен на двух группах коров – парных аналогов, близких по живой массе и молочной продуктивности. Начало опыта пришлось на 4-й месяц лактации. Пять коров служили контролем (контрольная

группа). В опытной группе было шесть коров. Кормили коров по действующим нормам в соответствии с фактической продуктивностью, варьируя только дачу концентратов. Содержание обеих групп было стойловым, привязным. Животным опытной группы четырежды с интервалом в 28 дней инъектировали подкожно рекомбинантный соматотропин крупного рогатого скота фирмы "Эли-Лилли" (США) в дозе 640 мг. Среднесуточный удой у коров опытной и контрольной групп на начало опыта равнялся соответственно $19,0 \pm 2,0$ и $19,5 \pm 3,6$ л. Далее у коров контрольной группы по четырем 28-дневным периодам, отсчитываемым от момента очередной инъекции гормона коровам опытной группы, шло закономерное снижение удоев соответственно на 1,6, 2,8, 0,9 и 1,5 л/сут по сравнению с предшествующим периодом. Это естественный процесс, поскольку пик лактации уже был пройден. В результате удой коров контрольной группы к концу опыта снизился до $12,7 \pm 1,8$ л/сут. У коров опытной группы также происходило снижение удоев. По сравнению с предшествующим периодом снижение происходило соответственно на 0,4, 3,4, 0,1 и 0,2 л, т.е. в среднем существенно медленнее, чем у коров контрольной группы, поэтому в среднем удой коров опытной группы в конце опыта был на 3,0 л выше.

В рамках эксперимента одновременно на 3 коровах из каждой группы были проведены обменные (балансовые) опыты в комплексе с респирационными исследованиями (табл. 7). Респирационные исследования выполнены масочным методом по Дугласу-Холдену. На каждой корове за сутки проводили по три повторных измерения характеристик газообмена через три часа после каждого кормления. Калорийность кормов, кала, мочи и молока определяли с помощью адиабатического калориметра.

Таблица 7. *Обмен энергии у лактирующих коров при введении СТГ, МДж/сут*

Показатели	Группы	
	опытная	контрольная
Валовая энергия корма	$330,6 \pm 16,3$	$352,5 \pm 20,9$
Переваренная энергия	$246,7 \pm 13,4$	$259,0 \pm 13,0$
Переваримость энергии, %	$74,6 \pm 0,6$	$73,5 \pm 0,5$
Энергия мочи	$9,2 \pm 1,3$	$9,2 \pm 0,8$
Обменная энергия корма	$203,5 \pm 11,3$	$213,0 \pm 11,3$
Теплопродукция	$68,2 \pm 2,5$	$79,5 \pm 5,9$
Энергия молока	$62,4 \pm 6,7$	$55,7 \pm 7,1$
Баланс энергии	$72,8 \pm 5,0$	$77,8 \pm 9,2$
Доля энергии молока от обменной энергии корма, %	30,6	26,1

В рацион коров обеих групп во время обменного опыта входили 2 кг травяных гранул, 70 кг свежескошенной злако-бобовой травосмеси и комбикорм. Коровы контрольной группы получали комбикорм по $4,4 \pm 1,1$ кг/сут (206 ± 25 г/л молока), а коровы опытной группы по $5,9 \pm 1,0$ (288 ± 24 г/л). Рационы обеих групп были несколько избыточными. У коров опытной группы потребление валовой энергии корма было недостоверно ниже, чем в контроле примерно на 22 МДж/сут. Переваримость энергии рациона у коров опытной группы, напротив, была недостоверно выше, чем в контроле в среднем на 1,1 %. Относительная (к переваренной энергии) величина потерь энергии с мочой у животных контрольной группы была несущественно ниже (3,6 % против 3,7 %). Теплопродукция у коров контрольной группы на 11,3 МДж/сут была выше, чем у коров опытной группы. Энергия суточного удоя у коров опытной группы была недостоверно выше – в среднем на 6,7 МДж. Доля энергии молока от обменной энергии потребленных кормов у коров опытной группы равнялась 30,6%, а у коров контрольной группы – 26,1%.

В связи с избыточностью потребления энергии с кормом, по сравнению с затратами на биосинтез молока, у коров обеих групп во время обменного опыта имело место существенное резервирование энергии в теле. Его величина была на 5,0 МДж/сут больше у коров контрольной группы. В связи с этим в конце эксперимента средняя масса тела у коров этой группы была на 16 кг больше.

Как следует из приведенных данных, при инъекциях пролонгированного препарата СТГ у коров имело место повышение молочной продуктивности, несмотря на несколько меньшее потребление энергии с кормом. Обоснованность этого вывода подтверждается несколькими независимыми сдвигами в обмене энергии. В частности, у коров опытной группы при меньшем потреблении энергии с кормом энергия суточного удоя была выше, а теплообразование ниже, чем в контроле. У коров контрольной группы больше энергии пошло на отложение в теле и теплообразование. Одним из установленных физиологических механизмов, способствующих при введении СТГ увеличению биосинтеза веществ молока, считается усиление кровотока через молочную железу. В результате за счет других тканей к молочной железе поступает больше метаболитов – предшественников веществ молока.

Заключение

Исследования проведены с целью определения возможности повышения молочной продуктивности коров путем скармливания культуры рекомбинантного штамма *Lactobacillus* sp. 8 PA3 (pLF-SL2), продуцирующего соматолиберин. Влияние препарата на продуктив-

ность и энергетический статус коров проявилось в том, что за три недели опытного периода коровы опытной группы меньше, чем коровы контрольных групп, снизили энергию суточного удоя – на 2,4, 9,0 и 5,1 МДж/сут соответственно. Часть коров всех групп, в связи с более интенсивным кормлением в предварительный период опыта, по сравнению с кормлением до начала опыта, повысила удой. Наибольшее количество таких коров было в опытной группе (5 голов из 8). Это были животные с меньшей энергией удоя (до 80 МДж/сут), сохранившие, по-видимому, жировые депо тела. Животные с более высокой энергией удоя снижали молочную продуктивность.

Соответственно меньшему снижению энергии удоя у коров опытной группы их живая масса и упитанность снизились (на 23,9 кг и 0,13 балла), очевидно, вследствие продолжающейся мобилизации резервов. У коров 1-й и 2-й контрольной групп живая масса, напротив, начала повышаться (на 15,5 и 3,8 кг соответственно). При этом упитанность коров 2-й контрольной группы повысилась на 0,13 балла. О более интенсивной мобилизации высших жирных кислот из депо у коров опытной группы свидетельствует более высокий уровень НЭЖК у них в крови.

Установленные различия между группами, при кажущейся аномальности “поведения” в некоторых отношениях животных 2-й контрольной группы, по-видимому, в основном обусловлены влиянием трех факторов: 1) действием препарата рекомбинантного штамма, стимулирующего продуктивность коров с меньшим удоєм; 2) наличием потолка кормления; 3) существенной (на фоне имевших место сдвигов продуктивности под действием препарата) разницей в затратах энергии на поддержание (около 0,5 к.е.) в связи с различием в средней живой массе тела коров разных групп.

Физиологический механизм повышения (поддержания) молочной продуктивности коров при скармливании препарата штамма, продуцирующего соматолиберин, видится таким же, как и при парентеральном введении СТГ – это стимуляция молокообразования за счет мобилизации энергии из депо организма (или уменьшения накопления энергии в теле) и гомеостетических сдвигов в пользу молочной железы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вельков В.В. Оценка риска интродукции генетически модифицированных микроорганизмов в окружающую среду. 2001, Пушино-на-Оке, ИБиФМ им. Г.К. Скрыбина.
2. Макар З.Н. и др. Влияние рекомбинантного соматотропина на кровоснабжение вымени и молочную продуктивность коров. Бюллетень ВНИИФиБ. Боровс, 1982, 2-3: 83-90.
3. Нормы и рационы кормления с.-х. животных. Под редакцией М.Ф. Томме. М.: Колос, 1969.

4. Нормы и рационы кормления с.-х. животных. Справочное пособие. Под редакцией А.П. Калашникова и Н. И. Клейменова. М.: Агропромиздат, 1986.
5. Нормы и рационы кормления с.-х. животных. Справочное пособие. Под редакцией А.П. Калашникова и Н. И. Клейменова. М.: Знание, 1995.
6. Рекомендации по применению препарата Ветом 1.1 в ветеринарной практике. Свердловск, 1996.
7. Решетов В.Б. Энергетический обмен у коров в связи с физиологическим состоянием и условиями питания. Дисс. ... докт. биол. наук. Боровск, 1998.
8. Тараканов Б.В., Эрнст Л.К. Перспективы создания новых пробиотиков на основе рекомбинантных штаммов бактерий, экспрессирующих эукариотические гены. М.: РАСХН, 2002.
9. Федеральный закон от 5 июля 1996 года № 8-ФЗ. "О государственном регулировании генно-инженерной деятельности" (с изменениями от 12 июля 2000 г.).

ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ИНСУЛЯРНОГО АППАРАТА, ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ И ПОКАЗАТЕЛИ МЯСНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ У БЫЧКОВ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ МОЧЕВИНЫ И ПРОПИЛЕНГЛИКОЛЯ В СОСТАВЕ КОМПЛЕКСНОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ

А.А.Фомин, В.А.Матвеев

Лаборатория эндокринной регуляции обмена веществ и продуктивности

Совместное использование в составе комплексной кормовой добавки мочевины и пропиленгликоля, как предшественника синтеза глюкозы в печени, при замене ими подсолнечного шрота, позволило адекватно обеспечить потребности организма животных питательными веществами и энергией и получить 1175 г среднесуточного прироста живой массы.

Введение

Известно, что инсулин участвует в регуляции метаболизма углеводов, липидов и белков и играет ключевую роль в контроле роста у животных (Basset, 1978; Weekes, 1986; Шамберев, 1997). На уровне инсулина происходит постоянное взаимодействие механизмов кратковременного гомеостатического контроля с системой гомеостатического управления обменом веществ, которая регулирует распределение метаболитов для обеспечения основных физиологических функций в организме животных. Логично полагать, что регуляция синтеза и инкреции инсулина бета-клетками инсулярного аппарата поджелудочной железы,

в свою очередь, зависит от факторов питания. Показано, что после кормления у жвачных животных, как и моногастричных, увеличивается содержание инсулина в плазме крови. Установлена связь между концентрацией инсулина в плазме крови животного и уровнем кормления жвачных животных (Basset, 1974; Trenkle, 1978). Однако, механизм, контролирующий интенсивность секреции инсулина, не ясен. В научном мире продолжается дискуссия по поводу возможного участия тех или иных метаболитов в регуляции секреции инсулина.

Ранее проведенные в лаборатории исследования показали наличие достоверной положительной зависимости между уровнем сырого протеина в рационе бычков и интенсивностью реакции инсулярного аппарата на прием корма (Матвеев, 2001). В частности установили, что замена в рационе бычков части кормового протеина диаммонийфосфатом существенно снижает у них концентрацию инсулина в сыворотке крови после приема корма (Коровяцкий и др., 2004). В тоже время показано, что у коров в период раздоя можно повысить концентрацию в крови инсулина и глюкозы за счет скармливания им пропиленгликоля (Grummer et al., 1994; Christensen et al., 1997). Возникло предположение, что с помощью пропиленгликоля можно уменьшить ингибирующее влияние синтетических источников азота на функциональную активность инсулярного аппарата при интенсивном дорастивании и откорме бычков.

В связи с этим, в целях изучения роли алиментарных факторов в физиологических механизмах регуляции функции инсулярного аппарата поджелудочной железы у жвачных животных, исследовали концентрацию инсулина и тиреоидных гормонов в сыворотке крови бычков при использовании комплексной кормовой добавки, в состав которой входили мочевины и пропиленгликоль.

Материал и методы

Для решения поставленных задач в виварии института провели опыт методом групп на десяти 12-месячных бычках холмогорской породы. Содержание животных привязное, кормление индивидуальное, 2-разовое. Ежедневно учитывали потребление корма. Для оценки интенсивности роста взвешивали животных ежемесячно до утреннего кормления в течение двух смежных дней.

В предварительный период опыта в течение двух месяцев животные были приучены к максимальному потреблению сена и силоса, а интенсивность их роста достигала более 1000 г среднесуточного прироста живой массы. По результатам взвешивания их распределили в две группы по 5 голов в каждой. Живая масса бычков 1-й и 2-й групп составила соответственно 286 ± 8 и 287 ± 6 кг.

Рацион для бычков был составлен в соответствии с нормами для интенсивного выращивания и откорма молодняка крупного рогатого скота (Нормы и рационы..., 2003). В его состав входили: сено злаковое 2,4 кг, сенаж злаковый 8,0 кг, меласса из свеклы 0,5 кг и 4,0 кг комбикорма, количество которого соответствовало 50-55% обменной энергии рациона. Комбикорм состоял из компонентов: 52,5% ячменя, 15% пшеницы, 15% отрубей пшеничных, 14,5% подсолнечного шрота, 0,8% поваренной соли, 1,2% известняковой муки и 1,0% премикса.

Животные 1-й (контрольной) группы получали дополнительно к комбикорму 500 г подсолнечного шрота, а бычки 2-й (опытной) группы - 300 г комплексной кормовой добавки, состоящей из 180 г жмыха из кукурузных зародышей, 30 г мочевины гранулированной, 30 г пропиленгликоля, 15 г серы элементарной и 45 г отрубей пшеничных (табл. 1). Продолжительность опыта – два месяца.

В течение эксперимента провели балансовый опыт, взяли пробы крови для анализа через 21 и 51 день после начала применения ККД, а в конце опыта провели убой животных с последующей обвалкой полутош и отбором проб мышечной ткани для биохимических и морфологических исследований.

Для оценки функционального состояния щитовидной железы и инсулярного аппарата поджелудочной железы определяли в сыворотке крови иммуноферментным способом (Радченков и др., 1997) базальную (до утреннего кормления) концентрацию тироксина, трийодтиронина и инсулина и их содержание через 1 и 3 часа после приема корма. В пробах цельной крови определяли концентрацию глюкозы глюкозо-оксидазным методом (Радченков и др., 1986). Математическую обработку полученных данных проводили стандартными методами (Лакин, 1980).

В условиях данного опыта изучали также показатели рубцовой ферментации и эффективности источника азота на биосинтез мышечного белка.

Результаты и обсуждение

Введение кормовой добавки взамен подсолнечного шрота не повлияло на потребление корма животными опытной группы. Согласно результатам балансового опыта бычки контрольной и опытной групп потребляли практически одинаковое количество энергии с кормом ($142,8 \pm 4,0$ и $142,0 \pm 2,92$ МДж), с одинаковой эффективностью переваривали ее и соответственно, уровень обменной энергии составил в 1-й и 2-й группах $66,7 \pm 2,7$ и $65,8 \pm 2,8$ МДж/сутки. Следовательно, эксперимент был проведен в условиях изокалорийного питания.

В 500 г подсолнечного шрота содержалось 27,45 г азота, а в 300 г ККД – 19,77 г азота, в том числе 13,89 г азота мочевины. Бычки кон-

трольной группы потребляли с кормом в сутки $143,0 \pm 3,4$ г азота, а опытной – $136,5 \pm 2,0$ г, что на 4,5% меньше. Следовательно, азот мочевины составил 10,2% от азота, потребленного за сутки бычками опытной группы.

Результаты взвешивания животных показали, что за 2-месячный период опыта среднесуточный прирост живой массы бычков в контрольной и опытной группах составил 1172 ± 60 и 1175 ± 66 г, а живая масса животных в возрасте 14 месяцев достигла $362 \pm 9,7$ и $363 \pm 6,1$ кг. Эти данные свидетельствуют о том, что рационы животных обеих групп были сбалансированы по основным питательным веществам, что обеспечило высокую эффективность их использования на прирост. Следовательно, скармливание бычкам синтетического источника азота (карбамида) в составе комплексной кормовой добавки обеспечило потребности животных в азоте, несмотря на более низкий его уровень в рационе.

Эти результаты согласуются с данными сотрудников лабораторий пищеварения и белково-аминокислотного питания, которые в этом опыте установили, что не было различий между группами животных по показателям рубцовой ферментации, микробиологической активности, переваримости питательных веществ, эффективности использования азота на биосинтез мышечных белков.

Увеличение живой массы связано с изменением массы целого ряда органов и тканей и, в том числе, с увеличением массы мышечной, жировой и костной тканей. От их соотношения в составе туши зависит качество получаемой говядины. В целях характеристики показателей мясной продуктивности в конце опыта провели убой животных с последующим анализом состава туши. Результаты исследований показали (табл. 1), что масса туши и количество мякоти в ней было больше на 3,0 и 4,0 % соответственно, а количество костей и внутреннего жира на 3,4

Таблица 1. Результаты контрольного убоя бычков при применении комплексной кормовой добавки

Показатели	Группы		% к контролю
	контрольная	опытная	
Масса туши, кг	$191,2 \pm 2,6$	$196,9 \pm 2,61$	103,0
Убойный выход, %	$53,99 \pm 0,9$	$54,23 \pm 0,48$	100,4
Количество мякоти в туше, кг	$137,7 \pm 1,1$	$144,1 \pm 2,87$	104,6
Количество мякоти в туше, %	$75,4 \pm 0,5$	$77,0 \pm 0,76$	102,0
Количество костей в туше, кг	$44,6 \pm 1,3$	$43,1 \pm 1,03$	96,6
Количество костей в туше, %	$24,4 \pm 0,6$	$23,0 \pm 0,76$	94,3
Отношение мяса/кости	$3,09 \pm 0,1$	$3,36 \pm 0,14$	108,6
Количество внутреннего жира в туше, кг	$10,3 \pm 0,9$	$9,7 \pm 0,76$	94,2
Количество внутреннего жира в туше, %	$5,41 \pm 0,5$	$4,93 \pm 0,3$	91,1

и 5,8% меньше. В результате этого у них было выше на 8,6% отношение мякоти к костям. Эти данные свидетельствуют о лучшем качестве говядины, полученной от животных опытной группы, и подтверждают целесообразность применения комплексной кормовой добавки в рационах бычков при их интенсивном доращивании и откорме.

В качестве одной из предпосылок включения в состав комплексной кормовой добавки пропиленгликоля явились результаты зарубежных исследований о положительном влиянии его на метаболизм углеводов у коров в период раздоя. Пропиленгликоль после всасывания из желудочно-кишечного тракта поступает в клетки печени, где может использоваться для образования глюкозы (Grummer et al., 1994).

Результаты исследований показали, что через 21 день после начала скармливания комплексной кормовой добавки в крови бычков опытной группы по сравнению с контролем был достоверно ниже (на 7,0%) базальный уровень глюкозы (табл. 2). В дальнейшем, через 1 и 3 часа после приема корма, сохранилась тенденция к более низкому содержанию глюкозы в крови животных опытной группы по сравнению с контролем (табл. 2).

Таблица 2. Концентрация глюкозы в крови бычков при применении ККД, мг%

Группа	Показатели	Время после приема корма, часы		
		0	1	3
Через 21 день после начала применения ККД				
Контрольная	М ± м	58,56±1,52	57,44±0,49	57,69±0,99
Опытная	М ± м	54,47±0,77	53,87±1,99	55,52±2,08
	% к контрол.	93,0 *	93,8%	96,2%
Через 51 день после начала применения ККД				
Контрольная	М ± м	58,38±0,70	58,83±2,39	56,93±1,59
Опытная	М ± м	54,15±1,08	53,99±1,52	51,85±1,85
	% к контрол.	92,8 *	91,8%	91,1%

Примечание: здесь и далее - * P≤0,05; ** P≤0,01; *** P≤0,001.

При длительном применении комплексной кормовой добавки (51 день) в основном сохранилась картина по содержанию глюкозы в крови бычков. Следовательно, при замене в рационе бычков подсолнечного шрота кормовой добавкой не удалось сохранить на том же уровне обеспеченность организма животных глюкозой, несмотря на изокалорийность рационов.

Установили, что через 21 день после начала скармливания кормовой добавки в сыворотке крови бычков опытной группы был достоверно ниже (на 35,1%) базальный уровень инсулина (табл. 3). После приема корма у животных обеих групп наблюдалась типичная реакция

инсулярного аппарата поджелудочной железы на прием корма, которая характеризовалась увеличением в сыворотке крови концентрации инсулина.

При этом на фоне более низкого базального уровня инсулина у бычков опытной группы интенсивность увеличения содержания гормона была выше. В результате этого у них через 1 и 3 часа после приема корма наблюдалась тенденция к более высокому содержанию инсулина в сыворотке крови (табл. 3).

Функциональную активность инсулярного аппарата оценивают по величине изменения концентрации инсулина после приема корма. Для этого рассчитывают отношение концентрации инсулина через 1 час после приема корма к базальному уровню. Так в среднем по контрольной группе оно составило 120%, а по опытной 190%. ($P \leq 0,001$). Следовательно, функциональная активность инсулярного аппарата у бычков опытной группы была достоверно выше, чем в контроле.

Таблица 3. Концентрация инсулина в сыворотке крови бычков при применении ККД, мкед/мл

Группа	Показатели	Время после приема корма, часы		
		0	1	3
Через 21 день после начала применения ККД				
Контрольная	М ± м	13,66±0,60	16,50±1,14	11,89±1,74
Опытная	М ± м	8,87±0,54	17,23±0,64	13,44±0,56
	% к контролю	64,9 ***	104,4	113,0
Через 51 день после начала применения ККД				
Контрольная	М ± м	10,28±0,67	15,64±1,38	12,97±1,07
Опытная	М ± м	7,93±0,94	13,65±2,62	8,79±1,83
	% к контролю	77,2	87,3	67,7

При длительном применении комплексной кормовой добавки (51 день) в основном сохранилась картина по содержанию инсулина в крови бычков. Во все периоды времени наблюдалась тенденция к более низкому содержанию инсулина в сыворотке крови бычков опытной группы (табл. 3). Отношение концентрации инсулина через 1 час после приема корма к базальному уровню в среднем по контрольной группе составило 152%, а по опытной - 172%, то есть, и после длительного применения кормовой добавки, несмотря на снижение базального уровня инсулина, реакция поджелудочной железы на прием корма у бычков опытной группы была выше, чем в контроле.

Следовательно, при замене в рационе бычков подсолнечного шрота комплексной кормовой добавкой удалось обеспечить более высокую активность инсулярного аппарата после приема корма, несмотря

на недостаточную обеспеченность организма животных глюкозой. По-видимому, это и явилось одной из причин, обеспечившей интенсивность роста бычков опытной группы на уровне контрольной.

Известно, что наряду с инсулином большую роль в регуляции метаболизма у жвачных животных играют тиреоидные гормоны. Результаты исследований показали, что при применении комплексной кормовой добавки наблюдалась тенденция к снижению концентрации тироксина в сыворотке крови бычков опытной группы (табл. 4).

Таблица 4. Концентрация тироксина в сыворотке крови бычков при применении ККД, нМоль/л

Группа	Показатели	Время после приема корма, часы		
		0	1	3
	Через 21 день после начала применения ККД			
Контрольная	М ± м	153,99±3,09	148,08±4,63	135,82±3,20
Опытная	М ± м	150,27±5,10	141,72±3,39	137,58±3,97
	% к контролю	97,6	95,7	101,3
	Через 51 день после начала применения ККД			
Контрольная	М ± м	146,53±5,98	136,91±6,49	121,41±3,80
Опытная	М ± м	142,30±5,88	117,22±4,25	114,83±1,83
	% к контролю	97,12	85,62 *	94,58

Установлено, что основное влияние на обмен веществ оказывает более активная форма тиреоидных гормонов – трийодтиронин. Согласно данным, представленным в таблице 5, не выявлено существенных различий между группами животных по концентрации в сыворотке крови трийодтиронина.

Таблица 5. Концентрация трийодтиронина в сыворотке крови бычков при применении ККД, нМоль/л

Группа	Показатели	Время после приема корма, часы		
		0	1	3
Через 21 день после начала применения ККД				
Контрольная	М ± м	5,04±0,19	6,04±0,26	6,42±0,43
Опытная	М ± м	5,75±0,21	6,22±0,17	6,94±0,22
	% к контролю	114,1	102,9	108,1
Через 51 день после начала применения ККД				
Контрольная	М ± м	5,21±0,38	6,11±0,62	7,49±0,52
Опытная	М ± м	5,22±0,46	6,07±0,54	7,40±0,09
	% к контролю	100,2	99,2	98,9

Учитывая ведущую роль тиреоидных гормонов в регуляции энергетического обмена и отсутствие различий между группами животных по концентрации тиреоидных гормонов в сыворотке крови, можно полагать, что не было также существенных различий между группами бычков и по эффективности использования энергии на продукцию.

Заключение

Исследования по изысканию путей повышения биоконверсии питательных веществ корма в компоненты продукции и улучшения ее качества за счет направленной регуляции метаболизма и биосинтеза компонентов мяса продолжают оставаться приоритетным направлением мировой науки. При этом, несмотря на результаты многолетних исследований, важное значение имеет проблема кормового белка. Известно, что организм жвачных животных обладает уникальной способностью синтезировать в рубце микробиальный белок, используя синтетические источники азота. Поэтому в конце прошлого века на мировом рынке кормовых добавок для животных объем продажи синтетических азотсодержащих препаратов превысил сумму в 200 миллионов долларов. Из них на долю США приходится около 90% от всего объема продаж. Несмотря на это в других странах с развитым животноводством интенсивно ведутся исследования по созданию новых кормовых добавок для жвачных животных на основе синтетических источников азота, основная цель которых состоит в повышении эффективности использования синтетических источников азота. В нашей стране эти исследования практически прекращены.

На основании результатов предыдущих исследований нами была разработана комплексная кормовая добавка, в состав которой входит диаммонийфосфат. Применение этой добавки позволяет полностью исключить шрот из рационов бычков и обеспечить высокую интенсивность роста (более 1200 г среднесуточного прироста) в период доращивания и откорма. При этом было показано, что при скормливании разработанной добавки тормозится функция инсулярного аппарата поджелудочной железы. Учитывая важную роль инсулина в повышении продуктивности бычков, можно полагать, что в случае снятия тормозного действия комплексной кормовой добавки на инкрецию инсулина, можно повысить эффективность использования питательных веществ корма на прирост и продуктивность животных. С этой целью в данной работе в состав комплексной кормовой добавки наряду с мочевиной ввели пропиленгликоль. Как отмечалось выше, пропиленгликоль способствует повышению концентрации инсулина у лактирующих коров. Однако при этом применяют большие дозы пропиленгликоля от 500 до 1000 мл. Цена пропиленгликоля в настоящее время в нашей стране в сред-

нем составляет около 100 рублей за 1 л. В этих условиях экономически оправдывает себя кратковременное (15-20 дней) применение его коровам для профилактики и лечения кетоза. Учитывая высокую стоимость пропиленгликоля, в опыте была использована минимальная доза препарата, которая по нашим данным способна увеличить концентрацию инсулина в сыворотке крови бычков.

Результаты исследований подтвердили правильность рабочей гипотезы и показали, что замена подсолнечного шрота комплексной кормовой добавкой на основе синтетических источников азота и пропиленгликоля в рационе бычков при интенсивном дорастивании и откорме, позволяет адекватно обеспечить потребности организма животных питательными веществами и энергией и, соответственно, получить необходимый уровень продуктивности. Представленные данные свидетельствуют, что включение пропиленгликоля в состав добавки обеспечило повышение функции инсулярного аппарата только после приема корма, а базальный уровень инсулина в сыворотке крови у бычков опытной группы был существенно ниже контроля. Следовательно, применение интенсивно растущим бычкам пропиленгликоля в дозе 30 г на голову в сутки недостаточно для полного предотвращения ингибирующего влияния мочевины на функциональную активность инсулярного аппарата поджелудочной железы.

Считаем необходимым продолжить эти исследования с перспективой совершенствования способов повышения биоконверсии питательных веществ корма у откармливаемых бычков в компоненты мяса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коровяцкий А.М., Матвеев В.А., Галочкина В.П., Дворецкая Т.Н. Влияние комплексной кормовой добавки на концентрацию глюкозы, инсулина, тиреоидных гормонов и мясную продуктивность бычков Труды ВНИИ физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных. Сборник экспериментальных статей. Боровск, 2004, 43: 184-196.
2. Лакин Г.Ф. Биометрия: Учеб. пособие для биологич. спец. вузов. М.: Высш. Школа, 1980: 293 с.
3. Матвеев В.А. Особенности функционального состояния эндокринных желез у крупного рогатого скота в связи с возрастом и продуктивностью. Автореф. доктор. дисс. Дубровицы, 2001: 47 с.
4. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных: Справочное пособие. 3-е издание переработанное и дополненное. Под ред. А.П. Калашникова, В.И.Фисинина, В.В.Щеглова, Н.И.Клейменова. Москва, 2003: 456 с.
5. Радченков В.П., Матвеев В.А. Методы анализа гормонов крови. Методы биохимического анализа (справочное пособие). Боровск, 1997: 165-200.

6. Радченков В.П., Матвеев В.А., Аверин В.С., Бутров Е.В., Сапунова Е.Г., Сухих В.Ф. Определение потенциала функции инсулярного аппарата поджелудочной железы у молодняка крупного рогатого скота. Методические указания. ВНИИФБиП, Боровск, 1986: 9с.
7. Шамберев Ю.Н. Научные и практические аспекты субстратной активации желез внутренней секреции животных. Материалы второй международной конференции «Актуальные проблемы биологии в животноводстве». Боровск, 1997: 190-200.
8. Basset J.M. Endocrine factors in the control of nutrient utilization: ruminants. Proc. Nutr. Soc., 1978, 37, 3: 273–280.
9. Bassett J.M. Diurnal patterns of plasma insulin, growth hormone, corticosteroids and metabolite concentrations in fed and fasted sheep. Aust. J. Biol. Sci. 1974, 27: 167-181.
10. Christensen J.O., Grummer R.R., Rasmussen F.E., Bertics S. J. J Dairy Sci., 1997, 80: 563–568.
11. Grummer R.R., Winkler J.C., Bertics S.J., Studer V.A. Effect of Propylene glycol Dosage During Feed Restriction on Metabolites in Blood of Prepartum Holstein Heifers. J. Dairy Sci., 1994, 77: 3618-3623.
12. Trenkle A. Relation of hormonal variations to nutritional studies and metabolism of ruminants. J. Dairy Sci. 1978, 61: 281-293.
13. Weekes T.E.C. Insulin and growth. Control and Manipulation of Animal Growth. Ed. P.J. Buttery, D.B. Lindsay, N.B. Haynes. London: Butterworths, 1986: 187- 206.

ПОКАЗАТЕЛИ ИММУНИТЕТА И НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОТКАРМЛИВАЕМЫХ БЫЧКОВ ПРИ ВВЕДЕНИИ В РАЦИОН КОРМОВОЙ ДОБАВКИ

В.Ф. Сухих, В.П. Галочкина, В.И. Майстров
Лаборатория иммунобиотехнологии

При введении в рацион откармливаемых бычков кормовой добавки, содержащей труднораспадающийся в рубце протеин, синтетические азотистые вещества, пропиленгликоль и минеральную серу, в опытной группе животных наблюдалась устойчивая тенденция к повышению показателей, характеризующих интенсивность функционирования иммунной системы и неспецифической резистентности.

Введение

Данный раздел работы лаборатории иммунобиотехнологии является фрагментом комплексной тематики по исследованию метаболических, иммунологических и гормональных факторов, определяющих реализацию продуктивного потенциала у растущих и откармливаемых

бычков, направленной на разработку способов увеличения количества и улучшения качества производимой говядины, при снижении затрат корма, труда и финансовых средств на ее производство.

Активное и полноценное функционирование иммунной системы необходимо для поддержания здоровья, без которого достижение высокой продуктивности животных невозможно. Кроме того, современное понимание назначения иммунной системы уже давно не ограничивается признанием ее роли только как системы защиты организма от чужеродных патогенных факторов. Сейчас концепция функционирования иммунной системы неразрывно связана с признанием ее непосредственной причастности к регуляции метаболизма на основе биологического феномена антиидиотипии и антиидиотипических антител. Таким образом, есть все основания полагать, что более высокая функциональная активность иммунной системы и надёжность функционирования комплекса регуляторных механизмов, ответственных за состояние защитных сил организма, способны обеспечить дополнительный прирост продукции у молодняка крупного рогатого скота.

К давно известным факторам, непосредственно задействованным в развитии иммунного ответа, относятся Т-лимфоциты, В-лимфоциты и макрофаги. Вырабатываемые ими многочисленные медиаторы формируют разветвленную цитокининовую сеть. Она необходима для координации межклеточных взаимодействий и усиления эффекторных функций как самих Т- и В- лимфоцитов в каждой конкретной иммунной реакции организма животного, так и для непосредственного участия в процессах регуляции метаболизма.

В литературе имеются сведения о высокой прямой корреляции между скоростью роста животных и активностью лизоцима в сыворотке крови, а также между иммунологическими показателями и отдельными продуктивными признаками сельскохозяйственных животных (Моргунов, 1975; Берестов, 1991). В ряде случаев указывается на тесную зависимость общего состояния неспецифических защитных сил организма от количественных значений таких показателей как бета-лизины, суммарная бактерицидная активность крови, активность лизоцима, концентрация иммуноглобулинов.

В наших предыдущих исследованиях наиболее заметная связь между интенсивностью роста животных и иммунологической характеристикой метаболических процессов прослеживалась при анализе активности лизоцима. Показано, что более интенсивно растущие животные имеют более четко выраженные иммунные реакции, необходимые организму как для сопротивления комплексу неблагоприятных факторов, так и для реализации генетически заданного уровня и направления продуктивности. Была дана также характеристика функционального состояния иммунной системы и неспецифической резистентности организма бычков на откорме при испытании различных способов на-

правленной регуляции процессов образования субстратов в желудочно-кишечном тракте и, возникающей вследствие этого, разной степени их деградируемости, а, следовательно, и обеспеченности субстратами биосинтетических процессов при разной обеспеченности метаболизма углеводами и аминокислотами.

Одна из целей работы лаборатории иммунобиотехнологии заключалась в изучении отдельных параметров, количественно отражающих функциональное состояние иммунной системы и некоторых интегральных элементов, ответственных за проявление неспецифической резистентности растущих и откармливаемых бычков в связи с кратностью кормления.

Другой непосредственной научной целью данной работы являлось определение связи между функциональным состоянием иммунной системы и параметрами биосинтеза белков и липидов у растущих и откармливаемых бычков при использовании разрабатываемого комплекса биологически активных веществ.

В итоге предполагалось, что на основе установленных общими усилиями ряда лабораторий закономерностей процессов пищеварения, метаболизма, функционального состояния регуляторных систем в организме растущего и откармливаемого молодняка крупного рогатого скота будут получены:

1) в научном плане – новые экспериментальные данные по взаимосвязи функционального состояния иммунной системы и показателей, характеризующих неспецифическую резистентность организма растущих и откармливаемых бычков;

2) в практическом плане полученный физиолого-биохимический материал будет увязан с продуктивностью откармливаемых бычков, качеством продукции и затратами кормов на ее получение, что должно привести к разработке новой, высокоэффективной кормовой добавки, применение которой позволит повысить эффективность использования азота на продукцию, снизить количество белковых кормов в рационах и, в целом, уменьшить затраты корма на единицу продукции при производстве говядины на 5 – 10 %.

Материал и методы

Работа выполнена в виварии института на 10 бычках холмогорской породы в период дорастивания и откорма. Было проведено 2 опыта. В первом опыте исследовали влияние кратности кормления на продуктивность животных и элементы неспецифической резистентности организма. Второй опыт был посвящен изучению эффективности комплексной добавки биологически активных веществ.

Оба опыта состояли из предварительного и основного периодов. Каждый из этих периодов имел свои особенности вследствие раз-

личий в возрасте бычков, их массе и среднесуточном приросте. Кормление варьировали в соответствии с возрастом животных и рассчитывали на продуктивность 300-400 кг живой массы и среднесуточный прирост 900-1300 г. Рецептура комбикормов и добавок для животных всех возрастов, условия кормления и содержания бычков, величины прироста живой массы и качество мяса, оплата корма, характеристика зоотехнических, морфологических, физиологических и биохимических показателей подробно описаны в предыдущей статье этого сборника.

В качестве критериев неспецифической резистентности и иммунологического состояния организма мы использовали концентрацию иммуноглобулинов в сыворотке крови, активность лизоцима, бета-лизинов и общую бактерицидную активность. Лизоцим определяли, используя в качестве тест-культуры *Micrococcus lysodeicticus* (Дорофейчук, 1968), бета-лизины с помощью *Bacillus subtilis* и общую бактерицидную активность по степени задержки роста культуры *E. coli* в среде, содержащей сыворотку крови подопытных животных (Бухарин и др., 1975). Иммуноглобулины класса G определяли иммунодиффузионным методом Манчини (Бем, 1987).

Экспериментальный материал обрабатывали статистически с применением критериев Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Режим кратности кормления не повлиял на общую бактерицидную активность сыворотки крови подопытных бычков (табл. 1), а активность лизоцима, одного из основных литических компонентов крови, даже несколько снизилась. По-видимому, фактор кратности кормления функционально не связан с данными компонентами неспецифической резистентности организма бычков, однако это не исключает возможную связь на уровне системы комплемента. Несколько (несущественно и недостоверно) снизилась в течение первого опыта активность бета-лизинов.

Концентрация иммуноглобулинов класса G в крови подопытных животных в конце первого эксперимента снизилась до 10,5 мг/мл, что составило 98,1 % к соответствующей концентрации его в крови бычков контрольной группы.

Более существенные, но также недостоверные изменения в иммунологическом статусе бычков наблюдали во втором эксперименте, при изучении эффективности кормовой добавки. На 21-й день после начала ее скармливания общая бактерицидная активность крови подопытных бычков снизилась на 13,9 %, на 51-й день – на 11,0%. Объяснить это снижение мы склонны наличием в примененной кормовой добавке биологически активных компонентов, действующих на уровне комплемента или интерферона. Этот, не изученный нами, путь регуля-

ции неспецифической резистентности, возможно, мог привести к повышению концентрации белков из группы комплемента.

Уровень активности сывороточного лизоцима в течение опыта несколько повышался в опытной группе, но величина различий была не достоверна. Такое же несущественное увеличение прослеживается при анализе результатов активности бета-лизинов. Концентрация иммуноглобулинов класса G у опытных бычков повысилась на 3 % на 21-й день после начала скармливания кормовой добавки и на 6,4 % - на 51-й день опыта. По-видимому, основные ответные метаболические реакции в механизмах действия компонентов кормовой добавки на рост животных протекают не на уровне литических компонентов факторов крови.

Таблица 1. Иммунологические показатели в крови подопытных бычков

Концентрация иммуноглобулина класса G, мг/мл		
В среднем по группе	ПЕРВЫЙ ОПЫТ	ВТОРОЙ ОПЫТ
	Контрольная группа	
M ± m	10.7 ± 0.4	9.4 ± 0.2
	Опытная группа	
M ± m	10.5 ± 0.2	10.0 ± 0.2
% к контролю	98.0	94.0
Достоверность различий	P > 0.5	P > 0.5
Активность бета-лизинов, (%)		
	Контрольная группа	
M ± m	18.1 ± 0.2	18.5 ± 0.1
	Опытная группа	
M ± m	17.9 ± 0.1	18.9 ± 0.2
% к контролю	99	102
Достоверность различий	P > 0.5	P > 0.5
Активность лизоцима, (%)		
	Контрольная группа	
M ± m	12.4 ± 0.6	13.0 ± 1.3
	Опытная группа	
M ± m	11.6 ± 0.5	12.4 ± 0.8
% к контролю	94	95
Достоверность различий	P > 0.5	P > 0.5
Общая бактерицидная активность сыворотки крови, (%)		
	Контрольная группа	
M ± m	41.5 ± 4.0	32.1 ± 2.1
	Опытная группа	
M ± m	41.8 ± 0.5	31.4 ± 1.5
% к контролю	101	98
Достоверность различий	P > 0.2	P > 0.2

Заключение

Двух- и трехкратное кормление откармливаемого молодняка крупного рогатого скота не отразилось на величине среднесуточных приростов и не выявило математически достоверных изменений в комплексе изучавшихся показателей, величины которых не претерпевали закономерных изменений, колеблясь в естественных физиологических пределах.

Введение кормовой добавки, содержащей труднораспадающийся в рубце протеин, синтетические азотистые вещества, пропиленгликоль и минеральную серу не вызвало существенных и достоверных изменений, однако в опытной группе на протяжении всего периода исследований наблюдалась устойчивая тенденция к более высоким величинам комплекса показателей, характеризующих функциональное состояние иммунной системы, что свидетельствует о некоторой активизации неспецифической резистентности у опытных животных в сравнении с контрольными.

ЛИТЕРАТУРА

1. Моргунов И.Н., Супоницкая В. М. Гуморальные факторы иммунологической реактивности организма, Киев, 1975.
2. Берестов В.А., Калинина Г. М. Особенности неспецифического иммунитета у норок и песцов, Ленинград, 1991.
3. Смирнов А.М., Васильев М.В., Никишина И.В. Показатели естественной резистентности организма у клинически здоровых телят при гипотрофии. Сб. научных работ Ленинградского вет.института, 1979, 55: 110-113.
4. Дорофейчук В. Г. Определение активности лизоцима нефелометрическим методом. Лаб. дело, 1968, 1: 28.
5. Бухарин О.В., Фролов Б.А., Луда А. П. Ускоренный метод определения бета-лизинов в сыворотке крови. "Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии", 1972, 119: 42.
6. Бем Э. Простая радиальная иммунодиффузия по Манчини. Иммунологические методы. М.; Мир, 1987: 49-57.

СИСТЕМА ГЛУТАТИОНА КАК КРИТЕРИЙ АНТИОКСИДАНТНОГО СТАТУСА ЖИВОТНЫХ

В.А. Галочкин, П.Е. Малиненко, В.И. Майстров
Лаборатория иммунобиотехнологии

Испытано введение комплексного препарата селенопирана с жирорастворимыми витаминами А, Д, Е с целью разработки способа нормализации обмена веществ, стабилизации антиоксидантно-антирадикального статуса, оптимизации функционирования тиол-дисульфидной системы и повышения неспецифической резистентности быков-производителей. По показателям, характеризующим тиол-дисульфидную и антиоксидантную системы (активность ферментов глутатионпероксидазы и глутатионтрансферазы, концентрация малонового диальдегида, гемоглобина, количество восстановленного и окисленного глутатиона), следует однозначный вывод о повышении неспецифической резистентности, буферной емкости антиоксидантно-антирадикальной систем и, следовательно, адаптационно-защитных функций у опытных животных в сравнении с контрольными.

Введение

Глобальная задача у всех животноводов: и селекционеров, и кормленцев, и физиологов, и биохимиков одна – и заключается она в умении помочь животному отрегулировать обмен веществ, скорректировать интенсивность и направленность метаболических потоков таким образом, чтобы обеспечить хорошее здоровье и хорошую продуктивность. Стратегическая научная задача у всех нас одна, но оперативные подходы к ее решению разные, они неисчерпаемы в своем многообразии.

Мы полагаем, что одним из многих весьма значимых тактических подходов, одной из многих потенциально результативных оперативных попыток ее решения, можно признать активное вторжение в регуляцию антиоксидантно-антирадикальной системы организма продуктивного животного. Проиллюстрируем наш разговор об антиоксидантах вообще, о механизмах их влияния на продуктивность и здоровье животных одним частным примером антиоксиданта широкого спектра действия – селенопираном.

Во-первых, почему мы делаем из массы интереснейших биологически активных веществ, казалось бы, гипертрофированный акцент именно на антиоксиданты, а среди десятка тысяч известных науке природных и синтетических антиоксидантов мы избрали именно селенопиран?

Это просто, логично и аргументировано. В последние два десятилетия идет громадное число научных публикаций по селену. Во всем мире активизировался поиск селенсодержащих веществ для введения их в продукты питания самостоятельно, либо в составе комбинированных пищевых добавок в рационы здоровых и больных людей и животных в качестве профилактического, лечебного, либо корректирующего средства. Это вполне естественно, поскольку селен последний из незаменимых факторов питания, открытых человечеством. Селен единственный из минеральных элементов, включение которого в белки организма высших животных контролируется на уровне генетического аппарата. На селен природа возложила регуляцию множественных ключевых метаболических реакций. И, вместе с тем, в силу химических свойств этого элемента, большая его часть оказалась смытой с поверхности земной коры, и значительная часть территории нашей планеты сейчас относится к селендефицитным биогеохимическим провинциям.

Селен является составным компонентом более 30 жизненно важных биологически активных соединений организма высших животных. Селен входит в активный центр ферментов системы антиоксидантно-антирадикальной защиты организма, метаболизма нуклеиновых кислот, липидов, гормонов (глутатионпероксидаз, йодотирониндейодиназ, тиоредоксинредуктазы, фосфоселенфосфатазы, фосфолипид-гидропероксид-глутатионпероксидазы, специфических протеинов Р и W и др.).

При недостатке селена в рационе у животных и человека возникают изменения, напоминающие авитаминоз Е: задержка роста, дегенеративные и дистрофические изменения в миокарде, скелетных мышцах, костной ткани, нервных клетках, печени, кожном и волосяном покрове и других органах и тканях. Происходят нарушения воспроизводительной функции: снижение либидо, нарушение овариального цикла, повышенная эмбриональная смертность, высокий процент бесплодия.

Всеобщий характер действия селена и следствий его дефицита у человека и животных определяется многогранностью метаболической роли элемента и его влиянием на функционирование внеклеточных и внутриклеточных механизмов защиты организма, работоспособность мембран всех клеток и субклеточных органелл, всех органов и тканей.

Мы присоединяемся к точке зрения специалистов по селену, рассматривающих и гипоселенозы, и гиперселенозы как пансистемные (надсистемные) заболевания, отражающиеся не только и не столько на каком-либо отдельном органе, сколько на системе органов, на общем метаболизме. Следовательно, мы исходим из того, что как при недостатке, так и при избытке селена нарушается обмен веществ в целом. Изменением содержания селена в рационе мы вносим поправки не в функционирование отдельных органов, а корректируем режим работы всего организма.

В сравнении с широко применяемыми на сегодняшний день в стране и мире неорганическими и органическими соединениями селена, селенопирин выгодно отличается от всех существующих селеносодержащих препаратов уникальным сочетанием метаболизируемости, с последующим высвобождением и включением в метаболический пул содержащегося в нем селена, и самостоятельной функциональной активности, проявляемой собственно молекулой селенопирина. По существу, селенопирин, поступивший в организм будь то оральным, либо парентеральными путями, следует рассматривать как работающую пролонгированную форму селена, как метаболически активно функционирующее депо селена, с самостоятельно проявляемыми в организме специфическими функциями. Эти специфические функции заключаются в способности селенопирина не только активировать каталитическую активность, но и самостоятельно выполнять в организме роль глутатионпероксидазы – главного фермента антиоксидантно-антирадикальной системы защиты организма. Однако, и в этом случае, селенопирин выглядит значительно более предпочтительным.

Глутатионпероксидаза нейтрализует токсические продукты перекисного окисления липидов, затрачивая для этих целей восстановленный глутатион – один из самых первых внутриклеточных лимитирующих факторов при окислительном стрессе любой этиологии, включая поражение радионуклидами. Причем, на обезвреживание одной молекулы свободного радикала затрачивается две молекулы восстановленного глутатиона, тогда как одна молекула селенопирина способна нейтрализовать восемь молекул активных радикалов, выполняя одновременно глутатионсберегающую функцию. Таким образом, у нас имеются все основания полагать, что селенопирин при недостатке селена в рационе и, следовательно, в организме животного, быстро метаболизируется и используется как обычный источник селена. Этот путь метаболизма селенопирина мы считаем наименее эффективным. В этом случае он может быть заменен гораздо более дешевым минеральным соединением селена. Однако при сбалансированном питании по селену, селенопирин начинает активно проявлять свои совершенно специфические метаболические функции, полностью отсутствующие у всех других соединений селена как минеральной, так и органической природы.

Важно подчеркнуть, что селенопирин способен нейтрализовать и свободные радикалы, и перекись водорода, и органические гидроперекиси даже при осуществлении селенодонорной роли. Он повышает активность цитохрома Р-450 (как гидролитическую активность, так и синтез ферментативного белка), глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы, церулоплазмينا, каталазы, пероксидазы, щелочной фосфатазы. Самое простое и вполне достаточное объяснение механизма повышения селенопиринем активностью монооксигеназной системы

заключается в том, что свободные радикалы азота и, особенно, кислорода (супероксиданион) известны как мощные ингибиторы активности цитохрома Р-450.

И все же, несмотря на многочисленные функции, которые удается выполнить молекуле селенопирана в этом, казалось бы, элементарном селендонорном пути превращений, мы продолжаем считать, что этот путь метаболизма не самый эффективный. А продукт, образовавшийся после выполненной работы, разрушения гетероцикла и выделения селенита, так называемый кетол, неактивен и нетоксичен. Его удаление из организма идет самым обычным образом в системе цитохрома Р-450 утилизации ксенобиотиков.

Даже при достаточном селеновом питании организм не в состоянии полностью застраховать себя от стрессовых ситуаций самой разной этиологии. А ситуации эти сопровождаются резким развитием окислительного стресса, с которым далеко не всегда способны справиться совместными действиями ферментативное и неферментативное звенья антиоксидантной системы защиты. Вот тут-то селенопиран работает с полной отдачей, претерпевая совершенно иные пути метаболических превращений. А именно – селенопиран проходит сложный и многокомпонентный метаболический путь превращений без высвобождения селена (с возможностью рециклинга на конкретной стадии, на чем и основано наше заключение о метаболически активном депо селенопирана с выполнением им целого ряда специфических биологических функций). Молекула селенопирана (напомним, что это – октагидроселеноксантен, то есть – ксантен, который обогащен восемью атомами водорода, это почти «насыщенный» гетероцикл) последовательно отдает один электрон, один протон и еще один электрон и так 4 раза. То есть, если бы одна молекула селенопирана встречала на своем пути исключительно перекиси, элементарным подсчетом можно определить, что ее восемью атомами водорода и еще восемью электронами хватает на разрушение четырех молекул перекисей. Причем, а на этом следует особо заострить внимание, - весь процесс идет по пути разрушения перекисей без образования свободных радикалов.

Помимо перекисей в организме при окислительном стрессе появляются и другие токсические соединения, в том числе – свободные радикалы (даже те же самые перекиси, которые не успели встретиться с селенопираном, тем и опасны, что способны образовывать гидроксил-радикалы, агрессивная окислительная активность которых значительно выше, чем у перекиси водорода, молекулярного кислорода и даже супероксиданиона). В такой ситуации селенопиран становится практически незаменим для организма.

Как в организме работает молекула классического антиоксиданта? При встрече со свободным радикалом она отдает свои водород с электроном, обезвреживает этот радикал, превращая его в стабильную

молекулу, а сама превращается тоже в радикал, но уже долгоживущий, не способный продолжать цепную реакцию радикального окисления. Молекула антиоксиданта выполнила свою функцию, она прервала цепь. «Мавр сделал свое дело, мавр может уходить».

Молекула селенопирана также способна работать классическим способом. При этом образуется промежуточный продукт – октагидроселеноксантилий (селенопирилий). Этот водорастворимый метаболит тоже обладает антиоксидантными свойствами. При отдаче протона он превращается в гептагидроселеноксантиен, разрушающий перекиси нерадикальным способом, а при отдаче электрона – в радикал селенопирана, метаболическую ловушку свободных радикалов.

Селенопирилий в этой последовательности реакций, проходящих при наличии в окружающей его молекулу среде достаточного количества других биологических молекул – доноров электронов и протонов (восстановленные НАД, НАДФ, Коэнзим Q₋₁₀ и др.), вполне способен, в силу обратимости этих реакций, вновь трансформироваться до исходной молекулы селенопирана (идет рециклинг молекулы селенопирана).

В процессе своего метаболизма и нейтрализации как перекиси водорода, так и гидроперекисей и свободных радикалов, от селенопирана отщепляется селенит-анион, который по точно установленному механизму восстанавливается в организме до селеноводорода (как и все, без исключения селенсодержащие вещества и минеральной, и органической природы). Сам же селенопиран, являясь прекрасным донором электронов и водорода как в атомарной, так и в протонированной форме, выполняет функцию мощного антиоксиданта и выступает как участник неферментативного звена нейтрализации свободных радикалов.

Таким образом, вновь возвращаемся к уже высказанной мысли: селенопиран в живом организме играет множественную роль в антиоксидантно-антирадикальной системе защиты организма, повышая функциональную активность как ферментативного, так и неферментативного ее звеньев.

Что касается судьбы оставшейся ксантеновой структуры (после выхода селена из молекулы селенопирана), то она аналогична превращениям ксантенового кольца. Мы уже говорили о том, что более 50-ти лет многочисленные и самые разнообразные производные ксантенов и тироксантенов широко используются в медицинской практике как терапевтические препараты очень широкого спектра действия. При ферментативном гидролизе в организме они не дают биологически активных метаболитов. Подготовка к их элиминированию из организма осуществляется в микросомальной фракции гепатоцитов, в полиферментной монооксигеназной системе железосодержащего цитохрома P-450.

Там осуществляется дезалкилирование боковой цепи, если таковая имеется, и конъюгирование с сульфатами или глюкуроновой кислотой. После конъюгации жирорастворимые соединения становятся водорастворимыми, покидают внутриклеточное пространство и выводятся из организма с мочей.

В наличии обратимых стадий реакций на путях метаболических превращений молекулы селенопирана кроется ответ на вопрос о его действительном функционировании как метаболически активного депо селена с выполнением им целого ряда других специфических функций.

Пояснив свое отношение к антиоксидантам вообще и селенопирану в частности, и к выполняемой ими биологической функции, продолжим следующее. Теоретически, в организме существует физиологически гомеостатированный уровень свободно-радикальных процессов и перекисного окисления липидов, необходимый для нормального функционирования как всех внутриклеточных компонентов, так и для регуляции липидного состава, жидкостности и, следовательно, нормальной проницаемости цитоплазматических мембран, без которых невозможно протекание всех биохимических процессов. Такое стационарное состояние определяется тканевым балансом антиоксидантов и прооксидантов. В определенной метаболической ситуации тканевой баланс смещается в сторону прооксидантов. Это состояние биохимии назвали окислительным стрессом. Следствием этого состояния непременно будет срыв функционирования защитных систем и развитие окислительного повреждения тканей.

В начальной фазе окислительного стресса вся работа внутриклеточных регуляторных механизмов подчинена задаче нормализации процессов ферментативного и неферментативного перекисного окисления липидов и сопряженных с ними оксидазным и оксигеназным путями окисления кислорода. Одноэлектронный путь окисления кислорода в организме является основным инициатором цепных реакций образования нестабильных, «недоокисленных» продуктов - свободных радикалов. Свободные радикалы это наши лучшие друзья и наши злейшие враги. Без них невозможно нормальное протекание обмена веществ в любой клетке любого органа. Все беды в организме не от свободных радикалов, а от их избытка.

Именно в связи со сказанным, в основу нашей рабочей гипотезы разработки способов повышения продуктивности и неспецифической резистентности животных, заложена попытка целенаправленного воздействия на интенсивность и направленность метаболических потоков путем поддержания оптимального уровня свободнорадикальных процессов и сбалансированности функционирования иммунной, антиоксидантной и монооксигеназной систем организма.

По современным биохимическим воззрениям процесс образования и нейтрализации свободных радикалов правомочно отнести к ве-

дущему процессу, принимающему самое непосредственное и активное участие в регуляции обмена веществ в организме здорового человека и животного. Эта же всеобщность свободнорадикальных процессов может рассматриваться как единый, унифицированный патогенетический механизм, лежащий и у истоков, и в основе развития огромного количества (а может быть и всех) патологических процессов в любой клетке, ткани и органе, безотносительно причин, вызвавших патологию.

