

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»

Ассоциация образовательных и научно-исследовательских учреждений по координации образовательной и научной деятельности в сельскохозяйственных отраслях "Ветеринария, зоотехния и биотехнология".



*Материалы 2-й Международной научно-практической конференции*

## **«Молекулярно-генетические технологии для анализа экспрессии генов продуктивности и устойчивости к заболеваниям животных»**

**25 декабря 2020 г.**

*в рамках Договора № 14.003.31.0013 от 20 февраля 2017 г.  
о выделении гранта Правительства Российской Федерации для  
государственной поддержки научных исследований*



Москва, 2020

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»

Ассоциация образовательных и научно-исследовательских учреждений по координации образовательной и научной деятельности в сельскохозяйственных отраслях "Ветеринария, зоотехния и биотехнология".

---

*Материалы 2-й Международной научно-практической конференции*

**«Молекулярно-генетические технологии для анализа экспрессии генов продуктивности и устойчивости к заболеваниям животных»**

**25 декабря 2020 г.**

*в рамках Договора № 14.В03.31.0013 от 20 февраля 2017 г.  
о выделении гранта Правительства Российской Федерации для  
государственной поддержки научных исследований*

УДК 636.5.087.8  
ББК 28.040

**Материалы 2-й Международной научно-практической конференции «Молекулярно-генетические технологии для анализа экспрессии генов продуктивности и устойчивости к заболеваниям животных» / Под. общ. ред. И.И. Кочиша и М.Н. Романова. — М.: Издательство «Сельскохозяйственные технологии», 2020. — 378 с.**

ISBN 978-5-6045650-6-3

**Редакционная коллегия:** И.И. Кочиш, С.В. Позябин, М.Н. Романов, П.Ф. Сурай, И.Н. Никонов, М.В. Селина.

В сборнике представлены материалы 2-й Международной научно-практической конференции «Молекулярно-генетические технологии для анализа экспрессии генов продуктивности и устойчивости к заболеваниям животных» (Москва, 25 декабря 2020 г.).

2-я Международная конференция организована в соответствии с планом работ научных исследований на 2020–2021 гг. по направлению научных исследований «Разработка современных биотехнологий для оценки экспрессии генов в связи с продуктивностью и устойчивостью к заболеваниям в птицеводстве» и в рамках договора № 14.W03.31.0013 от 20 февраля 2017 г. о выделении гранта Правительства Российской Федерации для государственной поддержки научных исследований.

Авторы включенных в сборник статей несут ответственность за содержание, точность и достоверность публикуемой информации.

Сборник материалов рекомендован для научных сотрудников, аспирантов и студентов высших учебных учреждений зооветеринарного профиля, сотрудников научно-исследовательских институтов и специалистов АПК.

DOI 10.18720/SPBPU/2/k20-5

© Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»

## *Приветствие ректора*



Руководство МВА имени К.И. Скрябина и лично я приветствуем участников 2-й Международной научно-практической конференции «Молекулярно-генетические технологии для анализа экспрессии генов продуктивности и устойчивости к заболеваниям животных» в очном и в удаленном доступе.

Молекулярно-генетические подходы сегодня играют важную роль для решения проблемных вопросов продуктивного животноводства. Важность молекулярно-генетических исследований обусловлена в разработке новых технологий и уникальных биопрепаратов (пробиотиков, фитобиотиков), способствующих снижению доли антибиотиков в рационах питания, что позволит создавать заделы для профилактики ряда заболеваний бактериальной природы, в том числе социально-значимых (прежде всего сальмонеллёза, микоплазмоза).

На базе кафедры зоогигиены и птицеводства имени А.К. Даниловой МВА имени К.И. Скрябина создана «Международная лаборатория молекулярной генетики и геномики птицы», которая выполняет широкий цикл молекулярно-генетических исследований под руководством ака-

демика РАН, профессора, д.с.-х.н. Кочиша Ивана Ивановича и ведущего ученого к.б.н. Романова Михаила Николаевича, исследователя Университета Кента, Великобритании.

Научные исследования, проводимые в Международной лаборатории, направлены на решение конкретных задач в рамках одного из главных приоритетов Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации — переход к высокопродуктивному и экологически чистому агро- и аквахозяйству, разработку и внедрение систем рационального применения средств химической и биологической защиты сельскохозяйственных растений и животных, хранение и эффективную переработку сельскохозяйственной продукции, создание безопасных и качественных, в том числе функциональных, продуктов питания.

Возможности лаборатории позволяют существенно повысить уровень подготовки студентов и аспирантов по направлению подготовки «Ветеринария и зоотехния» и дают возможность проводить исследования на высоком современном уровне.

В заключение хочу поздравить всех с открытием конференции и пожелать плодотворной работы, интересных докладов и дальнейшей реализации научных разработок в АПК.

*Полябин Сергей Владимирович,  
ректор ФГБОУ ВО «Московская государственная  
академия ветеринарной медицины и биотехнологии –  
МВА имени К.И. Скрябина», доктор ветеринарных наук,  
профессор*



### *Уважаемые коллеги!*

В рамках договора № 14.W03.31.0013 от 20 февраля 2017 года о выделении грантов Правительства Российской Федерации для государственной поддержки научных исследований, проводимых под руководством ведущих ученых в российских образовательных организациях высшего образования по теме «Разработка современных биотехнологий для оценки экспрессии генов в связи с продуктивностью и устойчивостью к заболеваниям в птицеводстве» создана на кафедре зоогигиены и птицеводства имени А.К. Даниловой ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина Международная лаборатория молекулярной генетики и геномики птицы.

В 2019 году, на основе оценки значимости достигнутых результатов и перспективности научного исследования, Совет по грантам рекомендовал продлить проект «Разработка современных биотехнологий для оценки экспрессии генов в связи с продуктивностью и устойчивостью к заболеваниям в птицеводстве» на базе ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина Минсельхоза России под руководством ведущего ученого Романова М.Н. на два года — 2020–2021 гг.

Основными направлениями исследований лаборатории являются: создание современных биотехнологий для оценки экспрессии генов, связанных с продуктивностью и устойчивостью птицы к неблагоприятным факторам; разработка системы мониторинга бактерий-патогенов на различных стадиях технологического процесса выращивания и содержания кур; оценка воздействия кормовых добавок различных типов на микрофлору кишечника и продуктивность птицы яичного направления продуктивности; разработка системы профилактики бактериальных патогенов у кур-несушек на основе применения пробиотиков и фитобиотиков, заменяющих антибиотики.

Сформирован научный коллектив Международной лаборатории молекулярной генетики и геномики птицы с ведущим ученым Романовым М. (Великобритания) и зав. кафедрой зоогигиены и птицеводства, академиком РАН Кочишем И.И. (рис. 1).



**Рис. 1. Научный коллектив Международной лаборатории молекулярной генетики и геномики птицы**

– В состав коллектива лаборатории в 2020 году входит 20 человек, часть (17) являются сотрудниками и обучающимися ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, но при этом большая часть коллектива является внутренними совместителями.

– В целом из 20 человек коллектива 5 докторов наук, 6 кандидатов наук (в том числе 2 молодых), 5 аспирантов и 3 студента.

– Все аспиранты обучаются в аспирантуре ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина, студенты — в ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина.

– В целом нужно отметить, что молодые исследователи (в возрасте до 39 лет) составляют почти 53% коллектива.

– В коллективе лаборатории наряду со штатными сотрудниками Академии работают 2 привлеченных иностранных ученых из Великобритании (Романов М.Н., Сурай П.Ф.) и один российский ученый (Мартынов В.В.).

За период выполнения проекта приобретено лабораторное оборудование для научных исследований на сумму более 25 млн руб.

Наиболее важными и уникальными элементами оборудования лаборатории являются: высокопроизводительный секвенатор Ion Gene Studio S5 System; анализатор LightCycler 96 Instrument для ПЦР-анализа олигонуклеотидов в реальном времени; бокс для стерильных работ (модель UVT-S (-AR)) и другое оборудование (рис. 2).

Комплект оборудования для ИФА предназначен для определения наличия антигенов возбудителей различных инфекций и определения наличия антител к антигенам (Австрия). В состав приобретенного комплекта входит анализатор иммуноферментный микропланшетный Tecan Infinite F50 (Австрия), планшет-отмыватель для ИФА WellWash, шейкер-термостат для планшетов (амплитуда 2 мм, 250—1200 об/мин) и ноутбук Lenovo с установлен-

ным программным обеспечением для работы на ИФА анализаторе.



**Рис. 2. Обсуждение программы амплификации с аспирантами и студентами МВА, проведение эксперимента, секвенатор Ion Gene Studio S5 System**

В ходе исследований иммунитета на этом оборудовании оценивается специфический иммунитет к наиболее распространенным вирусным заболеваниям сельскохозяйственной птицы — инфекционному бронхиту кур, болезни Ньюкасла, болезни Гамборо и др., что позволяет оценить гены, отвечающие за устойчивость к заболеваниям и промышленным стрессам.

Для проведения научно-исследовательских работ по теме проекта имеется Виварий в учебно-лабораторном корпусе МВА по адресу: г. Москва, ул. Академика Скрябина, д. 23, строение 6, для индивидуального и группового содержания подопытных и контрольных птиц (рис. 3).



**Рис. 3. Виварий Международная лаборатория молекулярной генетики и геномики птицы, куры кросса «Ломанн Белый»**

Уникальность лаборатории заключается в проведении исследований по анализу экспрессии генов продуктивности яичной птицы и одновременным комплексным анализом состояния микрофлоры желудочно-кишечного тракта.

По основным результатам, полученным в ходе выполненных исследований, за 2017–2020 гг. проведен обзор методик и протоколов по изучению дифференциальной экспрессии методом полнотранскриптомного секвенирования (RNASeq) генов, связанных с признаками хозяйственного значения, и разработана соответствующая технология.

Полученный перечень отобранных 34 генов, участвующих в формировании признаков продуктивности кур-несушек и разработанная методика определения экспрессии генов, связанных с продуктивными признаками у кур-

несушек, при помощи ПЦР-РВ позволили оценить воздействие кормовых добавок различных типов на микрофлору кишечника и продуктивность птицы яичного направления.

Результаты изучения развития микробиоценоза желудочно-кишечного тракта у эмбрионов яичных кур промышленных кроссов в период эмбрионального развития и в различные периоды яйцекладки, а также результаты проведения T-RFLP-анализов содержимого кишечника кур и результаты примера разработанной системы мониторинга бактерий-патогенов на различных стадиях технологического процесса выращивания кур-несушек позволяют вести направленную коррекцию микробиоценоза кур-несушек с помощью кормовых факторов для повышения продуктивности птицы яичного направления.

В ходе исследования влияния фитобиотика Интебио® и пробиотика Ликвипро® на микрофлору ЖКТ птицы проведено тестирование микробиоценозов ЖКТ цыплят и кур. Получены протоколы изучения микрофлоры содержимого кишечника птицы методами T-RFLP и NGS-секвенирования и протоколы тестирования экспрессии генов, ассоциированных с продуктивностью и иммунитетом птицы (двух генов интерлейкина, трех генов галлинацина, гена каспазы и др.) в ответ на заражение сальмонеллой.

Проведено изучение взаимосвязи между применением кормовых добавок, микрофлорой ЖКТ, продуктивностью и уровнями экспрессии генов продуктивности. Описаны эффекты использованных кормовых добавок (пребиотиков и фитобиотиков) на продуктивность кур яичного кросса и на экспрессию генов, связанных с продуктивностью и иммунитетом.

Разработана математическая модель зависимости продуктивности и экспрессии, связанных с ней генов птицы от состава рациона и микробиоценоза кишечника.

По результатам разработки системы мониторинга и профилактики бактерий-патогенов за счет коррекции рационов питания кур-несушек с помощью антимикробных добавок (пробиотиков, фитобиотиков) подготовлены соответствующие методические рекомендации с описанием разработанной системы (Surai, P.F., Kochish, I.I. et al, 2019).

В 2020 году научные исследования направлены на проведение производственного опыта по изучению влияния кормовой добавки на экспрессию генов (продуктивности и резистентности) на курах-несушках.

Оптимизация микробиоты кишечника в условиях промышленного птицеводства является важнейшим направлением исследований в области кормления и физиологии сельскохозяйственных птиц. При этом роль кормовых добавок, способствующих поддержанию оптимальной микробиоты кишечника трудно переоценить. В процессе выполнения исследований в рамках мегагранта разработаны научные подходы и практические приемы управления микробиотой кишечника, проведена апробация разработанной технологии в условиях промышленного производства яиц и ее адаптация к условиям современных яичных птицефабрик России. При этом особое внимание уделено органическому включению разработанной технологии управления микробиотой в уже существующие технологические подходы яичного птицеводства. Особое внимание уделено синергическому взаимодействию различных кормовых добавок и их влиянию на микробиоту кишечника с целью максимизации генетического потенциала современных кроссов яичной птицы.

Научные результаты опубликованы в высокорейтинговых журналах международной базы данных *Web of Science* (23 научные статьи), в том числе первого квартиля Q1 (11 статей), и подтверждены патентами на изобретение (3 патента, 7 заявок).

Практическая значимость проводимых исследований на базе лаборатории:

– Результаты научных исследований могут быть применены в селекционно-генетических центрах и на птицефабриках страны.

– Результаты могут применяться в разработке уникальных биопрепаратов (вакцин, пробиотиков, фитобиотиков), способствующих выработке у сельскохозяйственных животных антирезистентности к антибиотикам и приводящих к снижению доли антибиотиков в рационах питания.

– Результаты научных исследований будут способствовать повышению продуктивности птицы и улучшению конверсии корма.

– Результаты позволят создать заделы для профилактики ряда заболеваний бактериальной природы, в том числе социально-значимых (прежде всего сальмонеллёза, микоплазмоза).

Лаборатория сотрудничает с ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» Российской академии наук (Сергиев Посад) и с молекулярно-генетической лабораторией ООО «Биотроф+» (г. Санкт-Петербург).

Международная лаборатория стала стартовой площадкой для молодых ученых и инновационных проектов в области современных биотехнологий в сельском хозяйстве и АПК.

С уважением,

*И.И. Кочиш, председатель оргкомитета,  
ключевой исполнитель проекта,  
заведующий кафедрой зоогигиены и птицеводства  
имени А.К. Даниловой ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА  
имени К.И. Скрябина, доктор сельскохозяйственных наук,  
профессор, академик РАН*

**СОВРЕМЕННЫЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ  
И ГЕНОМНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ  
В ОБЛАСТИ ИЗУЧЕНИЯ БИОЛОГИИ ПТИЦ.  
1. ПРИКЛАДНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**Романов М.Н.,<sup>1,2</sup> Лаптев Г.Ю.,<sup>3</sup> Ыылдырым Е.А.,<sup>3</sup>  
Ильина Л.А.,<sup>3</sup> Филиппова В.А.,<sup>3</sup> Кочиш И.И.,<sup>1</sup>  
Дубровин А.В.,<sup>3</sup> Новикова Н.И.,<sup>3</sup> Дуняшев Т.П.,<sup>3</sup>  
Смоленский В.И.,<sup>1</sup> Никонов И.Н.,<sup>1</sup>  
Селина М.В.,<sup>1</sup> Сурай П.Ф.<sup>1,4,5,6</sup>**

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», Москва, Россия;

<sup>2</sup> Университет Кента, Кентерберри, Великобритания;

<sup>3</sup> ООО «БИОТРОФ+», Санкт-Петербург, Россия;

<sup>4</sup> Университет Святого Иштвана, Гёделлэ, Венгрия;

<sup>5</sup> Тракийский Университет, Стара Загора, Болгария;

<sup>6</sup> ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», Санкт-Петербург, Россия.

E-mail: m.romanov@kent.ac.uk

**Аннотация**

Современные высокопроизводительные молекулярно-генетические и геномные технологии находят в настоящее время самое широкое применение в прикладных исследованиях на сельскохозяйственной птице. В предлагаемой молекулярно-генетической работе были изучены эффекты заражения кур-несушек сальмонеллой и добавления в корм фитобиотика Интебио на основе эфирных масел. Показано как угнетающее, так и активирующее влияние этих факторов на уровень экспрессии ряда генов, связанных с иммунитетом, транспортом молекул и ионов в кишечнике и

продуктивностью как через сутки, так и через 7 суток после заражения. Кормовая добавка может содействовать формированию мобилизующего статуса напряженности иммунной системы за счет активации ключевых генов.

Ключевые слова: молекулярно-генетические технологии, экспрессия генов, RT-PCR, кишечник, куры-несушки, фитобиотик, иммунитет

## **Введение**

Развитие современных высокопроизводительных молекулярно-генетических и геномных методов и технологий, используемых в сочетании с доступной геномной последовательностью домашней курицы (International Chicken Genome Sequencing Consortium, 2004), дало мощный импульс для широкомасштабных, в первую очередь, прикладных исследований, проводимых на птицах.

На современном этапе развития промышленного яичного птицеводства одной из основных задач является снижение затрат на производство продукции и повышение ее качества. Для этого необходимо создать условия содержания и кормления птицы, обеспечивающие максимальную реализацию генетически обусловленных потенциальных возможностей организма.

Важнейшими экономическими показателями в птицеводстве являются яйценоскость и масса яйца кур-несушек. В настоящее время наиболее слабо изученным фактором, влияющим на продуктивность и устойчивость птицы к заболеваниям, является состояние микрофлоры кишечника и его изменения под влиянием различных кормовых добавок.

Микрофлора желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) сельскохозяйственной птицы, особенно резидентная и симбиотическая, влияет на здоровье птицы (в первую очередь, на иммунитет), на продуктивность и, соответственно, на срок

продуктивного использования. Особенности микрофлоры кур влияют и на санитарно-гигиенические требования к продукции птицеводства (мясо, яйца). Например, многие возбудители пищевых токсинфекций и токсикозов у людей, особенно кампилобактериозов, вызываются за счет контаминации мяса и яиц бактериями, являющимися нормальными обитателями ЖКТ у кур.

В связи с этим актуальной является разработка новых молекулярно-генетических технологий оценки экспрессии генов, связанных с продуктивностью и устойчивостью к негативным факторам, обеспечивающих сохранение здоровья птицы и повышение биобезопасности, продуктивности и качества продукции птицеводства.

Система коррекции микрофлоры основана на применении безопасных для человека кормовых добавок (пробиотики, фитобиотики) и системы мониторинга микрофлоры с помощью молекулярно-генетических методов анализа, например, методики терминального полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (T-RFLP; Фисинин и др., 2015; Pina et al., 2016).

В последние годы в МВА имени К.И. Скрябина разрабатываются современные биотехнологии для оценки экспрессии генов в связи с устойчивостью к болезням и продуктивностью у домашней птицы, а также системы мониторинга различных физиологических состояний животных и таких важных процессов, как переваривание и всасывание в ЖКТ биологически активных соединений поступающих с пищей, колостральный и постнатальный иммунитет и др. К числу наиболее перспективных и активно развиваемых направлений при этом относится оценка воздействия кормовых добавок на микрофлору кишечника и продуктивность птицы. В частности, несомненную важность имеет изучение сочетанного влияния кормовых до-

бавок на эмбрионы и молодняк кур яичного и мясного направления продуктивности.

Вспышки болезней пищевого происхождения у людей нередко ассоциируется с *Salmonella enterica* серовар Enteritidis (SE) (Mughini-Grass et al., 2014). Сальмонеллез, вызываемый данным патогеном, является одной из наиболее распространённых инфекционных болезней в птицеводстве в Российской Федерации (Спиридонов и др., 2015). У сельскохозяйственных животных и птиц слизистая оболочка кишечника формирует наибольшую поверхность контакта с внешней средой и представляет собой основные ворота для проникновения SE (Galán, Curtiss, 1989).

Известно, что кишечные патогены при проникновении в организм хозяина способны модулировать его транскрипционную программу (Aldridge et al., 2005; Jenner, Young, 2005). Распознавание патогена — это крайне сложный процесс, который вызывает изменения уровней экспрессии множества генов хозяина и находится в зависимости от значительного количества факторов: генотипа, иммунологического статуса хозяина, диетических факторов и т.д.

У кур первоначальное распознавание сальмонеллы в слепых отделах кишечника происходит при помощи рецепторов TLR, что сопровождается последующей индукцией генов, связанных с синтезом хемокинов, цитокинов и многих эффекторных генов, которые составляют основу системы врожденного иммунитета. Это приводит к инфильтрации гетерофилов, макрофагов и В- и Т-лимфоцитов (Barrow et al., 1987; Kogut et al., 1994).

Развитию воспалительной реакции у кур способствуют такие цитокины, как интерлейкин-1 $\beta$  (IL1 $\beta$ ), интерлейкин-6 (IL6), интерлейкин-17 (IL17A), интерлейкин-22 (IL22) и др. Кроме того, в различных органах и тканях у кур, в том числе в эпителиальных клетках кишечника, отмечена экспрессия генов, связанных с синтезом  $\beta$ -дефензинов

(AvBD), или галлинацинов (van Dijk et al., 2007), а также хемокинов — пептидов, основной функцией которых является регуляция движения лейкоцитов. В геноме курицы идентифицированы 24 гена, связанных с синтезом хемокинов, в том числе *IL8L1* (*CXCL11*, *K60*), участвующий в передаче сигналов между иммунными клетками (Moser et al., 2005). По наблюдению van Hemert (2007), у бройлеров наиболее выраженные изменения в уровне экспрессии генов, связанных с иммунитетом, были отмечено через сутки после заражения сальмонеллой.

На фоне того, что заражение кур сальмонеллой, как правило, характеризуется индукцией воспалительного ответа и повышением экспрессии множества генов, отмечено, что уровень экспрессии иных генов может быть уменьшен вследствие инфицирования данным патогеном (Coble et al., 2013). Как было отмечено (Coble et al., 2013), заражение кур 5-месячного возраста SE приводило к снижению уровня экспрессии 32 различных генов в слепых отделах кишечника и печени через 10 дней после инфицирования. Данные гены преимущественно принадлежали в двум функциональным категориям: контролирующие метаболические функции и клеточный цикл. Наибольшее угнетение экспрессии отмечалось для генов, связанных с синтезом аквапорина 8 (*AQP8*), кальбиндина 1 (*CALB1*), белка FABP1, связывающего жирные кислоты (*FABP1*).

Важно, что эпителиальная оболочка, защищая хозяина от патогенов, присутствующих в просвете кишечника, выполняет задачу по поглощению питательных веществ через многочисленные ионные каналы и транспортеры, присутствующие на апикальной кишечной эпителиальной границе. Известно, что микробные инфекции способны оказывать влияние на транспорт ионов в кишечнике птицы, что зависит от таких факторов, как иммунитет хозяина, вирулентность патогенных микроорганизмов и структурная ор-

ганизация слизистой оболочки конкретного сегмента кишечника, возраст животного (Norkina et al., 2004; Withanage et al., 2005; Larmonier et al., 2013). Исследования (Chang et al., 1990; Norkina et al., 2004; Larmonier et al., 2013) показали, что нарушение функционирования переносчиков ионов, таких как CFTR и NHE, в результате заражения кур патогенами может проявляться в виде диареи, мальабсорбции и воспаления кишечника, что приводит к низкой эффективности производства (Berkes et al., 2003).

Помимо использования антибиотиков, важным способом профилактики бактериальных заболеваний, является модуляция кишечной защиты с помощью использования пребиотиков, пробиотиков, фитобиотиков и других кормовых ингредиентов (Van den Broeck et al., 1999; Baylis, Goldmann, 2004).

Несмотря на имеющиеся в литературе данные, лучшее представление о функционировании генов, связанных с иммунитетом и метаболизмом у кур, может помочь в понимании механизмов адаптивного ответа на заражение сальмонеллой и разработке научных стратегий, направленных на максимальное улучшение состояния их здоровья и, в конечном итоге, продуктивности. В связи с этим целью настоящих прикладных исследований стало изучение эффектов заражения SE и введения в рацион фитобиотика на основе эфирных масел на экспрессию генов, связанных с иммунитетом и продуктивностью несушек.

## **Материалы и методы**

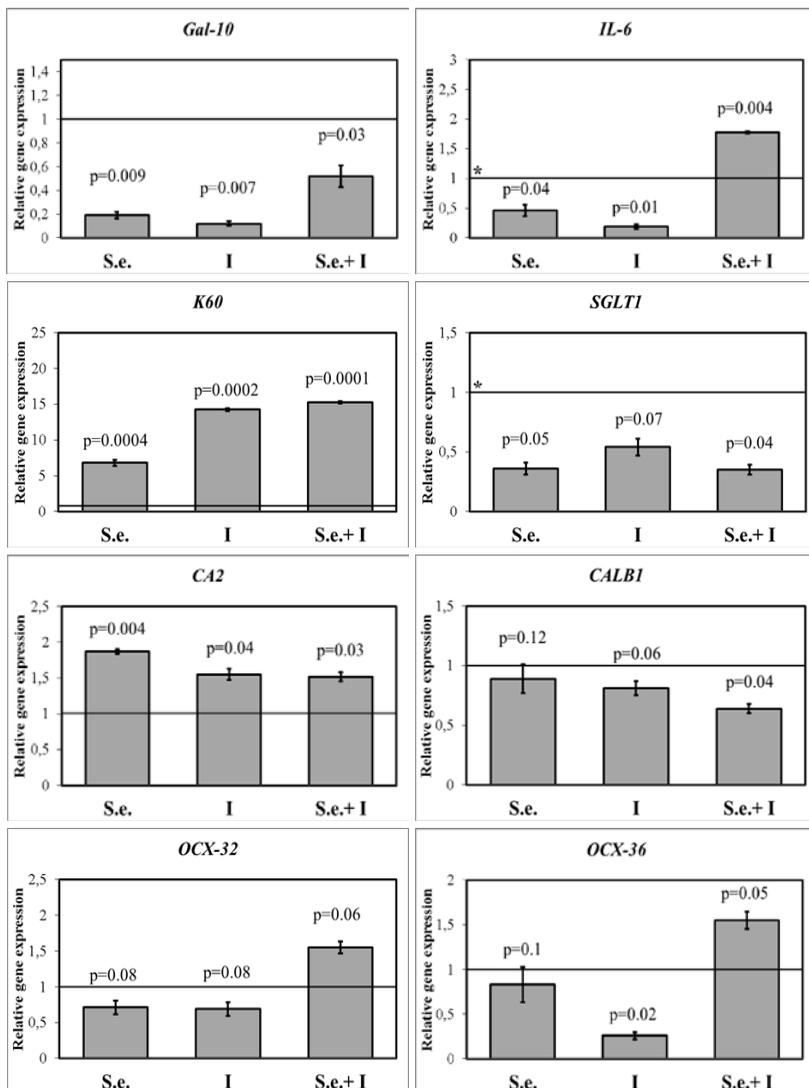
Эксперимент проводили на курах-несушках промышленного кросса «Ломанн Белый». Начало учетного периода опыта соответствовало 346 суткам жизни птиц. Птиц случайным образом распределяли на 2 аналогичные группы по 40 голов в каждой группе. Одна группа до конца эксперимента получала фитобиотик Интебио (ООО «БИО-

ТРОФ», г. Санкт-Петербург) с кормом в количестве 90 г/т комбикорма. Каждая из групп в возрасте 367 суток была разделена случайным образом на две равные части и подвержена заражению эпизоотическим штаммом SE, в результате чего были сформированы четыре группы: 1) контрольная, 2) контрольная с заражением SE, 3) Интебио и 4) Интебио с заражением SE.

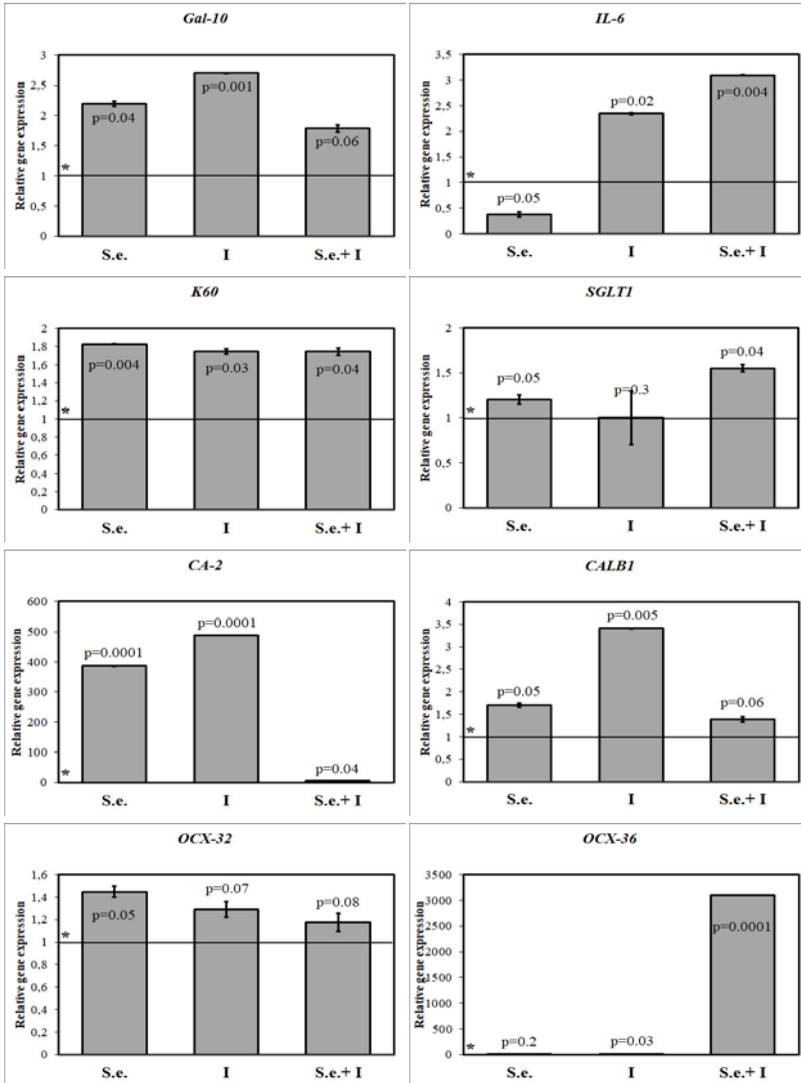
Для оценки экспрессии генов с применением метода ПЦР с обратной транскрипцией (RT-PCR) отбирали ткани слепых отростков кишечника, для анализа микробиома — содержимого слепых отростков кишечника. Исследование реакции экспрессии генов в ответ на заражение сальмонеллой было исследовано через сутки после заражения несушек, а также через 7 суток после инфицирования с целью наблюдения за отдаленными последствиями заражения. При этом были выбраны некоторые ключевые гены, связанные с иммунитетом, транспортом ионов в кишечнике и продуктивностью.

### **Результаты и обсуждение**

По результатам исследования было показано, что через сутки после заражения SE было отмечено снижение уровня экспрессии гена *AvBD10* (*Gal-10*), который связан с синтезом  $\beta$ -дефензина-10, принимающего участие в воспалительном иммунном ответе, во всех опытных вариантах по сравнению с контролем (рис. 1; до 1,92 раз). Сходные результаты были получены в работе Ramasamy et al. (2011), в которой авторы наблюдали снижение уровня экспрессии гена *AvBD10* в опыте по заражению цыплят *S. enterica* серовар Pullorum. При этом уменьшение уровня экспрессии *AvBD10* в слепых отростках кишечника при заражении сальмонеллой достигало 2,04 раза (при  $P < 0,05$ ) по сравнению с контролем без инфицирования. Ранее другими исследователями при заражении птиц сальмонеллой был так-



**Рис. 1.** Экспрессия генов, связанных с продуктивностью и иммунитетом кур-несушек, через сутки после заражения сальмонеллой в опытных группах: S.e. — *Salmonella* Enteritidis; I — Интебио; S.e. + I — *S. Enteritidis* + Интебио



**Рис. 2. Экспрессия генов, связанных с продуктивностью и иммунитетом кур-несушек, через 7 суток после заражения сальмонеллой в опытных группах: S.e. — *Salmonella* Enteritidis; I — Интебио; S.e. + I — *S. Enteritidis* + Интебио**

же зафиксирован более низкий уровень экспрессии генов дефензинов у чувствительных к инфицированию сальмонеллой кур по сравнению с устойчивыми (Sadeyen et al., 2004). Это исследование продемонстрировало различия в выраженности экспрессии генов, связанных с иммунитетом, между восприимчивыми и устойчивыми куриными линиями.

