

ВЛИЯНИЕ ЛИЗИНА СУЛЬФАТА НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

А.А. Шапошников, Ю.В. Фурман, С.Д. Чернявских, С.В. Недопёкина, В.В. Мосягин

Аннотация. Изучено влияние новой добавки лизина сульфата (продукта микробиологического синтеза с использованием *Corynebacterium glutamicum*) в дозах 800 мг·кг⁻¹ и 1000 мг·кг⁻¹ массы тела на морфофункциональные и биохимические показатели крови цыплят-бройлеров. Установлено, что при добавлении в рацион лизина сульфата на фоне снижения фагоцитарной и миграционной активности лейкоцитов происходит увеличение концентрации иммуноглобулинов, альбуминов, α- и γ-глобулинов. Введение в рацион цыплят-бройлеров лизина сульфата в дозе 800 мг·кг⁻¹ массы тела способствует снижению микровязкости липидного бислоя и увеличению проницаемости мембраны эритроцитов. Доза добавки 1000 мг·кг⁻¹ уменьшает проницаемость мембраны красных клеток крови цыплят-бройлеров.

Ключевые слова: добавка лизина сульфата, цыплята-бройлеры, морфофункциональные показатели крови, белковый спектр крови.

Перевод птицеводства на промышленную основу коренным образом изменил технологию содержания птицы. Наиболее важным звеном в процессе получения высококачественного птицеводства является разработка научно-обоснованного рациона для птицы [12]. Особо важное практическое значение имеет нормирование протеина в кормлении птицы, ведь такие высокобелковые продукты, как яйцо и мясо, могут образоваться только при достаточном количестве протеина в рационе. Поскольку полноценность белка зависит от его аминокислотного состава, необходимо нормировать не только общее количество сырого протеина в комбикормовой смеси, но и все незаменимые аминокислоты. Особенно важно, чтобы в рационе было оптимальное количество лизина, метионина, цистеина, триптофана [18, 19]. Вызывает интерес изучение возможности и разработка методов использования новых источников питания из числа природных кормовых средств. С этой целью было изучено влияние новой кормовой добавки лизина сульфата (продукта микробиологического синтеза с использованием *Corynebacterium glutamicum*) на морфофункциональные и биохимические показатели системы крови цыплят-бройлеров.

Для достижения цели на цыплятах-бройлерах был проведен физиологический опыт. По принципу аналогов было сформировано три группы птиц. Бройлеры контрольной и опытных групп в качестве основного рациона (ОР) получали полнорационный и сбалансированный по питательным и биологически активным веществам комбикорм. Птица первой и второй (опытных) групп наряду с основным рационом ежедневно получала добавку лизина сульфата в дозах 800 и 1000 мг·кг⁻¹ массы тела соответственно. Общая продолжительность исследования составила 38 суток. По окончании опыта был проведен убой наркотизированной эфиром птицы путем декапитации, отобраны образцы крови для исследований.

Полученную кровь центрифугировали при 3000 об./мин. в течение 15 мин. (в качестве антикоагулянта использовали гепарин). Спонтанную локомоторную активность лейкоцитов определяли по площади миграции клеток под агарозой [14]. Для исследования поглощательной способности лейкоцитов использовали частицы латекса [17]. Относительную микровязкость мембран эритроцитов в зонах белок-липидных контактов и липидном бислое исследовали методом латеральной

диффузии гидрофобного зонда пирена (C₁₆H₁₀) [3]. Также определяли проницаемость эритроцитарных мембран по Додхоеву [5]. В пробах крови определяли общий белок колориметрически по биуретовой реакции, белковые фракции и иммуноглобулины – нефелометрически [2, 9], белковый коэффициент вычисляли путем расчета альбумин-глобулинового отношения [2].

Полученные результаты обрабатывали методами вариационной статистики с использованием специальных программ на персональном компьютере [11]. Достоверность различий определяли по t-критерию Стьюдента. Результаты рассматривали как достоверные, начиная со значения p<0,05.

В результате проведенных исследований установлено, что изучаемая кормовая добавка не оказывает отрицательного влияния на общее состояние цыплят-бройлеров.

При добавлении в рацион лизина сульфата изменяется миграционная активность лейкоцитов подопытной птицы. Результаты показателей площади спонтанных локомоций представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Показатели площади миграции лейкоцитов цыплят-бройлеров, мм²

Группы	Температура инкубации, °С		
	8	22	45
Контрольная	4,16±0,22	4,25±0,22	4,52±0,40
1 опытная	4,05±0,17	4,11±0,20	4,15±0,17*
2 опытная	3,97±0,28	3,87±0,27	3,77±0,21*

Примечание: здесь и в табл. 2-4: достоверность различий: * - по сравнению с контрольной группой по t-критерию Стьюдента (p<0,05).