В организме четко прослеживается строжайшая синхронность между повышением жизненных сил (общей неспецифической резистентностью) и снижением интенсивности процессов образования свободных радикалов. Столь же выраженная взаимосвязь всегда наличествует между снижением сопротивляемости и повышением активности свободнорадикальных процессов.

Именно поэтому, в начальной фазе стресса весь настрой метаболизма, определяемый взаимодействием нервной, иммунной и эндокринной систем, направлен на нормализацию процессов липопероксидации.

А в одной ли липопероксидации вся суть? Конечно же, нет. В организме все определяется донорно-акцепторными взаимоотношениями. Вот это абсолютная истина. Все решается на элементарном уровне - у кого, где, когда и сколько электронов и протонов будет отнято и кому, где, когда и сколько их будет отдано. Вся регуляция метаболизма определяется неким динамическим балансированием между этими процессами. По словам Альберта Сент-Дьерди, это и есть главный параметр жизни. Изменение этого баланса в допустимых пределах как раз и используется для регуляции множественных частных функций и общего состояния клетки, а выход за пределы дозволенного, естественно, приводит к патологии и гибели.

Объективная оценка адаптационных резервов организма, состояние антиоксидантной защиты, механизмы неспецифических реакций на любые неблагоприятные воздействия внешней среды могут быть весьма успешно оценены характеристикой тиол - дисульфидной системы. Тиол-дисульфидное соотношение (ТДС), т.е. отношение сульфгидрильных групп к дисульфидным, служит важным регуляторным параметром и, одновременно, мобильным реакционноспособным диагностическим тестом оценки неспецифической резистентности организма.

Оно может наиболее информативно характеризовать «буферную емкость» антиоксидантной системы как в норме, так и при патологии. Наше повышенное внимание к этому соотношению и отнесение его к числу важнейших регуляторных параметров организма человека и животных обусловлено тем обстоятельством, что тиоловые соединения (как низко-, так и высокомолекулярные), благодаря своей способности быстро, но обратимо окисляться, оказываются наиболее чувствитель-

ными к неблагоприятным воздействиям самой различной природы и интенсивности. При большинстве патологий инфекционной и неинфекционной природы, в том числе и аллергических состояниях, и радиационном поражении, одним словом, в состоянии окислительного стресса любой этиологии, однозначно отмечается снижение содержания SH-групп и повышение концентрации SS-групп.

Существует весьма интересная гипотеза, по которой очень быстрое, легкое и, самое главное, обратимое образование дисульфидных связей является адаптивным механизмом, изобретенным природой для защиты чувствительных мембранных и внутриклеточных структур от необратимого окислительного разрушения. Сульфгидрильная группа – великая жертвенница высших организмов, она приносит на алтарь жизни свой единственный восстановительный эквивалент, свой протон. Сама быстро и легко гибнет, жертвует собой, спасает от окислительной атаки те молекулы и структуры, которые жизненно важны.

Самым ярким представителем тиол-дисульфидной системы является глутатион. Глутатион представляет собой трипептид со свободной сульфгидрильной группой – гамма-глутамил-цистеинил-глицин. В продуктах гидролиза белков он никогда не обнаруживается, следовательно, глутатион синтезируется организмом в специальной последовательности реакций. Этот трипептид имеет чрезвычайно разнообразные и ответственные биохимические функции.

В 1965 году был открыт шестичленный энзиматический гамма-глутамилтранспептидазный цикл активного энергозависимого транспорта аминокислот через мембраны. Ключевым метаболитом этого цикла является глутатион.

Многие ферменты в активном центре содержат сульфгидрильную группу – аденозил-S-РНК-синтетазы (ферменты активации аминокислот, без которых немислим протеосинтез), рибонуклеотид-редуктазы и тиоредоксинредуктазы (ферментов, без которых не идет синтез дезоксирибонуклеотидов и нуклеиновых кислот), гемсинтазы (фермента, необходимого для синтеза гемоглобина) и очень многие другие ферменты, окисление сульфгидрильной группы в которых влечет потерю ферментативной активности.

Многие белки в нативном состоянии содержат в строго упорядоченных и строго определенных местах дисульфидные мостики внутри цепей или между цепями. Эти ковалентные мостики образуются ферментативным путем уже после того, как синтезировался углеродный остов полипептидной цепи. Например, инсулин имеет три дисульфидные связи, образование которых осуществляется в результате реакции с окисленным глутатионом.

В эритроцитах нет цикла трикарбоновых кислот. Пентозофосфатный путь – единственный источник НАДФН в этих клетках, поэтому при недостаточности глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы образование

НАДФН уменьшается. А главная роль восстановленного НАДФ в эритроцитах состоит в восстановлении окисленной формы глутатиона. Реакция катализируется глутатионредуктазой. Кроме многого прочего, восстановленный глутатион необходим для поддержания нормальной структуры эритроцитов. Клетки с пониженным содержанием восстановленного глутатиона обладают повышенной чувствительностью к гемолизу.

В силу очень низкого редокспотенциала аскорбиновой кислоты и ее высоких восстановительных способностей, многие ученые полагают, что главная биологическая роль витамина С заключается в восстановлении окисленного глутатиона. Заболевание цингой при дефиците витамина С связано с нарушением синтеза коллагена в связи с инактивацией фермента пролилгидроксилазы, ответственной за его синтез. Проллин синтезируется недогидроксилированным, имеет очень низкую температуру плавления, и не в состоянии образовать волокна нормальной структуры и плотности, чем и определяется вся симптоматика цинги. Проллилгидроксилаза - железосодержащий фермент и аскорбиновая кислота поддерживает восстановленное состояние атома железа в ней, предохраняя фермент от инактивации. Но, главное, – коллаген синтезируется из двух цепей-предшественников, содержащих внутрицепочечные дисульфидные связи, более того, и сами эти две цепи предшественников связаны межцепочечными дисульфидными связями. Оба эти типа дисульфидных связей в окончательной молекуле коллагена отсутствуют, поскольку они восстанавливаются с участием восстановленного глутатиона. И только коллаген с восстановленными дисульфидными связями способен выполнять свою биологическую функцию.

Восстановленная форма глутатиона служит во внутриклеточном пространстве в качестве главного сульфгидрильного буфера, с задачей поддерживать в восстановленном состоянии все SH-группы во всех белках от гемоглобина, сохраняя его в ферроформе, до остальных ферментов, гормонов и цистеина.

При биосинтезе нуклеиновых кислот одним из переносчиков восстановительного потенциала является специфический белок тиоредоксин, белок с М.М. около 12 000 Да. Он содержит 2 цистеиновых остатка, которые окисляются при синтезе из рибонуклеозид фосфатов дезоксирибонуклеозидфосфатов. Эта реакция катализируется флавопротеином тиоредоксинредуктазой. Источником восстановленных эквивалентов для этой реакции является глутатионредоксиновая система во главе с восстановленным глутатионом, и необходима она для синтеза всех четырех дезоксирибонуклеотидов для синтеза ДНК.

По химическим свойствам глутатион способен самостоятельно участвовать в процессах детоксикации, реагируя как с перекисью водорода, так и с органическими перекисями. Иными словами, глутатион является в организме важнейшим тиоловым антиоксидантом.

Сказанное далеко не исчерпывает всех функций, но его вполне достаточно, чтобы признать за глутатионом ключевую роль внутриклеточного метаболита в регуляции обмена веществ в норме и патологии. Он относится к специальной группе тиоловых антиоксидантов, обладает выраженными противоопухолевыми и радиопротекторными свойствами.

Среди тканевых антиоксидантов тиолы занимают особое место, вот наиболее характерные их свойства:

- 1) исключительно высокая реакционная способность сульфгидрильных групп, благодаря которой тиолы окисляются с феноменально высокой скоростью;
- 2) обратимость реакции окисления сульфгидрильных групп в дисульфидные, что предполагает возможность наиболее энергетически выгодного поддержания гомеостаза тиоловых антиоксидантов в клетке без активации их биосинтеза;
- 3) способность тиолов проявлять как антирадикальное, так и антиперекисное действие;
- 4) гидрофильность тиолов обуславливает их высокое содержание в водной фазе клетки и возможность защиты от окислительного повреждения биологически важных гидрофильных молекул, в т. ч. гемоглобина. Вместе с тем, присутствие в тиолах неполярных группировок обеспечивает им возможность проявления антиоксидантной активности в липидной фазе клетки.

Причем, главная его специфика заключается в том, что никакое скармливание глутатиона, никакие внутримышечные или внутривенные инъекции абсолютно не помогают. Он очень плохо транспортируется через все мембраны, начиная от кишечной и кончая внутриклеточными. И, таким образом, работает только тот восстановленный глутатион, который образовался непосредственно во внутриклеточном пространстве каждой клетки.

Следовательно, иницируя и поддерживая реакции, ведущие к сохранению восстановленных тиоловых эквивалентов, мы повышаем адаптивность организма и его устойчивость к воздействию комплекса неблагоприятных факторов.

Тяжесть заболевания, периоды его обострения, воздействие неблагоприятных факторов внешней среды, стрессовые ситуации у здоровых людей и животных коррелируют со степенью снижения тиол-дисульфидного отношения. Динамика и величина изменений тиол-дисульфидного отношения являются отражением развития адаптивной реакции и позволяют непосредственно оценить уровень неспецифической резистентности организма.

Повышение содержания SH-групп и снижение SS-групп связывают с активным извлечением резерва низкомолекулярных тиолов из

печени в ответ на истощение редокс-системы крови и мобилизацией резервов организма на восстановление окисленных тиолов.

В ряде заболеваний выявлено снижение SH / SS-коэффициента, что связано с разбалансированностью окислительно-восстановительного процесса тиолов. Причиной этому являются снижения ферментативной активности глутатионредуктазы, дегидрогеназ гликолиза, цикла Кребса, пентозо-фосфатного пути окисления углеводов и β -окисления липидов. Причем, как правило, увеличение активности названных дегидрогеназ не в состоянии обеспечить нормализацию редокс-потенциала тиолов, поскольку лимитирующим ферментом в процессе восстановления окисленной формы глутатиона является глутатионредуктаза. При летальном исходе отмечается характерный сбой работы ферментной системы, ответственной за поддержание тиол-дисульфидного гомеостаза.

Можно напомнить и более новую информацию о роли сульфгидрильных групп в связи с широким и очень модным обсуждением в литературе сигнальной и регуляторной роли оксида азота, вообще, и в работе сердечно-сосудистой системы, в частности (Нобелевская премия 1998 года Роберт Фурхгофф и коллеги, Кургалюк Н.Н, 2002). Интерес к этому вопросу колоссальный, а экспериментальных работ очень мало. До сих пор механизмы наукой не выяснены, но оксид азота может выступать, в зависимости от метаболической ситуации в клетке, и как антиоксидант, и как прооксидант, и как активатор митохондриального тканевого дыхания и сопряженного синтеза макроэргов, и как ингибитор. А связаны эти и множественные другие функции окиси азота, в первую очередь, с ее влиянием на внутриклеточную концентрацию циклического ГМФ, который рассматривается, как это всем прекрасно известно, в качестве вторичного мессенджера клеточной активности. Гуанилатциклаза – фермент, синтезирующий цикло ГМФ, работает только при сохранении в ее активном центре восстановленной сульфгидрильной группы, которая, естественно, может быть в восстановленном виде только при высоком уровне восстановленности тиолов за счет глутатионредуктазы и глутатионтрансферазы. Иными словами, активация окисью азота гуанилатциклазы успешно идет при участии тиолов вообще и восстановленного глутатиона, в частности.

Некоторые систематизированные нами факты, из массы имеющихся, убедительно свидетельствуют о неспецифическом и универсальном характере изменений тиолов при действии на организм любых экстремальных факторов. Любой стресс характеризуется низким содержанием тиоловых групп (и повышением дисульфидов), которые рассматриваются в качестве значимого критерия уровня неспецифической резистентности организма.

В силу высказанного всего комплекса соображений о центральной регуляторной роли в организме тиол-дисульфидного соотношения,

мы сочли аргументированным уделить самое пристальное внимание этому критерию. Тем более, что ранее мы неоднократно подчеркивали, что селенопиран обладает самостоятельной глутатионпероксидазной активностью, он обладает глутатионсберегающей функцией. Будучи активным донатором электронов и протонов, селенопиран способен непосредственно восстанавливать окисленный глутатион.

В научной литературе широко обсуждается вопрос о взаимосвязи минерального селена с витамином Е. Эти два вещества рассматриваются как синергисты. Считается, что селен предотвращает быстрое окисление α -токоферола в организме, а α -токоферол, в свою очередь, тормозит этапы окисления поступивших в организм солей селена в диметилселенид и триметилселеноний и, таким образом, продлевает период биологического функционирования селена (Галочкин и др., 2000; Weiss et al., 1997; Дунин и др., 1997; Тутельян и др., 2002).

В настоящее время селен, наряду с витаминами А, Е и С, рассматривается как один из четырех главных компонентов неферментативного пути антиоксидантно-антирадикальной системы защиты организма.

В литературе имеется большое число исследований, посвященных выяснению роли совместного введения в организм минеральных препаратов селена с жирорастворимыми витаминами, однако до настоящего времени вопрос остается недостаточно изученным, а результаты экспериментов противоречивыми. Часть исследователей продолжает традиционно считать, что лучшей формой введения жирорастворимых витаминов является парентеральная. Результаты других ученых свидетельствуют не только о преимуществе введения витаминов этой группы с кормом, но и об обязательности этого пути, поскольку, по их мнению, например, инъекционный подкожно или внутримышечно витамин Е совершенно не метаболизируется и не обнаруживается в крови. Руководствуясь сказанным, мы решили испытать совместное введение селенопирана (парентерально) с витаминами А, Е и Д (перорально).

Материал и методы

Опыт проведен в Федеральном государственном унитарном предприятии по племенной работе «Брянское», Брянской области, на 2 группах племенных бычков – аналогов по 6 голов в группе. Бычки опытной группы в 15-ти месячном возрасте получили однократную инъекцию пролонгированной формы селенопирана, содержащую 300 мг действующего начала и, одновременно, в этом же возрасте, по 500 ИЕ витамина Е, 400000 ИЕ витамина Д и 2000000 ИЕ витамина А на голову, перорально. Контрольная группа никаким обработкам не подвергалась. Кровь брали в возрасте 18 месяцев.

В соответствии со сказанным использован комплекс биохимических показателей, характеризующих функциональное состояние систем антиоксидантно-антирадикальной защиты и неспецифической резистентности организма. Поскольку глутатион рассматривается как один из первейших лимитирующих факторов, дефицит которого является главнейшим критерием и следствием наступающего метаболического стресса, проведена серия специальных аналитических приемов, способных отразить окислительно-восстановительный статус внеклеточного пространства в крови подопытных животных. Для этой цели определена активность глутатионпероксидаз, причем дифференцированно, как первого (селензависимая), так и второго типа (селеннезависимая глутатионтрансфераза); малоновый диальдегид (с ТБК); низкомолекулярные сульфгидрильные группы – восстановленный глутатион + цистеин (с ДТНБ); низкомолекулярные дисульфидные группы – окисленный глутатион + цистин (с НТСБ); гемоглобин (с реагентом Драбкина) (Lawrence, Burk, 1976; Thannhauser, Konishi, Scheraga, 1984).

Результаты и обсуждение

Результаты эксперимента иллюстрируются цифровым материалом, представленным в таблице, из которого следует справедливость всего сказанного о роли тиол-дисульфидной системы. Характеристики этой системы синхронно коррелируют с концентрацией в крови малонового диальдегида.

Таблица. Влияние инъекции селенопирана и скармливания витаминов А, Е и Д на активность глутатионпероксидаз и тиол-дисульфидный статус организма племенных быков

Группы	ГПО-1	ГПО-2	МДА	Гемоглобин	Низкомолекулярные SH и SS группы		
					внеклеточные		
					SH	SS	ТДС
Контроль	303 ± 55	550 ± 67	2,78 ± 0,35	162,7 ± 11,5	0,560 ± 0,09	0,229 ± 0,06	2,45
Опытная	481 ± 78	562 ± 68	2,19 ± 0,29	163,5 ± 4,8	0,742 ± 0,10	0,211 ± 0,04	3,51
% к контролю	159	102	79	100	133	92	143

Примечание: ГПО-1 – глутатионпероксидаза селенсодержащая, мкм НАДФ окисленного/мин./г. гемоглобина, субстрат – перекись водорода; ГПО-2 – глутатионпероксидаза селеннесодержащая (глутатионтрансфераза), мкм НАДФ окисленного/мин./г гемоглобина, субстрат – гидроперекись терт-бутила; МДА – малоновый диальдегид, мкм/мл плазмы крови; Гемоглобин – грамм/литр крови; SH – низкомолекулярные сульфгидрильные группы (глутатион восстановленный + цистеин),

мкм/мл; SS – низкомолекулярные дисульфидные группы (глутатион окисленный + цистин), мкм/мл; ТДС – тиол-дисульфидное соотношение (SH / SS).

Общеизвестно, что сам малоновый диальдегид не является природным метаболитом и в организме практически отсутствует. Однако он служит достаточно надежным и объективным критерием состояния процессов перекисного окисления липидов в организме, поскольку природные метаболиты липопероксидации при кипячении в кислой среде с тиобарбитуровой кислотой превращаются в малоновый диальдегид.

Заключение

По показателям, характеризующим тиол-дисульфидную и антиоксидантную системы (активность ферментов глутатионпероксидазы и глутатионтрансферазы, концентрация малонового диальдегида, гемоглобина, количество восстановленного и окисленного глутатиона), следует вывод о повышении неспецифической резистентности, буферной емкости антиоксидантной системы и, следовательно, адаптационно-защитных функций у опытных животных в сравнении с контрольными. Инъекции селенопирана и скармливание витаминов благотворно сказались на состоянии защитных сил организма животных опытной группы. Достоверные изменения отмечены по активности селензависимой глутатионпероксидазы, величины которой на 59 % превосходили значения, присущие контрольным животным. Концентрация малонового диальдегида была на 21 % ниже. Вследствие повышения концентрации низкомолекулярных сульфгидрильных групп на 33 % и одновременного снижения на 8 % низкомолекулярных дисульфидных групп, тиол-дисульфидное отношение существенно и достоверно повысилось на 43 %.

Полученный экспериментальный материал послужит основой для создания комплексных минерально-витаминных препаратов с целью разработки на их основе новых, более эффективных приемов воздействия на регуляторные системы организма для повышения неспецифической резистентности и улучшения воспроизводительной функции быков-производителей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Галочкин В.А., Ерохин А.С., Кувшинова В.С., Колоскова Е.М. Влияние инъекций пролонгированной формы селенопирана на воспроизводительную функцию коров. Сельскохозяйственная биология, 2000, 2: 13-19.
2. Weiss WP, Hogan JS, Todhunter DA, Smith KL. Effect of vitamin E supplementation in diets with a low concentration of selenium on mammary gland health of dairy cows. J Dairy Sci., 1997 Aug; 80(8): 1728-37.

3. Дунин И.М., Лебенгарц Я.З. Экологические аспекты использования селена в молочном скотоводстве. Сельскохозяйственная биология. 1997, 6: 71-81.
4. Тутельян В.А., Княжев В.А., Голубкина Н.А. и др. Селен в организме человека: метаболизм, антиоксидантные свойства, роль в канцерогенезе. М. 2002: 234 с.
5. Lawrence R.A., Burk R.F. Glutathione peroxidase activity in selenium – deficient rat liver. Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1976, 71, 4: 952-958.
6. T.W. Thannhauser, Y. Konishi, H.A. Scheraga. Sensitive quantitative analysis of disulfide bonds in polypeptides and proteins. Analytical biochemistry 1984, 138, 1: 181-188.
7. Кургалюк Н.Н. Успехи физиологических наук. 2002, 33, 4: 63-79.

К ВОПРОСУ РЕГУЛЯЦИИ ОБМЕНА БЕЛКА И АЗОТИСТЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ОРГАНИЗМЕ РАСТУЩИХ ЖИВОТНЫХ

(обзор)

К.Т. Еримбетов, Д.И. Шариева, О.В. Обвинцева

Рассматривается фундаментальная научная проблема, связанная с исследованиями закономерностей метаболизма белка, механизмов регуляции процессов его биосинтеза и накопления в организме животных и возможности управления этими процессами. Уделено внимание субстратной и гормональной регуляции метаболизма белков в организме животных.

Проблема биосинтеза белка, имеющая теоретическое и практическое значение, в течение многих десятилетий остается актуальной и составляет основу большинства направлений мировой науки в области биологии. Такого рода исследования имеют непосредственное отношение к росту животных. Не случайно поэтому, основное внимание ученых в последние десятилетия направлено на изучение закономерностей роста и факторов регуляции метаболизма белков в организме животных.

Поскольку количество белков в тканях определяется скоростью их синтеза и распада, то оба эти процесса служат объектом регуляции. В литературе широко обсуждается такая важная проблема, как гормональный контроль метаболизма белка в мышечных клетках, осуществляемый не только известными гормонами, но и гормоноподобными факторами роста и дифференциации мышечной ткани. Эндокринная система воздействует на рост, регулируя потребление и контролируя распределение питательных веществ среди различных метаболических циклов. Действие гормонов в мышечной клетке проявляется путем их влияния на клеточные и субклеточные мембраны, активность ферментов, регулирующих метаболизм энергии, нуклеиновых кислот, синтез и

распад белка. Гормоны контролируют синтез белка в скелетных мышцах через изменение количества образуемых рибосом и специфических видов мРНК, а также через скорость инициации пептидной цепи. Инсулин оказывает стимулирующее действие, увеличивая поток аминокислот в компартменты синтеза белка (Millward et al., 1976; Schoonmaker et al., 2003), а также активируя фактор инициации синтеза, но поскольку он связывается с рецепторами мембран, его влияние на внутриклеточный метаболизм вторично. Garlick P. et al. (1985) указывают, что стимулирующее влияние преимущественного использования питательных веществ на синтез белка опосредуется двумя факторами: уровнем инсулина и доступностью аминокислот белка корма. В исследованиях Palmer et al. (1985) установлено, что инсулин увеличивал скорости как синтеза, так и распада белка в мышцах кролика. Однако, Skjaerlund et al. (1988) продемонстрировали, что инсулин увеличивает синтез и снижает распад белка в изолированных полосках скелетных мышц.

Гормон роста увеличивает скорость белкового синтеза возможно через усиление РНК – полимеразной активности в скелетных мышцах (Young, 1980), а также влияет на секрецию инсулина и выделение печенью и почками соматомединов. Причем по данным Pell et al. (1989) соматотропный гормон (СТГ) повышает скорость синтеза белка в скелетных мышцах красного типа и не влияет на таковую в мышцах белого типа. Dawson et al. (1998) продемонстрировали, что введение растущим бычкам соматотропина приводит к возрастанию скорости синтеза и деградации белка как в скелетных мышцах, так и в целом организме.

Сообщения, появившиеся в начале восьмидесятых годов о том, что некоторые симпатоподобные соединения (агонисты β -адренорецепторов - кленбутерол, рактопамин, сальбутамол и др.) оказывают анаболическое влияние, показались, в связи с этим, неожиданными. Механизм действия, посредством которого эти соединения влияют на увеличение массы мышц у животных, все еще остается неясным и противоречивым. Исследования на животных позволили предположить, что чистое миотрофное влияние агонистов β -адренорецепторов обусловлено и стимуляцией синтеза белка (Helferich et al., 1988), и снижением скорости его распада (Chikhou et al., 1991), и позитивным изменением в противоположных направлениях обоих процессов (Еримбетов, 1997). Предполагают так же, что эффект β -адренергических агонистов в снижении уровня миофибриллярных белков в скелетных мышцах животных связан с ингибированием активности как микромолярной и миллимолярной кальций-зависимой протеазы, так и регулятора этого фермента – калпастатина. Однако, в исследованиях Higgins et al. (1988) было установлено уменьшение активности лишь микромолярной кальций-зависимой протеазы. Имеются дан-

ные об участии тиоловых протеаз в регуляции функционирования рецепторов непосредственно или через протеинкиназу C (Wang et al., 1988). Следует отметить, что предположение о возможности участия калпаиновых протеаз в регуляции функционирования β -рецепторов требует экспериментального подтверждения. Специфичность влияния β -адренергических агонистов на метаболизм белка в скелетных мышцах, в противоположность гормону роста, заключается в снижении скорости отложения белка в других органах и тканях организма (Carson et al., 2001; Han Zheng-Kang et al., 2002).

Широким диапазоном влияния на метаболизм белка в мышечной ткани характеризуются тиреоидные гормоны, что объясняется наличием рецепторов к ним в митохондриях, ядрах и цитоплазме мышечной клетки (Buttery et al., 1980).

Nayase et al. (1987) сообщают об увеличении активности катепсинов В и Д в печени при введении крысам трийодтиронина, но они предполагают, что данный гормон может ингибировать распад белка в почках. В исследованиях других авторов (на песцах *Alopec lagopus* L.) (Рендаков и др., 2003) было также показано наличие отрицательной корреляции между возрастной динамикой содержания тироксина в сыворотке крови и активностью лизосомальных протеиназ (катепсинов В и Д) в некоторых органах этих животных.

Что касается кортикостероидов, то установлено, что они способны ингибировать клеточную репликацию, образование гормона роста и, возможно, соматомединов (Young, 1980).

Механизм влияния анаболических веществ (стероидов), обеспечивающий увеличение скорости формирования общего фонда белка в скелетных мышцах, не полностью выяснен. В недавних исследованиях на растущих бычках показано, что увеличение скорости формирования общего фонда белка в скелетных мышцах при имплантации тренболон-ацетата и эстрадиола опосредовано снижением скорости деградации белка, при неизменной интенсивности его синтеза (Rumsey et al., 1999). Crompton L.A., Lomax M.A. (1987) сообщают о высоких положительных корреляциях между концентрациями гормона роста, инсулина, тироксина в плазме и скоростью синтеза белка в скелетных мышцах ягнят, а также концентрацией кортизола и скоростью распада мышечных белков.

Накопленный на сегодня материал свидетельствует о том, что инсулин, гормон роста и тироидные гормоны оказывают стимулирующее влияние на скорость синтеза белка в мышечных клетках, тогда как глюкокортикоиды – ингибирующее. Под влиянием глюкокортикоидов и тироидных гормонов скорость деградации мышечных белков возрастает, инсулин же оказывает противоположный эффект. Таким образом, перечисленные гормоны можно разделить по воздействию на скорость формирования общего фонда белка в скелетных мышцах растущих жи-

вотных на анаболические (инсулин, гормон роста, низкие уровни тиреоидных гормонов) и катаболические (высокие уровни тиреоидных гормонов, глюкокортикоиды). Следует при этом иметь в виду, что эндокринная система координирует процессы метаболизма в мышечных белках не только на субклеточном и клеточном уровнях, но и на уровне межтканевых и межорганных взаимодействий. То есть физиологические и биохимические реакции отдельных органов и тканей на изменение гормонального статуса в процессе роста и изменения физиологического состояния необходимо рассматривать на уровне всего организма.

Влияние уровня кормления на белковый обмен исследовалось на многих видах животных. Рассматривая данную проблему следует, однако, подчеркнуть еще раз, что увеличить отложение белка можно либо за счет повышения синтеза, либо за счет снижения скорости распада, или же изменяя соотношение между этими величинами в сторону превышения скорости синтеза над скоростью распада (Krawielitzki et al., 1996). В опытах на крысах, при увеличении уровня питания на 30% по сравнению с нормой, скорость фракционного и абсолютного синтеза белка увеличивалась в печени и мышцах (Sampson et al., 1984). В целом исследования показывают, что скорость белкового синтеза положительно коррелирует с уровнем кормления. Однако, вопрос о том, чем в первую очередь обусловлены изменения в скорости отложения белка при скормливании протеина разного качества или количества – изменениями в скорости синтеза, распада или комбинацией этих величин, пока остается не совсем выясненным, а данные противоречивыми.

В опытах, проведенных на свиньях, было показано, что улучшение качества протеина за счет добавок лизина в изопротеиновых и изокалорийных рационах способствовало отложению белка, но при этом увеличивалась как скорость синтеза, так и скорость деградации (Saggau et al., 2000). Такой же результат был получен в работе Roy et al. (1997), в которой изучали влияние добавки лизина в количестве от избыточного уровня до небольшого дефицита. В исследованиях Wessels, Titgemeyer (1997) было показано увеличение скорости и эффективности синтеза белков тела у бычков при инфузии в кровь в течение 14 дней смеси лимитирующих аминокислот (лизина, метионина, треонина, триптофана, гистидина и аргинина) на фоне сено-кукурузного рациона с 10 % уровнем сырого протеина. Аналогичные результаты получены Rossi et al. (2001), которые продемонстрировали, что скормливание бычкам в период интенсивного дорастивания и откорма рационов с высоким содержанием протеина (16 %) способствовало увеличению скорости и эффективности синтеза белка в скелетных мышцах, что, в свою очередь, сказалось и на повышении скорости отложения белков. С другой стороны, в работе Fuller et al. (1987) не было отмечено существенных изменений в обновлении белков у растущих свиней в условиях, когда отложение белка варьировалось за счет изменения

уровня первой лимитирующей аминокислоты - лизина на изокалорийных рационах.

Измерения обновляемости белков у человека в период после кратковременного изменения в уровне потребления белка показывают, что скорость синтеза белков тела увеличивается при повышении потребления белка как при обычном кормлении, так и при голодании (в постабсорбционном состоянии) (Young et al., 1983). С другой стороны, окисление аминокислот увеличивается по мере повышения потребления только в условиях обычного кормления. Это позволяет предположить, что увеличенное отложение белков первоначально может достигаться за счет повышенного синтеза, и что деградация белка и окисление избыточных аминокислот могут повышаться, только если этот процесс насыщен (Saggau et al., 2000). В исследованиях по влиянию 3-дневного голодания на метаболизм белков у животных также было показано снижение синтеза общего белка в теле на 37%, в то время как степень синтеза белка в мышцах прогрессивно падала в зависимости от продолжительности голодания (3 и более дней) (Jepson et al., 1986). Напротив, скорость деградации фракции белков в мышцах снижалась после двух дней голодания, но через четыре дня была в 4 раза выше, чем в контроле. Последний факт указывает на то, что мышечные белки несут функцию донора энергетических субстратов и аминокислот для поддержания функции в других органах во время длительного голодания.

При обсуждении влияния уровня потребления протеина на белковый синтез в работе Waterlow, Jackson (1981) постулировалось существование некоторого порогового уровня потребления протеина; выше этого уровня белковый синтез может несколько изменяться, ниже этого порога белковый синтез снижается.

В исследованиях, проведенных в Корнельском университете (Beermann et al., 1997), показано, что с увеличением количества казеина, инфузируемого в сычуг бычков, пропорционально увеличивается ретенция азота. При введении в сычуг бычков 90 г казеина в сутки ретенция азота достигала величины 64,6 г. Другими исследованиями (Vodine et al., 2003; Cole et al., 2003) было доказано увеличение ретенции азота у растущих бычков при улучшении обеспеченности процессов метаболизма аминокислотами за счет использования рационов с низкой распадаемостью протеина. Эти и другие данные свидетельствуют, что у растущих животных одним из факторов, лимитирующих интенсивность процессов биосинтеза компонентов мяса, является количество аминокислот и глюкозы, поступающее из желудочно-кишечного тракта в метаболический пул организма. Поступление в организм животных аминокислот, в частности, с разветвленной цепью, оказывает берегающее действие в отношении белка тела (Loest et al., 2001). В исследованиях Яновича и Вовка (1989) идентифицированы биохимические механизмы, определяющие использование аминокислот в метаболизме

энергии в клетке. Предполагают, например, что при поступлении аминокислот белок-сберегающий эффект последних может проявляться либо в снижении скорости распада белка, либо в увеличении скорости синтеза последнего или одновременном изменении интенсивности этих процессов в направлении увеличения скорости аккреции белка. Изменения в интенсивности синтеза белка, кроме того, могут быть связаны с увеличением или понижением скорости потока аминокислот. Авторы склонны считать, что поступление последних из желудочно-кишечного тракта оказывает белок-сберегающий эффект в организме стимуляцией синтеза белка, без изменения скорости его распада. В противоположность поступающим из желудочно-кишечного тракта аминокислотам, введение глюкозы увеличивает реутилизацию аминокислот, высвобождаемых при разрушении белка. Более эффективная реутилизация аминокислот, в свою очередь, приводит к снижению их окисления (Swanson et al., 2002; Orskow et al., 2002). Белок-сберегающий эффект глюкозы более выражен, поскольку, кроме указанных изменений, происходит снижение скорости распада белка (Янович и др., 1989).

В исследованиях Moldawer et al. (1981) продемонстрировано также, что введение глюкозы в организм не влияет на скорость синтеза белка всего тела, но значительно повышает таковую в скелетных мышцах. Аналогичные данные получены в опытах на растущих бычках (Еримбетов и др., 2003), где также установлено, что дополнительное поступление глюкозы в метаболический пул организма, за счет введения в их рацион крахмала с пониженной распадаемостью в рубце, повышало скорость синтеза белка в скелетных мышцах и эффективность синтеза мышечных белков.

Оценивая влияние анаболических агентов на метаболизм белков в мышечной ткани, целесообразно соотнести обмен мышечного белка с общим белковым обменом тела. Результаты сравнительного анализа предполагают, что участие мышечных тканей в целом белковом обмене организма в период нормального роста и развития идет по возрастающей. Кроме того, по достижении зрелости уровень синтеза белка в мышцах приближается к таковому в печени. Необходимо отметить также, что обмен мышечного белка составляет примерно 1/4 от метаболизма белков всего организма.

Поскольку на общий обмен белка в теле животного расходуется значительная доля обменной энергии, обмен мышечных белков в норме должен обуславливать существенную часть основных энергетических потребностей организма (Pencharz, 1983).

В конечном итоге эти исследования направлены на поиск оптимальных условий для интенсивного и эффективного синтеза белка и снижения процессов липогенеза в организме продуктивных животных.

Таким образом, обзор литературы по регуляции обмена белка и азотистых соединений в организме молодняка крупного рогатого ско-

та и свиней свидетельствует о необходимости более детального изучения всех основных факторов, регулирующих продуктивные качества животных, с целью раскрытия и идентификации механизмов, управляющих этими процессами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Millward DJ, Garlick PJ, Reeds PJ. The energy cost of growth. *Proc. Nutr. Soc.*, 1976, 35: 339-349.
2. Schoonmaker JP, Cecava MJ, Faulkner DB. et al. Effect of source of energy and rate of growth on performance, carcass characteristics, ruminal fermentation, and serum glucose and insulin of early-weaned steers. *J. Anim. Sci.*, 2003, 81: 843-855.
3. Garlick P.J., Preedy V.R., Reeds P.J. Regulation of protein turnover in vivo by insulin and amino acids. 5 th International symposium on intracellular protein catabolism. Liss. New York, 1985: 55-564.
4. Palmer RM, Bain P.A., Reeds P.J. The effect of insulin and intermittent mechanical stretching on rates of protein synthesis and degradation in isolated rabbit muscle. *Biochem. J.*, 1985, 230: 117-123.
5. Skjaerlund D.M., Mulwaney D.R., Mas R.H. et al. Measurement of protein turnover in skeletal muscle strips. *J. Anim. Sci.*, 1988, 66: 687-698.
6. Young V.R. Hormonal control of protein metabolism with particular reference to body protein gain. Protein deposition in animals. P.J. Buttery and D.B. Lindsay (Eds.). Butterworths, 1980:167-191.
7. Pell JM, Elcock C, Walsh A. Potentiation of growth hormone activity using a polyclonal antibody of restricted specificity. In: *Biotechnology in growth regulation*. London, 1989: 259-265.
8. Dawson JM, Greathead HMR, Graigon J. et al. The interaction between nutritional status and growth hormone in young cattle: Differential responsiveness of fat and protein metabolism. *Brit. J. Nutr.*, 1998, 79: 275-286.
9. Helferich W.G., Jump D.B., Skjaerlund W.G. et al. Pretranslational regulation of skeletal muscle alpha actin synthesis in pigs fed ractopamine. *FASEB J*, 1988, 2: A848.
10. Chikhou F.H., Moloney A.P., Austin F.H., Roche J.F. Nitrogen balance, urinary 3-methylhistidine excretion and diet digestibility in friesian steers fed cimaterol. *Irish J. of Agric. Res.*, 1991, 30: 99-112.
11. Еримбетов К.Т. Метаболизм азотистых веществ и количественные аспекты синтеза и катаболизма белков скелетных мышц у бычков при введении кленбутерола. Дисс. на соискание ученой степени кандидата биологических наук. Боровск, 1997.
12. Higgins J.A., Lasslett Y.V., Bardsley R.G., Buttery P.J. The relation between dietary restriction or clenbuterol (a selective β -agonist) treatment on muscle growth and calpain proteinase (EC 3.4.22.17) and calpastatin activities in lambs. *Brit. J. of Nutr.*, 1988, 60: 645-652.
13. Wang S.Y., Beerman O.H. Reduced calcium-dependent proteinase activity in cimaterol-induced muscle hypertrophy in lambs. *J. Anim. Sci.*, 1988, 66: 2545-2550.

14. Carson A.F., Elliott C.T., Mackie D.P. et al. Active immunization of lambs with a monoclonal antibody against clenbuterol. *Liv. Prod. Sci.*, 2001, 68: 87-91.
15. Han Zheng–Kang Chen Jie, Ai Xiao–jie. Влияние кленбутерола на обмен азота и летучих жирных кислот в печени овец. *J. Nanjing Agr. Univ.*, 2002, 25: 65-68.
16. Buttery P.J., Vernon B.G. Aspects of protein metabolism and its control. *Liver. Prod. Sci.*, 1980, 7: 111-120.
17. Hayse K., Yonekawa G., Yoshida A. Effects of thyroid hormone on turnover of tissue proteins in rats. *Nutr. Rep. Int.*, 1987, 35: 393-404.
18. Рендаков Н.Л., Тютюнник Н.Н., Сироткина Л.Н. и др. Тиреоидные гормоны и активность лизосомальных протеолитических ферментов в органах песка *Alopex lagopus* L. *Журн. эволюц. биохимии и физиологии* 2003, 39, 3: 234-236.
19. Rumsey T.S., Hammond A.C., Elsasser T.H. Responses to an estrogenic growth promoter in beef steers fed varying nutritional regimens. *J. Anim. Sci.*, 1999, 77 (11): 2865-2872.
20. Crompton L.A., Lomax M. A. The relation between hindlimb muscle protein metabolism and growth hormone, insulin, thyroxine and cortisol in growing lambs. *Proc. Nutr. Soc.*, 1987, 46: 45A.
21. Krawielitzki K., Kreienbring F., Kowalczyk J. e.a. Protein metabolism in farm animals. *J. Anim. Physiol .a. Anim. Nutr.*, 1996, 76: 57-65.
22. Sampson D.A., Sansen G.R. Protein synthesis during lactation: no circadian in mammary gland and liver of rats fed diets varying in protein quality and level of intake. *J. Nutr.*, 1984, 114: 1470-1478.
23. Saggau E., Schadereit R, Beyer M. et al. Effects of dietary protein quality on protein turnover in growing pigs. *J. Anim. Physiol .a. Anim. Nutr.*, 2000, 84: 29-42.
24. Roy N., Lapierre H, Bernier JF. Effects of dietary lysine on protein turnover in growing barrows. *Proc. Nutr. Soc.*, 1997, 56: 176.
25. Wessels RH, Titgemeyer E.C. Protein requirements of growing steers limit-fed corn-based diets. *J. Anim. Sci.*, 1997, 75 (12): 3278-3286.
26. Rossi JE, Loerch SC, Keller HL, Willett L.B. Effects of dietary crude protein concentration during periods of restriction on performance, carcass characteristics, and skeletal muscle protein turnover in feedlot steers. *J. Anim. Sci.*, 2001, 79 (12): 3148-3157.
27. Fuller MF, Reeds PJ, Cadenhead A. et al. The form of response of body protein accretion to dietary amino acid supply. *Br.J.Nutr.*, 1987, 58 : 287-300.
28. Young VR, Munro H.N., Matthews DE, Bier D.M. Protein and energy intake in relation to protein turnover in man. In: Waterlow J.C., Stephen J.M.L. (eds), *Nitrogen metabolism in man*. Appl. Sci. Publ., London. 1983: 419-447.
29. Jepson M, Pell JM, Millward D.S. The effect of fasting in the acute response of protein synthesis in muscle and liver to the *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *Proc. Nutr. Soc.*, 1986, 45: 36A.
30. Waterlow J.C., Jackson A.A. Effects of protein intake on protein turnover in man. *Brit. Med. Bulletin.*, 1981, 37: 5-10.

31. Beermann D.H., Robinson T.F., Knaus W.F., Fox D.G. Formulation of protein supplements to provide ideal amounts of absorbed amino acids in growing cattle. Proceedings 1997 Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers. Cornell University, Ithaca, NY, 1997: 172-180.
32. Bodine T.N., Purvis H.T. Effects of supplemental energy and/ or degradable intake protein on performance, grazing behavior, intake, digestibility, and fecal and blood indices by beef steers grazed on dormant native tallgrass prairie. J. Anim. Sci., 2003, 81 (1): 304-317.
33. Cole N.A., Greene L.W., McCollum F.T. et al. Influence of oscillating dietary crude protein concentration on performance, acid-base balance, and nitrogen excretion of steers. J. Anim. Sci., 2003, 81 (11): 2660-2668.
34. Loest C.A., Titgemeyer E.C., Lambert B.D., Trater A.M. Branched-chain amino acids for growing cattle limit-fed soybean hull-based diets. J. Anim. Sci., 2001, 79 (10): 2747-2753.
35. Янович В.Г., Вовк С.И. Использование аминокислот в энергетических процессах у сельскохозяйственных животных. Вестник с.-х. науки, 1989, 2: 138-143.
36. Swanson K.C., Richards C.J., Harmon D.L. Influence of abomasal infusion of glucose or partially hydrolyzed starch on pancreatic exocrine secretion in beef steers. J. Anim. Sci., 2002, 80: 1112-1116.
37. Orskow E.R. et al. Effect of glucose supply on fasting nitrogen excretion and effect of level and type of volatile fatty acid infusion on response to protein infusion in cattle. Brit. J. Nutr., 1999, 81: 389-393.
38. Moldawer L.L., Sakamoto A., Blackburn G.L. et al. Alterations in protein kinetics produced by branched chain amino acid administration during infection and inflammation. Metabolism and clinical implications of branched chain amino and cetoacids. Proc. Int. Symp. Charleston, S.C. Nov. 15-16, 1980. New York e.a. – Elsevier North Holland Walser, 1981: 533.
39. Еримбетов К.Т., Шариева Д.И., Обвинцева О.В. Количественные аспекты обмена белков у растущих бычков в связи с разным качеством крахмала корма. Матер. 2 Межд. Научно-практ. Конф. «Актуальные вопросы зоотехнической науки и практики как основа улучшения продуктивных качеств и здоровья с.-х. животных», Ставрополь, 2003: 50-56.
40. Pencharz P.B. Protein turnover in children studied using ¹⁵N. ZFY, Mitt. 1983, 77: 120-139.

МЕТАБОЛИЗМ БЕЛКОВ В ОРГАНИЗМЕ РАСТУЩИХ СВИНЕЙ ПРИ РАЗНОМ КОЛИЧЕСТВЕ ПРОТЕИНА И ЛИМИТИРУЮЩИХ АМИНОКИСЛОТ В РАЦИОНЕ

К.Т. Еримбетов, Н.С.-А. Ниязов, О.В. Обвинцева, Д.И. Шариева
Лаборатория белково-аминокислотного питания

Увеличение уровня лизина, метионина и треонина на 5 % по сравнению с существующими нормами при одновременном снижении содержания протеина на 8 % в рационе поросят в период дорацива-

ния позволило повысить отложение и эффективность синтеза белка в теле со 114 до 120 г в сутки и с 38,0 до 39,1 %, соответственно. При этом затраты сырого протеина на 1 кг прироста были на 12% ниже по сравнению с контролем.

Введение

В настоящее время усилия исследователей направлены на совершенствование системы питания свиней на основе новых подходов к оценке питательности кормов и рационов. Несомненно, что решение этой проблемы кроется в уточнении потребности свиней в питательных и биологически активных веществах. Оптимизация протеинового питания с учетом научно обоснованного снижения уровня протеина в рационах, при условии повышения его биологической ценности за счет балансирования синтетическими аминокислотами, позволит уменьшить загрязнение окружающей среды азотом и, с другой стороны, повысить эффективность использования в кормлении свиней зерна злаковых культур, содержащих низкий уровень протеина. Доказано, что биологическая полноценность протеина в рационе определяется не содержанием самих белков, а их аминокислотным составом, особенно незаменимых аминокислот. При этом величины усвояемости аминокислот должны соответствовать потребностям животных в них при минимальном содержании протеина в их рационе. Оптимизация условий белково-аминокислотного питания свиней, и особенно гибридных свиней нового поколения, привлекает внимание многих известных ученых (Susenbeth et al., 1999; Smith et al., 1999; Nico P. Lenis et al., 1999; Flynn et al., 2000; Boisen et al., 2000; Gomez et al., 2002a; Warnants et al., 2001).

Нормы потребности свиней в аминокислотах при выращивании и откорме, приведенные в справочном пособии «Нормы и рационы кормления с.-х. животных» (2003), установлены при оптимальных уровнях протеина в рационах. В исследованиях по использованию в кормлении свиней рационов с низким уровнем протеина, но сбалансированных добавками аминокислот до состава «идеального» протеина, получены довольно противоречивые данные, особенно по динамике прироста мышечной массы и отложению белка в организме животных. Так, в исследованиях Gomez et al., (2002b) и Smith et al. (1998) сообщалось о снижении массы мышц и отложения белка в теле у свиней, получавших рационы с «идеальным» протеином. С другой стороны, в работах Tuitoeck et al. (1997) и Knowles et al. (1998) не было выявлено существенных изменений в массе мышц и отложении белка в теле свиней при скармливании низкопротеиновых рационов с добавками аминокислот, тогда как в исследованиях Piva et al. (1993), Grandhi, Nyachoti, (2002) отмечено повышение выхода мяса и ретенции азота у помесей, получавших рационы с «идеальным» протеином.

Это свидетельствует об актуальности научных поисков как по созданию оптимальных условий для интенсивного синтеза белка и снижения процессов липогенеза в тканях, т.е. процессов, определяющих формирование мясных качеств свиней, так и о необходимости выявления оптимального соотношения протеина и аминокислот на низкопротеиновых рационах и накоплении сведений о параметрах метаболизма и биосинтеза компонентов мяса с целью создания системы питания свиней.

В связи с вышеизложенным в задачу исследований входило изучение интенсивности и направленности метаболизма азотистых веществ и количественных параметров синтеза, распада и отложения белков тела у помесных свиней в период дорастивания при разных уровнях протеина и лимитирующих аминокислот в рационах с целью установления их оптимального соотношения.

Материал и методы

Для решения поставленных задач был проведен опыт в условиях вивария института на помесных поросятах-боровках (крупная белая × ландрас; крупная белая × Ріс-402). По принципу парных аналогов с учетом живой массы и интенсивности роста после уравнивающего периода в возрасте 70 дней (живая масса 24-25 кг) были сформированы три группы по 13 голов в каждой. Содержание групповое в клетке, поение из автопоилок. Опыт продолжался до достижения живой массы 42-44 кг.

Животные 1-й (контрольной) группы получали сбалансированные по питательным веществам рационы, с содержанием сырого протеина и лимитирующих аминокислот (в 1 кг корма) в период дорастивания – 172 г (17,2%), лизина – 7,7 г, треонина – 5,2 г, метионин+цистин – 4,6 г согласно существующим нормам (А.П. Калашников и др., 2003). В комбикормах свиней 2-й (опытной) группы концентрация сырого протеина была снижена на 8 % (в 1 кг корма содержалось сырого протеина – 159 г, лизина – 8,1 г, треонина – 5,46 г, метионин+цистин – 4,85 г, а в 3-й (опытной) группе – на 11% (в 1 кг корма сырого протеина – 154 г, лизина – 8,1 г, треонина – 5,46 г, метионин+цистин – 4,85 г,) за счет пропорционального уменьшения количества высокобелковых кормов в рационе животных этих групп. Соотношения незаменимых аминокислот к лизину приведены в таблице 1. Вместе с тем, содержание лимитирующих аминокислот – лизина, метионина и треонина в комбикормах свиней 2-й и 3-й групп повысили на 5 % по сравнению с существующими нормами (и уровнем в контрольной группе) путем дополнительного введения в рацион синтетических аминокислот. При этом уровень обменной энергии был одинаковым во всех исследуемых группах.

Таблица 1. Соотношение аминокислот к лизину в кормах для поросят в период доращивания

Аминокислоты	Группы		
	1-я (контроль)	2-я (опыт)	3-я (опыт)
Лизин	100	100	100
Метионин + Цистин	59,7	59,9	59,9
Треонин	67,5	67,4	67,4
Триптофан	30,1	27,3	26,2
Изолейцин	86,5	78,2	74,7
Валин	97,2	90,1	87,4
Лейцин	144,3	135,2	131,5
Гистидин	49,9	44,5	43,1
Лизин, в г на МДж обменной энергии	0,63	0,67	0,67

В течение опыта учитывали потребление комбикормов, расход корма на единицу прироста и периодически исследовали их химический состав. С целью контроля за ростом и развитием подопытных животных поросят взвешивали в начале и в конце опыта.

Для характеристики усвоения азота корма и эффективности его использования свиньями был проведен балансовый опыт на 3-х животных из каждой группы в возрасте 105-110 дней. В ходе балансового опыта определяли скорость синтеза и распада общих белков тела по методу Кравилитцки (1976) с использованием ^{15}N -аминокислот. После проведения балансового опыта был проведен убой животных (по 4 головы из каждой группы) с последующей обвалкой туш для определения убойных качеств и взятия образцов крови, печени, подкожного жира, длиннейшей мышцы спины и гомогената мышц.

Для характеристики метаболизма азотистых веществ были определены: концентрация мочевины в плазме крови и моче по Coulambe, Fawcett (1963); концентрация свободных аминокислот в плазме крови, печени и длиннейшей мышце спины и содержание общих аминокислот в кормах и кале на аминокислотном анализаторе ААА-Т-339; активность аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы в длиннейшей мышце спины и печени по Reitman, Franke (1967); содержание креатинина в плазме крови и моче по Лемперт (1968). Химический анализ мышечной ткани (сухое вещество, азот, липиды) проводили по общепринятым методам (Лебедев, Усович, 1976). В пробах длиннейшей мышцы спины определяли также белковые фракции (саркоплазматические, миофибриллярные и стромальные белки) по Helander (1957). В ходе опыта был проведен анализ кормов, кала и мочи на содержание сухого вещества и азота по общепринятым методам и с использованием изотопных (^{15}N) соединений.

Математическую обработку данных проводили стандартными методами (Овсянников, 1976).

Результаты и обсуждение

Исследования показали, что использование в кормлении растущих свиней разных уровней протеина и аминокислот в рационе неадекватно сказалось на приросте живой массы тела и метаболизме азотистых веществ в их организме в период доращивания. Снижение уровня протеина на 8 % и повышение содержания лизина, метионина и треонина на 5 % от нормы способствовало увеличению среднесуточного прироста живой массы на 5 % (табл. 2). Затраты сырого протеина на 1 кг прироста были на 12 % ниже по сравнению с контролем. Эта тенденция сохранялась и по расходу кормов. Однако, при снижении уровня протеина на 11 % и повышении содержания лизина, метионина и треонина на 5 % отмечалась тенденция к снижению среднесуточного прироста живой массы на 4 %. При этом затраты сырого протеина на

Таблица 2. Живая масса, среднесуточный прирост и расход корма у поросят в период доращивания

Показатели	Группы		
	1-я (контроль)	1-я (опыт)	2-я (опыт)
Живая масса в начале периода, кг	24,16±1,01	24,31±0,79	24,61±0,97
Живая масса в конце периода, кг	42,53±1,62	43,55±1,16	42,18±2,26
Прирост живой массы, кг	18,37±1,06	19,24±0,97	17,57±2,76
Среднесуточный прирост, г	539±31	566±28	517±81
Потреблено корма на 1 гол., кг	52,01	52,10	51,3
Расход корма на 1 кг прироста, кг	2,84	2,71	2,92
Расход ОЭ,МДж/кг прироста	36,3	34,6	37,3

1 кг прироста также были на 6% ниже по сравнению с контролем. Следовательно, от дальнейшего снижения уровня сырого протеина в комбикорме ожидаемого положительного эффекта на приросты и расход корма в данном опыте не получили.

Известно, что величина отложения белков в теле зависит от соотношения интенсивности двух противоположных процессов – синтеза и распада белков. Данные наших опытов свидетельствуют, что увеличение прироста живой массы свиней 2-й опытной группы по сравнению с контролем обусловлено большей активностью биосинтетических процессов в их организме. Из таблицы 3 следует, что повышение уровня лизина, метионина и треонина на 5 % по сравнению с существую-

щими нормами, при одновременном снижении содержания протеина на 8 % в рационе поросят, позволило повысить интенсивность синтеза и отложения белка в теле на 2,3 и 5 %, соответственно. Эффективность белкового синтеза, рассчитанная как отношение отложенного к синтезированному белку при этом возросла незначительно - с 38,0 до 39,1 % во 2-й опытной группе по сравнению с контролем. При расчете количественных параметров обмена белков на кг метаболической массы тела поросят получены аналогичные результаты.

В исследованиях других авторов (Saggau et al., 2000) было также показано увеличение отложения и скорости синтеза белков тела у свиней при выращивании на низкопротеиновых рационах, обогащенных незаменимыми аминокислотами.

Таблица 3. *Метаболизм белков тела у поросят в период дорацивания, г/сут*

Показатели	Группы		
	1-я (контроль)	2-я (опыт)	3-я (опыт)
Синтез	300 ± 8,5	307 ± 6,2	290 ± 4,9
Распад	186 ± 6,6	187 ± 5,5	180 ± 3,8
Отложение	114 ± 3,9	120 ± 5,1	110 ± 3,0
Эффективность синтеза, %	38,0	39,1	37,9
Отношение синтез/распад	1,62	1,65	1,60
В расчете на кг метаболической массы тела поросят			
Синтез	17,92	18,11	17,86
Распад	11,11	11,03	11,08
Отложение	6,81	7,08	6,78

По степени использования азота корма различия между группами имели ту же направленность, что и по показателям метаболизма белков тела. Животные 2-й опытной группы превосходили контрольных по эффективности использования азота в обменных процессах при некотором снижении переваримости протеина корма (табл. 4). При этом использование азота как от принятого, так и переваренного было выше у свиней 2-й опытной группы по сравнению с контролем. Однако у поросят 3-й опытной группы по сравнению с контролем отмечалась тенденция к снижению ретенции азота в теле, вследствие низкой переваримости азотистых веществ корма. Снижение переваримости протеина корма в опытных группах было связано с различием в пропорции белковых кормов и ячменя, которые входили в состав комбикорма. О снижении переваримости протеина корма у свиней, получавших низкопротеиновые рационы с добавками аминокислот, в сравнении с контрольным рационом, сообщалось ранее (Kerr, Easter, 1995; Gomez et al., 2002 a).