Через 7 суток после заражения сальмонеллой, напротив, наблюдалось усиление уровня экспрессии гена *AvBD10* во всех опытных вариантах по сравнению с контролем без заражения (рис. 2). Вероятно, данный ген принимал участие в обеспечении резистентности к сальмонелле у исследованных кур, как это показано другими авторами (Hasenstein, Lamont, 2007; Mukhopadhyay et al., 2010), однако активация его происходила позднее, чем через сутки после заражения сальмонеллой.

Интересно, что через сутки после заражения введение в рацион фитобиотика Интебио также способствовало снижению уровня экспрессии гена *AvBD10* в 8,3 раза (при  $P=0,007$ ) по сравнению с контролем без заражения. По-видимому, данное явление носило позитивный характер. Дело в том, что при избыточной активации иммунной системы происходит быстрое увеличение количества иммунных клеток, что вызывает существенное увеличение расхода питательных веществ, ослабление организма и снижение продуктивности. Противовоспалительное действие эфирных масел было отмечено ранее другими исследователями (Yang et al., 2015; Крюков, Глебова, 2017).

Однако через неделю после заражения, напротив, наблюдалось наибольшее усиление экспрессии гена *AvBD10* в варианте с введением Интебио без заражения (при  $P=0,001$ ) по сравнению с контролем и вариантами с инфицированием, что указывает на активирующее влияние фитобиотика на экспрессию данного гена. Интересно, что че-

рез сутки и через 7 суток после заражения SE было отмечено увеличение уровня экспрессии гена *IL6* в вариантах с введением Интебио и инфицированием сальмонеллой по сравнению с другими вариантами (рис. 2). При этом в варианте с заражением сальмонеллой без введения в рацион фитобиотика наблюдалось снижение уровня экспрессии *IL6* через сутки в 2,2 раза ( $P=0,04$ ) и через 7 суток в 2,7 раза ( $P=0,05$ ) по сравнению с контролем без инфицирования. Вероятно, данный ген в настоящем эксперименте не принимал участие в обеспечении резистентности к сальмонелле у исследованных кур, тогда как применение препарата Интебио могло положительно сказаться на увеличении уровня резистентности к сальмонелле.

Тем не менее в других работах (Berndt et al., 2007, Srhanova et al., 2011) сообщалось об увеличении количества цитокинов и иммунных белков, таких как  $IL1\beta$ ,  $IL6$ ,  $IL8$ ,  $IL12$ ,  $IL17$ ,  $IL18$ ,  $IL22$ ,  $IL23$ ,  $IFN\gamma$  и  $LITAF$ , после заражения кур сальмонеллой, что вступает в некоторое противоречие с результатами описываемых здесь исследований.

В тоже время через сутки после заражения SE (рис. 1) было отмечено резкое увеличение (до 15,3 раз при  $P=0,0001$ ) уровня экспрессии гена *IL8L1* во всех опытных вариантах по сравнению с контролем. Интересно, что введение в рацион фитобиотика Интебио в группе без заражения также способствовало резкому увеличению уровня экспрессии гена *IL8L1* (при  $P=0,0002$ ) по сравнению с контролем без заражения, что может свидетельствовать о позитивной роли фитобиотика в усилении защитных барьеров организма птицы. Ранее Setta et al. (2012) при инфицировании SE бройлеров кросса Росс 308 наблюдали значительное увеличение уровня экспрессии хемокинов *IL8L1* и *IL8L2* (*CXCLi2*) в миндалинах слепой кишки по сравнению с вариантом без заражения, а также с инфицированием другими серотипами сальмонеллы, протестиро-

ванными в этом исследовании. Повышение уровня экспрессии гена *IL8L1* достигало 3,13 раза (при  $P < 0,05$ ) по сравнению с контролем без заражения. Кроме того, van Nempt (2007) в ответ на заражение SE наблюдал усиление экспрессии генов, связанных с синтезом СХС хемокинов, в том числе *IL8L1*, в тонком кишечнике кур двух линий (быстро растущей линии А и медленно растущей линии В).

Примечательно, что через 7 суток после заражения SE (рис. 2) увеличение уровня экспрессии гена *IL8L1* во всех вариантах было не таким выраженным, как через сутки после заражения, и не превышало по сравнению с контролем 1,82 раза ( $P = 0,004$ ).

Таким образом, анализируя действие фитобиотика на активацию генов иммунитета, можно заключить, что через сутки после инфицирования адаптивный ответ на заражение сальмонеллой на фоне применения Интебио заключался в усилении уровня экспрессии таких генов, как *AvBD10*, *IL6* и *IL8L1*, по сравнению с группой с инфицированием без введения фитобиотика.

Через сутки после заражения SE (рис. 1) было отмечено снижение уровня экспрессии гена *SLC5A1* (*SGLT1*) в вариантах с заражением сальмонеллой по сравнению с контролем без заражения. Уровень снижения экспрессии в варианте с заражением сальмонеллой был снижен в 2,8 раза ( $P = 0,05$ ), а с инфицированием сальмонеллой и одновременным введением Интебио — в 2,9 раз ( $P = 0,04$ ). *SLC5A1* представляет собой мембранный белок, натрий-зависимый глюкозный котранспортер, который входит в семейство переносчиков глюкозы и является высокоаффинным котранспортером  $\text{Na}^+$ /глюкозы (Lehmann, Hornby, 2016). Известно, что транспорт глюкозы и галактозы через энтероциты кишечника, обеспечивает эффективный ионный гомеостаз и является первым шагом в поглощении углеводов и кормов (Wright, Turk, 2004; Wright et al., 2004). Веро-

ятно, кишечная инфекция, вызванная сальмонеллой, являясь результатом взаимодействия между различными факторами вирулентности патогена и защитными механизмами хозяина, может приводить к изменению процессов транспорта питательных веществ в кишечнике. Подобные исследования ранее было проведено на мышах с тяжелым комбинированным иммунодефицитом (Bertelsen et al., 2003). Было показано, что инфицирование *S. enterica* серовар Турхимурium способствовало, напротив, быстрому увеличению транспорта ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и цАМФ.

Через 7 суток после заражения SE (рис. 2) наблюдалось восстановление уровня экспрессии гена *SLC5A1* и даже некоторое его усиление в обоих вариантах с заражением сальмонеллой.

Через сутки после заражения SE (рис. 1) было отмечено некоторое увеличение уровня экспрессии гена *CA2* (*Ca2*) во всех опытных вариантах по сравнению с контролем без заражения. Данный ген связан с синтезом фермента карбоангидразы II, участвующего в образовании  $\text{CaCO}_3$ , и, как следствие, оказывает влияние на кальцификацию яичной скорлупы (Gutowska, Mitchell, 1945). Через 7 суток после заражения происходила резкая активация экспрессии гена *CA2* в варианте с заражением сальмонеллой в 388 раз ( $P=0,0001$ ) по сравнению с контролем, а также в варианте с применением Интебио без заражения — в 488,9 раз ( $P=0,0001$ ) по сравнению с контролем.

В литературе отсутствуют данные об изменении уровня экспрессии гена *CA2* в ответ на заражение SE. Однако существуют данные об активации гена *CA2* в ответ на скормливание цыплятам-бройлерам карбаматного пестицида тирам, вызывающего у цыплят дисхондроплазию большеберцовой кости (Tian et al., 2009).

Интересно возрастание уровня экспрессии гена *CALB1* в 3,4 раза (при  $P=0,005$ ) у кур из группы без заражения с

применением Интебио по сравнению с контролем без заражения. Это может свидетельствовать о позитивной роли введения в рацион несущек Интебио, поскольку данный ген связан с синтезом кальбиндина — белка, участвующего в транспорте кальция. Показана связь данного гена с механическими свойствами яичной скорлупы (Sun et al., 2016). Кроме того продемонстрировано (Sun et al., 2016), что у кур, несущих яйца с прочной скорлупой, уровень экспрессии *CALBI* в яйцеводах был в 3 раза выше (при  $P < 0,05$ ), чем у кур, от которых получали яйца с непрочной скорлупой.

В исследовании отмечена активация экспрессии гена *RARRES1* (*OCX-32*) в ответ на заражение сальмонеллой по сравнению с контролем без заражения через 7 суток после инфицирования. Ген *RARRES1* связан с синтезом овокаликсина-32 — белка массой 32 кДа, входящего в состав матрикса яичной скорлупы. Известно, что яичная скорлупа птиц, являясь высокоупорядоченным биоминералом, состоящим из карбоната кальция, связанного с органическим матриксом, обеспечивает развивающемуся эмбриону защиту от колонизации патогенной микрофлорой (Gautron, Nys, 2007). В исследованиях (Gautron, Nys, 2007) было проведено изучение функций рекомбинантного белка *OCX-32*. Белок был извлечен из клеток *Escherichia coli* и очищен с помощью аффинной хроматографии. Было показано, что *OCX-32* оказывал ингибирующее воздействие на рост *Bacillus subtilis* (Xing et al., 2007). По результатам настоящих исследований можно заключить, что отдаленным последствием заражения несущек патогенами может являться активация генов, связанных с увеличением защитных свойств яичной скорлупы.

Интересные данные были получены в результате изучения экспрессии гена *BPIFB3* (*OCX-36*), связанного с синтезом овокаликсина-36 — белка яичной скорлупы массой

36 кДа. Овокаликсин-36 секретируется в яйцеводах, его экспрессия, как правило, регулируется во время активной фазы кальцификации скорлупы (Gautron et al., 2007; Dunn et al., 2009). Экспрессия гена *BPIFB3* отмечена также в тканях кишечника (Chiang et al., 2011). В настоящем эксперименте было отмечено существенное увеличение уровня экспрессии гена *BPIFB3* в вариантах с применением Интебио без заражения и применения Интебио с заражением через 7 суток после инфицирования. Эти данные представляют большую ценность, поскольку известно (Dunn et al., 2009), что функционирование гена *BPIFB3* было связано с толщиной мамиллярного слоя скорлупы. Yang et al. (2007) продемонстрировали, что ген *BPIFB3* является потенциальным молекулярным маркером, связанным с различными темпами производства яиц. Данные результаты демонстрируют влияние гена *BPIFB3* на продуктивность несушек. Кроме того, известно, что овокаликсин-36 обладает антимикробной активностью и участвует в естественной защите эмбриона (Gautron et al., 2007).

Мы не встретили в литературе данных об изменении уровня экспрессии гена *BPIFB3* в ответ на заражение SE, что свидетельствует о существенной научной новизне полученных результатов.

### **Заключение**

Таким образом, в прикладном молекулярно-генетическом исследовании было показано, что заражение кур-несушек SE и введение в рацион фитобиотика Интебио на основе эфирных масел оказывали как угнетающее, так и активирующее воздействие на уровень экспрессии некоторых генов, связанных с иммунитетом, транспортом молекул и ионов в кишечнике и продуктивностью. Изменения в уровне экспрессии данных генов наблюдались как через сутки, так и через 7 суток после заражения сальмонеллой.

Судя по комплексной оценке данных, добавка создает определенный мобилизующий статус напряженности иммунной системы за счет активации ряда ответственных генов еще до инфицирования, и, как следствие, это находит отражение в поддержании яичной продуктивности на уровне здоровой птицы.

***Исследования проведены при поддержке гранта Правительством Российской Федерации (договор № 14. W03.31.0013 от 20 февраля 2017 г.).***

### Список литературы

Крюков В.С., Глебова И.В. Антибактериальное действие эфирных масел лекарственных растений (обзор). Проблемы биологии продуктивных животных. 2017. № 3. С. 5–25.

Спиридонов А.Н., Петрова О.Н., Ирза В.Н., Караулов А.К., Никифоров В.В. Об эпизоотической ситуации по инфекционным болезням птиц на основе анализа данных ветеринарной отчетности. Ветеринария сегодня. 2015. № 4. С. 18–28.

Фисинин В.И., Егоров И.А., Лаптев Г.Ю., Никонов И.Н., Йылдырым Е.А., Ильина Л.А., Филиппова В.А., Новикова Н.И. Выявление микроорганизмов в куриных эмбрионах методом T-RFLP. Птица и птицепродукты. 2015. № 6. С. 24–26.

Aldridge PD, Gray MA, Hirst BH, Khan CM. Who's talking to whom? Epithelial-bacterial pathogen interactions. Mol Microbiol. 2005; 55(3):655–663.

Barrow PA, Huggins MB, Lovell MA, Simpson JM. Observations on the pathogenesis of experimental *Salmonella typhimurium* infection in chickens. Res Vet Sci. 1987; 42(2):194–199.

Baylis M, Goldmann W. The genetics of scrapie in sheep and goats. Curr Mol Med. 2004; 4(4):385–396.

Berkes J, Viswanathan VK, Savkovic SD, Hecht G. Intestinal epithelial responses to enteric pathogens: effects on the tight junction barrier, ion transport, and inflammation. Gut. 2003; 52(3):439–451.

Berndt A, Wilhelm A, Jugert C, Pieper J, Sachse K, Methner U. Chicken cecum immune response to *Salmonella enterica* serovars of

different levels of invasiveness. *Infect Immun.* 2007; 75(12):5993–6007.

Bertelsen LS, Paesold G, Eckmann L, Barrett KE. *Salmonella* infection induces a hypersecretory phenotype in human intestinal xenografts by inducing cyclooxygenase 2. *Infect Immun.* 2003; 71(4):2102–2109.

Chang EB, Musch MW, Mayer L. Interleukins 1 and 3 stimulate anion secretion in chicken intestine. *Gastroenterology.* 1990; 98(6):1518–1524.

Chiang SC, Veldhuizen EJ, Barnes FA, Craven CJ, Haagsman HP, Bingle CD. Identification and characterisation of the BPI/LBP/PLUNC-like gene repertoire in chickens reveals the absence of a LBP gene. *Dev Comp Immunol.* 2011; 35(3):285–295.

Coble DJ, Sandford EE, Ji T, Abernathy J, Fleming D, Zhao H, Lamont SJ. Impacts of *Salmonella enteritidis* infection on liver transcriptome in broilers. *Genesis.* 2013; 51(5):357–364.

Crhanova M, Hradecka H, Faldynova M, Matulova M, Havlickova H, Sisak F, Rychlik I. Immune response of chicken gut to natural colonization by gut microflora and to *Salmonella enterica* serovar Enteritidis infection. *Infect Immun.* 2011; 79(7):2755–2763.

Dunn IC, Joseph NT, Bain M, Edmond A, Wilson PW, Milona P, Nys Y, Gautron J, Schmutz M, Preisinger R, Waddington D. Polymorphisms in eggshell organic matrix genes are associated with eggshell quality measurements in pedigree Rhode Island Red hens. *Anim Genet.* 2009; 40:110–114.

Galán JE, Curtiss R 3rd. Cloning and molecular characterization of genes whose products allow *Salmonella typhimurium* to penetrate tissue culture cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989; 86:6383–6387.

Gautron J, Nys Y. Function of eggshell matrix proteins. In: R. Huopalahti, R. Lopez-Fandino, M. Anton and R. Schade (eds.), *Bioactive Egg Compounds*. Berlin: Springer-Verlag, 2007, Ch. 17, pp. 109–115.

Gautron J, Murayama E, Vignal A, Morisson M, McKee MD, Réhault S, Labas V, Belghazi M, Vidal ML, Nys Y, Hincke MT. Cloning of ovocalyxin-36, a novel chicken eggshell protein related to lipopolysaccharide-binding proteins, bactericidal permeability-

increasing proteins, and plunc family proteins. *J Biol Chem.* 2007; 282:5273–5286.

Gutowaska MS, Mitchell CA. Carbonic anhydrase in the calcification of the egg shell. *Poult Sci.* 1945; 24:159–167.

Ilina LA, Yildirim EA, Nikonov IN, Filippova VA, Laptev GY, Novikova NI, Grozina AA, Lenkova TN, Manukyan VA, Egorov IA, Fisinin VI. Metagenomic bacterial community profiles of chicken embryo gastrointestinal tract by using T-RFLP analysis. *Dokl Biochem Biophys.* 2016; 466:47–51.

International Chicken Genome Sequencing Consortium. Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. *Nature.* 2004; 432:695–716.

Jenner RG, Young RA. Insights into host responses against pathogens from transcriptional profiling. *Nat Rev Microbiol.* 2005; 3:281–294.

Kogut MH, Tellez GI, McGruder ED, Hargis BM, Williams JD, Corrier DE, DeLoach JR. Heterophils are decisive components in the early responses of chickens to *Salmonella enteritidis* infections. *Microb Pathog.* 1994; 16:141–151.

Larmonier CB, Laubitz D, Hill FM, Shehab KW, Lipinski L, Midura-Kiela MT, McFadden RM, Ramalingam R, Hassan KA, Golebiewski M, Besselsen DG, Ghishan FK, Kiela PR. Reduced colonic microbial diversity is associated with colitis in NHE3-deficient mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2013; 305:G667–G677.

Lehmann A, Hornby PJ. Intestinal SGLT1 in metabolic health and disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2016; 310:G887–G898.

Moser B, Wolf M, Walz A, Loetscher P. Chemokines: multiple levels of leukocyte migration control. *Trends Immunol.* 2004; 25:75–84.

Mughini-Gras L, Enserink R, Friesema I, Heck M, van Duynhoven Y, van Pelt W. Risk factors for human salmonellosis originating from pigs, cattle, broiler chickens and egg laying hens: a combined case-control and source attribution analysis. *PLoS One.* 2014; 9(2):e87933.

Mukhopadhyay CS, Kumar R, Brah GS. Gallinacin and fowlicidin: two promising antimicrobial peptides in chickens — a review. *Vet World*. 2010; 3(6): 297–300.

Norkina O, Burnett TG, De Lisle RC. Bacterial overgrowth in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator null mouse small intestine. *Infect Immun*. 2004; 72(10):6040–6049.

Ramasamy KT, Verma P, Reddy MR. Differential gene expression of antimicrobial peptides  $\beta$  defensins in the gastrointestinal tract of *Salmonella* serovar Pullorum infected broiler chickens. *Vet Res Commun*. 2012; 36(1):57–62.

Sadeyen JR, Trotureau J, Velge P, Marly J, Beaumont C, Barrow PA, Bumstead N, Lalmanach AC. *Salmonella* carrier state in chicken: comparison of expression of immune response genes between susceptible and resistant animals. *Microbes Infect*. 2004; 6(14):1278–1286.

Setta AM, Barrow PA, Kaiser P, Jones MA. Early immune dynamics following infection with *Salmonella enterica* serovars Enteritidis, Infantis, Pullorum and Gallinarum: cytokine and chemokine gene expression profile and cellular changes of chicken cecal tonsils. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2012; 35(5):397–410.

Sun C, Duan Z, Qu L, Zheng J, Yang N, Xu G. Expression analysis for candidate genes associated with eggshell mechanical property. *J Integr Agric* 2016; 15(2):397–402.

Van den Broeck W, Cox E, Goddeeris BM. Receptor-dependent immune responses in pigs after oral immunization with F4 fimbriae. *Infect Immun*. 1999; 67(2):520–526.

van Dijk A, Veldhuizen EJ, Kalkhove SI, Tjeerdsma-van Bokhoven JL, Romijn RA, Haagsman HP. The beta-defensin gallinacin-6 is expressed in the chicken digestive tract and has antimicrobial activity against food-borne pathogens. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007; 51(3):912–922.

van Hemert S. Gene expression profiling of chicken intestinal host. PhD thesis. Wageningen: Wageningen University, 2007. 159 p.

Withanage GS, Wigley P, Kaiser P, Mastroeni P, Brooks H, Powers C, Beal R, Barrow P, Maskell D, McConnell I. Cytokine and chemokine responses associated with clearance of a primary *Salmonella enterica* serovar Typhimurium infection in the chicken and in

protective immunity to rechallenge. *Infect Immun.* 2005; 73(8):5173–5182.

Wright EM, Turk E. The sodium/glucose cotransport family SLC5. *Pflugers Arch.* 2004; 447(5):510–518.

Wright EM, Loo DD, Hirayama BA, Turk E. Surprising versatility of Na<sup>+</sup>-glucose cotransporters: SLC5. *Physiology (Bethesda).* 2004; 19:370–376.

Xing J, Wellman-Labadie O, Gautron J, Hincke MT. Recombinant eggshell ovocalyxin-32: expression, purification and biological activity of the glutathione S-transferase fusion protein. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol.* 2007; 147(2):172–177.

Yang C, Chowdhury MA, Huo Y, Gong J. Phytogetic compounds as alternatives to in-feed antibiotics: potentials and challenges in application. *Pathogens.* 2015 Mar 23; 4(1):137–156.

Yang KT, Lin CY, Liou JS, Fan YH, Chiou SH, Huang CW, Wu CP, Lin EC, Chen CF, Lee YP, Lee WC, Ding ST, Cheng WT, Huang MC. Differentially expressed transcripts in shell glands from low and high egg production strains of chickens using cDNA microarrays. *Anim Reprod Sci.* 2007; 101(1–2):113–124.

## **Current molecular genetic and genomic technologies in the field of studying the avian biology.**

### **1. Applied research**

*Romanov M.N.,<sup>1,2</sup> Laptev G.Yu.,<sup>3</sup> Yildirim E.A.,<sup>3</sup> Ilina L.A.,<sup>3</sup>  
Filippova V.A.,<sup>3</sup> Kochish I.I.,<sup>1</sup> Dubrovin A.V.,<sup>3</sup>  
Novikova N.I.,<sup>3</sup> Dunyashev T.P.,<sup>3</sup> Smolensky V.I.,<sup>1</sup>  
Nikonov I.N.,<sup>1</sup> Selina M.V.,<sup>1</sup> Surai P.F.<sup>1, 4, 5, 6</sup>*

<sup>1</sup> K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia;

<sup>2</sup> University of Kent, Canterbury, UK;

<sup>3</sup> OOO BIOTROF+, St Petersburg, Russia;

<sup>4</sup> Szent Istvan University, Gödöllo, Hungary;

<sup>5</sup> Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria;

<sup>6</sup> St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, St. Petersburg, Russia

## **Abstract**

Modern high-performance molecular genetic and genomic technologies are currently widely used in applied research on poultry. In the present molecular genetic study, the effects of infection of laying hens with *Salmonella* and the feed additive Intebio, an phytobiotic based on essential oils, were studied. Both the inhibitory and the activating influence of these factors on the level of expression of a number of genes associated with immunity, transport of molecules and ions in the intestine, and productivity were shown both in 1 day and 7 days post infection. The feed additive can promote the formation of the mobilizing status of the immune system tension by activating key genes.

**Key words:** molecular genetic technologies, gene expression, RT-PCR, intestines, laying hens, phytobiotic, immunity

**СОВРЕМЕННЫЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ  
И ГЕНОМНЫЕ ТЕХНОЛОГИИ  
В ОБЛАСТИ ИЗУЧЕНИЯ БИОЛОГИИ ПТИЦ.  
2. ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ**

**Романов М.Н.,<sup>1, 2</sup> Киазим Л.,<sup>2</sup>  
О'Коннор Р.,<sup>2</sup> Гриффин Д.К.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», Москва, Россия;

<sup>2</sup> Университет Кента, Кентербери, Великобритания.

E-mail: m.romanov@kent.ac.uk

**Аннотация**

На примере анализа цитогенетических карт и хромосомных перестроек восьми видов птиц показана возможность успешного применения современных геномных методов и технологий для выявления общих и специфических особенностей геномной организации и углубленного понимания фундаментальных закономерностей эволюции птичьих геномов. Предложена интерпретация наблюдаемой геномной вариативности и специфических хромосомных перестроек, которая согласуется с имеющейся информацией об общей организации и изменчивости геномов тех или иных видов и систематических групп птиц.

Ключевые слова: геномные технологии, хромосомные перестройки, геномы птиц, эволюция геномов

**Введение**

Генерирование первой доступной геномной последовательности птиц для домашней курицы (International Chicken Genome Sequencing Consortium, 2004) послужило

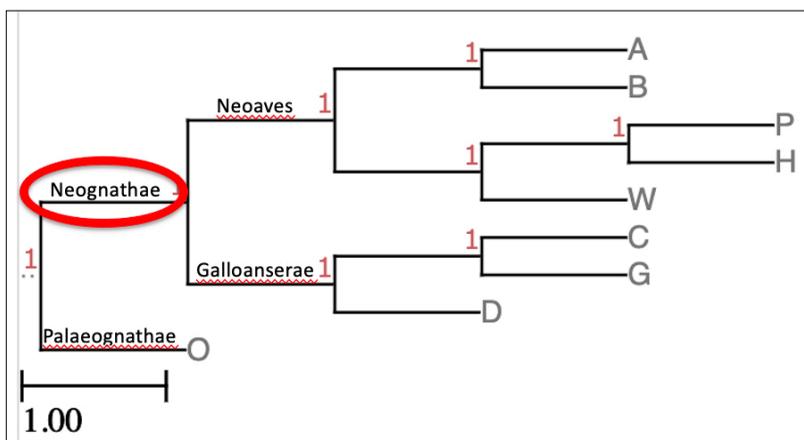
отправной точкой для последующего получения геномных карт индейки и зебровой амадины (Romanov, Dodgson, 2005, 2006) и последовательностей их геномов. В дальнейшем были секвенированы еще 48 птичьих геномов (Zhang et al., 2014), что, наряду с прогрессом в современных высокопроизводительных молекулярно-генетических и геномных методах и технологиях, позволило сделать значительный рывок в области широкомасштабных фундаментальных исследований, проводимых на птицах. Так, были получены новые, углубленные сведения о макроэволюции и филогенетике класса птиц (Zhang et al., 2014; Jarvis et al., 2014; Romanov et al., 2014b).

Неослабевающий интерес в сфере фундаментальных исследований птиц сохраняется и включает такие направления, как изучение общих и частных аспектов устройства птичьего генома, его функционирования и эволюции (Damas et al., 2014). В частности, одним из ключевых моментов научной работы в этой области является выяснение хромосомных перестроек, как внутривхромосомных, так и межхромосомных, что позволяет представить конкретные пути эволюционирования геномов птиц (Romanov et al., 2014a, b). Основной задачей данного исследования было проведение поиска и анализа эволюционных изменений (хромосомных перестроек) в макрохромосомах на примере нескольких видов птиц, геном которых наиболее изучен к настоящему времени.

## **Материалы и методы**

С целью изучения характера хромосомных перестроек в макрохромосомах птиц были отобраны восемь видов, представляющих шесть из 32 отрядов новонепных птиц (неогнат): черный дрозд (*Turdus merula*) и атлантическая канарейка (*Serinus canaria*), оба представителя отряда воробьинообразных; евразийский вальдшнеп (*Scolopax*

*rusticola*; отряд ржанкообразных); курица (*Gallus gallus*) и цесарка (*Numida meleagris*), оба представители отряда курообразных; пустынная дрофа (*Chlamydotis undulata*; отряд дрофообразных); сизый голубь (*Columba livia*; отряд голубеобразных) и домашняя утка (*Anas platyrhynchos*; отряд гусеобразных) (Kiazim et al., неопубл. дан.). Положение восьми видов на филогенетическом дереве птиц (Prum et al., 2015) условно представлено на рис. 1, построенном с помощью программы ETE Toolkit (Huerta-Cepas et al., 2016).



**Рис. 1. Филогенетическое дерево для восьми представителей новонепных птиц:** канарейки (А), дрозда (В), голубя (Р), дрофы (Н), вальдшнепа (W), курицы (С), цесарки (G) и утки (D). Гипотетический предок новонепных птиц (Neognathae) обведен красным овалом. В качестве аутгруппы использован страус (O), представитель бескилевых птиц (Paleognathae)

Для скрининга хромосом восьми видов методом межвидовой флуоресцентной гибридизации *in situ* (FISH) был использован универсальный птичий гибридизирующий набор зондов, в качестве которых использовались куриные

БАК-клоны (Damas et al., 2017; O'Connor et al., 2018). С помощью этого набора предполагалось проследить эволюцию макрохромосом посредством создания сравнительных цитогенетических карт. Этот подход позволяет идентифицировать такие перестройки хромосом, как разрывы, слияния, дупликации и инверсии, все из которых вносят вклад в хромосомные изменения, влияющие на видообразование и филогенетические отношения между видами. На основе полученных сравнительных цитогенетических карт (Kiazim et al., неопубл. дан.) была проведена реконструкция генома гипотетического предка новонебных птиц посредством программы MLGO (Hu et al., 2014). Анализ наблюдаемых хромосомных перестроек у восьми видов относительно предкового генома проводили визуально и с использованием программы GRIMM (Tesler, 2002).

### **Результаты и обсуждение**

Обобщенная информация о хромосомных перестройках, выявленных для восьми изученных видов птиц, представлена в табл. 1. Наименьшее количество всех перестроек было характерно для курицы (4) и цесарки (6), представителей отряда курообразных — более ранней систематической группы в эволюции птиц. Наибольшее количество всех хромосомных перестроек (16) обнаружено у вальдшнепа.

Для дальнейшего анализа хромосомных перестроек были выбраны пять признаков (факторов), имеющих индивидуальные значения для каждого из восьми сравниваемых видов птиц:  $R_1$  — степень успешности межвидовой FISH-гибридизации,  $R_2$  — общее количество всех перестроек,  $R_3$  — число всех внутривидовых перестроек,  $R_4$  — число всех межхромосомных перестроек и  $R_5$  — отношение двойного набора хромосом вида к типичному птичьему кариотипу, принятому за 80 хромосом ( $2n/80$ ).

Таблица 1

**Внутрихромосомные (в/х) и межхромосомные (м/х)  
перестройки в геномах восьми видов птиц**

Вид	Кариотип 2n)	R1, %	Инверсии	Дуплика- ции	Транс- лока- ции		Слияния	Разрывы	Всего пере- строек		
					в/х	м/ х			в/х	м/х	все х
Курица	78	100	3	–	–	–	1	–	3	1	4
Цесар- ка	78	100	4	–	–	–	2	–	4	2	6
Утка	80	85,1	8	–	–	–	–	–	8	0	8
Голубь	80	93,2	11	–	–	–	–	–	11	0	11
Дрофа	78	87,8	9	–	–	–	–	–	9	0	9
Дрозд	80	78,4	9	–	–	–	–	1	9	1	10
Кана- рейка	80	73,0	4	2	2	2	–	1	8	3	11
Вальд- шнеп	96	73,0	8	–	–	3	–	5	8	8	16

$R_1$  — степень успешности межвидовой FISH-гибридизации с помощью куриных зондов.