Как видно из таблицы 1, у цыплят опытных групп показатели миграционной активности клеток изучаемого пула были несколько ниже, чем в контроле. При температуре 45°С снижение по сравнению с контролем составило 8% в первой опытной группе и 20% во второй.

Данные фагоцитарной активности лейкоцитов к частицам латекса представлены на рисунке 1.

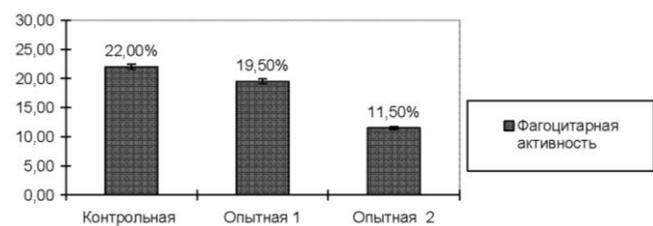


Рисунок 1 - Фагоцитарная активность лейкоцитов цыплят-бройлеров к частицам латекса

Изучаемый показатель у цыплят из второй опытной группы был на 48% ниже, чем в контроле. При этом клетки крови у цыплят из первой опытной группы поглощали частицы латекса на 41% активнее, чем у цыплят из второй группы. При анализе данных по фагоцитарному индексу отмечалось незначительное различие между подопытными группами.

Изучаемая кормовая добавка способствовала увеличению концентрации иммуноглобулинов в сыворотке крови цыплят опытных групп. Данные представлены на рисунке 2.

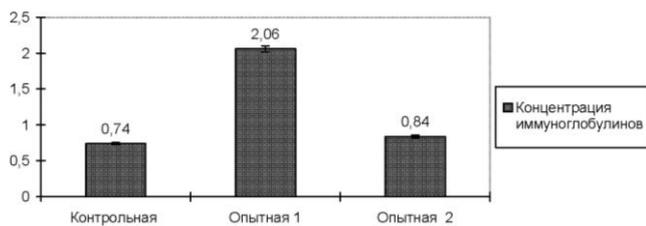


Рисунок 2 – Концентрация иммуноглобулинов в сыворотке крови цыплят-бройлеров

Показатели в первой группе были практически в 4 раза выше в сравнении с контролем. Разница контроля со второй группой составила 14%. Известно, что иммуноглобулины сыворотки крови играют важную роль в поддержании местного иммунитета, так как они являются первичными рецепторами для антигенов и характеризуют иммунную реакцию организма птицы. Функцией секреторного иммуноглобулина является обеспечение так называемого иммунного исключения, то есть препятствие проникновения в организм через слизистые барьеры различных антигенов и ингибирование колонизации эпителия бактериями и вирусами [1].

Анализ полученных нами отдельных биохимических параметров показал, что количество общего белка, белковых фракций, иммуноглобулинов и белковый коэффициент у цыплят всех трех групп опыта находились в пределах границ физиологической нормы для птиц данного возраста и направления продуктивности [13, 16] (таблица 2). Это свидетельствует об отсутствии кардинального вмешательства добавки в механизмы гомеостаза.

Таблица 2 - Концентрация общего белка и его фракций в сыворотке крови

Показатели, ед. изм.	Группы		
	Контрольная	1 (опытная)	2 (опытная)
Общий белок, г·л ⁻¹	51,33±1,86	55,25±1,03	51,83±0,79
Фракции белка, г·л ⁻¹ :			
альбумины	18,25±0,01	25,40±0,51*	19,20±0,01*
α-глобулины	11,76±0,50	15,66±0,12*	16,34±0,08*
β-глобулины	18,90±0,40	7,83±0,06*	13,78±0,12*
γ-глобулины	2,42±0,01	6,36±0,07*	2,51±0,08
Альбумин-глобулиновое отношение	0,55±0,01	0,85±0,15	0,59±0,01

В то же время прослеживалась тенденция к повышению уровня общего белка сыворотки крови на 8% в первой опытной группе бройлеров, по сравнению с контролем (таблица 2).

Исследуемая добавка оказала влияние на соотношение фракций белка. Так, уровень альбуминов в сыворотке крови бройлеров второй группы был на 39%, третьей – на 5% выше, чем в контроле. Полученные результаты свидетельствуют о позитивном влиянии добавки, особенно в дозе 800 мг·кг⁻¹ массы тела, так как альбумины служат резервом аминокислот для белкового синтеза. Кроме того, благодаря большой поверхности мицелл и их высокому отрицательному заряду, белки данной фракции адсорбируют и транспортируют ряд веществ (НЭЖК, билирубин, соли желчных кислот, гормоны, токсины, значительную часть ионов кальция и др.), оказывая тем самым регулирующее влияние на метаболические процессы [4, 6, 8, 10, 15].