Таблица 4. *Использование азота корма поросятами в период дорацивания*

Показатели	Группы		
	1-я (контроль)	2-я (опыт)	3-я (опыт)
Принято азота с кормом:			
г / сут	46,8 ± 0,94	43,4 ± 0,00	42,1 ± 0,00
г / кг ЖМ ^{0,75}	2,80 ± 0,09	2,57 ± 0,06	2,60 ± 0,09
Выделено, г / сут:			
с калом	9,01 ± 0,39	8,78 ± 0,87	9,21 ± 0,91
с мочой	19,58 ± 0,76	15,50 ± 1,44*	15,32 ± 0,91*
Переварено:			
г / сут	37,79 ± 0,96	34,62 ± 1,10	32,89 ± 1,03*
%	80,75	79,77	78,13
Отложено в теле:			
г / сут	18,21 ± 0,46	19,12 ± 0,81	17,57 ± 0,48
г / кг ЖМ ^{0,75}	1,09 ± 0,02	1,13 ± 0,05	1,085 ± 0,03
% от принятого	38,91 ± 1,56	44,06 ± 1,98	41,74 ± 1,79
% от переваренного	48,19 ± 1,21	55,23 ± 2,10*	53,42 ± 1,78*
Отношение N мочи/N принятому с кормом	0,40	0,36	0,36
Отношение N мочи/N переваренному	0,52	0,45	0,47

Здесь и далее * - $p < 0,05$

Данные по параметрам использования азота корма согласуются с данными по интенсивности роста свиней, которая в значительной степени обусловлена уровнем анаболических процессов азотистых соединений в организме животных. У опытных животных по сравнению с контролем снижение экскреции азота с мочой тесно коррелировало с содержанием мочевины в плазме крови – конечного продукта азотистого обмена. Содержание мочевины в плазме крови у поросят 2-й и 3-й опытных групп по сравнению с контролем было достоверно ниже на 15,2 и 19,4 %, соответственно, тогда как концентрация креатинина (метаболита, характеризующего массу скелетных мышц) – ниже у свиней 1-й группы (табл. 5). При этом активность аспаратаминотрансферазы (АСТ), являющейся интегрирующим ферментом в белковом синтезе, была выше в мышцах свиней 2-й опытной группы по сравнению с контролем, что свидетельствует о более эффективном использовании аминокислот в биосинтетических процессах в тканях.

Таблица 5. Концентрация метаболитов азотистого обмена в плазме крови и активность ферментов в длиннейшей мышце спины свиней

Показатели	Группы		
	1-я (контроль)	2-я (опыт)	3-я (опыт)
Мочевина, ммоль/л в плазме крови	4,79 ± 0,19	4,06 ± 0,18*	3,86 ± 0,29*
Креатинин, мкмоль/л в плазме крови	49,65 ± 2,96	53,40 ± 3,12	49,76 ± 2,03
Активность в длиннейшей мышце спины:			
аспартатаминотрансферазы, мг пирувата натрия/г ткани	12,76 ± 1,89	15,23 ± 1,56	12,18 ± 1,45
аланинаминотрансферазы, мкг пирувата натрия/г ткани	1586 ± 120	1754 ± 154	1497 ± 101

В конечном итоге эти изменения в интенсивности и направленности метаболических процессов в организме свиней 2-й опытной группы по сравнению с контролем способствовали некоторому повышению интенсивности накопления мышечной массы, увеличению отложения белка в скелетных мышцах и улучшению их качественного состава, тогда как у поросят 3-й опытной группы эти показатели оставались на уровне контрольной группы (табл. 6, 7).

Таблица 6. Содержание белка и белковых фракций в скелетных мышцах и мышечная масса у свиней в период доращивания

Показатели	Группы		
	1-я (контроль)	2-я (опыт)	3-я (опыт)
Мышечная масса, кг	14,22 ± 0,36	15,57 ± 0,48	14,25 ± 0,29
Мышечный белок, кг	2,54 ± 0,18	2,81 ± 0,24	2,56 ± 0,16
Содержание общего белка в длиннейшей мышце спины, г%:			
саркоплазматических	20,89 ± 0,17	20,98 ± 0,21	20,92 ± 0,15
миофибриллярных	8,08 ± 0,09	8,10 ± 0,08	8,06 ± 0,10
стромальных	9,79 ± 0,11	9,97 ± 0,14	9,81 ± 0,10
	3,02 ± 0,09	2,91 ± 0,10	3,05 ± 0,08

Таблица 7. Химический состав мышц свиней, %

Показатели	Гомогенат мышц	
	Группы	Период доращивания
Сухое вещество	1-я (контроль)	29,48 ± 0,88
	2-я (опыт)	28,05 ± 0,69
	3-я (опыт)	29,59 ± 0,56
Белок	1-я (контроль)	17,87 ± 0,13
	2-я (опыт)	18,06 ± 0,16
	3-я (опыт)	17,98 ± 0,11

Заключение

Полученные нами данные свидетельствуют о перспективности использования низкопротеиновых рационов для свиней при условии балансирования аминокислотами состава протеина корма до уровня «идеального» протеина. Но при этом выяснилась необходимость выявления и оптимизации соотношения отдельных протеинов корма и лимитирующих аминокислот в рационе. Увеличение уровня лизина, метионина и треонина на 5 % по сравнению с существующими нормами при одновременном снижении содержания протеина на 8 % в рационе поросят в период дорастивания обеспечили лучшие характеристики метаболизма и биосинтеза компонентов мяса, а также позволили повысить отложение белка в теле на 5 % и снизить затраты сырого протеина на 1 кг прироста живой массы на 12 %, что подтверждает необходимость совершенствования условий аминокислотного питания помесных свиней.

ЛИТЕРАТУРА

1. Susenbeth A., Dickel T., Diekenhorst A. and Hohler D. Effect of Energy Intake, Genotype and Body Weight on Protein Retention in Pigs When Dietary Lysine Is the First-Limiting Factor. *J. Anim. Sci.*, 1999, 77: 2985-2989.
2. Smith J. W., Tokach M. D., O Quinn P. R., Nelssen J. L. and Goodband R. D. Effect of Dietary Energy Density and Lysine: Calorie Ratio on Growth Performance and Carcass Characteristics of Growing-Finishing Pigs. *J. Anim. Sci.*, 1999, 77: 3007-3015.
3. Nico P. Lenis, Hans T. M. van Diepen, Paul Bikker, Age W. Jongbloed and Jan van der Meulen. Effect of the Ratio Between Essential and Nonessential Amino Acids in the Diet on Utilization of Nitrogen and Amino Acids by Growing Pigs. *J. Anim. Sci.*, 1999, 77: 1777-1787.
4. Flynn N. E., Knabe D. A., Mallick B. K. and Wu G. Postnatal Changes of plasma amino acids in suckling pigs. *J. Anim. Sci.*, 2000, 78: 2369-2375.
5. Saggau E., Schadereit R., Beyer M. et al. Effects of dietary protein quality on protein turnover in growing pigs. *J. Anim. Physiol .a. Anim. Nutr.*, 2000, 84: 29-42.
6. Warnants N., Van Oeckel M.J., De Paepe M. Study of the optimum ideal protein level for weaned piglets. *J. Anim. Physiol .a. Anim. Nutr.*, 2001, 85: 356-368.
7. Grandhi R.R., Nyachoti C.M. Effect of true ileal digestible dietary methionine to lysine ratios on growth performance and carcass merit of boars, gilts and barrows selected for low backfat. *Can. J. Anim. Sci.*, 2002, 82: 399-407.
8. Boisen S., Hvelpund T., Weisbjerg M.R. Ideal amino acid profiles as a basis for feed protein evaluation. *Livestock production Sci.*, 2000, 64: 239-251.
9. Gomez R.S., Lewis A.J., Miller P.S. et al. Body composition and tissue accretion rates of barrows fed corn-soybean meal diets or low-protein, amino acid-

- supplemented diets at different feeding levels. *J. Anim. Sci.*, 2002, 80: 654-662b.
10. Gomez R.S., Lewis A.J., Miller P.S., Chen H.-Y. Growth performance, diet apparent digestibility, and plasma metabolite concentrations of barrows fed corn-soybean meal diets or low-protein, amino acid-supplemented diets at different feeding levels. *J. Anim. Sci.*, 2002, 80: 644-653a.
 11. Smith J.W., O'Quinn P.R., Goodband R.D., Tokach M.D., Nelssen J.L. The effects of low-protein, amino acid fortified diets, formulated on a net energy basis, on growth performance and carcass characteristics of finishing pigs. *J. Anim. Sci.*, 76 (Suppl. 2): 61 (Abstr.).
 12. Tuitoek K., Young L.G., De Lange C.F.M., Kerr B.J. The effect of reducing excess dietary amino acids on growing-finishing pig performance: an evaluation of the ideal protein concept. *J. Anim. Sci.*, 1997, 75: 1575-1583.
 13. Knowles T.A., Southern L.L., Bidner T.D., Kerr B.J., Friesen K.G. Effect of dietary fiber or fat in low-crude protein, crystalline amino acid-supplemented diets for finishing pigs. *J. Anim. Sci.*, 1998, 76: 2818-2832.
 14. Piva G., Prandini A., Ferrarini F. et al. Low protein diets and performances, carcass quality and nitrogen excretion of typical Italian heavy pigs. In: *Proc. First Int. Symp. On Nitrogen Flow in Pig Production and Environmental Consequences*. EAAP Publ. No. 69. Pudoc, Wageningen, The Netherlands. p 212.
 15. Kerr B.J., Easter R.A. Effect of feeding reduced protein, amino acid-supplemented diets on nitrogen and energy balance in grower pigs. *J. Anim. Sci.*, 1995, 73: 3000-3008.
 16. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных. Справочное пособие. Под ред. А.П. Калашникова, В.И. Фисинина, В.В. Щеглова, Н.И. Клейменова. М.: 2003: 456.
 17. Krawielitzki K. Bestimmung stoffwechselkinetischer Daten des Protein metabolismus aus Untersuchungen mit ¹⁵N – markierten Futtermitteln. *Arch. fur Tierernahrung*, 1976, Bd. 26, H.3, 161-169.
 18. Coulambe S.S., Favreon S. New the semimicro method determination of urea. *Clin. Chem.*, 1963, 1, 9: 23.
 19. Reitman S., Frankel S. A calorimetric method for the transaminases. *Am. J. Clin. Path.*, 1957, 1: 28.
 20. Лемперт М.Д. Биохимические методы исследования. Кишинев, 1968:18-20.
 21. Лебедев П.Т., Усович А.Т. Методы исследования кормов и тканей животных. М.: Россельхозиздат, 1976: 389.
 22. Helander E. On quantitative muscle protein determination sarcoplasm and myofibrile protein content of normal and atrophy skeletal muscle. *Acta physiological Scand.*, 1957, 41: 141.
 23. Овсянников А.И. Основы опытного дела в животноводстве М.: Колос, 1976: 210.

ВЛИЯНИЕ СБАЛАНСИРОВАННОСТИ РАЦИОНА ПО ПРОТЕИНУ И АМИНОКИСЛОТАМ НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИНЕРАЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ РАСТУЩИМИ СВИНЬЯМИ

Т.Н. Дворецкая, В.А. Матвеев, А.М. Коровяцкий
Лаборатория эндокринной регуляции обмена веществ и
продуктивности с.-х. животных

При снижении уровня протеина в рационе помесных поросят на 8%, по сравнению с существующими нормами, и увеличении уровня ряда незаменимых аминокислот на 5% наблюдались следующие отличия в ретенции минеральных элементов. В период доращивания у животных достоверно выше на 12,8% отложение магния ($P=0,014$) и тенденция к увеличению ретенции кальция на 15,5%; цинка на 4,7%; меди на 7,3%; селена на 5,6% и кобальта на 6,9%. В период откорма, когда продуктивный эффект был более выражен, установлены более значимые различия, в частности, достоверно выше было отложение магния – на 21,7%, цинка на 30,3% и тенденция к увеличению ретенции фосфора на 8,9%; кальция на 8,6%; марганца на 11,3%; меди на 40,2%; селена на 29,0% и кобальта на 28,6%. Анализ полученных данных свидетельствует о целесообразности уточнения норм потребности помесных свиней в минеральных элементах при оптимизации их аминокислотного питания.

Введение

В условиях адекватного физиологическим потребностям питания животные способны более полно реализовать потенциал мясной продуктивности на фоне снижения затрат корма на единицу продукции. Для этого необходимо полностью обеспечить потребности организма не только в основных питательных веществах и энергии, но и в незаменимых аминокислотах, витаминах, макро и микроэлементах (Петрушенко, 2004).

Большая роль в полноценном питании принадлежит макро- и микроэлементам. Минеральные вещества не могут синтезироваться в организме животного и, следовательно, обеспеченность ими обмена веществ полностью определяется условиями питания (Самохин, 2003). Существует определенная связь между минеральным и протеиновым питанием. Чем лучше сбалансирован рацион по минеральным элементам, тем выше эффективность использования азотистых веществ. В свою очередь и протеиновая полноценность рациона влияет на использование минеральных элементов. При одновременном повышении уровня кормления и содержания протеина в рационах улучшается ус-

воение и использование в организме кальция, фосфора, натрия и цинка (Лапшин, 1988).

Обогащение рационов синтетическими аминокислотами оказывает положительное воздействие на абсорбцию минеральных веществ корма (Кальницкий, 1985). Например, показано, что отложение фосфора в организме животных зависит от содержания в их рационе лизина. При дефиците лизина в рационе снижается степень усвоения фосфора, что ведет к уменьшению содержания фосфора в плазме крови. При этом замедляется рост откармливаемых свиней (Хохрин, 2002). На усвоение фосфора в некоторой степени влияет и соотношение лизина с другими аминокислотами и, прежде всего, с метионином. Нарушение оптимального соотношения между этими аминокислотами ведет к понижению отложения фосфора в теле животных (Григорьев, 1971).

Несмотря на определенный задел в изучении зависимости метаболизма аминокислот и минеральных веществ в организме помесных животных, многие аспекты изучены недостаточно. В связи с этим в целях дальнейшего совершенствования системы питания помесных свиней необходимо было определить параметры обмена минеральных веществ при разных уровнях протеина и незаменимых аминокислот в рационе и изучить связь между ними и показателями мясной продуктивности.

Материал и методы

Данная работа является частью комплексных исследований, выполненных сотрудниками ряда лабораторий с целью оптимизации питания гибридных свиней. Опыт проведен в условиях вивария института. Детально условия проведения эксперимента изложены в статье Еримбетова и соавторов в данном сборнике.

Для решения поставленных задач в пробах комбикормов (СК-5, СК-7), в моче и кале (110 и 205-суточный возраст) определяли концентрацию селена, меди, цинка, магния, марганца, кобальта на атомно-абсорбционном спектрометре «Квант Z.ЭТА», содержание общего фосфора – химическим методом с применением аммония метаванадата, и концентрацию общего кальция – методом фотометрического титрования. При анализе минеральных веществ в комбикорме и кале использовали сухое озоление биологического материала в муфельной печи, а минеральные элементы в моче определяли непосредственно на приборе, без предварительной подготовки. Методы определения минеральных веществ подробно изложены в методических указаниях (Кальницкий и др., 1988, Методы биохимического анализа, 1997).

Результаты и обсуждение

Результаты исследований показали, что снижение уровня протеина в рационе на 8% и повышение содержания лизина, треонина и метионина+цистина на 5% от нормы не только сохраняло, но и несколько увеличивало показатели мясной продуктивности у 2-й группы поросят, по сравнению с 1-й и 3-й группами. В частности, масса мякоти в туше свиней 2-й группы была выше, чем в 1-й и 3-й группах в период дорастивания на 6,3% и 12,8%, а в период откорма на 8% и 11%, соответственно. Следовательно, уровень протеина и аминокислот в рационе животных 2-й группы в большей степени отвечал их физиологическим потребностям и позволял более полно реализовать продуктивный потенциал.

Интенсивность и направленность метаболических потоков минеральных веществ в организме животных определяется количеством потребленных минеральных элементов, их доступностью к перевариванию и всасыванию в пищеварительном тракте, уровнем эндогенных поступлений элементов в пищеварительный тракт и величиной их экскреции с мочой.

Результаты исследований показали, что в связи с разным соотношением зерновых компонентов и шротов в составе комбикормов наблюдались некоторые различия между ними по содержанию ряда минеральных элементов (табл. 1). В частности в период дорастивания

Таблица 1. Содержание микроэлементов в комбикормах для 110 и 205-дневных поросят в период проведения балансовых опытов, мг/кг натурального корма

Показатели	Cu	Zn	Co	Mn	Mg	Se	Ca	P
Период дорастивания								
1-я группа	12,35	65,63	0,307	42,05	1035	0,211	9867	7091
2-я группа	11,98	66,65	0,315	37,12	1125	0,236	10390	6833
3-я группа	11,58	69,58	0,324	38,83	1051	0,21	10404	7629
Период откорма								
1-я группа	10,47	59,04	0,32	47,6	1127	0,205	9254	6953
2-я группа	11,12	64,9	0,298	48,1	1286	0,228	9354	7116
3-я группа	10,8	65,31	0,296	42,6	1253	0,218	9400	7507

наиболее значимые различия были по количеству марганца (на 11,3%), магния (на 8,7%), селена (на 11,8%), кальция (на 5,4%) и фосфора (на 7,6%). В комбикормах в период откорма различался уровень меди на 6,2%, цинка на 10,6%, кобальта на 7,5%, марганца на 10,5%, магния на 14,0%, селена на 11,2% и фосфора на 8,0%, однако вариабельность их

содержания не выходила за пределы общепринятых норм кормления свиней.

Соответственно наблюдались некоторые различия по потреблению животными разных групп отдельных макро- и микроэлементов (табл. 2-5). Показатель же «видимой» усвояемости, характеризующий доступность минеральных веществ к перевариванию и всасыванию, для большинства исследованных элементов существенно не различался между группами животных (табл. 2-5). Следовательно, на уровне пищеварительной системы интенсивность метаболизма минеральных веществ не зависела от уровня протеина и незаменимых аминокислот в рационе свиней, а, в первую очередь, определялась количеством потребленного элемента и его химической структурой. В частности, в период дорастивания у свиней всех групп «видимая» усвояемость фосфора, кальция, магния, марганца, цинка, меди, селена и кобальта была выше 60% (табл. 2, 3). Эти данные свидетельствуют о хорошей доступности минеральных веществ в этот период из состава комбикормов для обеспечения потребностей организма свиней.

В период откорма по сравнению с периодом дорастивания доступность из комбикорма фосфора, кальция, марганца, цинка, меди и кобальта существенно снизилась (рис. 1), что мы связываем с изменением состава компонентов в комбикорме и премиксе.

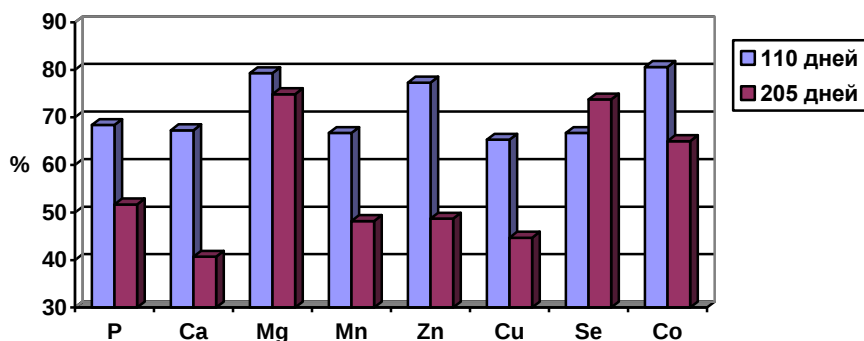


Рис. 1. «Видимая» усвояемость минеральных веществ свиньями контрольной группы в период дорастивания (110 дней) и откорма (205 дней).

Поступившие в метаболический пул организма животных минеральные вещества включаются в структурные и регуляторные компоненты клеток органов и тканей и частично выводятся из организма с мочой, пищеварительными соками и желчью. Соответственно при превышении потребностей организма сверх оптимальных происходит усиление экскреции минеральных веществ из организма. Выделение минеральных элементов с пищеварительными соками и желчью составляет

Таблица 2. Параметры среднесуточного обмена макроэлементов в организме 110-дневных поросят в период доращивания

Показатели	1-я группа	2-я группа	% к 1 гр.	3-я группа	% к 1 гр.
фосфор					
Поступило с кормом, г	12,05±0,0	11,62±0,0	101,4	12,97±0,0	113,2
Выделено с калом, г	3,80±0,41	3,78±0,43	99,5	4,39±1,02	115,5
Переварено, г	8,25±0,41	7,83±0,43	94,9	8,58±1,02	104,0
«Видимая» усвояемость, %	68,4±3,43	67,4±3,72	98,5	66,1±7,9	96,6
Выделено с мочой, мг	162,6±40	174,9±24	107,6	140,9±47	86,6
Отложено, г	7,89±0,67	7,66±0,45	97,1	8,44±1,05	107,0
кальций					
Поступило с кормом, г	16,77±0,0	17,66±0,0	105,3	17,69±0	105,5
Выделено с калом, г	5,48±0,73	5,43±0,63	99,1	6,89±0,69	125,7
Переварено, г	11,29±0,73	12,23±0,63	108,3	10,80±0,69	95,7
«Видимая» усвояемость, %	67,3±4,38	69,3±3,57	103,0	61,0±3,90	90,6
Выделено с мочой, мг	130,5±18	139,6±17	107,0	121,3±32	92,9
Отложено, г	10,47±0,44	12,09±0,64	115,5	10,67±0,71	101,9
магний					
Поступило с кормом, г	1,76±0,0	1,91±0,0	108,5	1,79±0,0	101,7
Выделено с калом, г	0,36±0,044	0,39±0,035	108,3	0,41±0,054	113,9
Переварено, г	1,40±0,04	1,52±0,034	108,6	1,38±0,054	98,6
«Видимая» усвояемость, %	79,3±2,50	79,7±1,83	100,5	77,1±3,01	97,2
Выделено с мочой, мг	105,7±9,64	111,6±3,3	105,6	107,0±20,0	101,2
Отложено, г	1,25±0,021	1,41±0,032	112,8	1,27±0,069	101,6

так называемые эндогенные потери их. Для определения их разработаны довольно сложные методы исследования, включая специальную подготовку животных и применение изотопов, которые не всегда можно применить в исследовательской работе. Другой путь выведения минеральных элементов - с мочой, также отражает в определенной мере степень обеспеченности организма минеральными веществами и он обычно применяется при проведении экспериментов на животных.

Результаты опыта свидетельствуют, что у свиней в период доращивания с мочой выделялось менее 4% от поступившего из пищеварительного тракта в метаболический пул фосфора, кальция, марганца и цинка, 6-7% магния, около 17% меди и более 25% селена и кобальта (рис. 2). При этом существенных различий между группами животных по этому параметру не установлено. Эти результаты можно рассматривать с двух позиций. По-видимому, соотношение между двумя путями выведения минеральных элементов из организма животных (через пищеварительный тракт или через почки) различно для разных элементов, что связано с различиями их метаболизма и характером соединений, в составе которых они выводятся. С другой стороны уровень выведения

минерального элемента с мочой может отражать степень обеспеченности им потребностей организма.

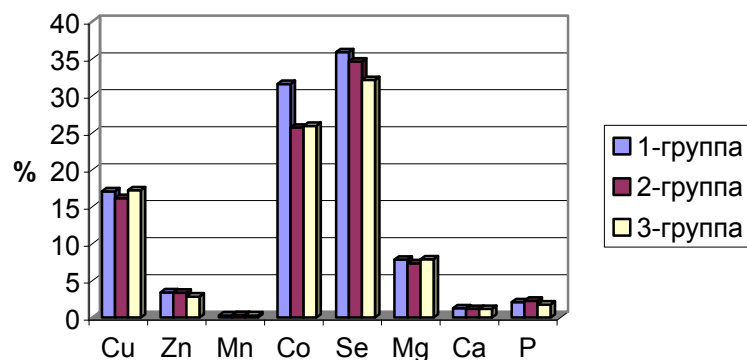


Рис.2 Отношение количества выделенных с мочой минеральных элементов к их количеству, поступившему из пищеварительного тракта, у поросят в период дорацивания, %

Таблица 3. Параметры среднесуточного обмена микроэлементов в организме 110-дневных поросят в период дорацивания

Показатели	1-ая группа	2-ая группа	% к 1 гр.	3-я группа	% к 1 гр.
марганец					
Поступило с кормом, мг	71,49±0,0	63,14±0,0	88,3	66,01±0,0	92,3
Выделено с калом, мг	23,83±1,6	25,06±3,1	105,2	26,9±2,23	112,9
Переварено, мг	47,65±1,64	38,1±3,14	80,0	39,13±2,23	82,1
«Видимая» усвояемость, %	66,7±2,29	60,3±4,97	90,4	59,3±3,38	88,9
Выделено с мочой, мг	0,13±0,02	0,12±0,03	92,3	0,11±0,02	84,6
Отложено, мг	47,32±2,8	37,96±3,16	80,2	39,02±2,25	82,5
цинк					
Поступило с кормом, мг	111,57±0,0	113,31±0,0	101,6	118,29±0,0	106,0
Выделено с калом, мг	25,37±3,1	25,28±3,3	99,6	30,49±4,4	120,2
Переварено, мг	86,20±3,08	88,02±3,3	102,1	87,8±4,44	101,9
«Видимая» усвояемость, %	77,3±2,76	77,7±2,89	100,5	74,2±3,75	96,0
Выделено с мочой, мг	2,82±0,39	2,91±0,3	103,2	2,42±0,53	85,8
Отложено, мг	81,26±4,27	85,11±3,49	104,7	85,37±4,96	105,1
медь					
Поступило с кормом, мг	20,99±0,0	20,37±0,0	97,0	19,69±0,0	93,8
Выделено с калом, мг	7,28±0,9	6,76±1,18	92,9	7,84±1,06	107,7
Переварено, мг	13,72±0,90	13,61±1,18	99,2	11,85±1,06	86,4
«Видимая» усвояемость, %	65,3±4,28	66,8±5,82	102,3	60,2±5,39	92,2
Выделено с мочой, мг	2,18±0,28	2,13±0,20	97,7	1,91±0,6	87,6
Отложено, мг	10,69±0,78	11,47±1,33	107,3	9,93±1,62	92,9

продолжение таблицы 3					
	селен				
Поступило с кормом, мг	0,36±0,0	0,40±0,0	111,1	0,36±0,0	100,0
Выделено с калом, мг	0,12±0,02	0,11±0,02	91,7	0,13±0,03	108,3
Переварено, мг	0,24±0,02	0,29±0,02	120,8	0,23±0,03	95,8
«Видимая»	66,7±5,91	72,2±4,63	108,2	63,9±7,12	95,8
усвояемость, %					
Выделено с мочой, мг	0,12±0,02	0,11±0,02	91,7	0,13±0,03	108,3
Отложено, мг	0,18±0,04	0,19±0,02	105,6	0,19±0,02	105,6
	кобальт				
Поступило с кормом, мг	0,52±0,0	0,54±0,0	103,8	0,55±0,0	105,8
Выделено с калом, мг	0,10±0,01	0,11±0,02	110,0	0,12±0,01	120,0
Переварено, мг	0,42±0,01	0,42±0,02	100,0	0,43±0,01	102,4
«Видимая»	80,6±2,2	78,7±2,94	97,6	78,5±2,50	97,4
усвояемость, %					
Выделено с мочой, мг	0,13±0,01	0,11±0,01	84,6	0,11±0,02	84,6
Отложено, мг	0,29±0,02	0,31±0,01	106,9	0,32±0,03	110,3

Вероятно, на уровне стенки пищеварительной тракта нет механизмов, контролирующих уровень поступления минеральных веществ в метаболический пул.

Таблица 4. Параметры среднесуточного обмена макроэлементов в организме 205-дневных свиней в период заключительного откорма

Показатели	1-ая группа	2-ая группа	% к 1 гр.	3-я группа	% к 1 гр.
	фосфор				
Поступило с кормом, г	22,25±0,12	22,65±0,12	101,8	23,77±0,13	106,8
Выделено с калом, г	10,63±1,20	10,28±0,53	96,7	10,50±1,11	98,8
Переварено, г	11,50±1,19	12,37±0,62	107,6	13,27±1,24	115,4
«Видимая»	51,7	54,6	105,6	55,8	107,9
усвояемость, %					
Выделено с мочой, мг	316±48,4	202±12,5	63,9	219±26	69,3
Отложено, г	11,18±1,22	12,17±0,62	108,9	13,06±1,22	116,8
	кальций				
Поступило с кормом, г	29,46±0,15	29,78±0,16	101,1	29,77±0,16	101,1
Выделено с калом, г	17,48±0,86	16,88±0,84	96,6	17,32±1,17	99,1
Переварено, г	11,98±0,84	12,90±0,80	107,7	12,44±1,24	103,8
«Видимая»	40,7	43,3	106,4	41,8	102,7
усвояемость, %					
Выделено с мочой, мг	278±24	181±13,8	65,1	214±32	77,0
Отложено, г	11,70±0,87	12,71±0,79	108,6	12,23±1,26	104,5
	магний				
Поступило с кормом, г	3,59±0,019	4,09±0,021	113,9	3,97±0,021	110,6
Выделено с калом, г	0,90±0,039	1,04±0,045	115,6	1,07±0,119	118,9
Переварено, г	2,69±0,034	3,06±0,028	113,8	2,90±0,134	107,8
«Видимая»	74,9	74,8	99,9	73,0	97,5
усвояемость, %					
Выделено с мочой, мг	334±39,7	196±8,0	58,7	275±66,3	82,3
Отложено, г	2,35±0,073	2,86±0,030	121,7	2,63±0,153	111,9

Система контроля осуществляется на уровне регуляции интенсивности экскреции минеральных элементов с мочой, пищеварительными соками и желчью. Поэтому оценку уровня выделения минеральных элементов с мочой можно использовать для характеристики адекватности системы

Таблица 5. Параметры среднесуточного обмена микроэлементов в организме 205-дневных свиней в период заключительного откорма

Показатели	1-я группа	2-я группа	% к 1 гр.	3-я группа	% к 1 гр.
марганец					
Поступило с кормом, мг	151,5±0,8	153,1±0,8	101,1	134,9±0,7	89,0
Выделено с калом, мг	78,4±15,2	72,0±15,0	91,8	78,6±15,0	100,2
Переварено, мг	73,1±14,6	81,1±14,7	110,9	56,4±15,6	77,1
«Видимая» усвояемость, %	48,2	53,0	110,0	41,8	86,7
Выделено с мочой, мг	0,33±0,07	0,16±0,03	48,5	0,21±0,04	63,6
Отложено, мг	72,8±14,7	81,0±14,63	111,3	56,1±15,6	77,1
цинк					
Поступило с кормом, мг	188±0,98	207±1,1	110,1	207±1,1	110,1
Выделено с калом, мг	96,4±5,4	92,0±3,7	95,4	90,7±7,1	94,1
Переварено, мг	91,5±6,1	114,6±3,61	125,2	116,1±8,2	126,9
«Видимая» усвояемость, %	48,7	55,4	113,8	56,1	115,2
Выделено с мочой, мг	6,5±0,81	3,84±0,2	59,1	4,6±0,9	70,8
Отложено, мг	84,98±6,8	110,7±3,7	130,3	111,6±7,2	131,3
медь					
Поступило с кормом, мг	33,3±0,17	35,4±0,19	106,3	34,2±0,18	102,7
Выделено с калом, мг	18,4±1,8	18,1±2,6	98,4	18,9±1,2	102,7
Переварено, мг	14,9±1,65	17,33±2,46	116,3	15,31±1,38	102,8
«Видимая» усвояемость, %	44,7	49,0	109,6	44,8	100,2
Выделено с мочой, мг	7,2±0,45	2,33±0,19	32,4	3,39±0,46	47,1
Отложено, мг	10,7±1,9	15,0±2,3	140,2	11,9±1,04	11,2
селен					
Поступило с кормом,мг	0,65±0	0,73±0	112,3	0,69±0	106,1
Выделено с калом,мг	0,17±0,02	0,21±0,01	123,5	0,21±0,03	123,5
Переварено, мг	0,48±0,02	0,52±0,01	108,3	0,48±0,03	100,0
«Видимая» усвояемость, %	73,8	71,2	96,5	69,6	94,3
Выделено с мочой, мг	0,17±0,03	0,12±0,01	70,6	0,14±0,01	82,3
Отложено, мг	0,31±0,05	0,40±0,02	129,0	0,34±0,02	109,7
кобальт					
Поступило с кормом, мг	1,03±0,01	0,95±0,0	92,2	0,91±0,0	88,3
Выделено с калом,мг	0,36±0,03	0,31±0,04	86,1	0,30±0,03	83,3
Переварено, мг	0,67±0,03	0,64±0,04	95,5	0,60±0,03	89,6
«Видимая» усвояемость, %	65,0	67,4	103,7	65,9	101,4
Выделено с мочой, мг	0,33±0,07	0,19±0,04	57,6	0,19±0,03	57,6
Отложено, мг	0,35±0,05	0,45±0,08	128,6	0,41±0,04	117,1

питания животных. При избыточном поступлении минерального элемента в пищеварительный тракт в составе корма состояние гомеостаза может поддерживаться за счет усиления выделения их с мочой. Наши ранее проведенные исследования (Дворецкая и др., 2004) свидетельствуют, что при одинаковых условиях кормления различается интенсивность выведения с мочой некоторых элементов у помесных поросят крупная белая х ландрас и крупная белая х Рс-402. По-видимому, в целях практического использования данного критерия необходимо в дальнейших исследованиях определить оптимальные параметры выведения минеральных элементов с мочой у животных разного возраста и генотипа.

В период дорастивания не установлено достоверных различий между группами свиней по уровню выделения с мочой большинства исследованных минеральных веществ (рис. 2). Определена тенденция к снижению выведения с мочой селена и кобальта у животных опытных групп, что свидетельствует об увеличении потребности в этих элементах при снижении уровня протеина в рационе и его балансировании незаменимыми аминокислотами до уровня «идеального» протеина.

В период откорма свиней интенсивность и соотношение минеральных веществ, выделенных с мочой, аналогична таковой в период дорастивания (рис. 3). При этом у животных опытных групп в период

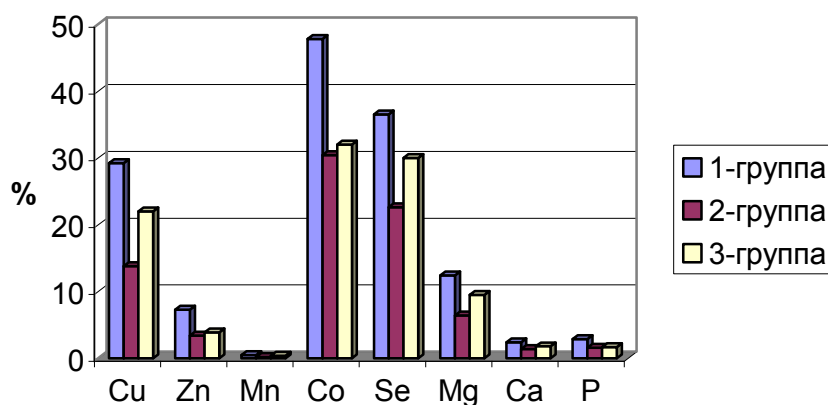


Рис. 3. Отношение количества выделенных с мочой минеральных элементов к их количеству, поступившему из пищеварительного тракта, у поросят в возрасте 205 дней, %

откорма сохранилась тенденция к более низкому уровню выделения с мочой кобальта и селена, а также несколько меньшему выделению с мочой и всех других минеральных элементов. У свиней всех групп в период откорма, аналогично как и в период дорастивания, доля выделения с мочой кальция, фосфора, марганца и цинка от их количества, по-

ступившего в метаболический пул, составляла менее 5%, то есть поступившие в организм свиней эти минеральные элементы практически полностью использовались в метаболическом пуле. Исходя из этого, можно полагать, что при использовании типовых комбикормов и премиксов для интенсивного выращивания и откорма помесных свиней целесообразно увеличение количества кальция, фосфора, марганца и цинка в рационе за счет их дополнительного введения.

В целях уточнения роли минеральных элементов в реализации продуктивного потенциала помесных свиней на фоне разной обеспеченности метаболизма аминокислотами провели анализ связи между отложением в теле животных макро- и микроэлементов и показателями мясной продуктивности. Установили, что у свиней 2-й группы, проявивших наилучшие показатели мясной продуктивности как в период дорастивания, так и откорма, по сравнению с контрольной группой наблюдались следующие отличия в ретенции минеральных элементов. В период дорастивания у них на 12,8% было выше отложение магния ($P=0,014$) и наблюдалась тенденция к увеличению ретенции кальция на 15,5%; цинка на 4,7%; меди на 7,3%; селена на 5,6% и кобальта на 6,9%. В период откорма, когда продуктивный эффект был более выражен, установлены более значимые различия. В частности, достоверно выше было отложение магния на 21,7% ($P \leq 0,004$), цинка на 30,3% ($P = 0,03$) и тенденция к увеличению ретенции фосфора на 8,9%; кальция на 8,6%; марганца на 11,3%; меди на 40,2%; селена на 29,0% и кобальта на 28,6%. На основании этих данных и с учетом незначительного выделения с мочой у свиней кальция, фосфора, цинка, марганца и магния можно предполагать о целесообразности уточнения норм потребности помесных свиней в минеральных элементах при оптимизации их аминокислотного питания.

В целом полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что для выращивания поросят целесообразно применять комбикорма с пониженным уровнем сырого протеина в период дорастивания и откорма при условии балансирования аминокислотного состава (лизина, треонина, метионина и цистина) протеина корма до уровня «идеального» протеина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Григорьев В.В. Использование свиньями кальция и фосфора из рационов в зависимости от обеспеченности их аминокислотами. Межд. симпозиум «Аминокислоты в животноводстве». Тезисы докладов ВНИИФБиП. Калуга, 1971: 81.
2. Дворецкая Т.Н., Матвеев В.А., Коровяцкий А.М. Обмен минеральных веществ в связи с интенсивностью роста свиней разных помесей. Труды ВНИИ физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных. Сборник экспериментальных статей. Боровск, 2004, 43: 227-237.

3. Кальницкий Б.Д. Минеральные вещества в кормлении животных. М.: Агропромиздат, 1985: 207.
4. Кальницкий Б.Д., Кузнецов С.Г., Батаева А.П. и др. Методические указания по изучению минерального обмена у с.-х животных. Боровск, 1988: 103.
5. Лапшин С.А. Новое в минеральном питании сельскохозяйственных животных. 1988: 115.
6. Методы биохимического анализа. Под общей редакцией проф. Кальницкого Б.Д., Боровск, 1997: 111-143.
7. Петрушенко Ю. Недокормишь поросенка – будешь в убытке. Животноводство России. 2004, 12: 45.
8. Самохин В.Т. Профилактика нарушений обмена микроэлементов у животных. Воронеж, 2003: 136.
9. Хохрин С.Н. Корма и кормление животных. СПб «Лань», 2002: 512.

ВЛИЯНИЕ ПРОТЕИНА И ЛИМИТИРУЮЩИХ АМИНОКИСЛОТ В РАЦИОНЕ СВИНЕЙ НА ПОКАЗАТЕЛИ ЛИПИДНОГО ОБМЕНА

Д.Е. Панюшкин, А.В. Лысов

Лаборатория межуточного обмена веществ

Снижение уровня протеина в рационах свиней на 8%, относительно норм кормления, при одновременном возмещении его синтетическими аминокислотами, положительно сказывается на приросте. Достоверных межгрупповых изменений в содержании липидных метаболитов в тканях поросят в этих условиях опыта не обнаружено, что свидетельствует о физиологичности данного приема снижения затрат протеина корма при выращивании растущих свиней.

Введение

В последнее время активно развивается направление в питании свиней по замене части протеина корма синтетическими аминокислотами. Такой подход позволяет снизить расход протеина без снижения среднесуточных привесов. Добавка незаменимых аминокислот, несомненно, оказывает большое влияние на белковый обмен в организме растущих свиней. При этом встречается мало исследований о влиянии синтетических аналогов аминокислот на обмен в жировой ткани. Предполагается, что это влияние будет происходить опосредованно через изменение интенсивности роста подопытных животных.

Известно, что развитие жировой ткани свиней характеризуется гиперплазией и гипертрофией адипоцитов (Henry, 1977) и непрерывным отложением липидов, главным образом триацилглицеролов (Leat,

1983; Mersmann, 1986). Но качество жировой ткани, с точки зрения органолептических и технологических свойств, характеризуется ее жирнокислотным составом, а также соотношением липидов и воды (Lebret B., Mourot J., 1998). Поэтому особенно важно проследить изменчивость жирнокислотного состава тканей свиней в динамике их роста. И хотя добавление синтетических аминокислот практически не оказало влияния на липидный метаболизм, эти исследования, несомненно, интересны.

Задачей настоящей работы являлось изучение влияния рационов, основанных на полнорационных комбикормах, но с различным уровнем в них протеина и незаменимых аминокислот, на показатели липидного обмена при формировании мясной продуктивности у растущих свиней.

Материалы и методы

Для решения поставленных задач в условиях вивария института был проведен опыт на 39 помесных боровках (крупная белая × ландрас х Рс-402) с живой массой 16-17 кг в 57-60 суточном возрасте. Из подопытных животных были сформированы 3 группы по 13 голов. Группы формировали по принципу парных аналогов, с учетом живой массы и возраста. Содержание животных было групповым, в клетках по 4-5 голов. Кормление назначалось согласно программе роста для животных конкретного возраста и живой массы. Поение осуществлялось из автоматических поилок.

В уравнительный период подопытные поросята, при достижении живой массы 24-25 кг, получали полнорационный комбикорм типа СК-4. В 1 кг комбикорма содержалось: обменной энергии – 13,04 МДж; сырого протеина – 185 г; сырого жира – 4,28; сырой клетчатки – 3,57; лизина – 10,9; метионина+цистина – 7,5; треонина – 7,7; кальция – 10,0 и фосфора – 8,5 г. Кормление животных всех групп было одинаковым.

Далее, в период дорастивания, до достижения живой массы поросят 40-42 кг, производилось раздельное кормление животных. Так, животные контрольной группы в этот период получали сбалансированные по питательным веществам рационы, с содержанием в 1 кг: обменной энергии – 12,14 МДж; сырого протеина – 172 г; сырого жира – 4,27; сырой клетчатки – 4,40; лизина – 7,7; метионина+цистина – 4,6; треонина – 5,2; кальция – 9,87 и фосфора – 7,09 г. В комбикормах для свиней 1-й (опытной) группы концентрация сырого протеина была снижена на 8% и в 1 кг корма содержалось: сырого протеина – 159 г; лизина – 8,1 г; треонина – 5,46 г; метионина+цистина – 4,85 г. Во 2-й (опытной) группе, при снижении уровня протеина на 11%, в 1 кг корма содержалось: сырого протеина – 153 г; лизина – 8,1 г; треонина – 5,46 г; метионина+цистина – 4,85 г. В опытных группах уровень сырого про-

теина в комбикормах снижали за счет пропорционального уменьшения количества высокобелковых кормов. Вместе с тем, содержание лимитирующих аминокислот – лизина, метионина и треонина в комбикормах свиней 1-й и 2-й опытных групп было повышено на 5% по сравнению с уровнем контрольной группы путем дополнительного введения в рацион синтетических аминокислот. Уровень обменной энергии в корме при этом оставался одинаковым для всех групп подопытных животных.

В течение опыта учитывали потребление комбикормов, расход корма на единицу прироста и определяли химический состав потребляемых компонентов комбикорма. В начале опыта и в конце каждого возрастного периода животных взвешивали.

В конце периода дорастивания, после проведения балансового опыта, проводили убой поросят, по 4 головы из каждой группы. После убоя производили обвалку туш подопытных животных для определения убойных качеств и взятия образцов крови, печени, подкожного жира, а также длиннейшей мышцы спины. В отобранных образцах тканей определяли показатели липидного обмена: общие липиды из всех субстратов по общеизвестной методике Folch G. (1957) и высокомолекулярные жирные кислоты (ВМЖК) методом газожидкостной хроматографии на приборе CHROM-5 (Laboratorní Pístroje Praha). Для получения количественных данных по ВМЖК, общие липиды предварительно подвергали омылению.

Результаты и обсуждение

Анализ опытных данных показал, что в уравнительный период не наблюдалось существенных различий в приросте живой массы и расходе корма у животных всех групп. Однако, уже в период дорастивания, при разном уровне протеина в рационе, эти показатели изменились (табл. 1).

Как видно из таблицы, скармливание комбикорма поросятам 1-й опытной группы, со сниженным на 8% содержанием сырого протеина и повышенным содержанием лизина, метионина и треонина, способствовало увеличению среднесуточных приростов на 4,8% и снижению расхода корма на единицу прироста на 4,2%, по сравнению с животными контрольной группы. Но в этот период наблюдалось обратное изменение этих показателей у поросят 2-й опытной группы (снижение сырого протеина в корме на 11%). Расход корма у них повысился на 2,8%, с одновременным снижением среднесуточного прироста на 4,5%, по сравнению с контролем.

Таблица 1. Живая масса, среднесуточный прирост и расход корма у поросят подопытных групп

Показатели	Группы		
	контроль	1-я опытная	2-я опытная
Уравнительный период			
Живая масса в начале периода, кг	16,38±0,73	16,64±0,58	16,83±0,34
Живая масса в конце периода, кг	24,16±1,01	24,31±0,79	24,61±0,97
Прирост живой массы, кг	7,78±0,80	7,67±0,44	7,78±0,84
Среднесуточный прирост, г	371±38	365±21	370±40
Потреблено корма на 1 гол., кг	22,5	22,5	22,5
Выход мяса при убое, кг	15,73±1,11	16,73±0,73	14,83±0,58
Выход сала при убое, кг	2,65±0,28	2,88±0,19	3,05±0,06
Расход корма на 1 кг прироста, кг	2,89	2,93	2,89
Расход ОЭ, МДж/кг прироста	38,3	38,8	38,3
Период выращивания			
Живая масса в начале периода, кг	24,16±1,01	24,31±0,79	24,61±0,97
Живая масса в конце периода, кг	42,53±1,62	43,55±1,16	42,18±2,26
Прирост живой массы, кг	18,37±1,06	19,24±0,97	17,57±2,76
Среднесуточный прирост, г	540±31	566±28	517±81
Выход мяса при убое, кг	17,12±1,50	18,51±1,51	16,70±0,92
Выход сала при убое, кг	7,90±0,75	8,48±0,84	6,85±0,54
Потреблено корма на 1 гол., кг	52,01	52,10	51,3
Расход корма на 1 кг прироста, кг	2,84	2,71	2,92
Расход ОЭ, МДж/кг прироста	36,3	34,6	37,3

Наиболее оптимальным, в данном случае, оказалось снижение уровня сырого протеина в рационе свиней в период дорастивания на 8%, при одновременном балансировании недостающего количества белка синтетическими аминокислотами.

При обвалке туш не найдено существенных различий между подопытными группами животных, кроме тенденции животных 2-й опытной группы к увеличению накопления сала за счет уменьшения синтеза мышечных белков (табл. 1).

В результате исследований не найдено достоверных межгрупповых различий по содержанию метаболитов липидного обмена в тканях исследуемых животных. Так, содержание общих липидов в крови поросят контрольной группы составило 0,468±0,02 г%, тогда как в 1-й и 2-й опытных группах – 0,454±0,051 и 0,517±0,043 г%, соответственно. Несколько повышенная концентрация общих липидов в крови поросят 2-й опытной группы была недостоверной. Концентрация липидов в мышцах свиней составила: 5,118±0,318, 6,093±0,281 и 5,35±0,314 г%, в печени: 2,883±0,116, 2,773±0,185 и 2,700±0,144 г%, в контрольной, 1-й и 2-й опытных группах соответственно (таблицы 2-5). Таким образом можно сделать заключение об отсутствии отклика липидных метаболитов в крови, мышцах и печени свиней на введение в рацион синтетических аминокислот.

Таблица 2. Основные жирные кислоты общих липидов плазмы крови свиней, мг%

Жирные кислоты	Группы		
	контроль	1-я опытная	2-я опытная
C ₈	2,55±0,14	2,3±0,16	2,5±0,12
C ₁₀	3,26±0,08	3,17±0,15	3,38±0,15
C ₁₂	6,01±0,08	5,79±0,26	6,14±0,14
C ₁₄	13,93±0,11	13,72±0,23	14,02±0,17
C ₁₆	50,78±0,1	50,68±0,27	51,02±0,2
C _{16:1}	1,54±0,04	1,48±0,1	1,59±0,07
C ₁₈	54,43±0,2	54,4±0,31	54,83±0,32
C _{18:1}	90,15±0,07	90,12±0,2	90,25±0,21
C _{18:2}	35,72±0,11	35,77±0,36	36,07±0,31
C _{18:3}	9,49±0,12	9,42±0,23	9,77±0,21
C _{20:4}	4,41±0,07	4,27±0,22	4,46±0,14
Сумма	272,26±0,96	271,1±2,44	274,03±1,94

Таблица 3. Основные жирные кислоты общих липидов свиного жира, г%

Жирные кислоты	Группы		
	контроль	1-я опытная	2-я опытная
C ₈	0,14±0,01	0,16±0,01	0,15±0,01
C ₁₀	0,51±0,04	0,59±0,03	0,63±0,03
C ₁₂	0,71±0,02	0,76±0,03	0,81±0,03
C ₁₄	1,56±0,03	1,61±0,09	1,69±0,05
C ₁₆	12,03±0,42	13,01±0,32	12,72±0,4
C _{16:1}	0,14±0,02	0,17±0,03	0,16±0,02
C ₁₈	6,95±0,26	7,54±0,14	7,54±0,23
C _{18:1}	21,64±0,53	22,96±0,44	23,23±0,34
C _{18:2}	4,11±0,37	4,66±0,37	4,92±0,14
C _{18:3}	0,91±0,03	0,92±0,04	0,89±0,04
C _{20:4}	0,4±0,05	0,41±0,02	0,54±0,08
Сумма	49,08±1,69	52,78±1,29	53,27±0,94

Таблица 4. Основные жирные кислоты общих липидов мышц свиней, г%

Жирные кислоты	Группы		
	контроль	1-я опытная	2-я опытная
C ₈	0,014±0,001	0,016±0,002	0,017±0,002
C ₁₀	0,022±0,002	0,022±0,001	0,025±0,002
C ₁₂	0,067±0,006	0,068±0,007	0,083±0,002
C ₁₄	0,137±0,007	0,145±0,01	0,176±0,004
C ₁₆	0,589±0,033	0,605±0,034	0,669±0,016
C _{16:1}	0,018±0,002	0,021±0,001	0,02±0,001
C ₁₈	0,902±0,021	0,884±0,025	0,922±0,044
C _{18:1}	0,928±0,024	1,087±0,1	1,06±0,049
C _{18:2}	0,684±0,03	0,701±0,016	0,791±0,024
C _{18:3}	0,173±0,008	0,164±0,007	0,179±0,006
C _{20:4}	0,057±0,009	0,052±0,005	0,075±0,004
Сумма	3,59±0,083	3,763±0,17	4,014±0,029

Таблица 5. Основные жирные кислоты общих липидов печени свиней, г%

Жирные кислоты	Группы		
	контроль	1-я опытная	2-я опытная
C ₈	0,01±0	0,01±0	0,013±0,003
C ₁₀	0,02±0	0,018±0,005	0,023±0,002
C ₁₂	0,03±0,004	0,025±0,003	0,028±0,003
C ₁₄	0,055±0,009	0,053±0,009	0,068±0,005
C ₁₆	0,48±0,015	0,475±0,01	0,458±0,013
C _{16:1}	0,018±0,003	0,018±0,003	0,015±0,003
C ₁₈	0,41±0,014	0,408±0,014	0,433±0,011
C _{18:1}	0,785±0,014	0,8±0,015	0,793±0,014
C _{18:2}	0,453±0,011	0,458±0,011	0,458±0,013
C _{18:3}	0,133±0,007	0,17±0,007	0,17±0,016
C _{20:4}	0,018±0,003	0,015±0,003	0,015±0,003
Сумма	2,41±0,056	2,448±0,034	2,47±0,037

Несмотря на отсутствие достоверных различий, прослеживалась тенденция к уменьшению содержания общих липидов в свином жире у животных опытных групп. Так у животных контрольной группы

концентрация липидов в сала составила $60,173 \pm 4,116$ г%, что на 14,09% выше, чем у поросят 1-й опытной группы ($51,690 \pm 3,591$) и на 13,54% выше 2-й опытной группы ($52,023 \pm 1,750$). Вероятно, это объясняется более высокой интенсивностью синтеза белка в определенный период развития животных, влияющей на соединительную ткань в подкожном жире, но не отражающуюся на общем выходе сала.

При исследовании высокомолекулярных жирных кислот в тканях свиней также не найдено достоверных различий между группами животных (таблицы 2-5).

Заключение

Проведенные исследования показали, что снижение уровня протеина на 8%, в сравнении с существующими нормами, при одновременном замещении недостающего количества белка синтетическими аминокислотами, положительно сказалось на приросте. Подобный подход обоснован с физиологической точки зрения. Однако, достоверных различий в составе туш между животными опытных и контрольной групп и в содержании липидных метаболитов в тканях поросят не обнаружено. В дальнейшем, на основе постоянного накопления научного материала, будут выявлены условия для лучшей оптимизации липидного питания свиней и кормового нормирования линолевой и стеариновой кислот.

ЛИТЕРАТУРА

1. Henry Y. Developpement morphologique et metabolique du tissu adipeux chez le porc: influence de la selection, de l'alimentation et du mode d'elavage. Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys. 1977, 17: 923-952.
2. Leat W.M.F. The pools of tissue constituents and products: Adipose tissue and structural lipids. In: Riis, P. (Ed.), Dynamic Biochemistry of Animal Production. Elsevier, Amsterdam, 1983: 109-136.
3. Lebreton B., Mouron J. Caracteristiques et qualite des tissus adipeux chez le porc. Facteurs de variation non genetiques. INRA Prod. Anim., 1998, 11 (2): 131-143
4. Mersmann H.J. Lipid metabolism in swine. In: Stanton, H.C., Mersmann, H.J. (Eds.), Swine in Cardiovascular Research. CRC Press, Boca Raton, Florida, 1986: 75-103.

ОБЕСПЕЧЕННОСТЬ ОРГАНИЗМА РАСТУЩИХ СВИНЕЙ ВИТАМИНАМИ А, Е, В₁ И В₂ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ БЕЛКОВО-АМИНОКИСЛОТНОГО ПИТАНИЯ

В.И.Дудин, Т.Е.Рябых

Лаборатория биологически активных веществ

В опыте на свиньях охарактеризованы параметры витаминного питания свиней в периоды выращивания и откорма, в связи с использованием низкопротеиновых ингредиентов в рационе, отобраны характеристики тиаминового питания для разработки теста обеспеченности организма свиней витамином В₁.

Введение

Опыты с вариациями в белковом питании свиней, направленные на поиск оптимальных уровней снабжения рационов протеином на основе модели «идеального белка», когда за основу рациона берутся низкопротеиновые корма с окончательной балансировкой белковой части за счет синтетических аминокислот, диктуют необходимость изучения обеспеченности свиней жирорастворимыми и водорастворимыми витаминами, которые участвуют на важнейших этапах метаболизма. Обеспечение оптимальных условий витаминного питания очень важно для поддержания обменных процессов в норме. В институте подобные работы уже велись. Разработаны тесты обеспеченности свиней рибофлавином, ниацином, токоферолом и ретинолом, на очереди создание теста обеспеченности свиней тиамином.