Как видно из табл. 1, каждый из этих пяти факторов имеет свою специфическую изменчивость и характер (величину и разброс) значений. Например, фактор  $R_4$  для утки, голубя и дрофы равен 0, поскольку у этих видов не были найдены межхромосомные перестройки; если взять двойной набор хромосом (2n), используемый при вычислении показателя  $R_5$ , то здесь мы имеем, как правило, лишь два имеющихся значения (78 и 80), и только вальдшнеп (96) выбивается из этого ряда, и т.п. в случае других факторов. Другими словами, интегрально обобщить такие раз-

нокачественные факторы в какой-либо один показатель довольно затруднительно. Поэтому в качестве решения этой проблемы было предложено сделать преобразование этих очень разнокачественных данных для пяти факторов посредством их ранжирования. Например, вместо имеющих значения числа всех межхромосомных перестроек, которые используются в качестве  $R_4$ ,

1  
2  
0  
0  
0  
1  
3  
8

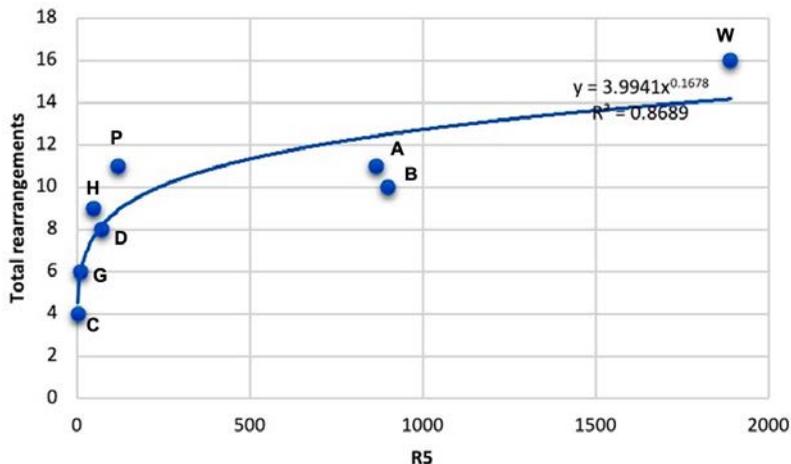
можно присвоить соответствующие ранги для каждого значения (в порядке возрастания исходных величин от 0 до 8):

2  
3  
1  
1  
1  
2  
4  
5

Аналогичные преобразования (ранжирования) были выполнены для остальных четырех факторов. Затем преобразованные значения для пяти факторов были перемножены между собой для каждого вида, что дало новый интегральный показатель ( $R_5$ ).

Далее был построен график для восьми видов, где по оси  $y$  отложено общее количество всех перестроек ( $R_2$ ), а по оси  $x$  — интегральный показатель  $R_5$  (рис. 2). Для полученных на графике рис. 2 восьми точек затем была вы-

брана степенная функция, которая дала весьма высокую корреляцию ( $R=0,9321$ ) и которую можно интерпретировать как адекватную зависимость для отражения вариативности восьми геномов птиц относительно друг друга и в эволюционном плане в целом.



**Рис. 2. Графическая зависимость интегрального показателя геномной вариативности и специфических хромосомных перестроек ( $R5$ ; ось  $x$ ) от общего количества всех перестроек (ось  $y$ ) для восьми представителей новонебных птиц (*Neognathae*): курицы (C), цесарки (G), утки (D), дрофы (H), голубя (P), канарейки (A), дрозда (B) и вальдшнепа (W)**

Интересно, что на графике рис. 2 мы имеем близкое расположение друг к другу курицы и цесарки (C, G), принадлежащих к отряду курообразных, и канарейки и дрозда (A, B) из отряда воробьинообразных, при очень удаленном местоположении вальдшнепа (W; отряд ржанкообразных), что хорошо согласуется с филогенией, принятой нами для данных восьми видов (рис. 1). Голубь (P), в принципе, тоже занимает весьма обособленное положение, и рядом с ним располагается дрофа (H; рис. 2), что также вписывает-

ся в принятую филогению (рис. 1). В то же время утка (D) более приближена к этим двум видам, удаляясь от курицы и цесарки (рис. 2), с которыми утка таксономически образует общую кладу — надотряд Galloanserae (рис. 1). Наблюдаемые некоторые расхождения в распределении восьми видов на графике рис. 2 с общепринятыми филогенетическими концепциями для птиц могут быть объяснены, поскольку в настоящей работе применялся FISH-метод, от которого довольно трудно ожидать очень высокой точности. Тем не менее даже с помощью этого метода мы смогли увидеть некоторые общие закономерности, характерные для принятой таксономии (филогении) и эволюции геномов данных видов.

Предлагаемая интерпретация геномной вариативности и специфических хромосомных перестроек (рис. 2) согласуется также с накопленными к настоящему времени сведениями об общей организации и изменчивости геномов тех или иных видов и систематических групп птиц (Zhang et al., 2014; Romanov et al., 2014a, b). Так, геном курицы, занимающей на графике рис. 2 наиболее низкую позицию (с минимальными показателями вариативности и перестроек), рассматривается как наиболее близкий к предковому геному птиц (Romanov et al., 2014b), в то время как геномы воробьинообразных, как самого разнообразного и в эволюционном плане более недавнего отряда птиц, обнаруживают очень высокую скорость эволюционирования (Zhang et al., 2014; Jarvis et al., 2014). По-видимому, геном вальдшнепа из отряда ржанкообразных характеризуется очень высокой степенью хромосомных изменений, что выражается как в повышенном диплоидном наборе хромосом, так и в большом числе хромосомных перестроек, как это продемонстрировано в настоящем исследовании на примере генома вальдшнепа и не обнаружено нами в имеющихся литературных источниках.

## Список литературы

Damas J, Farré M, Lithgow P, Romanov M, Li C, Griffin DK, Larkin DM. Towards the construction of avian chromosome assemblies. 20th International Chromosome Conference (Canterbury), 2014, p. 69, Abstract O21.

Damas J, O'Connor R, Farré M, Lenis VPE, Martell HJ, Mandawala A, Fowler K, Joseph S, Swain MT, Griffin DK, Larkin DM. Upgrading short-read animal genome assemblies to chromosome level using comparative genomics and a universal probe set. *Genome Res.* 2017; 27(5):875–884.

Hu F, Lin Y, Tang J. MLGO: phylogeny reconstruction and ancestral inference from gene-order data. *BMC Bioinformatics.* 2014; 15(1):354.

Huerta-Cepas J, Serra F, Bork P. ETE 3: reconstruction, analysis, and visualization of phylogenomic data. *Mol Biol Evol.* 2016; 33(6):1635–1638.

International Chicken Genome Sequencing Consortium. Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution. *Nature.* 2004; 432:695–716.

Jarvis ED, Mirarab S, Aberer AJ, Li B, Houde P, Li C, Ho SY, Faircloth BC, Nabholz B, Howard JT, Suh A, Weber CC, da Fonseca RR, Li J, Zhang F, Li H, Zhou L, Narula N, Liu L, Ganapathy G, Boussau B, Bayzid MS, Zavidovych V, Subramanian S, Gabaldón T, Capella-Gutiérrez S, Huerta-Cepas J, Rekepalli B, Munch K et al. Whole-genome analyses resolve early branches in the tree of life of modern birds. *Science.* 2014; 346(6215):1320–1331.

O'Connor RE, Farré M, Joseph S, Damas J, Kiazim L, Jennings R, Bennett S, Slack EA, Allanson E, Larkin DM, Griffin DK. Chromosome-level assembly reveals extensive rearrangement in saker falcon and budgerigar, but not ostrich, genomes. *Genome Biol.* 2018; 19(1):171.

Prum RO, Berv JS, Dornburg A, Field DJ, Townsend JP, Lemmon EM, Lemmon AR. A comprehensive phylogeny of birds (*Aves*) using targeted next-generation DNA sequencing. *Nature.* 2015; 526(7574):569–573.

Romanov MN, Dodgson JB. Development of a physical and comparative map of the turkey genome. International Plant and Animal Genome XIII Conference (San Diego, CA), 2005, p. 69, Abstract W297.

Romanov MN, Dodgson JB. Cross-species overgo hybridization and comparative physical mapping within avian genomes. *Anim Genet.* 2006; 37(4):397–399.

Romanov MN, Farré-Belmonte M, Lithgow PE, O'Connor B, Fowler KE, Larkin DM, Griffin DK. *In silico* reconstruction of chromosomal rearrangements and an avian ancestral karyotype. International Plant and Animal Genome XXII Conference (San Diego, CA), 2014a, Abstract P1106 (San Diego, CA, USA).

Romanov MN, Farré M, Lithgow PE, Fowler KE, Skinner BM, O'Connor R, Fonseka G, Backström N, Matsuda Y, Nishida C, Houde P, Jarvis ED, Ellegren H, Burt DW, Larkin DM, Griffin DK. Reconstruction of gross avian genome structure, organization and evolution suggests that the chicken lineage most closely resembles the dinosaur avian ancestor. *BMC Genomics.* 2014b; 15(1):1060.

Tesler G. GRIMM: genome rearrangements web server. *Bioinformatics.* 2002; 18(3):492–493.

Zhang G, Li C, Li Q, Li B, Larkin DM, Lee C, Storz JF, Antunes A, Greenwold MJ, Meredith RW, Ödeen A, Cui J, Zhou Q, Xu L, Pan H, Wang Z, Jin L, Zhang P, Hu H, Yang W, Hu J, Xiao J, Yang Z, Liu Y, Xie Q, Yu H, Lian J, Wen P, Zhang F, Li H, Zeng Y, Xiong Z, Liu S, Zhou L, Huang Z, An N, Wang J, Zheng Q, Xiong Y, Wang G, Wang B, Wang J, Fan Y, da Fonseca RR, Alfaro-Núñez A, Schubert M, Orlando L, Mourier T, Howard JT, Ganapathy G, Pfenning A, Whitney O, Rivas MV, Hara E, Smith J, Farré M, Narayan J, Slavov G, Romanov MN et al. Comparative genomics reveals insights into avian genome evolution and adaptation. *Science.* 2014; 346(6215):1311–1320.

## **Current molecular genetic and genomic technologies in the field of studying the avian biology.**

### **2. Basic research**

*Romanov M.N.,<sup>1,2</sup> Kiazim L.,<sup>2</sup> O'Connor R.,<sup>2</sup> Griffin D.K.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary  
Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia;  
<sup>2</sup> University of Kent, Canterbury, UK.

## **Abstract**

By the example of the analysis of cytogenetic maps and chromosome rearrangements of eight bird species, the feasibility of successful application of current genomic methods and technologies for identifying general and specific features of genome organization and in-depth understanding of the fundamental laws of evolution of avian genomes has been shown. An interpretation of the observed genomic “variadicity” and specific chromosome rearrangements has been proposed, which is consistent with the available information on the general organization and variability of the genomes of certain avian species and systematic groups.

Key words: genomic technologies, chromosome rearrangements, avian genomes, genome evolution

## **ПОЛИМОРФИЗМ ОДНОНУКЛЕОТИДНЫХ ЗАМЕН В ГЕНАХ МИОСТАТИНА И ПРОЛАКТИНА У КУР ИСХОДНЫХ ЛИНИЙ КРОССА «СМЕНА-8»**

**Кочиш И.И.,<sup>1</sup> Мясникова О.В.,<sup>1</sup> Мартынов В.В.,<sup>2</sup>  
Бойко Е.Е.,<sup>1</sup> Коренюга М.В.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологий – МВА имени К.И. Скрябина», Москва, Россия;

<sup>2</sup> ГОУ ВО Московской области «Московский государственный областной университет», Москва, Россия.

E-mail: omyasnikova71@gmail.com

### **Аннотация**

С помощью метода ПЦР-ПДРФ проанализированы частоты двух однонуклеотидных полиморфизмов (SNPs) в генах миостатина и пролактина у кур исходных линий кросса «Смена-8» — Б6, Б7 М/О (медленнооперяющиеся) и Б7 Б/О (быстрооперяющиеся), полученных в ФГБУ «Селекционно-генетический центр «Смена». Определена взаимосвязь изученных SNPs в последовательности гена миостатина в сайте 2109 с показателями живой массы в 40 суток, прироста за неделю, развития груди и бедра, а также в последовательности гена пролактина в сайте 2402 — с показателями половой зрелости и количества снесенных яиц к возрасту 30 недель.

Ключевые слова: полиморфизм, генетические маркеры, миостатин, пролактин, исходные линии

### **Введение**

Новые методы молекулярной биологии позволяют обнаруживать полиморфизм последовательностей генов, ко-

дирующих белки, которые связаны с продуктивными признаками животных и птиц. Эти полиморфные локусы могут быть использованы в качестве молекулярных маркеров в программах селекции для улучшения тех или иных признаков [3]. Наибольший интерес для выявления взаимосвязи различных генов с хозяйственно-полезными признаками представляют варианты генетического полиморфизма, находящиеся в генах, регуляторных участках генов и QTL-регионах, которые отвечают за определенный признак. Использование генетического полиморфизма генов, связанных с продуктивностью, может помочь в повышении эффективности селекции и способствовать раскрытию генетического потенциала птиц. Применение современных молекулярно-генетических подходов и маркеров позволяет значительно ускорить процесс селекции как в животноводстве, так и в птицеводстве [1].

В основе геномной селекции лежит изучение полиморфизма целевых генов, аллельные варианты которых связаны с продуктивными качествами животных. Аллельные варианты функциональных генов возникают в результате различных модификаций нуклеотидного состава, таких как точечные мутации, или однонуклеотидные полиморфизмы (ОНП, или SNPs), инсерции/делеции участков длиной 10–20 пар нуклеотидов, а также микросателлиты (повторы по 5–7 п.н.). Наиболее интересен поиск полиморфизма в генах, которые кодируют регуляторные белки, участвующие в контроле роста и дифференцировки, и, в частности, гормоны. В свою очередь, физиологический эффект любого гормона напрямую зависит от его рецептора, что определяет целесообразность изучения полиморфизма генов, кодирующих как сами гормоны, так и их рецепторы [4].

ДНК-маркеры — это полиморфные участки ДНК с неизвестными функциями, но с известной позицией в хромо-

соте. Преимущество ДНК-маркеров заключается в том, что изменения в последовательности ДНК являются первопричиной всех последующих изменений организма. Кроме того, они обеспечивают возможность анализа любых последовательностей генома, а не только белок-кодирующих [5].

Ген миостатина *MSTN (GDF-8)* является членом семейства трансформирующего ростового фактора бета и оказывает негативное воздействие на рост скелетной мускулатуры у позвоночных животных и человека. Ген миостатина у кур расположен в хромосоме 7, успешно секвенирован и состоит из 3 экзонов и 2 интронов. В разных участках этого гена обнаружены однонуклеотидные замены (SNPs), при этом основная работа ведется в направлении поиска взаимосвязей хозяйственно полезных признаков и отдельных замен. В дальнейшем эти маркеры могут служить помощниками в отборе птицы для последующего разведения с целью закрепления желательных генотипов [6].

Пролактин — один из важнейших гормонов, регулирующих активность репродуктивной системы у птицы. Он относится к пептидным гормонам, синтезируется лактотрофными клетками аденогипофиза. У птиц пролактин принимает непосредственное участие в регуляции проявления насиживания и интенсивности яйценоскости [6, 7, 11]. Ген пролактина (*PRL*) находится на 2-й хромосоме и включает 5 экзонов и 4 интрона; общая длина его последовательности — 6140 п.н. Показан полиморфизм гена по наличию инсерции в промоторном участке гена, а также обнаружены несколько SNPs [8–10].

В настоящих исследованиях была проанализирована связь мясной продуктивности с показателями генетических полиморфизмов в гене миостатина, а также связь яичной продуктивности с полиморфизмами в гене пролактина.

## Материалы и методы исследования

Геномная ДНК была извлечена из образцов крови (0,9 мл), отобранных путем взятия пробы из подкрыльцовой вены у кур исходных линий кросса «Смена-8» — Б6, Б7 М/О (медленнооперяющиеся) и Б7 Б/О (быстрооперяющиеся), созданных в ФГБУ «Селекционно-генетический центр «Смена». Кровь помещали в пробирки с 10%-ным антикоагулянтом (цитратом натрия) и хранили при  $-20^{\circ}\text{C}$ . Выделение геномной ДНК осуществляли при помощи набора DNeasy Blood and Tissue Kit (QUIAGEN, Germany) на приборе QIAcube Connect (QUIAGEN). После выделения ДНК амплифицировали с использованием праймеров генов, приведенных в табл. 1.

Таблица 1

### Праймеры исследуемых генов и их температура отжига

Ген	Праймер	SNP-маркер	$t$ от-жига	Размер цепочки
MST2109	F: AACCAATCGTCGGTTTTGAC R: CGTTCTCTGTGGGCTGACTA	G/A	$62^{\circ}\text{C}$	260/297
PRL2402	F: AGAGGCAGCCCAGGCATTTTAC R: CCTGGGTCTGGTTTGAAATT	C/T	$62^{\circ}\text{C}$	442

Классическую ПЦР проводили на амплификаторе MiniAmp Thermal Cycler (Thermo Fisher Scientific, США). Реакционную смесь для ПЦР готовили из следующих компонентов: 2,5 мкл 10-кратного буфера, 2,5 мкл dNTP, по 1 мкл каждого праймера, 15,7 мкл воды, свободной от нуклеаз, 0,3 мкл полимеразы и 2 мкл геномной ДНК. Общий

объем для ПЦР-реакции составлял 25 мкл. Режим амплификации состоял из 5-минутной предынкубации при 94°C и последующих 35 циклов: денатурации при 94°C в течение 30 с, отжига праймеров в течение 45 с — 1 мин. при температуре отжига 62°C и элонгации при 72°C в течение 1 мин., после чего осуществлялась окончательная элонгация при 72°C в течение 10 мин.

Для определения ОНП в генах миостатина и пролактина после амплификации проводили реакции рестрикции с использованием рестриктазы *HpaII* и *AluI*, соответственно. Рестрикцию проводили в объеме 20,5 мкл, включая 18 мкл воды, свободной от нуклеаз, 2 мкл 10% буфера, 0,5 мкл рестриктазы и 10 мкл амплифицированной смеси. Реакцию проводили на термостате «Гном» со следующей программой: инкубация при 37°C в течение 4,5 ч., затем температурная инактивация при 80°C в течение 20 мин. и охлаждение до 18°C.

Для электрофореза продуктов рестрикции генов миостатина и пролактина был использован 3% агарозный гель, содержащий TBE-буфер и краситель бромистый этидий. Смесь вносили в лунки геля, электрофорез проводили 40 мин. при напряжении 150 и 100 В соответственно.

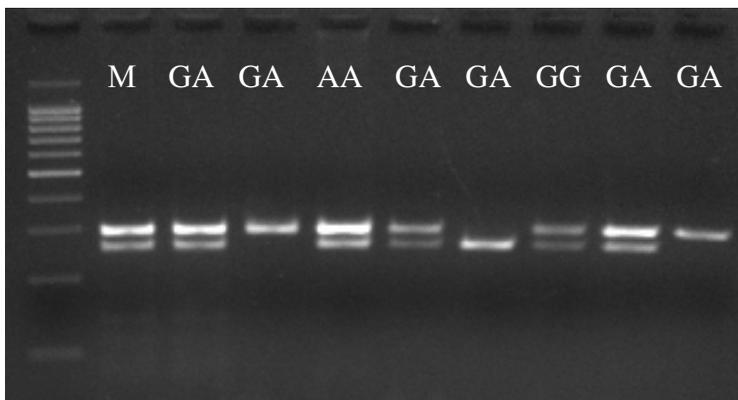
Длину фрагментов ДНК на геле оценивали с помощью маркера 100+ bp DNA Ladder (Евроген, Россия). Результаты генотипирования представлены на рис. 1 и 2.

Частоты встречаемости генотипов были рассчитаны по формуле

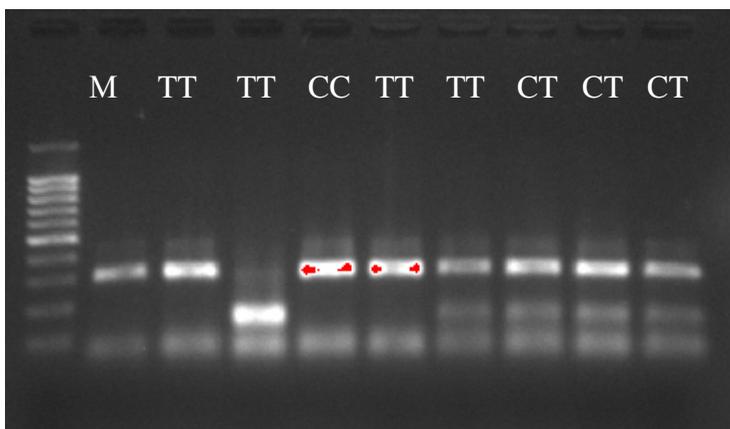
$$P = \frac{n}{N},$$

где  $n$  — число встречаемости особей с определенным генотипом,  $N$  — общее число выборки, а частоты встречаемости аллелей по формуле

$$P_x = \frac{2P_{xx} + P_{xy}}{2N}.$$



*Рис. 1. Детекция MST2109 с помощью ПЦР-ПДРФ*



*Рис. 2. Детекция PRL2402 с помощью ПЦР-ПДРФ*

## **Результаты и обсуждение**

Анализы ассоциации генетических маркеров (SNPs) в генах миостатина с признаками мясной продуктивности и гена пролактина с признаками яичной продуктивности у кур разных исходных линий кросса «Смена-8» представлены в табл. 2 и 3. Частоты генотипов и аллелей по двум SNPs представлены в табл. 4.

Таблица 2

**Анализ ассоциации генетического маркера в гене миостатина  
с признаками мясной продуктивности ( $X \pm m$ )**

<b>Линия</b>	<b><i>n</i></b>	<b>Генотип</b>	<b>Число генотипов</b>	<b>Живая масса в 40 дней, г</b>	<b>Конверсия корма, г</b>	<b>Развитие груди, балл</b>	<b>Развитие бедр, балл</b>
Б6	18	AA	7	2358,0±41,1	1,79±0,02	4,6±0,2	2,0±0,0
		GA	8	2297,5±44,6	1,86±0,03	4,4±0,1	2,1±0,1
		GG	3	2326,7±29,1	1,81±0,02	3,8±0,2	2,0±0,1
Б7 Б/О	18	AA	7	2197,1±51,4	1,81±0,06	4,5±0,2	2,0±0,0
		GA	8	2241,3±53,0	1,81±0,09	4,4±0,1	2,1±0,1
		GG	3	2116,7±47,0	1,76±0,06	4,2±0,2	2,0±0,0
Б7 М/О	18	AA	9	2148,9±61,3	1,83±0,1	4,3±0,1	2,2±0,1
		GA	7	1997,9±42,2	1,84±0,1	4,1±0,1	2,0±0,0
		GG	2	2095,0±15,1	2,05±0,1	3,8±0,3	2,1±0,1

Таблица 3

**Анализ ассоциации генетического маркера в гене пролактина  
с признаками яичной продуктивности ( $X \pm m$ )**

<b>Линия</b>	<b><i>n</i></b>	<b>Генотип</b>	<b>Число генотипов</b>	<b>Половая зрелость, сут.</b>	<b>Количество яиц к возрасту 30 нед., шт.</b>
Б6	18	СС	1	185,0±0	17,0±0
		СТ	10	184,2±1,7	12,8±2,2
		ТТ	7	186,6±3,0	11,9±2,6
Б7 Б/О	18	СС	2	177,0±7,0	26,5±11,5
		СТ	7	181,0±3,4	22,1±3,9
		ТТ	9	185,1±4,5	21,1±4,4
Б7 М/О	18	СС	1	182,0±0	24,0±0
		СТ	11	180,2±3,0	25,8±3,2
		ТТ	6	192,0±3,4	17,7±2,7

Таблица 4

**Частоты аллелей и генотипов  
у кур исходных линий кросса «Смена-8»**

SNP	Генотип	Число генотипов	Частота генотипов	Аллели	Частота аллелей
<b>Б6</b>					
MST2109 (n=18)	AA	7	0,39	A	0,61
	GA	8	0,44	–	–
	GG	3	0,17	G	0,39
PRL2402 (n=18)	CC	1	0,05	C	0,33
	CT	10	0,55	–	–
	TT	7	0,39	T	0,67
<b>Б7 Б/О</b>					
MST2109 (n=18)	AA	7	0,39	A	0,61
	GA	8	0,44	–	–
	GG	3	0,17	G	0,39
PRL2402 (n=18)	CC	2	0,11	C	0,31
	CT	7	0,39	–	–
	TT	9	0,5	T	0,69
<b>Б7 М/О</b>					
MST2109 (n=18)	AA	9	0,5	A	0,69
	GA	7	0,39	–	–
	GG	2	0,11	G	0,31
PRL2402 (n=18)	CC	1	0,05	C	0,36
	CT	11	0,61	–	–
	TT	6	0,33	T	0,64

По замене в гене миостатина у кур линий Б6 и Б7 Б/О наблюдалось преобладание генотипа GA: частота его встречаемости у обеих линий составила 0,44, тогда как у кур линии Б7 М/О преобладает генотип AA с частотой 0,5. Аллель А у всех линий встречался наиболее часто. Наименее встречаемым генотипом у всех линий оказался генотип GG: его частота встречаемости не превысила значение 0,17. При анализе связи генотипов по замене в гене миостатина с мясной продуктивностью кур было выявлено, что наиболее желательным генотипом у кур линий Б6 и Б7 М/О является генотип AA, а у линии Б7 Б/О — генотип GA. Наблюдается смещение в частотах аллелей в сторону преимущественного распространения аллеля А.

По замене в гене пролактина у кур линий Б6 и Б7 М/О наблюдалось преобладание генотипа СТ с частотой его встречаемости у Б6 — 0,55, а у Б7 М/О — 0,61. У кур линии Б7 Б/О преобладает генотип ТТ с частотой встречаемости 0,5. У кур всех линий по данной замене аллель Т встречался чаще, чем аллель С. Генотип СС у всех линий встречался очень редко; частота его встречаемости не превысила значение 0,11. При анализе связи генотипов по замене в гене пролактина с яичной продуктивностью кур наиболее желательным генотипом у линий Б6 и Б7 Б/О оказался генотип СС, а у линии Б7 М/О — генотип СТ. Наблюдалось также смещение в частотах аллелей в сторону преимущественного распространения аллеля С.

В исследованиях связи генотипов по однонуклеотидным заменам в гене миостатина с показателями живой массы у популяции кур линии Б5 породы корниш кросса «Смена-8» [2] было выявлено следующие закономерности: наиболее встречаемым генотипом по замене в гене миостатина оказался генотип AG (частота встречаемости 0,57), наименее встречаемым — GG (0,08), преобладал аллель А (0,63),

наиболее желательным генотипом оказался генотип АА, вследствие чего отмечалось смещение в частотах аллелей в сторону преимущественного распространения аллеля А в изучаемой популяции.

В исследованиях связи генотипов по однонуклеотидным заменам в гене пролактина с показателями яичной продуктивности кур полтавской глинистой породы [4] было установлено, что наиболее встречаемым генотипом по замене в гене пролактина оказался генотип СТ (частота встречаемости 0,52), наименее встречаемым — СС (0,11), преобладал аллель Т (0,628), наиболее желательным генотипом оказался генотип СС, вследствие чего отмечалось смещение в частотах аллелей в сторону преимущественного распространения аллеля С в изучаемой популяции.

### **Заключение**

Таким образом, анализ при помощи метода ПЦР-ПДФ двух однонуклеотидных замен — в гене миостатина G/A в положении 2109 и в гене пролактина C/T в положении 2204 — у кур исходных линий кросса «Смена-8» Б6, Б7 М/О и Б7 Б/О показал, что наиболее желательным генотипом по данной замене гена миостатина G/A оказался генотип АА с преимущественным преобладанием аллеля А.

При замене гена пролактина, отмечено, что наиболее желательным генотипом по яичной продуктивности оказался генотип СС с преобладанием аллеля С.

Использование генетических маркеров будет очевидно способствовать выявлению и впоследствии отбору особей с желательными генотипами, что, в свою очередь, позволит повысить эффективность разведения тех особей, которые отличаются наиболее ценными качествами. Это даст возможность лучше проводить селекционную работу со стадом для планирования его структуры и повышения продуктивности птицы, а также значительно повысит точность

селекционной работы и позволит максимально раскрыть генетический потенциал особей.

*Исследование выполнено в рамках тематического плана-задания на выполнение научно-исследовательских работ по заказу Министерства сельского хозяйства РФ за счет средств федерального бюджета в 2020 г.*

### Список литературы

1. Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А. Полиморфизм ДНК в популяционной генетике // Генетика. 2002. Т. 38. С. 1173–1195.
2. Дементьева Н.В., Митрофанова О.В., Тыщенко В.И., Терлецкий В.П., Яковлев А.Ф. Скорость роста и продуктивность бройлерного кросса кур с разными полиморфными типами гена миостатина // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016. Т. 20. № 1. С. 39–43.
3. Кочиш И.И., Смоленский В.И., Щербатов В.И. Биология и патология сельскохозяйственной птицы. М.: Сельскохозяйственные технологии, 2018. 386 с.
4. Кулибаба Р.А. Полиморфизм генов гормона роста, рецептора гормона роста, пролактина и рецептора пролактина в связи с яичной продуктивностью у кур породы полтавская глинистая // Сельскохозяйственная биология. 2015. Т. 50. № 2. С. 198–207.
5. Мамонтова Т.В., Айбазов М.М. Генетические маркеры в селекции животных: опыт и перспективы // Сельскохозяйственный журнал. 2016. Т. 9. № 2. С. 480–484.
6. Митрофанова О.В., Дементьева Н.В., Тыщенко В.И., Юрченко О.П., Вахрамеев А.Б. Связь генотипов по однонуклеотидным заменам в гене миостатина с показателями живой массы у кур Юрловской голосистой породы // Генетика и разведение сельскохозяйственных птиц. 2015. Т. 1. № 1. С. 39–42.
7. Cui J.-X., Du H.-L., Liang Y., Deng X.-M., Li N., Zhang X.-Q. Association of polymorphisms in the promoter region of chicken prolactin with egg production // Poultry Science. 2006. Vol. 85. No. 1. P. 26–31.

8. Dementieva N.V., Fedorova E.S., Krutikova A.A., Mitrofanova O.V., Stanishevskaya O.I., Pleshanov N.V., Smaragdov M.G., Kudinov A.A., Terletsky V.P., Romanov M.N. Genetic variability of indels in the prolactin and dopamine receptor D2 genes and their association with the yield of allanto-amniotic fluid in Russian White laying hens. *Tarım Bilimleri Dergisi: Journal of Agricultural Sciences*. 2020. Vol. 26. No. 3. P. 373–379.

9. Jiang R.-S., Xu G.-Y., Zhang X.-Q., Yang N. Association of polymorphisms for prolactin and prolactin receptor genes with broody traits in chickens // *Poultry Science*. 2005. Vol. 84. No. 6. P. 839–845.

10. Liang Y., Cui J., Yang G., Leung F.C., Zhang X. Polymorphisms of 5' flanking region of chicken prolactin gene // *Domestic Animal Endocrinology*. 2006. Vol. 30. No. 1. P. 1–16.

11. Romanov M.N. Genetics of broodiness in poultry — a review // *Asian-Australasian Journal of Animal Science*. 2001. Vol. 14. No. 11. P. 1647–1654.

### **Polymorphism of single nucleotide substitutions in myostatin and prolactin genes in chickens of the original lines of the Smena-8 cross**

*Kochish I.I.,<sup>1</sup> Myasnikova O.V.,<sup>1</sup> Martynov V.V.,<sup>2</sup>  
Boyko E.E.,<sup>1</sup> Korenyuga M.V.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary  
Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia;

<sup>2</sup> Moscow Region State University, Moscow, Russia

#### **Abstract**

Using the PCR-RFLP method, the frequencies of two single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the genes of myostatin and prolactin in chickens of the parental lines B6, B7 S/F (slow feathering) and B7 F/F (fast feathering) from the Smena-8 cross produced at the FSBI “Smena Breeding and Genetic Center”. The relationship of the studied SNPs was found between

the myostatin gene site 2109 and body weight at 40 days, growth rate per week, and development of the breast and thigh muscles as well as between the prolactin gene site 2402 and sexual maturity and number of laid eggs by the age of 30 weeks.