Уровень α-глобулинов был выше на 33 и 39%, концентрация β-глобулинов, напротив, ниже на 59 и 27%,

Таблица 4 - Показатели проницаемости мембран эритроцитов цыплят-бройлеров

Группы	Рабочие растворы
--------	------------------

соответственно, в первой и второй опытных группах по сравнению с контролем.

Добавка в дозе 800 мг·кг⁻¹ способствовала увеличению альбумин-глобулинового отношения в сравнении с контролем практически вдвое, в дозе 1000 мг·кг⁻¹ массы тела незначительно изменяла данный показатель.

У кур первой опытной группы произошло значительное повышение γ-глобулинов: разница с контролем составила 163%. Белки данной фракции принимают активное участие в специфических защитных реакциях [15]. Во второй группе изучаемый показатель был на 3% выше контроля.

Показатели микровязкости мембран эритроцитов цыплят-бройлеров представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Показатели микровязкости мембран эритроцитов цыплят-бройлеров

Показатели, ед. изм.	Группы		
	Контрольная	1 (опытная)	2 (опытная)
F _γ /F _{M(334)} , усл. ед. 10 ⁻³	1,90±0,10	2,50±0,30*	2,50±0,50
F _γ /F _{M(286)} , усл. ед. 10 ⁻³	4,00±0,40	6,30±1,20	6,50±2,00
F ₃₇₂ /F ₃₉₃₍₃₃₄₎ , усл. ед. 10 ⁻⁴	0,80±0,10	1,00±0,10	0,90±0,20
F ₃₇₂ /F ₃₉₃₍₂₈₆₎ , усл. ед. 10 ⁻⁴	1,60±0,20	2,40±0,40	2,50±0,60

Коэффициент эксимеризации пирена в зоне белок-липидных контактов F_γ/F_{M(286)} в первой и второй опытных группах птиц по сравнению с контролем достоверно не изменялся. Коэффициент эксимеризации пирена F_γ/F_{M(334)} у цыплят первой опытной группы был на 28% (p<0,05) выше аналогичного показателя контроля, микровязкость липидного бислоя мембран, соответственно, ниже. Полярность липидного слоя F₃₇₂/F₃₉₃₍₃₃₄₎ и зоны аннулярных липидов F₃₇₂/F₃₉₃₍₂₈₆₎ мембран эритроцитов цыплят-бройлеров в первой и второй опытных группах по сравнению с контролем достоверно не изменялась. Добавка в дозе 800 мг·кг⁻¹ массы тела способствует снижению микровязкости липидного бислоя мембран клеток крови у бройлеров опытной группы, что в свою очередь, способствует улучшению вязко-эластических и реологических свойств мембраны эритроцитов, повышению активности мембраносвязанных ферментов, активации микроциркуляции, более активному связыванию рецепторов со вторичными мессенджерами и лигандами [7].

Показатели проницаемости мембран красных клеток крови бройлеров представлены в таблице 4.

Как видно из таблицы 4, проницаемость эритроцитарных мембран у птицы первой опытной группы увеличилась в 1,5-2,5 раза, у бройлеров второй группы – уменьшилась на 18-36% по сравнению с контролем. Таким образом, доза добавки 800 мг·кг⁻¹ массы тела способствует снижению плотности мембран клеток крови исследуемого пула, доза 1000 мг·кг⁻¹ массы тела – повышению.

Выводы:

1. Добавка лизина сульфата оказывает позитивное влияние на белковый спектр крови, способствуя увеличению уровня альбуминов, α- и γ-глобулинов, альбумин-глобулинового отношения.

2. Под влиянием изучаемой кормовой добавки изменяется иммунный статус цыплят-бройлеров: на фоне снижения фагоцитарной и миграционной активности лейкоцитов наблюдается увеличение уровня иммуноглобулинов.

3. Введение в рацион цыплят-бройлеров лизина сульфата в дозе 800 мг·кг⁻¹ массы тела способствует снижению микровязкости липидного бислоя и увеличению проницаемости мембраны эритроцитов. Доза добавки 1000 мг·кг⁻¹ уменьшает проницаемость мембраны красных клеток крови цыплят-бройлеров.