Материал и методы

Для решения вопросов обеспеченности свиней витаминами на фоне рационов с разным уровнем протеина был проведен опыт в условиях вивария института. Для проведения опыта отобраны 39 поросят-помесей крупная белая х Ріс-402, живой массой 16-17 кг (возраст 57-60 суток). После уравнительного периода животные по принципу весовых аналогов были разбиты на 3 группы по 13 голов в каждой. Опыт продолжался до достижения живой массы 90-95 кг. При этом животные проходили 3 периода дорастивания и 2 периода откорма. Содержание животных групповое в клетках, поение вволю из автопоилок. Животные 1-й группы (контрольной) получали сбалансированные по питательным веществам рационы согласно существующим нормам. В период выращивания поросята 2-й группы получали комбикорма со сниженным содержанием сырого протеина на 8%, а 3-й группы – на 11% по сравнению с поросятами контрольной группы, за счет пропорцио-

нального уменьшения количества высокобелковых кормов по всем периодам опыта. Уровень незаменимых аминокислот (лизин, метионин, триптофан) в комбикормах животных 2-й и 3-й групп повышали на 5% по сравнению с уровнем контрольной группы за счет синтетических аминокислот. В периоды откорма свиньи опытных групп получали комбикорма со сниженными уровнями сырого протеина на 10 и 15% по сравнению с контрольной группой. При этом уровень лимитирующих аминокислот и энергии в рационах были одинаковыми.

В процессе опыта учитывали расход кормов и прирост живой массы в конце каждого возрастного периода. В целях определения переваримости основных питательных веществ комбикормов, усвоения азота, аминокислот, микроэлементов, обменной энергии и липидов проведены балансовые опыты. Сразу после их пороведения определяли убойные качества животных и отбор образцов крови, печени, длиннейшей мышцы спины, жира и пястной кости. Убой осуществлен в конце выращивания и по окончании опыта по 3-4 головы из группы.

Витамины А и Е определяли в крови (Скурихин и Двинская, 1989), в кормах, печени (Скурихин и Шабаев, 1996). Витамины В₁, В₂ определяли в цельной крови, корме, моче и печени. Для разработки теста обеспеченности свиней витамином В₁ дополнительно определяли пировиноградную кислоту в плазме и моче по соответствующим прописям (Петрунькина, 1961; Островский, 1979).

Результаты и обсуждение

Содержание витаминов в комбикормах соответствовало существующим нормам (табл.1). Вместе с тем, задача наших исследований состояла в уточнении этих норм в связи с изменением нормирования белка и аминокислот в рационе. Основанием для таких изменений могут послужить представленные ниже результаты исследований внутренней среды организма свиней (таблицы 2-9).

Таблица 1. Содержание витаминов в комбикормах по периодам опыта

Группы	В и т а м и н ы			
	ретинол, МЕ/кг	токоферол, мг/кг	рибофлавин, мг/кг	тиамин, мг/кг
		Период доращивания		
1	16680	35,70	4,9	1,1
2	16680	34,90	4,9	1,2
3	16680	36,60	5,0	1,2
		Период откорма		
1	4550	21,86	8,82	1,78
2	4860	22,64	6,72	2,07
3	4710	23,96	7,00	1,77

Во многих случаях для определения обеспеченности организма животных используют показатели крови. Разработан и нами апробирован тест определения обеспеченности животных рибофлавином по величине его соотношения между эритроцитами и плазмой. При убое в конце выращивания и в конце откорма мы определили рибофлавин в цельной крови (табл.2), но не обнаружили статистически достоверных различий между группами.

Помимо основной задачи, состоящей в контроле содержания витаминов в связи с изменением принципа нормирования протеина в рационах свиней, мы пытались решить вопрос тестирования обеспеченности организма тиаминном. За основу, как правило, берут уровень в крови связанного тиамина. Но в этом случае очень вероятно столкнуться с очень стабильной характеристикой, не меняющейся даже в экстремальной ситуации. Количество свободного тиамина гораздо более вариабильно. В то же время, судя по нашим исследованиям, уровень свободного тиамина, если его использовать в качестве теста обеспеченности организма витамином В₁, мало зависел от изменений в рационе. Не обнаружено различий и в концентрации ретинола и токоферола в плазме крови между группами поросят.

Таблица 2. Витаминный состав крови подопытных поросят (мкг/мл)

Группы	В и т а м и н ы			
	ретинол	токоферол	рибофлавин	тиамин
Период дорашивания				
1	0,397±0,029	3,86±0,256	0,246±0,028	0,014±0,001
2	0,403±0,023	3,61±0,130	0,236±0,014	0,014±0,000
3	0,404±0,034	3,66±0,328	0,279±0,029	0,016±0,001
Период откорма				
1	0,412±0,026	3,66±0,253	0,53±0,04	0,089±0,011
2	0,438±0,026	3,66±0,160	0,39±0,05	0,101±0,006
3	0,408±0,024	3,36±0,126	0,48±0,03	0,107±0,015

Выделение водорастворимых витаминов с мочой (табл.3) можно использовать для диагностики дефицита витаминов, особенно это касается тиамина. В наших исследованиях суточная экскреция тиамина с мочой, также как и его концентрация, самыми низкими были у поросят 2-й группы. У животных 3-й группы она находилась на уровне контроля. Убой в конце опыта выявил достоверную разницу между 1-й и 2-й группами по суточному выделению тиамина с мочой. В связи с этим, этот показатель вполне можно использовать при разработке теста обеспеченности организма свиней витамином В₁, ибо уменьшение выделения с суточной мочой тиамина расценивается как усиление его использования в тканевом метаболизме. Этот факт подтверждается лучшими зоотехническими показателями у свиней 2-й

группы (см. публикацию Еримбетова К., Ниязова Н.С-А). Для рибофлавина заметные изменения отмечались только в отношении его концентрации в моче, однако отмеченные изменения были статистически недостоверными.

Таблица 3. Выделение водорастворимых витаминов с мочой поросят

Группы	Тиамин		Рибофлавин	
	мкг/мл	мг/сутки	мкг/мл	Мг/сутки
Период дорастивания				
1	0,22±0,037	0,251±0,10	0,47±0,037	0,557±0,19
2	0,12±0,015	0,194±0,03	0,40±0,003	0,782±0,11
3	0,22±0,060	0,264±0,06	0,49±0,042	0,697±0,30
Период откорма				
1	0,473±0,007	1,60±0,22	0,35±0,023	1,28±0,19
2	0,430±0,025	0,97±0,02*	0,39±0,051	0,87±0,08
3	0,503±0,016	1,16±0,14	0,33±0,023	0,77±0,10

* P=0,044

Показателем дефицита тиамина является накопление пировиноградной кислоты в крови и усиление выделения ее с мочой. В нашем опыте накопление пирувата в крови не было подвержено большим изменениям, лишь с тенденцией к уменьшению от 1-й к 3-й группе (табл.4). Концентрация пирувата в моче наименьшей была у поросят 2-й группы, как и концентрация в ней тиамина. Суточное выделение пирувата с мочой у поросят 2-й группы было наивысшим, причем отмечена статистически достоверная разница по сравнению с 3-й группой. Убой свиней в конце опыта не выявил достоверных различий в концентрации пирувата в крови и в его выделении с мочой между группами.

Таблица 4. Концентрация в цельной крови поросят пировиноградной кислоты и ее выделение с мочой

Группы	Кровь цельная		Моча	
	мкг/мл	мкг/мл	мг/сутки	
Период дорастивания				
1	0,30±0,029	1,47±0,18	2,02±0,91	
2	0,26±0,023	1,05±0,42	2,46±0,22	
3	0,21±0,017	1,26±0,25	1,48±0,20*	
Период откорма				
1	8,89±1,15	4,43±0,081	14,99±1,74	
2	6,70±0,37	4,86±0,048	10,94±0,77	
3	6,87±0,03	4,62±0,86	10,22±0,52	

* P=0,0296

Таким образом, только у поросят 2-й опытной группы, по сравнению с остальными, обнаружен некоторый дефицит тиамина и, если принцип нормирования протеинового питания по типу 2-й группы будет развиваться, то появится смысл повысить обеспеченность рациона тиамином. Как известно, дефицит тиамина в организме ведет к появлению повышенных количеств пирувата в крови и, как следствие, усиливается экскреция кислоты с мочой. В этой связи, мы провели расчет интенсивности передачи тиамина и пирувата крови в мочу, как соотношение концентраций этих веществ в указанных субстратах (табл.5). Наименьшая интенсивность выделения тиамина и пирувата крови в мочу отмечена у поросят 2-й группы, что можно интерпретировать как некоторое проявление дефицита тиамина.

Таблица 5. Интенсивность выделения тиамина и пирувата из крови в мочу (отношение концентраций моча/кровь)

Группы	Тиамин	Пируват
Период выращивания		
1	15,9±3,5	5,03±0,78
2	8,8±1,0	4,46±2,08
3	13,1±2,4	6,10±1,56
Период откорма		
1	5,49 ±0,85	0,52±0,08
2	4,31±0,40	0,72±0,08
3	4,83±0,55	0,67±0,12

Другим показателем тиаминовой обеспеченности поросят может послужить отношение концентрации пировиноградной кислоты к концентрации свободного тиамина в крови (табл.6). Здесь, несмотря на

Таблица 6. Соотношение пировиноградной кислоты и свободного тиамина в цельной крови и моче подопытных поросят

Группы	Кровь цельная	Моча
Период дорастивания		
1	21,18±1,55	7,34±2,18
2	18,85±2,16	8,33±2,43
3	13,13±1,08*	6,28±1,74
Период откорма		
1	104,15±22,81	9,38±0,28
2	67,44±7,38	11,26±0,7
3	66,45±8,71	9,20±1,71

P=0,0132

сверхмалую выборку, обнаружена статистически достоверная разница у поросят 3-й группы по сравнению с контролем. Следует заметить, что перечисленные выше статистически достоверные изменения являются

пока предложениями для создания эффективного биохимического теста, которые следует основательно апробировать и отобрать лучший вариант.

Помимо этого, мы предположили, что выделение водорастворимых витаминов с мочой, от принятого с кормом, (табл.7) может свидетельствовать об интенсивности метаболизации этих витаминов. Интенсивность экскреции тиамина с мочой от принятого с кормом наименьшей была у поросят 2-й группы. Этот факт может вкупе с представленными выше материалами также свидетельствовать о некоторых нарушениях в области тиаминного питания у поросят этой группы. При окончании опыта обнаружено достоверное снижение выделения с мочой тиамина. Что касается рибофлавина, то здесь интенсивность его выделения с мочой у поросят 2-й группы заметно не отличалась от соответствующих показателей у животных других групп.

Таблица 7. Потребление с кормом и выделение с мочой витаминов В₁ и В₂ подопытными поросятами

Группы	Потреблено с кормом, мг/сут		Выделено с мочой, % от потребленного с кормом	
	тиамин	рибофлавин	тиамин	рибофлавин
Период выращивания				
1	1,77±0,009	7,9±0,400	13,58±5,29	6,84±2,17
2	2,04±0,000	8,3±0,000	9,51±1,46	9,42±1,35
3	2,04±0,000	8,5±0,000	12,93±3,17	8,19±3,54
Период откорма				
1	5,66±0,03	28,07±0,147	28,22±3,86	1,87±0,29
2	6,59±0,03	21,39±0,110	14,73±0,27*	1,67±0,15
3	5,60±0,03	22,17±0,117	20,69±2,45	1,39±0,18

*P=0,025

Таблица 8. Концентрация и тотальное содержание витаминов А и Е в печени подопытных поросят

Группы	α-Токоферол		Ретинол	
	мкг/г	мг/орган	мкг/г	мг/орган
Период выращивания				
1	15,41±0,90	15,94±2,10	289,21±38,62	291,10±34,00
2	14,24±0,68	14,21±1,75	269,02±26,47	262,71±22,81
3	14,94±1,13	14,21±0,42	262,22±26,47	252,20±30,36
Период откорма				
1	13,38±1,09	19,26±1,17	234,62± 3,59	339,82±22,82
2	12,58±1,25	17,09±1,14	222,24± 6,53	306,90±34,49
3	12,42±0,47	17,32±1,50	217,68±19,23	302,55±28,17

Содержание жирорастворимых витаминов в печени поросят, как правило, рассматривается в качестве самой важной прямой характеристики их питания. Согласно нашим результатам (табл. 8, 9), Е-витаминное питание поросят существенно не изменялось в связи с манипуляциями в белковом питании поросят ни по концентрации, ни по тотальному содержанию α -токоферола в их печени.

Таблица 9. *Содержание витаминов А и Е в жире подопытных свиней*

Группы	α -токоферол		Ретинол	
	мкг/г	мг/туша	мкг/г	мг/туша
Период выращивания				
1	2,45±0,046	12,97±1,19	0,198±0,005	1,04±0,119
2	2,42±0,153	13,96±1,48	0,210±0,019	1,28±0,112
3	2,30±0,248	14,07±1,68	0,196±0,016	1,20±0,090
Период откорма				
1	2,58±0,068	41,04±5,17	0,150±0,010	2,34±0,187
2	2,65±0,107	45,25±6,63	0,144±0,007	2,45±0,330
3	2,63±0,121	35,73±1,94	0,153±0,008	2,12±0,313

Концентрация и тотальное содержание ретинола в печени были достаточно высокими и вполне обеспечивали все функции витамина А в организме подопытных поросят. В этой связи в дальнейшей работе по созданию новых принципов белкового питания свиней, включение в рацион изученных жирорастворимых витаминов может оставаться на прежнем уровне.

Заключение

В результате исследований определена обеспеченность свиней жирорастворимыми витаминами А и Е и водорастворимыми витаминами В₁ и В₂ при пониженных уровнях сырого протеина в полнорационных комбикормах, а также получены параметры содержания этих витаминов в органах и тканях свиней в период выращивания и откорма.

Для разработки теста обеспеченности организма свиней охарактеризован ряд параметров. Среди них: определение выделения с суточной мочой пировиноградной кислоты и свободного тиамин, а также соотношения пирувата к свободному тиамину в цельной крови. Эти параметры вполне пригодны для прижизненного тестирования тиаминной обеспеченности организма свиней и просты в исполнении. Помимо этого они учитывают функциональную специфику витамина В₁.

ЛИТЕРАТУРА

1. Островский Ю.М. Экспериментальная витаминология. Минск, 1979.
2. Петрунькина А.И. Практическая биохимия. Л: Медгиз, 1961.

3. Скурихин В.Н., Двинская Л.М. Определение альфа-токоферола и ретинола в плазме крови сельскохозяйственных животных методом ВЭЖХ. Ж. Сельскохозяйственная биология, 1989, 4: 127-129.
4. Скурихин В.Н., Шабаетов С.В. Методы анализа витаминов А, Е, Д и каротина в кормах, биологических объектах и продуктах животноводства. М: Химия, 1996.

ФОЛЛИКУЛОГЕНЕЗ И СУПЕРОВУЛЯЦИЯ: IV. ФОЛЛИКУЛОГЕНЕЗ В ЯИЧНИКАХ КОРОВ В ПЕРИОД ВЫЗЫВАНИЯ СУПЕРОВУЛЯЦИИ

В.П. Рябых, А.Г. Логинов

Лаборатория клеточной инженерии и трансплантации эмбрионов

Установлено, что при вызывании суперовуляции у коров под влиянием экзогенных гонадотропинов до предовуляторного состояния развиваются и овулируют здоровые фолликулы, имевшие на момент введения гонадотропинов диаметр $\geq 3-4$ мм и достигшие к моменту предовуляторного выброса ЛГ диаметра не менее 7 мм.

Антральные фолликулы, имевшие на момент введения гонадотропинов диаметр 1-2 мм, увеличиваются в размере к моменту овуляции до 5-6 мм, но не овулируют и в дальнейшем подвергаются атрезии. Часть этих неовулировавших фолликулов обнаруживаются в яичниках коров-доноров на 7-10-й дни полового цикла при извлечении эмбрионов, независимо от того, каким препаратом было обработано животное. Однако при обработке коров-доноров препаратами СЖК, обладающих значительным пролонгирующим действием, число таких неовулировавших фолликулов увеличивается в результате дополнительного развития антральных фолликулов, имевших на момент гормональной обработки диаметр ≤ 1 мм.

Таким образом, результаты этих исследований показали, что при вызывании суперовуляции у коров до предовуляторного состояния развиваются и овулируют здоровые фолликулы, имевшие на момент введения экзогенных гонадотропинов диаметр $\geq 3-4$ мм и достигшие к моменту предовуляторного выброса ЛГ диаметра не менее 7 мм.

Введение

В настоящее время имеется большое количество исследований, посвященных изучению динамики развития крупных фолликулов в яичниках коров в течение нормального полового цикла. Основное внимание в них уделено изучению процесса отбора и роста доминирующего предовуляторного фолликула, и его предположительного влияния

на развитие других фолликулов меньшего размера (Rajakoski E., 1960; Staigmiller et al., 1982; Matton et al., 1981; Sirois et al., 1988; Fortune et al., 1994, 1998; Armstrong et al., 1997). Однако имеется очень мало исследований, посвященных изучению динамики популяций фолликулов разных размеров под влиянием экзогенных гонадотропинов при вызывании суперовуляции, несмотря на то, что результаты этих исследований имеют первостепенное значение для разработки эффективных способов вызывания суперовуляции у коров-доноров. Знание динамики развития популяций фолликулов разных размеров в яичниках коров-доноров особое значение приобретает в связи с расширяющимся применением метода ультразвуковой эхографии яичников с целью прогнозирования суперовуляции и получения ооцитов для дозревания *in vitro*.

Материал и методы

Исходя из указанных выше соображений, нами был проведен эксперимент на 4-х группах коров (по 7-8 голов в группе) по приведенной в таблице 1 схеме.

Для того чтобы уточнить действие экзогенных гонадотропинов на развитие популяций фолликулов разных размеров, введение экзогенных гонадотропинов было начато по разработанной нами схеме на 3-й день полового цикла, когда желтое тело еще не начало активно функционировать и уровень прогестерона был низким (Рябых и др., 1983).

Таблица 1. Схема эксперимента по изучению динамики фолликулогенеза

№№ групп	Дни полового цикла и гормональные обработки							
	3-й	4-й	5-й	6-й	7-й	0-й	3-й	10-й
1	ГСЖК			ПГ F _{2α}		убой		
2	ГСЖК			ПГ F _{2α}			убой	
3	ГСЖК			ПГ F _{2α}				убой
4	ФСГ	ФСГ	ФСГ	ПГ F _{2α} ФСГ				убой

С целью изучения процесса фолликулогенеза в динамике, убой животных для анализа яичников проводили в следующие сроки:

- в день охоты (Д0 – 1-я гр.), когда основная масса здоровых фолликулов, достигших предовуляторного состояния под действием экзогенных гонадотропинов, еще не овулировала;
- на 3-й день полового цикла (Д3), когда фолликулы, достигшие предовуляторного состояния под влиянием экзогенных гонадотропинов, уже овулировали, но вновь образующиеся желтые тела еще не начали активно функционировать;

- на 10-й день полового цикла (Д10) с целью выяснения влияния активно функционирующих желтых тел на популяцию фолликулов.

Предполагалось, что различия популяций фолликулов и желтых тел в яичниках на Д0-Д3-Д10 должны характеризовать динамику фолликулогенеза в период вызывания суперовуляции. С целью выяснения действия остаточного количества ГСЖК на яичники до 10-го дня индуцированного полового цикла (2-я гр.) и проверки гипотезы о действии пороговых уровней ФСГ на популяции фолликулов разных размеров (Fortune et al., 1988, 1994), была введена 4-я группа животных, которых обработали препаратом ФСГ.

Качество фолликулов в яичниках коров определяли визуально-микроскопическим методом (Kruip et al., 1982) в нашей модификации (в отражённом свете, при боковом освещении).

Эксперимент проводился в одном хозяйстве в одно и то же время (ОПХ ВИМ «Каменка» - июль 1990г.).

Результаты и обсуждение

Анализ результатов этого эксперимента (табл.2) позволил выявить следующие факты:

а) в день убоя самой многочисленной популяцией здоровых фолликулов в яичниках животных всех групп была популяция фолликулов диаметром 1-4 мм, особенно это выражено у животных 2-й и 4-й групп;

б) на 3-й день полового цикла, индуцированного экзогенными гонадотропинами (2-я гр.) в яичниках животных почти полностью отсутствовала популяция здоровых фолликулов диаметром 7 мм и более, но уже имелось $8,2 \pm 0,8$ формирующихся желтых тела размером $6,7 \pm 0,4$ мм;

в) в яичниках животных 2-й группы полностью отсутствовали атретические фолликулы размером 1-4 мм, но выделялась многочисленная популяция их диаметром 10 мм и более ($6,5 \pm 0,8$); при этом общее число всех атретических фолликулов на Д0 (1-я гр.) было практически одинаковым с числом аналогичных фолликулов на Д3 (2-я гр.) – 9,4 и 11,7 соответственно;

г) число здоровых фолликулов диаметром 7 мм и более в яичниках животных на Д0 (1-я гр.) было практически одинаковым с числом вновь формирующихся жёлтых тел и неовулировавших фолликулов на Д3 (2-я гр.) – 10,2 и 9,4 соответственно;

д) количество здоровых фолликулов диаметром 5 и 6 мм было одинаковым на Д0 и Д3;

е) на Д0 (1-я гр.) фолликулы с признаками лютеинизации в яичниках животных были отмечены только в популяции диаметром 3-5 мм, а на Д3 (2-я гр.) – только диаметром 7 мм и более, при этом количество

их было практически одинаковым с числом аналогичных фолликулов на Д0 – 3,7 и 3,0 соответственно;

ж) в яичниках животных, обработанных ФСГ (4-я гр.) на 10-й день нового полового цикла, наблюдали только желтые тела и многочисленную популяцию мелких здоровых фолликулов диаметром 1-4 мм и почти полностью отсутствовали здоровые фолликулы 5 мм и более, а также атретические и лютеинизирующие фолликулы диаметром менее 10 мм;

Таблица 2. Популяция антральных фолликулов в яичниках коров в разные периоды после вызывания суперовуляции

№ гр.	Категория фолликулов	Диаметр фолликулов (мм)										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	> 10
1	Нормал.	1,7±0,3	4,5±1,0	1,1±0,2	0,7±0,2	2,0±1,1	1,2±0,6	1,0±0,2	2,0±1,1	1,1±1,0	2,8±0,2	3,3±1,6
	Атретич.	0	0,9±0,2	0,7±0,2	1,5±1,0	1,0±0,2	0,7±0,2	1,0±0,2	0,5±0,2	1,5±1,0	0,6±0,1	1,0±0,2
	Лютеин.	0	0	1,2±0,3	1,3±0,1	0,5±0,2	0	0	0	0	0	0
2	Нормал.	4,8±1,6	6,3±1,4	5,1±1,6	4,8±1,3	2,2±2,1	1,2±0,2	0	0	0	0	0,6±0,2
	Атретич.	0	0	0	0	1,2±0,7	1,2±0,8	1,0±0,6	1,5±0,2	0,3±0,1	3,5±0,8	0,3±0,7
	Лютеин.	0	0	0	0	0	0	1,5±0,5	0,5±0,1	1,1±0,3	0,3±0,1	0,3±0,2
3	Нормал.	5,1±2,0	4,1±1,0	1,0±0,1	0,9±0,1	0,8±0,1	0,7±0,1	0,2±0,1	0,5±0,1	0,2±0,1	0,4±0,1	0,6±0,6
	Атретич.	0,6±0,3	2,6±1,0	1,6±0,1	0,9±0,1	1,0±0,1	1,0±0,2	0,6±0,1	0,4±0,2	0,2±0,1	0,2±0,1	2,2±0,5
	Лютеин.	1,2±1,0	1,5±1,0	1,8±0,1	0,9±0,1	0,6±0,3	0,5±0,2	0	0	0,2±0,1	0,3±0,1	0,1±0,1
4	Нормал.	3,0±0,3	6,6±1,6	3,0±1,5	4,7±1,8	0	0	0	0	0	0	0
	Атретич.	0	0	0,6±0,2	0	0	0	0,6±0,2	0	0	0	1,0±0,3
	Лютеин.	0	0	0	0	0,6±0,2	0	0	0,6±0,2	0	0	2,7±0,4

з) в яичниках животных, обработанных ГСЖК, (3-я гр.) на 10-й день нового полового цикла на фоне активно функционирующих жел-

тых тел более многочисленной была популяция фолликулов 1-2 мм в диаметре, а фолликулы остальных размеров были представлены в количестве от 0,2 до 0,9 штук на пару яичников; аналогичное распределение наблюдалось и среди атретических фолликулов, но значительно снижалось количество лютеинизированных фолликулов диаметром 7 мм и более.

Сравнительный анализ результатов этого эксперимента позволяет сделать следующие предположения и выводы:

1. Почти полное отсутствие в яичниках коров-доноров популяции нормальных фолликулов диаметром ≥ 7 мм на ДЗ (2-я гр.) и Д10 (4-я гр.), по сравнению с Д0 (1-я гр.), и образование на ДЗ желтых тел, число которых вместе с крупными неовулировавшими фолликулами практически совпадает с числом фолликулов диаметром ≥ 7 мм на Д0 (8,8 и 10,2, соответственно), а средний размер вновь образовавшихся желтых тел на ДЗ равен $6,7 \pm 0,4$ мм, т.е. соответствует размеру фолликулов диаметром 7 мм, свидетельствует о том, что в результате гормональной обработки, при вызывании суперовуляции, овулируют фолликулы, достигшие к моменту выброса ЛГ диаметра 7 мм и более.

2. Практически одинаковое число нормальных фолликулов диаметром 1 и 2 мм в яичниках животных всех групп (4,7 и 4,5 – 1-я гр.; 4,8 и 6,3 – 2-я гр.; 5,1 и 4,1 – 3-я гр.; 3,0 и 6,6 – 4-я гр.) и резкое достоверное ($P < 0,001$) уменьшение численности фолликулов диаметром 3 и 4 мм в яичниках животных на Д0 – 1-я гр. (1,1 и 0,7) и на Д10 – 3-я гр. (1,0 и 0,9) свидетельствует о том, что при вызывании суперовуляции под влиянием экзогенных гонадотропинов до предовуляторного состояния развиваются фолликулы, имевшие на момент введения экзогенных гонадотропинов диаметр $\geq 3-4$ мм. Этот факт подтверждает и сравнение популяций фолликулов на 10-й день в яичниках коров, обработанных ГСЖК (3-я гр.) и ФСГ (4-я гр.), которое показало, что в обеих группах без изменения численности остается только популяция фолликулов размером 1 и 2 мм (9,2 и 9,6, соответственно), но в яичниках животных 3-й гр. происходит достоверное ($P < 0,05$) уменьшение популяции фолликулов диаметром 3-4 мм (1,0 и 0,9 – 3-я гр. против 3,0 и 4,7 – 4-я гр.) и увеличение численности популяции фолликулов размером более 5 мм. Эти данные свидетельствуют о том, что в начальный период лютеальной фазы цикла в яичниках животных 3-й группы под влиянием остаточных количеств ГСЖК произошел рост фолликулов диаметром 3-4 мм, увеличение их размера и переход в популяцию фолликулов большего размера. Но в яичниках животных 4-й группы, обработанных ФСГ, не обладающим пролонгированным действием, популяция фолликулов диаметром 3-4 мм не пошла в рост в начальный период лютеальной фазы нового цикла, т.к. не подверглась действию экзогенного гонадотропина. Кроме того, на фоне повышенного уровня

прогестерона, секретируемого желтыми телами, произошло значительное подавление выброса эндогенного ФСГ и его количества оказалось недостаточным для того, чтобы запустить рост популяции фолликулов диаметром 3-4 мм и переход их в популяцию средних размеров. Видимо, по этой причине коровы-доноры плохо реагируют на гормональную обработку сразу после вызывания суперовуляции, и им после вызывания суперовуляции дается отдых, а следующую гормональную обработку для вызывания суперовуляции проводят после пропуска 2-3 половых циклов.

Отмеченные факты дают основание считать, что наименьшими фолликулами, которые развиваются до предовуляторного состояния и овулируют под влиянием экзогенных гормонов при вызывании суперовуляции, являются фолликулы диаметром 3-4 мм.

3. Наличие в дни убоя в яичниках коров всех групп здоровых фолликулов диаметром 1-4 мм, образующих самые многочисленные популяции, свидетельствует о том, что основная масса этих фолликулов развивается из преантральных и очень мелких антральных фолликулов под влиянием экзогенных гонадотропинов в период гормональной обработки при вызывании суперовуляции.

4. Кроме того, анализ данных, полученных в этом эксперименте на животных, обработанных ФСГ (4-я гр.) показал, что в яичниках этих коров на 10-й день после вызывания суперовуляции имелись, главным образом, только нормальные фолликулы диаметром 1-4 мм и почти полностью отсутствовали фолликулы других размеров как нормальные, так и атретические, и лютеинизирующие. Этот факт свидетельствует о том, что в результате торможения выброса гипофизарного ФСГ высоким уровнем прогестерона, который продуцируют несколько желтых тел, концентрация эндогенного ФСГ в крови коров оказалась недостаточной для превышения определенного порогового уровня, необходимого для запуска процесса роста волны фолликулов диаметром 3-4 мм. Эти данные с морфологических и эндокринологических позиций подтверждают гипотезу, выдвинутую в 1994 году Fortune о ведущей роли небольших повышений пороговых уровней ФСГ в регуляции процесса запуска развития фолликулярных волн.

5. Полное отсутствие на ДЗ нормальных фолликулов диаметром 7мм, которые овулировали в индуцированную охоту, и практически одинаковая численность популяции здоровых фолликулов диаметром 5 и 6 мм на ДЗ и Д0 (3,4 и 3,2, соответственно) свидетельствует о том, что эта популяция неовулировавших фолликулов развивалась под действием экзогенных гонадотропинов из фолликулов, имевших до гормональной обработки диаметр 1-2 мм. Достигнув к моменту овуляции Д0 диаметра 5-6мм, эти фолликулы не овулировали, т.к. не достигли овуляторного размера (7мм) и сохранились в таком виде до третьего дня нового цикла (ДЗ).

6. Наличие немногочисленной популяции атретических фолликулов диаметром 1-4 мм на Д0, полное отсутствие этой популяции на Д3 и увеличение численности популяции атретических фолликулов диаметром 5-10 мм, и особенно фолликулов диаметром 10 мм и более (3,5 и 3,0 против 0,6 и 1,0, соответственно) свидетельствует о том, что под влиянием повышенных концентраций экзогенных гонадотропинов происходит увеличение размеров фолликулов, подвергшихся процессу атрезии, т.е. они увеличиваются в диаметре за счёт уже запущенного механизма секреции фолликулярной жидкости и увеличения полости фолликула.

7. Аналогичное явление наблюдается и с фолликулами диаметром 1-4 мм, подвергшихся процессу лютеинизации. Если на Д0 лютеинизирующие фолликулы были зарегистрированы в популяции диаметром 3-5 мм и не были обнаружены в популяции 6 мм и более, то на Д3 фолликулы с признаками лютеинизации были отмечены только в популяции 7 мм и более и не были обнаружены в популяции 1-6 мм. Этот факт свидетельствует о том, что в течение 3-х дней произошло увеличение размеров фолликулов с признаками лютеинизации, и они из разряда 3-5 мм перешли в разряд 7 мм и более. При этом количество их на Д0 и Д3 было практически одинаковым (3,0 и 3,7 соответственно). Такая же закономерность была отмечена и в яичниках животных 4-й группы, в которых основная масса лютеинизированных фолликулов на 10-й день после вызывания суперовуляции с помощью ФСГ была отмечена в популяции размером более 10 мм. Все эти изменения, происходящие с лютеинизирующими фолликулами, говорят о том, что при вызывании суперовуляции под влиянием высоких концентраций гонадотропинов СЖК происходит увеличение их размеров.

Исследований, подтверждающих или опровергающих установленные нами неожиданные факты увеличения размеров фолликулов, находящихся в состоянии атрезии или лютеинизации при вызывании суперовуляции, мы не нашли в доступной литературе. Существует только общепринятое мнение, основанное на предположении о том, что неовулировавшие фолликулы каждой волны атрезируют или лютеинизируют и исчезают. Каким образом исчезают? Что происходит при этом с ооцитом? Экспериментально подтверждённых ответов на эти вопросы пока нет, а они представляют особый интерес и при изучении фолликулогенеза новейшим методом ультразвуковой эхографии, и при получении ооцитов для дозревания *in vitro*.

До середины 90-х годов исследователи, изучавшие процесс фолликулогенеза, чаще всего опирались на факты, изложенные в работе французских исследователей (Monniaux et al., 1983). В этой работе, на основании изучения митотического индекса в фолликулах разных размеров и категорий, было высказано мнение, что при вызывании суперовуляции у коров нормальные фолликулы диаметром $\geq 1,7$ мм под

влиянием экзогенных гонадотропинов в течение 4-5 дней развиваются до предовуляторного состояния и овулируют.

Наши исследования по изучению динамики фолликулов разных размеров в период вызывания суперовуляции показали, что фолликулы, которые овулируют при вызывании суперовуляции, имеют на момент начала гормональной обработки минимальный размер 3-4 мм и достигают за период 4-5 дней, до момента овуляции, диаметра не менее 7 мм.

Более поздние исследования, связанные с разработкой технологии получения эмбрионов *in vitro* показали, что ооцит растет (увеличивается в размере) начиная с примордиальной стадии фолликула и до момента достижения фолликулом диаметра 3-х мм. При этом диаметр ооцита остается почти одинаковым для фолликулов диаметром от 3 до 10 мм и только после увеличения диаметра фолликула свыше 10-15 мм увеличивается и размер ооцита (Fair et al., 1995; Artotto et al., 1996).

Кроме того, было показано, что первая остановка роста ооцита в фолликулах диаметром 3 мм совпадает с прекращением интенсивной транскрипции рибосомальной РНК и предшественницы матричной РНК (Nyttel et al., 1997), т.е. в них в основном заканчивается синтез ДНК.

Дальнейшие исследования также показали, что ооциты, компетентные развиваться *in vitro* до стадии бластоцисты, были выделены из фолликулов диаметром 3 мм, но не 2 мм (Blondin et al., 1995; Hagemann et al., 1999). При этом в обоих этих исследованиях не было обнаружено значительных различий в способности развиваться до стадии бластоцисты между ооцитами из фолликулов 3-5 мм и 6-8 мм.

Результаты вышеприведенных исследований свидетельствуют о том, что только при достижении фолликулом диаметра 3 мм находящийся в нём ооцит становится компетентным к дальнейшему развитию. Таким образом, они подтверждают установленный нами факт, что при вызывании суперовуляции до предовуляторного состояния развиваются и овулируют фолликулы, имевшие на момент введения экзогенных гонадотропинов диаметр ≥ 3 мм, но не 1,7 мм, как было определено французскими исследователями (Mopniaux et al., 1983).

Также более поздними исследованиями, направленными на выяснение компетентности ооцитов к их дальнейшему развитию *in vitro*, был подтвержден установленный нами факт, что при вызывании суперовуляции овулируют фолликулы, достигшие к моменту овуляции диаметра 7 мм и более. Было отмечено, что у телок, обработанных ФСГ и убитых через 12-15 часов после последней инъекции ФСГ, ооциты, полученные из фолликулов диаметром более 6 мм, дали достоверно более высокий процент бластоцист, чем ооциты из фолликулов диаметром от 3 до 6 мм (Lonegran et al., 1994; Hagemann et al., 1999). Так по данным Lonegran et al. (1994), выход бластоцист из ооцитов, выделенных из фолликулов диаметром более 6 мм, составил 66 %, а при развитии

ооцитов, полученных из фолликулов 3-6 мм, стадии бластоцисты достигли 34%.

Эти данные свидетельствуют о том, что даже при созревании *in vitro* наиболее компетентными к дальнейшему развитию являются ооциты, выделенные из фолликулов диаметром более 6 мм, а при развитии *in vivo* овулировать должны фолликулы, которые содержат только ооциты, компетентные к развитию. Как показали наши исследования, таковыми как раз и являются фолликулы диаметром 7 мм и более, т.е. фолликулы размером более 6 мм.

Установленные нами факты имеют существенное значение для исследований, направленных на совершенствование способов регулирования фолликулогенеза и на разработку эффективных способов вызывания суперовуляции, а также в работах по получению полноценных эмбрионов крупного рогатого скота *in vitro*.

На основании наших исследований было сделано предположение, что фолликулы размером 5 и 6 мм, обнаруженные в яичниках коров на Д0 и Д3, при вызывании суперовуляции развились из фолликулов диаметром 1-2 мм под влиянием экзогенных гонадотропинов, но не достигли предовуляторного состояния к моменту овуляции более крупных фолликулов. Позднее к аналогичному выводу пришли и другие исследователи, изучавшие динамику развития фолликулов в яичниках коров с помощью ультразвуковой эхографии (Ginther et al., 1996).

Результаты этих исследований ещё раз подтверждают факт, что при вызывании суперовуляции до предовуляторного состояния развиваются фолликулы, имевшие на момент введения экзогенных гонадотропинов диаметр не менее 3-4мм. Неовулировавшие фолликулы, которые обнаруживаются в яичниках коров на 7-10-й дни после вызванной суперовуляции, происходят из фолликулов, имевших на момент введения гонадотропных препаратов диаметр 1-2мм и менее.

Заключение

Исследованиями, направленными на выяснение размеров фолликулов, способных развиваться до предовуляторного состояния, установлено, что при вызывании суперовуляции у коров под влиянием экзогенных гонадотропинов до предовуляторного состояния развиваются и овулируют фолликулы, имевшие на момент введения гонадотропинов диаметр $\geq 3-4$ мм и достигшие к моменту предовуляторного выброса ЛГ диаметра не менее 7мм. Антральные фолликулы, имевшие на момент введения гонадотропинов диаметр 1-2 мм, увеличиваются в размере к моменту овуляции до 5-6 мм, но не овулируют и в дальнейшем подвергаются атрезии. Часть этих неовулировавших фолликулов обнаруживаются в яичниках коров-доноров на 7-10-й дни полового цикла при извлечении эмбрионов, независимо от того каким препара-

том было обработано животное. Однако при обработке коров-доноров препаратами СЖК, обладающих значительным пролонгирующим действием, число неовулировавших фолликулов увеличивается в результате дополнительного развития антральных фолликулов, имевших на момент гормональной обработки диаметр ≤ 1 мм.

Под влиянием повышенных концентраций экзогенных гонадотропинов происходит увеличение размеров фолликулов, вступивших в процесс атрезии или лютеинизации, т.е. они увеличиваются в диаметре за счёт уже запущенного механизма секреции фолликулярной жидкости и увеличения полости фолликула.

В начальный период лютеальной фазы цикла в результате торможения выброса гипоталамического ФСГ высоким уровнем прогестерона, который создают несколько желтых тел, концентрация эндогенного ФСГ в крови коров оказалась недостаточной для превышения порогового уровня, необходимого для запуска процесса роста волны фолликулов диаметром 3-4 мм.

Результаты этих исследований имеют основополагающее значение для разработки эффективных способов прогнозирования и вызывания суперовуляции у коров-доноров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рябых В.П., Никитина В.Н., Стрельников А.И. Половые гормоны в крови животных-доноров и реципиентов в связи с трансплантацией эмбрионов. Научные труды ВНИИФБиП, 1983, 27: 22-34.
2. Armstrong, D. G. and Webb, R. Ovarian follicular dominance novel mechanisms and protein factors. *Reviews a Reproduction*, 1997, 2: 139-146.
3. Artotto T. et al. Aspects of follicle and oocyte stage that affect in vitro maturation and development of bovine oocytes. *Theriogenology*, 1996, 45: 943-956.
4. Blondin P., Sirard M.A. Oocyte and follicular morphology as determining characteristics for developmental competence in bovine oocytes. *Mol. Reprod. Dev.*, 1995, 41: 54-62.
5. Fair T., Hyttel P., Greve T. Bovine oocyte diameter in relation to maturational competence and transcriptional activity. *Mol. Reprod. Dev.*, 1995, 42: 437-442.
6. Fortune JE, Sirois J, Quirk SM. The growth and differentiation of ovarian follicles during the bovine estrous cycle. *Theriogenology*, 1988, 29: 95-109.
7. Fortune, J. E. Ovarian follicular growth and development in mammals. *Biology of Reproduction*, 1994, 50: 225-232.
8. Ginther, O. J., Wiltbank, M. C., Fricke, P. M., et al. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biology of Reproduction*, 1996, 55: 1187-1194.
9. Hagemann L.J., Deaumont S.E., Berg M. et al. Development during sIVP of bovine oocytes from dissected follicles: interactive effects of estrous cycle stage, follicle size and atresia. *Mol. Reprod. Dev.*, 1999, 53: 451-458.
10. Hyttel P. et al. Oocyte growth, capacitation and final maturation in cattle. *Theriogenology*, 1997, 47: 23-32.
11. Kruip T.A.M., Dieleman S.J. Macroscopic classification of bovine follicles and its validation by micromorphological and steroid biochemical procedures. *Re-*

- prod. Nutr. Develop., 1982, 22(3): 465-473.
12. Lonergan P. et al. Effect of follicle size on bovine oocyte quality and developmental competence following maturation, fertilization, and culture in vitro. Mol. Reprod. Dev., 1994, 37: 48-53.
 13. Matton, P., Adelakoun, V., Couture, Y. et al. Growth and replacement of the bovine ovarian follicles during the estrous cycle. Journal of Animal Sciences, 1981, 52: 813-820.
 14. Monniaux, D., Chupin, D. and Saumande, J. Superovulatory responses of cattle. Theriogenology, 1983, 19: 55-81.
 15. Rajakoski E. The ovarian follicular system in sexually mature heifers with special reference to seasonal, cyclical and left-right variations. Acta Endocrinol., 1960, 34(suppl. 52): 1-68.
 16. Sirois J, Fortune JE. Ovarian follicular dynamics during the estrous cycle in heifers monitored by real-time ultrasonography. Biol Reprod, 1988, 39: 308-317.
 17. Staigmiller, R. B. and England, B. G. Folliculogenesis in the bovine. Theriogenology, 1982, 17: 43-52.

ФОЛЛИКУЛОГЕНЕЗ И СУПЕРОВУЛЯЦИЯ: V. ПРОГНОЗИРОВАНИЕ СУПЕРОВУЛЯЦИИ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

В.П. Рябых, А.Г. Логинов

Лаборатория клеточной инженерии и трансплантации эмбрионов

Установлено, что начало атрезии доминирующего фолликула приводит к снижению его эстрогенсинтезирующей функции и уровня эстрадиола в крови коров. Изменения уровня эстрадиола в крови коров-доноров в период с 5-го по 8-ой день полового цикла отражают функциональное состояние доминирующего фолликула и популяции антральных фолликулов среднего размера. Отмечено, чем раньше происходит атрезия доминирующего фолликула, тем многочисленнее и однороднее будет популяция фолликулов следующей II волны на 9-11-й дни полового цикла, т.е. к моменту введения гонадотропных гормонов с целью вызывания суперовуляции в лютеальную фазу полового цикла.

Установлено, что у животных, хорошо прореагировавших суперовуляцией на гормональную обработку, концентрация эстрадиола-17 β в крови на 6-й день полового цикла была не ниже 2,3-2,5 пг/мл и при этом резко снижалась на 7-й день (в 1,5-4,5 раза). У животных с низкой суперовуляцией концентрация эстрадиола-17 β в крови на 6-й день цикла была или ниже 2,3 пг/мл, или уровень эстрадиола повышался с 6-го на 7-й день цикла.

Введение

В настоящее время наибольшее распространение получили различные варианты вызывания суперовуляции у животных-доноров в лютеальную фазу полового цикла. Однако, при всех вариантах вызывания суперовуляции наблюдаются значительные различия в ответной реакции на одну и ту же гормональную обработку. При этом вариабельность в ответной реакции проявляется не только между разными животными, но, что особенно неприятно, у одного и того же животного при последующих вызываниях суперовуляции. На практике чаще всего одно и то же животное может в одном случае дать хорошую реакцию суперовуляции, а в другом плохую.

Непредсказуемость результатов суперовуляции в каждом отдельном случае в момент гормональной обработки, делает процесс получения эмбрионов трудоемким и малоэффективным. В связи с этим возникает необходимость в прогнозировании реакции суперовуляции для выяснения целесообразности гормональной обработки животного-донора с целью вызывания суперовуляции в конкретный половой цикл.

Попытка прогнозировать результаты суперовуляции была предпринята Shams D. с соавторами (1979), которые попытались найти связь между содержанием прогестерона в крови животного-донора и числом желтых тел в период после прошедшей овуляции. Обнаруженная связь между содержанием прогестерона в крови животного-донора на третий день после охоты, стимулированной введением СЖК с целью вызывания суперовуляции, и количеством вновь образующихся желтых тел, была предложена авторами (Shams et al., 1979) в качестве вспомогательного критерия для предсказания выраженности реакции суперовуляции, которая завершилась в яичниках животного-донора три дня назад. Подобный способ прогнозирования результатов суперовуляции позволяет только постфактум констатировать степень реакции суперовуляции животного-донора на гормональную обработку, которая была проведена 6-7 дней назад, и когда изменить уже ничего нельзя.

Применив метод эндоскопии (Saumande et al., 1978), на основе анализа популяций поверхностных антральных фолликулов, на 16-й день полового цикла разделили яичники животных-доноров на несколько категорий и проследили выраженность реакции суперовуляции каждого типа яичников в ответ на введение экзогенных гонадотропинов при вызывании ее в фолликулярную фазу полового цикла. На основании своих исследований авторы высказали мысль, что в каждом отдельном случае реакция суперовуляции зависит от состояния популяции антральных фолликулов в яичниках животного-донора, в момент стимуляции животного экзогенными гонадотропинами, выдвинув, тем самым, в качестве основного критерия для прогнозирования реакции

суперовуляции количественный состав популяции антральных фолликулов в яичниках животных-доноров.

Однако изложенный (Saumande et al., 1978) способ исследования состояния яичников с помощью метода эндоскопии характеризует только количественный состав популяции антральных фолликулов и совершенно не отражает их функционального состояния, которое является определяющим фактором для последующего развития каждого фолликула. Хорошо известно, что популяция антральных фолликулов разных размеров состоит из нормальных, атретических и лютеинизирующих фолликулов, из которых к дальнейшему развитию способны только нормальные фолликулы. Кроме того, метод эндоскопии слишком громоздкий, т.к. связан с хирургической операцией, которая отрицательно влияет на последующее течение реакции суперовуляции, и может быть использован только в научно-исследовательской работе. Исходя из этих соображений даже сами авторы исследования не сочли возможным предложить результаты своих исследований, полученных методом эндоскопии, в качестве способа прогнозирования реакции суперовуляции у животных-доноров.

Целью исследования являлось выяснение возможности прогнозирования суперовуляции у коров до начала гормональной обработки и установление целесообразности её вызывания у животного в конкретный половой цикл.

Материал и методы

Опыт был проведен на нормально циклирующих коровах и телках в ОППХ ВИМ «Каменка» Московской области и в виварии института. Все подопытные животные в течение 2-х лет многократно подвергались гормональным обработкам с целью вызывания у них суперовуляции, поэтому, в определённой степени, была известна их способность отвечать суперовуляцией на гормональную обработку.

Были сформированы две группы животных. Одна группа состояла из 9 телок, которые на протяжении 2-х лет чаще проявляли высокую степень суперовуляции (более 10 желтых тел на пару яичников). Другая группа состояла из 6 телок, чаще всего проявляющих низкую степень овуляции.

Начиная с 5-го дня после выявления второй естественной охоты у подопытных животных брали кровь из яремной вены для определения гормонов. На 10-й день животным вводили 2,5 тыс. ИЕ СЖК и на 12-й день 500 мкг простагландина $F_{2\alpha}$ «Эстрофан». Вечером 13-го дня и в дни индуцированной охоты у животных также брали кровь. В крови, полученной от подопытных животных, радиоиммунологическим методом определяли прогестерон, эстрадиол-17 β и лютеинизирующий гормон (ЛГ). На 13–14-й дни после вызванной охоты в яичниках жи-

вотных было определено число желтых тел и неовулировавших фолликулов, проведено нехирургическое извлечение эмбрионов.

Прогестерон и эстрадиол-17 β в крови подопытных животных определяли радиоиммунологическим методом с помощью наборов фирмы CIS (Франция) или Института биоорганической химии (Белоруссия). При определении эстрадиола-17 β в плазме крови коров, с целью его концентрирования, проводили экстракцию эстрадиола из 1 мл плазмы и хроматографию полученных экстрактов крови на колонках с сефадексом LH-20 (Рябых и др., 1983). Коэффициент вариации при определении прогестерона составлял: в пределах опыта 12,3 и между опытами 16,2%, а при определении эстрадиола-17 β - соответственно 8,6 и 12,1%.

Лютеинизирующий гормон определяли радиоиммунологическим методом (Niswender et al., 1969) в нашей модификации. Антисыворотку к ЛГ получали в результате иммунизации кроликов. Для работы использовали антисыворотку, которая связывала 50% меченого ЛГ в разведении 1:60000. ЛГ метили изотопом I^{125} хлораминовым методом (Greenwood et al., 1963). Для мечения использовали высокоочищенный препарат ЛГ крупного рогатого скота LER - 1716-2. Разделение связавшегося меченого ЛГ от не связавшегося проводили с помощью вторых антител (Рябых и др., 1978, 1980).

Результаты и обсуждение

Анализ результатов исследования (табл.1) свидетельствует, что концентрация эстрадиола-17 β у основной массы тёлочек достоверно снижалась с 6-го к 10-му дню цикла (с $4,30 \pm 0,34$ до $2,06 \pm 0,60$ пг/мл), т.е. к тому периоду, который считается наилучшим для обработки животных-доноров гонадотропными препаратами с целью вызывания суперовуляции. Через 38 часов после введения простагландина $F_{2\alpha}$ наблюдался резкий подъём уровня эстрадиола-17 β в крови животных-доноров, хотя внешних признаков охоты у этих животных ещё не было отмечено. Явные признаки охоты у подопытных животных проявились через 48-86 часов после обработки простагландинном. В день охоты концентрация эстрадиола-17 β в крови тёлочек-доноров была в среднем в 2 раза ниже, чем вечером предыдущего дня.

Анализ содержания эстрадиола -17 β в крови тёлочек-доноров с высокой и низкой степенью суперовуляции показал, что концентрация эстрадиола с 6-го по 10-й день была несколько выше в крови у тёлочек, реагировавших высокой степенью суперовуляции, чем у тёлочек, имевших низкую степень суперовуляции, за исключением 7-го дня цикла. Однако, ввиду больших индивидуальных особенностей в секреции эстрадиола, эти различия не были достоверными.

Таблица 1. Содержание эстрадиола-17 β в крови животных-доноров с разной степенью суперовуляции (пг/мл)

Категории животных	Дни полового цикла						
	6-й	7-й	8-й	9-й	10-й	13-й	0 утро
Все поголовье (n=15)	4,80 $\pm 0,94$	2,02 $\pm 1,20$	2,50 $\pm 0,56$	3,14 $\pm 1,24$	2,08 $\pm 0,60$	32,4 $\pm 7,1$	23,6 $\pm 11,1$
С высокой степенью суперовуляции (n=9)	6,10 $\pm 0,86$	2,80 $\pm 0,53$	3,0 $\pm 0,56$	4,26 $\pm 2,10$	2,28 $\pm 1,22$	33,3 $\pm 2,9$	33,6 $\pm 18,6$
С низкой степенью суперовуляции (n=6)	3,20 $\pm 1,34$	3,30 $\pm 2,50$	1,90 $\pm 0,86$	1,70 $\pm 0,67$	1,83 $\pm 0,79$	31,4 $\pm 9,4$	15,6 $\pm 5,3$

Существенным моментом для поиска корреляции между степенью суперовуляции и уровнем половых гормонов явилось достоверное снижение в крови тёлочек с высокой степенью суперовуляции концентрации эстрадиола-17 β с 6-го на 7-й день и с 6-го на 10-й день цикла. Это снижение уровня эстрадиола - 17 β в крови тёлочек более чем в 2 раза, обусловлено функциональным состоянием яичников у этих животных в данный период и свидетельствует об атрезии доминирующего фолликула. Снижение тормозящего влияния доминирующего фолликула на развитие популяции средних фолликулов создаёт благоприятные условия для воздействия на них экзогенных гонадотропинов при вызывании суперовуляции. Было сделано предположение, что обнаруженная нами зависимость между резким (более чем в 2 раза) снижением уровня эстрадиола-17 β с 6-го на 7-й день у тёлочек с высокой степенью суперовуляции может быть использована для прогнозирования целесообразности гормональной обработки животного-донора с целью вызывания суперовуляции в данный половой цикл.

Анализ результатов по содержанию прогестерона в крови всех тёлочек – потенциальных доноров эмбрионов (таблица 2) выявил тенденцию повышения концентрации прогестерона в крови тёлочек на 7-й день цикла. Более детальный анализ по группам показал, что отмеченное повышение уровня прогестерона на 7-й день цикла наблюдается за счёт группы животных с высокой степенью суперовуляции, у которых концентрация прогестерона на 7-й день была достоверно выше, чем на 6-й и 8-й дни полового цикла. У животных с низкой реакцией суперовуляции, наоборот, наблюдалась тенденция к снижению уровня прогестерона на 7-й день по сравнению с 6-м и 8-м днями.

Таблица 2. Содержание прогестерона в крови телок с 5-го по 10-й день полового цикла (нг/мл)

Категория животных	Дни полового цикла					
	5-й	6-й	7-й	8-й	9-й	10-й
Все поголовье	1,65±0,42	1,8±0,25	2,41±0,41	1,89±0,42	1,99±0,41	1,8±0,29
С высокой степенью суперовуляции	1,15±0,04	1,28±0,19	2,44±0,29	1,1±0,17	1,63±0,51	1,70±0,51
С низкой степенью суперовуляции	1,50±0,61	2,03±0,66	1,86±0,66	2,0±0,41	1,68±0,34	1,58±0,32

Сопоставление полученных данных по уровню эстрадиола и прогестерона в крови тёлочек-доноров с высокой степенью суперовуляции показало, что на 7-й день полового цикла между этими гормонами существует обратная зависимость – при снижении уровня эстрадиола-17β повышается уровень прогестерона, что также может быть использовано для прогнозирования целесообразности гормональной обработки с целью вызывания суперовуляции.

Анализ данных по содержанию лютеинизирующего гормона (ЛГ) в крови тёлочек в период с 6 по 10-й день цикла (таблица 3) свидетельствует, что уровень ЛГ в среднем у всех тёлочек достоверно повышается на 7-й день по сравнению с 6-м и затем к 8-у дню. На 9-й и 10-й дни цикла концентрация ЛГ в крови остаётся приблизительно на одинаковом уровне, но несколько более высоком, чем на 8-й день. Сопоставление данных по содержанию ЛГ в крови тёлочек с высокой и низкой степенью суперовуляции показало, что у животных с низкой степенью суперовуляции концентрация ЛГ достоверно повышается на 7-й день, достоверно снижается к 8-у дню и остаётся на этом уровне на 9-й и 10-й дни цикла. У животных с высокой степенью суперовуляции также отмечалось незначительное повышение уровня ЛГ на 7-й день по сравнению с 6-м, но это повышение было недостоверным. В день охоты и в первый день нового полового цикла (день начала охоты считали нулевым днём) достоверных различий в уровне ЛГ в крови животных-доноров с высокой и низкой степенью суперовуляции обнаружено не было.