Key words: polymorphism, genetic markers, myostatin, prolactin, parental lines

**ФРАКТАЛЬНАЯ БИОКОНСОЛИДАЦИЯ  
МИКРООРГАНИЗМОВ В КИШЕЧНИКАХ  
КУР-НЕСУШЕК ВСЛЕДСТВИЕ ПРИМЕНЕНИЯ  
КОРМОВОЙ ДОБАВКИ ИЗ МИНЕРАЛА ШУНГИТА**

**Кочиш И.И.,<sup>1</sup> Позябин С.В.,<sup>1</sup>  
Воробьев Н.И.,<sup>2</sup> Никонов И.Н.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», Москва, Россия;

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», г. Пушкин, г. Санкт-Петербург, Россия.

E-mail: ilnikonov@yandex.ru

**Аннотация**

В настоящей работе представлена фрактальная биоконсолидация микроорганизмов в кишечниках кур-несушек вследствие применения кормовой добавки из минерала шунгита.

Ключевые слова: микробные сообщества, микрофлора кишечника кур-несушек, минерал шунгит, индекс биоконсолидации микробного сообщества, индекс фрактальной композиции химических элементов в растениях, молекулярно-генетический анализ

**Введение**

Макроорганизм кур и микрофлора его кишечника — это целостная микробно-организменная биосистема, находящаяся в состоянии динамического равновесия с относительно постоянным таксономическим составом микробио-

ма. На эффективность преобразовательной деятельности кишечной микробиоты, на ее таксономический состав и уровень системной организации существенное влияние оказывает ряд факторов: возраст кур, состав кормов, антибиотиков, токсины и наличие патогенных микроорганизмов (Biggs et al., 2007; Chichlowski et al., 2007; Stanley et al., 2014). В связи с этим кишечная микрофлора становится главным объектом изучения кур и ключевым индикатором их физиологического состояния, однозначно представляющим их реакции на изменение питательных рационов кормов и воздействия патогенной микрофлоры.

Современные молекулярно-генетические методы предоставили исследователям расширенные возможности изучения микробиома кишечника кур. Таксономический анализ данных, полученных молекулярно-генетическим методом, позволил выделить на низких уровнях концентрации клеток до 140 родов бактерий, из которых только 10% идентифицированы по гену 16S рРНК, а остальные принадлежат к новым видам или даже новым родам (Amit-Romach et al., 2004; Arajalahti et al., 2004). В дополнение к таксономическому анализу фрактальный анализ (Мандельброт, 2002) частотно-таксономических спектров микробных сообществ кишечника кур позволяет извлечь количественную и качественную информацию о самоорганизации микробно-организменных биосистем в кишечниках птиц.

В желудочно-кишечном тракте кур микроорганизмы и ферменты комбикорма разрушают растительную клетчатку до мономеров. Наиболее вероятно, что высокие скоростные характеристики по разложению растительной клетчатки достигаются микроорганизмами только при совместных согласованных действиях, при которых каждый фермент синтезируется в нужном количестве только одним видом микроорганизмов (Tsarkova et al., 2017).

В этом случае все микроорганизмы могут стартовать одновременно и выделить весь комплекс ферментов. Дополнительно при биосистемной микробиологической деструкции создаются благоприятные условия для реализации наилучшего сценария упорядоченного выделения ферментов микроорганизмами для экономичного и скорейшего разложения клетчатки (Nikonov et al., 2018; Lenkova, 2019).

При биосистемной деструкции потоки ферментов и численности микроорганизмов, выделяющих эти ферменты, должны быть по численности пропорциональны не только друг другу, но и к количеству целевых сайтов рестрикции в органических молекулах разлагаемого растительного субстрата. Можно предположить, что если первый, второй и третий тип сайтов рестрикции присутствует в органических молекулах в отношении 3 : 2 : 1, то и потоки соответствующих ферментов и численности соответствующих микроорганизмов тоже должны соотноситься как 3 : 2 : 1.

На генетическом уровне расположение разнотипных сайтов рестрикции и относительные их количества в органических молекулах подчиняются фрактальным закономерностям (Cattani, Pietro, 2013; Каретин, 2016). На основании этого мы сформулировали единую фрактальную математическую модель для описания соотношения микроорганизмов в деструктивных биосистемах и для описания содержания химических элементов в минеральной кормовой добавке и в комбикорме, особенно в растительной части.

До конца нерешенной задачей остается установление зависимости между самоорганизацией микробно-организменной биосистемы в кишечниках птиц, с одной стороны, и санитарными условиями содержания и химическим составом кормовых рационов птиц, с другой стороны. Кроме

этого, необходимо найти количественный индикатор согласованности биосистемных биохимических процессов в кишечниках птиц при биотических и абиотических внешних воздействиях.

Целью исследования являлись определение индекса биоконсолидации микроорганизмов в кишечнике кур-несушек и оценка уровня влияния кормовой добавки из минерала шунгита на самоорганизацию микробно-организменной биосистемы в кишечниках птиц.

### **Материалы и методы**

Для решения поставленной задачи в условиях вивария был поставлен опыт на курах-несушек (кросс «Хайсекс коричневый»). Для опыта были подобраны по принципу аналогов куры-несушки возрастов 205–207 дней.

Рацион несушек опытной группы отличался от контрольной вводом кормовой добавки из шунгита в дозировке 1 кг на тонну комбикорма. Шунгит обладает свойством эффективной сорбции неполярных микотоксинов и свойством подкислителя.

Опыты на курах-несушках проведены на базе вивария Международной лаборатории молекулярной генетики и геномики птицы (Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»). Рацион несушек родительского стада был организован в соответствии с рекомендациями ВНИТИП (Фисинин и др., 2003; Егоров и др., 2019).

Кормовая добавка на основе минерала шунгита, полученного из Зажогинского месторождения республики Карелия (Vaisberg et al., 2018) имела следующий химический состав по ключевым микро- и макроэлементам, представленным в табл. 1.

**Содержание микроэлементов  
в шунгите Зажогинского месторождения**

Химические элементы	Содержание в шунгите	
	мг / 100 г шунгита	мМол / 100 г шунгита
C	34,8	2,90
Si	23,07	0,821
Al	6	0,222
Fe	3,5	0,0627
Mg	1,8	0,0741
Ca	1,2	0,0299
S	1,2	0,0374
K	1,01	0,0258
Na	0,25	0,0109
P	0,08	0,00258
Mn	0,022	0,000400
Zn	0,008	0,000122
Cu	0,0058	0,000091

По итогам кормленческого опыта проводили определение частотно-таксономического состава микробиоты слепых отростков кишечника у кур-несушек с применением метода высокопроизводительного секвенирования (NGS).

Для оценки влияния внешних факторов на микробно-организменную биосистему была разработана единая фрактальную модель (далее модель **FrI**), которая представляет собой конечный ряд чисел, убывающих по степенному закону (Шредер, 2001; Vorobyov et al., 2019):

$$Fr1: 2^b, 2^b \cdot q^{-1}, 2^b \cdot q^{-2}, 2^b \cdot q^{-3}, \dots, 2^b \cdot q^{-N}, \quad (1)$$

где  $q = 2^{(1-1/N)} \dots 2^{(1+1/N)}$ ;  $b = -1 \dots 0$ ;  $N = 3 \dots \infty$ .

В логарифмической форме модель *Fr1* может быть представлена арифметическим рядом чисел (далее модель *Fr2*):

$$Fr2: b, -\log_2(q) + b, -2 \cdot \log_2(q) + b, -3 \cdot \log_2(q) + b, \dots, -N \cdot \log_2(q) + b, \quad (2)$$

где  $\log_2(q) = 1 - 1/N \dots 1 + 1/N$ ;  $b = -1 \dots 0$ ;  $N = 3 \dots \infty$ .

Каждая числовая позиция моделей *Fr1* и *Fr2* задает не абсолютное значение микроорганизмов в микробно-организменной биосистеме кишечника птиц, а их относительный числовой статус по отношению к остальным микробным компонентам биосистем. Этим подчеркивается, что при любом суммарном количестве микроорганизмов в кишечниках птиц их процентные соотношения остаются неизменными.

Единые фрактальные модели *Fr1* и *Fr2* могут быть применены к числовым рядам, образованным по данным содержания химических элементов в шунгите или в растениях. При этом каждая позиция соответствующего модельного ряда чисел задает относительное содержание химических элементов в шунгите или растениях в соответствии с фрактальной степенной закономерностью. Очевидно, что фактические числовые ряды микроорганизмов и микроэлементов будут отличаться от моделей *Fr1* и *Fr2*. Именно степень несовпадения модельных и фактических рядов будет далее использоваться для оценки силы воздействия внешних факторов на микробно-организменную биосистему кур.

На фрактальном портрете (Воробьев и др., 2013) модель *Fr2* может быть представлена кружками, которые незави-

симо от параметров модели **Fr2** всегда располагаются вдоль прямой линии (рис. 1). На фрактальных портретах  $Y$ - и  $X$ -координаты кружков, изображающих члены ряда модели **Fr2** по следующим формулам.

$$\begin{cases} Y_j = -j \cdot \log_2(q) + b \\ X_j = \text{дробная часть} \left[ -j \cdot \log_2(q) + b \right] \end{cases}, \quad (3)$$

где  $q; j=2, \dots, N; b$  — числовые параметра такие же, как в формулах (1) и (2). Первая позиция ( $j=1$ ) на фрактальных портретах не отображается и в дальнейших расчетах игнорируется, так ее координаты фиксированы ( $Y=0, X=0$ ).

Независимо от значений параметров модели **Fr2** кружки, отображающие своей позицией на фрактальном портрете члены ее ряда, всегда располагаются на прямых линиях, отличающихся только наклоном (тангенсом угла  $\varphi$ ; рис. 1С) к координатным осям. Это фундаментальное свойство модели **Fr2** позволяет аппроксимировать расположения соответствующих кружков на фрактальном портрете следующей линейной зависимостью (далее модель **Fr3**).

$$\mathbf{Fr3}: X(Y) = a_m \cdot (Y - Y_{CP}) + X_{CP}, \quad (4)$$

где  $X_{CP} = \frac{1}{N-1} \cdot \sum_{j=2}^{j=N} X_j$ ;  $Y_{CP} = \frac{1}{N-1} \cdot \sum_{j=2}^{j=N} Y_j$ ;  $X_j$  и  $Y_j$  — координаты кружков, вычисляемые по формулам (3);  $j=2, \dots, N$ ;  $a_m$  — коэффициент линейной аппроксимации расположения кружков на фрактальном портрете. Первая позиция ( $j=1$ ) при определении параметров модели **Fr3** не учитывается, так как ее координаты фиксированы ( $X=0, Y=0$ ) и не определяют специфику расположения кружков на фрактальном портрете.

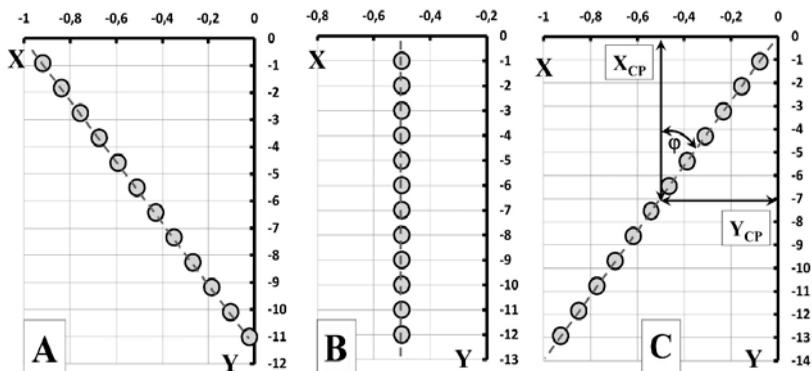


Рис. 1. Фрактальные портреты моделей *Fr2* и *Fr3* при разных числовых параметрах.

**А** – *Fr2*:  $q=1,89$ ,  $b=0$ ,  $N=12$ ; *Fr3*:  $Y_{CP}=-6,0$ ,  $X_{CP}=-0,47$ ,  $a_m=-0,089$ .

**В** – *Fr2*:  $q=2$ ,  $b=-0,5$ ,  $N=12$ ; *Fr3*:  $Y_{CP}=-6,5$ ,  $X_{CP}=-0,5$ ,  $a_m=0$ .

**С** – *Fr2*:  $q=2,11$ ,  $b=0$ ,  $N=12$ ; *Fr3*:  $Y_{CP}=-7,0$ ,  $X_{CP}=-0,50$ ,  $a_m=0,072$ .

Кружками представлен портрет модели *Fr2*, а пунктирной линией — модель *Fr3*.

## Результаты и обсуждение

Для вычисления индекса биоконсолидации микроорганизмов в микробных биосистемах и индекса композиции химических элементов в шунгите и комбикорме необходимо построить фрактальный портрет соответствующего ряда чисел и проанализировать расположение кружков на портрете, изображающих ряды численностей микроорганизмов или содержание химических элементов в шунгите или растениях.

Для построения фрактального портрета сообщества микроорганизмов в кишечнике кур (или содержания химических элементов в шунгите и растениях) необходимо предварительно исходные числовые данные преобразовать в ряд убывающих безразмерных чисел подобно тому, как представляются числовые ряды в моделях *Fr1* или *Fr2*.

В табл. 2 приведен пример необходимых преобразований исходных количеств микроорганизмов в кишечниках кур по итогам кормленческого опыта. Эти данные приведены к безразмерному виду с вычислением X- и Y-координат кружков, представляющих расположение групп микроорганизмов на фрактальном портрете. Данные первой строки табл. 2 на портрете не отображаются, так как для всех портретов они неизменны.

Таблица 2

**Преобразование исходных количеств микроорганизмов в кишечниках несушек по итогам кормленческого опыта и X- и Y-координаты графических фигур (см. формулы 5), изображающих группы микроорганизмов на фрактальном портрете**

Микроорганизм	$p_j/p_{\max}$	$Y_j$	$X_j$
Филум Bacteroidetes	1	0	0
Порядок Clostridiales	0,630666	-0,665	-0,665
Филум Proteobacteria	0,365847	-1,451	-0,451
Порядок Lactobacillales	0,353595	-1,500	-0,500
Класс Гамма-протеобактерии	0,236076	-2,083	-0,083
Семейство Enterobacteriaceae	0,149816	-2,739	-0,739
Филум Firmicutes	0,073791	-3,760	-0,760
Порядок Selenomonadales	0,009471	-6,722	-0,722
Филум Tenericutes	0,004514	-7,791	-0,791
Филум Synergistetes	0,001838	-9,088	-0,088
Порядок Bifidobacteriales	0,001480	-9,401	-0,401
Филум Actinobacteria	0,000267	-11,872	-0,872

$Y_j$ - и  $X_j$  — координаты кружков, изображающих своим положением группы микроорганизмов на фрактальном портрете, вычисляются по следующим формулам.

$$\begin{cases} Y_j = \log_2(p_j/p_{\max}) \\ X_j = \text{дробная часть } \log_2(p_j/p_{\max}) \end{cases} \quad (5)$$

где  $p_j$ ,  $p_{\max}=35,37\%$  — усредненное по повторностям относительное количество микроорганизмов с порядковым номером ( $j$ ) в ряду чисел и относительное количество мажорной группы микроорганизмов (в варианте опыта с применением шунгита — это филум *Bacteroidetes*) (табл. 2);  $j=2, \dots, N$ ;  $N$  — количество контролируемых групп микроорганизмов или анализируемых химических элементов. На фрактальных портретах не изображаются кружками те химические элементы или группы микроорганизмов ( $j=1$ ), которые характеризуются максимальным количеством  $p_{\max}$ , так как их координаты на портрете фиксированы ( $Y_1=0$ ,  $X_1=0$ ) и не определяют специфические различия в структурах портретов.

Используя данные табл. 2, был построен фрактальный портрет (рис. 2В) для групп микроорганизмов в варианте опыта с шунгитом. Аналогичным образом были построены фрактальный портрет (рис. 2А), демонстрирующий фрактальную топологию химических элементов в шунгите, и фрактальный портрет (рис. 2С), демонстрирующий фрактальную топологию химических элементов в растениях. На фрактальных портретах отсутствуют кружки, связанные с химическими элементами или микроорганизмами, характеризующимися максимальным количеством, так как их координаты фиксированы ( $Y=0$ ,  $X=0$ ) и не определяют специфические различия в структуре портретов.

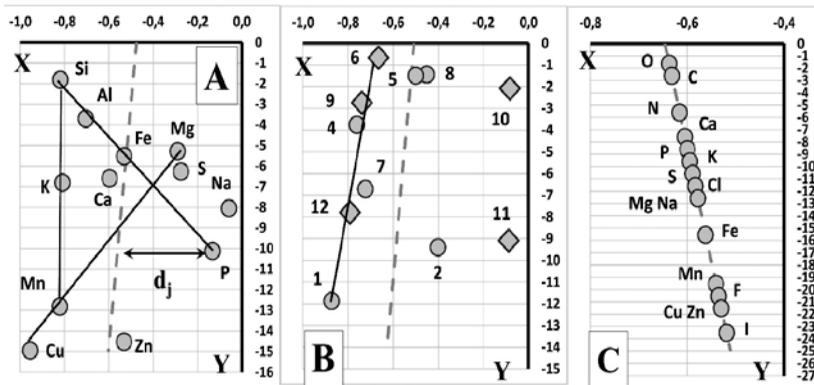


Рис. 2. Фрактальные портреты:

А – содержание химических элементов в шунгите (табл. 2),

**Fr3:**  $X_{CP}=-0,54$ ,  $Y_{CP}=-8,04$ ,  $a_m=0,009\pm 0,003$ ;  $I_F=0,50\pm 0,03$ .

В – соотношения микроорганизмов в опыте с шунгитом (табл. 3),

**Fr3:**  $X_{CP}=-0,55$ ,  $Y_{CP}=-5,19$ ,  $a_m=0,012\pm 0,003$ ;  $I_F=0,55\pm 0,03$ .

С – соотношения химических элементов в растениях (по литературным данным),

**Fr3:**  $X_{CP}=-0,58$ ,  $Y_{CP}=-12,8$ ,  $a_m=-0,005\pm 0,003$ ;  $I_F=0,88\pm 0,03$ .

Ромбиками представлены условно патогенные микроорганизмы, а кружками – полезные микроорганизмами. Пунктирными линиями представлена модель **Fr3**. Сплошными линиями выделены химические элементы и микроорганизмы, соотношение которых соответствует модели **Fr3**.  $d_j$  – частное отклонение от фрактальной модели **Fr3** количества химического элемента или численности микроорганизмов с порядковым номером (j).

1 – Филум Actinobacteria; 2 – порядок Bifidobacteriales; 3 – филум Bacteroidetes; 4 – филум Firmicutes; 5 – порядок Lactobacillales; 6 – порядок Clostridiales; 7 – порядок Selenomonadales; 8 – филум Proteobacteria; 9 – семейство Enterobacteriaceae; 10 – класс Гамма-протеобактерии; 11 – филум Synergistetes; 12 – филум Tenericutes.

Растения при их развитии и микробное сообщество в кишечниках птиц находятся под постоянным воздействием биотических и абиотических факторов, что приводит к

дестабилизации биосистемных процессов и отклонению соотношения микроорганизмов или соотношения химических элементов в шунгите или в растениях от модели **Fr3**. Поэтому среднеквадратичное отклонение кружков (или ромбиков) от модели **Fr3**, далее будет использоваться для вычисления индекса биоконсолидации микробного компонента микробно-организменной биосистемы кишечника птиц, а среднеквадратичное отклонение расположения кружков, связанных с содержанием химических элементов в шунгите, — индекса фрактальной композиции химических элементов в шунгите или растениях. При этом предполагаем, что индекс биоконсолидации микроорганизмов и индексы композиции химических элементов в растениях и шунгите одинаково отображают реакцию микробно-организменной биосистемы на внешние биотические и абиотические воздействия. Иными словами, чем большее отклонение от фрактальной степенной зависимости наблюдается в изучаемых числовых рядах, тем большая дезорганизация биохимических процессов наблюдается в рассматриваемых биосистемах. Таким образом, индексы биоконсолидации и композиции будут рассчитываться по следующей формуле.

$$I_F = \left( 1 - \sqrt{\frac{1}{N-1} \cdot \sum_{j=2}^{j=N} d_j^2} \right) \cdot R, \quad (6)$$

где  $d_j = X_j - a_m \cdot (Y_j - Y_{CP}) - X_{CP}$  (рис. 1А);

$$X_{CP} = \frac{1}{N} \cdot \sum_{j=1}^{j=N} X_j; \quad Y_{CP} = \frac{1}{N} \cdot \sum_{j=1}^{j=N} Y_j; \quad Y_j = \log_2(p_j/p_{max});$$

где  $X_j$  — относительное количество группы микроорганизмов или относительное содержание химического элемента с порядковым номером (j) и максимальное количество микроорганизмов или хи-

мического элемента в рассматриваемом ряде чисел;  $a_{\min}$  — коэффициент линейной аппроксимации фрактальной модели **Fr3**;  $N$  — общее число групп микроорганизмов или химических элементов;  $R = N_M / N$  — коэффициент, корректирующий отклонение фактического ряда от арифметического ряда модели **Fr2**;  $N_M$  — минимальное число позиций в ряду чисел модели **Fr2**, полностью отображающих реальное соотношение функциональных групп микроорганизмов или реальное соотношение химических элементов в изучаемых веществах.

Значения индекса биоконсолидации микроорганизмов и индексов композиции химических элементов в шунгите и в растениях рассчитывались по формуле (6) и приведены в подписях к рис. 2.

### **Заключение**

Проведенные расчеты показали, что индекс биоконсолидации микроорганизмов в кишечниках птиц при добавке шунгита в корм ( $I_F=0,55\pm0,03$ ) и индекс композиции химических элементов в шунгите ( $I_F=0,50\pm0,03$ ) близки по значению. Близки по значению также коэффициенты модели **Fr3** для микроорганизмов ( $a_m=0,012\pm0,003$ ) и для химических элементов в шунгите ( $a_m=0,009\pm0,003$ ) и растениях ( $a_m=0,005\pm0,003$ ). В то время как в растениях индекс фрактальной композиции химических элементов ( $I_F=0,88\pm0,03$ ) существенно отличается от указанных выше величин.

На основании полученных результатов можно сделать следующие выводы:

1. Шунгит своим особым соотношением химического элементного состава благоприятно влияет на самоорганизацию микробно-организменных биосистем кишечника кур-несушек. Соотношение химических элементов в шунгите накладывает некоторую матрицу на соотношение раз-

личных функциональных групп микроорганизмов в кишечниках птиц, что обеспечивает наилучшую совместную деятельность микроорганизмов по преобразованию органических субстратов в питательные вещества.

2. Индекс композиции химических элементов в растениях близок к единице. Это означает, что приведенные в литературе среднестатистическое содержание химических элементов в растениях отражает фундаментальные процессы формообразования растений, определяемые фрактальными степенными закономерностями. Так как шунгит имеет органическое происхождение, то и распределение химических элементов в шунгите тоже соответствует фрактальным закономерностям, что доказывают полученные данные.

3. Учитывая наблюдаемый эффект от добавки в корм птиц шунгита, можно сформулировать новые критерии по рецептуре кормов кур, обеспечивающих самоорганизацию микробно-организменных биосистем в кишечнике сельскохозяйственной птицы быструю переработку растительной клетчатки в необходимые питательные вещества.

***Исследования проведены при поддержке гранта Правительств Российской Федерации (договор № 14.W03.31.0013 от 20 февраля 2017 г.).***

### **Список литературы**

1. Воробьев Н.И., Свиридова О.В., Патыка Н.В., Думова В.А., Мазиров М.А., Круглов Ю.В. Фрактально-таксономический портрет микробного сообщества как биоиндикатор вида почвенных деструктивных процессов // Биодиагностика в экологической оценке почв и сопредельных сред: сб. конф. М.: БИНОМ, Лаборатория знаний, 2013. С. 38.

2. Егоров И.А. Руководство по кормлению сельскохозяйственной птицы / И.А. Егоров, В.А. Манукян, Т.М. Околелова,

Т.Н. Ленкова, Е.А. Андрианова [и др.] Сергиев Посад: ВНИ-ТИП, 2019. 226 с.

3. Каретин Ю.А. Фрактальная организация первичной структуры ДНК // Вестник Санкт-Петербургского университета. 2016. Сер. 6. № 1. С. 150–157.

4. Мандельброт Б. Фрактальная геометрия природы. 2002. М.: Институт компьютерных исследований. 656 с.

5. Фисинин В.И. Кормление сельскохозяйственной птицы / В.И. Фисинин и др. Сергиев Посад, 2003. 375 с.

6. Шредер М. Фракталы, хаос, степенные законы. Миниатюры из бесконечного рая. М.; Ижевск: Ин-т компьют. иссл., 2001. 528 с.

7. Abramson G., Cerdeira H.A., Bruschi C. Fractal properties of DNA walks // Biosystems. 1999; 49(1):63–70.

8. Amit-Romach E., Sklan D., Uni Z. Microflora ecology of the chicken intestine using 16S ribosomal DNA primers // Poult Sci. 2004; 83(7):1093–1098.

9. Apajalahti J., Kettunen A., Graham H. Characteristics of the gastrointestinal microbial communities, with special reference to the chicken // World's Poultry Science Journal. 2004; 60(2):223–232.

10. Biggs P., Parsons C.M., Fahey G.C. The effects of several oligosaccharides on growth performance, nutrient digestibilities, and cecal microbial populations in young chicks // Poult Sci. 2007; 86(11):2327–2336.

11. Cattani C., Pierro G. On the fractal geometry of DNA by the binary image analysis // Bull Math Biol. 2013; 75(9):1544–1570.

12. Chichlowski M., Croom J., McBride B.W., Daniel L., Davis G., Koci M.D. Direct-fed microbial PrimaLac and salinomycin modulate whole-body and intestinal oxygen consumption and intestinal mucosal cytokine production in the broiler chick // Poult Sci. 2007; 86(6):1100–1106.

13. Lenkova T., Nikonov I., Kuznetsov Y., Karpenko L., Balykina A. Development of the probiotic feed supplement based on lactobacillus plantarum to increase the broiler productivity // International Journal of Innovative Technology and Exploring Engineering. 2019; 9(1):2452–2454.

14. Nikonov I.N., Romanov M.N., Kochish I.I., Surai P. Determination of microbiocoenoses in the intestine of the Hisex Brown hens in ontogenesis // *World's Poultry Science Journal*, Suppl.: The XVth European Poultry Conference. Dubrovnik, Croatia. 17th to 21th September 2018. Conference Information and Proceedings. Zagreb, Croatia: Croatian Branch of the World's Poultry Science Association under the hospice of the World's Poultry Science Journal, p. 337, Abstract 599.

15. Stanley D., Hughes R.J., Moore R.J. Microbiota of the chicken gastrointestinal tract: influence on health, productivity and disease // *Appl Microbiol Biotechnol*. 2014; 98(10):4301–4310.

16. Tsarkova M.S., Milyaeva I.V., Zaitsev S.Y. Colloid–chemical regression model in analyzing the relationship between dynamic surface tension and the content of total protein and albumins in blood // *Moscow University Chemistry Bulletin*. 2017; 72(5):251–254.

17. Vaisberg L.A., Safronov A.N., Nikonov I.N., Selmensky G.E. Investigation of vibrational technology of shungite processing as the basis of a promising mineral fodder additive for poultry farming // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2018; 9(3):973–980.

18. Vorobyov N., Kochish I., Nikonov I., Selina M., Kuznetsov Y. Method development to determine the fractal structures index into the broiler chickens' intestines // *International Journal of Innovative Technology and Exploring Engineering*. 2019; 9(1):2792–2795.

### **Fractal bioconsolidation of microorganisms in the intestines of laying hens due to the use of a feed additive from the mineral shungite**

*Kochish I.I.,<sup>1</sup> Pozyabin S.V.,<sup>1</sup>  
Vorobyov N.I.,<sup>2</sup> Nikonov I.N.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Federal State Budget Scientific Institution “All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology”, Pushkin, St. Petersburg, Russia

## **Abstract**

This paper presents fractal bioconsolidation of microorganisms in the intestines of laying hens due to the use of a feed additive from the mineral shungite.

Key words: microbial communities, intestinal microflora of laying hens, mineral shungite, index of bioconsolidation of microbial communities, index of fractal composition of chemical elements in plants, molecular genetic analysis

**ОЦЕНКА ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ,  
ОТВЕТСТВЕННЫХ ЗА ФОРМИРОВАНИЕ СКОРЛУПЫ  
И ЯИЧНОГО БЕЛКА, У КУР-НЕСУШЕК  
РОДИТЕЛЬСКОГО СТАДА ПОД ВЛИЯНИЕМ  
РАЗЛИЧНЫХ КОРМОВЫХ ДОБАВОК**

**Манукян В.А., Мясникова О.В., Берникова К.Е.,  
Куванов Т.К., Мотин М.С., Зимин Е.Е.,  
Шарафетдинов Г.Р.**

ФГБОУ ВО «Московская государственная академия  
ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА  
имени К.И. Скрябина», Москва, Россия.

E-mail: amarilz@mail.ru, kuwanov\_timur@mail.ru

**Аннотация**

Формирование яичного белка и скорлупы регулируется посредством пространственно-временной экспрессии генов в сегментах яйцевода. Для минерализации яичной скорлупы матричные белки, такие как овокаликсины, играют важную роль в организации кристаллов кальция. Целью данного исследования было изучение экспрессии генов, ответственных за формирование яичного белка и минерализацию яичной скорлупы на фоне скармливания кормовых добавок — пробиотика Профорт<sup>®</sup>, фитобиотика Интебио<sup>®</sup> и фитазы кормовой. Эксперимент проводили на курах-несушках родительского стада кросса «Смена-8» в возрасте 28–30 недель. Как показали результаты исследования методом количественной ПЦР-РВ, введение в рацион пробиотика Профорт<sup>®</sup> повышает экспрессию генов овокаликсина-36 (*OCX-36*) и овальбумина (*OVAL*) во всех изучаемых опытных группах более чем в 2 раза. После скармливания фитобиотика Интебио<sup>®</sup> показатели экспрес-

сии гена *OCX-36* в матке увеличивались более чем в 15 раз, а гена *OVAL* — более чем в 9 раз. Скармливание фитазы в рационах мясных линий кур повысило экспрессию гена *OVAL* до 3,46 раза и гена *OCX-36* от 1,3 до 6,5 раза.

Ключевые слова: экспрессия генов, родительское стадо, мясные линии, продуктивность, кормовые добавки

## **Введение**

Яйцевод птицы — это уникальный орган, который обеспечивает биологическую среду для формирования яиц и оплодотворения фолликулов. Гормоны яичников вызывают клеточные и биохимические изменения среды яйцевода, необходимые для снесения яиц. Эстрадиол регулирует фолликулогенез, накопление желтка в фолликулах, овуляцию и развитие яйцеводов, а также отвечает за экспрессию генов, ответственных за формирование яичного белка. Гены, кодирующие яичный белок и экспрессирующие в яйцеводе, регулируют движение яйца, отложение компонентов и обеспечивают формирование качественных яиц.

В связи с этим немаловажным направлением исследований является поиск ингредиентов кормов, влияющих на экспрессию генов, связанных с продуктивностью. Современные стратегии кормления сельскохозяйственной птицы подразумевают введение в рацион биологически активных соединений и препаратов, действие которых направлено на повышение доступности трудноусвояемых компонентов и других кормов, что положительно сказывается на продуктивности (Kiarie et al., 2017). От того, какие гены сильнее экспрессируют, зависит характер изменения продуктивных показателей птицы.