	I (40:60)	II (45:55)	III (50:50)	IV (55:45)	V (60:40)	VI (65:35)
Контрольная	9,10±0,11	6,60±0,01	8,66±0,05	7,69±0,01	12,18±0,30	21,18±0,12
1 (опытная)	18,63±1,29*	15,87±2,01*	12,95±0,02*	18,82±1,94*	31,84±2,32*	45,89±2,10*
2 (опытная)	5,84±0,15*	5,55±0,02*	5,77±0,01*	6,34±0,02*	9,18±0,12*	17,70±0,01*

Список использованных источников

- 1 Болотников И.А., Конопатов Ю.В. Практическая иммунология сельскохозяйственной птицы. – СПб.: Наука, 1993. – 204 с.
- 2 Васильева Е.А. Клиническая биохимия сельскохозяйственных животных. – М.: Россельхозиздат, 1982. – 254 с.
- 3 Владимиров Ю.А., Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. – М.: Наука, 1980. – 320 с.
- 4 Воронянский В.И. Белковый и гликопротеидный спектр крови в связи с возрастом, породной принадлежностью, условиями содержания и кормления кур // Повышение продуктивности сельскохозяйственных животных. – Харьков, 1968. – Т. 3 (19). – С. 215-223.
- 5 Додхоев Д.С. Особенности проницаемости эритроцитарных мембран и сорбционная способность эритроцитов у здоровых доношенных новорожденных детей и их матерей // Физиология человека. – 1998: Т. 24. - № 2. – С. 135-137.
- 6 Капитатенко А.М., Дочкин И.И. Клинический анализ лабораторных исследований. – М.: Воениздат, 1988. – 270 с.
- 7 Состояние мембран эритроцитов (как модели клеток) при тяжелой сочетанной черепно-лицевой травме: возможности коррекции / Н.Б. Кармен, А.М. Закаров, Н.П. Милютин, Е.И. Маевский // Стоматология. – 2007. - №5. – С. 15-19.
- 8 Кармолиев Р.Х. Физико-химические свойства и функции белков крови: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Алма-Ата, 1984. – 39 с.
- 9 Клиническая лабораторная диагностика в ветеринарии: Справочное издание / И.П. Кондрахин, Н.В. Курилов, А.Г. Малахов и др. – М.: Агропромиздат, 1985. – 287 с.
- 10 Кухта В.К. Белки плазмы крови: Патохимия и клиническое значение. – Минск: Беларусь, 1986. – 80 с.
- 11 Лакин Г.Ф. Биометрия. – М., 1980. – 293 с.
- 12 Петрина З.А. Комбикорма пониженной питательности для цыплят -бройлеров // Вопросы повышения эффективности кормления сельскохозяйственной птицы / Сб. науч. тр. ВНИТИП. - Загорск, 1989.- С. 67-69.
- 13 Солдатенков П.Ф. Кровь и кровообращение / Под ред. Н.А. Шманенкова. – Л.: Наука, 1978. – 744 с.
- 14 Федорова М.З., Левин В.Н. Спонтанная миграция нейтрофилов крови в смешанной популяции лейкоцитов и ее изменения под влиянием веществ аутоплазмы при различных функциональных состояниях организма // Клиническая лабораторная диагностика. – 2001. - №5. – С. 16-19.
- 15 Четкин А.В. Биохимия животных. – М.: Высшая школа, 1982. – 124 с.
- 16 Эйдрегевич Е.В., В.В. Раевская. Интерьер сельскохозяйственных животных. – М.: Колос, 1978. – 255 с.
- 17 Nelson R.D. Chemotaxis under agarose: a new and simple method for measuring chemotaxis and spontaneous migration of human polymorphonuclear leukocytes and monocytes / R.D. Nelson, P.G. Quie, R.L. Simmons // J. Immunol.- 1975.- v.115.- P.1650-1656.
- 18 Revington W.H. Lysine supplementation of low-protein diets for broiler breeder males [Text] / W.H. Revington, E.T. Moran, S.F. Bilgili, R.D. Bushong // Poultry Sc. 1992. Vol. 71. №2. - P. 323-330.
- 19 Ueda H. Effect of dietary lysine and arginine addition on growth performance and serum cholesterol level in chicks [Text] / H. Ueda, T. Imanishi, R. Fukumi, S. Kumai // Anim. Sc. Technol. 1995. Vol. 66. № 5. - P. 412-421.

Информация об авторах

Шапошников Андрей Александрович, доктор биологических наук, профессор кафедры биохимии и фармакологии, Белгородский государственный национальный исследовательский университет «БелГУ».

Фурман Юрий Васильевич, доктор биологических наук, профессор кафедры истории, теории и технологии социаль-

ной работы, Курский институт социального образования (филиал) РГСУ.

Чернявских Светлана Дмитриевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и фармакологии, Белгородский государственный национальный исследовательский университет «БелГУ».

Недопёкина Светлана Владимировна, аспирант, Белгородский государственный национальный исследовательский университет «БелГУ», e-mail: nedopekina_sv@mail.ru

Мосягин Владимир Владимирович, доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии и химии ФГБОУ ВПО «Курская ГСХА».