Таким образом, отмеченное нами резкое снижение (более чем в 2 раза) уровня эстрадиола-17β и повышение уровня прогестерона в крови животных-доноров с высокой степенью суперовуляции с 6-го на 7-й день полового цикла после детального анализа было использовано для прогнозирования вызывания суперовуляции.

Таблица 3. Содержание лютеинизирующего гормона в крови животных-доноров с разной степенью суперовуляции (нг/мл)

Категория животных	Дни полового цикла									
	6-й	7-й	8-й	9-й	10-й	13-й	0 утро	0 вечер	1-й утро	1-й вечер
Все поголовье	6,79 ±1,52	13,4 ±2,4	8,5 ±1,4	11,7 ±2,6	10,3 ±1,2	17,7 ±4,6	22,6 ±8,1	21,2 ±4,2	21,7 ±8,2	21,6 ±4,5
С высок. супер-овуляц	4,6 ±1,41	9,5 ±2,9	7,8 ±2,4	13,7 ±5,6	11,1 ±2,2	15,8 ±3,8	25,2 ±15,8	26,8 ±5,1	18,4 ±4,7	24,0 ±8,0
С низкой супер-овуляц	8,9 ±2,19	20,0 ±1,8	9,6 ±1,4	9,2 ±1,9	9,2 ±0,8	20,2 ±9,2	19,9 ±5,7	13,7 ±7,5	25,0 ±14,3	19,1 ±4,9

Принцип способа заключается в том, что в период, предшествующий экзогенной гонадотропной стимуляции, проводится определение функционального состояния яичников коров-доноров по уровню эстрадиола-17β в крови животного на 6-й и 7-й дни полового цикла, считая день предыдущей охоты нулевым днем. Если на 6-й день полового цикла концентрация эстрадиола-17β в крови животного не ниже 2,3-2,5 пг/мл и при этом резко снижается на 7-й день (в 1,5-4,5 раза), то у этого животного следует ожидать хорошую суперовуляцию при вызывании ее в лютеальную фазу полового цикла. Если же концентрация эстрадиола-17β в крови животного на 6-й день цикла или ниже 2,3, или уровень эстрадиола повышается с 6-го на 7-й день цикла, то у таких животных нецелесообразно вызывать суперовуляцию в данный половой цикл ввиду низкой ответной реакции.

Сущность способа заключается в том, что в каждом отдельном случае реакция суперовуляции у одного и того же животного зависит от функционального состояния яичников и от состава популяции антральных фолликулов в них в момент стимуляции животного экзогенными гонадотропинами. Если эта популяция относительно однородна и представлена большим количеством средних фолликулов (5-8 мм в диаметре), то следует ожидать хорошую реакцию суперовуляцией. Если же популяция антральных фолликулов неоднородна и наряду со средними находятся крупные фолликулы (свыше 8 мм в диаметре), то следует ожидать плохую суперовуляцию, т.к. эти крупные фолликулы, усиленно развиваясь, оказывают негативное влияние на процесс развития мелких и средних фолликулов. Известно, что развивающиеся антральные фолликулы синтезируют и выделяют в кровь эстрогены, ос-

новным из которых у крупного рогатого скота является эстрадиол-17 β . Способностью синтезировать и выделять в кровь значительные количества эстрадиола-17 β обладают, главным образом, нормальные фолликулы, но не атретические или лютеинизирующие (Kruip et al., 1982). При этом мелкие и средние антральные фолликулы создают фоновый уровень, а крупные фолликулы в процессе своего развития дают всплески повышения концентрации эстрогенов в крови.

Таким образом, повышение концентрации эстрадиола-17 β в крови доноров с 6-го на 7-й день полового цикла свидетельствует о развитии в яичниках животного одного или нескольких крупных эстрогенсинтезирующих фолликулов. Присутствие таких фолликулов к 10-му дню цикла создает неблагоприятные условия для развития мелких и средних фолликулов, вызывая их атрезию. В результате этого на момент стимуляции животных экзогенными гонадотропинами в их яичниках содержится небольшое число нормальных фолликулов средних размеров, способных отвечать развитием на гормональную обработку. Отсутствие же крупных доминирующих фолликулов в яичниках животных в период с 7-го по 10-й день, о чем свидетельствует резкое снижение уровня эстрадиола-17 β после 6-го дня, создает наиболее благоприятные условия для развития мелких и средних фолликулов к моменту гонадотропной стимуляции яичников с целью вызывания суперовуляции.

Концентрация эстрадиола-17 β в крови животных на 6-й день цикла ниже 2,3 пг/мл свидетельствует, вообще, о малочисленности популяции фолликулов в яичнике и о нецелесообразности вызывания суперовуляции у животного в данный половой цикл.

Предполагаемая нами сущность способа прогнозирования суперовуляции у коров-доноров позднее получила экспериментальное подтверждение в исследованиях других авторов, изучавших процесс отбора доминирующих фолликулов и их влияние на другие подчиненные фолликулы. При использовании метода ультразвуковой эхографии было отмечено, что у значительной части коров доминантный фолликул достигает наибольших размеров после 6-го дня цикла и теряет доминантность после 8-10 дня, что ведет к началу развития новой волны фолликулов (Ginther et al., 1996).

Исходя из результатов наших исследований данные, полученные Гинтер с соавторами (Ginther et al., 1996), как раз характеризуют ту группу коров, у которых наблюдается повышение уровня эстрадиола-17 β в крови с 6-го на 7-й день и от которых следует ожидать низкую степень суперовуляции. В связи с тем, что такие коровы с низкой степенью суперовуляции в конкретный половой цикл составляют значительную часть стада, они и создают общую картину при изучении процесса отбора доминантного фолликула методом ультразвуковой эхо-

графии. Не исключено, что в эту группу входят коровы, имеющие две волны развития фолликулов, которые характеризуются более длительным периодом развития доминантного фолликула и его отрицательным влиянием на другие фолликулы.

Предлагаемый способ прогнозирования выгодно отличается тем, что кровь для определения эстрадиола-17 β берут у животных на 6-й и 7-й дни цикла, а гонадотропную стимуляцию с целью вызывания суперовуляции начинают на 9-11-й день. Таким образом, для радиоиммунологического определения эстрадиола-17 β остается вполне достаточно времени (2-4 дня), что также является весьма существенным моментом.

Проверка разработанного способа прогнозирования суперовуляции была проведена на научно-производственном пункте по трансплантации эмбрионов в ОППХ ВИМ «Каменка» на 5 коровах и 20 телках случного возраста, предназначенных для вызывания суперовуляции в лютеальную фазу полового цикла. На 6-й и 7-й дни цикла (день охоты считали нулевым днем) между 9 и 10 часами утра у этих животных брали кровь из яремной вены в пробирки, обработанные гепарином. В полученных образцах плазмы крови определяли эстрадиол-17 β радиоиммунологическим методом с помощью наборов фирмы CIS в трех повторностях.

На основании результатов анализа содержания эстрадиола-17 β в крови на 6-й и 7-й дни полового цикла (таблица 4) все подопытные животные были подразделены на 3 основные группы:

к 1-й группе были отнесены животные (№ п/п 1-9), у которых концентрация эстрадиола-17 β в крови на 6-й день полового цикла была выше 3-х пг/мл (от 3,4 до 10,8 пг/мл) и на 7-й день снижалась в 1,5-4,5 раза по отношению к содержанию на 6-й день;

во 2-ю группу были выделены животные (№ п/п 10-20), у которых концентрация эстрадиола-17 β в крови на 6-й день цикла была также выше 3 пг/мл (от 4,4 до 15,4), но на 7-й день она повышалась по сравнению с 6-м днем (до 5,6-20,8 пг/мл);

в 3-ю группу вошли животные (№ п/п 21-24), у которых уровень эстрадиола-17 β в крови снижался с 6-го на 7-й день цикла, как и у животных 1-й группы, но содержание его на 6-й день было ниже 2,3 пг/мл.

На 10-й день полового цикла всем подопытным животным было введено по 7500 м.ед. (мышинных единиц) гонадотропина сыворотки жеребых кобыл (ГСЖК), а на 12-й день – по 500 мкг аналога простагландина F_{2 α} «эстрофан». На 13-14-й день после охоты, индуцированной ГСЖК, у животных-доноров методом ректальной пальпации было определено число желтых тел и неовулировавших фолликулов, т.е. была определена степень суперовуляции.

Таблица 4. Суперовуляция у животных-доноров в зависимости от содержания эстрадиола-17β в периферической крови на 6-й и 7-й дни полового цикла

№ п/п	Концентрация эстрадиола-17β с 6-го по 7-й дни полового цикла		Изменение содержания эстрадиола-17β	Суперовуляция (на пару яичников)		Степень суперовуляции
	6-й день	7-й день		ж. т.	н.фол.	
1	5,4	3,5	сниж. в 1,5 раза	22-24	0	высокая
2	3,3	1,2	сниж. в 2,7 раза	10-11	0	средняя
3	3,4	1,9	сниж. в 1,8 раза	11-12	0	средняя
4	10,8	2,4	сниж. в 4,5 раза	7-8	1	средняя
5	7,1	4,2	сниж. в 1,7 раза	18-20	3-5	высокая
6	4,8	1,2	сниж. в 4 раза	14-15	2	высокая
7	5,8	1,3	сниж. в 4,5 раза	21-23	0	высокая
8	4,8	2,8	сниж. в 1,7 раза	15-16	2	высокая
9	10,0	2,8	сниж. в 3,5 раза	24-25	0	высокая
	6,76±0,8	2,58±0,33	снижение	16,3±1,9	1,0±0,5	высокая
10	6,0	6,4	повышение	1	0	низкая
11	4,6	5,6	повышение	6	3	низкая
12	7,2	10,2	повышение	5	2	низкая
13	4,4	6,4	повышение	4	0	низкая
14	15,4	20,8	повышение	5	0	низкая
15	7,8	9,0	повышение	4	3	низкая
16	7,8	12,4	повышение	4	4	низкая
17	7,2	7,8	повышение	1	1	низкая
18	5,4	6,0	повышение	1	1	низкая
19	10,2	13,2	повышение	2	0	низкая
20	9,6	16,4	повышение	4	4	низкая
	7,8±0,94	10,4±1,4	повышение	3,4±0,56	2,1±0,7	низкая
21	2,1*	0,6	сниж. в 3,5 раза	3	3	низкая
22	0,4*	0,1	сниж. в 4 раза	5	1	низкая
23	2,3*	1,9	сниж. в 1,2 раза	1	1	низкая
24	0,5*	0,4 ^x	сниж. в 1,2 раза	1	0	низкая
	1,32±0,5*	0,75±0,39		2,5±0,95	1,2±0,6	низкая

* – концентрация эстрадиола-17β на 6-й день ниже 2,3 пг/мл

Анализ результатов исследования суперовуляции показал (таблица 4), что у животных 1-й группы (№ п/п 1-9) суперовуляция была высокой и средней степени. У животных этой группы в среднем развилось $17,3$ фолликула (от 7 до 25) на пару яичников, из которых $16,3 \pm 1,9$ фолликулов овулировали и превратились в желтые тела и только в среднем по $1,0 \pm 0,48$ фолликула на пару яичников не овулировали. У животных 2-й группы (№ п/п 10-20) степень реакции суперовуляции была низкой, в среднем по $3,4 \pm 0,56$ желтых тела (от 1 до 6) при наличии $2,1 \pm 0,76$ неовулировавших фолликула на пару яичников. У животных 3-й группы (№ п/п 21-24) степень суперовуляции также была низкой, в среднем по $2,5 \pm 0,95$ желтых тела при $1,2 \pm 0,63$ неовулировавших фолликула на пару яичников. Таким образом, анализ динамики содержания эстрадиола-17 β в крови животных-доноров, проведенный перед гормональной обработкой, показал, что в данный половой цикл вызывать суперовуляцию было целесообразно у животных № п/п 1-9, что и подтвердили результаты вызванной реакции суперовуляции.

У животных № п/п 10-25 реакция суперовуляции была низкой с относительно большим числом неовулировавших фолликулов. В практике считается нерентабельным проводить извлечение эмбрионов и подготовку реципиентов для животных-доноров, которые в результате суперовуляции имеют на пару яичников только 3-4 желтых тела.

Использование предлагаемого способа прогнозирования реакции суперовуляции в конкретный половой цикл позволяет:

а) в 2-2,5 раза повысить интенсивность использования постоянных высокоценных доноров за счет сокращения числа неудачных вызываний суперовуляции, так как каждое неудачное вызывание суперовуляции, при существующих в настоящее время способах и принципах ее вызывания, отодвигает следующее получение эмбрионов от этого животного-донора на 93-103 дня.

Без предварительного прогнозирования суперовуляции, с целью определения целесообразности ее вызывания в конкретный половой цикл, у 64% животных-доноров (16 из 25 по данным таблицы) следует ожидать низкую степень суперовуляции и, в связи с этим, получение эмбрионов от этих животных отодвигается как минимум на 93-186 дней (93х2). Следовательно, число эффективных вызываний суперовуляции сокращается до 2-2,5 в год на одного донора. При использовании способа прогнозирования суперовуляции гормональную обработку животных-доноров проводят только при благоприятном функциональном состоянии яичников и, тем самым, число удачных вызываний суперовуляции увеличивается до 4-5 в год, т.е. в 2-2,5 раза по сравнению с существующей системой без прогнозирования суперовуляции.

б) в 4-5 раз повысить общую эффективность вызывания суперовуляции у постоянных животных-доноров за счет отбора для гормональ-

ной обработки только тех животных, которые в данный половой цикл должны дать хорошую реакцию суперовуляции и повысить интенсивность использования животных-доноров;

в) с наибольшей эффективностью использовать высокопродуктивных коров в послеотельный период при системе одноразового использования их в качестве доноров, т.к. неудачное вызывание суперовуляции у этих животных в неблагоприятный половой цикл отодвигает использование их для получения эмбрионов более чем на 1 год;

г) более четко производить отбор животных-доноров, пригодных для вызывания суперовуляции, из большого числа выбракованных высокопродуктивных коров;

д) значительно сократить непроизводительные затраты труда, времени и гормональных препаратов на подготовку животных-доноров и реципиентов, которым планируется пересаживать эмбрионы, полученные от обработанных доноров, за счет сокращения числа неудачных вызываний суперовуляции у животных-доноров.

Данный способ прогнозирования суперовуляции у коров признан изобретением и на него получено авторское свидетельство.

Заключение

Исследования проведены с целью выяснения возможности прогнозирования суперовуляции у коров по уровню эндогенных гормонов в крови до начала вызывания суперовуляции в лютеальную фазу цикла и установления целесообразности её вызывания у животного в конкретный половой цикл.

Установлено, что динамика концентраций ЛГ и прогестерона в крови коров в начальный период лютеальной фазы полового цикла мало информативны для прогнозирования суперовуляции у коров при вызывании её в лютеальную фазу цикла.

Отмечено, что изменения уровня эстрадиола в крови коров-доноров в период с 5-го по 8-й день полового цикла отражают функциональное состояние доминирующего фолликула и популяции антральных фолликулов среднего размера. Чем раньше произошла атрезия доминирующего фолликула I волны, тем многочисленнее и однороднее популяция фолликулов следующей II волны на 9-11-й дни цикла, т.е. к моменту введения гонадотропных гормонов с целью вызывания суперовуляции в лютеальную фазу полового цикла.

Установлено, что у животных, хорошо прореагировавших суперовуляцией на гормональную обработку, концентрация эстрадиола-17 β в крови на 6-й день полового цикла была выше 2,3-2,5 пг/мл и при этом резко снижалась на 7-й день (в 1,5-4,5 раза). У животных с низкой суперовуляцией концентрация эстрадиола-17 β в крови на 6-й день цик-

ла была или ниже 2,3 пг/мл, или уровень эстрадиола повышался с 6-го на 7-й день цикла.

Таким образом, полученные результаты показали, что динамика уровня эстрадиола в крови коров с 6-го на 7-й день полового цикла является объективным показателем степени суперовуляции при вызывании её в данный половой цикл. На основании этой закономерности разработан способ прогнозирования суперовуляции у коров-доноров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рябых В.П., Никитина В.Н., Стрельников А.И. Половые гормоны в крови животных-доноров и реципиентов в связи с трансплантацией эмбрионов. Научные труды ВНИИФБиП, 1983, 27: 22-34.
2. Рябых В.П., Прокофьев М.И. Радиоиммунологический метод определения ЛГ в крови КРС. II Всесоюзный симпозиум по иммунологии воспроизводств. Москва, 16-18 декабря 1980 г.
3. Рябых В.П., Прокофьев М.И., Никитина В.Н. Специфичность антисывороток к ЛГ крупного рогатого скота при различных способах иммунизации. Тезисы докладов IV Международного симпозиума по иммунологии воспроизводств. Варна, 1978, 19-22 сентября.
4. Ginther O. J., Wiltbank M. C., Fricke P. M., et al. Selection of the dominant follicle in cattle. *Biology of Reproduction*, 1996, 55: 1187-1194
5. Greenwood F., Hunter W., Glover J. The preparation of ¹³¹I-labelled human growth hormone of high specific radioactivity. *Biochem.J.* 1963, 89: 114-123
6. Kruip T.A.M., Dieleman S.J. Macroscopic classification of bovine follicles and its validation by micromorphological and steroid biochemical procedures. *Reprod. Nutr. Develop.*, 1982, 22(3): 465-473.
7. Niswender G., Reichert L., Midgley O. et al. Radioimmunoassay for bovine and ovine luteinizing hormone. *Endocrinology*, 1969, 84: 1166-1173.
8. Saumande J., Chupin, D., Mariana. et al. Factors affecting the variability of ovulation rates after PMSG stimulation. In: "Control of reproduction in the cow." Ed. J. M. Sreenan. The Hague. M. Nijhoff, 1978: 195-224.
9. Schams D., Menzer C., Schallenberger E. et al. Superovulation beim Rind: Hormonprofile bei Stimulation mit Serumgonadotropin (PMSG) bzw. Hypophysengrem FSH. *Zuchthygiene*, 1979, 14: 11-25.

ВЫДЕЛЕНИЕ И КЛОНИРОВАНИЕ НУКЛЕОТИДНОЙ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 5'-ОБЛАСТИ ГЕНА β -ЛАКТОГЛОБУЛИНА БЫКА ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ГЕННО-ИНЖЕНЕРНЫХ КОНСТРУКЦИЯХ

В.А. Езерский, В.Г. Шевченко
Лаборатория молекулярной биологии

*Проведено конструирование рекомбинантной плазмиды, содержащей 5' - фланкирующую область гена β -лактоглобулина быка длиной в 3020 п.о. Достоверность клонирования подтверждена секвенированием клонированного фрагмента. Полученную плазмиду, обозначенную как **p5BLg**, предполагается использовать в создании генно-инженерных конструкций при разработке технологий по получению трансгенных сельскохозяйственных животных, продуцирующих с молоком белки фармакологического назначения.*

Введение

Молочная железа трансгенных животных является реальным источником производства рекомбинантных белков. Она физиологически обладает огромным потенциалом для синтеза белков. Кроме того, молоко имеет высокий гигиенический стандарт, а рекомбинантные белки могут быть извлечены с использованием имеющихся технологий. К настоящему времени накоплен обширный материал, свидетельствующий о возможности экспрессии генов биологически активных веществ в молочной железе трансгенных животных.

Принципиальная возможность получения с молоком рекомбинантных белков обусловлена тканеспецифической экспрессией определяемой регуляторными последовательностями генов основных белков молока – казеинов и сывороточных белков, таких как β -лактоглобулин и α -лактоальбумин.

В многочисленных исследованиях изучалась возможность использования регуляторных областей генов основных белков молока (казеинов и сывороточных белков молока) для обеспечения тканеспецифичной экспрессии трансгена. В лаборатории было создано несколько векторных конструкций на основе регуляторных областей α s1-казеина быка и структурных генов эритропоэтина человека (чЭПО), гранулоцит-колониестимулирующего фактора человека (чГКСФ) и лактоферрина человека (чЛФ). Данные конструкции используются в экспериментах по получению трансгенных животных. Следующим реальным кандидатом для получения на его основе экспрессирующих, тканеспецифичных для молочной железы генноинженерных конструк-

ций, представляются регуляторные последовательности гена β -лактоглобулина крупного рогатого скота.

β -лактоглобулин (β -ЛГ) является основным сывороточным белком в молоке почти всех млекопитающих за исключением грызунов и приматов (Pervaiz et al., 1985). Концентрация β -лактоглобулина в молоке КРС составляет 4,6 мг/мл (Caffin et al., 1985).

Для получения трансгенных животных обычно используются регуляторные районы β -ЛГ овец, коз и крупного рогатого скота. Simons с соавторами (Simons et al., 1987) получили первых трансгенных мышей с геном β -ЛГ овцы. Экспрессия отмечалась только в молочной железе трансгенных мышей и находилась на уровне 3-23 мг/мл. При этом максимальный уровень синтеза рекомбинантного белка в молоке мышей превышал концентрацию нативного β -ЛГ в молоке овец в 5 раз. Высокий уровень экспрессии α_1 -антитрипсина ($\text{h}\alpha_1\text{AT}$) человека был достигнут в молоке овец, когда была использована геномная последовательность $\text{h}\alpha_1\text{AT}$ под контролем промотора β -ЛГ овцы длиной 4,0 т.п.н. (Wright et al., 1991). Две полученные трансгенные овцы продуцировали от 1 до 5 мг/мл $\text{h}\alpha_1\text{AT}$, в то время как у третьей овцы концентрация рекомбинантного белка после первоначальных 63 мг/мл стабилизировалась на уровне 35 мг/мл. Примерно такой же уровень экспрессии β -ЛГ овцы был выявлен McClenaghan с соавторами (1995). Полученные ими линии мышей экспрессировали трансген в концентрациях от 7 до 33 мг/мл.

В 1998г. были опубликованы результаты специфической экспрессии гена β -ЛГ крупного рогатого скота в молоке трансгенных мышей. Уровень экспрессии в четырех полученных линиях мышей достигал 1-2 мг/мл и сохранялся стабильным в ходе двух лактаций (Hyttenen et al., 1998). Регуляторные элементы гена β -ЛГ крупного рогатого скота использовались при получении трансгенных мышей и кроликов с экспрессией эритропоэтина человека в молоке до уровня 0,5 мг/мл (Korhonen et al., 1997).

Исходя из вышеизложенного целью настоящей работы являлось выделение и клонирование 5' нуклеотидной последовательности гена β -лактоглобулина крупного рогатого скота с целью использования в качестве промоторных элементов при создании экспрессирующих генных конструкций.

Материал и методы

Из базы данных GENBANK (NCBI) была получена нуклеотидная последовательность полного гена β -лактоглобулина крупного рогатого скота. На основании рестриктной и функциональной карты гена β -лактоглобулина быка была выбрана последовательность, потенциально способная обеспечивать тканеспецифичную экспрессию трансге-

на, включающая промоторную область, первый экзон, первый интрон и часть второго интрона.

Для получения 5'- фланкирующего района гена β-лактоглобулина быка использовали метод ПЦР-амплификации. Для амплификации выбранной области были подобраны праймеры следующей структуры:

Название	Структура праймера	Ориент.	Длина, о.	Положение	Фермент рестрикции
BlgE1	5' - ctc tag aag att gtc cag cct ccc t -3'	Прямой	25	10 - 29	Xba I
BlgE15	5' atg tcg acc cat ggc caa gga gta cca ag -3'	Обратн.	29	3005 - 2985	Sal I

При этом в состав прямого и обратного праймера были дополнительно введены сайты рестрикции, необходимые для дальнейшего клонирования (выделены жирным шрифтом). В качестве матрицы в реакции амплификации была использована ДНК быка.

Временные и температурные параметры ПЦР были подобраны в зависимости от структуры праймеров.

Выделение плазмидной ДНК проводилось по методам Кузнецова К.Д. (1990), Блина и Стаффорда (Blin et al., 1976). Для очистки и концентрирования НК, а также количественного анализа содержания НК были использованы процедуры, предложенные Маниатисом (1984). Выделение высококопийных плазмид осуществляли по Берквисту П.А. (1990).

Гидролиз ДНК рестриктазами и лигирование проводили стандартными методами (Маниатис и др., 1984). Для проведения рестрикции брали 0,2-1 мкг плазмидной ДНК. Добавляли к раствору ДНК соответствующий буфер 10-кратной концентрации. Затем добавляли рестриктазу из расчета 1 ед. фермента на 1 мкг ДНК. Доводили объем раствора до 30 мкл и инкубировали пробы 2 часа при 37°C.

В зависимости от того, какие концы имели фрагменты ДНК, реакцию лигирования проводили в различных условиях (pGEM-T...). Молярное отношение вектора и вставки составляло 1:2 при лигировании по "липким" концам, концентрация ДНК составляла 20 мкг/мкл. Лигазу добавляли из расчета 0,5 ед. на 1 мл. Для отбора необходимых рекомбинантных молекул лигазную смесь брали на трансформацию клеток E.coli. Трансформацию проводили по методу Кушнера (Бергквист, 1990) с применением хлористого кальция и хлористого рубидия.

Секвенирование плазмидной ДНК проводили в соответствии с рекомендациями к секвенирующему набору фирмы «Promega» (fmol DNA...).

Реакционные смеси разделяли в 5 или 6 %-ом полиакриламидном геле, содержащем 100 мМ трис-боратный буфер, рН 8,3 и 7 М мочевины. Высушенные гели экспонировали при комнатной температуре 18-72 ч. с пленкой Retina (Германия).

Выделение и клонирование нуклеотидной последовательности 5`области гена β -лактоглобулина крупного рогатого скота

Для получения необходимого фрагмента из 5`фланкирующей области гена В-Lg экспериментально были подобраны следующие условия для проведения амплификации: денатурация ДНК 94°C - 1 мин., отжиг праймеров - 62°C - 1 мин., синтез 72°C – 3 мин 20 сек. Элонгация 72°C - 2мин. Всего 27 циклов.

Размер амплифицированного участка составил около 3000 п.о., что соответствовало ожидаемой величине фрагмента. На рис.1. представлен препаративный электрофорез в 0,8% агарозном геле с 1хТБЕ ампликона 5`области β -ЛГ. Фрагмент был вырезан из геля, очищен и в дальнейшем использовался для клонирования.

1 2 3 4 5 6

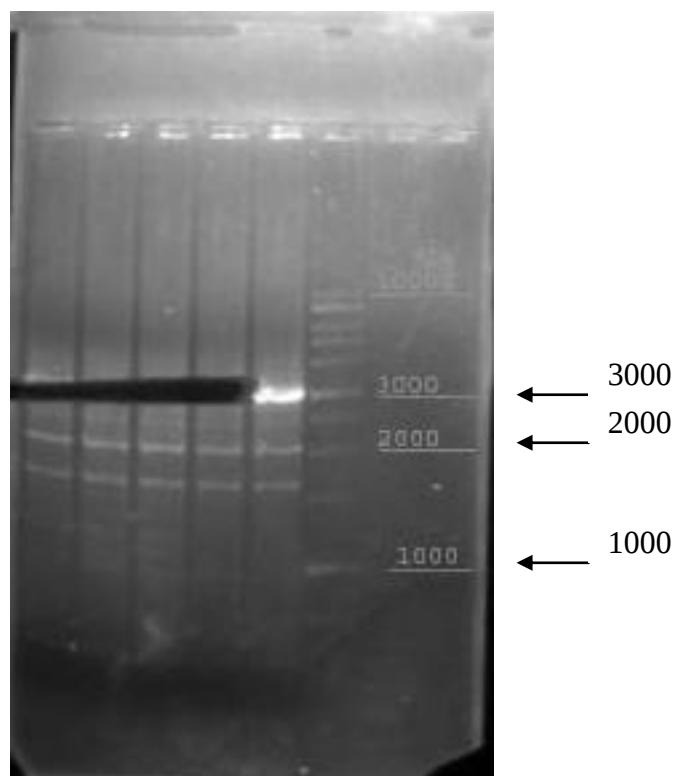


Рис. 1. Электрофореграмма ампликона 5' области B-Lg в 0,7% агарозе с 1хТБЕ. Дор. 1-4 вырезанный фрагмент, дор. 5 - ампликон 5' области B-Lg, дор. 6 – маркер молекулярных масс.

Вырезанный из геля амплификат 5' B-Lg очищали с использованием MicroSpin Columns фирмы «Promega». Затем выделенный фрагмент 5' B-Lg был клонирован в промежуточный вектор pGEM-T Easy «Promega» по методике, рекомендованной производителем [13]. Соотношение вектора и вставки составляло 1:3. Концентрацию ДНК-вставки оценивали по свечению комплекса ДНК-бромистый этидий в УФ свете после электрофореза в 0,8% агарозном геле. Лигирование проводили в течение ночи в 10 мкл. смеси. Для трансформации использовались 10 мкл. лигазной смеси. Отбор рекомбинантных клонов проводили на селективной среде, содержащей X-gal. Белый клон-трансформант рассеивали для препаративного выделения плазмидной ДНК. После наработки и очистки плазмидной ДНК, предположительно содержащей необходимый фрагмент, была определена нуклеотидная последовательность вставки. После проведения сиквенса, клонированная последовательность была сравнена с ранее опубликованными в базе GENBANK с помощью пакета программ BLAST. На рис. 2. представ-

лена последовательность нуклеотидов клонированной 5'-области B-Lg (верхняя последовательность) в сравнении с опубликованной в Genbank (Регистрационный номер **X14710**).

Q 1 gcgcttgaaaagattgtccagcctccctcccatagtggtcagtgccagctgccccaggc 60

S 1 gcgcttgaaaagattgtccagcctccctcccatagtggtcagtgccagctgccccaggc 60

Q 61 cagagggtgctttatttccgtctctctcttggtggtattctctggaagctgaagttcc 120

S 61 cagagggtgctttatttccgtctctctcttggtggtattctctggaagctgaagttcc 120

Q 121 tggaagttatgaatagcttgccgtgaaggggcatggttttggtcacggttcacaggaaac 180

S 121 tggaagttatgaatagcttgccatgaaggggcatggttttggtcacggttcacaggaaac 180

Q 181 ttgggagaccctgcagctcggacgttctctgaggttggtggcacccctgatttcctaagctc 240

S 181 ttgggagaccctgcagctcggacgttctctgaggttggtggcacccctgatttcctaagctc 240

Q 241 gctgggggaacgggggtgctacttctccctggctgacctccctctgctctcgatcacccagt 300

S 241 gctgggggaacgggggtgctacttctccctggctgacctccctctgctctcgatcacccagt 300

Q 301 tctgagagcagagcgggtgctggggggcacggcctctc 337

S 301 tctgagagcagagtgggtgctngggggnnnnnnnnnnnn 336

Q 338 cacagcctctcgcatctgacacttggttcaaaccacccatgctgctgttcggggggcca 397

S 326 cacagcctctcgcatctgacacttggttcaaaccacccatgctggtgttcggggggcca 385

Q 398 cctatggggaaggctcctcactgcaggggtgcccctgtcccctcagagatcagaagtccc 457

S 386 cctatggggaaggctcctcactgcaggggtgcccctgtcccctcagagatcagaagtccc 445

Q 458 agtccggacgtcgaatggccgagctccctcagagggtccaggaggatccttgcccc 517

S 446 agtctggatgtcgaatggccgagctccctcagagggtccaggaggatccttgcccc 505

Q 518 tccgccgccgctccagctcctggtgccgcacccttggggccgatctcgtagacgcctca 577

S 506 tccgccgccgctccagctcctggtgccgcacccttggggccgatctcgtagacgcctca 565

Q 578 gtccagtctctgctccgtgttactggcattctccccatgtcccctctgtgtccccgtt 637

S 566 gtccagtctctgctccgtgttactggcattctccccatgtcccctctgtgtccccgtt 625

Q 638 ttctctcacaaggacaccggacataagattagccccgttccagcatcacctgaacagct 697

S 626 ttctctcacaaggacaccggacataagattagccccgttccagcatcacctgaacagct 685

Q 698 cacatctgtaaagacctagattccaacaagattccatcctgaagttcctggtggacgtg 757

S 686 cacatctgtaaagacctagattccaacaagattccatcctgaagttcctggtggacgtg 745

Q 758 agttctggagcgacgcccttcaaccccatcacagcttgcgggtcatcgcaaacacggaa 817
 S 746 agttctggagcgacgcccttcaaccccatcacagcttgcgggtcatcgcaaacacggaa 805

Q 818 cctgggatttatcgtaaaaccaggttcttcgtgaacactgagcttcgaggcttggtgc 877
 S 806 cctgggatttatcgtaaaaccaggttcttcgtgaacactgagcttcgaggcttggtgc 865

Q 878 aagaattaaaggtgctaatacagatcagggcaaggaccgaagctggccaagcctccttt 937
 S 866 aagaattaaaggtgctaatacagatcagggcaaggaccgaagctggccaagcctccttt 925

Q 938 tccatcacaggaaagggaggtctggggcgccgggggtctgctccgtgggtgggtct 997
 S 926 tccatcacaggaaagggaggtctggggcgccgggggtctgctccgtgggtgggtct 985

Q998 ttctggtacagtcaccaacagtctctccgggaaggaaaccagaggccagagagcaagcca1057
 S986 ttctggtacagtcaccaacagtctctccgggaaggaaaccagaggccagagagcaagcca1045

Q1058 gagctagtctagggggtccctgagcctccaccaagatgccgaccaggcagcgggcccc1117
 S 1046 gagctagtctagggagatccctgagcctccaccaagatgccgaccaggcagcgggcccc1105

Q 1118 tggaaagaccctaccgtctagggggggaacaggagccgacccgccaggcccccgctatca 1177
 S 1106 tggaaagaccctacagcttagggggggaacaggagccgacccgccaggcccccgctatca 1165
 Q 1178 ggagacaccccaaccttgctcctgttccctacccagtagccacccgacccctgaga 1237
 S 1166 ggagacaccccaaccttgctcctgttccctacccagtagccacccgacccctgaga 1225

Q 1238 tgagcagtttagttgcttagaatgtcaattgaaggctttgtacccctttgccagtggc 1297
 S 1226 tgagtggtttacttgcttagaatgtcaattgaaggctttgtacccctttgccagtggc 1285

Q 1298 acagggcacccacagcccgtgggtactgatgccatgtggactcagccaggaggactgt 1357
 S 1286 acagggcacccacagcccgtgggtactgatgccatgtggactcagccaggaggactgt 1345

Q 1358 cctgcgcctccctgctcgggccccctcatactcagcgacacaccagcaccagcgttc 1417
 S 1346 cctgcgcctccctgctcgggccccctcatactcagcgacacaccagcaccagcattc 1405

Q 1418 ccaccgctcctgaggtctgaaggcagctcgtgtggtctgagcgggtcggagggaagtgc 1477
 S 1406 ccaccactcctgaggtctgaaggcagctcgtgtggtctgagcgggtcggagggaagtgc 1465

Q 1478 cctgggagatttaaatgtgagaggtgggaggtgggaggtgggtcctgtaggccttccc 1537
 S 1466 cctgggagatttaaatgtgagaggtgggaggtgggaggtgggtcctgtaggccttccc 1525

Q 1538 atcccacgtgcctgcattggagccctagtgtactcagtcatgcccccgccgaggggtca 1597
 S 1526 atcccacgtgcctgcacggagccctagtgtactcagtcatgcccccgagcaccctca 1585

Q 1598 ggtcactttcccatcctgggggttattatgactgttgcattgttgcctttttgcta 1657
 S 1586 ggtcactttcccatcctgggggttattatgactgttgcattgttgcctttttgcta 1645

Q 1658 ccctaactgggcagcgggtgcttgagagccctcgatactgaccagggtccccctcgga 1717
S 1646 ccctaactgggcagcgggtgcttgagagccctcgatactgaccagggtccccctcgga 1705

Q 1718 gctcgacgtgaaccccatgtcacctcgccccagcctgcagagggtgggtgactgcaga 1777
S 1706 gctcgacgtgaaccccatgtcacctcgccccagcctgcagagggtgagggtgactgcaga 1765

Q1778gataccctttaccaaggccacagtcacatggttggaggagatgggtgcccaaggcagaa 1837
S 1766gataccctttaccaaggccacagtcacatggttggaggagatgggtgcccaaggcagaa 1825

Q 1838gccacctccaggacacacctgccccagtgctggctctgacctgtccttgctaagagg 1897
S 1826 gccacctccaggacacacctgccccagtgctggctctgacctgtccttgctaagagg 1885

Q 1898 ctgaccccaagaagtgttctggcgctggcagccagcctggacccagagcctggacacccc 1957
S 1886 ctgaccccaagaagtgttctggcgctggcagccagcctggacccagagcctggacacccc 1945

Q 1958 ctgcgcccctacttctggggcctaccaggaaccgtccaggcccagagggggccttctgc 2017
S 1946 ctgcgcccctacttctggggcgtaccaggaaccgtccaggcccagagggggccttctgc 2005

Q 2018 ttggcctcgaatggaagaaggcctcctattgtcctcgtagaggaagcaaccccaggggccc 2077
S 2006 ttggcctcgaatggaagaaggcctcctattgtcctcgtagaggaagcaaccccaggggccc 2065
Q 2078 aaggatacgcaggggggattcggggaaccgcgtggctggggggcccgcccgggctggct 2137
S 2066 aaggataggccaggggggattcggggaaccgcgtggctggggggcccgcccgggctggct 2125

Q 2138ggctggccctcctcctgtataaggccccgagcccgtgcctcagccctccactcctgca 2197
S 2126 ggctggccctcctcctgtataaggccccgagcccgtgtctcagccctccactcctgca 2185

Q2198 gagctcagaagcgtgatccccggctgcagccatgaagtgcctcctgcttgccctggccctc 2257
S2186 gagctcagaagcgtgacccagctgcagccatgaagtgcctcctgcttgccctggccctc 2245

Q 2258 acctgtggcgcccaggccctcatcgtcacccagaccatgaagggcctggatatccagaag 2317
S 2246 acctgtggcgcccaggccctcattgtcacccagaccatgaagggcctggatatccagaag 2305

Q 2318 gttcgagggtggccgggtgggtggtgagttcgagggcaggcaggggagctgggcctcaga 2377
S 2306 gttcgagggtgcccgggtgggtggtgagttcgagggtggctggggagctgggcctcaga 2365

Q 2378 gaccaaggaggctgtgacgtctgggattcccatcagtcagctagagccgctgacaaat 2437
S 2366 gaccaaggaggctgtgacgtctgggattcccatcagtcagctagagccgctgacaaat 2425

Q 2438 cgcccgccacaggcttcaaccaggccttagtgttctgattctggaggctggaagctgc 2497
S 2426 cgcccgccacaggcttcaaccaggccttagtgttctgattctggaggctggaagctgc 2485

Q 2498aatccaggcatcgcccgagctggctcctcctcgggccactctccggggagcagacagcca2557
S 2486aatccaggcatcgcccgagctggctcctcctcgggccactctccggggagcagacagcca2545

Q 2558 tcttctccctgtgtcctttgcgtgccctgggttccttctctgtgaggtcaccaggcctg 2617
 S 2546 tcttctccctgtgtcctttgcgtgccctgggttccttctctgtgaggtcaccaggcctg 2605

Q 2618 ctggatccacgccccccacacagcctcacgtgacctttgtcatctcttaaggccgtg 2677
 S 2606 ctggatccacgccccccacacagcctcacgtaacctttgtcatctcttaaggccgtg 2665

Q 2678 tctccagtcctgtgttgaggttctgggggtaatgggacacagttcagcccctaaaagag 2737
 S 2666 tctccagtcctgtgttgaggttctgggggtaatgggacacagttcagcccctaaaagag 2725

Q 2738 tccgctctgcccctcaaattttcccccactccagctatggctccccaagatccaaacgt 2797
 S 2726 tccgctctgcccctcaaattttcccccactccagctatggctccccaagatccaaatgt 2785

Q 2798tgccacgtgtgcgggggctcatctgggtccctctttgggctcagagtgaagtctggggaga 2857
 S 2786 tgccacgtgtgcgggggctcatctgggtccctctttgggctcagagtgaagtctggggaga 2845

Q 2858 gcattcctcaggggtgtgagttggggggaggcatctcaggggtgccaggccaggggtggg 2917
 S 2846 gcattcctcaggggtgccagttggggggaggcatctcaggggtgccaggccaggggtggg 2905

Q 2918 acagagagcccactgtggggctgggggccccttccggcccctggagtcagctcaaggctc 2977
 S 2906 acagagagcccactgtggggctgggggccccttccggcccctggagtcagctcaaggctc 2965

Q 2978 cctccccaggtggcggggacttggtactccttgccatgg 3017
 S 2966 cctccccaggtggcggggacttggtactccttgccatgg 3005

Рис. 2. Сравнение клонированной последовательности 5' области β-лактоглобулина с опубликованной в GENBANK (X14710). Q – обозначена (+) цепь клонированной последовательности, S - (+) цепь – ранее зарегистрированная в GENBANK. Жирными буквами отмечены не совпадающие нуклеотиды. Буквой n- нуклеотиды отсутствующие в одной из последовательностей.

Наличие однонуклеотидных замен может быть объяснено как ошибками синтеза полимеразы, так и действительно существующим полиморфизмом генов, более сильно проявляющимся для некодирующих участков. В то же время нет никаких отличий в основных регуляторных сайтах, обеспечивающих экспрессию гена. Идентичность последовательностей составляет 98%. Исходя из этого, данный клон решено было использовать для дальнейших работ.

Для выщепления вставки 5'BLg, плазмида pGEM T Easy\5BLg была обработана рестриктазами SalI и XbaI. В связи с тем, что выщепляемый фрагмент и плазмида pGEM T Easy имеют близкие размеры (около 3000 п.о.), к смеси была добавлена рестриктаза PvuI. Для данной рестриктазы существуют два сайта в последовательности плазмиды pGEMT, и не существует сайтов в клонированном фрагменте. В результате гидролиза тремя вышеуказанными рестриктазами получают следующие фрагменты: 3030 п.о. – клонированная 5'фланкирующая область гена β-Lg с липкими по SalI и XbaI концами, фрагменты плазми-

ды pGEM-T Easy размером 1780 п.о., 1096 п.о. и 139 п.о., (последний фрагмент на электрофореграмме не виден) (рис. 3). Электрофорез проводили в 0,7% агарозном геле с 1xTBE.

После разделения рестрикционной смеси в 0,7% геле фрагмент 5`BLg\SalI+XbaI был элюирован из геля и подготовлен для клонирования в плазмиде pUC18, имеющей такие же липкие концы. Для получения липких концов, комплиментарных вставке, плаزمида pUC18 была предварительно обработана рестриктазами SalI+XbaI, очищена и подготовлена для клонирования. Соотношение вектора и вставки составляло 1:3. Концентрацию плазмиды и ДНК-вставки оценивали по свечению комплекса ДНК-бромистый этидий в УФ свете после электрофореза в 0,8% агарозном геле. Лигирование проводили в течение ночи в 10 мкл. смеси. Для трансформации использовались 10 мкл. лигазной смеси. Отбор рекомбинантных клонов проводили на селективной среде, содержащей X-gal. Белый клон-трансформант рассеивали для препаративного выделения плазмидной ДНК. Наличие вставки у клонов трансформантов дополнительно проверяли ПЦР-амплификацией с праймерами BlgE1/BlgE15. Схема получившейся рекомбинантной плазмиды p5BLg представлена на рис. 4.

1 2 3 4



Рис. 3. Электрофореграмма продуктов рестрикции плазмиды pGEM T Easy\5BLg рестриктазами SalI, XbaI и PvuI. 1 дор.- интактная плазида pGEM T Easy\5BLg; 2 дор.- плазида pGEM T Easy\5BLg после обработки рестриктазами SalI, XbaI и PvuI; 3 и 4 дор.- Маркеры молекулярных масс (п.о.).

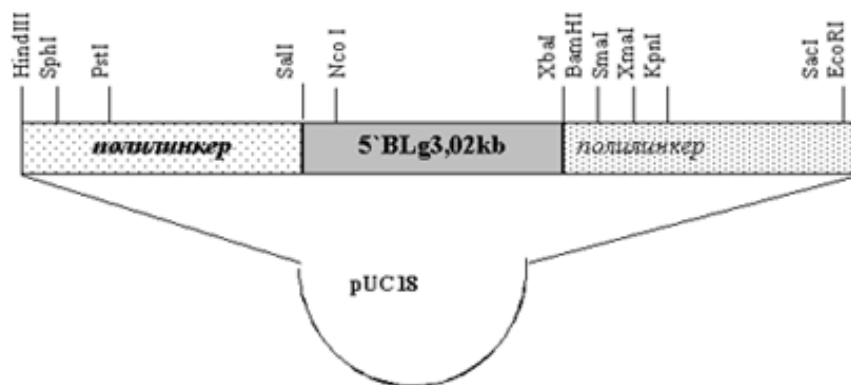


Рис.4. Карта-схема расположения сайтов рестрикции на созданной плазмиде p5BLg.

-  - полилинкер.
 - нуклеотидная последовательность 5' области гена β -лактоглобулина быка.
 - полилинкер
 - Hind III, Sph I, Pst I, Sal I, Nco I, BamH I, Sma I, Xma I, Kpn I, Sac I, EcoR I – сайты рестрикции для соответствующих рестриктаз.

Заключение

Создана плазида p5BLg, содержащая 5'фланкирующую область гена β -ЛГ крупного рогатого скота длиной 3017 п.о., которую предполагается использовать для конструирования векторной кассеты на основе регуляторных районов гена β -лактоглобулина, потенциально обеспечивающих тканеспецифичную экспрессию в молочной железе гетерологичных белков фармакологического назначения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Pervaiz S., Brew K. Science, Homology of beta-lactoglobulin, serum retinol-binding protein, and protein HC. 1985, 228: 335-337.
2. Caffin J.P., Poutrel B., Rainard P. Physiological and pathological factors influencing bovine alpha-lactalbumin and beta-lactoglobulin concentrations in milk. J. Dairy Sci., 1985, 68: 1087-1094.
3. Simons J., McClenaghan M., Clarc A. Alteration of the quality of milk by expression of sheep beta-lactoglobulin in transgenic mice. Nature, 1987, 328: 530-532.
4. Wright G., Carver A., Cottom D. High level expression of active human alpha-1-antitrypsin in the milk of transgenic sheep. Biotechnology, 1991, 9: 830-834.

5. McClenaghan M., Springbett A., Wallace R. Secretory proteins compete for production in the mammary gland of transgenic mice. *Biochem. J.*, 1995, 310: 637-641.
6. Hyttinen J.M., Korhonen V.P., Hiltunen M.O., Myohanen S., Janne J. High-level expression of bovine beta-lactoglobulin gene in transgenic mice. *J. Biotechnol.* 1998, 13, 61 (3): 191-198.
7. Korhonen VP, Tolvanen M, Hyttinen JM, Uusi-Oukari M, Sinervirta R, Alhonen L, Jauhainen M, Janne OA, Janne J. Expression of bovine beta-lactoglobulin/human erythropoietin fusion protein in the milk of transgenic mice and rabbits. *Eur. J. Biochem.* 1997,15, 245(2): 482-489.
8. NCBI - <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>
9. Кузнецов К.Д. Методы молекулярной генетики и генной инженерии, М.: Наука, 1990: 61-65.
10. Blin N., Stafford D.V. *Nucl. Acids Res.*, 1976, 3: 2303-2308.
11. Маниатис Г. и др. Методы генетической инженерии, М.: Мир, 1984
12. Бергквист П.А. Плазмиды. Методы. М.: Мир, 1990: 84-85.
13. pGEM-T and pGEM-T Easy Vector System. Technical manual. Promega Corporation.
14. fmol DNA Sequencing System. Technical manual. Promega Corporation.

ИЗУЧЕНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ РЕКОМБИНАНТНОГО ШТАММА *ESCHERICHIA COLI* S 5/98 (pColap) ДЛЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ЖИВОТНЫХ

Б.В. Тараканов, Т.А. Николичева, Л.Л. Полякова, А.И. Манухина
Лаборатория биотехнологии микроорганизмов пищеварительного тракта
Кабинет морфологических исследований

*В опытах на мышах и кроликах изучена острая токсичность вновь сконструированного штамма *Escherichia coli* S 5/98 (pColap). Установлено, что он обладает средней вирулентной дозой (LD_{50}) при введении в желудок до 10^{14} к.о.е./голову и внутрибрюшинном введении до 10^{12} к.о.е./голову. Штамм не оказывает выраженного общетоксического, местного токсического и аллергического действия, но способен к транслокации через тканевые барьеры организма мышей. Штамм отнесен к четвертому классу опасности, т.е. является малоопасным для человека и животных.*

Введение

Микроцины - низкомолекулярные антибиотикоподобные вещества, продуцируемые бактериями кишечной группы (Хмель и др., 1999; Asensio et al., 1976). Микроцины помогают бактериям в борьбе против

конкурентов, способствуют приживаемости штамма-продуцента в микробном сообществе. Продуценты микроцинов важны как потенциальные пробиотические штаммы. Например, на основе кишечных палочек, продуцирующих микроцин С51, создан коммерческий препарат ромакол. Особенностью продукции микроцинов является зависимость от свойств питательной среды. В частности, все известные микроцин-продуцирующие штаммы проявляют наибольшую антимикробную активность на средах, бедных органическими веществами. Продуценты другого класса антимикробных веществ – колицинов, проявляют обратные свойства, то есть более активны на богатых средах. Соответственно, бактериальные штаммы – продуценты микроцинов получают преимущество в кишечном тракте взрослых жвачных с установившимся типом рубцового пищеварения, содержащихся на грубых кормах, в то время как в кишечном тракте телят-молочников получают преимущество продуценты колицинов, как было показано нашими предыдущими исследованиями.

В связи с указанными особенностями экспрессии генов колицинов и микроцинов и экологическими последствиями таких различий возникает практическая задача получения штаммов, сочетающих генетические детерминанты для синтеза антибиотических факторов обоих типов. Можно предполагать, что такой штамм на богатых средах будет выступать как продуцент колицина, а на бедных средах – как продуцент микроцина и, таким образом, обеспечивать высокий уровень антагонизма соответствующего пробиотического препарата против природных энтеропатогенных штаммов, независимо от типа кормления получающих его сельскохозяйственных животных.

В качестве перспективного реципиента для подобного штамма, обладающего антимикробными активностями нескольких типов, мы рассматриваем ранее выделенный от здоровых свиней и охарактеризованный штамм *E. coli* S 5/98 – природный продуцент микроцина типа В. Продуцируемый им микроцин имеет другой спектр воздействия на микроорганизмы и не перекрывающийся иммунитет с микроцином С51, являющимся действующим началом препарата ромакол. Таким образом, сконструированный и уже имеющийся препараты могут хорошо дополнять друг друга.

Поскольку сконструированный рекомбинантный штамм представляется перспективным для создания нового пробиотика, то в соответствии с ветеринарно-санитарными правилами (Инструкция ..., 1988; Доклад ВОЗ..., 1994) он должен пройти тщательную проверку на безвредность.

Исходя из вышеизложенного, задачей исследований было изучить острую токсичность вновь сконструированного штамма *E.coli* S 5/98 (pColap) для лабораторных животных.

Материал и методы

Исследования проведены на мышах и кроликах.

При изучении патогенности, определении средней смертельной дозы, токсичности и токсигенности штамма *E.coli* S 5/98 (pColap), а также его способности к диссеминации во внутренние органы, эксперименты проводили на мышах обоего пола. Группы формировали из животных со стандартной живой массой тела 18-20 г.

Определение среднесмертельной дозы LD₅₀. Из черных линейных мышей BDF(BL/6 x DBA) было сформировано 8 опытных групп, по 6 особей в каждой. Животных содержали в виварии института в индивидуальных клетках и получали они специальные гранулы (комбикорм ПК-120-1), включающие овес, пшеницу, ячмень, подсолнечный шрот, кормовые дрожжи и минерально-витаминный премикс. В 100 г гранул содержалось: обменной энергии – 303,9 ккал, сырого протеина – 20,8 г, сырой клетчатки – 3,9 г, сырого жира – 3,9 г, кальция – 1,2 г и фосфора – 0,7 г. Зимой мышам давали сено, а летом – зеленую траву.

Изучаемый микроорганизм вводили в желудок в дозах 10^{12} , 10^{13} и 10^{14} и внутрибрюшинно в дозах 10^{10} и 10^{11} колонии образующих единиц (к.о.е.) на животное. Контрольным мышам вводили стерильный изотонический раствор хлорида натрия в дозе 1 мл. Наблюдения за животными вели в течение 30 сут после введения микроорганизмов: учитывали их клиническое состояние и сохранность. Испытания проводились с использованием методических подходов и методик, рекомендуемых в соответствующих руководствах (Предтеченский и др., 1950; Вет. лаб. практика, 1963).

Изучение токсигенных свойств. Подопытным мышам внутрибрюшинно инъецировали центрифугат 4-х и 8-ми суточных культур изучаемого штамма микроорганизмов, выращенных на питательном бульоне с глюкозой, в объеме 0,5 мл, а контрольным животным вводили в таком же объеме стерильную питательную среду. Наблюдения за животными велись в течение 5 сут.

Изучение токсичности. Опытным мышам внутрибрюшинно вводили культуру испытуемого микроорганизма в дозах 10^{10} и 10^{11} к.о.е./голову, предварительно убитую нагреванием при 70°C в течение 30 мин. Наблюдения за животными продолжались в течение 15 сут. Контрольным мышам аналогично инъецирован стерильный изотонический раствор хлорида натрия.

Изучение способности к диссеминации микроорганизма во внутренние органы. Было сформировано 4 группы мышей по 6 голов в каждой. Первой и 2-й группам в желудок и внутрибрюшинно соответственно вводили бактериальную культуру в дозе 10^{10} к.о.е./животное, а 3-ей и 4-ой группам – аналогично стерильный физраствор в том же объеме.

Способность изучаемого штамма EcS 5/98 (pColap) диссеминировать во внутренние органы животных оценивали по результатам микробиологических исследований крови, гомогенатов печени и селезенки через 3 и 30 сут после введения мышам бактериальной культуры.

В соответствии с инструкцией по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве (Метод. указания, 1988), острую токсичность изучают не менее чем на двух видах животных (мыши и кролики), поэтому второй этап исследований токсичности штамма E.coli S 5/98 (pColap) выполнен на кроликах в виварии института. Животные были размещены в сетчатых клетках по одной голове и получали рацион, состоящий из 200 г злакового сена и 200 г зерносмеси или комбикорма. Суточный рацион содержал (г): кормовых единиц – 220, сухого вещества – 230, сырого протеина – 26, переваримого – 16, сырой клетчатки – 38, Са – 1,4, Р – 0,8.

Острую токсичность определяли после однократного скармливания препарата рекомбинантного штамма вместе с кормом и путем введения его в желудок при помощи зонда. При скармливании испытаны дозы 25 и 50 мл (при содержании в 1 мл $3,5 \times 10^{12}$ к.о.е.) на 1 кролика. Для каждой дозы было использовано по 4 кролика. При введении в желудок культуру задавали в дозах 40 и 60 мл. Культуру вводили через зонд по 20 мл два и три раза в день. Контрольные животные получали питательную среду без микроорганизмов в тех же дозах. После скармливания и внутрижелудочного введения препарата наблюдения за кроликами велись в течение 3 недель. При этом учитывались следующие показатели: внешний вид и поведение животных, состояние шерстного покрова и видимых слизистых оболочек, подвижность животного, частота дыхания и отношение к корму.

Местное токсическое действие штамма EcS 5/98 (pColap) определяли путем нанесения культуры на кожу кроликам-альбиносам. При постановке кожной пробы шерсть на боку выстригали на площади 6х9 см и двукратно с интервалом в 24 ч втирали в кожу живую культуру микроорганизмов, а контрольным животным – питательную среду. Учет реакции проводили ежедневно в течение 4 сут. До и после нанесения препарата измеряли толщину кожной складки.