Яичный белок состоит из 148 различных белков, жизненно важных для питания и роста эмбриона. Основным белком является овальбумин (*OVAL*). Генетический поли-

морфизм яичных белков, включая OVAL, достаточно широко изучен (Romanov, 1988; Романов, 1994). Синтез OVAL напрямую влияет на массу яйца и время прохождения фолликула по яйцеводу, то есть опосредовано на количество сносимых яиц за единицу времени. Кроме того, OVAL обнаружен во внутреннем мамиллярном слое скорлупы (Muramatsu, Sanders, 1992). Ранее также проводился поиск неаллельного взаимодействия между локусами яичных белков и сцепленного с полом локуса быстрей/медленной опережности у кур-несушек (Romanov, 1994, 1995).

Яичная скорлупа является физическим и химическим барьером, защищающим эмбрион от патогенов. Ген овокаликсина-36 (*OCX-36*) является геном-кандидатом для изучения факторов, которые участвуют в минерализации оболочки яйца. Экспрессия гена *OCX-36* была обнаружена в тех регионах яйцевода, где происходит образование яичной скорлупы. Известно, что экспрессия этого гена сильно повышается во время кальцификации скорлупы. Белок *OCX-36* локализован в кальцинированной яичной скорлупе, преимущественно во внутренней части оболочки и в оболочке мембран (Gautron et al., 2007).

**Цель исследования** — выявить степень экспрессии в тканях матки генов *OVAL* и *OCX-36*, связанных с продуктивностью, у кур родительского стада мясных линий, в том числе различающихся по скорости опережности, при скармливании им биологически активных добавок.

### **Материалы и методы исследования**

Для проведения исследований из ФНЦ ВНИТИП (г. Сергиев Посад Московской обл.) были предоставлены образцы тканей матки от трех групп птицы: материнской линии Б6 (отцовской родительской формы породы корниш) и отцовской линии Б7 (материнской родительской формы

породы плимутрок) с группами медленнооперяющихся (Б7 М/О) и быстрооперяющихся (Б7 Б/О) кур.

Из кур каждой линии было сформировано по три экспериментальных группы. Схема эксперимента приведена в табл. 1.

*Таблица 1*

**Схема эксперимента по скормливанию  
различных кормовых добавок линейным курам  
мясного направления продуктивности**

<b>Группы</b>	<b>Б6</b>	<b>Б7 М/О</b>	<b>Б7 Б/О</b>
1 контрольная	Стандартный комбикорм для несушек ПК-1		
2 опытная	ПК-1 + пробиотик Профорт® 100 г/т корма		
3 опытная	ПК-1 + фитобиотик Интебио® 100 г/т корма		
4 опытная	ПК-1 + фитаза кормовая		

Возраст птицы составлял 28–30 недель. Через неделю после начала опыта по 5 голов кур из каждой группы были подвергнуты эвтаназии для немедленного отбора образцов ткани матки (скорлуповой железы). Для сохранения РНК образцы тканей были зафиксированы в консервирующем реагенте RNeasy RNA Stabilization Reagent (QIAGEN, Германия).

Тотальную РНК из образцов выделяли вручную с использованием набора RNeasy Midi Kit (QIAGEN, Германия) согласно инструкции производителя.

Контроль качества суммарной РНК проводился на флуориметре Qubit 3.0 с применением набора Qubit™ RNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, США). Синтез кДНК на матрице суммарной РНК (в результате реакции обратной транскрипции) проводили при помощи набора iScript RT Supermix (BioRad, США) на термостате «Гном».

Реакцию амплификации с праймерами генов интереса проводили при помощи набора Maxima SYBR Green/ROX qPCR Master Mix (2x) (Thermo Fisher Scientific, США) согласно протоколу производителя. Реакцию проводили в стандартных 96-луночных оптических плашках Corning Axygen® PCR-96-LP-FLT-C на амплификаторе Light Cycler® 96 System (Roche, Швейцария).

Таблица 2

**Характеристика генов  
и нуклеотидная последовательность праймеров**

Ген	Действие	Праймеры	<i>t</i> отжига праймеров, °С
Овальбумин (OVAL)	Относится к группе серпниновых белков; содержится в белке яйца и во внутренней оболочке скорлупы	F: AAGACAGCACCAGGACACAGA R: TTCTGGCAGATTGGGTATC	56
Овокаликсин-36 (ОСХ-36)	Матричный белок, который содержится во всех слоях скорлупы и в кутикуле яйца	F: TTGGAATGGTCGTCTTCTGTGG R: CGGTCTGAATGATGGCATCG	56
ТАТА-связывающий белок (ТВР)	Ген «домашнего хозяйства»	F: AGCTCTGGGATAGTGCCACAG R: ATAATAACAGCAGCAAAACGCTTG	56

Список исследуемых генов и их праймеров представлен в табл. 2. Температурный профиль реакции амплификации представлен в табл. 3. В качестве контроля был взят ген «домашнего хозяйства» — ТАТА-связывающий белок (ТВР).

Таблица 3

### Температурный профиль реакции амплификации

Шаг	Температура, °С	Время, с	Количество циклов
«Горячий» старт	95	600	1
Денатурация	95	15	40
Отжиг праймеров	см. табл. 1	30	
Элонгация	72	30	
Завершение синтеза	72	600	1

Расчет экспрессии генов-кандидатов в количественной детекции ПЦР-РВ определялся относительно референсного гена («домашнего хозяйства») при помощи метода  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  (Livak, Schmittgen, 2001). Полученные результаты анализировали с использованием персонального компьютера и программы Microsoft Excel 2007.

### Результаты и обсуждение

Результаты исследований по экспрессии гена *OVAL* кур мясного направления продуктивности приведены в табл. 4.

Как следует из табл. 4, у кур породы корниш (Б6) экспрессия гена *OVAL* под воздействием пробиотика практически не изменилась (снижение на 1% было недостоверным). Однако в опытной группе Б7 быстрооперяющихся кур экспрессия искомого гена была выше в 5,17 раза, а в

Таблица 4

**Показатели экспрессии гена овальбумина (OVAL)  
у кур мясных линий в ткани матки**

<b>Группа исследования</b>	<b>TBP</b>	<b>OVAL</b>	<b>ΔCt</b>	<b>ΔΔCt</b>	<b>2<sup>-ΔΔCt</sup></b>
<b>Линия Б6</b>					
Контроль линия Б6	24,72±0,19	40,46±0,62	15,74	0	1
Опыт Б6 (Профорт®)	24,01±0,25	39,76±0,51	15,75	0,01	0,99
Опыт Б6 (Интебио®)	26,91±0,25	40,95±0,53	14,04	-1,7	3,24*
Опыт Б6 (Фитаза)	27,19±0,11	41,14±0,58	13,95	-1,79	3,46*
<b>Линия Б7 Б/О</b>					
Контроль Б7 Б/О	25,95±0,28	40,95±0,47	15	-	1
Опыт Б7 Б/О (Профорт®)	29,46±0,31	42,09±0,52	12,63	-2,37	5,17*
Опыт Б7 Б/О (Интебио®)	27,28±0,19	41,02±0,44	13,74	-1,26	2,39*
Опыт Б7 Б/О (Фитаза)	27,00±0,22	42,21±0,39	15,21	0,21	0,86
<b>Линия Б7 М/О</b>					
Контроль Б7 М/О	24,54±0, 17	39,40±0,34	14,86	-	1
Опыт Б7 М/О (Профорт®)	26,68±0,36	40,44±0,27	13,76	-1,1	2,14
Опыт Б7 М/О (Интебио®)	26,32±0,23	37,89±0,24	11,57	-3,29	9,76*
Опыт Б7 М/О (Фитаза)	27,57±0, 28	40,64±0,39	13,07	-1,79	3,46*

*Обозначения:* *St TBP* — пороговый цикл (уровень флуоресценции) гена «домашнего хозяйства»;

*St OVAL* — пороговый цикл (уровень флуоресценции) искомого гена;

$\Delta St$  — разница в пороговых циклах искомого гена и гена «домашнего хозяйства»;

$\Delta \Delta St$  — разница в средних по группе показателях  $\Delta St$  между опытной и контрольной группой;

$2^{-\Delta \Delta St}$  — нормализованное к контролю значение степени экспрессии искомого гена;

\* различия с контролем достоверны при  $p < 0,05$ .

опытной группе Б7 медленноперяющихся кур она возросла в 2,14 раза. Куры породы корниш (линия Б6) имеют низкую яичную продуктивность, и, вероятно, по этой причине экспрессия гена *OVAL* существенно не изменилась. Если посмотреть в абсолютных значениях, то и в контроле у кур этой линии была самая низкая экспрессия этого гена (в 1,67–1,84 раза ниже, чем у контрольных групп кур линий породы плимутрок). Вероятно повышение экспрессии гена *OVAL* в опытных группах линии Б7 быстро- и медленноперяющихся кур зависит от количества масляной кислоты, которая вырабатывается в толстом кишечнике под действием анаэробных бактерий из молочной кислоты. Масляная кислота служит дополнительным источником энергии для кур, поэтому масса яйца увеличивается. В начале продуктивного периода (28–30 недель) это важно, так как позволяет повысить выход инкубационных яиц.

Экспрессия гена *OVAL* в матке кур после скармливания фитобиотика Интебио® увеличивалась: в опытной группе Б6 — в 3,24 раза; в опытной группе Б7 быстроперяющихся кур — в 2,39 раза; в опытной группе Б7 медленноперяющихся кур — в 9,76 раза.

Скармливание в рационах мясных линий кур фитазы, которая играет роль в минеральном обмене и, следова-

тельно, может быть связана с экспрессией генов минерализации скорлупы, повышало экспрессию гена *OVAL*, ответственного за формирование яичного белка: в опытной группе Б6 — в 3,46 раза; в опытной группе Б7 медленнооперяющихся кур — в 3,46 раза. В опытной группе Б7 быстрооперяющихся кур экспрессия снизилась в 1,16 раза, однако разница с контролем была недостоверна.

Результаты оценки экспрессии гена *OSX-36* приведены в табл. 5.

Таблица 5

**Экспрессия гена овокаликсина-36 (*OSX-36*)  
в ткани матки кур мясных линий**

Группа исследования	<i>TBP</i>	<i>OSX-36</i>	$\Delta Ct$	$\Delta\Delta Ct$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$
Линия Б6					
Контроль Линия Б6	24,72±0,25	30,52±0,35	5,8	0	1
Опыт Б6 (Профорт®)	24,16±0,19	28,44±0,29	6,29	1,52	2,87*
Опыт Б6 (Интебио®)	26,91±0,19	29,69±0,42	2,78	-3,02	8,12*
Опыт Б6 (Фитаза)	24,19±0,22	27,29±0,25	3,1	-2,70	6,5*
Линия Б7 Б/О					
Контроль Б7 Б/О	25,95±0,27	31,89±0,39	5,94	0	1
Опыт Б7 Б/О (Профорт®)	27,19±0,31	31,52±0,35	4,33	-1,61	2,85*
Опыт Б7 Б/О (Интебио®)	27,28±0,27	29,26±0,27	1,98	-3,96	15,53*
Опыт Б7 Б/О (Фитаза)	27,00±0,33	31,49±0,42	4,5	-1,44	2,72*
Линия Б7 М/О					
Контроль Б7 М/О	24,54±0,21	29,20±0,31	4,65	0	1

<b>Группа исследования</b>	<b><i>TBP</i></b>	<b><i>ОСХ-36</i></b>	<b><math>\Delta Ct</math></b>	<b><math>\Delta\Delta Ct</math></b>	<b><math>2^{-\Delta\Delta Ct}</math></b>
Опыт Б7 М/О (Профорт®)	26,68±0,29	30,29±0,41	3,61	-1,04	2,06
Опыт Б7 М/О (Интебио®)	26,32±0,36	30,67±0,37	4,35	-0,30	1,23
Опыт Б7 М/О (Фитаза)	27,57±0,35	31,89±0,47	4,32	-0,33	1,26

*Обозначения:*  $Ct$  *TBP* — пороговый цикл (уровень флуоресценции) гена «домашнего хозяйства».

$Ct$  *ОСХ-36* — пороговый цикл (уровень флуоресценции) искомого гена.

$\Delta Ct$  — разница в пороговых циклах искомого гена и гена «домашнего хозяйства».

$\Delta\Delta Ct$  — разница в средних по группе показателях  $\Delta Ct$  между опытной и контрольной группой.

$2^{-\Delta\Delta Ct}$  — нормализованное к контролю значение степени экспрессии искомого гена.

\* Различия с контролем достоверны при  $p < 0,05$ .

Скармливание пробиотика Профорт® в рационах мясных кур повысило экспрессию гена *ОСХ-36* в опытной группе Б6 в 2,87 раза; в опытной группе Б7 быстрооперяющихся кур — в 2,85 раза; в опытной группе Б7 медленнооперяющихся кур — в 2,06 раза.

При введении фитобиотика Интебио® в рацион наблюдался эффективный запуск генов продуктивности, что также положительно повлияло на уровень экспрессии гена *ОСХ-36*. В опытной группе Б6 экспрессия была выше в 8,12 раза; в опытной группе Б-7 быстрооперяющихся кур — в 15,53 раза; в опытной группе Б7 медленнооперяющихся кур — в 1,23 раза.

От содержания фосфора в рационе кур мясных линий зависит усвоение и накопление в организме кальция, что

влияет на качество скорлупы. Фитаза высвобождает не только фосфор, связанный в фитате, но также катионы и белки, повышая тем самым питательную ценность корма. Введение в комбикорм фитазы стимулировало экспрессию гена *OCX-36* во всех опытных группах: увеличение экспрессии составило от 1,26 до 6,5 раза.

### **Заключение**

Применение пробиотика Профорт® оказывает положительный эффект на экспрессию генов продуктивности, что показывает наблюдавшаяся увеличенная экспрессия генов *OVAL* от 2,14 до 5,17 раза и *OCX-36* от 2,06 до 2,87 раза во всех изучаемых линиях мясных кур, за исключением линии Б6.

При введении фитобиотика Интебио® в рацион наблюдался положительный эффект на гены продуктивности (исключением было недостоверное повышение экспрессии гена *OCX-36* в опытной группе Б7 медленнооперяющихся кур). При этом известно, что основное действие фитобиотика состоит в повышении экспрессии генов иммунитета, то в усилении защитных свойств организма (Lartev et al., 2019).

Было обнаружено, что при скармливании кормовой добавки на основе эфирных масел показатели экспрессии гена *OCX-36* в матке увеличились от 1,23 до 15,53 раза, а гена *OVAL* от 2,39 до 9,76 раза. Полагаем, что тенденция роста экспрессии гена *OVAL* у линии Б7 выше по сравнению с Б6 связана с породными и продуктивными особенностями кур.

От содержания фосфора в рационе кур мясных линий зависит усвоение и накопление в организме кальция, что влияет на качество скорлупы. Фитаза высвобождает не только фосфор, связанный в фитате, но также катионы и белки, повышая тем самым питательную ценность корма.

Полученные данные свидетельствуют о том, что скормливание фитазы повысило экспрессию гена *ОСХ-36*, ответственного за минерализацию яичной скорлупы, от 1,26 до 6,5 раза.

***Исследование выполнено при поддержке гранта РНФ 16-16-04089-П и Правительства Российской Федерации (договор № 14.W03.31.0013 от 20 февраля 2017 г.).***

### Список литературы

1. Берникова К.Е., Куванов Т.К., Мясникова О.В. Оценка экспрессии генов, формирующих яйценоскость у кур-несушек с различными сроками наступления половой зрелости // Материалы Международной научно-практической конференции «Молекулярно-генетические технологии для анализа экспрессии генов продуктивности и устойчивости к заболеваниям животных». М.: Сельскохозяйственные технологии, 2019. С. 103–111.

2. Кочиш И.И., Колесникова Р.Р. Особенности экспрессии генов овокаликсин-36 и овальбумин у высоко- и низкопродуктивных несушек кросса «Ломанн белый ЛСЛ» // Материалы Международной научно-практической конференции «Молекулярно-генетические технологии для анализа экспрессии генов продуктивности и устойчивости к заболеваниям животных». М.: Сельскохозяйственные технологии, 2019. С. 98–102.

3. Кочиш И.И., Мясникова О.В., Мартынов В.В., Смоленский В.И. Микрофлора кишечника кур и экспрессия связанных с иммунитетом генов под влиянием пробиотической и пребиотической кормовых добавок // Сельскохозяйственная биология. 2020. Т. 55. № 2. С. 315–327.

4. Романов М.Н. Электрофоретическое изучение овопротейных локусов в популяциях яичных кур в процессе совершенствования кросса «Хайсекс коричневый» // Молекулярно-генетические маркеры животных: Тезисы докладов I Международной конференции по молекулярно-генетическим маркерам животных. К.: Укр. акад. аграр. наук, Ин-т разведения и генети-

ки животных, Ин-т агроэкологии и биотехнологии; Аграрна наука, 1994. С. 34–35.

5. Романов М.Н., Лаптев Г.Ю., Филиппова В.А., Ыылдырым Е.А., Ильина Л.А., Кочиш И.И., Дубровин А.В., Новикова Н.И., Дуняшев Т.П., Новикова О.Б., Дмитриева М.Е., Смоленский В.И., Сурай П.Ф. Разработка современных биотехнологий для оценки экспрессии генов в связи с устойчивостью к болезням и продуктивностью у домашней птицы // Материалы Международной научно-практической конференции «Молекулярно-генетические технологии для анализа экспрессии генов продуктивности и устойчивости к заболеваниям животных». М.: Сельскохозяйственные технологии, 2019. С. 11–41.

6. Gautron J., Murayama E., Vignal A., Morisson M., McKee M.D., Réhault S., Labas V., Belghazi M., Vidal M.L., Nys Y., Hincke M.T. Cloning of ovocalyxin-36, a novel chicken eggshell protein related to lipopolysaccharide-binding proteins, bactericidal permeability-increasing proteins, and plunc family proteins // The Journal of Biological Chemistry. 2007. Vol. 282. No. 8. P. 5273–5286.

7. Kiarie E., Romero L.F., Nyachoti C.M. The role of added feed enzymes in promoting gut health in swine and poultry // Nutrition Research Reviews. 2013. Vol. 26. No 1. P. 71–88.

8. Laptev G.Yu., Filippov, V.A., Kochish I.I., Yildirim E.A., Ilin, L.A., Dubrovин A.V., Brazhnik E.A., Novikova N.I., Novikova O.B., Dmitrieva M.E., Smolensky V.I., Surai P.F., Griffin D.K., Romanov M.N. Examination of the expression of immunity genes and bacterial profiles in the caecum of growing chickens infected with *Salmonella* Enteritidis and fed a phytobiotic // Animals. 2019. Vol. 9. No. 9. Article 615.

9. Muramatsu T., Sanders M.M. Repression of ovalbumin gene expression in the chicken oviduct cell // Animal Cell Technology: Basic & Applied Aspects / Murakami H., Shirahata S., Tachibana H. (eds). Dordrecht, The Netherlands: Springer, 1992. Vol 4. P. 445–451.

10. Romanov M.N. Study of genetic polymorphism of ovoproteins in some egg type and meat-egg type lines of chickens // Abstracts of the 4th Symposium of Young Poultry Scientists

(Kraków, June 7–9, 1988). Krakow, Poland: World's Poultry Science Association, Polish Branch, 1988. P. 10.

11. Romanov M.N. Searching for relationships between feathering and egg white genotypes in laying hens // 8th International Symposium of Young Poultry Scientists (Bydgoszcz–Pieczyńska k. Koronowa, 09–11.06.1994): Materiały z VIII Międzynarodowego Młodzieżowego Sympozjum Drobiarskiego. Bydgoszcz, Poland: World's Poultry Science Association, Polish Branch; ART, 1994. P. 81–82.

12. Romanov M.N. Searching for non-allelic relationships between feathering and egg white loci in laying hens // Proceedings of the 11th International Symposium on Current Problems in Avian Genetics (Balice near Krakow, May 29 — June 1, 1995). Balice near Krakow, Poland: World's Poultry Science Association, Polish Branch, 1995. P. 160–163.

13. Schmittgen T.D., Livak K.J. Analyzing real-time PCR data by comparative  $C_T$  method // Nature Protocols. 2008. Vol. 3. No. 6. P. 1101–1108.

**Evaluation of the expression of genes responsible  
for the formation of shell and egg white in laying hens  
of the parent flock under the influence  
of various feed additives**

*Manukyan V.A., Myasnikova O.V.,  
Bernikova K.E., Kuvanov T.K., Motin M.S.,  
Zimin E.E., Sharafetdinov G.R.*

K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary  
Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia

**Abstract**

Egg white and shell formation is regulated by spatio-temporal gene expression in segments of the oviduct. For egg-shell mineralization, matrix proteins such as ovocalyxins play an important role in the organization of calcium crystals. The aim of this study was to explore the expression of genes re-

sponsible for the formation of egg white and mineralization of eggshell when administering the feed additives: probiotic Profort<sup>®</sup>, phytobiotic Intebio<sup>®</sup>, and fodder phytase. The experiment was carried out on laying hens of the parent flock of the Smena-8 cross at the age of 28–30 weeks. As shown by the results of the study by the method of quantitative PCR-RT, the addition of the probiotic Profort<sup>®</sup> into the diet increased the expression of the genes ovocalixin-36 (*OCX-36*) and ovalbumin (*OVAL*) in all studied experimental groups by more than 2 times. After supplementing the phytobiotic Intebio<sup>®</sup>, the expression levels of the *OCX-36* gene in the uterus increased more than 15 times, and those of the *OVAL* gene more than 9 times. Adding phytase in the diets of chicken meat-type lines increased the expression of the *OVAL* gene up to 3.46 times and that of the *OCX-36* gene by 1.3 to 6.5 times.

Key words: gene expression, parent stock, meat-type lines, productivity, feed additives

**МАТЕМАТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ДАННЫХ  
МЕЖВИДОВОЙ БАК-ГИБРИДИЗАЦИИ  
В ПРОЦЕССЕ ГЕНОМНОГО КАРТИРОВАНИЯ  
У БЕЛОШЕЙНОЙ ЗОНОТРИХИИ  
КАК МОДЕЛИ ПОВЕДЕНИЯ ПТИЦ**

**Романов М.Н.,<sup>1,2</sup> Нарушин В.Г.,<sup>3</sup> Гонсер Р.А.,<sup>4</sup>**

**Таттл Э.М.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», Москва, Россия;

<sup>2</sup> Университет Кента, Кентербери, Великобритания;

<sup>3</sup> ООО «Вита-Маркет», Запорожье, Украина;

<sup>4</sup> Отдел биологии, Университет штата Индиана, Терре-Хот, США.

E-mail: m.romanov@kent.ac.uk

**Аннотация**

В настоящей работе представлена математическая оценка межвидовой БАК-гибридизации в процессе геномного картирования у белошейной зонотрихии — вида воробьев, рассматриваемого в качестве удобной модели поведения птиц.

Ключевые слова: белошейная зонотрихия, курица, индейка, зебровая амадина, куриные хромосомы, межвидовая гибридизация, куриный локус, overgo-зонд.

**Введение**

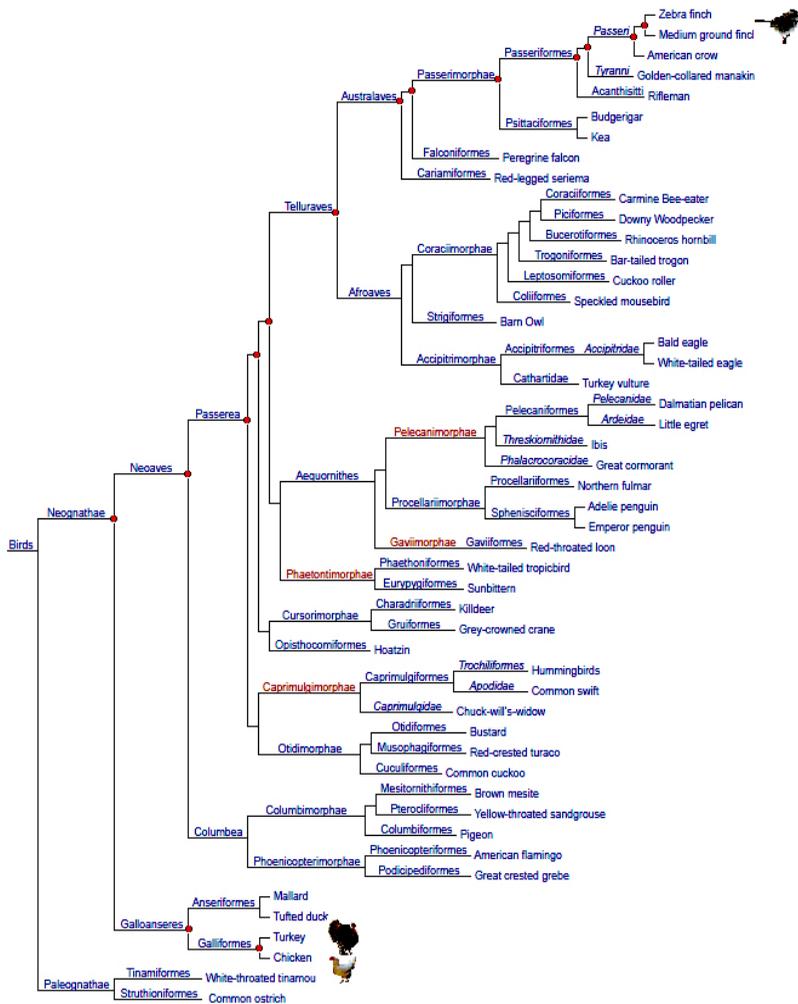
Белошейная зонотрихия (*Zonotrichia albicollis*) — один из видов воробьиных птиц, известный своей морфологической, поведенческой и хромосомной изменчивостью, который представляет собой совершенно новую модельную

систему для изучения геномных механизмов, лежащих в основе изменчивого поведенческого репертуара, а также связанных с аспектами популяционной биологии, воспроизводства и адаптации у этого вида. Ранее было показано, что эта изменчивость может быть следствием хромосомных перестроек (инверсий) на хромосоме 2 зонотрихии (ZAL2), которая характеризуется гетерогенностью в виде двух различных морф окраски оперения — коричневой (ZAL2/ZAL2) и белой (ZAL2/ZAL2<sup>m</sup>) (см. обзор в работе Romanov et al., 2011).

Целью настоящей работы была математическая оценка результатов межвидовой ДНК-гибридизации, полученных ранее в процессе геномного картирования у белошейной зонотрихии с использованием БАК-библиотеки этого вида (Romanov et al., 2011).

### **Материалы и методы исследований**

Для построения сравнительной геномной карты хромосомы ZAL2 и других хромосом мы использовали библиотеку геномных БАК-клонов зонотрихии, CHORI-264, скрининг которой осуществлялся с помощью overgo-зондов, сконструированных на основе ДНК-последовательностей двух представителей отряда курообразных — курицы (*Gallus gallus*) и индейки (*Meleagris gallopavo*), а также еще одного представителя воробьиных птиц — зебровой амадины (*Taeniopygia guttata*). Положение курицы, индейки и воробьиных на филогенетическом дереве птиц представлено на рис. 1. Полученные данные (Romanov et al., 2011) были использованы для дальнейшей математической оценки межвидовой ДНК-гибридизации.



**Рис. 1. Филогенетическое древо птиц** (по Jarvis et al., 2014). Курица и индейка расположены внизу древа, на базальной ветви новонесных птиц (Neognathae), а воробьиные (Passeri) — на самом верху древа, на эволюционно наиболее молодой ветви. Эволюционные расстояния между разными таксонами представлены условно ([https://en.wikipedia.org/wiki/Genomic\\_evolution\\_of\\_birds](https://en.wikipedia.org/wiki/Genomic_evolution_of_birds))

## Результаты исследований и обсуждение

Используя подход межвидовой ДНК-гибридизации, мы провели скрининг библиотеки зонотрихии и разработали сравнительную физическую карту генома этого вида первого поколения на основе БАК-библиотеки относительно эталонных геномов курицы, индейки и зебровой амадины. Карта включает в себя 640 привязок БАК-клонов зонотрихии для 77 генных локусов и представляет собой вспомогательный ресурс для дальнейшего уточнения геномных областей и идентификации генов-кандидатов, которые подвержены хромосомным перестройкам и вносят вклад в наблюдаемую поведенческую изменчивость (Romanov et al., 2011). Результаты скрининга геномной БАК-библиотеки белошейной зонотрихии и относительный успех межвидовой ДНК-гибридизации представлены в табл. 1 и 2.

Как следует из табл. 1, наблюдается некоторая изменчивость в значениях процента успешной ДНК-гибридизации и количества положительных БАК-клонов на один ДНК-зонд в зависимости от типа хромосом. Одной из версий возможного разброса этих параметров может быть различная частота хромосомных перестроек в кариотипах изученных видов. В то же время у рассмотренных видов птиц двойной набор хромосом ( $2n$ ) был практически одинаков и равен 78 у курицы, 80 — у индейки и зебровой амадины и 82 — у белой зонотрихии. Поэтому поиск каких-либо математических корреляций между эффективностью ДНК-зондов и их привязке к конкретной хромосоме (или группам хромосом) не будет иметь большого смысла. Таким образом, можно предположить, что на величину успешной ДНК-гибридизации могут оказывать влияние факторы, более зависящие от консервативности участков ДНК (кодирующих против некодирующих), использованных для конструирования зондов, а также от степени эволюционной дивергенции сравниваемых видов птиц (табл. 2).

Таблица 1

**Результаты скрининга геномной БАК-библиотеки  
белошейной зонотрихии (по данным Romanov et al., 2011)**

<b>Хромосомы</b>	<b>Кол-во использованных зондов</b>	<b>Кол-во успешных зондов</b>	<b>Процент успешной ДНК- гибридизации</b>	<b>Кол-во положительных БАК-клонов</b>	<b>Положительных БАК-клонов на зонд</b>
Макрохромосомы (GGA1–GGA5)	147	46	31,29%	390	8,48
Промежуточные хромосомы (GGA6–GGA10)	18	5	27,78%	40	8,00
Микрохромосомы (GGA11–GGA28, GGA33)	43	20	46,51%	178	8,90
Половые хромосомы (GGAZ, GGAW)	8	6	75,00%	32	5,33

На основании данных табл. 2 были получены графики коррелирования степени успешности использования зондов с эволюционной дивергенцией птиц при межвидовой ДНК-гибридизации (рис. 2). При этом коэффициенты корреляции для графиков, показывающих зависимость степени успешности зондов как от количества узлов на филогенетическом дереве (рис. 1), разделяющих белошейную зонотрихию от курицы и индейки, так и от величины эволюционной дивергенции между этими птицами, выраженными в миллионах лет (табл. 2), были высокими — соответственно  $R=0,9903$  и  $R=0,9802$ .