Изучение раздражающего действия на конъюнктиву глаза и оценка аллергенности. Для внесения культуры микроорганизмов в конъюнктивальный мешок кролику оттягивали верхнее веко и закапывали из пипетки 1-2 капли культуральной жидкости (без твердых частиц), а контрольным кроликам идентично вводили стерильную питательную среду. В каждой группе было по 6 кроликов. Учет реакции проводили ежедневно в течение 6 сут.

Для изучения аллергенных свойств EcS 5/98 (pColap) в опыт были взяты те же животные, на которых испытывалось местное токсическое действие на кожу (по 4 кролика из контрольной и опытной

групп). Кроликам на один и тот же выстриженный участок кожи наносили путем втирания на протяжении 8 сут живую микробную культуру, а кроликам контрольной группы – стерильную питательную среду. Через 14 сут после последней аппликации препарата на кожу свежевystриженного участка спины этим же животным вновь втирали препарат и питательную среду в той же концентрации. Реакцию учитывали через 24 ч.

Результаты и обсуждение

Ранее нами было установлено, что исходный микроциногенный штамм EcS 5/98 обладает средней вирулентной дозой при введении в желудок и внутрибрюшинно более 10^{11} и 10^9 к.о.е./животное (Отчет, 2000). Поэтому определение LD₅₀ вновь полученного рекомбинантного штамма E. coli S 5/98 (pColap) мы начали при внутрибрюшинном введении с дозы 10^{10} к.о.е./голову, а внутримышечно – 10^{12} к.о.е./животное.

Исследования показали, что LD₅₀ для вновь созданного рекомбинантного штамма кишечной палочки составляет при внутрибрюшинном введении 1 мл живой культуры с титром $3,8 \times 10^{12}$ к.о.е. на 1 мыш, а при внутримышечном – $3,8 \times 10^{14}$ к.о.е./гол. (табл. 1). Дозы 10^{10} - 10^{11} вызывали у животных состояние угнетения, вялости и диарею.

При вскрытии мыш, павших после введения E. coli S 5/98 (pColap), не было обнаружено повреждений органов брюшной полости. Инфильтраты, кровь, гематомы в брюшной полости отсутствовали. Кишечник был слегка вздут, слизистая рыхлая, отечная, но без геморрагий. Почки кровенаполнены, граница между корковым и мозговым слоем стерта. Печень глинистого цвета без кровоизлияний. Селезенка – вишневая, края закруглены, увеличена. При посевах на среду Эндо из органов павших мыш уже через 20 ч наблюдался обильный рост бактерий группы кишечной палочки.

При введении кроликам в желудок высоких доз E. coli S 5/98 (pColap) – 10^{13} к.о.е./голову гибели животных не наступало, хотя общее состояние их было угнетенным, аппетит отсутствовал и в течение трех сут у животных наблюдался сильный понос.

Для определения токсичности штамма E. coli S 5/98 (pColap) мышам вводили внутрибрюшинно высокие дозы убитой нагреванием культуры с титром 10^{10} и 10^{11} к.о.е./мл. При этом падежа животных не наступало, но в течение 24 ч после введения у них наблюдалось угнетенное состояние, взъерошенность шерстного покрова и вялость. При изучении токсигенных свойств за 15 дней наблюдений не отмечалось изменений в поведении и общем состоянии как подопытных, так и контрольных животных, а также их гибели (табл. 1).

При воздействии живой культуры *E. coli* S 5/98 (pColap) на слизистую оболочку глаза кроликов каких-либо изменений со стороны конъюнктивы, роговицы и зрачка не обнаружено. Не было гиперемии слизистой, отека или гнойных истечений из глаза.

Таблица 1. Определение токсичности штамма *E. coli* S 5/98 (pColap) для лабораторных животных

Вид животных	Путь введения микроорганизма	Контроль-ная группа	Испытуемые дозы к.о.е./голову				
			10 ¹⁰	10 ¹¹	10 ¹²	10 ¹³	10 ¹⁴
Определение среднесмертельной дозы							
Мыши	внутрибрюшинно	0/6	0/6	0/6	3/6	-	-
Мыши	внутрижелудочно	0/6	-	-	0/6	0/6	3/6
Кролики	внутрижелудочно	0/3	-	-	0/6	-	-
Определение токсичности и токсигенности							
Мыши	внутрибрюшинно	0/4	0/4	0/4	-	-	-
Мыши	внутрибрюшинно	0/4	0/4	0/4	-	-	-
	4-х суточная						
Мыши	внутрибрюшинно	0/4	0/4	0/4	-	-	-
	8-ми суточная						
Местное токсическое и аллергенное действие							
Кролики	в конъюнктиваль- ный мешок	0/4	-	-	0/4		
Кролики	втирание в кожу	0/4	-	-	0/4		
Кролики	аллергенность	0/4	-	-	0/4		

Примечание. Числитель – число погибших или давших реакцию животных, знаменатель – количество животных в группе

Отсутствовало и местное токсическое действие изучаемого штамма при нанесении на кожу кроликам. Не было утолщения кожной складки после втирания культуры; болезненности или повышения температуры на месте нанесения бактерий также не наблюдалось. Как показали исследования, штамм *E. coli* S 5/98 (pColap) не обладает и аллергенными свойствами: на месте нанесения культуры аллергической реакции в виде инфильтрации, изъязвления или некроза тканей не обнаружено.

Способность штамма диссеминировать во внутренние органы лабораторных животных при внутрибрюшинном и внутрижелудочном введении культуры оценивали по результатам микробиологических исследований посевов крови из сердца, печени, желчного пузыря и селе-

зенки на среду Эндо через 3 и 30 сут после введения микробного препарата. Оказалось, что через 3 сут после внутрибрюшинной инъекции штамма в посевах из органов, а также крови из сердца мышей наблюдался обильный рост колоний кишечной палочки (табл. 2).

Таблица 2. Диссеминация клеток штамма E. coli S 5/98 (pColap) во внутренние органы мышей

Орган	Сутки после введения культуры	Путь введения культуры и группа животных			
		внутрибрюшинно		внутрижелудочно	
		контрольная	опытная	контрольная	опытная
Кровь из сердца	3	0/3	^x 1/3	0/3	^x 1/3
	30	0/3	0/3	0/3	0/3
Печень	3	0/3	^x 3/3	0/3	^x 2/3
	30	0/3	^x 3/3	0/3	0/3
Желчный пузырь	3	0/3	0/3	0/3	0/3
	30	0/3	0/3	0/3	0/3
Селезенка	3	0/3	^x 3/3	0/3	^x 2/3
	30	0/3	^x 1/3	0/3	0/3

Примечание. Числитель: х – число животных с положительным результатом посева эшерий; знаменатель – количество животных в группе.

При внутрижелудочном введении рост бактерий обнаружен у двух мышек в посевах из печени и селезенки, и у одной – из крови сердца. Внутренние органы и кровь контрольных животных оставались стерильными. Спустя 30 сут после внутрибрюшинного введения культуры жизнеспособные бактерии из крови сердца не выделялись, но единичные колонии вырастали в посевах из печени от трех мышей и от одной мыши из селезенки. Через 30 сут после внутрижелудочной дачи испытуемого штамма кишечная палочка в крови и внутренних органах отсутствовала. Таким образом, установлено, что штамм E. coli S 5/98 (pColap) способен к транслокации через тканевые барьеры организма мышей и сохраняется во внутренних органах в течение 30 сут.

Исходя из полученных данных и руководствуясь классификацией организмов по степени опасности (Метод. указания, 1983), изученный штамм E. coli S 5/98 (pColap), обладающий средней вирулентной дозой при введении в желудок до 10^{14} к.о.е. на одно животное, а при внутрибрюшинном введении – до 10^{12} к.о.е./голову отнесен нами к 4 классу как малоопасный, не обладающий выраженным общетоксическим и аллергенным действием.

Заключение

В опытах на мышах и кроликах изучена острая токсичность вновь сконструированного штамма *Escherichia coli* S 5/98 (pColap). Установлено, что он обладает средней вирулентной дозой (LD_{50}) 10^{14} к.о.е./голову при введении в желудок и 10^{12} к.о.е./голову при внутрибрюшинной инъекции. Показано, что рекомбинантный штамм *E. coli* S 5/98 (pColap) не проявляет выраженного общетоксического и токсигенного действия, не обладает аллергенностью, местным токсическим действием и не раздражает конъюнктиву глаза, но способен к транслокации через тканевые барьеры организма мышей и диссеминации во внутренние органы (печень, селезенка), в которых может персистировать в течение 30 сут. По совокупности выявленных свойств рекомбинантный штамм *E. coli* S 5/98 (pColap) отнесен к четвертому классу опасности, т.е. является малоопасным для человека и животных.

Исследования проведены при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (РФФИ) и администрации Калужской области (проект №04-04-97245).

ЛИТЕРАТУРА

1. Хмель И.А. Микроцины – пептидные антибиотики энтеробактерий: генетический контроль синтеза, структура и механизм действия. Генетика, 1999, 31(1): 5-16.
2. Хмель И.А., Метлицкая А.З., Фоменко Д.Е., Катруха Г.С., Басюк Е.И., Курепина Н.Е., Липасова В.А., Безруков В.М. Микроцины – новые пептидные антибиотики из энтеробактерий и генетический контроль их синтеза. Молекулярная биология, 1999, 33(1): 113-119.
3. Asensio, C. and Perez-Diaz, J.C. A new family of low molecular weight antibiotics from enterobacteria. Biochem. Biophys. Res. Commun. 1976, 69(1): 7-14.
4. Инструкция о гигиенических требованиях к новым препаратам химического и биологического синтеза, предлагаемым для использования в составе рационов или для консервирования кормов с.-х. животных, продукция от которых идет в пищу населения. Кн.: Ветеринарные препараты. Справочник. М.: Агропромиздат. 1988: 230-239.
5. Стратегия оценки безопасности пищевых продуктов, получаемых с помощью биотехнологии. Доклад организации здравоохранения (ВОЗ) Женева. 1994.
6. Предтеченский В.Е., Боровская В.М., Марголина Л.Т. Руководство по лабораторным методам исследований. М.: Медгиз. 1950.
7. Ветеринарная лабораторная практика. М.: 1963, 1.
8. Методические указания по определению токсических свойств препаратов, применяемых в ветеринарии и животноводстве. Кн.: Ветеринарные препараты. Справочник. М.: Агропромиздат. 1988: 239-289.

9. Отчет о НИР за 2000 г «Изучить безвредность рекомбинантного штамма *L. plantarum* pLF-SL2 и микроциногенного штамма *E. coli* 5/98 для лабораторных животных».
10. Постановка исследований для обоснования предельно допустимых концентраций производственных штаммов микроорганизмов и на их основе готовых форм препаратов в воздухе рабочей зоны. Методические указания. М. 1983: 16 с.

ВЛИЯНИЕ СРЕПТОКОККОВЫХ ФАГОЛИЗАТОВ НА МИКРОФЛОРУ РУБЦА БЫЧКОВ

И.А.Долгов, С.И. Долгова, Е.Л. Харатонов
Лаборатория пищеварения

*Показано, что ежедневное скормливание бычкам фаголизатов *Str.bovis*, продуцирующих цианкобаламин, не оказало существенного влияния на общее количество микроорганизмов и их амилазную активность, тогда как численность инфузорий, йодофильных бактерий, селеномонад и целлюлозолитическая активность микроорганизмов повышались.*

Введение

В системе полноценного кормления животных важную роль играют витамины комплекса В. Имеются данные о том, что добавка в рацион витамина В₅ активизирует синтез микробного белка и увеличивает продукцию молока у коров в период от отела до середины лактации (Brent, Bentley, 1984). При включении в рацион отелившихся коров ниацина увеличивалось содержание глюкозы и снижался уровень кетонных тел в крови, а также уменьшались случаи кетозов. Добавка 0,5 и 1г ниацина увеличивала концентрацию пропионовой кислоты и снижала уровень масляной в рубцовой жидкости валухов (Flachowsky et al., 1988). Учитывая, что высокие концентрации масляной кислоты в рубцовой жидкости являются основной причиной кетонурии, следует рекомендовать введение экзогенного ниацина для профилактики кетозов у жвачных животных. При включении в рацион коров, содержащий 2,3% карбамида, никотиновой кислоты, в рубце повышалась концентрация микробного белка и пропионата, снижалось содержание азота мочевины, но аминокислотный состав бактерий рубца не изменялся (Piva et al., 1976). По данным Садыкова (1995), включение никотиновой кислоты в состав рациона высокопродуктивных коров из расчета 6г на голову в сутки благоприятно сказывалось на молочной продуктивности. Проведенные нами исследования показали, что включение в раци-

он коров никотиновой кислоты оказывает выраженное регулирующее действие на микрофлору, которое проявляется стимуляцией роста бактерий и инфузорий, изменением соотношений между родами простейших, увеличением амилалитической и целлюлозолитической активностей (Долгов и соавт., 2001, 2002). Bentley et al.(1954) и Mcleod and Murray (1956) нашли, что биотин, парааминобензойная кислота и витамин В₁₂ способствуют расщеплению целлюлозы.

В опытах *in vitro* показано, что синтез белков микрофлорой рубца протекает наиболее интенсивно при концентрации тиамин в содержимом рубца в пределах 40-80 мкг/100 мл (Kone,1978). По данным Zimmerly,Weiss (2000), концентрация биотина в молозиве и молоке линейно увеличивалась с повышением уровня биотина в рационе.

На лактирующих коровах установлена линейная зависимость между потоком микробного азота и переваримого органического вещества из преджелудков и поступлением тиамин в 12-перстную кишку (Breves et al,1981). Обогащение рациона цианкобаламином сопровождается увеличением содержания в крови гемоглобина, эритроцитов, альбуминовой фракции в сыворотке крови и нормализацией соотношения свободных аминокислот плазмы крови, а также значительным увеличением количества усвоенного организмом азота.

Убедительные данные имеются о стимулирующем влиянии сочетанного применения витаминов В₆ и В₁₂, метионина и нуклеиновых кислот на биосинтез тканевого белка и тканевые процессы в миокарде (Андреев и соавт., 1965). По данным Фоминой (цит. по Шилову, Яковлеву,1974) витамин В₁₂ усиливает биохимический «эффект» тестостерона.

Практические наблюдения показывают, что при переводе лактирующих коров со стойлового содержания на весеннее пастбище очень часто наблюдается снижение жирности молока. При этом, как правило, снижается рН в рубце, увеличивается концентрация ЛЖК, с вариациями в сторону повышения уровня пропионата, метаболизм которого в значительной мере зависит от обеспеченности животных витамином В₁₂. По данным Kovac et al. (1993), в первые шесть недель пастбы концентрация витамина В₁₂ в плазме крови снижалась с последующим увеличением до исходного уровня. Возможно, эти изменения связаны с адаптацией рубцовой микрофлоры к новому корму и снижением синтеза витамина В₁₂ в пищеварительном тракте.

В опытах на нетелях установлено, что коэнзим В₁₂ (активная форма витамина), вводимый в дозе 1 мг/100 кг живой массы, способствовал увеличению рождаемости жизнеспособных телят с 71 до 96 голов в расчете на 100 нетелей (Филипович и др., 2001). При этом от нетелей опытных групп сохранность к 3-месячному возрасту была на 15 голов выше.

Исходя из вышеизложенного и учитывая, что *Str.bovis* является активным продуцентом цианкобаламина и при лизисе клеток происходит более полное освобождение внутриклеточных витаминов, которые становятся доступными для микро-и макроорганизма, в задачу наших исследований входило изучить влияние фаголизата, используемого в качестве источника витамина B₁₂, на микрофлору рубца и ее ферментативную активность.

Материал и методы

Опыт проведен в условиях вивария института на восьми бычках холмогорской породы в период с 12-до 17-месячного возраста. Содержание животных привязное, кормление индивидуальное, 3-разовое. Рацион для всех животных был одинаковым и включал злаковое сено, вико-овсяный силос и комбикорм в соответствии с детализированными нормами для интенсивного выращивания и откорма. В среднем в течение опыта доля концентрированного корма в рационе составляла 53-56% по обменной энергии. Бычки по принципу парных аналогов были разделены на 2 группы по 4 головы в каждой. Бычки опытной группы в течение трех месяцев ежедневно в обеденное кормление получали с кормом стрептофагин в дозе 25 мл на голову (средний титр препарата составлял $2,96 \times 10^{10}$ фаговых частиц в 1 мл). Бактериофаги для скармливания готовили в лаборатории микробиологии. Бычки контрольной группы получали по 25 мл питательной среды, используемой для приготовления бактериофагов.

Материалом для микробиологических исследований служило содержимое рубца, которое брали у животных через 3 часа после утреннего кормления. В исследуемом материале определяли общее количество микроорганизмов и численность йодофильных бактерий по Бриду, число инфузорий и их родовой состав, а также количество селенонад с помощью камеры Горяева, амилалитическую активность содержимого фотометрическим методом, целлюлозолитическую активность – весовым методом с использованием оптимизированной нами питательной среды. Культуральным методом изучались энтерококки.

Отсутствие в содержимом рубца бычков фагов *Str.bovis* устанавливали путем его титрования на музейных культурах и штаммах стрептококков, изолированных из преджелудков. Кроме того, в опытах *in vitro* изучали влияние фаголизатов на жизнедеятельность различных микроорганизмов. Эффективность действия добавок фаголизатов на жизнедеятельность микроорганизмов оценивали по интенсивности накопления биомассы изучаемых тест-культур.

Результаты и обсуждение

Исследования показали, что введение в рацион животным фаголизатов не оказало существенного влияния на общее количество микроорганизмов, число энтерококков и амилазную активность бактерий (табл.1). При этом установлено повышение численности инфузорий, йодофильных бактерий, селеномонад и целлюлозолитической активности микроорганизмов.

Следует отметить, однако, что из 58 музейных и 30 культур *Str.bovis*, изолированных нами из рубца бычков контрольной и опытной групп, чувствительных к изучаемым фагам не выявлено. Следует также отметить, что спустя сутки после дачи фагов их титр, как правило, резко снижался. Это свидетельствует об отсутствии продуктивного характера инфекции стрептококков. Следовательно, в данном случае преобладающим типом бактерий в преджелудках животных являлись фагоустойчивые клетки.

Таблица 1. Характеристика содержимого рубца бычков

Показатели	Группа бычков	
	контрольная	опытная
Общее кол-во микробов, млрд/мл	7,43+0,45	7,90+0,55
Число инфузорий, тыс/мл	401,55+24,7	483,15+49,8
Соотношение родов инфузорий, %:		
isotricha	4,9	4,7
dasytricha	8,8	9,1
entodinium	72,7	70,5
diplocladus	7,2	8,1
epidinium	4,8	6,5
ophryoscolex	1,6	2,5
Количество бактерий отдельных групп, млн/мл:		
йодофильных	62,66+6,50	74,40+5,83
селеномонад	55,67+5,31	87,08+6,80
энтерококков	5,28+0,46	5,67+0,35
Ферментативная активность микроорганизмов:		
амилолитическая, ед/мл	21,85+1,18	24,50+0,87
целлюлозолитическая, %	7,50+0,80	8,87+0,92

Исследованиями установлено, что в 100 мл фаголизатов содержалось 6 мг молочной кислоты, 6,9 ммоль ЛЖК и 28 мкг цианкобаламина. Кроме витамина B₁₂ препарат содержал и другие витамины комплекса B, в частности, витамин B₃ и витамин B₆. Содержание столь высокого уровня ЛЖК в фаголизате свидетельствует о наличии в культуре помимо *Str.bovis* сопутствующей (посторонней) микрофлоры, так как

известно, что основным метаболитом при ферментации крахмала стрептококками является молочная кислота.

Известно, что цианкобаламин необходим для роста многих видов микроорганизмов рубца. Это дает основание считать, что последнее обстоятельство явилось главной причиной, влияющей на изменение ферментативных процессов в рубце бычков. Так, в опытах *in vitro* установлено, что добавление к среде 0,12-0,24 мкг/мл витамина В₁₂ стимулировало рост простейших. При этом скорость роста инфузорий была в 10-20 раз интенсивнее, чем при добавлении кобальта. В нашем эксперименте в содержимом рубца бычков опытной группы отмечено увеличение числа *Epidinium* и *Ophryoscolex*. Это наиболее крупные инфузории и их большее количество характеризует оптимальные условия для жизнедеятельности микроорганизмов в преджелудках. Инфузории могут откладывать в клетках до 70% гликогеноподобного полисахарида. Полисахарид, отложенный в клетках простейших, является частью углеводов, не подвергавшихся ферментации в рубце и в дальнейшем в нижних отделах пищеварительного тракта расщепляется до моносахаридов и всасывается в кровь. В этой связи не безинтересно отметить, что цианкобаламин увеличивает способность печени синтезировать и фиксировать гликоген (Петровский, 1958).

Увеличение количества йодофильных бактерий в содержимом рубца бычков, получавших фаголизат, свидетельствует о наиболее интенсивном накоплении резервных полисахаридов в клетках, которые наиболее эффективно, как отмечено выше, используются в нижних отделах пищеварительного тракта.

Повышение уровня пропионата в рубце животных, получавших стрептофагин, является, очевидно, результатом селекции микроорганизмов на продуцирование сукцината и ферментирование лактата. В нашем опыте фаголизат стимулировал развитие в рубце селеномонад, декарбоксилирующих сукцинат до пропионата, что способствовало накоплению пропионата в рубце, метаболизм которого в значительной степени зависит от обеспеченности животных витамином В₁₂.

В ряде исследований показано, что витамины группы В (рибофлавин, пиридоксин, биотин, фолиевая и парааминобензойная кислоты, а также витамин В₁₂ стимулируют переваривание целлюлозы. При этом наличие цианкобаламина и биотина способствует более активному расщеплению целлюлозы по сравнению с действием отдельных витаминов или их определенных сочетаний. В нашем опыте при скормливания бычкам фаголизата целлюлозолитическая активность микроорганизмов возрастала. Из целлюлозолитических бактерий, образующих молочную кислоту, известны *R. albus*, *Cillobacterium cellulosolvens*. Причем последний представляет особый интерес, так как главным продуктом ферментации целлюлозы является молочная кислота, которая используется, например, селеномонадами и другими лактатферменти-

рующими (пропионовокислыми) бактериями в процессе обмена. Анализ данных опытов *in vitro* показал, что добавка фаголизата уменьшала продолжительность лаг-фазы и увеличивала рост *S.carlsbergensis* в логарифмической фазе. Время, требуемое для накопления максимального количества дрожжей, при добавлении фаголизата уменьшалось в 1,5 раза (табл.2). Сравнительные опыты по выращиванию *S.carlsbergensis* на среде Ридер с фаголизатом показали, что добавление фаголизата приравнивает ее относительно роста дрожжей к суслу.

Таблица 2. Влияние фаголизата на рост *S. carlsbergensis*

Вариант	Интенсивность роста	
	ед, ОП	%
Питательная среда (ПС)-контроль	0,45+0,05	100
ПС+0,1 мл фаголизата	0,56+0,07	125
ПС+0,2 мл фаголизата	0,67+0,06	148
ПС+0,5 мл фаголизата	0,68+0,08	152

В отличие от действия на *S.carlsbergensis*, фаголизат не уменьшал продолжительность лаг-фазы молочнокислых бактерий. Действие указанного препарата проявлялось наиболее отчетливо в логарифмической фазе роста этих микроорганизмов. При этом ростстимулирующее действие фаголизата по отношению к *Str.lactis* было меньшим, чем *L.acidophilus* и *L.plantarum*.

Таблица 3. Влияние фаголизата на рост молочнокислых бактерий

Вариант	Биомасса, мг/мл	% к контролю	pH
<i>L.acidophilus</i>			
Питательная среда (ПС)-контроль	2,73+0,24	100	4,5
ПС+0,1 мл фаголизата	2,96+0,11	108	4,4
ПС+0,5 мл фаголизата	3,21+0,23	118	4,3
ПС+1,0 мл фаголизата	3,36+0,15	123	4,2
<i>L.plantarum</i>			
(ПС)-контроль	2,94+0,21	100	4,6
ПС+0,1 мл фаголизата	3,29+0,18	112	4,4
ПС+0,5 мл фаголизата	3,74+0,21	127	4,2
ПС+1,0 мл фаголизата	3,63+0,31	123	4,3
<i>Str.lactis</i>			
(ПС)-контроль	2,33+0,22	100	5,2
ПС+0,1 мл фаголизата	2,46+0,15	105	5,0
ПС+0,5 мл фаголизата	2,58+0,20	111	4,4
ПС+1,0 мл фаголизата	2,62+0,18	112	4,4

Таким образом, выявлена ростостимулирующая активность фаголизатов *Str.bovis* в отношении микроорганизмов, среди которых имеются, в частности, витамин В₁₂ - аукогетеротрофы.

Заключение

Результаты наших опытов свидетельствуют о том, что включение в состав рациона, содержащего 53-56% концентрированных кормов по обменной энергии, в качестве источника витамина В₁₂ фаголизатов *Str.bovis* в дозе 25 мл на голову в сутки, стимулировало жизнедеятельность инфузорий, селеномонад и целлюлозолитическую микрофлору, а также накопление гликогенподобных полисахаридов в клетках. При этом общее количество микроорганизмов и их амилазная активность существенно не изменялись.

Изменение направленности микробиологических процессов в преджелудках повышало среднесуточный прирост живой массы бычков (Матвеев и соавт., 2001). Вместе с тем следует отметить, что анаболическое действие от скармливания фаголизатов отчетливо наблюдалось в течение месячного периода и практически исчезало в последующем. Отсутствие выраженного анаболического действия при более продолжительном их скармливании, очевидно, связано с изменением в составе витамин В₁₂-синтезирующей микрофлоры. Из вышеизложенного следует, что применение в качестве источника цианкобаламина фаголизатов или культуры *Str.bovis* с высокой витамин В₁₂-биосинтетической активностью для улучшения использования корма высококонцентратных рационов в течение месячного периода может явиться весьма перспективным.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреев С.В., Черкасова Т.И., Маркова О.Н. О совместном применении цианкобаламина и пангамовой кислоты у больных с травматическими переломами. В кн.: Витамин В₁₅. М. 1965: 267.
2. Долгов И.А., Долгова С.И. Влияние инфузии ЛЖК на микрофлору и биосинтез витаминов комплекса В в рубце коров. Тр. ВНИИФБиП с.-х. ж-х, 2002, 41: 20-26.
3. Долгов И.А., Харитонов Е.Л., Долгова С.И. Влияние никотиновой кислоты на микрофлору рубца коров. Тр. ВНИИФБиП с.-х. ж-х, 2001, 39: 195-202.
4. Матвеев В.А., Галочкина В.П., Тараканов Б.В. и др. Гормональный статус и показатели мясной продуктивности бычков при применении стрептофагина. Тр. ВНИИФБиП с.-х. ж-х. 2001, 40: 21-28.
5. Петровский В.И. Влияние однократного введения витамина В₁₂ на основные функции печени. Тр. Лен. сан. гиг. Мед. ин-та. 1958, 50: 114.
6. Садыков Ш.М. Биохимический статус крови высокопродуктивных коров при скармливании им никотиновой кислоты. Тезисы докл. 2-й Межд.

- конф. «Актуальные проблемы биологии в животноводстве», Боровск, 1995: 88.
7. Филиппович Э.Г., Птак Е.И., Лавина Г.Н. и др. Витаминизация животных для повышения их жизнедеятельности. Зоотехния, 2001, 1: 17.
 8. Шилов П.И., Яковлева Т.Н. Основы клинической витаминологии. Л. Медицина, 1974: 98.
 9. Bentley O., Johanson R., Vanecko S., Hunt C. Studies on factors needed by rumen microorganisms for cellulose digestion in vitro. J.Anim.Sci., 1954, 13, 3: 581.
 10. Brent B., Bentley C. Thiamin and niacin in the rumen. J.Anim.Sci., 1984, 59, 3: 813-822.
 11. Breves I., Brant M., Hoeller H. et al. Flow of thiamin to the duodenum in dairy cows fed different rations. J.Agr.Sci., 1981, 9, 3: 587-591.
 12. Flachowsky G. Influence of dietary niacin on volatile fatty acids rumen liquid of sheep and rumen dry matter degradability of untreated and ammonia – treated wheat. Straw Arit.Anim.Nutr. 1988, 38, 2: 99-108.
 13. Kone L. Influence de la thiamin sue la proteosynthese bacteriene chez le monten. Inst.Nat.Politechn. Toulouse. 1978.
 14. Kovac I., Seidel H., Mundon P. et al. The study of blood plasma vitamin B₁₂ level in cattle during the transitional feedigs period (winter-summer). Folia Vet., 1993, 37, 3-4: 57-59.
 15. McLeod R., Murrly J. Some factors affecting cellulose digestion by rumen microorganisms in vitro. J. Nutrition, 1956, 60: 245.
 16. Piva G. et al. The effect of vitamin PP on ruminal metabolism of glucose. Zootechn. Nutrit. Anim. 1976, 2: 309-314.
 17. Zimmerly C., Weiss W. Effect of supplemental dietary Biotin on performance of Holstein cows in larly lactation. Spec. Cireohio State Univ. Ohio Agr. Res and Dev. Cent. 2000, 180, 40.

ОПТИМИЗАЦИЯ УГЛЕВОДНОГО ПИТАНИЯ ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ ПЛЕМЕННЫХ КОРОВ С ЦЕЛЬЮ БОЛЕЕ ПОЛНОЙ РЕАЛИЗАЦИИ ИХ ГЕНЕТИЧЕСКОГО ПОТЕНЦИАЛА МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ

В.И. Волгин, Н.Н. Морозов, А.С. Бибикова, Л.В. Романенко
ВНИИ генетики и разведения с.-х. животных

Введение

Реализация созданного в хозяйствах Ленинградской области высокого генетического потенциала молочной продуктивности чернопестрого скота (свыше 9000 кг молока) во многом зависит от полноценности кормления, которое определяется количеством и качеством заготавливаемых кормов. Однако в последние годы во многих хозяйствах значительно сокращена заготовка сена и прекращено выращивание

корнеплодов. В рационах значительно увеличилось количество силоса и подвяленных зеленых кормов. В сене, сенаже, силосе и подвяленном зеленом корме при нарушении технологии заготовки резко снижается содержание сахара. Вследствие этого сахаро-протеиновое отношение часто не выходит за пределы 0,25:1 (при норме не ниже 0,8:1). Это приводит к снижению эффективности использования протеина и каротина в организме коров, нарушению энергетического и углеводно-жирового обменов и проблемам с реализацией генетического потенциала молочной продуктивности и воспроизведения.

Многие специалисты большое внимание уделяют содержанию сахара в силосе. Они установили, что сахар силоса превращается в организме коров в пропионовую кислоту, а затем в глюкозу, и его нельзя заменить сахаром мелассы (патоки), так как, по их мнению, из сахара мелассы не образуется глюкоза и это сказывается на уровне сахара (глюкозы) в крови. Считается, что нормальный уровень глюкозы должен быть около 65 мкг% (3,61 ммоль/л). При низком его содержании было обнаружено, что только у 22% коров наступало оплодотворение при первом осеменении, а при оптимальном – 53% коров становились стельными после первого осеменения.

Поэтому оптимизация углеводного питания высокопродуктивных племенных коров с удоем 9000 кг молока и выше, т.е. оптимальное обеспечение их легкоусвояемыми углеводами, приобретает большое значение.

Материал и методы

В связи с поставленной задачей нами был проведен научно-хозяйственный опыт на коровах с продуктивностью выше 9 тыс.кг молока в стойловый и пастбищный периоды. В начале опыта коровы находились в первой фазе лактации. Были сформированы две группы животных по 8 голов в каждой (контрольная и опытная) (табл. 1). Изучали влияние оптимизации углеводного питания коров на реализацию их генетического потенциала продуктивности и физиологическое состояние.

Таблица 1. Характеристика подопытных коров

Группа	n	Живая масса, кг	Продуктивность за 305 дней предшествующих опыту лактации		
			удой, кг	жир, %	мол. жир
Контрольная	8	586±1,7	9444±156	3,60±0,08	339,9
Опытная	8	600±1,8	9379±162	3,60±0,04	337,6

Суточный удой на корову в начале опыта составлял 31-32 кг молока. В стойловый период коровы опытной группы, в отличие от

контрольной, получали в сутки в составе рациона 0,25 кг сахарного сиропа с содержанием 78% глюкозы. В пастбищный период кормление коров обеих групп было практически одинаковым.

О физиологическом состоянии и уровне обменных процессов у подопытных коров судили по биохимическим показателям крови, характеризующим состояние белково-азотного (общий белок, альбумин, А/Г, мочевины), энергетического, углеводно-жирового (глюкоза, кетоновые тела), минерального (кальций, неорганический фосфор, отношение кальция к фосфору, общий йод) и А-витаминного обмена (каротин).

В молоке помимо жира и белка определяли содержание кетоновых тел, мочевины и йода. При исследовании кормов, крови и молока использовали общепринятые методики зоотехнических и биохимических анализов.

Результаты и обсуждение

В зимнее-весенний опытный период рационы подопытных коров состояли из сена, силоса, комбикорма, жома сухого и минерально-витаминной подкормки, опытная группа дополнительно получала сахарный сироп (табл. 2).

В рационах коров опытной группы было увеличено количество сахара на 28,2% (на 197 г) за счет дополнительного скармливания 0,25 кг сахарного сиропа. Сахаро-протеиновое отношение составило 0,32:1 против 0,25:1 в контроле.

В 1 кг сухого вещества рационов подопытных коров содержалось 10,8 МДж обменной энергии, 172,5-173 г сырого протеина, 33,1-41,8 г сахара, 43,3-43,8 г сырого жира и 17,4-17,5% сырой клетчатки. Количество сахара + крахмала составило 21,4% от сухого вещества. Что касается минеральных веществ и витаминов, то в 1 кг сухого вещества их концентрация составила: кальция – 7,1 г, фосфора – 5,6-5,7 г, магния – 2,0 г, серы – 2,4 г, меди – 10,2-10,3 мг, цинка – 48,2-48,6 мг, марганца – 52,2 мг, йода – 1,0 мг, каротина – 22,0-22,1 мг, витамина Д – 1,6 тыс. МЕ и витамина Е – 69,9 мг. Рационы подопытных коров были дефицитными по каротину.

В пастбищный период коровы пользовались долголетними культурными пастбищами. В стойле они получали сено, зеленую подкормку из однолетних трав, комбикорм и патоку (табл. 3).

Таблица 2. Среднесуточные рационы подопытных коров в стойловый период

Корма и подкормки	Группы	
	контрольная	опытная
Сено многолетний трав, кг	3,0	3,0
Силос многолетних трав, кг	24,0	24,5
Комбикорм, кг	13,5	13,5
Жом сухой, кг	1,2	1,2
Шрот подсолнечниковый, кг	0,5	0,5
Сахарный сироп, кг	-	0,25
Мел кормовой, г	100	100
Поваренная соль, г	вволю	вволю
в рационе содержалось:		
Кормовых единиц	21,5	21,9
Обменной энергии, МДж	232,9	237,2
Сухого вещества, кг	21,1	21,4
Сырого протеина, г	3652	3692
Переваримого протеина, г	2799	2823
Крахмала, г	3817	3818
Сахара, г	698	895
Сырого жира, г	925	930
Сырой клетчатки, г	3709	3740
Кальция, г	150	152
Фосфора, г	120	121
Магния, г	43	44
Калия, г	298	312
Серы, г	51	52
Железа, мг	3791	4348
Меди, мг	217	219
Цинка, мг	1025	1032
Кобальта, мг	15,6	17,7
Марганца, мг	1101	1117
Йода, мг	21,4	21,6
Каротина, мг	465	473
Витамина Д, тыс. МЕ	34,4	34,5
Витамина Е, мг	1476	1497

По сравнению со стойловым периодом в 1 кг сухого вещества рациона содержалось больше обменной энергии (11,0 МДж), сырого протеина (183 г) и сахара (84,7 г). Сахаро-протеиновое отношение составило 0,72:1. Количество сахара + крахмала в рационе было в пределах 23,8% от сухого вещества. В 1 кг сухого вещества содержалось: кальция – 8,5 г, фосфора – 5,3 г, магния – 2,0 г, серы – 2,8 г, микроэлементов: меди – 6,4 мг, кобальта – 0,7 мг, марганца – 46 мг, йода – 1,13 мг, каротина – 82,4 мг и витамина Е – 179 мг.

Таблица 3. Среднесуточный рацион подопытных коров в пастбищный период

Корма и подкормки	кг
Трава пастбищная	35
Зеленая подкормка	14
Сено	1
Комбикорм	9
Патока	0,5
Поваренная соль	вволю
в рационе содержалось:	
Кормовых единиц	18,4
Обменной энергии, МДж	207,3
Сухого вещества, кг	18,8
Сырого протеина, г	3440
Переваримого протеина, г	2571
Крахмала, г	2886
Сахара, г	1593
Сырого жира, г	750
Сырой клетчатки, г	3583
Кальция, г	160
Фосфора, г	100
Магния, г	47
Калия, г	245
Серы, г	53
Железа, мг	1870
Меди, мг	120
Цинка, мг	398
Кобальта, мг	13,2
Марганца, мг	867
Йода, мг	21,3
Каротина, мг	1549
Витамина Е, мг	3366

Исследования показали, что оптимизация кормления коров опытной группы по содержанию сахара способствовала лучшей реализации их генетического потенциала по продуктивности. Повышение удоя составило от 0,6 до 18,4% (табл. 4).

Таблица 4. Молочная продуктивность подопытных коров (оптимизация углеводного питания)

Группа	I фаза лактации			II фаза лактации		
	удой, кг	жир, %	белок, %	удой, кг	жир, %	белок, %
Контрольная	31,8±1,5	3,57±0,08	3,09±0,06	25,0±1,2	3,60±0,11	3,00±0,05
Опытная	32,0±1,6	3,59±0,06	2,86±0,06	29,6±1,4 ^x	3,58±0,07	3,02±0,04

Примечание. x – P<0,05

Исследования крови в предварительный период показали, что у подопытных коров по большинству показателей не наблюдалось суще-

ственных различий (табл. 5). Только по концентрации каротина в сыворотке крови разница была статистически достоверной ($P<0,05$) в пользу коров контрольной группы.

Таблица 5. Биохимические показатели крови подопытных коров в предварительный (стойловый) период

Показатели	Группы	
	контрольная	опытная
Общий белок, г%	9,01±0,18	8,98±0,08
Альбумин, г%	3,77±0,16	3,97±0,10
Глобулин, г%	5,24±0,15	5,01±0,24
А/Г	0,72±0,04	0,79±0,04
Мочевина, ммоль/л	6,33±0,48	6,17±0,26
Глюкоза, ммоль/л	1,90±0,19	2,02±0,14
Кетоновые тела, мг%	4,46±0,36	3,65±0,16
Кальций, мг%	12,17±0,23	12,00±0,23
Неорг. фосфор, мг%	6,03±0,18	6,25±0,18
Са:Р	2,02:1	1,92:1
Йод, мкг%	2,46±0,31	2,02±0,32
Каротин, мг%	0,25±0,03	0,15±0,02 ^x

x– $P<0,05$

Следует отметить, что в крови у коров обеих групп выявлено избыточное содержание общего белка (9,01 – 8,98 г% при норме 7-9 г%), глобулина и мочевины, отмечен низкий белковый коэффициент, что связано со скармливанием большого количества концентратов при дефиците сахара в рационах. Содержание глюкозы, йода и каротина было ниже физиологической нормы по причине их дефицита в рационах.

Исследование биохимических показателей молока показало, что у подопытных коров очень мало содержалось мочевины (1,46 ммоль/л при норме 3,5-5,5 ммоль/л), что указывает на проблемы у них с воспроизведением и удоем, и общего йода (32,0 – 44,6 мкг/л при норме 60-130 мкг/л).

В опытный период оптимизация углеводного питания коров опытной группы положительно сказалась на некоторых биохимических показателях крови (табл. 6). Так, количество глюкозы у них было выше на 20,8% ($P<0,001$), а кетоновых тел, наоборот, меньше на 12,1% ($P<0,01$).

По уровню йода коровы опытной группы превосходили контрольную на 27,8% ($P<0,05$) и каротина – на 31,2% ($P<0,05$). Это свидетельствует о том, что оптимизация углеводного питания оказала положительное влияние на йодный обмен и усвоение каротина из кормов. Количество йода в молоке возросло до 102,6 мкг/л ($P<0,001$), что соответствует физиологической норме.

Таблица 6. Биохимические показатели крови подопытных коров в опытный (стойловый) период

Показатели	Группы	
	контрольная	опытная
Общий белок, г%	9,72±0,22	9,77±0,24
Альбумин, г%	3,25±0,12	3,49±0,15
Глобулин, г%	6,47±0,17	6,28±0,23
А/Г	0,50±0,02	0,55±0,03
Мочевина, ммоль/л	7,67±0,74	6,87±0,43
Глюкоза, ммоль/л	1,68±0,07	2,03±0,05 ^{xxx}
Кетоновые тела, мг%	3,89±0,10	3,42±0,11 ^{xx}
Кальций, мг%	11,88±0,19	12,47±0,15
Неорг. фосфор, мг%	5,83±0,17	5,59±0,11
Са:Р	2,04:1	2,23:1
Йод, мкг%	3,35±0,25	4,28±0,27 ^x
Каротин, мг%	0,48±0,06	0,63±0,05 ^x

x– P<0,05; xx – P<0,01; xxx – P<0,001

В пастбищный период среднесуточный удой подопытных коров составил 25,0-29,6 кг. В это время концентрация общего белка в сыворотке крови хотя и превосходила физиологическую норму, но была несколько ниже, чем в стойловый период (табл. 7).

Таблица 7. Биохимические показатели крови и молока подопытных коров в пастбищный период

Показатели	Кровь	Молоко
Общий белок, г%	9,34±0,13	
Альбумин, г%	3,37±0,08	
Глобулин, г%	5,80±0,17	
А/Г	0,58	
Мочевина, ммоль/л	5,16±0,57	2,49±0,25
Глюкоза, ммоль/л	3,03±0,13	
Кетоновые тела, мг%	2,10±0,13	1,98±0,15
Кальций, мг%	11,80±0,26	
Неорг. фосфор, мг%	5,03±0,17	
Са:Р	2,34:1	
Йод, мкг%	6,70±0,30	82,4±6,2
Каротин, мг%	0,99±0,06	

Повышение количества сахара в рационах коров в пастбищный период положительно сказалось на величине многих биохимических показателей крови. Так уровень сахара в крови заметно вырос с 1,68 – 1,90 ммоль/л до 3,03 ммоль/л или на 59,5-80,3% и был в пределах физиологической нормы. Содержание кетоновых тел соответственно снизилось с 3,89 – 4,46 мг% до 2,10 мг% или на 46 – 53%. Также отмечено значительное снижение мочевины в крови до пределов физиологической нормы (5,16 ммоль/л). Улучшение углеводного питания подопыт-

ных коров в пастбищный период также способствовало лучшему усвоению йода из кормов, что привело к возрастанию его уровня в крови до 6,7 мкг% (с 2,46 – 3,35 мкг% в стойловый период).

Заключение

Оптимизация углеводного питания коров с генетическим потенциалом продуктивности свыше 9 тыс. кг молока в стойловый период в первую половину лактации за счет увеличения количества сахара в рационе на 28,2% (путем скармливания сахарного сиропа с 78% глюкозы) способствует более высокой его реализации (в нашем опыте на 0,6-18,4%). При этом отмечено положительное влияние на углеводно-жировой обмен (по показателям глюкозы и кетоновых тел в крови).

В пастбищный период повышение количества сахара в сухом веществе рационов с 3,3-4,2% до 8,5% способствовало нормализации многих биохимических показателей крови. Например, уровень сахара заметно возрос и достиг физиологической нормы, уменьшилась концентрация кетоновых тел на 46-53% и мочевины – до пределов физиологической нормы.

ПРИМЕНЕНИЕ СИНТЕТИЧЕСКОГО DL-МЕТИОНИНА В КОРМЛЕНИИ КОРОВ

В.Н. Чичаева, В.Л. Кряжева
Нижегородская ГСХА

Эффективность использования протеина животными зависит от степени удовлетворения потребности организма в аминокислотах. Синтез микробного белка всегда чувствителен к изменению уровня аминокислотного обеспечения, так как аминокислоты для него являются основными субстратами (Аитова, 1998, 1990; Венедиктов и др., 1979).

Практическое использование современных теоретических положений в области аминокислотного питания открывает новые способы рационального использования протеина и позволяет восполнять дефицит азотосодержащих веществ путем балансирования рационов по аминокислотному составу (Венедиктов и др., 1979, 1976; Медведев, 1999; Томмэ и др., 1974; Чендлер, 1972).

В значительной части растительных кормов, составляющих основу рациона животных, недостаточно лимитирующих аминокислот для удовлетворения потребностей в них, основной из которых является метионин. Дефицит аминокислот, в том числе метионина, в кормах мо-

жет быть компенсирован путем добавления адекватного количества синтетических аминокислот, таких, например, как синтетический DL-метионин. Синтез метионина в рубце у коров достигает 10–25 г в сутки и в основном зависит от уровня потреблённого сухого вещества корма. При этом следует учитывать, что 30–60% метионина корма разрушается в рубце. Таким образом, если учесть относительно низкое содержание метионина в кормах, особенно в зерновых, недостаточный его синтез в рубце, существенное разрушение рубцовой микрофлорой и недостаточное содержание в бактериальном белке, то в целом организм коровы получает небольшое его количество, которое порой не способно удовлетворить потребность в нем организма. Особенно остро ощущается недостаток метионина у коров с высокой молочной продуктивностью. На продукцию молока у высокопродуктивной коровы расходуется, по данным Томмэ (1974), Курилова (1974, 1978, 1979), Медведева (1997, 1978, 1999) около 82% переваримого протеина. Влияние предварительных процессов преобразования белков делает прогноз обеспеченности аминокислотами синтеза молока еще более трудным. Но путем управления процессами синтеза микробного белка, уровнем потребления высококачественных труднорасщепляемых белков в рубце жвачных и контролированием использования в рационе синтетических препаратов, можно целенаправленно регулировать метаболизм и обеспечить потребность коров для получения высокой продуктивности. Поэтому производство и использование синтетических аминокислот, и в частности, метионина за последние годы расширилось как у нас в стране, так и за рубежом (Венедиктов, 1992, 1979, 1976; Bhargava et al., 1989; Block et al., 1951; Chander et al., 1986; Kaufmann et al., 1982; McAuliffe, 1975; Ray et al., 1983; Wallenius et al., 1975).

Благодаря высокой реакционной способности SH-группы, серосодержащие соединения являются ключевым звеном окислительно-восстановительной системы организма. Свойство SH-группы легко окисляться оказывает в организме защитное воздействие от веществ с повышенной окислительной способностью (Западнюк и др., 1982; McAuliffe, 1975).

Таким образом, теоретические аспекты применения синтетического метионина связаны с его влиянием, с одной стороны, как структурного компонента белка для синтеза белка продукции и тела животного; с другой стороны — влиянием на микрофлору рубца (Западнюк и др., 1982; McAuliffe, 1975).

Потребность животных в аминокислотах эквивалентна потребности в полноценном белке при сбалансированном рационе, обеспечивающем оптимальное функционирование всех систем организма и наивысшую продуктивность при наименьших затратах. По нашим данным добавка метионина к рациону улучшает соотношение между азотом и серой, нормализует их обмен. Включение в рацион метионина

способствовало интенсивному использованию азота. Более высокими были величины, характеризующие усвоение и отложение азота в организме. Повышение использования азота сопровождалось заметным снижением его выделения с калом и мочой. При скормливания метионина изменяется переваримость и использование питательных веществ, он способствует улучшению переваримости и повышению отложения в теле азота, что, в свою очередь, приводит к повышению продуктивности жвачных животных.

Рядом ученых (Аитова (1998,1990); Медведев (1997, 1978, 1999); Курилов (1974, 1978, 1979) и др.), изучающих балансы азота, было установлено, что повышение уровня и качества протеина за счет аминокислот приводит к увеличению переваримости протеина и отложению азота.

Высокопродуктивные коровы характеризуются высокими показателями переваримости питательных веществ. Повышенная интенсивность обмена веществ у них, по сравнению со среднепродуктивными коровами, обусловлена более интенсивным превращением в их организме большей части корма в продукцию (Венедиктов и др., 1979; Томмэ и др., 1974; Bhargava et al., 1989; Block et al., 1951; Chander et al., 1986; Kaufmann et al., 1982). Лактирующие коровы разного уровня продуктивности характеризуются неодинаковым распределением энергии и субстратов по физиологическим функциям. У высокопродуктивных коров на любой стадии лактации основная часть энергии корма используется молочной железой, в то время как у малопродуктивных энергия питательных веществ преимущественно используется на резервные отложения в тканях. Различия определяются в степени трансформации субстратов на поддержание жизненноважных функций, молоко или суточный прирост (Венедиктов и др., 1979; Курилов и др., 1979; Медведев, 1999; Томмэ и др., 1974; Ray et al., 1983).

Рекомендуемый уровень сырого протеина в сухом веществе рациона для дойных и сухостойных стельных коров может быть достаточным для средней продуктивности и раннего сухостойного периода, но не адекватен при высокой молочной продуктивности и в поздний период стельности. Рост плода и окружающих тканей происходит по экспоненте, следовательно, потребности в нутриентах увеличиваются при росте молочной продуктивности и по ходу стельности. Эти обстоятельства приводят к уменьшению количества белка, поступающего в кишечник из корма и от деятельности микроорганизмов. В эти периоды улучшение качества протеина способствует увеличению количества поступающих в желудочно-кишечный тракт аминокислот для всасывания и повышает молочную продуктивность. Наиболее критическим периодом в лактационном цикле коров является ранняя фаза лактации. Повышение уровня метионина при кормлении коров в первые примерно три месяца после отёла оказывает значительное влияние на лакта-

цию в целом. Коровы при этом дольше сохраняют способность использовать питательные вещества корма на образование молока, а не на отложение в теле.

Механизм действия метионина на продуктивность коров, по-видимому, заключается в увеличении синтеза микробиального белка высокой биологической ценности. Возрастает общее количество аминокислот, поступающих в кишечник, изменяется их соотношение в сторону увеличения содержания незаменимых аминокислот, в том числе метионина. Немаловажное значение имеет и непосредственное воздействие этой аминокислоты на процессы брожения в рубце с образованием уксусной кислоты и на процессы синтеза в молочной железе.

Влияние дополнительного введения DL-метионина в рацион изучали на коровах черно-пестрой голштинизированной породы первой лактации с 1997 по 2001 год в учебно-опытном хозяйстве «Новинки» Нижегородской сельскохозяйственной академии (первый опыт) и СЗАО «Березниковское» Нижегородской области (второй опыт). Животных отбирали по принципу парных аналогов по 20 голов в группе. В первом опыте коровы 1-й (контрольной) группы получали основной рацион, животные 2-й группы – 20 г DL-метионина к основному рациону. Во втором опыте животные 1-й (контрольной), 2-й и 3-й опытных групп с основным рационом получали соответственно 10, 20 и 30 г DL-метионина.

В кормах и их остатках общепринятыми методами определяли химический состав, а также питательность рационов. Содержание серы устанавливали по методу Бенедикта-Дениса; кальций и фосфор определяли методом фотометрии с предварительным озолением; содержание метионина – на аминокислотном анализаторе. Кальций в сыворотке крови – комплексонометрическим методом по Де-Варду; фосфор – по В.И. Волгину. Балансовые опыты проведены на 3-х животных из каждой группы на 2 – 3 месяце лактации.

Результаты опыта показали, что включение в рацион высокопродуктивных коров DL-метионина в первые 100 дней лактации способствует увеличению потребления объёмистых кормов рациона, улучшению переваримости питательных веществ и повышению продуктивного действия корма. Переваримость клетчатки повышается за счёт роста микроорганизмов, продуцирующих фермент уреазу. Применение метионина увеличивает усвоение и отложение азота и серы в организме. Количество отложенного азота имело характерную тенденцию к возрастанию с увеличением дозы синтетического метионина в рационе. В среднем отложение азота увеличилось на 5,4 г на голову в сутки. Серосодержащая аминокислота достоверно увеличивала отложение серы в организме животных на 6-11% ($P < 0,001$). Безусловно, это связано с большим поступлением этих элементов в организм и в обменные его фонды. Количество усвоенного кальция и фосфора в желу-

дочно-кишечном тракте животных повышалось адекватно количеству скармливаемой подкормки в рационе. Увеличение составило 6,59 % - 14,69 % ($P < 0,001$). При скармливании метионина увеличилось использование кальция на синтез молока. Установлено, что DL-метионин в количестве 20г на голову в сутки повышает усвоение фосфора организмом коров ($P < 0,05$), а дальнейшее увеличение дозы метионина не изменяет этот показатель. Этот факт следует иметь в виду при проектировании норм аминокислотного питания жвачных.

DL-метионин повышает усвоение меди в желудочно-кишечном тракте коров на 9,54% - 11,14% ($P < 0,001$). Это согласуется с показателем концентрации меди в крови коров. Отложение железа в организме коров увеличивалось у животных, получавших дополнительно 30г метионина ($P < 0,05$). Количество цинка, усвоенного в желудочно-кишечном тракте коров, увеличивалось в среднем на 4,3-12,63% ($P < 0,05$). Установлено повышение отложения кобальта в организме коров при использовании подкормки на 0,24г/голову в сутки ($P < 0,001$), т.е. имела место интенсификация процессов микроминерального питания. DL -метионин способствовал также снижению отложения никеля и хрома в организме животных за счет увеличения выделения этих элементов с калом ($P < 0,001$). При введении синтетического метионина повышалась экскреция кадмия, свинца (как с калом, так и с мочой) из организма, снижалось отложение этих токсичных элементов в организме ($P < 0,001$). Достоверность указанных показателей подтверждает целесообразность применения синтетического DL -метионина.

Включение метионина в рационы коров улучшало экологическое качество молока. Установлено уменьшение концентрации тяжёлых металлов в молоке. Содержание кадмия в молоке снизилось в среднем на 26%, свинца – на 16,3%, суммы тяжёлых металлов – в среднем на 0,51мг/кг.

Применение синтетического метионина улучшало обменные процессы в организме коров. Установлено снижение холестерина в сыворотке крови животных, увеличение у животных опытных групп количества эритроцитов в крови на 6,98%-19,23%. Выявлено повышение уровня гемоглобина в крови коров опытных групп ($r=0,69$; $r=0,98$), возрастание количества восстановленного глутатиона. Повысились технологические свойства молока и улучшился его состав. Массовая доля жира увеличилась на 2,89-8,16%, белка – на 2,14-4,8 относительных процента. Количество белка повысилось в молоке коров исключительно за счет возрастания казеиновой фракции белка ($P < 0,001$). Сыропригодность молока улучшилась.

Синтетический метионин оказал позитивное влияние не только на содержание жира в молоке, но и на качество жировой фазы молока: количество жировых шариков увеличилось в среднем на 5,83-15,01%.

Эти изменения связаны с увеличением количества крупных жировых шариков диаметром от 2 до 7 мкм и уменьшением в молоке мелких шариков ($P < 0,001$). Средний объём жировых шариков в молоке увеличился на 11,22-14,8% ($P < 0,05$). Этот факт связан с меньшими потерями жира при сепарировании продукта и объективно свидетельствует об улучшении технологических свойств молока. В результате исследований при относительно небольших затратах на приобретение подкормки получен существенный экономический эффект от реализации дополнительной продукции. В расчете на 100 голов он составил от 1778 до 2752 рубля в день в зависимости от количества метионина в рационе.

Таким образом, для балансирования аминокислотного питания коров, улучшения обменных процессов в их организме и увеличения производства биологически полноценной и экологически чистой продукции рекомендуем применять синтетический DL—метионин в дозе 20 – 30 г на голову в сутки в период максимальной физиологической нагрузки в первые 100 дней лактации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аитова, М.Д. Методы определения биологической доступности белка и аминокислот. Методы исследований питания сельскохозяйственных животных. Боровск, 1998: 192 – 196.
2. Аитова, М.Д. Нормирование аминокислотного питания коров. Зоотехния, 1990, 7: 39-41.
3. Аминокислотное питание высокопродуктивных коров. (под ред. Емельянова А.С.) Северо-западное книжное издательство, 1976: 136 с.
4. Венедиктов, А.М. Кормовые добавки. М.: Агропромиздат, 1992: 192с.
5. Венедиктов, А.М. Химические кормовые добавки в животноводстве. Колос, 1979: 160с.
6. Венедиктова Т.Н. Повышение использования коровами азота и аминокислот рациона под влиянием DL – метионина. Доклады ВАСХНИЛ. М.: Колос, 1976: 29-30.
7. Западнюк, В.И. Купраш П.П., Заика М.У. Аминокислоты в медицине. Киев, 1982: 199с.
8. Курилов, Н.В. Синтез аминокислот в преджелудках и использование метионина в кормлении крупного рогатого скота и овец. Труды ВНИИФБиП, 1974, 13: 344 -350.
9. Курилов, Н.В. Физиолого-биохимическое обоснование совершенствования кормления высокопродуктивных коров. Труды ВНИИФБиП с.х. животных, 1978, 19: 17- 21.
10. Курилов, Н.В., Мысин Н.Д. Использование синтетического метионина в кормлении лактирующих коров. Животноводство. 1979, 8: 45- 48.
11. Мак Дональд П. Питание животных. М.: Колос, 1970: 503с.
12. Медведев, И. К. Физиологические аспекты продуктивной эффективности молочного скота. Актуальные проблемы биологии в животноводстве. Боровск, 1997: 161-177.

13. Медведев И.К. Биосинтез белков молока. Труды ВНИИФБиП с.х. животных. Боровск, 1978, 19: 3-17.
14. Медведев И.К. Лимитирующие факторы в энергетическом и протеиновом питании высокопродуктивных коров. Материалы координационного совещания. Проблемы и перспективы развития теории жвачных животных на основе субстратной обеспеченности метаболизма. Боровск, 1999: 40-48.
15. Томмэ, М.Ф. О потребности крупного рогатого скота в аминокислотах. Вестник сельскохозяйственной науки, 1974, 12: 34-39.
16. Чендлер Р. Эффективность добавок метионина в рацион коров. Сельское хозяйство за рубежом, 1972, 8: 14-15.
17. Эрнст Л.К. Биологические основы повышения жирномолочности коров. М.: Колос. 1977: 146 с.
18. Эрнст Л.К. Результаты и перспективы по биологическим основам животноводства. Сельскохозяйственная биология, 1981, 16, 2: 167-176.
19. Эрнст Л.К., Прокофьев М.И. Биотехнология — новый этап развития генетики, биохимии и физиологии сельскохозяйственных животных. Актуальные проблемы биологии в животноводстве. Боровск, 1997: 232-241.
20. Bhargava P.K., Otterby D.E., Donker J.D. Methionine hydroxyl analog in diets for lactating cows. J. Dairy Sci. 1989, 60: 234-259.
21. Block R.J., Stekol J.A., Loosli J.K. Synthesis of sulfur amino acid from inorganic sulfate by ruminants. J. Biochemist. Biophysical. 1951: 353-396.
22. Chander P.T., Brown C.A., Johnston R.P. Protein and methionine hydroxyl analog for lactating cows. J. Dairy Sci. 1986, 59: 256.
23. Kaufmann V.W., Luppig W. Protected protein and protected amino acids for ruminants. Agricultural and Feedstuffs for ruminants. 1982: 36
24. Mac Auliffe C.A. Techniques and Topics in bioinorganic Chemistry. University of Manchester Institute of Science and Technology, 1975: 485.
25. Ray S.R., Croom W. J. Effects of methionine hydroxyl analog on milk secretion and ruminal and blood variables of dairy cows fed a low fiber diet. J Dairy Sci., 1983, 66: 283-296.
26. Wallenius R.W., Whitchurch R.E. Methionine hydroxyl analog or sulfate supplementation for high producing dairy cows. J. Dairy Sci. 1975, 58: 314-343.

ХОЗЯЙСТВЕННО - ПОЛЕЗНЫЕ ПРИЗНАКИ КОРОВ ЧЕРНО- ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ РАЗЛИЧНЫХ ГЕНОТИПОВ В НИЖЕГОРОДСКОЙ ОБЛАСТИ

Т.П. Логинова, О.А Басонов
Нижегородская ГСХА

Изучение морфофизиологических и биохимических механизмов высокой продуктивности, условий для максимального проявления генетического потенциала, факторов, влияющих на количество и качество продукции - все это является одной из фундаментальных проблем современного животноводства. Факторами, определяющими повыше-

ние продуктивности, является генетическое улучшение пород скота, в т.ч. голштинизация черно-пестрой породы и обоснованный импорт голландского, немецкого и датского скота, и совершенствование кормления животных. У помесных животных показатели молочной продуктивности и качество молока варьируют в широких пределах. Великановой (1983), Алексеевой (1990), Игушкиным (1989), Ким (1994) установлено, что потребление, переваримость и использование питательных веществ рационами животными различных пород неодинаково. Однако, единого мнения по этому вопросу нет, а в отношении помесных голштинизированных животных экспериментального материала вообще мало. Технологические свойства их молока в условиях Поволжского региона изучены недостаточно.

В связи с этим в 1997-2000 году в племязаводе имени Ленина Ковернинского района, Нижегородской обл. были проведены научно-хозяйственный, физиологический и технологический опыты на высокопродуктивных коровах черно-пестрой породы различной селекции со средней продуктивностью 5200 кг молока и живой массой 500 кг. Первая группа объединяла коров черно-пестрой породы отечественного происхождения, вторая группа - животных немецкой селекции, полученных от матерей, импортированных в хозяйство из Германии, а третья группа - датского происхождения, от матерей завезенных из Дании. Опытных животных подбирали по принципу аналогичных групп с учетом породной принадлежности, возраста, молочной продуктивности, жирномолочности, живой массы, месяца лактации. В научно - хозяйственном опыте задачей исследований являлось изучение молочной продуктивности и характера лактации у полновозрастных коров черно-пестрой породы различной селекции при одинаковых условиях содержания животных (привязное) и кормления - по сбалансированным рационам по нормам РАСХН из кормов местного производства.

При изучении экстерьерных особенностей были рассчитаны индексы телосложения, анализ которых указал на более выраженный молочный тип телосложения у коров немецкой селекции. Животные отечественного и датского происхождения характеризовались достоверно высокими показателями индексов сбитости (129,8-132,8%), что указывает на выраженность признаков молочно-мясного типа. По форме вымени и скорости молокоотдачи установлено, что 67,7% коров молочного стада имеют наиболее желательную чашеобразную и 23% - округлую форму вымени. Скорость молокоотдачи находилась в пределах от 1,4 кг/мин до 1,53 кг/мин, что соответствует средним показателям по черно-пестрой породе (Янусевич, Будько, 1985).

На фоне научно-хозяйственного опыта был проведен физиологический опыт, задачей которого являлось изучение поедаемости кормов, переваримости питательных веществ, баланса и использования азота и минеральных веществ. Кормление коров всех групп было оди-

наковым и соответствовало физиологическому состоянию животных. Предлагаемый рацион по питательности, содержанию сухого вещества, протеина, клетчатки, жира, макро- и микроэлементов и каротина соответствовал физиологическим потребностям высокопродуктивных коров всех групп на уровне среднесуточной продуктивности 25 кг молока с массовой долей жира 3,6%.

В результате контроля за поедаемостью кормов рациона коровами черно-пестрой породы различного происхождения установлено, что лактирующие коровы немецкой селекции достоверно лучше ($P < 0,01$) поедали грубоволокнистые корма (сено, силос) по сравнению со сверстницами 1-й и 3-ей групп. А коровы отечественного происхождения лучше поедали витаминно-травяную муку ($P < 0,01$) в сравнении с животными датской селекции, которые имели максимальные показатели поедаемости всех кормов и рациона в целом. При изучении переваримости питательных веществ рациона установлено достоверное увеличение переваримости сухого, органического вещества ($P < 0,01$) и сырого протеина ($P < 0,05$) у коров отечественного происхождения по сравнению с животными датской селекции. Животные немецкого происхождения по переваримости сухого и органического вещества, сырого протеина занимали промежуточное положение, но имели достоверно большие ($P < 0,01$) показатели переваримости сырого жира по сравнению со сверстницами 3-ей группы.

Различная поедаемость кормов опытными животными обусловила разницу в количестве азота, поступившего в организм коров с кормом. У коров датской и немецкой селекции в первые 100 дней лактации использование азота было направлено не только на образование молока, но и частично на отложение в теле. Баланс был положительным и составил 11,9 г и 19,5 г соответственно. Животные отечественной селекции в равных условиях весь азот корма использовали на образование молока и заимствовали его из тканевых резервов. В результате у животных этой группы баланс азота был отрицательным и составил 2,2 г, что согласуется с данными Зборовского и Богатноу (1996), Игушкина (1999), которые указывают на отрицательные балансы азота у высокопродуктивных коров в первые 100 дней лактации.

Достоверно лучшее использование кальция и фосфора из местных кормов рациона отмечено у коров отечественной селекции. Отложение в теле кальция у них составило 41,2 г против 23,8 г у коров немецкого и 17,6 г - датского происхождения.

Наивысшую молочную продуктивность за первые 100 дней лактации в одинаковых условиях кормления и содержания показали коровы отечественного и немецкого происхождения, разница в их пользу составила 166,6 - 172,5 кг молока по сравнению с животными датской селекции. Большая молочная продуктивность у коров 1-й и 2-й

групп сохранилась на протяжении всего лактационного цикла, в результате чего в этих группах были получены наивысшие показатели продуктивности за 305 дней лактации, которые составили 5316 кг.

Одним из факторов, влияющих на содержание жира в молоке, как считают Арзуманян, Щеглов и Дигаев (1992), Глухиг и др. (1995) является порода животных. В молоке коров датской селекции отмечено достоверное увеличение содержания жира, его отчетливое нарастание в течение лактации. Жировая фракция молока коров отечественного происхождения превосходила одноименные показатели у животных немецкой и датской селекций по количеству жировых шариков на 37,5 - 43,0%, и по их диаметру на 4 - 17,5%.

В процессе производства сливочного масла, ввиду неодинаковой структуры молочного жира, расход молока на 1 кг продукта и степень использования жира молока во всех трех группах были различными. Молоко коров отечественного и немецкого происхождения было пригодным для маслоделия. Молоко коров датской селекции имело в структуре молочного жира 21% мелких жировых шариков, что указывает на меньшую степень использования жира и соответственно больший расход молока при производстве масла. О сыропригодности молока можно судить по соотношению основных его компонентов: жир, белок и СОМО. Считается сыропригодным молоко с соотношением жир : белок = 1,06 - 1,24, жир: СОМО=0,40- 0,45, белок : СОМО = 0,36 - 0,44 (Гузун, Скольская, 1986). Молоко черно-пестрых коров датского происхождения по соотношению основных компонентов (жир, белок, СОМО) и содержанию кальция в течение всей лактации являлось пригодным для сыроделия. А молоко коров отечественной и немецкой селекции могло быть использовано в производстве сыра только во второй половине лактации. По термоустойчивости молоко, полученное с использованием местных кормов, от коров всех сравниваемых селекций не соответствовало требованиям ГОСТа 13264 - 88 «Молоко, как сырье для производства стерилизованных продуктов». Для развития кефирного грибка более благоприятными показателями характеризуется молоко коров немецкой и датской селекций.

Таким образом, результаты мониторинга хозяйственно - полезных признаков коров черно-пестрой породы отечественной, немецкой и датской селекции позволяют сделать заключение, что для создания высокопродуктивных молочных стад черно-пестрого скота в хозяйствах Нижегородской области целесообразно более широко использовать коров отечественной селекции, разводимых в племязаводах - репродукторах, которые по изученным нами хозяйственно-полезным признакам не уступают в данных конкретных условиях животным импортных селекций. При переработке молока в хозяйствах экономически выгодно направлять молоко, полученное от коров датской селекции на производство сыра и кисломолочных продуктов, от коров немецкого происхож-

дения на производство масла и кисломолочных продуктов, а от отечественных коров - на производство масла. Молоко всех изучаемых селекций имело высокую пищевую ценность и было пригодно для реализации в цельном виде.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеева Е.И. Использование кормов лактирующими коровами черно-пестрой породы различного возраста и происхождения и технологические свойства молока. Автореф. дис...канд.с.-х. наук. Ленинград-Пушкин, 1990:16 с.
2. Арзумян Е.А., Щеглов Ю.С., Дигаев Х.А. О взаимосвязи удоя, содержания белка и жира в молоке коров разных пород. Известия ТСХА. М.: Колос, 1982, 4: 133-137.
3. Великанова, Т.Н. Переваимость и обмен питательных веществ у коров разных внутрипородных типов симентальской и черно-пестрой пород. Пути повышения степени использования кормов сельскохозяйственными животными: Сб. науч. трудов. Харьков, 1983: 68-73.
4. Глухиг В., Рябов Ю., Перминов И. Влияние породных особенностей коров на технологические свойства молока и молочных продуктов. Уральские Нивы, 1995, 1-3: 20-24.
5. Гузун В.А., Скольская С.Г. Сортность заготавливаемого молока и его сыропригодность. Пути совершенствования племенных и продуктивных качеств жвачных животных: Сб. науч. тр. КСХИ. Кишинев, 1986: 37-41.
6. Зборовский Л.В., Богатноу Н.П. Особенности обмена веществ у холмогор-голштинских коров. Зоотехния, 1996: 14-17.
7. Игушкин Н.М. Поедаемость, переваримость и использование питательных веществ рационов черно-пестрых голштинскими коровами различных генотипов. Автореф. дис...канд. с.-х. наук. Саранск, 1999: 18 с.
8. Ким Т.А. Сравнительная оценка хозяйственно-биологических особенностей швицкого и немецкого черно-пестрого скота. Дис...канд. с. -х. наук. пос. Дубровицы. 1994: 140 с.
9. Янусевич А.И., Будько В.А. Свойства вымени и молокоотдача у коров голштино-фризской породы и ее черно-пестрых помесей. Научные основы развития животноводства в БССР. 1985, 15: 3-6.

ФАКТИЧЕСКАЯ ЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ И ПРОТЕИНОВАЯ ПИТАТЕЛЬНОСТЬ РАЦИОНОВ – ОСНОВНЫЕ КРИТЕРИИ ОПТИМИЗАЦИИ КОРМЛЕНИЯ МОЛОЧНЫХ КОРОВ

Е.Г. Гуляев, Е.А. Тяпугин
СЗНИИМЛПХ

Наиболее методически сложным аспектом при расчете содержания обменной энергии в кормах и рационах является определение

уровня переваримости основных питательных веществ. Для этой цели в абсолютном большинстве случаев используются усредненные справочные данные, что снижает объективность полученных результатов и не позволяет адекватно оценивать энергетическую ценность рационов для жвачных животных.

В связи с этим нами были проведены комплексные исследования по изучению абсолютных значений энергетической ценности кормов и рационов с использованием классической методики и на основании показателей их переваримости *in vitro*. Определена расщепляемость протеина в рубце и выявлены коррелятивные зависимости между этими показателями для отдельных кормов и для рационов с различным набором кормов и различной структурой.

С целью объективности сравнительной оценки были отобраны образцы кормов в ведущих племенных хозяйствах Вологодской и Архангельской областей (ЗАО ПЗ «Заря» Грязовецкого района, ФГУП «Молочное» и ГОПХ «Куркино», ЗАО ПЗ «Холмогорский», «Новая жизнь»). Была определена переваримость сухого вещества и расщепляемость протеина *in vitro*, а также фактическая энергетическая ценность по содержанию обменной энергии 137 видов кормов.

Первоначально проводился зоотехнический анализ кормов, а затем определяли переваримость сухого вещества кормов *in vitro* с использованием ферментатора замкнутого типа – «искусственного рубца». Исследования были проведены с использованием методик Бойко, Складорова, (1985) и Гуляева, Трифионовой (1994). Применялся метод двустадийной инкубации. При этом первую стадию инкубации образцов проводили с использованием натурального содержимого рубца коров в смеси с буферным раствором, вторую стадию – с использованием пепсина и соляной кислоты.

В результате исследований выявлены различия в уровне энергетической ценности отдельных видов кормов в зависимости от метода определения уровня их переваримости. Так, содержание обменной энергии в грубых и концентрированных кормах было ниже, а в сочных – выше при использовании методики определения переваримости *in vitro*, по сравнению с классической методикой (табл. 1).

В отечественной и зарубежной практике молочного животноводства в процессе постоянной интенсификации отрасли все более остро встают вопросы обеспечения высокопродуктивных коров протеином. Известно, что наличие симбионтной микрофлоры в преджелудках жвачных животных оказывает значительное влияние на процессы усвоения протеина корма и на обеспеченность организма достаточным количеством аминокислот. Обеспеченность организма коровы белком зависит от количества, состава и переваримости протеина корма, избежавшего распада в рубце, и от уровня синтеза «протозойного» протеина в преджелудках.

Таким образом, мониторинг данного показателя и корректировка рационов с учетом его уровня является дополнительным средством повышения эффективности усвоения протеина и повышения уровня молочной продуктивности коров.

В таблице 2 представлены сравнительные данные переваримости сухого вещества различных видов корма и значения уровня распадаемости протеина в этих кормах. Полученные данные по своим абсолютным значениям согласуются с аналогичными данными других авторов (Материкин, Харитонов, 1999). Отмечена достаточно высокая прямая корреляционная зависимость между уровнем переваримости сухого вещества и уровнем распадаемости протеина, что подтверждает достоверность полученных результатов. Наивысшие показатели распадаемости протеина получены для шротов и жмыхов, наиболее низкие значения для грубых кормов.

Научный и практический интерес представляло совместное использование методов определения энергетической ценности кормовых рационов по содержанию обменной энергии, исходя из переваримости *in vitro* и уровня распадаемости протеина с целью выявления оптимального набора кормов и структуры рациона. Для определения переваримости сухого вещества кормовых рационов *in vitro* в ферментаторе «искусственный рубец» была апробирована методика создания усредненной пробы, позволяющая изучать показатели переваримости кормового рациона как единого образца, моделирующего в себе набор кормов и структуру сухого вещества изучаемого рациона.

Уровень расщепляемости протеина в преджелудках определяли в процессе инкубации образцов корма и моделей рационов в ферментаторе «искусственный рубец» на первой стадии. При этом определяли содержание азота по Кельдалю в нативных образцах и субстратах, полученных после первой стадии инкубации. Затем определяли массовую долю расщепленного протеина от поступившего с кормом или рационом.

Для проведения исследований были проанализированы кормовые рационы для высокопродуктивных коров. При этом изучали рационы стойлового, переходных и пастбищного содержания (по 3-5 моделей рационов) с использованием фактической структуры рациона и других возможных вариантов структуры, обеспечивающих оптимальное содержание энергии и основных питательных веществ, в соответствии с уровнем молочной продуктивности коров. Таким образом было проанализировано 290 микромоделей рационов. В опыте использовались образцы кормов из указанных хозяйств, а в процессе инкубации применялось натуральное содержимое рубца коров.

Таблица 1. Оценка энергетической ценности кормов

Наименование корма	N	По классической методике			На основании фактической переваримости in vitro (МДж/кг)			R
		концентрация ОЭ (МДж/кг)	M±m	СВ, %	концентрация ОЭ (МДж/кг)	M±m	СВ, %	
Сено	3	6,80	6,80±0,2	9,59	6,09	6,09±0,3	45,4	0,67
Силос	4	1,73	1,73±0,12	39,06	1,90	1,90±0,11	32,8	0,57
Трава пастбищная	28	2,44	2,44±0,19	11,64	2,79	2,79±0,12	18,9	0,24
Сенаж	2	2,80	-	-	2,42	-	-	-
Травяная мука	4	8,49	8,49±0,21	17,5	8,37	8,37±0,19	4,6	0,69
Зерносмесь	3	10,3	10,3±0,32	4,03	9,38	9,38±0,23	4,0	0,56
Комбикорма	6	9,96	9,96±0,89	18,66	8,15	8,15±0,58	10,52	0,48
Шроты	1	11,60	-	-	11,51	11,51±0,48	5,62	0,56
Жмыхи	6	11,15	11,15±0,98	15,8	10,87	10,87±0,35	12,23	0,34

Таблица 2. Оценка переваримости in vitro сухого вещества и уровень распадаемости протеина в кормах

Наименование корма	N	Переваримость сухого вещества кормов in vitro (%)				Распадаемость протеина in vitro (%)				R
		коэф. переваримости СВ (%)	M±m	СВ, %	Δ	распадаемость протеина (%)	M±m	СВ, %	Δ	
Сено	3	53,62	53,62±6,36	11,38	6,47	53,23	53,23±4,23	10,89	5,56	0,45
Силос	4	61,80	61,80±8,31	15,14	9,35	68,14	68,14±9,12	13,23	7,45	0,32
Трава	28	78,94	78,94±8,90	14,95	9,30	74,27	74,27±7,23	14,26	8,21	0,29
Сенаж	2	70,72	70,72±7,73	19,79	12,21	65,12	65,12±5,14	8,35	5,17	0,21
Травяная мука	4	74,41	74,41±1,88	4,16	3,04	58,13	58,13±2,56	7,23	4,67	0,24
Зерносмесь	3	89,62	89,62±4,51	8,06	6,52	72,11	72,13±5,16	8,45	5,56	0,12
Комбикорма	6	85,04	85,04±3,08	4,46	3,64	78,34	78,34±4,67	9,78	4,59	0,23
Шроты	1	72,00	-	-	-	75,67	-	-	-	-
Жмыхи	6	76,73	76,73±2,87	7,82	6,85	81,45	81,45±3,25	9,78	5,76	0,18

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о том, что наблюдалась существенная вариабельность энергетической ценности рационов (lim 5-8%) при использовании в расчетах данных о их переваримости *in vitro*. Кроме того, совершенно определенно просматривалась прямая зависимость уровня энергетической ценности рациона от значений переваримости СВ *in vitro* и показателей расщепляемости протеина ($r=0,67$). При этом также, как и при анализе переваримости СВ *in vitro* и расщепляемости протеина отдельных кормов, существенно выше была энергетическая ценность рационов, содержащих большее количество сочных кормов и сравнительно ниже энергетическая ценность рационов концентратного типа, по сравнению с аналогичными показателями этих же рационов, рассчитанными с использованием справочных данных об их переваримости. Считаем, что представленные экспериментальные данные свидетельствуют о необходимости использования в практике нормированного кормления высокопродуктивных коров показателей переваримости сухого вещества и распадаемости протеина.

АНТИПИТАТЕЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ ЗЕРНОБОБОВЫХ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА УСВОЕНИЕ ПИТАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ ЖИВОТНЫМИ

А. И. Фицев
ВНИИ кормов

В решении проблемы кормового белка для животноводства страны большое значение имеет увеличение производства зернобобовых: гороха, вики, люпина, сои и др. Доля этих источников растительного белка в структуре зернофуража в последние годы составляет 3-5%, что крайне недостаточно для балансирования кормового баланса по протеину. На перспективу их доля должна возрасти до 10-12 % и к 2010 г их производство должно составить 8,5 млн. т. Основными культурами на перспективу для нашей страны будут горох (73%), вика (15%) и люпин (5-7%).

Однако проблема эффективного использования зернобобовых связана не только с увеличением их производства, но и с наличием в их зерне антипитательных веществ: ингибиторов трипсина в сое и горохе, гликозидов и ингибиторов трипсина в вике, танинов в кормовых бобах, алкалоидов в люпине. Кроме того, белок семян почти всех зернобобовых беден серосодержащими аминокислотами – метионином и цистином, которые лимитируют их биологическую ценность (Чабб, 1985).

На изучение антипитательных факторов в зерне гороха, вики, люпина и влияния их на продуктивность животных и птицы были на-

правлены наши исследования последних лет. Результаты их показали, что содержание ингибиторов трипсина в различных сортах гороха (более 20) колеблется от 50 до 190 мг/100 г сухого вещества. Установлено, что те сорта, которые содержат менее 100 мг/100 г СВ, могут включаться в состав комбикорма для цыплят-бройлеров в количестве 25 % по массе без предварительной обработки. К сортам, имеющим содержание ингибиторов трипсина более 100 мг/100 г СВ, относятся Спрут, Орловчанин, Батрак, Норд, Гусар. Они требуют предварительной обработки. Гранулирование, экструдирование и плющение гороха снижает содержание ингибитора трипсина на 17,2, 71,3 и 41,1% от исходного уровня соответственно. При этом гранулирование повышает использование азота цыплятами на 6,7 %, экструдирование – на 4,7 %, плющение – на 9,8 %. В среднем, за период выращивания при использовании гранулированного гороха, затраты корма и протеина на 1 кг прироста достоверно снижаются на 18,0 и 15,5 %, экструдированного – на 112,0 и 12,6 %, плющеного – на 16,7 и 14,0 %, соответственно, по сравнению с необработанным. Влияние ингибитора трипсина на использование питательных веществ показано в таблице 1.

Таблица 1. Влияние нормы ввода вики озимой на усвоение питательных веществ и показатели выращивания цыплят-бройлеров

Показатели	Группа		
	контроль	15 % вики озимой	25 % вики озимой
Переваримость, %			
– сухого вещества	66,14	65,46	62,08
– сырого протеина	82,00	82,56	80,60
Усвоено азота, %			
– от принятого	47,31	48,54	42,16
– от переваренного	57,70	58,70	52,30
Усвояемость аминокислот, %			
метионина	91,45	92,00	85,97
лизина	82,79	82,71	82,35
триптофана	83,56	82,71	82,35
треонина	73,56	66,81	53,36
валина	79,26	78,16	76,84
Суточный прирост, г/гол	38	38	33
Затрачено на 1 кг прироста:			
– корма, кг	2,77	2,76	3,19
– протеина, г	568	557	686

Влияние экструдированного гороха на продуктивность свиней было проверено нами в ТОО "Буденовец" Дмитровского района, Московской области. Установлено, что использование его в количестве 15% в составе комбикорма является эффективным приемом, улучшающим продуктивность животных. Скармливать такой горох наиболее целесообразно поросятам на доращивании при живой массе 25-60 кг. В

этот период прирост подсвинков увеличивается на 15 %, затраты корма снижаются на 13 % по сравнению с необработанным вариантом. В период откорма использование экструдированного гороха оказалось неэффективным.

Анализ вики яровой (более 120 сортов и номеров) на содержание циангликозидов и ингибитора трипсина показал (Фицев и др., 1988), что количество образцов, в которых циангликозиды не были обнаружены или присутствовали в крайне малых количествах, составляет 44 %. Число образцов с уровнем гликозидов около 1 мг/100 г СВ составило 13 %, 2-3 мг – 12 %, 4-6 мг – 11 % и свыше 20 мг – 7 %. Содержание ингибитора трипсина и синильной кислоты в некоторых сортах и номерах вики яровой показано в таблице 2.

Определение предельно допустимых количеств (ПДК) гликозидов в рационах цыплят-бройлеров показало, что пороговая норма их в кормосмеси составляет 0,9-1,0 мг/100 г СВ корма. В наших опытах установлено, что если в рационы цыплят-бройлеров вводить вику в количестве 15 %, то приросты цыплят не уступают контролю с 10 % соевого шрота. Такое количество вики яровой можно вводить в комбикорм ПК-2 для цыплят-бройлеров без предварительной обработки.

Таблица 2. Содержание антипитательных веществ в зерне вики яровой (мг/100 г СВ)

Сорта и номера	Ингибитор трипсина	Синильная кислота
Луговская 85	82	—
Узуновская 83	107	—
Узуновская 91	100	—
Немчиновская 72	95	6,50
Вера	58	3,00
Луговчанка	75	1,00
№ 2217	81	—
№ 2219	75	—
Луговская 83	78	11,0
Орловская 84	168	0,40
Орловская 88	182	7,0
Орловская 91	200	1,75
Немчиновская 109	68	4,10

Основное условие: кормосмесь после ввода вики должна содержать не более 1 мг/100 г СВ гликозидов и не более 25-30 мг/100 г СВ ингибитора трипсина. Необходимым условием замены соевого шрота викой является добавка в комбикорм синтетического метионина в количестве 200 г на 100 кг комбикорма. Среднесуточный прирост массы цыплят при скормливании комбикорма с 15 % вики яровой со-

ставляет 48,4 г и практически не уступает приросту цыплят с использованием соевого шрота – 49,4 г/сутки.

Анализ районированных сортов вики озимой показал, что в отличие от вики яровой, она не содержит антипитательных веществ. Однако ввод ее в рацион цыплят-бройлеров более 15 % (по массе комбикорма) приводил к снижению переваримости питательных веществ, ухудшению усвояемости азота, аминокислот и снижению показателя роста цыплят (табл. 1).

Люпин является ценной зерновой культурой для комбикормовой промышленности. Основной отличительной особенностью его следует считать высокое содержание протеина – от 30 до 46 %. По своему качеству (по количеству и сбалансированности аминокислот) люпин, согласно принятым Международным стандартам, равнозначен по своей биологической ценности для комбикормовой промышленности сое (Такунов, 1996).

Наши опыты по определению нормы ввода люпина в комбикорма для цыплят-бройлеров показали возможность полной замены люпином подсолнечного и соевого шрота (табл. 3).

Таблица 3. Влияние нормы ввода люпина в рацион цыплят-бройлеров на усвоение питательных веществ и показатели роста

Показатели	Группы				
	I шрот подсолнечный	II шрот соевый	III 15 % люпина	25 % люпина	35 % люпина
Переваримость, %					
– сухого вещества	67,02	69,86	66,28	66,22	64,67
– сырого протеина	85,16	84,20	86,12	86,85	88,25
Усвоено азота, %					
– от принятого	51,14	53,47	52,88	53,47	52,43
– от переваренного	60,05	63,50	61,30	61,57	59,47
Усвояемость аминокислот, %					
лизина	82,69	87,15	86,70	88,11	89,72
метионина	88,57	86,76	87,70	90,16	95,18
триптофана	88,57	86,76	87,70	90,16	95,18
Суточный прирост, г/гол	41	43	41	41	40
Затрачено на 1 кг прироста:					
– корма, кг	2,13	2,01	2,19	2,03	2,24
– протеина, г	452	433	471	450	529

Антипитательные факторы зернобобовых при кормлении жвачных животных имеют не столь ощутимое влияние, как при кормлении моногастричных животных, потому что до 70 % протеина рациона у них расщепляется в рубце и лишь около 30 % поступает в кишечник в нерасщепленном виде. Расщепленный в рубце протеин используется для синтеза нового микробного белка с высокой биологической ценностью. Однако нерасщепленный в рубце протеин, сохраняя свойства протеина корма, может оказывать существенное влияние на его использование на стадии кишечного пищеварения. В экономическом отношении и для жвачных животных наиболее актуальным остается вопрос замены в составе концентратной смеси дорогостоящего соевого шрота зернобобовыми собственного производства.

В большинстве европейских стран рекомендуется в состав комбикормов вводить зернобобовые: для телят 20%, молочных коров 30%, откормочного молодняка 50% (Фицев, 1992). Общее их количество может составлять до 3 кг. Экономически это выгодно по сравнению с соевым шротом, который может быть заменен указанными выше зернобобовыми при хорошем качестве продукции.

В рационах коров люпин можно скармливать до 6 кг/гол/день. Рекомендуется использовать его в молотом виде после экструдирования. Этот прием уменьшает растворимость азота люпина с 87 до 30%, улучшает доступность протеина, повышает продуктивность коров. Липиды люпина оказывают благоприятное влияние на удои и жирность молока (Schwazz, 1989).

Все зернобобовые имеют высокую расщепляемость протеина в рубце, равную 70-85 %. Для ее снижения в настоящее время наибольшее распространение получили способы термообработки (Фицев, 1992). В результате повышается устойчивость кормового протеина к действию микроорганизмов, но важным технологическим моментом является нахождение оптимального режима термической обработки, чтобы предотвратить тепловую денатурацию белка, сохранив его доступность для переваривания в кишечнике.

По обобщенным данным "защита" протеина особенно эффективна для высокопродуктивных коров (Heller, 1980).

Высокая результативность "защиты" протеина силоса и фуражного зерна, полученных со смешанных посевов, показана в опытах, проведенных нами на Кировской лугоболотной опытной станции (Ишмуратов, 1994). Горохоовсяную смесь в соотношении 25:75 и 50:50 использовали для получения силоса и зернофуража. Энергетическая протеиновая питательность указанных вариантов силоса составила 9,0 и 9,54 МДж ОЭ, 80 и 99 г сырого протеина в 1 кг сухого вещества. Внешение консервантов "Вихер" и КНМК в силосуемую массу способствовало сохранности протеина в процессе хранения на 6 %, аминокислот – на 25,7 %, не снижая при этом энергетической ценности силоса.

Термическая обработка зернофуража указанных вариантов на КОС-0,5 при температуре 110°C в течение 30 минут снижала растворимость протеина с 50 до 38%, расщепляемость – с 82 до 71% соответственно, не снижая при этом содержания сырого протеина, общей суммы и суммы незаменимых аминокислот. Скармливание консервированного силоса, а также термически обработанной зерносмеси сопровождалось снижением переваримости протеина, но повышало использование азота бычками как заданного, так и переваренного на 5,3 и 8,3% соответственно. Использование в рационах молодняка крупного рогатого скота и новотельных коров силоса из горохо-ячменной смеси в соотношении 25:50 и 50:50, а также зернофуража из нее обеспечивает концентрацию обменной энергии в 1 кг СВ рациона на уровне 10,0-10,7 МДж и сырого протеина – 14,0-17,9%, что способствует получению 990-996 г суточного прироста молодняка и 23-25,5 кг суточного удоя молока. При выращивании и откорме молодняка крупного рогатого скота по затратам энергии, протеина и выходу продукции на 1 га площади наиболее эффективными оказались рационы с уровнем протеина 14%, растворимостью его 28% и расщепляемостью – 60-62%.

При кормлении новотельных коров наиболее эффективным по использованию энергии на продуктивные цели оказались приемы "защиты" протеина силоса из горохоовсяной смеси с помощью КНМК и скармливание его вместе с термически обработанной дертью. Затраты энергии на 1 кг 4%-ного молока при этом снижаются на 10 %, сырого протеина – более, чем на 7,0 % по сравнению с необработанным силосом и зернофуражом.

Таким образом, снижение антипитательных факторов зернобобовых при кормлении свиней и птицы, защита протеина чрезмерной расщепляемости в рубце является в настоящее время одним из важных направлений повышения эффективности их использования в животноводстве.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чабб Л. Дж. Антипитательные факторы в кормлении животных. Новейшие достижения в исследовании питания животных, 1985, 4: 27-28
2. Малиевская И. В. Питательная ценность различных сортов гороха и способы повышения эффективности его использования. — Автореф. ... к. с.-х. н., 1996, 16 с.
3. Фицев А. И., Малиевская И. В., Коровина Л. М. Антипитательные вещества вики яровой. Кормопроизводство, 1998, 4: 29-32.
4. Фицев А. И. Повышение качества и эффективности использования зернобобовых в рационах сельскохозяйственных животных и птицы. Обзор ВНИИТЭИАК, 1992: 56 с.
5. Schwazz F. Verfütterung von Samen verschiedener Leguminosen, Kirchgessner M. (Ackerbohne, Erbe, Lupine) und Rapsextraktlonsschrot Aus 0- und 00-

- Sorten in der Bultenmast. Mitt I. Zum Austausch von Sojaextraktionsschrot gegen alternative Eiweisskomponenten. Suchtungskunde, 1989, 61, 1: 71-82.
6. Такунов И. П. Люпин в земледелии России. Брянск. 1996: 371 с.
 7. Heller D. Wie Sie mit "geschutrem Eiweiss" hohe Lei-Stungen absichern konnen. Dor Agrar., 1980, 12: 8-12.
 8. Ишмуратов Х. Г. Эффективность использования жвачными животными протеина кормов из зернобобовых при разных способах обработки: Автореф. ... к. с.-х. н., 1994: 16 с.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КАРБАМИДА, СЕМЯН ЗЕРНОБОБОВЫХ И РАПСА В СОСТАВЕ ЭКСТРУДИРОВАННЫХ СМЕСЕЙ В РАЦИОНАХ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

А.П. Гаганов, Н.Г. Григорьев
ВНИИ кормов им. В.Р.Вильямса

Проблема оптимизации энергетического и протеинового питания особенно важной является для высокопродуктивных животных. Многие годы основным источником высокобелковых кормов в условиях России является подсолнечниковый жмых и шрот, производство которых ограничено ареалом распространения этой культуры. Возрастающая потребность в энергии и белке для нужд животноводства приводит к росту их дефицита и цен на них. Поэтому необходимо с максимальной эффективностью использовать любые источники энергии и белка, которые могут применяться в животноводстве. Такими источниками, не нашедшими по разным причинам широкого применения до настоящего времени, могут быть карбамид, семена зернобобовых и масличных (рапс) культур. Поскольку семена рапса и зернобобовых культур содержат антипитательные факторы, они должны подвергаться обработке для снижения отрицательного влияния на животных. Наиболее применимой является совместная экструзивная обработка исходных компонентов, при которой происходит снижение расщепляемости белка в рубце, устраняется или существенно уменьшается влияние антипитательных факторов (Denain. 1986; Kozłowska et al., 1983; Haythoruthwaite, 1986). Происходит желатинизация крахмала, что повышает его усвояемость (Hauthoruthwaite, 1986). Являясь поверхностно-активным веществом, жир может частично ингибировать уrolитическую активность бактерий и способствовать постепенному высвобождению аммиака и утилизации его микрофлорой в рубце. В процессе экструзии такие ферменты как липоксидаза, вызывающие прогоркание масел, разрушаются, а лецитин и токоферолы, являющиеся природными стабилизаторами, сохраняют полную активность, благодаря чему

повышается стабильность жиров. Под действием температуры и давления происходит стерилизация кормов (Рослякова, 1977).

В задачу исследований входило изучение влияния уровня ввода кормовых бобов и малокомпонентной добавки на переваримость питательных веществ рационов валухами, а также влияние малокомпонентной кормовой добавки, состоящей из зерна ячменя, семян рапса и карбамида на молочную продуктивность лактирующих коров.

Исследования по влиянию кормовой добавки на переваримость питательных веществ рационов валухами проведены в условиях вивария. Бобы включали в состав добавки в количестве 15, 30 и 45 % по сухому веществу. Концентрация обменной энергии и сырого протеина в кормовых добавках, содержащих 15 % бобов, составляла соответственно 13,6 МДж и 18,9 %, 30 % кормовых бобов – 13,7 МДж и 20,1 %, 45 % кормовых бобов – 13,9 МДж и 22,7 %. Основной рацион валухов состоял из кукурузного силоса и злакового сена. Результаты опытов представлены в таблице 1.

Таблица 1. Влияние кормовой добавки с бобами на переваримость питательных веществ рационов валухами

Содержится, %		Коэффициенты переваримости, %					
бобов в добавке	добавки в рационе	СВ	СП	СЖ	СК	БЭВ	ОВ
15	24	64,6	59,4	71,2	60,7	74,0	67,5
30	24	67,6	64,0	76,4	62,9	73,2	69,4
45	24	69,9	66,4	76,8	71,1	73,6	71,9
30	43	68,0	67,8	77,7	58,8	74,1	70,0
45	43	70,5	69,3	83,6	59,0	77,7	72,6

Увеличение доли кормовых бобов с 15 до 30 и 45 % по сухому веществу, при 24 % уровне ввода кормовой добавки в рацион, способствовало повышению переваримости сухого вещества, сырого протеина, сырого жира и органического вещества. Переваримость БЭВ была практически одинаковой. При включении кормовой добавки в состав рационов в количестве 43 % по сухому веществу, и увеличении в добавке рациона доли кормовых бобов с 30 до 45 % способствовало повышению переваримости сухого вещества, сырого протеина, сырого жира, БЭВ и органического вещества. Переваримость сырой клетчатки практически не уменьшалась. Увеличение уровня кормовой добавки в составе рационов валухов с 24 до 43 % по сухому веществу привело к снижению переваримости сырой клетчатки. Переваримость остальных питательных веществ валухами была либо близкой, либо увеличивалась (табл. 1). Предварительные исследования на валухах показали, что кормовые бобы в состав добавки можно включать до 45 %, а саму добавку в рацион до 43 % по сухому веществу

Исследования по использованию кормовой добавки с карбамидом были проведены на Московской селекционной станции. Для этого были сформированы три группы коров по восемь голов в каждой. Продолжительность опыта 89 дней. Основу рациона составляли кукурузный и вико-овсяной силос. Малокомпонентная кормовая добавка состояла из зерна ячменя – 83,8 %, семян рапса – 15 % и карбамида – 1,2 %. Первая группа дополнительно к объемистым кормам получала 8,7 кг кормовой добавки и 0,7 кг подсолнечникового жмыха, вторая группа – 4,8 кг кормовой добавки, 4,3 кг комбикорма и 0,5 кг подсолнечникового жмыха, третья группа только – 9,6 кг комбикорма. Содержание сырого протеина в комбикорме составляло 20,9 %, а в кормовой добавке – 18,9 %. Поскольку содержание сырого протеина в кормовой добавке было меньше, то для его выравнивания в рацион животных первой и второй групп включали подсолнечниковый жмых.

Состав и питательность рационов в опыте представлены в таблице 2. Потребление сухого вещества было максимальным (17,9 кг) у животных первой группы. Во второй группе, где коровы получали комбикорм и кормовую добавку, оно было самым низким и составило 17,3 кг. В третьей группе потребление сухого вещества рациона было выше, чем во второй группе и ниже чем в первой (17,5 кг). Содержание сырого жира в рационах возрастало по мере увеличения доли кормовой добавки в рационах.

Таблица 2. Рацион кормления коров в опытный период.

Показатели	Группа		
	1	2	3
Силос кукурузный, кг	25,2	23,7	24,6
Силос вико-овсяной, кг	15,2	13,6	14,6
Комбикорм, кг	-	4,3	9,6
Кормовая добавка, кг	8,7	4,8	-
Жмых подсолнечниковый, кг	0,7	0,5	-
Мел, г	50	40	-
Монокальцийфосфат, г	100	50	-
Премикс, г	100	50	-
Соль поваренная, г	120	60	-
В рационе содержится:			
сухое вещество, кг	17,9	17,3	17,5
органическое вещество, кг	16,64	15,99	15,98
обменная энергия, МДж	184,4	177,7	171,6
сырой протеин, г	2974	2947	2984
переваримый протеин, г	1897	1921	1977
сырая клетчатка, г	3469	3450	3757
сырой жир, г	864	736	613
Са, г	123	122	118
Р, г	84	85	87

В целом различия по содержанию питательных веществ рационов были незначительными и определялись, в основном, количеством потребленного корма.

Влияние рационов на молочную продуктивность коров оказалось различным (табл. 3). Коровы, получавшие малокомпонентную добавку (8,7кг) и подсолнечниковый жмых (0,7 кг) имели максимальную

Таблица 3. Молочная продуктивность коров за период опыта

Показатели	Группа		
	1	2	3
Надоемо молока за опыт, кг	2196	1983	1900
Среднесут. удой натур. молока, кг	24,7	22,3	21,3
Средний процент жира	3,60	3,67	3,60
Среднесут. удой 4 % молока, кг	22,2	20,5	19,2

продуктивность. Замена малокомпонентной добавки на комбикорм привела к снижению молочной продуктивности у коров второй группы на 9,7 % и у третьей – на 13,8 % по сравнению с первой. В пересчете на 4 % молоко эта разница составила соответственно 8,2 и 13,5 %. Жирность молока у коров была практически одинаковой. Среднесуточный прирост живой массы за опытный период у коров первой группы составил 222 г, у второй группы – 278 г и у третьей – 168 г.

На фоне научно-хозяйственного опыта на 9 коровах (по 3 головы в каждой группе) были проведены физиологические исследования по изучению влияния различного уровня малокомпонентной добавки на переваримость питательных веществ рационов (табл. 4).

Таблица 4. Переваримость питательных веществ рационов.

Группа	Коэффициент переваримости, %					
	СВ	СП	СК	СЖ	БЭВ	ОВ
1	67,63	64,95	53,68	81,52	75,28	70,44
2	67,27	65,18	54,46	76,27	77,27	70,08
3	65,65	65,90	52,29	75,68	75,12	68,05

Переваримость сухого вещества в первой и второй группах была практически одинаковой и уменьшилась в третьей группе на 2,9 – 2,4 %, сырого протеина увеличилась с 64,95 % в первой до 65,18 и 65,90 % во второй и третьей группах. Переваримость сырой клетчатки и БЭВ максимальной была у животных второй группы и несколько снижалась в первой и третьей группах. В целом переваримость органического вещества в первой и второй группах практически не различалась и была достаточно высокой (70,44-70,08 %), а в третьей группе оказалась на 3,4 относительных % ниже, чем в первой и второй группах.

Использование энергии изучаемых рационов коровами представлено в таблице 5.

Таблица 5. Использование обменной энергии рационов коровами.

Показатели	Группа		
	1	2	3
Обменная энергия, МДж	191,4	181,6	175,2
Энергия поддержания, МДж	50,8	52,6	63,0
Энергия пошедшая на синтез продукции, МДж	140,6	129,0	122,2
Энергия молока, МДж	76,6	67,8	64,8
Энергия прироста, МДж	4,4	5,6	3,4
Энергия всей продукции, МДж	81,0	73,4	68,2
Эффективность использования сверх-поддерживающей обменной энергии, %	57,61	56,90	55,81

За счет высокой поедаемости и лучшей переваримости коровы первой и второй групп потребляли обменной энергии на 16,2 и 6,4 МДж больше, чем животные третьей группы. Количество энергии, пошедшей на синтез продукции, максимальным было в первой группе, что на 11,6 и 18,4 МДж больше, чем у животных второй и третьей групп. Наиболее высокое количество энергии в полученной продукции было у животных первой группы и составило 81,0 МДж, что на 7,6 и 12,8 МДж больше, чем во второй и третьей группах. Главным показателем, характеризующим использование обменной энергии на продуктивные цели, является величина её затрат на синтез 1 МДж энергии в продукции. В опыте затраты сверхподдерживающей обменной энергии на синтез 1 МДж энергии в продукции в первой группе составили 1,74 МДж, во второй – 1,76 МДж и в третьей – 1,79 МДж. По мере увеличения малокомпонентной кормовой добавки в рационах коров второй и первой групп затраты её на синтез 1 МДж энергии продукции уменьшаются. В результате эффективность использования сверхподдерживающей обменной энергии на производство продукции в первой группе составила 57,6, во второй – 56,9 и в третьей – 55,8 %. Следовательно, замена комбикорма малокомпонентной кормовой добавкой способствовала улучшению использования питательных веществ рационов коровами и повышению их продуктивности.

Данные по затратам питательных веществ на единицу продукции представлены в таблице 6.

Таблица 6. Затраты питательных веществ на 1 кг молока при замене комбикорма на малокомпонентную кормовую добавку

Показатели	Группа		
	1	2	3
Сухое вещество, кг	0,72	0,78	0,82
Обменная энергия, МДж	7,46	7,97	8,06
Сырой протеин, г	120	132	140
Переваримый протеин, г	79	86	93
Концентраты, г	381	430	450

Затраты питательных веществ на 1 кг натурального молока самыми высокими оказались в группе коров, получавших с рационом комбикорм. В первой группе коров, получавших малокомпонентную кормовую добавку и подсолнечниковый жмых, затраты были самыми низкими. У животных, получавших с рационом комбикорм и малокомпонентную кормовую добавку, эти показатели занимали промежуточное положение. Затраты сухого вещества обменной энергии, сырого протеина, переваримого протеина и концентратов во второй и третьей группах были на 8,3, 13,9, 6,8, 8,0, 10,0 и 16,7, 8,9, 17,7, 12,9 и 18,1 % выше, чем в первой группе. Стоимость концентратной части рациона вместе с минеральными добавками и премиксами в первой и второй группах составила 21,0 и 23,61 рубля, а в третьей – 25,44 рубля. В расчете на центнер молока эти показатели были равны 87,0, 105,87 и 119,34 рубля соответственно.

ЛИТЕРАТУРА

1. Росляков Ю.И. Технология и оборудование для экструдирования. Комби кормовая промышленность, 1977, № 5: 23-29.
2. Kozłowska H. Elko wiez K., Lossow B. The effect of texturing on some biologically active compounds in soy abcon and repressed flours. Asta alimend pol. 1983. 9, 1-4: 15-21.
3. Denain P. Lextrusion a see : effects et iteret en alimentation, son application a la groine de soja. Rev. Med. Veter. 1986, 137, 6: 409-416.
4. Haythornthwate A. Extrusion as a tool for improved nutritional Value of feeds. Feed Compounder, 1986, 6, 11: 15 – 19.

**ВЛИЯНИЕ СОДЕРЖАНИЯ СУХОГО ВЕЩЕСТВА, САХАРА
И ЭПИФИТНЫХ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ
НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОНСЕРВИРОВАНИЯ ТРАВ
НОВЫМИ БАКТЕРИАЛЬНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ**

Ю.А. Победнов
ВНИИ кормов

Основным отличием процессов силосования трав с низким и высоким содержанием сухого вещества служит то, что в последнем случае происходит как бы сдвиг важнейших микробиологических и биохимических процессов во времени, то есть период максимального размножения молочнокислых бактерий и накопления молочной кислоты в силосе из трав с высоким содержанием сухого вещества начинается значительно позднее (Крукланде и др., 1975, Мишустин, Переверзева, 1976). Это объясняется тем, что процесс подкисления проявленных трав обеспечивают только осмоотолерантные штаммы молочнокислых бактерий (Мишустин, Лапотышкин, 1974), которых очень мало в составе эпифитной микрофлоры (Богданов, Привало, 1983, Чуканов, Попенко, 1986). Задержка молочнокислого брожения в самом начале силосования проявленных трав и, следовательно, медленное их подкисление приводит к развитию нежелательных бактерий (маслянокислых, энтеробактерий, а при избытке сахара – дрожжей), что способствует увеличению потерь питательных веществ и снижению качества корма по продуктам брожения (Победнов, 1988).

Чтобы избежать этого, следует ускорить подкисление проявленных трав с тем, чтобы уже через трое суток рН массы достигла значения 4,3 и ниже. С этой целью как в нашей стране, так и за рубежом уже разработаны новые бактериальные препараты, созданные на основе осмоотолерантных штаммов молочнокислых бактерий. К ним относятся, например, препарат Биотроф, выпускаемый одноименной компанией в Санкт-Петербурге, препарат Кофасил-Лак, производимый фирмой ADDCON Agrar GmbH в ФРГ и другие, которые находят все большее распространение в практике силосования. Следует, однако, отметить, что эффективность указанных препаратов зависит от целого ряда факторов, которые необходимо учитывать при их практическом применении. Прежде всего, на эффективность использования новых бактериальных препаратов значительное влияние оказывает содержание сухого вещества в силосуемой массе. Об этом свидетельствует выявленная нами тесная зависимость между содержанием сухого вещества в силосуемой массе (х) и разницей рН в контрольных и приготовленных с добавкой новых бактериальных препаратов силосах (у) через трое суток силосования (рис.1). Из графиков рис. 1 отчетливо следует, что при силосовании обеспеченных сахаром свежескошенных трав с относительно невысоким содержанием сухого вещества (20 % и менее), хорошо адаптированных к условиям брожения эпифитных молочнокислых бактерий в большинстве

случаев хватает для достаточно быстрого подкисления корма. Этим и объясняется небольшой эффект или даже его отсутствие при внесении бактериальных препаратов в силосуемую массу свежескошенных трав, что, по существу, делает малоперспективной разработку препаратов молочнокислых бактерий для такого сырья.

Увеличение эффекта от их внесения по мере повышения содержания сухого вещества в силосуемой массе как раз-таки и указывает на имеющийся дефицит осмоотолерантных штаммов молочнокислых бактерий в составе эпифитной микрофлоры, который при использовании указанных препаратов полностью устраняется. Наши опыты показали (рис.2), что наибольшая разница рН между контрольным и приготовленным с добавкой новых бактериальных препаратов силосом через трое суток силосования, то есть максимальное ускорение подкисления силосуемого сырья отмечается при содержании в последнем 30-45 % сухого вещества.

Вторым не менее важным условием, обеспечивающим высокую эффективность новых бактериальных препаратов, является сахаро-буферное отношение в силосуемой массе. Это, как уже отмечалось, связано с необходимостью быстрого подкисления провяленных трав до рН 4,3 и ниже, то есть до предела, обеспечивающего подавление жизнедеятельности всех нежелательных бактерий. Из данных таблицы 1 следует, что как при силосовании провяленных до содержания сухого вещества 30-35 % трав, так и при их сенажировании (45 % сухого вещества и более) это достигается при сахаро-буферном отношении в травах не менее 1,5.