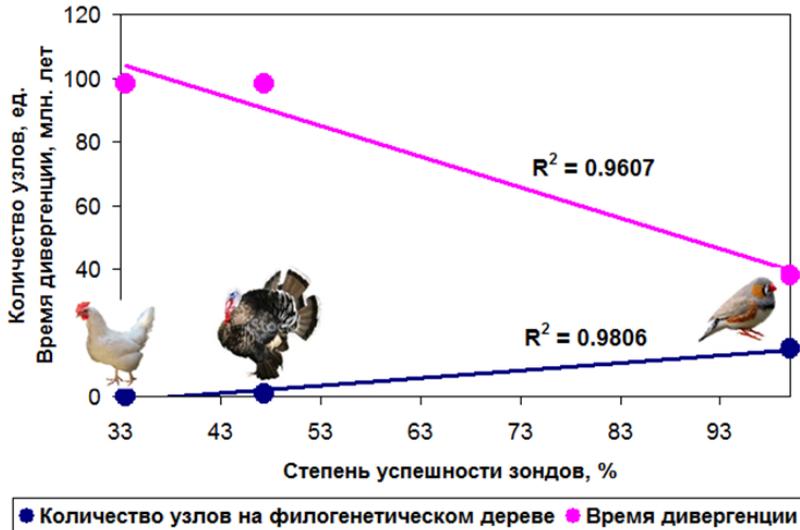
Таблица 2

**Степень успешности зондов (%) при межвидовой  
ДНК-гибридации (по данным Romanov et al., 2011).**

Межвидовая ДНК- гибридизация	Время дивергенции, <sup>1</sup> млн лет назад	Кол-во зондов по видам	Кол-во успешных зондов	Процент относительно зондов по видам	Тип последовательно сти зонда	Кол-во успешных зондов по типу	Процент относительно успешных зондов
Курица — зонотри- хия	98,0	194	65	33,5%	Куриные зонды		
					Коди- рующие участки	47	72,3%
					5 'и 3' UTR	6	9,2%
					Интро- ны	4	6,1%
					Другие некоди- рующие области	8	12,3%
Индейка — зонот- рихия	98,0	19	9	47,4%	Индюшьиные зонды		
					Коди- рующие участки	9	100%
Зебровая амадина — зонот- рихия	38,0	3	3	100%	Зонды амадины		
					Коди- рующие участки	3	100%

<sup>1</sup> Оценка дивергенции взята из базы данных TimeTree (<http://www.timetree.org/>; Kumar et al., 2017).

Результаты показаны в зависимости от видовой специфичности зондов и эффективности успешных зондов по видам и по типу последовательности.



**Рис. 2. Корреляция степени успешности зондов с эволюционной дивергенцией птиц при межвидовой ДНК-гибридизации (по данным Romanov et al., 2011)**

Таким образом, данные межвидовой ДНК-гибридизации и полученные на их основе графики линейной корреляции (рис. 2) адекватны для отражения характера эволюционного процесса для выбранных видов и систематических групп птиц. В дальнейших исследованиях в этом направлении предлагаемый нами подход математической оценки межвидовой ДНК-гибридизации может быть полезен при подборе видов птиц для сравнения и характеристики их геномной эволюции.

## Список литературы

Jarvis E.D., Mirarab S., Aberer A.J., Li B., Houde P., Li C., Ho S.Y., Faircloth B.C., Nabholz B., Howard J.T., Suh A., Weber C.C., Da Fonseca R.R., Li J., Zhang F., Li H., Zhou L., Narula N., Liu L., Ganapathy G., Boussau B., Bayzid M.S., Zavidovych V., Subramanian S., Gabaldón T., Capella-Gutiérrez S., Huerta-Cepas J., Rekepalli B., Munch K. et al. Whole-genome analyses resolve early branches in the tree of life of modern birds // *Science*. 2014. Vol. 346. No. 6215. P. 1320–1331.

Kumar S., Stecher G., Suleski M., Hedges S.B. TimeTree: a resource for timelines, timetrees, and divergence times. *Molecular Biology and Evolution*. 2017. Vol. 34. No. 7. P. 1812–1819.

Romanov M.N., Tuttle E.M., Gonser R.A., Dodgson J.B. Comparative BAC-based mapping in the white-throated sparrow, a novel behavioral genomics model, using interspecies overgo hybridization // *BMC Research Notes*. 2011. Vol. 4. No. 1. Article 211.

### **Mathematical assessment of BAC-based interspecies hybridization data in the process of genomic mapping in the white-throated sparrow as an avian behavioral model**

*Romanov M.N.,<sup>1,2</sup> Narushin V.G.,<sup>3</sup>  
Gonser R.A.,<sup>4</sup> Tuttle E.M.<sup>4</sup>*

<sup>1</sup> K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia;

<sup>2</sup> University of Kent, Canterbury, UK;

<sup>3</sup> Vita-Market Ltd, Zaporozhye, Ukraine;

<sup>4</sup> Dept. of Biology, Indiana State University, Terre Haute, USA

### **Abstract**

The white-throated sparrow (*Zonotrichia albicollis*) known for its morphological, behavioral and chromosomal polymorphisms represents a quite new model system to study genomic mechanisms underlying variable behavioral repertoire interwo-

ven with population biology, reproduction and adaptation in this species. It was previously shown that these polymorphisms could be due to chromosomal rearrangements (inversions) on sparrow chromosome 2 (ZAL2) that is characterized by a heterogeneity in two distinct morphs, tan (ZAL2/ZAL2) and white (ZAL2/ZAL2<sup>m</sup>). To construct a comparative genomic map of ZAL2 and other chromosomes, we used a sparrow genomic BAC library, CHORI-264. Following a cross-species overgo hybridization approach, we screened the library and developed a first-generation BAC-based comparative physical map using the chicken and zebra finch reference genomes. The map includes 640 BAC-gene assignments for 77 loci and serves for further refining the genomic regions and identifying candidate genes that are affected by rearrangements and contribute to the observed behavioral polymorphisms. Mathematical assessment of the BAC-based hybridization data was undertaken to show evolutionary relationships of avian genomes.

Key words: white-throated sparrow, chicken, turkey, zebra finch, chicken chromosomes, interspecies hybridization, chicken locus, overgo probe

## **ПОЛИФЕНОЛЬНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ В КОРМЛЕНИИ ПТИЦЫ: МИКРОБИОТА, РЕДОКС-БАЛАНС И ВИТАГЕНЫ В КИШЕЧНИКЕ**

**Сурай П.Ф.,<sup>1,2,4,5,6</sup> Кочиш И.И.,<sup>2</sup> Фисинин В.И.,  
Никонов И.Н.,<sup>2</sup> Романов М.Н.<sup>2,7</sup>**

<sup>1</sup> Научно-исследовательский центр витагенов и здоровья, Бристоль, Великобритания;

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», Москва, Россия;

<sup>3</sup> ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» РАН, Сергиев Посад, Московская обл., Россия;

<sup>4</sup> Университет Святого Иштвана, Гёдёллэ, Венгрия;

<sup>5</sup> Тракийский Университет, Стара Загора, Болгария;

<sup>6</sup> ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины», Россия;

<sup>7</sup> Университет Кента, Кентербери, Великобритания.

E-mail: psurai@feedfood.co.uk

### **Аннотация**

Полифенольные соединения растительного происхождения насчитывают более 8000 компонентов. В течение многих лет антиоксидантные (АО) свойства полифенолов рассматривались в качестве важнейшего механизма их молекулярного действия. Однако детальный анализ литературы позволил прийти к заключению, что АО свойства растительных полифенолов в организме человека и животных весьма преувеличены. При этом установлено, что полифенолы играют важнейшую роль в качестве регуляторов ряда факторов транскрипции и витагенов. В условиях запрещения использования кормовых антибиотиков в птице-

водстве полифенольные соединения могут оказаться важнейшими пребиотиками, способствующими поддержанию здоровья кишечника.

Ключевые слова: полифенолы, птица, кишечник, пребиотики

## **Введение**

Природные полифенолы включают большую группу соединений (>8000), широко распространенных в природе, встречающихся во всех семействах растений. В последние годы эта группа соединений получила много внимания со стороны исследователей в связи с положительным влиянием высокого потребления овощей и фруктов на здоровье человека. Поиски активных компонентов пищи, поддерживающих здоровье человека, активно продолжают последние 50 лет. Сначала считалось, что это витамин E, но клинические испытания этого витамина в качестве средства, снижающего риск развития различных болезней, не увенчались успехом. Далее внимание ученых было приковано к каротиноидам, группе природных пигментов, включающей более 1000 компонентов. К сожалению, клинические испытания каротиноидов также оказались безрезультатными.

Следующим шагом в данном направлении был выбор полифенольных соединений, включая флавоноиды, в качестве активных компонентов овощей и фруктов, способствующих поддержанию здоровья человека. Данные исследования активно продолжают в течение последних 40 лет. При этом исследованию роли полифенольных соединений в кормлении птицы также посвящено множество публикаций и на рынке появилось значительное количество кормовых добавок, созданных на основе экстрактов растительного материала, где активными компонентами являются полифенольные соединения. Таким образом, появ-

вилось целое направление исследований, связанное с использованием фитобиотиков.

### **Антиоксидантные свойства полифенольных соединений**

За последние 50 лет было опубликовано большое количество научных статей, посвященных АО свойствам полифенолов, что считалось основным механизмом их биологического действия в организме человека и животных. Параллельно с этим на полках магазинов и аптек появилось множество различных препаратов, действующим активным веществом которых являлись природные полифенольные соединения. Действительно, в природе насчитывается более 8000 полифенольных соединений, многие из которых обладают АО свойствами *in vitro*. Тем не менее наш недавний анализ опубликованных в литературе данных об АО свойствах полифенолов (Surai, 2014) привел к неожиданному заключению. Оказалось, что АО свойства данных соединений весьма преувеличены и вряд ли могут являться основным механизмом их действия в организме человека и животных. Наши результаты можно суммировать следующим образом:

- концентрации полифенольных соединений, используемых в исследованиях *in vitro* на несколько порядков (100–1000 раз) выше, чем те, которые могут быть достигнуты в биологических тканях;
- эффективность всасывания полифенольных соединений в кишечнике очень низкая и часто составляет менее 1% от принятой дозы испытуемых веществ;
- полифенольные соединения в кишечнике/организме подвергаются множественным метаболическим изменениям и, соответственно, их состав существенно изменяется;
- в зависимости от условий внешней среды, например, специфической среды в кишечнике, полифенольные со-

единения могут проявлять как АО, так и прооксидантные свойства.

Мы также предположили, что основным местом АО действия полифенольных соединений может быть кишечник человека и животных. В частности, данные о биологической активности силимарина, действующего начала экстракта из растения *Silybum marianum* (расторопша пятнистая), используемого в течение более 2000 лет для лечения болезней печени человека, во многом определяется его активностью в кишечнике (Surai, 2015).

### **Полифенолы в кишечнике птиц**

Принимая во внимание состав рациона птиц в дикой природе и в промышленном птицеводстве, можно заключить, что птица потребляет значительное количество полифенольных соединений. Таким образом, вполне вероятно, что в процессе эволюции птиц были выработаны определенные механизмы использования организмом данных компонентов для получения адаптивных преимуществ. Поэтому результаты исследований последних лет, указывающие на участие полифенольных соединений в регуляции факторов транскрипции и витагенов (Сурай и др., 2018; Surai et al., 2019), по сути, являются связующим звеном в понимании эволюционной роли полифенольных соединений в питании птиц/животных и человека. В частности, доказано, что во многих случаях полифенольные соединения, благодаря их слабой прооксидантной активности способствуют активации Nrf2, фактора транскрипции, отвечающего за синтез более 200 защитных АО веществ в организме человека и животных.

Одновременно с этим, полифенолы способны подавлять активность другого фактора транскрипции, NF-κB, отвечающего за синтез про-воспалительных цитокинов и за развитие воспалительных реакций. К тому же полифе-

нольные соединения способны активировать основные ви-тагены, включая белки теплового шока (HSP70, HO-1), супероксиддисмутазу, элементы глутатионовой и тиоредоксиновой систем и сиртуины, способствующие эффективной адаптации человека и животных к различным стрессам (Сурай и др., 2018; Surai et al., 2019). Таким образом, вышеупомянутые данные позволяют по-новому взглянуть на роль полифенольных соединений в питании сельскохозяйственных животных и птиц.

### **Запрещение кормовых антибиотиков и его последствия**

В течение многих лет кормовые антибиотики были своеобразной «палочкой-выручалочкой» для технологов по кормам на птицеводческих предприятиях. Действительно, многочисленными исследованиями было доказано, что включение в корм птицы и свиней кормовых антибиотиков приводило к стимулированию их роста и развития и в конечном итоге улучшало экономические показатели производства мяса. Интересно отметить, что, несмотря на длительное (несколько десятилетий) использование кормовых антибиотиков в птицеводстве и свиноводстве, молекулярные механизмы их действия так и остались до конца не расшифрованными.

В последние годы врачи во многих странах начали обращать внимание на то, что все чаще появляются бактерии, резистентные к используемым антибиотикам. Оказалось, что большинство антибиотиков медицинского назначения также используется и в животноводстве. Таким образом, при потреблении продуктов питания животного происхождения (яйца, мясо и молоко), произведенных с использованием кормовых антибиотиков, человек систематически потреблял упомянутые антибиотики (остаточные количества в продуктах питания), что привело к образованию штам-

мов бактерий, резистентных к данным антибиотикам. В конечном итоге стало ясно, что при существующей системе использования антибиотиков в животноводстве наступит такое время, когда не останется эффективных антибиотиков для лечения человека. Следовательно, в последнее десятилетие правительства разных стран принимают все больше кардинальных решений по запрещению использования кормовых антибиотиков при производстве яиц, мяса и молока.

В связи с вышеупомянутыми запретительными мерами животноводы и птицеводы столкнулись с серьезной проблемой снижения продуктивности животных и качества производимой продукции в условиях производства без антибиотиков. Это прежде всего касается здоровья кишечника из-за риска появления энтеритов, включая случаи некротического энтерита. Это, в свою очередь, привело к снижению среднесуточных привесов и ухудшению конверсии корма. К тому же проблемы с контролем различных патогенов привели к снижению качества продукции. В связи с этим последние пять лет ведутся активные поиски альтернатив кормовым антибиотикам. При этом использование пребиотиков, пробиотиков, синбиотиков, эфирных масел, органических кислот, растительных экстрактов, комбинаций антиоксидантов, витаген-регулирующих комбинаций и ряд других подходов являются важным шагом в решении проблемы эффективной замены кормовых антибиотиков.

### **Полифенольные соединения и пребиотики**

Суть концепции пребиотиков заключается в использовании кормовых добавок, которые как правило, не расщепляются и не всасываются в тонком кишечнике, а поступают в толстый кишечник, где подвергаются расщеплению и метаболизму благодаря кишечной микрофлоре. При этом

пребиотики, с одной стороны, способствуют развитию комменсальной микробиоты, которая конкурентно вытесняет патогенную микрофлору. С другой стороны, в результате действия комменсальной микрофлоры на пребиотики образуются активные метаболиты (например, короткоцепочечные жирные кислоты, включая бутираты), способствующие поддержанию здоровья кишечника. К тому же расщепление пребиотиков микрофлорой кишечника может также высвобождать определенное количество энергии, используемой организмом. При этом стимуляция развития комменсальной микрофлоры способствует развитию иммунитета кишечника (Man et al., 2020).

Следует особо подчеркнуть, что редокс-баланс кишечника является ключевым регулятором множества биохимических реакций и физиологических процессов в кишечнике (Surai et al., 2003, 2004; Surai, Fisinin, 2015; Surai, 2018). При этом считается, что полифенольные соединения играют важнейшую роль в регуляции редокс-баланса кишечника (Surai, 2014, 2015). Таким образом, полифенольные соединения, благодаря их плохому всасыванию в тонком кишечнике, поступают в толстый кишечник, где могут оказывать пребиотические свойства, способствуя развитию комменсальной микрофлоры и оказывая ингибирующее влияние на патогенную микрофлору (Alves-Santos et al., 2020).

Действительно, снижение окислительного повреждения, модуляция микробиоты кишечника и изменение экспрессии генов являются результатом действия полифенолов в кишечнике. Например, для изучения молекулярных механизмов действия полифенолов вина на уровне генов использовалась технология микрочипов. При этом крысы получали полифенолы из расчета 50 мг/кг живой массы в течение 14 дней. Анализ глобальной экспрессии 5707 генов

показал снижение экспрессии множества генов, участвующих в широком спектре физиологических функций, таких как метаболизм, транспорт, передача сигналов и межклеточная сигнализация (Dolara et al., 2005). В частности, было установлено, что в слизистой оболочке толстого кишечника крыс полифенолы влияли главным образом на два основных регуляторных пути, ответственных за воспалительные реакции и метаболизм стероидов (Dolara et al., 2005). Поскольку флавоноиды потребляются в концентрациях, обычно намного превышающих другие АО соединения, их защитный эффект при пищеварении имеет большое значение (Koudoufio et al., 2020; Dingo et al., 2020).

В самом деле, обнаружение биологического места действия полифенолов в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) может привести к пересмотру нашего понимания того, как полифенольные соединения, включая силибин (главный компонент силимарина), работают *in vivo*, и может помочь в выяснении механизмов положительного влияния на здоровье человека и животных различных полифенолов (Kanner et al., 2020). Следует отметить, что редокс-сигнализация при воспалении в кишечнике является сложным и плохо изученным процессом. Тем не менее общепризнано, что гомеостатический контроль эпителиальной окислительно-восстановительной среды кишечника является центральным для пищеварения и всасывания питательных веществ, пролиферации стволовых клеток, апоптоза энтероцитов и иммунного ответа (Сурай и др., 2018).

По существу полифенолы играют важную роль в поддержании целостности слизистой оболочки кишечника и в восстановлении ее проницаемости (Surai et al., 2004). Например, фенольные соединения были способны предотвращать или замедлять развитие болезней кишечника, характеризующихся окислительным стрессом и воспалением,

действуя как ловушки свободных радикалов и модуляторы специфических, связанных с воспалением, генов, участвующих в клеточной редокс-сигнализации (Biasi et al., 2014). Они также модулируют клеточные сигнальные пути, активированные в ответ на окислительные и воспалительные стимулы, а факторы транскрипции Nrf2 и NF-κB являются главными регуляторами данного эффекта (Biasi et al., 2011).

Так, свиньи, которым скармливали виноградное семя или виноградный экстракт характеризовались сниженной активацией NF-κB и Nrf2 и в слизистой оболочке двенадцатиперстной кишки отмечалась более низкая экспрессия различных генов-мишеней этих факторов транскрипции (Gessner et al., 2013). Кроме того, соотношение высоты ворсинок к глубине крипт и прирост живой массы в расчете на 1 кг корма был выше у животных, которым скармливали продукты переработки винограда. Скармливание мышам экстракта виноградных косточек уменьшало пролиферацию и улучшало дифференцировку эпителиальных клеток, а изменения в эпителии кишечника были связаны со снижением экспрессии NF-κB (Yang et al., 2014).

Полифенольные соединения также могут влиять на целостность кишечника. Например, экстракт виноградных косточек (0,1%), вводимый крысам с питьевой водой в течение 21 дня, значительно увеличивал экспрессию белка плотных клеточных связей (окклюдина) в проксимальной ободочной кишке и уменьшал фекальные уровни белка кальпротектина нейтрофилов по сравнению с контролем. Сообщалось также, что флавоноид процианидин B2 может модулировать клеточный окислительно-восстановительный статус и активность АО ферментов в клетках толстого кишечника, усиливая защиту от окислительного стресса и ксенобиотиков (Сурай и др., 2018). Можно предположить,

что существует биологическая целесообразность/причина, по которой некоторые антиоксиданты не должны полностью всасываться, чтобы обеспечить защиту от прооксидантов и окислительного стресса в нижних частях кишечника (Surai et al., 2003, 2004; Surai, 2015, 2018; Сурай и др., 2018).

Известно, что полифенолы, в том числе компоненты силмарина, интенсивно метаболизируются кишечными бактериями, образуя сложную смесь конечных продуктов, которые влияют на функциональную экологию симбиотических партнеров, которые, в свою очередь, могут изменить условия в кишечнике и влиять в целом на физиологию хозяина (Surai, 2015). Было высказано предположение о том, что потребление пищи, богатой растительными продуктами с высоким содержанием полифенолов, может улучшить здоровье ЖКТ хозяина посредством модуляции микробиоты. Действительно, потребление продуктов содержащих экстракт отходов переработки винограда стимулирует пролиферацию *Lactobacillus* и незначительно изменяет состав видов *Bifidobacterium* в слепой кишке крыс (Pozuelo et al., 2012). По-видимому, полифенолы способны изменять микробный баланс кишечника, но этот эффект является косвенным, то есть он опосредуется продуктами биотрансформации, а не исходными растительными соединениями (Сурай и др., 2018). Следует отметить, что взаимодействия полифенол–микробиота у птиц весьма сложны и подвержены большой индивидуальной изменчивости (Iqbal et al., 2020) и данный вопрос заслуживает дальнейшего изучения.

## **Заключение**

Современные достижения в области биохимии и молекулярной биологии, вместе с эпидемиологическими данными, изменили наше представление о пище. Становится все более очевидным, что пища/корм играют решающую

роль в поддержании здоровья, а нарушение в питании человека или кормлении животных может вызвать серьезные проблемы со здоровьем. При этом считается, что антиоксиданты входят в число основных регуляторов многих физиологических процессов, и поэтому редокс (окислительно-восстановительный) баланс между антиоксидантами и прооксидантами в корме, ЖКТ, крови и тканях является важным фактором, определяющим состояние здоровья животных (Surai, 2018). Интересно отметить, что использование травяной муки, богатой полифенольными соединениями, в рационах птицы 1980–1990 годов, вероятно, обеспечивало птицу дополнительным источником полифенольных соединений, оказывающих положительный эффект на здоровье птицы. Не исключено, что в будущем, при новых системах содержания и выращивания птицы без антибиотиков, травяная мука может снова вернуться в рационы птиц, например, родительского стада, если удастся решить вопросы снижения энергоемкости ее производства.

Растения, потребляемые человеком и животными, содержат более восьми тысяч фенольных соединений (Surai, 2014). Действительно, различные фитохимические вещества, включая флавоноиды, являются неотъемлемой частью рациона животных, включая сельскохозяйственных птиц, которые отвечают за поддержание оптимального статуса АО защиты. Так как полифенольные соединения плохо всасываются в кишечнике, их активная концентрация в тканях-мишенях и плазме крови сравнительно низкая, но, вероятно, достаточная для активации Nrf2 и подавления NF-κB, а также активации витагенов.

По сути дела, представляется весьма вероятным, что активация сигнального пути Keap1/Nrf2/ARE и ингибирование NF-κB, а не прямая АО активность может объяснить защитные свойства полифенольных соединений (Calabrese

et al., 2012; Surai, 2015). Поэтому потребление с кормом или водой растительных полифенолов, в том числе силимарина, может иметь эффект предварительного кондиционирования/настройки АО системы организма. Это может объяснить полезные свойства диеты человека, богатой фруктами и овощами. Вероятно, такая диета и высокий уровень полифенольных соединений в ней настраивают АО систему кишечника и целого организма и помогают легче и более эффективно приспособиться к стрессам.

Учитывая высокие концентрации полифенольных соединений в кишечнике, вполне возможно предположить, что они играют существенную роль в поддержании оптимального редокс-баланса в пищеварительном тракте, отвечающего за поддержание здоровья человека и животных, включая сельскохозяйственных птиц. Принимая во внимание запрет на использование кормовых антибиотиков в птицеводстве, ученые и специалисты продолжают поиск альтернативных препаратов для поддержания здоровья кишечника. В этом отношении роль полифенольных соединений в качестве пребиотиков, обладающих противовоспалительными свойствами в кишечнике, заслуживает дополнительного внимания. При этом экспериментальные данные, полученные при использовании отходов переработки винограда, богатых полифенольными соединениями, весьма обнадеживающие. В то же время молекулярные механизмы взаимодействия полифенольных соединений с микробиотой кишечника и его роль в поддержании редокс-баланса и здоровья кишечника птиц в условиях исключения из корма антибиотиков заслуживают дополнительных исследований.

*Данные исследования проводятся при поддержке гранта Правительства Российской Федерации (договор № 14.W03.31.0013 от 20 февраля 2017 г.).*

## Список литературы

Сурай П.Ф., Кочиш И.И., Фисинин В.И., Грозина А.А., Шацких Е.В. Молекулярные механизмы поддержания здоровья кишечника птицы: роль микробиоты (монография). М., Сельскохозяйственные технологии, 2018. 342 с.

Alves-Santos AM, Sugizaki CSA, Lima GC, Naves MMV. Prebiotic effect of dietary polyphenols: A systematic review. *J Funct Foods*. 2020;74:104169.

Biasi F, Deiana M, Guina T, Gamba P, Leonarduzzi G, Poli G. Wine consumption and intestinal redox homeostasis. *Redox Biol*. 2014; 2:795–802.

Calabrese V, Cornelius C, Dinkova-Kostova AT, Iavicoli I, Di Paola R, Koverech A, Cuzzocrea S, Rizzarelli E, Calabrese EJ. Cellular stress responses, hormetic phytochemicals and vitagenes in aging and longevity. *Biochim Biophys Acta*. 2012; 1822(5):753–783.

Dingeo G, Brito A, Samouda H, Iddir M, La Frano MR, Bohn T. Phytochemicals as modifiers of gut microbial communities. *Food Funct*. 2020; 11(10):8444–8471.

Dolara P, Luceri C, De Filippo C, Femia AP, Giovannelli L, Caderni G, Cecchini C, Silvi S, Orpianesi C, Cresci A. Red wine polyphenols influence carcinogenesis, intestinal microflora, oxidative damage and gene expression profiles of colonic mucosa in F344 rats. *Mutat Res*. 2005; 591(1–2):237–246.

Gessner DK, Fiesel A, Most E, Dinges J, Wen G, Ringseis R, Eder K. Supplementation of a grape seed and grape marc meal extract decreases activities of the oxidative stress-responsive transcription factors NF- $\kappa$ B and Nrf2 in the duodenal mucosa of pigs. *Acta Vet Scand*. 2013; 55(1):18.

Iqbal Y, Cottrell JJ, Suleria HAR, Dunshea FR. Gut microbiota-polyphenol interactions in chicken: a review. *Animals (Basel)*. 2020; 10(8):1391.

Kanner J. Polyphenols by generating H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, affect cell redox signaling, inhibit PTPs and activate Nrf2 axis for adaptation and cell surviving: in vitro, in vivo and human health. *Antioxidants (Basel)*. 2020; 9(9):797.

Koudoufio M, Desjardins Y, Feldman F, Spahis S, Delvin E, Levy E. Insight into polyphenol and gut microbiota crosstalk: are their metabolites the key to understand protective effects against metabolic disorders? *Antioxidants (Basel)*. 2020; 9(10):982.

Man AWC, Zhou Y, Xia N, Li H. Involvement of gut microbiota, microbial metabolites and interaction with polyphenol in host immunometabolism. *Nutrients*. 2020; 12(10):3054.

Pozuelo MJ, Agis-Torres A, Hervet-Hernández D, Elvira López-Oliva M, Muñoz-Martínez E, Rotger R, Goñi I. Grape antioxidant dietary fiber stimulates *Lactobacillus* growth in rat cecum. *J Food Sci*. 2012; 77(2):H59–H62.

Surai KP, Surai PF, Speake BK, Sparks NHC. Antioxidant-prooxidant balance in the intestine: food for thought. 1. Prooxidants. *Nutr Genomics Funct Foods*. 2003; 1(1):51–70.

Surai KP, Surai PF, Speake BK, Sparks NHC. Antioxidant-prooxidant balance in the intestine: food for thought. 2. Antioxidants. *Curr Top Nutraceutical Res*. 2004; 2(1):27–46.

Surai PF. Polyphenol compounds in the chicken/animal diet: from the past to the future. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2014; 98(1):19–31.

Surai PF. Silymarin as a natural antioxidant: an overview of the current evidence and perspectives. *Antioxidants (Basel)*. 2015; 4(1):204–47.

Surai PF. *Selenium in Poultry Nutrition and Health*. Wageningen, The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2018.

Surai PF, Fisinin VI. Antioxidant-prooxidant balance in the intestine: applications in chick placement and pig weaning. *J Veter Sci Med*. 2015; 3(1):16.

Surai PF, Kochish II, Fisinin VI, Kidd MT. Antioxidant defence systems and oxidative stress in poultry biology: an update. *Antioxidants (Basel)*. 2019; 8(7):235.

Yang G, Wang H, Kang Y, Zhu MJ. Grape seed extract improves epithelial structure and suppresses inflammation in ileum of IL-10-deficient mice. *Food Funct*. 2014; 5(10):2558–2563.

## **Polyphenolic compounds in poultry nutrition: microbiota, redox balance and vitagenes in the gut**

*Surai P.F.*,<sup>1,2,4,5,6</sup> *Kochish I.I.*<sup>2</sup>, *Fisinin V.I.*<sup>3</sup>,  
*Nikonov I.N.*<sup>2</sup>, *Romanov M.N.*<sup>2,7</sup>

<sup>1</sup> Vitagene and Health Research Centre, Bristol, UK;

<sup>2</sup> K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia;

<sup>3</sup> All-Russian Poultry Research and Technological Institute, Sergiev Posad, Moscow Region, Russia;

<sup>4</sup> Szent Istvan University, Gödöllo, Hungary;

<sup>5</sup> Trakia University, Stara Zagora, Bulgaria;

<sup>6</sup> St. Petersburg State Academy of Veterinary Medicine, St. Petersburg, Russia;

<sup>7</sup> University of Kent, Canterbury, UK

### **Abstract**

Polyphenolic compounds of plant origin include more than 8000 compounds. For many years, antioxidant properties of polyphenols have been considered as major molecular mechanism of their action. However, a detailed analysis of recent literature showed that antioxidant properties of plant polyphenols in animals and human have been overestimated. It was also shown that polyphenols play important roles as regulators of transcription factors and vitagenes. In the case of antibiotic prohibition in poultry production, plant-derived polyphenols may be important prebiotics helping gut health maintenance.

Key words: polyphenols, poultry, gut, prebiotics

**МАТЕМАТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА  
ВЛИЯНИЯ ИНФЕКЦИОННОГО ЗАРАЖЕНИЯ  
И КОРМОВОЙ ДОБАВКИ НА ПОКАЗАТЕЛИ  
ЯЙЦЕНОСКОСТИ У КУР-НЕСУШЕК**

**Нарушин В.Г.,<sup>1</sup> Романов М.Н.<sup>2,3</sup>,  
Лаптев Г.Ю.,<sup>4</sup> Ыылдырым Е.А.,<sup>4</sup> Ильина Л.А.,<sup>4</sup>  
Филиппова В.А.,<sup>4</sup> Кочиш И.И.,<sup>2</sup> Дубровин А.В.,<sup>4</sup>  
Новикова Н.И.,<sup>4</sup> Дуняшев Т.П.<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> ООО «Вита-Маркет», Запорожье, Украина;

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», Москва, Россия;

<sup>3</sup> Университет Кента, Кентербери, Великобритания;

<sup>4</sup> ООО «БИОТРОФ+», Санкт-Петербург, Россия.

E-mail: val@vitamarket.com.ua

**Аннотация**

Проводили математическую оценку влияния сальмонеллезной инфекции и применения кормовой добавки (фитобиотика Интебио) на продуктивность кур-несушек. Обнаружены достоверные отличия между опытными подгруппами по признакам яичной продуктивности, при отрицательном эффекте заражения кур сальмонеллой и положительном — при добавлении в рацион кур фитобиотика.

Ключевые слова: математические методы, куры-несушки, *Salmonella Enteritidis*, фитобиотик, яичная продуктивность

**Введение**

Одной из очень важных проблем для птицеводства и безопасности пищевых продуктов является их заражение, вызываемое возбудителем *S. enterica Enteritidis* (SE) и

представляющее опасность как для птицы, так и для человека. В настоящее время продолжается поиск новых подходов в борьбе с этим инфекционным заболеванием: тестируются новые препараты, в том числе альтернативные антибиотикам; проводится анализ профилей экспрессии генов в связи с иммунным ответом на сальмонеллез и другие инфекционные болезни (van Hemert et al. 2007; Дубровин и др. 2019; Romanov et al., 2019). Учитывая тот факт, что куры и человек могут быть заражены одинаковыми или родственными патогенами и имеют несколько общих механизмов устойчивости/восприимчивости к болезням, исследования по инфицированию кур могут служить основной моделью для изучения механизмов резистентности и патогенеза заболеваний (Dodgson, Romanov, 2004). В разработке комплексного решения названных проблем не последнее место занимают математические подходы к оценке эффектов, связанных с проявлением инфекции в организме птицы, в т.ч. при использовании тех или иных кормовых добавок, способных улучшить иммунитет и защитить промышленное поголовье от негативных последствий заражения (Narushin et al., 2019; Нарушин и др. 2019).

В связи с этим целью настоящей работы ставилась математическая оценка воздействия сальмонеллезной инфекции на продуктивные качества яичных кур на фоне применения фитобиотика.

### **Методика исследований**

В работе использованы данные эксперимента на курах-несушках кросса «Ломанн Белый», в котором оценивали показатели яичной продуктивности начиная с 346-дневного возраста птицы (Дубровин и др. 2019). Куры были разбиты на четыре подгруппы: 1) контрольная, 2) контрольная с заражением штаммом *S. enterica* Enteritidis (SE), 3) птица, получавшая кормовую добавку — фитобиотик

Интебио на основе эфирных масел («БИОТРОФ+», Санкт-Петербург), и 4) птица, получавшая Интебио, на фоне заражения SE.

Учет признаков продуктивности в подгруппах производили в течение всего 27-дневного периода наблюдения за поголовьем кур. При этом в качестве признаков продуктивности в каждой подгруппе высчитывали средние показатели массы яиц ( $w$ ), общего количества снесенных яиц ( $N$ ), а также яйцемассы, выражаемой в виде произведения  $W=wN$  и соответствующей общей массе снесенных яиц в каждой подгруппе.

### **Результаты исследований и обсуждение**

Анализ признаков яичной продуктивности выявил достоверно значимые различия между средними значениями в четырех сравниваемых по этим признакам подгруппах кур (табл. 1). В частности, подгруппа I достоверно уступала по массе яиц (64,94 г) подгруппе III (66,10 г;  $p<0,05$ ) и подгруппе IV (66,33 г;  $p<0,01$ ) и превосходила по яйцемассе подгруппу II (547,54 против 479,19 г;  $p<0,05$ ). Подгруппа II имела более низкие средние значения по сравнению с подгруппой IV по массе яиц (64,29 против 66,33 г;  $p<0,01$ ) и относительно подгруппы III по числу яиц (7,48 против 8,56;  $p<0,05$ ) и яйцемассе (479,19 против 564,81 г;  $p<0,01$ ). Подгруппа III превосходила подгруппу IV по числу яиц (8,56 против 7,52;  $p<0,05$ ) и по яйцемассе (564,81 против 498,86 г;  $p<0,05$ ).

Для последующего анализа использовали показатель яйцемассы ( $W$ ), который отражает продуктивность несушек в комплексном виде, и при этом учитывали яйца, снесенные в каждой подгруппе за 1 день. Для удобства восприятия графические зависимости на рис. 1 показывают цикл варибельности данного показателя за период проведенных наблюдений, включая попарные сравнения отдельных подгрупп.

Таблица 1

**Средние значения показателей яичной продуктивности  
по подгруппам**

Под- груп- пы	Условия	$w \pm SD$ , г	$N \pm SD$	$W \pm SD$ , г
I	Контроль без заражения	64,94±1,91 <sup>a</sup>	8,44±1,76 <sup>a</sup>	547,54±111,03 <sup>a</sup>
II	Заражение SE	64,29±2,43 <sup>a,c</sup>	7,48±2,10 <sup>a,b</sup>	479,19±134,37 <sup>b</sup>
III	Интебио без заражения	66,10±2,19 <sup>b,c</sup>	8,56±1,40 <sup>a,c</sup>	564,81±91,2 <sup>a,c</sup>
IV	Интебио с заражением SE	66,33±1,71 <sup>b</sup>	7,52±2,10 <sup>a,b</sup>	498,86±141,17 <sup>a,b</sup>

<sup>a-c</sup> Значения для каждого признака с различающимися надстрочными индексами достоверно отличаются друг от друга ( $p < 0,05$ ); см. подробное описание в тексте.

Высокая вариабельность показателя  $W$  в течение наблюдаемого периода несколько затрудняла проведение анализа, в связи с чем для каждой зависимости была построена линия тренда, аппроксимированная линейной функциональной зависимостью (рис. 1б–д):

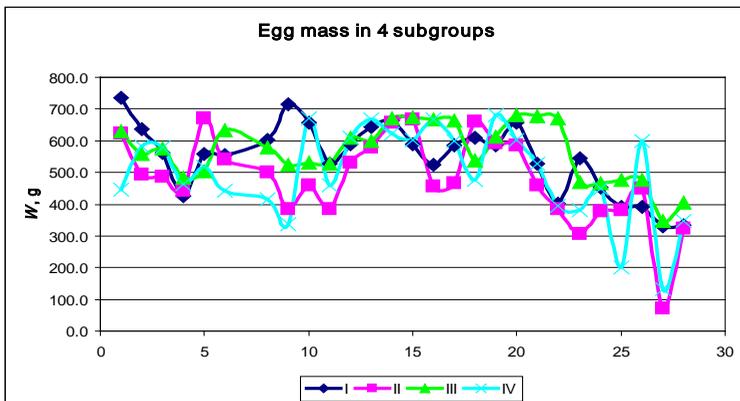
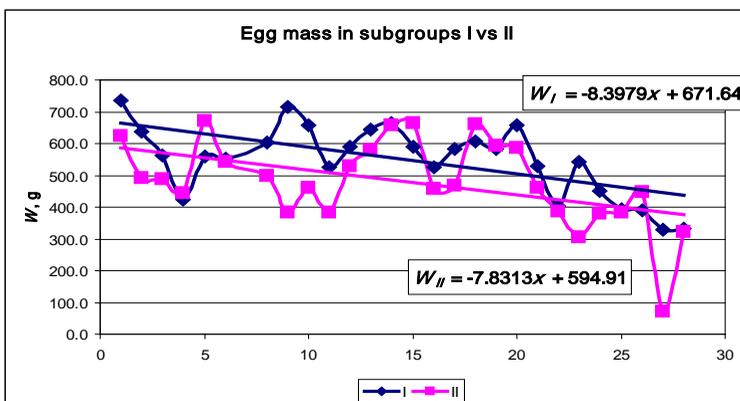
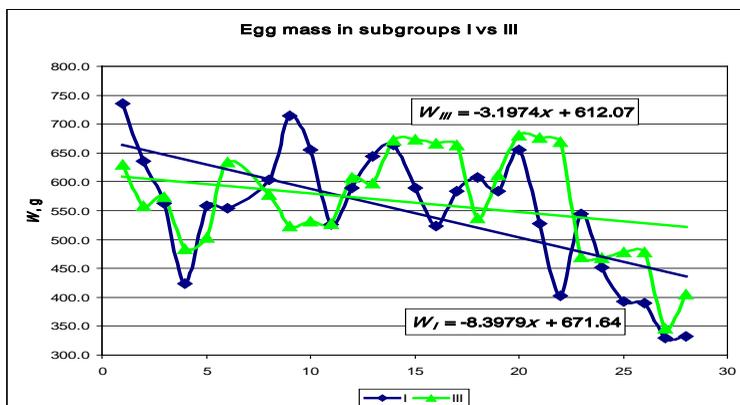
$$W_I = -8,3979x + 671,64, \quad (1)$$

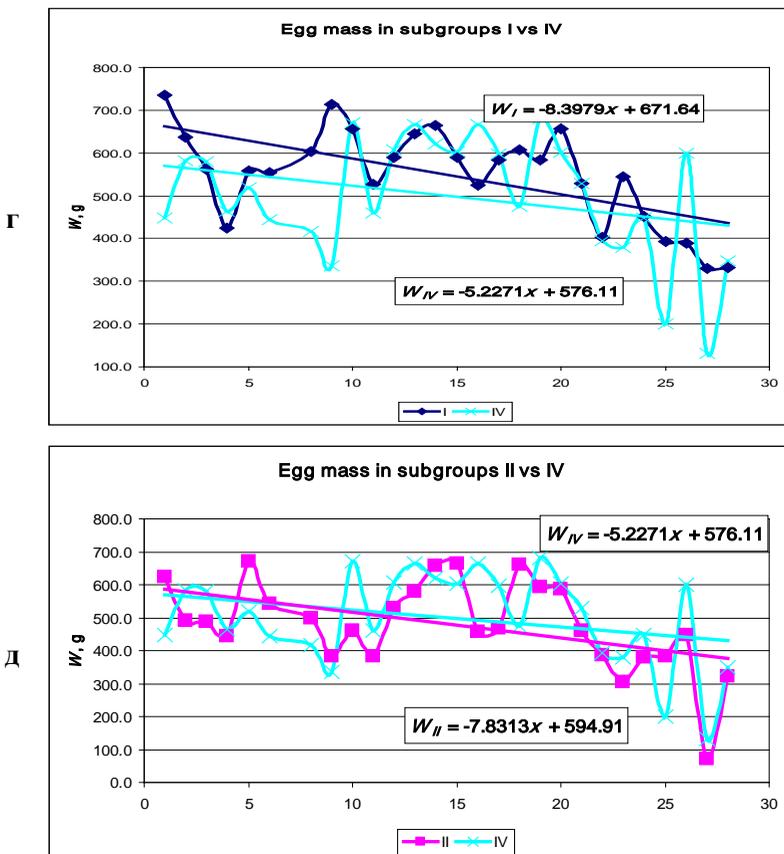
$$W_{II} = -7,8313x + 594,91, \quad (2)$$

$$W_{III} = -3,1974x + 612,07, \quad (3)$$

$$W_{IV} = -5,2271x + 576,11, \quad (4)$$

где  $W_I$ ,  $W_{II}$ ,  $W_{III}$  и  $W_{IV}$  — масса яиц, снесенных за один день в подгруппах I, II, III и IV, соответственно;  $x$  — соответствующий день периода наблюдения за птицей, равный 1...27.

**a****b****B**



**Рис. 1.** Графические зависимости изменения яйцемассы по подгруппам в течение 27-дневного периода яйцекладки (а) и попарный сравнительный анализ между подгруппами I и II (б), I и III (в), I и IV (г) и II и IV (д)

Сравнение зависимостей в подгруппах I и II (рис. 1б) свидетельствует о стабильном снижении их показателей яйцемассы на протяжении всего периода. Сравнение подгрупп I и III (рис. 1в) показывает, что примерно с середины периода наблюдения подгруппа III начинает доминиро-

вать. При сравнении подгрупп I и IV (рис. 1г) отмечено, что подгруппа IV постепенно выравнивается с контролем, в то время как подгруппа III опережает по показателям подгруппу IV (рис. 1д).

Поскольку данные  $W$  свидетельствуют об общей тенденции снижения яйценоскости в течение периода наблюдения, полученные уравнения позволяют рассчитать скорость убывания этих функций. Для расчета скорости убывания в подгруппах I и II в соответствующее уравнение (1) или (2) подставляли значение  $x=1$  и 27, т.е. дни начала и окончания наблюдения, а скорость убывания  $v$  (г/сут.) рассчитывали по формуле:

$$v = \frac{W_1 - W_{27}}{27}.$$

Тогда

$$v_I = \frac{663,24 - 444,9}{27} = 8,09,$$

$$v_{II} = \frac{587,08 - 383,46}{27} = 7,54.$$

Полученные значения  $v$  весьма близки друг к другу, что свидетельствует о схожей тенденции в изменении уровня яйценоскости птиц в обеих подгруппах I и II.

Аналогичные расчеты были выполнены для скорости убывания в двух других подгруппах. Данные по скорости убывания соответствующих функций сведены в табл. 2, показывающую меньшую скорость снижения яичной продуктивности в подгруппах III и IV по сравнению с подгруппами I и II.

За весь учетный период эксперимента удалось выявить достоверные отличия между подгруппами (контрольной и опытными) по среднему весу яиц и другим признакам яичной продуктивности.

Таблица 2

**Скорость убывания функций, отражающих общую массу яиц, снесенных соответствующей подгруппой кур за 1 день**

Подгруппы	Условия	$v$ (г/сут.)
I	Контроль без заражения	8,09
II	Заражение SE	7,54
III	Интебио без заражения	3,08
IV	Интебио с заражением SE	5,03

Таким образом, в результате математической оценки влияния сальмонеллезной инфекции и использования фитобиотика Интебио в качестве кормовой добавки на продуктивность кур-несушек нами установлено, что минимальная скорость снижения яйценоскости наблюдалась в подгруппе III, получавшей препарат Интебио, что может свидетельствовать о его свойствах, положительно влияющих на продуктивность поголовья. Очевидно также, что применение Интебио оказало определенное положительное воздействие и на подгруппу IV, зараженную сальмонеллой и получавшую данный препарат. За счет замедления скорости убывания функции яйценоскости продуктивность поголовья данной подгруппы выравнивалась по отношению к контролю к концу периода наблюдения (рис. 1г).

***Исследование выполнено при поддержке гранта Правительства Российской Федерации (договор № 14.W03.31.0013 от 20 февраля 2017 г.).***

#### **Список литературы**

Дубровин А.В., Ильина Л.А., Новикова О.Б. Влияние кормовой добавки на основе эфирных масел на яичную продуктивность и иммунный ответ кур-несушек при заражении эпизоотическим штаммом *Salmonella enteritidis* // Известия Санкт-Петербур-

бургского государственного аграрного университета. 2019. № 1 (54). С. 107–111.

Нарушин В.Г., Селина М.В., Романов М.Н. Анализ сопряженных изменений экспрессии генов и биохимических показателей крови в эксперименте на курах-несушках // Материалы Международной конференции «Молекулярно-генетические технологии для анализа экспрессии генов продуктивности и устойчивости к заболеваниям животных». М.: Сельскохозяйственные технологии, 2019. С. 67–82.

Dodgson J.B., Romanov M.N. Use of chicken models for the analysis of human disease // *Current Protocols in Human Genetics*; ed. by N.C. Dracopoli, J.L. Haines, B.R. Korf, D.T. Moir, C.C. Morton, C.E. Seidman, J.G. Seidman and D.R. Smith. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2004. Unit 15.5. P. 15.5.1–15.5.11.

Laptev G.Yu., Filippova V.A., Kochish I.I., Yildirim E.A., Ilina L.A., Dubrovin A.V., Brazhnik E.A., Novikova N.I., Novikova O.B., Dmitrieva M.E., Smolensky V.I., Surai P.F., Griffin D.K., Romanov M.N. Examination of the expression of immunity genes and bacterial profiles in the caecum of growing chickens infected with *Salmonella* Enteritidis and fed a phytobiotic // *Animals*. 2019. Vol. 9. No. 9. Article 615.

Narushin V.G., Laptev G.Yu., Yildirim E.A., Ilina L.A., Filippova V.A., Kochish I.I., Gorfunkel E.P., Dubrovin A.V., Novikova N.I., Dnyashev T.P., Smolensky V.I., Surai P.F., Bondarenko Yu.V., Griffin D.K., Romanov M.N. Modelling effects of phytobiotic administration on coherent responses to *Salmonella* infection in laying hens // *Italian Journal of Animal Science*. 2020. Vol. 19. No. 1. P. 282–287.

Romanov M.N., Sazanov A.A., Moiseyeva I.G., Smirnov A.F. Poultry // *Genome Mapping and Genomics in Animals*, Vol. 3: *Genome Mapping and Genomics in Domestic Animals*; ed. by N.E. Cockett and C. Kole. Berlin–Heidelberg–New York: Springer-Verlag, 2009. P. 75–141.

van Hemert S., Hoekman A.J.W., Smits M.A., Rebel J.M.J. Immunological and gene expression responses to a *Salmonella* infection in the chicken intestine // *Veterinary Research*. 2007. Vol. 38. No. 1. P. 51–63.

## Mathematical assessment of the influence of infection and feed additive on egg production in laying hens

*Narushin V.G.,<sup>1</sup> Romanov M.N.<sup>2,3</sup>, Laptev G.Yu.,<sup>4</sup>  
Yildirim E.A.,<sup>4</sup> Ilina L.A.,<sup>4</sup> Filippova V.A.,<sup>4</sup>  
Kochish I.I.,<sup>2</sup> Gorfunkel E.P.,<sup>4</sup> Dubrovin A.V.,<sup>4</sup>  
Novikova N.I.,<sup>4</sup> Dunityashev T.P.<sup>4</sup>*

<sup>1</sup> Vita-Market Ltd, Zaporozhye, Ukraine;

<sup>2</sup> K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia;

<sup>3</sup> University of Kent, Canterbury, UK;

<sup>4</sup> BIOTROF+ Ltd, St. Petersburg, Russia

### Abstract

A mathematical evaluation of the effects of *Salmonella* infection and use of a feed additive (phytobiotic Intebio) on the performance of laying hens was carried out. Significant differences were found between the experiment subgroups in terms of egg productivity, with a negative effect of infecting hens with *Salmonella* and with a positive one of supplementing the chicken diet with the phytobiotic.

Key words: mathematical methods, laying hens, *Salmonella* Enteritidis, phytobiotic, egg production

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ МИКРОФЛОРЫ  
ПИЩЕВАРИТЕЛЬНОГО ТРАКТА  
МОЛОДЫХ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ И ВЗРОСЛЫХ  
КУР-НЕСУШЕК ПРИ ФАКТОРАХ ЗАРАЖЕНИЯ  
И ПРИМЕНЕНИЯ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ**

**Дубровин А.В.<sup>1</sup>, Лаптев Г.Ю.<sup>1</sup>, Ильина Л.А.<sup>1</sup>,  
Филиппова В.А.<sup>1</sup>, Йылдырым Е.А.<sup>1</sup>,  
Бражник Е.А.<sup>1</sup>, Новикова О.Б.<sup>2</sup>, Кочиш И.И.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> ООО «БИОТРОФ+», Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup> ВНИВИП — филиал ФНЦ ВНИТИП РАН, Ломоносов, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>3</sup> ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», Москва, Россия.

E-mail: dubrovin@biotrof.ru

**Аннотация**

В статье приведены результаты сравнительного биоинформатического анализа микробиома цыплят-бройлеров и кур-несушек, в том числе под воздействием применения препарата на основе смеси эфирных масел Интебио<sup>®</sup>, а также при заражении эпизоотическим штаммом *Salmonella enteritidis*. В результате исследования были выявлены различия в микробиоме птиц разных групп, оценено влияние факторов возраста, заражения и применения кормовой добавки. Установлено, что взрослые куры-несушки обладали более стабильной микрофлорой пищеварительного тракта, чем цыплята-бройлеры, а влияние факторов заражения и применения эфирных масел оказывало более существенное влияние на цыплят-бройлеров.

Ключевые слова: микробиом, цыплята-бройлеры, куры-несушки, кормовые добавки, эфирные масла, иммунитет

## **Введение**

Желудочно-кишечный тракт сельскохозяйственных животных и птиц играет важнейшую роль в поддержании иммунной защиты организма, поскольку представляет собой передовую линию столкновения с различными патогенами, поступающими с кормом и способными колонизировать клетки и ткани хозяина [1]. Последние годы среди таких патогенов активно выявляются бактерии с выраженной устойчивостью к воздействию новых препаратов, в том числе и бактерии рода *Salmonella* [3], остающиеся одними из значимых возбудителей заболеваний в мировом и отечественном птицеводстве [2, 6, 9]. Одним из факторов противостояния внедрению патогенов можно считать биоразнообразие и стабильность кишечного микробиома. Ранее была также обнаружена связь между возрастом птицы и стабилизацией кишечного микробиома [5, 7]. Одним из решений против бактериальной угрозы является применение кормовых добавок, поддерживающих развитие нормальной микрофлоры или направленных на стимуляцию иммунитета. Интебио<sup>®</sup> — это кормовая добавка, основанная на смеси натуральных эфирных масел, которые в составе препарата обладают антимикробной активностью, антиоксидантным действием и противовоспалительным эффектом.

**Целью нашей работы** было изучение различий микрофлоры цыплят-бройлеров и кур-несушек, влияния возрастного фактора, заражения патогенным штаммом *S. enteritidis* и применения кормовой добавки Интебио<sup>®</sup> на основе смеси эфирных масел.

## Материалы и методы

Экспериментальная часть исследования проходила в условиях вивария ВНИВИП, где были поставлены опыты на молодых цыплятах-бройлерах кросса «Росс 308» и взрослых курах-несушках кросса «Ломанн Вайт». Дополнительными факторами выступили применение кормовой добавки Интебио® на основе эфирных масел, а также заражение птицы эпизоотическим штаммом *S. enteritidis*.

Суточные цыплята-бройлеры в количестве 120 голов были разделены случайным образом на 2 группы аналогов. Каждую из групп в возрасте 19 суток разделили случайным образом на 2 равные части в зависимости от заражения эпизоотическим штаммом *S. enteritidis*, в результате чего были сформированы группы: 1) контроль, 2) заражённый контроль, 3) применение Интебио® и 4) заражение с применением Интебио®.

Внесение препарата Интебио® (ООО «БИОТРОФ+», Санкт-Петербург) осуществляли 1 раз в день утром вместе с суточной дозой корма с первого дня, при этом руководствуясь дозировкой согласно инструкции к препарату из расчета 90 мг/кг комбикорма.

Птицу заражали эпизоотическим штаммом *S. enteritidis*, полученным из коллекции ВНИВИП – филиала ФНЦ ВНИТИП РАН. Заражение птицы проводили жидкой суточной культурой штамма в количестве  $5 \times 10^8$  КОЕ внутримышечно в грудную мышцу.

Для молекулярно-генетических исследований были взяты образцы: 1) тканей слепых отростков кишечника — для анализа экспрессии генов и 2) содержимого слепых отростков кишечника — для анализа микрофлоры. Образцы отбирали от птиц всех исследуемых групп, выбранных случайным образом через сутки после заражения и через 3 недели после инфицирования.

Опыты на взрослых курах-несушках проводили аналогично опытам на цыплятах-бройлерах. Начало учетного периода опыта соответствовало 346 суткам жизни птиц. Птицу содержали с разделением на группы аналогов — контрольную и опытную. Опытная группа получала кормовую добавку Интебио® с первого дня опыта. При этом, вся птица вместе с кормом получала кормовой антибиотик Стафак-110. Через 3 недели после начала опыта половина поголовья каждой группы была заражена эпизоотическим штаммом *S. enteritidis* в количестве  $5 \times 10^8$  КОЕ в грудную мышцу, после чего было произведено дальнейшее разделение на группы: 1) контроль, 2) зараженный контроль, 3) опыт и 4) зараженный опыт. Отбор проб содержимого слепых отростков проводился спустя сутки и спустя неделю после заражения.

Лабораторное исследование проводилось в молекулярно-генетической лаборатории компании ООО «БИО-ТРОФ+». Тотальная РНК из образцов была выделена с помощью набора Aurum Total RNA (BioRad, США) согласно инструкции производителя. При помощи набора iScript RT Supermix (BioRad, США) была проведена реакция обратной транскрипции для получения кДНК на матрице РНК. Реакция амплификации проводилась при помощи набора SsoAdvanced Universal SYBR Green Supermix (BioRad, США) согласно протоколу производителя.

Для корректного сопоставления результатов данных микрофлоры опытов на цыплятах-бройлерах и курах-несушках применили ряд биоинформатических анализов с помощью программного обеспечения Microsoft Excel и PAST.

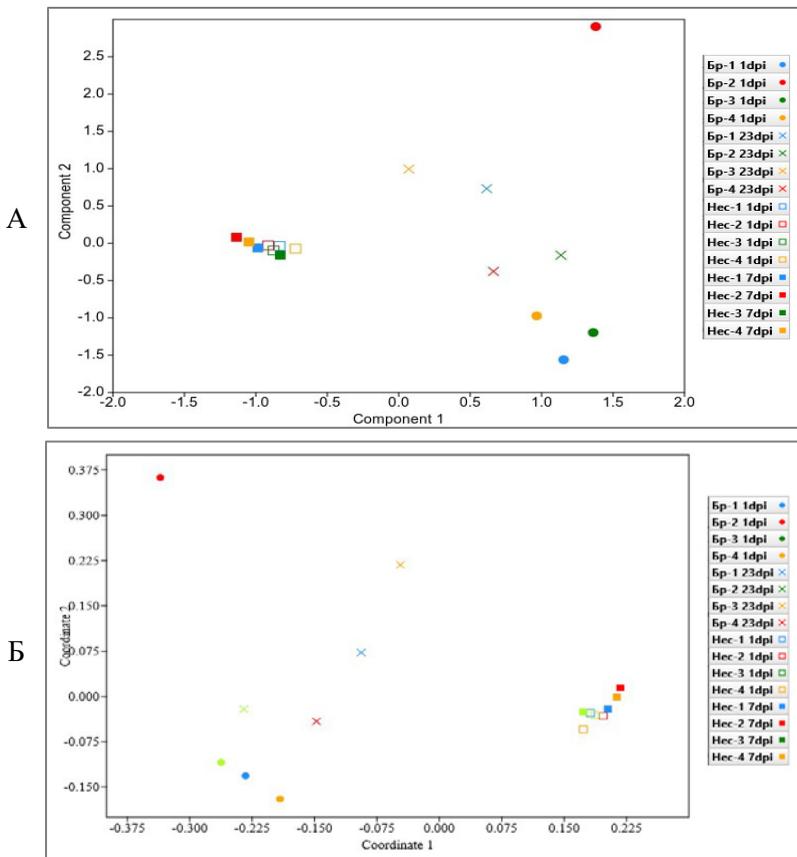
Для первичного сопоставления данных провели анализ таксономических данных методом главных компонент (PCA), а также анализ мультимерного неметричного шкалирования (NMDS). В качестве компонент для визуализа-

ции данных использовали новые, формальные переменные, являющиеся линейной комбинацией исходных переменных.

### **Результаты и обсуждение исследования**

Как видно из рис. 1А и 1Б, демонстрирующих результаты анализа методами PCA и NMDS, кластеры микробиоты разбились на две основные группы — цыплят-бройлеров и кур-несушек, что говорит о значимых различиях в составе микрофлоры данных групп птиц. При этом расстояние между кластерами микробиоты цыплят-бройлеров было значительно выше, чем между кластерами микробиоты кур-несушек, что может быть обусловлено меньшей стабильностью микрофлоры молодых цыплят-бройлеров. Ранее другими исследователями уже сообщалось о высокой вариативности микрофлоры молодых цыплят, выращиваемых даже в одинаковых условиях [8]. При этом наиболее отдалённым был кластер контрольной заражённой группы цыплят-бройлеров спустя сутки после заражения, что говорит о значимых изменениях в микробиоте группы уже через сутки после заражения. Значительные изменения в микрофлоре цыплят-бройлеров уже спустя сутки после заражения *S. enteritidis* ранее также наблюдались другими авторами [4]. Однако вместе с тем кластер заражённой группы цыплят-бройлеров, получавших Интебио<sup>®</sup>, был намного ближе к кластерам контрольных групп, что может говорить о меньшем влиянии фактора заражения на микрофлору цыплят-бройлеров при условии применения препарата на основе смеси эфирных масел.

Наблюдаемые кластеры микрофлоры кур-несушек были на меньшем расстоянии друг от друга, чем кластеры цыплят-бройлеров, что может говорить о более стабильном составе микрофлоры кур-несушек даже в условиях заражения.



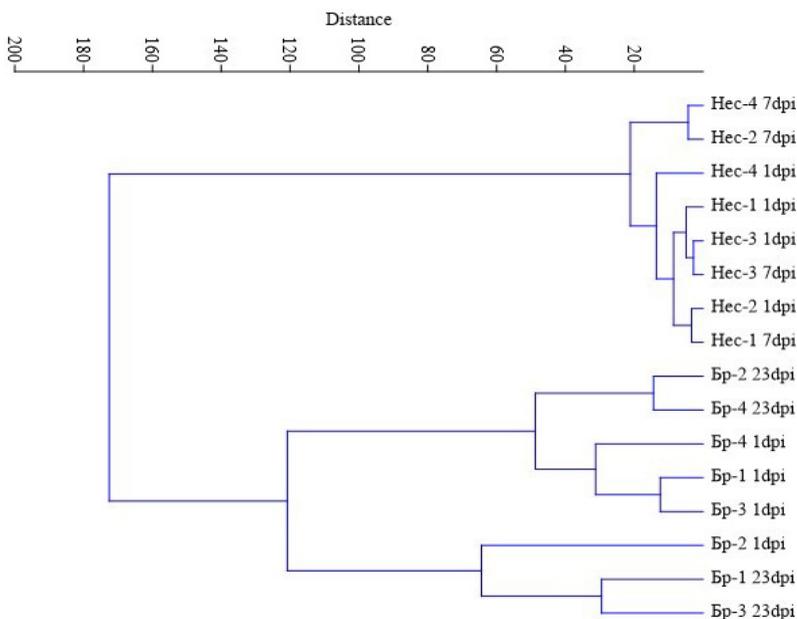
**Рис. 1. А — результаты кластерного анализа по методу главных компонент; Б — результаты кластерного анализа мультимерного неметричного шкалирования; dpi — дней после заражения. Группы опыта на цыплятах-бройлерах: Бр-1 — контрольная интактная группа; Бр-2 — контрольная заражённая группа; Бр-3 — интактная группа, получавшая Интебио®; Бр-4 — заражённая группа, получавшая Интебио®. Группы опыта на курах-несушках: Нес-1 — контрольная интактная группа; Нес-2 — контрольная заражённая группа; Нес-3 — интактная группа, получавшая Интебио®; Нес-4 — заражённая группа, получавшая Интебио®**

Нами был также проведен анализ иерархической агломерационной кластеризации по Уорду с использованием матрицы квадратов евклидовых расстояний между объектами (рис. 2). Метод в целом подтвердил результаты кластерного анализа методом главных компонент и показал определённые сходства и различия в составе микрофлоры между группами заражения цыплят-бройлеров и кур-несушек.

Как и в описанном выше анализе, кластеры микробиоты разбились на две основные группы: цыплят-бройлеров и кур-несушек, при этом расстояние между кластерами цыплят-бройлеров было значительно бóльшим, чем между кластерами кур-несушек (рис. 2).

Общей закономерностью была малая удалённость между заражёнными группами спустя 3 недели у цыплят-бройлеров и спустя 7 дней у кур-несушек, что говорит о высоком влиянии фактора заражения на баланс микрофлоры как цыплят-бройлеров, так и кур-несушек.

В опыте на цыплятах-бройлерах была отмечена близкая связь между контрольной и опытной интактными группами как спустя сутки, так и спустя 3 недели после заражения, что может говорить о более высоком возрастном факторе влияния на микробиоту, нежели чем факторе применения препаратов. О высоком влиянии возрастного фактора на ранних этапах развития птицы сообщали ранее и другие авторы, наблюдавшие микрофлору птиц в возрастной динамике [5, 7]. При этом в опыте на курах-несушках отмечалась близкая связь между данными опытной интактной группы от разных дат отбора (спустя сутки и спустя неделю после заражения), что может говорить о более высоком влиянии фактора применения препарата на микрофлору птиц, в то время как по возрастному признаку микрофлора уже достаточно стабильна по сравнению с цыплятами-бройлерами.



**Рис. 2. Результаты иерархической кластеризации данных микробиома слепых отростков исследованных групп птиц по Уорду; dpi — дней после заражения. Группы опыта на цыплятах-бройлерах: Бр-1 — контрольная интактная группа; Бр-2 — контрольная заражённая группа; Бр-3 — интактная группа, получавшая Интебио®; Бр-4 — заражённая группа, получавшая Интебио®. Группы опыта на курах-несушках: Нес-1 — контрольная интактная группа; Нес-2 — контрольная заражённая группа; Нес-3 — интактная группа, получавшая Интебио®; Нес-4 — заражённая группа, получавшая Интебио®**

Интересным представляется тот факт, что микрофлора несушек контрольной группы спустя сутки после заражения была ближе к составу микрофлоры контрольной интактной группы спустя неделю после заражения, что может говорить о более медленном изменении в стабильной структуре микробиома, в то время как у цыплят бройлеров контрольная группа спустя сутки после заражения выдели-

лась в отдельный кластер, что может говорить о более выраженных изменениях в микробиоте птицы.