Таблица 1. Степень подкисления обычного и приготовленного с добавкой препарата Биотроф силоса и сенажа в зависимости от сахаро-буферного отношения в исходной массе

Сахаро- буферное отношение в массе	Содержание сухого вещества, %		рН			
	в силосуемой массе	в сенажируемой массе	силоса		сенажа	
			без доба- вок	с Биотроф	без доба- вок	с Биотроф
0,45	37,7	63,7	5,07	4,64	5,72	5,12
0,79	35,3	55,0	4,71	4,15	5,90	4,40
1,00	38,8	63,7	4,65	4,35	5,99	4,53
1,07	28,5	53,1	4,63	4,37	5,88	4,58
1,44	31,3	46,8	4,35	3,85	5,56	3,90
1,56	37,5	50,9	4,68	3,96	5,26	4,05
1,62	38,0	59,7	4,32	4,07	5,57	4,28
2,85	-	56,9	-	-	5,47	4,11
3,93	30,4	42,0	4,00	3,65	5,45	3,67
5,10	38,2	51,2	4,33	4,01	5,76	4,15

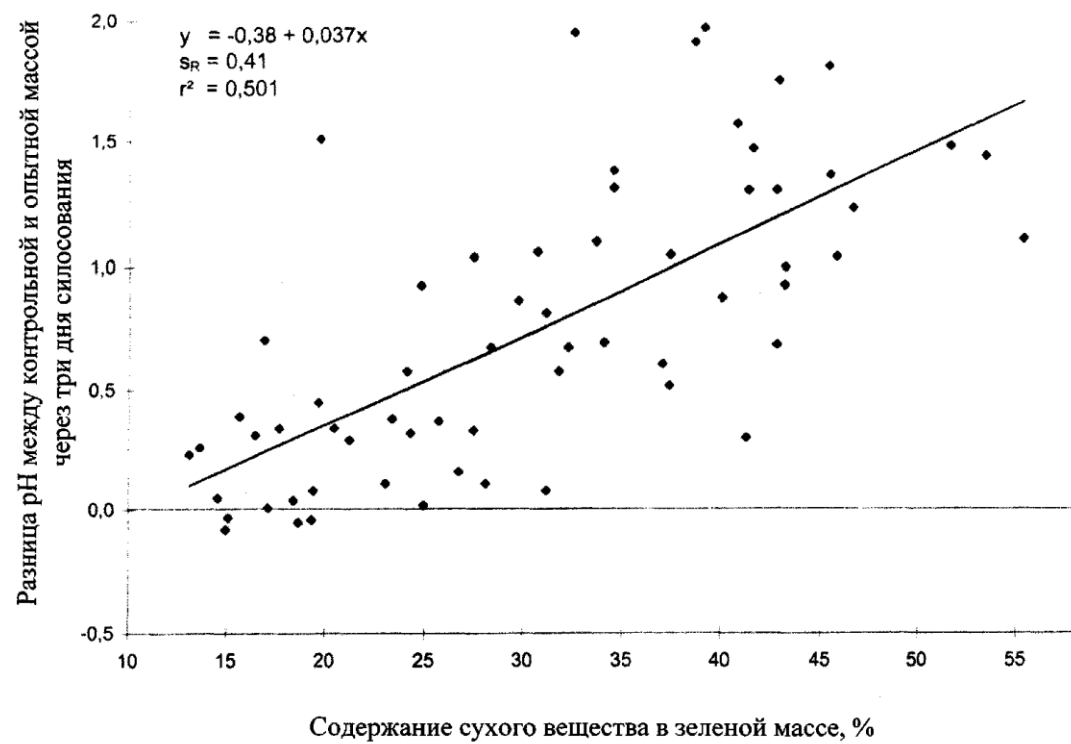


Рис.1. Эффективность применения бактериальных препаратов в зависимости от содержания сухого вещества в силосуемой массе

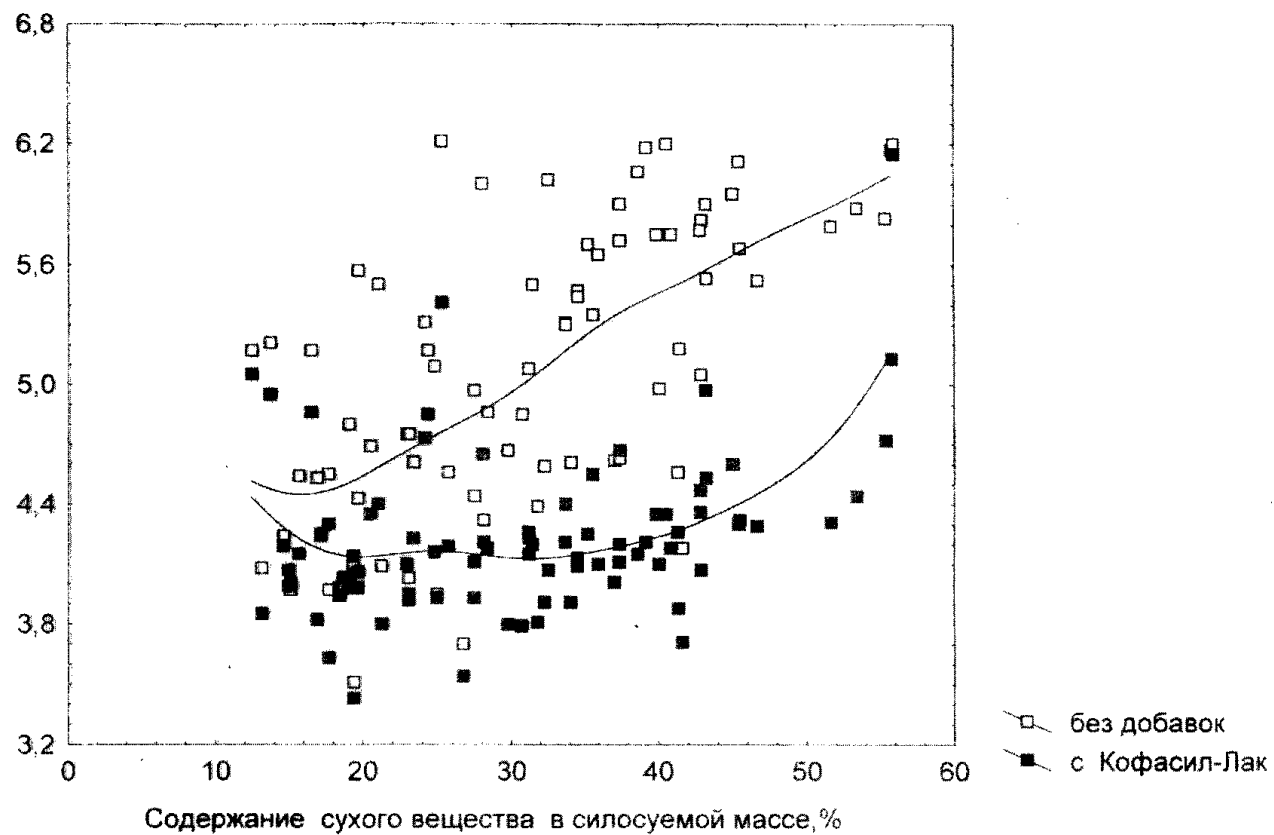


Рис. 2 Влияние препарата Кофасил-Лак на уровень подкисления массы в зависимости от содержания в ней сухого вещества

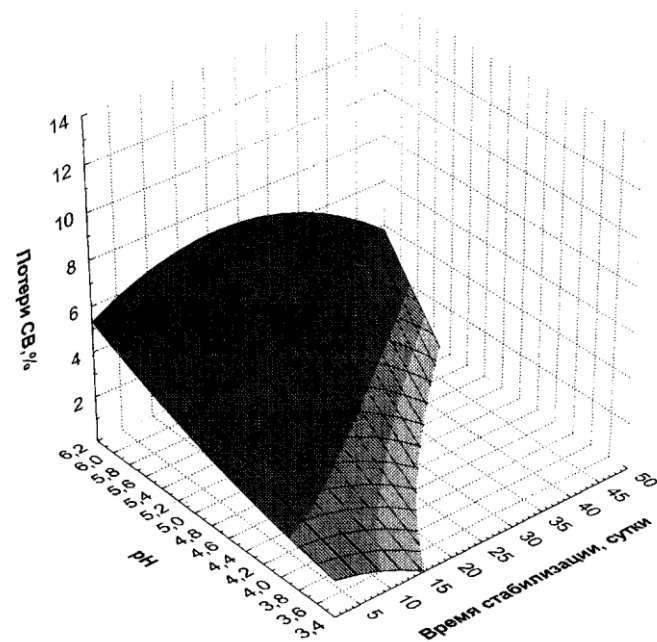


Рис. 3. Взаимосвязь величины потерь от аэробной порчи с активной кислотностью и временем стабилизации сенажа ($n=21$, $R=0,60$)

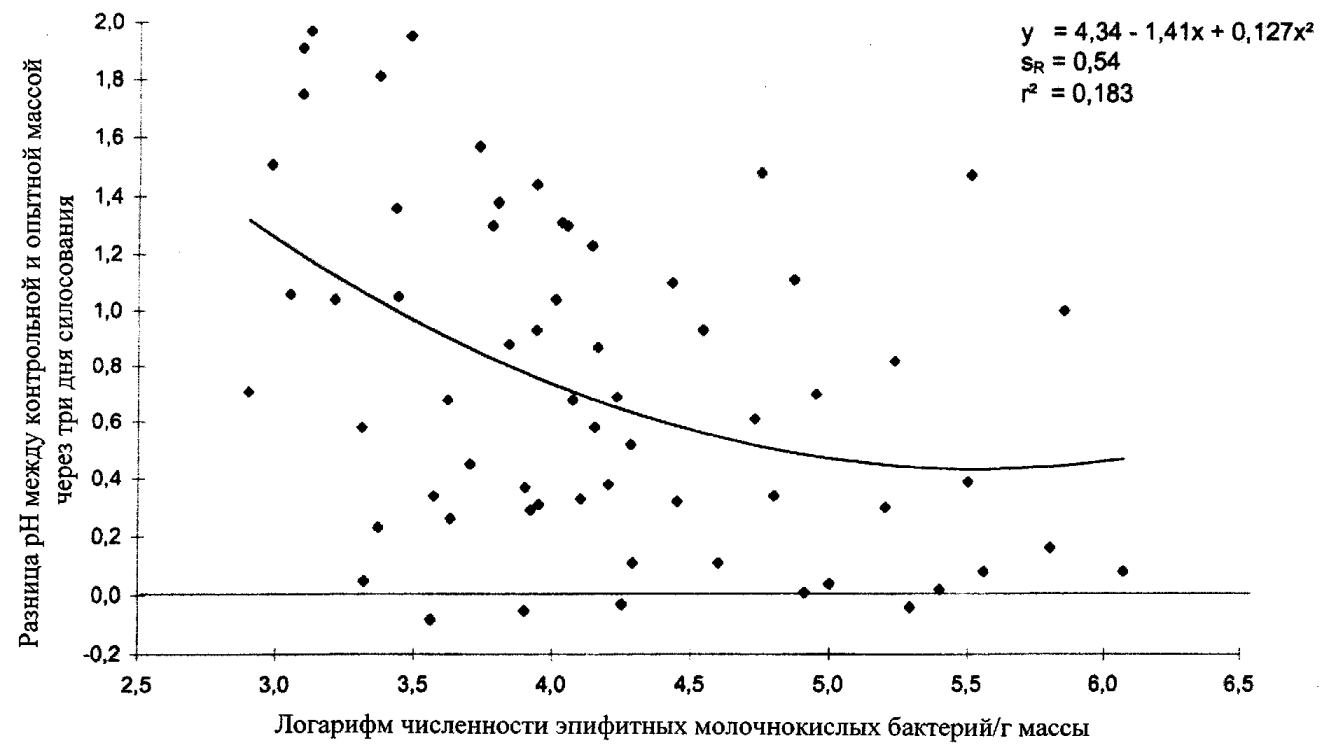


Рис. 4. Эффективность применения бактериальных препаратов при силосовании трав в зависимости от численности эпифитных молочнокислых бактерий.

Однако, если в силосуемой массе (30-35 % сухого вещества) с сахаро-буферным отношением 1,5 и выше ее активная кислотность (рН) под влиянием внесенного препарата, через трое суток силосования уже достигает значения 4,3 и ниже (практически всегда), то в сенажируемой массе это отмечается лишь при сахаро-буферном отношении около 3,0 (Победнов, 2003). Но при сенажировании скорость подкисления массы уже не имеет такого принципиального значения, как при ее силосовании, поскольку жизнедеятельность нежелательной микрофлоры в этом случае сдерживается в основном дефицитом влаги в растительных клетках. И в этой связи резонно возникает вопрос о целесообразности стимулирования молочно-кислого брожения в сенажируемой массе. Имеющиеся к настоящему времени сообщения как раз - таки и свидетельствуют о нецелесообразности этого приема (Чуканов, Попенко, 1986).

Между тем уже достаточно хорошо известно, что сенаж очень восприимчив к так называемой "аэробной порче", что обуславливает его быстрое самосогревание и плесневение в процессе выемки из хранилищ. И именно применение новых бактериальных препаратов позволяет в значительной степени устранить этот крайне нежелательный процесс. Из графика рис. 3 следует, что чем интенсивнее и продолжительнее по времени протекает молочнокислое брожение в сенажируемых травах, а, следовательно, чем сильнее они подкисляются и в большей мере сбраживается содержащийся в них сахар, тем большую стабильность приобретает корм при хранении на воздухе. Следовательно, и при сенажировании трав использование новых препаратов молочнокислых бактерий следует рассматривать как эффективный технологический прием, направленный на повышение аэробной стабильности полученного корма. При этом важно отметить, что аэробная стабильность сенажа заметно возрастает и в том случае, когда корм под влиянием внесенных препаратов не подкисляется до рН 4,3 и ниже, как это отмечается, например, при сенажировании, люцерны. Это означает, что определяющим фактором, способствующим повышению аэробной стабильности этого вида корма, является быстрое расходование содержащегося в массе сахара.

Выше мы уже отмечали заметную зависимость эффективности новых препаратов молочнокислых бактерий от содержания сухого вещества в силосуемой массе. Возвращаясь к графику рис. 1, можно заметить, что в отличие от средних значений эффект от внесения препарата молочнокислых бактерий в каждом конкретном случае имеет большие колебания. Основной причиной этого явления служит естественная обсемененность зеленой массы эпифитными молочнокислыми бактериями, о чем свидетельствует имеющаяся прямая связь между логарифмом численности эпифитных молочнокислых бактерий (х) и разницей рН в обычной и приготовленной с добавкой бактериального препарата массе через трое суток силосования. Графически и математически эта зависимость отражена на рис. 4. Из гра-

фика рис. 4 следует, что если логарифм численности эпифитных молочнокислых бактерий в 1 г массы составляет 3 и менее, то при применении бактериального препарата отмечается довольно сильное ускорение подкисления корма, однако, при логарифме численности эпифитных молочнокислых бактерий 5 и более, оно заметно снижается. Это обусловлено тем, что активность роста у молочнокислых бактерий, взятых как со свежескошенных, так и с провяленных трав, на среде с высоким осмотическим давлением отчетливо зависит от их исходной численности на растительных покровах (табл.2).

При содержании в 1 г зеленой массы 10^5 и более эпифитных молочнокислых бактерий способность к росту на среде с высоким осмотическим давлением проявляют до 80 % и более микроорганизмов, в то время как при содержании в 1 г массы 10^3 молочнокислых бактерий – всего лишь около 60%.

Это означает, что при содержании в 1 г массы в количестве 10 и более микроорганизмов, свыше 80 % их обладают повышенной устойчивостью к высокому осмотическому давлению в растительных тканях, что способствует ускорению молочнокислого брожения и при обычном силосовании провяленных трав, тем самым снижая эффективность применения новых бактериальных препаратов.

Таблица 2. Активность роста молочнокислых бактерий, взятых со свежескошенных и провяленных трав, на среде с высоким осмотическим давлением

№ опытов	Численность эпифитных молочнокислых бактерий, lg/г массы					
	свежескошенной (13,1-19,4 % СВ)			Провяленной (39,1-43,2% СВ)		
	Рогоза-агар	Рогоза-агар +10% KCl	%	Рогоза-агар	Рогоза-агар +10% KCl	%
1	5,50	4,22	76,7	5,85	5,10	87,2
2	6,07	5,64	92,9	5,51	5,03	91,3
3	5,29	4,04	76,4	5,20	4,53	87,1
4	3,00	2,00	66,7	3,12	2,00	64,1
5	3,37	2,00	59,3	3,79	2,39	63,2

Таким образом, на эффективность использования новых бактериальных препаратов при силосовании провяленных трав оказывают существенное влияние следующие три основных фактора: содержание сухого вещества в силосуемой массе, ее сахаро-буферное отношение и исходная численность эпифитных молочнокислых бактерий на растительных покровах.

Определяющее значение имеют содержание сухого вещества, которое должно находиться в пределах 30-45 %, и сахаро-буферное отношение в зеленой массе, которое должно быть не ниже 1,5. При меньшем сахаро-буферном отношении новые препараты молочнокислых бактерий,

вследствие дефицита сахара, уже не обеспечивают ее быстрое подкисление до pH 4,3 и ниже, а, следовательно, и стабильность силоса при хранении.

Меньшее значение на сохранность и качество полученного корма оказывает исходная численность эпифитных молочнокислых бактерий на растительных покровах. Однако при очень высокой численности эпифитных молочнокислых бактерий (10^5 и более в 1 г массы) эффективность использования новых бактериальных препаратов снижается.

ЛИТЕРАТУРА

1. Богданов Г.А., Привало О.Е. Сенаж и силос. М., 1983: 319с.
2. Крукланде М, Иевиня Е., Янсоне Б. Микробиологические и биохимические процессы в сенаже и силосе из злаковых трав. Проблемы кормления и разведения сельскохозяйственных животных. Елгава, 1975: 31-34.
3. Мишустин Е.Н., Переверзева Г. И. Микробиологические процессы при созревании сенажа. Научные основы консервирования растительных кормов. М., 1976: 6-20.
4. Мишустин Е.Н., Лапотышкин Р.А. Микробиологические процессы при созревании сенажа. Изв. АН СССР. Сер. биол. 1974, 2: 157-161.
5. Победное Ю.А. Теоретические аспекты силосования провяленных трав. Кормопроизводство. 1998, 8: 21-25.
6. Победнов Ю.А. Теоретическое обоснование и разработка способов приготовления энергонасыщенных высокопротеиновых силосованных кормов на основе регулирования микробиологических процессов. Дисс... д.с.-х. наук. М., 2003: 296 с
7. Чуканое Н.К., Попенко А.К. Микробиология консервирования трудносиликующихся растений. Алма-Ата, 1986: 198с.

К ВОПРОСУ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БАКТЕРИЙ ВИДА *BACILLUS SUBTILIS* ПРИ СИЛОСОВАНИИ ТРАВ

Ю.А. Победнов, А.А. Мамаев
ВНИИ кормов

Еще недавно предложение об использовании культуры *Bacillus subtilis* при силосовании трав было бы воспринято многими исследователями как нонсенс. И действительно, ведь эти бактерии относятся к группе аэробов, в клетках которых образуются протеолитические ферменты, разлагающие белки, на основании чего их с полным правом можно отнести к гнилостным бактериям – возбудителям наиболее опасного вида порчи пищевых и кормовых продуктов. Но так ли это на самом деле?

Имеющиеся к настоящему времени данные показывают, что из аэробов, кроме *Bacillus subtilis*, белки разлагают *Proteus vulgaris*, различные вибрионы, *Bacillus mycoides*, *Bacillus mesentericus* и другие (Пастер, 1937). Но эти микроорганизмы, воздействуя на белок, только

пептонизируют его, то есть, в отличие от анаэробных гнилостных бактерий (*Bacillus putrificus*, *Bacillus perfringens* и другие), они не являются аммонификаторами и, стало быть, не способствуют расщеплению белка до его конечного продукта - аммиака.

Немаловажно и то, что, несмотря на свою принадлежность к группе аэробов, бактерии *Bacillus subtilis* даже при выращивании на питательной среде всегда проявляют склонность к анаэробизму (Мирзоева, 1959). Это и создает основную предпосылку для их успешного использования в практике силосования.

У. Вуд (1963) считает, что данный вид микроорганизмов способен с одинаковым успехом вызывать брожение как в аэробных, так и в анаэробных условиях. По его данным, *Bacillus subtilis* (штамм Марбург), развиваясь в анаэробных условиях на полноценной питательной среде, вызывал гомоферментативное молочнокислое брожение; в аэробных условиях дополнительно продуцировал уксусную кислоту, ацетон и углекислоту. Это означает, что при использовании культуры *Bacillus subtilis*, равно как и при применении препаратов молочнокислых бактерий, соблюдение основных правил силосования должно быть неукоснительным.

Важной характерной особенностью этого вида бактерий является их способность гидролизировать крахмал и сбраживать глюкозу и ксилозу с образованием органических кислот, главным образом молочной (Киров и др., 1982). Однако оптимум pH, обеспечивающий активность амилазы *Bacillus subtilis*, находится в пределах 5,2-6,4 (Роджерс, 1963), что открывает возможность использования данных бактерий при силосовании, прежде всего, трудносилосующихся растений с недостаточным для их нормального заквашивания содержанием сахара, а, главное, с высокой буферностью, замедляющей их подкисление.

К теоретической предпосылке использования бактерий *Bacillus subtilis* для регулирования микробиологических процессов при силосовании следует отнести и их способность продуцировать целый ряд антибиотиков. Еще Мирзоева (1959) отмечала ярко выраженную бактериолитическую активность этой группы микроорганизмов по отношению к патогенным микробам. Причем, *Bacillus subtilis* оказывала губительное влияние не только на относительно беззащитные пневмококки, тифозные и дифтерийные палочки, но и на высокоустойчивые споровые формы, какими являются возбудители сибирской язвы и туберкулеза. Немаловажно и то, что антибиотики *Bacillus subtilis* подавляли развитие клостридий.

В 1990 году (Loeffler u.a., 1990) был расшифрован спектр антибиотиков, продуцируемых микроорганизмами этой группы. К ним относятся бацилизин и хлоротетраин, подавляющие рост как бактерий, так и грибов, а также ризоктицин, итурин, микобациллин и фенгимицин, преимущественно ингибирующие рост грибов. Продуцирование широ-

кого спектра антибиотиков фунгицидного действия дает основание предполагать, что культура *Bacillus subtilis* одновременно будет оказывать значительное консервирующее действие и при силосовании высокосахаристого сырья, включая кукурузу, на котором препараты молочнокислых бактерий либо не эффективны, либо даже оказывают негативный результат, приводя к ухудшению аэробной стабильности полученного корма.

Исследования по изучению влияния культуры *Bacillus subtilis* на сохранность и качество полученного корма были начаты нами с установления необходимой дозы этих бактерий при силосовании. В опытах использовали культуру *Bacillus subtilis* (штамм 111) селекции Всероссийского НИИ сельскохозяйственной микробиологии (г. Санкт-Петербург), которую вносили из расчета 10^3 , 10^5 и 10^7 клеток жизнеспособных бактерий на 1 г силосуемой массы. Результаты показали (табл.1), что оптимальной дозой внесения *Bacillus subtilis*, как впрочем и молочнокислой культуры, является 10^5 бактерий на 1 г силосуемой массы. В этом случае обеспечивается максимальное сокращение распада питательных веществ до газообразных продуктов и наилучшее качество корма по продуктам брожения.

При уменьшении дозы внесения указанных микроорганизмов до 10^3 штук в расчете на 1 г силосуемой массы, их эффективность заметно снижается, в то время как увеличение дозы до 10^7 клеток бактерий на 1 г массы уже не дает дополнительного эффекта.

Таблица 1. Оптимальная доза внесения бактерий *Bacillus subtilis* при силосовании трав

Количество внесенных бактерий <i>Bacillus subtilis</i> на 1 г силосуемой массы	Количество выделившегося при силосовании газа, л/кг сухого вещества массы	рН	Содержание в сухом веществе корма, %			
			аммиака	органических кислот		
			молочной	уксусной	масляной	
Злаково-клеверная смесь (27,3 % сухого вещества)						
0	10,6	4,14	0,22	14,9	2,1	0,0
10^3	9,4	3,72	0,15	20,0	2,3	0,0
10^5	9,5	3,70	0,11	20,9	1,8	0,0
10^7	9,1	3,68	0,12	20,4	1,5	0,0
Козлятник (21,9 % сухого вещества)						
0	41,0	5,73	1,32	15,6	4,6	0,9
10^3	13,2	4,44	0,52	16,5	2,3	0,5
10^5	5,8	4,01	0,28	16,0	2,2	0,0
10^7	5,7	4,01	0,28	15,8	2,2	0,0
Клевер луговой (19,8 % сухого вещества)						
0	13,6	4,44	0,26	13,1	3,8	0,0
10^3	11,0	4,33	0,21	13,2	3,1	0,0
10^5	10,6	4,26	0,16	13,6	2,8	0,0
10^7	11,1	4,23	0,16	13,4	3,1	0,0

Следует, однако, отметить, что эффективность использования культуры *Bacillus subtilis* в значительной степени зависит от вида силосуемой массы, точнее от её силосуемости. При заготовке силоса из легкосилосующегося сырья, например злаково-клеверной смеси и клевера лугового 1-го укоса, влияние бактерий *Bacillus subtilis* на сокращение потерь питательных веществ от их распада до газообразных продуктов проявляется незначительно: количество выделившегося газа по сравнению с обычным силосованием сокращается всего в 1,1- 1,3 раза, хотя и в этом случае отмечается заметное улучшение качества корма по продуктам брожения. Прежде всего, следует указать на существенное (в 1,6-2,0 раза) сокращение образования аммиака в корме.

Однако при использовании трудносилосующихся трав (козлятник) эффективность использования культуры *Bacillus subtilis* по улучшению сохранности и качества корма заметно возрастает. В этом случае количество выделившегося газа по сравнению с обычным силосованием сокращается уже в 7 раз, что обусловлено полным устранением жизнедеятельности маслянокислых бактерий, являющихся основными газообразователями при ферментации трудно- и несилосующихся трав (Pahlow, 1991). Следовательно, как и предполагалось, эффективность использования культуры *Bacillus subtilis* значительно возрастает по мере ухудшения условий силосования, связанных с возникновением в корме нежелательных микробиологических процессов, прежде всего маслянокислого брожения.

Для изучения эффективности использования бактерий *Bacillus subtilis* при силосовании трав в зависимости от их сахаро-буферного отношения (силосуемости) и содержания сухого вещества было проведено несколько опытов. Силос готовили из однолетних и многолетних злаковых и бобовых трав одновидового состава и в виде смесей. Травы силосовали в свежескошенном, слабо- (30-35 % сухого вещества) и сильнопровяленном (45 % и более сухого вещества) виде обычным способом, с добавкой установленной дозы бактерий *Bacillus subtilis* и жидких органических кислот. В качестве последних использовали пропионовую, муравьиную кислоты, а также финский препарат АИВ-3 Плюс, включающий в себя 62 % муравьиной кислоты, 24 % формиата аммония, 14 % воды и 5 мг/кг коричневой краски, которые вносили в рекомендуемых дозах. Об эффективности вносимых препаратов судили по количеству выделившегося при силосовании газа в сравнении с обычным силосованием (сенажированием) и качеству полученного корма по продуктам брожения.

Результаты показали (табл.2), что при использовании культуры *Bacillus subtilis* максимальное ограничение объема выделившегося при

силосовании газа отмечалось на свежескошенных трудносилосующихся травах с сахаро-буферным отношением 1,1-2,0.

Таблица 2. Объем выделившегося газа и качество силоса из свежескошенных трав в зависимости от их сахаро-буферного отношения и способа консервирования

Силос	Объем выделившегося газа, л/кг сухого веще- ства массы	pH	Содержание в сухом веществе корма, %			
			аммиака	органических кислот		
				молочной	уксусной	масля- ной
Люцерна Луговая 67 (17,6 % СВ, сахаро-буферное отношение 0,7)						
без добавок	12,8	4,87	0,58	18,9	5,0	0,0
с <i>Vac.subtilis</i>	14,0	4,96	0,64	17,5	5,2	0,0
с 0,5% пропионо- вой кислоты	4,8	4,30	0,30	19,4	4,2	*
Козлятник (22,0 % СВ, сахаро-буферное отношение 1,1)						
без добавок	40,2	5,68	0,57	7,8	1,6	6,0
с <i>Vac.subtilis</i>	7,7	4,23	0,26	12,5	3,6	0,1
С 0,5% АИВ-3						
Плюс	3,5	4,00	0,29	11,3	3,5	0,0
Козлятник (16,4 % СВ, сахаро-буферное отношение 2,0)						
без добавок	42,1	5,96	1,34	13,4	4,4	4,7
с <i>Vac.subtilis</i>	6,5	4,58	0,45	13,1	3,3	0,0
с 0,5% муравьи- ной кислоты	0,6	3,56	0,15	7,7	7,1	0,0
Вико-овсяная смесь (16,2 % СВ, сахаро-буферное отношение 3,7)						
без добавок	11,0	3,84	0,13	16,4	1,9	0,1
с <i>Vac.subtilis</i>	9,5	3,86	0,02	15,9	2,3	0,0
с 0,5% АИВ-3						
Плюс	11,2	3,86	0,26	12,5	3,7	0,0
Райграс (18,4 % СВ, сахаро-буферное отношение 5,2)						
без добавок	19,4	3,77	0,12	15,6	1,3	0,0
с <i>Vac.subtilis</i>	8,0	3,57	0,06	17,2	1,5	0,0
с 0,5% АИВ-3						
Плюс	7,4	3,85	0,22	8,0	4,3	0,0
Райграс (22,2 % СВ, сахаро-буферное отношение 6,1)						
без добавок	15,2	3,84	0,09	13,4	1,7	0,0
с <i>Vac.subtilis</i>	8,3	3,54	0,00	12,5	2,0	0,0
с 0,5% АИВ-3						
Плюс	17,8	4,26	0,15	10,4	3,0	0,0

* В соответствии с ОСТ 10202-97 в силосе, законсервированном пропионовой кислотой и ее смесями с другими кислотами, массовую долю масляной кислоты не определяют.

На сырье с оптимальным для нормального заквашивания корма содержанием сахара (вико - овсяная смесь) эффективность этой культуры по сокращению количества выделившегося при силосовании газа заметно снижается, что уже обусловлено высокой сохранностью питательных веществ корма и при его спонтанном заквашивании. По

имеющимся данным (Bachmann и.а., 1981), для получения доброкачественного силоса из свежескошенной зеленой массы (15-20 % сухого вещества) ее сахаро-буферное отношение должно быть около 4,0.

На травах с избыточным содержанием сахара (райграс) эффективность использования культуры *Bacillus subtilis* снова начинает возрастать. И в этом случае она уже не только не уступает, но, в отдельных случаях, даже превосходит жидкие органические кислоты. Последнее может быть объяснено лишь продуцированием этой культурой антибиотиков с выраженным фунгицидным действием, ограничивающих жизнедеятельность дрожжей. В то же время на свежескошенных несилозующихся травах (люцерна) с низким содержанием сухого вещества (17,6 %) использование культуры *Bacillus subtilis* нецелесообразно. При силосовании такого сырья она уже не оказывала никакого влияния ни на размер потерь питательных веществ от их распада до газообразных продуктов, ни на качество полученного корма по продуктам брожения.

По мере повышения содержания сухого вещества в зеленой массе до 30-35 % эффективность использования культуры *Bacillus subtilis* по ограничению объема выделившегося при силосовании газа также оставалась достаточно высокой, хотя и заметно снижалась по сравнению со свежескошенной массой (табл.3). Это обусловлено тем, что при заготовке силоса из проявленных до указанного содержания сухого вещества трав интенсивность распада питательных веществ до газообразных продуктов заметно снижается и при их обычном силосовании.

Последнее связано с ослаблением жизнедеятельности нежелательных при силосовании бактерий, прежде всего гнилостных и маслянокислых (Колесников, 1975). Минимальное сокращение объема выделившегося газа (в 1,1-1,2 раза) наблюдалось при силосовании проявленных трав с сахаро-буферным отношением 0,7-1,0, то есть на несилозующихся растениях. Но и в этом случае корм под влиянием внесенной культуры *Bacillus subtilis* успешно заквашивался до pH 4,27-4,36. Имеющиеся данные показывают (Победнов, 2003), что подкислить проявленную до содержания сухого вещества 30 % и более массу с таким сахаро-буферным отношением до указанного предела кислотности вследствие дефицита сахара не удастся даже при использовании препаратов, созданных на основе осмоотолерантных штаммов молочнокислых бактерий. Следовательно, такое сильное подкисление люцерны и смеси вики луговой с тритикале уже не может быть объяснено одним только усилением молочнокислого брожения за счет более эффективного использования бактериями вида *Bacillus subtilis* содержащегося в растениях сахара.

Таблица 3. Объем выделившегося газа и качество силоса из проявленных трав в зависимости от их сахаро-буферного отношения и способа консервирования

Силос	Объем выделив- шегося газа, л/кг сухого вещества массы	рН	Содержание в сухом веществе корма, %			
			аммиака	органических кислот		
				молочной	уксусной	масля- ной
Люцерна Луговая 67 (34,4 % СВ, сахаро-буферное отношение 0,7)						
Без добавок	8,5	4,50	0,25	18,7	3,5	0,0
с <i>Vac.subtilis</i>	6,9	4,36	0,16	18,9	2,9	0,0
с 0,5% про- пионовой кислоты	3,7	4,15	0,07	20,7	2,3	*
Вика луговая + тритикале (23,9 % СВ, сахаро-буферное отношение 1,0)						
без добавок	8,5	4,40	0,54	17,7	3,0	0,3
с <i>Vac.subtilis</i>	7,8	4,27	0,48	16,9	3,3	0,0
с 0,5% АИВ-3						
Плюс	1,4	4,15	0,34	11,3	4,2	0,0
Козлятник (30,2 % СВ, сахаро-буферное отношение 2,0)						
без добавок	6,9	4,77	0,30	10,7	2,5	0,0
с <i>Vac.subtilis</i>	3,6	4,08	0,10	10,9	1,9	0,0
с 0,5% му- равьиной ки- слоты	0,2	3,98	0,17	4,9	5,1	0,0
Злаковая смесь (33,4 % СВ, сахаро-буферное отношение 3,4)						
без добавок	6,7	4,64	0,16	11,3	1,9	0,0
с <i>Vac.subtilis</i>	3,4	3,60	0,01	12,4	1,2	0,0
с 0,5% АИВ-3						
Плюс	1,3	4,39	0,14	6,1	2,9	0,0
Злаковая смесь + лядвенец рогатый (36,3 % СВ, сахаро-буферное отношение 5,6)						
без добавок	7,9	4,73	0,06	11,7	1,8	0,0
с <i>Vac.subtilis</i>	4,2	3,70	0,03	10,2	1,5	0,0
с 0,5% АИВ-3						
Плюс	0,2	3,79	0,03	3,8	3,7	0,0
Райграс (36,2 % СВ, сахаро-буферное отношение 6,1)						
без добавок	20,8	4,82	0,06	12,5	0,7	0,0
с <i>Vac. subtilis</i>	7,6	3,77	0,00	10,9	1,1	0,0
с 0,5% АИВ-3						
Плюс	1,9	4,43	0,10	6,0	2,9	0,0

**В соответствии с ОСТ 10202-97 в силосе, законсервированном пропионовой кислотой и ее смесями с другими кислотами, массовую долю масляной кислоты не определяют.*

Выше мы уже упоминали способность *Bacillus subtilis* выделять фермент амилазу, расщепляющий крахмал до простых сахаров с последующим сбраживанием последних в органические кислоты. По нашему мнению, именно с этим и связано некоторое увеличение объема выде-

лившегося газа при силосовании с добавкой этой культуры проявленных трав с очень низким сахаро-буферным отношением.

Однако на проявленных травах с сахаро-буферным отношением 2,0 и более объем выделившегося при силосовании газа сокращается уже в 1,9-2,7 раза. Это объясняется тем, что продуцируемый бактериями *Bacillus subtilis* фермент амилаза подвергается катаболической репрессии, то есть его синтез подавляется, если в окружающей среде присутствуют источники углерода и энергии, которые метаболизируются быстрее, чем субстраты этого фермента (Стейниер и др., 1979). Поэтому при достаточном содержании сахара в силосуемой массе содержащийся в ней крахмал уже не расщепляется ферментом амилазой, а, следовательно, не происходит и дополнительного сбраживания образовавшихся при этом сахаров, связанного с увеличением количества образовавшегося при силосовании газа.

Жидкие органические кислоты оказали большее, нежели культура *Bacillus subtilis*, влияние на повышение сохранности и качества силоса из проявленных трав по продуктам брожения и были одинаково эффективны при любом сахаро-буферном отношении в силосуемом сырье.

Очень слабо изученным на сегодняшний день является вопрос, связанный с целесообразностью использования новых биологических препаратов при сенажировании трав. По мнению некоторых авторов (Чуканов, Попенко, 1986), активизировать процесс брожения в этом виде корма нежелательно, так как он сохраняется не за счет своей активной кислотности, а так называемой “физиологической сухости” массы. Между тем, уже хорошо известно, что серьезным недостатком сенажа является его большая предрасположенность к аэробной порче, способствующей быстрой порче корма при его неудовлетворительном укрытии в процессе хранения, а также при выемке из силосохранилищ (Бойко, 1973, Михеев, 1978, Мартынов, 1984). Выполненные во ВНИИ кормов им. В.Р. Вильямса исследования показали (Победнов, 2003), что существенно повысить аэробную стабильность сенажа можно за счет резкой активизации в нем молочнокислого брожения, обуславливающего подкисление корма до pH 4,3 и ниже. Это достигается за счет использования препаратов, созданных на основе осмоотолерантных штаммов молочнокислых бактерий. Насколько подкисляется сенажируемая масса под влиянием бактерий вида *Bacillus subtilis* и какова величина потерь питательных веществ от их разложения до газообразных продуктов дают представление данные таблицы 4. Из данных этой таблицы следует, что культура *Bacillus subtilis* выгодно отличается от препаратов, созданных на основе осмоотолерантных штаммов молочнокислых бактерий, обеспечивая подкисление сенажируемой массы до pH 4,3 и ниже независимо от ее сахаро-буферного отношения. В то же время, препарат Биотроф, например, обеспечивает такое подкисление сенажи-

руемых трав только при их сахаро-буферном отношении не менее 1,5 (Победнов, 2002).

Таблица 4. Объем выделившегося газа и качество сенажа по продуктам брожения в зависимости от сахаро-буферного отношения зеленой массы и способа приготовления

Сенаж	Объем вы- делившего- ся газа, л/кг сухого ве- щества мас- сы	рН	Содержание в сухом веществе корма, %			
			аммиака	органических кислот		
				молочной	уксусной	масля- ной
Люцерна Луговая 67 (50,1 % СВ, сахаро-буферное отношение 0,7)						
без добавок	1,7	5,35	0,09	17,0	3,5	0,0
с <i>Vac.subtilis</i>	4,2	4,28	0,05	16,6	2,3	0,0
с 0,5% про- пионовой кислоты	1,5	4,69	0,05	15,8	1,6	*
Козлятник (53,5 % СВ, сахаро-буферное отношение 1,1)						
без добавок	2,8	5,57	0,10	8,0	0,6	0,2
с <i>Vac.subtilis</i>	5,2	4,32	0,05	8,3	1,4	0,0
с 0,5% АИВ- 3 Плюс	0,9	4,87	0,11	5,5	1,9	0,0
Злаковая смесь (45,0 % СВ, сахаро-буферное отношение 3,4)						
без добавок	3,1	5,69	0,06	9,0	1,6	0,0
с <i>Vac.subtilis</i>	3,0	3,77	0,00	11,1	1,0	0,0
с 0,5% АИВ- 3 Плюс	0,6	4,64	0,11	4,2	3,6	0,0
Райграс (51,6 % СВ, сахаро-буферное отношение 5,2)						
без добавок	7,7	5,63	0,04	8,3	1,0	0,0
с <i>Vac.subtilis</i>	6,3	3,94	0,02	9,1	1,0	0,0
с 0,5% АИВ- 3 Плюс	0,6	4,64	0,08	5,3	2,3	0,0
Злаковая смесь + лядвенец рогатый (51,3 % СВ, сахаро-буферное отношение 5,6)						
без добавок	2,8	5,36	0,04	11,5	1,7	0,0
с <i>Vac.subtilis</i>	0,2	3,84	0,02	8,4	1,5	0,0
с 0,5% му- равьиной кислоты	0,4	4,03	0,02	3,9	2,8	0,0
Райграс (43,1 % СВ, сахаро-буферное отношение 6,1)						
без добавок	16,4	5,42	0,02	9,8	1,0	0,0
с <i>Vac.subtilis</i>	6,4	3,83	0,00	10,0	1,2	0,0
с 0,5% АИВ- 3 Плюс	1,2	4,50	0,09	5,0	2,8	0,0

**В соответствии с ОСТ 10202-97 в силосе, законсервированном с пропионо-
вой кислотой и ее смесями с другими кислотами, массовую долю масляной кислоты не
определяют.*

При низком сахаро-буферном отношении (1,1 и менее) культура *Bacillus subtilis* приводила к некоторому увеличению объема выделив-

шегося при ферментации газа, что, очевидно, будет способствовать даже некоторому увеличению потерь питательных веществ. Как и в случае с проявленными травами, это обусловлено тем, что под влиянием продуцируемого бактериями фермента амилазы происходит расщепление крахмала с последующим дополнительным сбраживанием образовавшихся простых сахаров. При относительно высоком сахаро-буферном отношении (3,4 и выше) объем выделившегося при ферментации газа заметно снижается. В то же время, при внесении в сенажируемую массу жидких органических кислот корм подкислялся в значительно меньшей степени, чем под влиянием *Bacillus subtilis*.

Это, очевидно, объясняется необоснованностью рекомендуемых доз их внесения в массу с очень высоким содержанием сухого вещества. М.Т.Таранов с соавторами (1984), проводя опыты с люцерной, установили, что при содержании в массе более 31 % сухого вещества для ее успешного консервирования следует повышать дозу химических препаратов на 0,8 % в расчете на каждый процент увеличения содержания сухого вещества. Однако и при слабом подкислении эффект от использования жидких органических кислот, особенно при сенажировании высокосахаристого сырья, проявлялся довольно отчетливо.

При оценке эффективности тех или иных препаратов, наряду со снижением потерь питательных веществ и повышением качества корма по продуктам брожения, не менее важное значение имеет и устранение процесса вторичной ферментации, а также аэробной порчи корма в процессе выемки его из хранилищ. Эти потери все еще велики и подчас не уступают потерям питательных веществ в процессе анаэробной ферментации массы (Зафрен С.Я., 1970, Grawskaw, 1987, 1988).

Наши исследования показали (табл. 5), что внесение культуры *Bacillus subtilis*, например, при сенажировании трав, приводит к заметному ограничению аэробной порчи корма в процессе его семисуточного хранения на воздухе при температуре + 30°C. Причем наибольшее сокращение потерь питательных веществ отмечается при сенажировании трав с относительно высоким (более 3,0) сахаро-буферным отношением. И по этому показателю культура *Bacillus subtilis* практически не уступает жидким органическим кислотам.

При сенажировании же трав с низким сахаро-буферным отношением (0,4-2,0) потери питательных веществ от аэробной порчи сравнительно невелики и при спонтанной ферментации массы. В этом случае основная опасность порчи корма заключается в его быстром плесневении. Из данных таблицы 5 следует, что и в этом случае добавка культуры *Bacillus subtilis* и жидких органических кислот эффективна, обеспечивая практически в равной степени защиту корма от плесневения.

Таблица 5. Потери питательных веществ от аэробной порчи и устойчивость сенажа (45,0 % СВ и более) к плесневению в зависимости от сахаро-буферного отношения зеленой массы и способа приготовления

Сенаж	Время хранения корма на воздухе без плесневения, сутки	Потери сухого вещества за 7 суток аэрации при $t^0=30^0$ С
Из зеленой массы с сахаро-буферным отношением 0,4-2,0 (n=4)		
без добавок	$3,8 \pm 0,25$	$3,7 \pm 2,59$
с <i>Bacillus subtilis</i>	$6,0 \pm 0,56^*$	$0,0 \pm 0,00$
с 0,5 % жидких органических кислот		
	$7,0 \pm 0,00^*$	$0,1 \pm 0,13$
Из зеленой массы с сахаро-буферным отношением 3,4-6,1 (n=4)		
без добавок	$2,3 \pm 0,48$	$10,3 \pm 2,19$
с <i>Bacillus subtilis</i>	$4,5 \pm 1,04$	$2,6 \pm 1,06^*$
с 0,5 % жидких органических кислот		
	$4,5 \pm 0,96$	$1,3 \pm 1,18^*$

*Разница достоверна по отношению к контролю, $P < 0,05$

Таким образом, выполненные исследования показали, что культура *Bacillus subtilis* может найти самое широкое применение при разработке принципиально новых биологических препаратов, предназначенных для силосования и сенажирования трав. В отличие от уже предложенного сельскохозяйственной практике препарата Биотроф она оказывает значительный консервирующий эффект при силосовании свежескошенных трав, который, к тому же, еще и в гораздо меньшей степени зависит от сахаро-буферного отношения зеленой массы, что позволит значительно расширить ареал использования биологических препаратов, особенно при неблагоприятных погодных условиях, исключающих возможность даже кратковременного проявлявания трав перед их закладкой в силосохранилища.

По мере повышения содержания сухого вещества в силосуемой массе до 30-35 % эффективность применения *Bacillus subtilis*, равно как и жидких органических кислот, остается достаточно высокой и только при сенажировании трав практически сходит на нет. В последнем случае основной эффект от использования этой культуры заключается в повышении аэробной стабильности полученного корма. Он тем значительнее, чем в большей степени обеспечена сенажируемая масса сахаром.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойко И.И. Изменение качества сенажа в зависимости от технологии его заготовки и хранения. Вопросы технологии производства говядины. Дубровицы, 1973: 104-106.
2. Вуд У. Брожение углеводов и родственных соединений. Метаболизм бактерий. Пер. с англ. М., 1963: 9-62.
3. Зафрен С.Я. Как приготовить хороший силос. М., 1970: 79 с.

4. Киров Н., Божинова О., Недялков Л. Консервирование влажного зерна. Пер. с болг. М., 1982: 159 с.
5. Колесников Н.В. Силосование и химическое консервирование избыточно влажных зеленых кормов. М., 1975: 115 с.
6. Мартынов С.В. Влияние химических консервантов на жизнедеятельность аэробной микрофлоры в сенажной массе. Бюлл. ВНИИ физиологии, биохимии и питания с.-х. животных. Боровск, В.1, 1984: 65-68.
7. Мирзоева В.А. Бактерии группы сенной и картофельной палочек. М., 1959: 175 с.
8. Михеев Г.Д. Технология приготовления сенажа из люцерны в условиях Туркменской ССР. Технология производства, хранения и использования кормов. Науч. тр. ВАСХНИЛ. М., 1978: 70-73.
9. Пастер Л. Исследования о брожениях. Пер. с фр. М. Л., 1937: 487 с.
10. Победнов Ю.А. Современная теория силосования провяленных трав. Адаптивное кормопроизводство: проблемы и решения. М., 2002: 456-468.
11. Победнов Ю.А. Теоретическое обоснование и разработка способов приготовления энергонасыщенных высокопротеиновых силосованных кормов на основе регулирования микробиологических процессов. Дисс...д-ра с.-х. наук. М., 2003: 296 с.
12. Роджерс Г.Дж. Расщепление высокомолекулярных соединений. Метаболизм бактерий. Пер. с англ. М., 1963: 257-315.
13. Стейниер Р., Эдельберг Э., Ингрэм Дж. Мир микробов. Пер. с англ. М., 1979, 1: 320 с.
14. Таранов М.Т., Устина Л.И. и др. Оптимальные дозы химических консервантов для несилосуемых растений в зависимости от содержания в них сухого вещества. Вопросы рациональной заготовки и использования кормов. Бюлл. науч. работ. Дубровицы, 1984, В.76: 30-33.
15. Чуканов Н.К., Попенко А.К. Микробиология консервирования трудносилосуемых растений. Алма-Ата, 1986: 198 с.
16. Bachmann K., Berg F., Fechner M. u.a. Промышленное производство кормов: Справочная книга. Пер. с нем. М., 1981: 559 с.
17. Grawskaw R. Will it delay aerobig decay. Farmers weckly. 1988, 108, 8: 21.
18. Grawskaw R. Reducing losses during ensiling. Developments in silage. Papers presentet at a seminar held at Oxford 18 March 1987. 1987: 23-36.
19. Loeffler W., Katzer W., Kremer S. u.a.. Gegen Pilze wirksame Antibiotika der Bacillus subtilis – Gruppe. Forum mikrobiologie. H.3. 1990: 156-163.
20. Pahlow G. Role of microflora in forage conservation. Landbauforschung Volkenrode.- Sonderheft 123. 1991: 26-36.

КОРМОВЫЕ ДОБАВКИ В РАЦИОНАХ САМОК НОРОК

Н.Н. Лоечко, А.Н. Семикрасова
НИИ пушного звероводства и кролиководства

Введение

В настоящее время разработана технология и организовано промышленное производство биологически активных добавок на основе тканей несовершенного гриба *Fusarium sambucinum* (Максимова, 1991, Брагинцева и др., 2001). По данным Брагинцевой и соавторов (1991, 2001) экстракт биомассы гриба *Fusarium sambucinum* представляет собой сбалансированный природный комплекс субстанций, в состав которого входят фосфолипиды, свободные жирные кислоты и их эфиры, моно- и триацетилглицериды, аминокислоты, природные антиоксиданты, убихиноны, каротиноиды, ферменты, полисахариды, витамины: А, F, В₁, В₂, В₁₂, D, Н. В липидном комплексе гриба основными кислотами являются олеиновая, линолевая и арахидоновая. При высушивании биомассы гриба *F. sambucinum* получают шрот.

В 100 г шрота гриба *F. sambucinum* содержится, г: сухого вещества - 97,7, сырого протеина - 37,8, сырого жира - 6,8, сырой золы - 4,56, сырой клетчатки - 6,0, БЭВ - 42,44; валовой энергии - 445 ккал, витаминов: В₁ - 0,5 мг %, В₂ - 5,48.

Целью данной работы являлась оценка действия экстракта биомассы и шрота биомассы гриба *Fusarium sambucinum* в качестве кормовой добавки на продуктивность самок норок.

Материал и методы

Научно-хозяйственные опыты проводили в ОАО «Племзавод Родники» Московской области на основном стаде норок. Группы формировали по методу групп-аналогов (Балакирев, Юдин, 1994)

Первый опыт проводили с 30 марта по 8 июня 2001 г на 3 группах взрослых самок окраса «дикая» по 25 голов в каждой группе. Зверей кормили хозяйственным кормом, к которому на ферме добавляли кормовые добавки. Первая группа служила контролем, а животным второй (опытной) группы добавляли в корм экстракт биомассы гриба *F. sambucinum* в количестве 1,0 мл на голову в сутки, а третьей (опытной) группы – шрот биомассы *F. sambucinum* - по 1,0 г на голову в сутки в период беременности и лактации. Первую неделю опыта самки получали добавки в половинной дозе. В рационе содержалось следующее количество основных переваримых питательных веществ, г на 100 ккал ОЭ: протеина 9,5-9,2, жира 4,0-4,3, углеводов 4,7-4,4. Уровень энерге-

тического питания по месяцам составлял: 243, 243 и 367 ккал на голову в сутки.

Во втором опыте (с 1 марта по 31 мая 2002 г) было сформировано 3 группы самок окраса «сапфир» по 49, 28 и 28 голов, выравненных по возрастному составу. Первая группа – контрольная, 2-я и 3-я – опытные, в корм которых добавляли шрот по схеме I опыта (2-я группа) и шрот и биомассу в половинной дозе (3-я группа). Содержание основных питательных веществ в рационе составляло, г на 100 ккал ОЭ: протеина 9,4-8,8, жира 4,2-4,4, углеводов 4,6-4,7. Уровень энергетического питания по месяцам: 245, 267 и 391 ккал на голову в сутки.

Перед окончанием опыта у 5 благополучно родивших самок каждой группы в сыворотке крови рефрактометрически определяли содержание общего белка. Учитывали показатели воспроизводства самок. Качество шрота гриба *F. sambucinum* оценивали по общепринятым методикам. Полученные данные статистически обрабатывали (Плохинский, 1969).

Результаты и обсуждение

При оценке санитарно-химических показателей шрота уровень ААА был –126, мг% и ЛЖК – 17,6 мг NaOH/100 г после 3 месяцев хранения в сухом помещении в мешках из пленочного материала, а через 6 мес – 175 мг% и 19,2 мг NaOH/100 г, соответственно, что отвечает санитарным нормам. При бактериологическом исследовании выявлена сапрофитная микрофлора, не патогенная для лабораторных животных (2020 м.т. в/г), микотоксинов не обнаружено.

Данные по щенению самок основного стада приведены в таблице 1.

Таблица 1. Показатели воспроизводства самок норок, $M \pm m$

Группа	n	Покрыто самок, %	Без приплода, %	Плодовитость, гол	Выход молодняка на основную самку, гол
1 контроль	25	100,0	28,0	7,11 ± 0,44	4,76 ± 0,71
2-я опытн. (экстракт биомассы)	25	100,0	8,7	6,62 ± 0,58	5,72 ± 0,60
3-я опытн. (шрот)	25	100,0	8,7	6,78 ± 0,39	5,76 ± 0,47

Анализ результатов воспроизводства самок показал, что в опытных группах самок без приплода было в 3,2 раза меньше. Отход молодняка составил 5,6 %, 4,7 % и 4,64 % по группам соответственно. В опытных группах использование экстракта биомассы и шрота гриба *F. sambucinum* в качестве кормовой добавки уменьшило пропустованье самок и, тем

Таблица 2. Показатели воспроизводства самок норок $M \pm m$

Группа, препарат	n	Покрыто самок, %	Пропустовало самок, %	Всего без приплода, %	Плодовитость, гол. $M \pm m$	Отход щенков до регистрации, %	Общий белок в сыв. крови, г % $M \pm m$	Выход молодняка на основную самку, гол. $M \pm m$
I (к)	49	100,0	24,5	42,9	6,86 $\pm$ 0,43	26,6	8,4 $\pm$ 0,4	2,88 $\pm$ 0,41
II (шрот)	28	100,0	17,9	25,0	5,91 $\pm$ 0,50	27,2	8,4 $\pm$ 0,9	3,54 $\pm$ 0,49
III (шрот + экстракт биомассы)	28	100,0	10,7	32,1	5,92 $\pm$ 0,45	29,7	8,5 $\pm$ 0,7	3,71 $\pm$ 0,57
В целом по II и III группам	56	100,0	14,3	28,6	5,91 $\pm$ 0,33	28,5	8,45 $\pm$ 0,7	3,63 $\pm$ 0,37

самым, способствовало повышению выхода молодняка на 0,96 – 1,0 щенка на основную самку (не достоверно).

По результатам второго опыта показатели по воспроизводству самок представлены в таблице 2. Все самки были покрыты. В опытных группах значительно меньше пропустовавших самок и самок без приплода на 10,8 % и 17,9 %. При практически одинаковой сохранности молодняка во всех группах, выход молодняка в опытных группах был на 0,65 – 0,83 щенка выше.

По обобщенным данным двух опытных групп, т.к. были получены сходные показатели и испытывались две разновидности добавок, полученные на основе одного природного комплекса, установлено повышение выхода молодняка на 0,75 щенка (не достоверно) за счет значительно (в 2 раза) сниженного пропустования у самок норок, что согласуется с данными I опыта. Содержание общего белка в сыворотке крови самок норок во всех группах было в пределах физиологической нормы. При расчете экономической эффективности установили, что применение кормовых добавок в период воспроизводства позволило получить от одной самки дополнительно продукции на сумму 182,3 руб. и 204, 25 руб. в 1-й и 2-й группах, соответственно.

Выводы

Включение в рационы самок норок в период гона, беременности и лактации экстракта биомассы и шрота биомассы гриба *F. sambucinum* в количестве 1,0 мл и 1,0 г на голову в сутки, соответственно, положительно влияет на их воспроизводительную функции. При этом снижается процент пропустования самок, отход молодняка и за счет этого увеличивается выход молодняка на основную самку на 0,65-1,0 щенка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Балакирев Н.А., Юдин В.К. Методические указания проведения научно-исследовательских опытов по кормлению пушных зверей. РАСХН, 1994: 31.
2. Брагинцева Л.М. и др. Практические рекомендации «БАВ «Флоравит» механизм действия, показания к применению», М., 2001: 3-11.
3. Максимова Т.В., Л.М. Брагинцева и др. «Гриб *Fusarium sambucinum* – источник биологически активных веществ для лечебных добавок животным. Микробиологический журнал АН УССР, Киев, 1991.

**Труды Всероссийского научно-исследовательского института
физиологии, биохимии и питания с.-х. животных.**

Сборник экспериментальных статей. Боровск, 2005, т.44, 259 с

*Утверждено к печати Ученым советом ВНИИ физиологии,
биохимии и питания с.-х. животных.*

Редактор издания	В.Д. Кальницкая
Компьютерная верстка	Л.Л. Полякова
Полиграфическое исполнение	А.В. Бочаров

Издательство ВНИИ физиологии, биохимии и питания
сельскохозяйственных животных. Лицензия ИД № 03641
Формат 70х100/16 Объем 26,0 п. л. Тираж 100 экз.

249013 Калужская обл., г. Боровск, ВНИИФБиП с.-х. животных
тел. 546-34-15