## **Выводы**

Проведённый интегральный анализ данных микрофлоры цыплят-бройлеров и кур-несушек выявил различный уровень влияния факторов возраста, заражения птицы и применения препарата на основе смеси эфирных масел.

Основным фактором влияния на микрофлору цыплят-бройлеров был ранний возраст птицы, что обуславливало неустойчивость и продолжающееся формирование микробиоты кишечника цыплят-бройлеров. Существенным был также фактор заражения, внесший выраженные изменения в микробиоте кишечника цыплят уже спустя сутки после заражения. При этом фактор применения препарата на основе смеси эфирных масел оказывал корректирующее воздействие на микрофлору цыплят-бройлеров, что привело к меньшему различию в микробиоте с контрольными группами.

В отличие от цыплят-бройлеров, на организм кур-несушек все перечисленные выше факторы оказали значительно меньшее влияние, что в первую очередь указывает на меньшую степень влияния возрастного фактора, поскольку взрослые куры-несушки обладают уже сформированным кишечным микробиомом. Вместе с тем фактор заражения также оказал влияние на микрофлору птицы, однако более ярко это было видно спустя неделю после заражения. Наиболее стабильная микрофлора была отмечена в группе получавшей препарат на основе смеси эфирных масел, что также указывает на влияние данного фактора.

*Исследование выполнено при поддержке гранта Правительства Российской Федерации № 14.W03.31.0013.*

## Список литературы

1. Лаптев Г. Кормление животных и микрофлора // Животноводство России. — 2010. — № 2. — С. 56–57.
2. Ленченко Е.М., Этиологическая структура и дифференциальная диагностика сальмонеллеза птиц / Е.М. Ленченко, Ф.В. Кхай, Ю.А. Ватников и др. // Вестник РУДН. Серия: Агронимия и животноводство. — 2017. — № 4.
3. Пименов Н.В. Эффективность применения бивалентного бактериофага против сальмонеллы для обезвреживания продуктов убоя в птицеводстве / Н.В. Пименов, С.В. Редькин, Ю.В. Амбражеевич // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. — 2014. — № 1. — С. 31–35.
4. Crhanova M. Immune response of chicken gut to natural colonization by gut microflora and to *Salmonella enterica* serovar Enteritidis infection / M. Crhanova, H. Hradecka, M. Faldynova, M. Matulova, H. Havlickova, F. Sisak, I. Rychlik // Infection and Immunity. — 2011. — Vol. 79 — No. 7. — P. 2755–2763. doi: 10.1128/IAI.01375-10.
5. Ding J. Inheritance and establishment of gut microbiota in chickens / J. Ding, R. Dai, L. Yang, C. He, K. Xu, S. Liu, W. Zhao, L. Xiao, L. Luo, Y. Zhang, H. Meng // Frontiers in Microbiology. — 2017. — Vol. 8. — P. 1967. doi: 10.3389/fmicb.2017.01967.
6. Mouttotou N. Prevalence, risks and antibiotic resistance of *Salmonella* in poultry production chain / N. Mouttotou, S. Ahmad, Z. Kamran, K.C. Koutoulis // Current Topics in Salmonella and Salmonellosis. — 2017. — P. 1–6. doi: 10.5772/67438.
7. Shaufi M.A. Deciphering chicken gut microbial dynamics based on high-throughput 16S rRNA metagenomics analyses / M.A. Shaufi, C.C. Sieo, C.W. Chong et al. // Gut Pathogens. — 2015. — Vol. 7. — P. 4. doi: 10.1186/s13099-015-0051-7.
8. Stanley D. Highly variable microbiota development in the chicken gastrointestinal tract / D. Stanley, M.S. Geier, R.J. Hughes S.E., Denman, R.J. Moore // PloS One. — 2013. — Vol. 8. — No. 12. — Article e84290. doi: 10.1371/journal.pone.0084290.
9. Witkowska D. Prevalence of *Salmonella* spp. in broiler chicken flocks in northern Poland in 2014–2016 / D. Witkowska,

M. Kuncewicz, J.P. Żebrowska, J. Sobczak, J. Sowińska. // Annals of Agricultural and Environmental Medicine. — 2018. — Vol. 25. — № 4. — P. 693–697. doi: 10.26444/aaem/99528.

**Comparative analysis of digestive tract microflora  
of young broiler chickens and adult laying hens  
using the factors of infection and the use of essential oils**

*Dubrovin A.V.<sup>1</sup>, Laptev G.Yu.<sup>1</sup>, Ilina L.A.<sup>1</sup>, Filippova V.A.<sup>1</sup>,  
Yildirym E.A.<sup>1</sup>, Brazhnik E.A.<sup>1</sup>, Novikova O.B.<sup>2</sup>, Kochish I.I.<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> BIOTROF+ Ltd, St. Petersburg, Russia;

<sup>2</sup> All-Russian Research Veterinary Institute of Poultry Science  
— Branch of the Federal State Budget Scientific Institution  
Federal Scientific Center “All-Russian Poultry Research and  
Technological Institute” of the Russian Academy of Sciences,  
St. Petersburg, Russia;

<sup>3</sup> K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia

**Abstract**

The article presents the results of a comparative bioinformatic analysis of the microbiome of broilers and laying hens due to the influence of the feed additive Intebio<sup>®</sup> based on a mixture of essential oils, and infection with an epizootic strain of *Salmonella enteritidis*. As a result of the study, differences in the microbiome of different poultry groups were revealed, and the influence of age, infection and feed additive usage factors was assessed. It was found that adult laying hens had a more stable digestive tract microflora than broiler chickens, while the influence of infection and essential oils usage factors had a more significant effect in broiler chickens.

Key words: microbiome, broiler chickens, laying hens, feed additives, essential oils, immunity

## **ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ МЯСНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ ДОМАШНИХ ПТИЦ**

**Титов В.Ю.,<sup>1,2</sup> Кочиш И.И.,<sup>1</sup> Никонов И.Н.,<sup>1</sup>  
Коренюга М.В.,<sup>1</sup> Мясникова О.В.,<sup>1</sup>  
Куванов Т.К.,<sup>1</sup> Долгорукова А.М.<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», Москва, Россия;

<sup>2</sup> ФНЦ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства РАН, Россия, Сергиев Посад, Московская область, Россия.

E-mail: vtitov43@yandex.ru

### **Аннотация**

Для целенаправленной селекции, а также сохранения ценных пород необходимы четкие критерии не только фенотипического, но прежде всего генетического характера. Нужны конкретные генетические ориентиры, с которыми связаны хозяйственно ценные фенотипические особенности.

Мясная продуктивность обусловлена многими факторами, в частности интенсивностью роста и дифференцировки мышечной ткани, а также общими размерами тела. Анализ по множеству генов будет затратным и трудоемким. Необходимо относительно небольшой набор маркеров, по наличию которых можно с высокой вероятностью предсказать наличие интересующего нас фенотипического признака.

В данной работе мы проанализировали один из биохимических признаков мясной продуктивности, обусловленных генетически, — интенсивность эмбрионального окисления оксида азота. Этот признак очень чувствителен, поскольку разница между величинами этого показателя у мясных и яичных форм составляет несколько порядков.

В то же время этот показатель очень специфичный для конкретной породы, линии или кросса, не зависит от условий инкубации, условий содержания и возраста родителей. Все это позволяет предположить, что он опосредован генетически. Согласно нашим данным, взаимосвязь между интенсивностью окисления NO в эмбрионе и экспрессией некоторых генов, ответственных за развитие мышц, существует.

Ключевые слова: домашняя птица, оксид азота, доноры NO, нитрат, эмбриогенез, миогенез, генетические маркеры

### **Физиологическая роль оксида азота.**

#### **Предполагаемые механизмы его физиологических эффектов**

Оксид азота (NO) синтезируется в живом организме из аминокислоты аргинина. NO выполняет функцию поддержания тонуса гладкой мускулатуры, регулирует агрегацию тромбоцитов, активируя фермент гуанилатциклазу, а также участвует в дифференцировке тканей и апоптозе, регулируя активность каспазы [10, 18, 19]. В настоящее время считается, что регуляция активности обоих ферментов происходит при помощи обратимого нитрозирования определенных, содержащих SH-группы, структур апофермента [6, 12]. По-видимому, при этом также осуществляется регуляция экспрессии ряда генов [20].

Оксид азота — короткоживущее соединение, быстро окисляющееся до нитрита и нитрата. Считается, что вновь синтезированный оксид азота включается в состав так называемых соединений — доноров NO, к которым относятся нитрозотиолы (RSNO), динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ), некоторые высокомолекулярные нитраты, способные продуцировать ДНКЖ (RNO<sub>2</sub>). Предполагают, что эти соединения не только продлевают время жизни

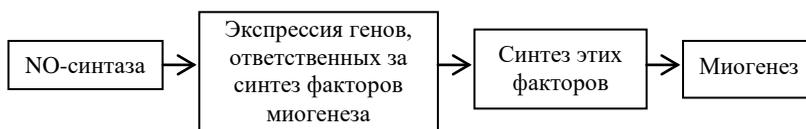
NO, но непосредственно взаимодействуют с его физиологическими мишенями [8, 10, 18, 19].

**Оксид азота в эмбриогенезе птиц.  
Предполагаемая взаимосвязь с экспрессией генов,  
ответственных за мясную продуктивность**

Согласно многим публикациям, NO интенсивно продуцируется в процессе эмбриогенеза [3, 4, 5, 16]. Но до сих пор определение полного содержания всех метаболитов оксида азота было проблематичным из-за отсутствия метода, позволяющего с высокой чувствительностью и специфичностью оперативно контролировать содержание всех групп метаболитов NO в живых тканях. Об эффекте NO судили по эффектам блокаторов NO-синтазы [2, 4, 9], доноров NO [4, 17], а также аргинина — источника NO [7, 9]. В частности, таким образом был сделан вывод о влиянии NO на пролиферацию и дифференцировку миобластов [11]. При помощи вестерн-блот-анализа (электрофореза и дальнейшего определения с использованием антител) было показано, что значительная экспрессия NO-синтазы в развивающемся курином эмбрионе имеет место на начальной стадии развития эмбриона. Экзогенный ввод блокатора NO-синтазы способствовал некоторому снижению веса зародыша на третьи сутки развития. Доноры NO предотвращали этот эффект [4]. Кроме того, под действием блокатора NO-синтазы снижается экспрессия генов миогенина (*MYOG*), специфического фактора пролиферации миоцитов 2с (*MEF2C*) и миозина (*MYH1*). Донор NO предотвращал это снижение [4].

Методом ПЦР, используя соответствующие праймеры, было также установлено, что на третьи сутки инкубации под действием блокатора NO-синтазы снижалась экспрессия миогенина, специфического фактора пролиферации миоцитов 2с и миозина. При этом донор NO также предот-

вращал это снижение. На основании этих данных можно сделать вывод о роли NO как ключевого мессенджера развития на начальном этапе эмбриогенеза [4]. Таким образом, вырисовывается следующая схема физиологического эффекта NO в эмбриогенезе (рис. 1):



*Рис. 1. Схема роли NO в эмбриональном миогенезе (согласно [4])*

### **Окисление NO в эмбрионе — маркер экспрессии генов, связанных с развитием мышц**

Разработанный в РГМУ и ИФХ РАН с нашим участием ферментный сенсор, основанный на специфичном галоид-зависимом ингибировании фермента каталазы всеми соединениями, содержащими группу NO<sup>+</sup> и теряющими ингибирующую способность под действием ряда факторов, различных для каждой группы нитро- и нитрозосоединений, позволяет оперативно контролировать содержание RNSO, ДНКЖ, RNO<sub>2</sub>, нитрита и нитрозоаминов, а также нитрата (после восстановления последнего до нитрита посредством треххлористого ванадия). Чувствительность сенсора — 50 нМ [15].

Благодаря использованию этого сенсора, было установлено, что развитие птичьего эмбриона действительно сопровождается интенсивным синтезом оксида азота, о чем судили по накоплению нитро- и нитрозосоединений в тканях эмбриона. Накопление идет до третьих суток инкубации, достигая общей концентрации 120–150 мкМ. Нитро- и нитрозосоединения представлены преимущественно донорами NO. Последние накапливаются в амниотической жидкости [1, 13], и в этом случае наши данные подтвер-

ждают данные Cazzato et al. [4]. Далее с третьих по одиннадцатые сутки (у кур) содержание нитро- и нитрозосоединений существенно не меняется. Но начиная с одиннадцатых суток содержание производных NO в эмбрионе резко возрастает, что связано с интенсификацией их синтеза в тканях зародыша. К концу эмбрионального периода концентрация производных NO может достигнуть 700–1000 мкМ [1, 13].

Общая концентрация производных NO в эмбрионе примерно одинаковая для эмбрионов птиц одного вида. Но мясные породы, линии и кроссы характеризуются высокой интенсивностью окисления NO до нитрата. Начинается это окисление на вторые–третьи сутки и продолжается весь эмбриональный период. Происходит оно в тканях эмбриона. Нитрат из клеток зародыша активно транспортируется в аллантаис [1, 13]. По нашим данным, окисление происходит преимущественно в мышечных клетках. Этот вывод сделан на основании того, что нитрат преимущественно аккумулируется в мышечной ткани [1].

В связи с различием в интенсивности окисления NO эмбрионы яичных форм характеризуются высоким содержанием доноров NO и низким содержанием нитрата, а мясные — наоборот. Различие в интенсивности окисления NO до нитрата, которое можно выразить соотношением нитрата к донорам NO достигает нескольких порядков (табл. 1) [1]. Аналогичные показатели имели место у мясных и яичных форм цесарок, индеек и страусов [13]. Этот показатель стабилен в пределах линии, кросса и породы — различия могут быть не более чем на 10%. Показатель не зависит от условий инкубации, а также от возраста, кормления и содержания родителей [1, 13]. Все это дает основание предположить, что интенсивность эмбрионального окисления NO является генетически обусловленной.

Таким образом, с особенностями развития мышечной ткани связан не синтез NO, интенсивность которого достоверно не различается в пределах вида, а интенсивность окисления, происходящего в тканях, преимущественно в мышечной.

### **Возможные механизмы взаимосвязи окисления NO в эмбрионе с экспрессией генов, связанных с развитием мышц**

В случае взаимосвязи окисления NO в эмбрионе с экспрессией генов могут быть два механизма:

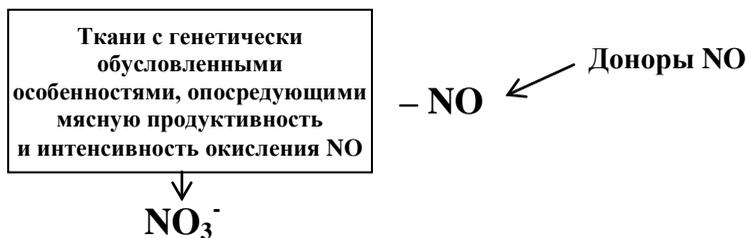
1. Генетически обусловленное окисление NO посредством определенного внеклеточного или внутриклеточного фактора продуцирует активные формы азота, которые, нитрозируя или нитруя те или иные структуры, регулируют экспрессию генов, ответственных за миогенез.

2. Генетически обусловленные особенности тканей придают последним большее сродство к оксиду азота, вследствие чего происходит нитрозирование тех или иных структур с последующим окислением NO до нитрата. Согласно нашим данным, RSNO, ДНКЖ и RNO<sub>2</sub> практически не диссоциируют с высвобождением NO в окружающую среду [14]. Основным донором NO в клетках считается ДНКЖ [18, 19]. Предполагается, что под действием факторов, вызывающих деструкцию тиолатных лигандов, а также других хелаторов железа, обладающих более высоким сродством к нему, происходит деструкция комплекса. Роль этих хелаторов могут выполнять и части апофермента физиологической мишени NO. В результате либо образуется комплекс типа Fe(NO)<sub>n</sub>, либо комплекс с более мощным хелатором. Во время этой перестройки комплекс Fe-NO, по-видимому, слабнет, так что если в это время в среде присутствует вещество с высоким сродством к NO, последний может перейти из комплекса на эту субстанцию. Причем переход не связан с выходом NO в окру-

жающую среду или связан минимально. По крайней мере, он не связан с образованием нитрита — продукта окисления NO кислородом [14]. По нашим данным, нитрит может образоваться в живых тканях при взаимодействии доноров NO и активных форм кислорода, продуцируемых активированными лейкоцитами [14, 15].

Ткани птичьего эмбриона не содержат нитрита и нитрозоаминов в концентрации свыше 50 нМ [13]. Экзогенно добавленные в эмбрион доноры NO практически не окислялись до нитрата в эмбрионах яичных форм и окислялись в эмбрионах мясных [1]. Причем, если ДНКЖ, содержащий две молекулы глутатиона, окислялся, практически, полностью, то ДНКЖ, содержащий более мощный хелатор фенантролин, не окислялся [14].

По-видимому, имеет место перенос  $\text{NO}(\text{NO}^+)$  группы на какую-то мишень, что можно представить в виде следующей схемы (рис. 2):



*Рис. 2. Схема связи окисления эмбрионального NO с мясной продуктивностью (согласно полученным нами данным [1, 13, 14])*

Мы не можем отрицать возможность эффектов NO на экспрессию ряда генов, определяющих ход миогенеза [4]. Но, согласно полученным нами данным, обобщенным в виде схемы на рис. 2, мясные и яичные формы различаются прежде всего генетически обусловленными особенностями тканей, которые определяют интенсивность окисления эмбрионального NO, а не наоборот. Другими словами,

не NO прежде всего влияет на экспрессию генов, а экспрессия последних на окисление оксида азота (ср. схемы на рис. 1 и 2). Заметим также, что снижение интенсивности накопления доноров NO в эмбрионе под действием блокатора NO-синтазы даже на 70% не сказывалось существенно на эмбриональный и постэмбриональный рост, как и использование доноров NO [1]. Поэтому логично сравнить экспрессию генов, ответственных за миогенез в тканях мясных и яичных пород, линий и кроссов. Сравнение экспрессии исследованных Cazzato et al. [4] генов в мышечной ткани 14 суточных эмбрионов, характеризующихся высокой интенсивностью окисления NO (мини-мясных и Б-56 (корниш)) и низкой интенсивностью (Б-79 (плимутрок) и «Хайсекс белый») показало, что в грудных мышцах эмбрионов, характеризующихся высокой интенсивностью окисления NO, экспрессия фактора миогенеза 5 (*MYF5*) в  $2^4-2^7$ , а в бедренных в  $2^4-2^{10}$  раз ниже, чем в эмбрионах с низкой интенсивностью окисления. В бедренных мышцах также экспрессия гена миогенной дифференциации 1 (*MYOD1*) в  $2^3-2^6$  раз ниже у эмбрионов с высокой интенсивностью окисления. В экспрессии миогенина (*MYOG*), миозина (*MYH1*) и фактора пролиферации миоцитов 2с (*MEF2C*) достоверных различий не было.

Следует, однако, заметить, что скорость роста эмбрионов яичных и мясных форм существенно не различается, судя по данным, представленным в табл. 1, а также сведениям, полученным другими исследователями [7]. Следовательно, процессы, связанные с окислением NO в эмбрионе, проявляются уже на постэмбриональном уровне. Интенсивность синтеза и окисления оксида азота резко снижается после вылупления цыплят и становится примерно равным у яичных и мясных форм [13]. В то же время различия в экспрессии некоторых генов могут сохраниться. Задача будущих исследований — выяснить эти закономерности.

Таблица 1

**Содержание метаболитов NO в гомогенатах 7- и 14-суточных эмбрионов кур и перепелов ряда пород, линий и кроссов в сравнении с динамикой увеличения их живой массы<sup>1</sup>**  
(данные взяты из работы А.М. Долгоруковой с сотр. [1])

144

Вид	Порода, линия, кросс	Масса яйца, г	Масса птенца, г			Нитрат, мкМ
			1-е сут.	14-е сут.	28-е сут.	Доноры NO, мкМ, на 7-е сут.
Куры	«Хайсекс белый»	64,2±0,78	42,4±3,1	79,8±3,9	222,4±5,2	<0,1
						138,9±8,9
	«Смена 8»	64,8±0,58	47,5±0,7	311,9±19,2	1157±50	145,4±9,8
						3,3±2,1
	«Кобб 500»	62,7±0,67	48,5±1,9	276,5±17,5	1244,5±38,4	151,3±10,1
						2,3±1,5
	Юрловская голосистая	60,4±0,70	39,1±0,81	107,5±4,5	241,7±8,9	<0,1
						149,6±9,1
	Малайская бойцовая	54,5±0,45	37,9±0,75	98,8±4,4	214,8±9,1	148,4±9,3
						5,8±1,9
	Орловская ситцевая	51,7±0,5	35,5±0,9	93,1±5,8	167,8±8,7	<0,1
						131,5±6,9

Вид	Порода, линия, кросс	Масса яйца, г	Масса птенца, г			Нитрат, мкМ		
			1-е сут.	14-е сут.	28-е сут.	Доноры NO, мкМ, на 7-е сут.		
	Андалузская голубая	48,5±0,61	37,2±0,97	85,4±3,1	170,6±5,4	<0,1		
						141,8±8,4		
	Куланги	55,7±0,55	41,3±0,93	92,4±3,8	223,7±8,3	143,4±7,6		
						8,8±1,6		
	Корниш Б-56	65,8±0,6	49,3±0,7	291,7±9,4	1287,5±49,1	152,2±9,9		
						9,5±1,7		
	Плимутрок Б-79	64,3±0,78	44,9±0,68	265,2±9,7	1058,4±32,6	<0,1		
						141,8±8,4		
	Росс 308	65,6±0,7	43,4±0,5	341,7±10,1	1146,4±30,5	138,5±8,6		
						4,4±1,9		
	Пере-пела	Маньчжурская золотистая	12,7±0,2	11,7±0,2	95,8±1,1	♀	♂	<0,1
						178,2±3,7	163,6±1,7	131,8±4,3
Эстонская		13,0±0,1	12,1±0,2	111,0±1,1	194,5±3,8	181,8±2,3	139,4±11,2	
							3,1±1,5	

Вид	Порода, линия, кросс	Масса яйца, г	Масса птенца, г				Нитрат, мкМ
			1-е сут.	14-е сут.	28-е сут.		Доноры NO, мкМ, на 7-е сут.
	Гибрид (♀ маньчжурская × ♂ эстонская)	13,6±0,2	12,6±0,2	109,3±1,4	184,6±4,1	176,9±3,8	168,5±10,9
							1,5±0,8
	Японская серая	12,2±0,2	10,6±0,3	95,6±1,2	163,5±2,7	158,1±3,3	<0,1
							134,3±2,7
	Гибрид (♀ японская × ♂ эстонская)	12,1±0,1	10,4±0,3	98,7±1,4	171,3±2,4	167,5±2,1	168,5±10,9
							1,5±0,8
	Фараон	13,4±0,1	11,9±0,2	105,2±1,6	205,1±3,4	198,6±6,0	235,3±12,8
							12,8±1,9
	Белая тяжелая	13,5±0,2	10,9±0,2	105,0±2,6	283,3±3,1	277,4±6,1	157,0±6,7
							3,1±1,0
	Гибрид (♀ японская × ♂ маньчжурская)	12,6±0,1	10,2±0,1	96,3±0,8	179,4±2,9	165,2±2,3	<0,1
							131,0±4,8

<sup>1</sup> Концентрация нитрита и нитрозоаминов во всех образцах <0,1 мкМ.

*Исследования проведены при поддержке гранта Правительства Российской Федерации (договор № 14.W03.31.0013 от 20 февраля 2017 г.).*

## Список литературы

1. Долгорукова А.М., Титов В.Ю., Кочиш И.И., Фисинин В.И., Никонов И.Н., Косенко О.В., Мясникова О.В. Эмбриональный метаболизм оксида азота и его связь с постэмбриональным ростом у кур (*Gallus gallus domesticus* L.) и перепелов (*Coturnix coturnix* L.) // *Сельскохозяйственная биология*. 2020. Т. 55, № 4. С. 794–803. (doi: 10.15389/agrobiology.2020.4.794rus).
2. Anderson J.E. A role for nitric oxide in muscle repair: nitric oxide-mediated activation of muscle satellite cells // *Mol Biol Cell*. 2000; 11(5):1859–74. doi: 10.1091/mbc.11.5.1859.
3. Blum J., Morel C., Hammon H., Bruckmaier R., Jaggy A., Zurbriggen A., Jungi T. High constitutional nitrate status in young cattle // *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol*. 2001; 130(2):271–82. doi: 10.1016/s1095-6433(01)00390-7.
4. Cazzato D., Assi E., Moscheni C., Brunelli S., De Palma C., Cervia D., Perrotta C., Clementi E. Nitric oxide drives embryonic myogenesis in chicken through the upregulation of myogenic differentiation factors // *Exp Cell Res*. 2014; 320(2): 269–80. doi: 10.1016/j.yexcr.2013.11.006.
5. Khan H., Kusakabe K.T., Wakitani S., Hiyama M., Takeshita A., Kiso Y. Khan H, Kusakabe KT, Wakitani S, Hiyama M, Takeshita A, Kiso Y. Expression and localization of NO synthase isoenzymes (iNOS and eNOS) in development of the rabbit placenta // *J Reprod Dev*. 2012; 58(2): 231–6. doi: 10.1262/jrd.11-128t.
6. Kim YM, Chung HT, Simmons RL, Billiar TR. Cellular non-heme iron content is a determinant of nitric oxide-mediated apoptosis, necrosis, and caspase inhibition // *J Biol Chem*. 2000; 275(15):10954–61. doi: 10.1074/jbc.275.15.10954.
7. Li Y., Wang Y., Willems E., Willemsen H., Franssens L., Buyse J., Decuyper E., Everaert N. In ovo L-arginine supplementation stimulates myoblast differentiation but negatively affects muscle development of broiler chicken after hatching // *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)*. 2016; 100(1): 167–77. doi: 10.1111/jpn.12299.
8. Lima E.S., Bonini M.G., Augusto O., Barbeiro H.V., Souza H.P., Abdalla D.S. Nitrated lipids decompose to nitric oxide and li-

pid radicals and cause vasorelaxation // *Free Radic Biol Med.* 2005; 39(4):532–9. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2005.04.005.

9. Long J.H., Lira V.A., Soltow Q.A., Betters J.L., Sellman J.E., Criswell D.S. Arginine supplementation induces myoblast fusion via augmentation of nitric oxide production // *J Muscle Res Cell Motil.* 2006; 27(8): 577–84. doi: 10.1007/s10974-006-9078-1.

10. Severina I.S., Bussygina O.G., Pyatakova N.V., Malenkova I.V., Vanin A.F. Activation of soluble guanylate cyclase by NO donors–S-nitrosothiols, and dinitrosyl-iron complexes with thiol-containing ligands // *Nitric Oxide.* 2003; 8(3):155–63. doi: 10.1016/s1089-8603(03)00002-8.

11. Stamler J.S., Meissner G. Physiology of nitric oxide in skeletal muscle. *Physiol Rev.* 2001; 81(1):209–37. doi: 10.1152/physrev.2001.81.1.209.

12. Stamler J.S., Singel D.J., Loscalzo J. Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms // *Science.* 1992; 258(5090):1898–902. doi: 10.1126/science.1281928.

13. Titov V.Yu., Dolgorukova A.M., Fisinin V.I., Borkhunova Ye.N., Kondratov G.V., Slesarenko N.A., Kochish I.I. The role of nitric oxide (NO) in the body growth rate of birds // *Worlds Poult Sci J.* 2018; 74(4):675–86. doi: 10.1017/S0043933918000661.

14. Titov V.Yu., Dolgorukova A.M., Petrov V.A., Osipov A.N. Selectivity in physiological action of nitric oxide: a hypothetical mechanism // *Bull Exp Biol Med.* 2017;163(6):726–730. doi: 10.1007/s10517-017-3890-z.

15. Titov V.Y., Kosenko O.V., Starkova E.S., Kondratov G.V., Borkhunova E.N., Petrov V.A., Osipov A.N. Enzymatic sensor detects some forms of nitric oxide donors undetectable by other methods in living tissues // *Bull Exp Biol Med.* 2016; 162(1):107–110. doi: 10.1007/s10517-016-3557-1.

16. Tiwari M., Prasad S., Pandey A.N., Premkumar K.V., Tripathi A., Gupta A., Chetan D.R., Yadav P.K., Shrivastav T.G., Chaube S.K. Nitric oxide signaling during meiotic cell cycle regulation in mammalian oocytes // *Front Biosci (Schol Ed).* 2017; 9:307–18. doi: 10.2741/s489.

17. Ulibarri J.A., Mozdziak P.E., Schultz E., Cook C., Best T.M. Nitric oxide donors, sodium nitroprusside and S-nitroso-N-

acetylpenicillamine, stimulate myoblast proliferation in vitro // *Vitro Cell Dev Biol Anim.* 1999; 35(4):215–8. doi: 10.1007/s11626-999-0029-1.

18. Vanin A.F. Dinitrosyl iron complexes with thiolate ligands: physico-chemistry, biochemistry and physiology // *Nitric Oxide.* 2009; 21(1): 1–13. doi: 10.1016/j.niox.2009.03.005.

19. Vanin A.F. EPR characterization of dinitrosyl iron complexes with thiol-containing ligands as an approach to their identification in biological objects: an overview. // *Cell Biochem. Biophys.* 2018; 76(1–2):3–17. doi: 10.1007/s12013-017-0811-8.

20. Zhou J., Brüne B. NO and transcriptional regulation: from signaling to death // *Toxicology.* 2005; 208(2):223–233. doi: 10.1016/j.tox.2004.11.021.

## **Genetic markers of meat performance in poultry**

*Titov V.Yu.,<sup>1,2</sup> Kochish I.I.,<sup>1</sup> Nikonov I.N.,<sup>1</sup> Korenyuga M.V.,<sup>1</sup>  
Myasnikova O.V.,<sup>1</sup> Kuvanov T.K.,<sup>1</sup> Dolgorukova A.M.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia;

<sup>2</sup>Federal State Budget Scientific Institution Federal Scientific Center “All-Russian Poultry Research and Technological Institute” of the Russian Academy of Sciences, Sergiev Posad, Moscow Region, Russia

### **Abstract**

The targeted selection and conservation of genetically valuable poultry breeds require not only phenotypic, but, primarily, genetic criteria related to the economically valuable phenotypic traits. Meat productivity in poultry is conditioned by multiple factors including the body size, and the rates of growth and differentiation of muscle tissue. The analysis of numerous genes would be expensive and laborious; hence, a relatively narrow set of marker genes should be identified for the significant prediction of the occurrence of a phenotypic trait in question. In

the study, we reported the intensity of embryonic oxidation of nitric oxide (NO) was analyzed as a genetically preconditioned biochemical criterion of postnatal meat productivity. This criterion appears extremely sensitive since the difference in the intensity of embryonic NO oxidation between meat- and egg-type poultry breeds can mount to few orders of magnitude. Meanwhile, this criterion is extremely specific for any poultry breeds and is irrespective of the parents age, their management and conditions of incubation. All this suggests that this criterion is genetically mediated. According to our data, there is a relationship between the intensity of NO oxidation in the embryo and the expression of some genes responsible for muscle development.

Key words: poultry, nitric oxide (NO), NO donors, nitrate, embryogenesis, myogenesis, genetic markers

## **РАЗРАБОТКА НЕРАЗРУШАЮЩИХ ТЕХНОЛОГИЙ И МАТЕМАТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ЯИЦ**

**Нарушин В.Г.,<sup>1</sup> Селина М.В.,<sup>2</sup> Романов М.Н.<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup> ООО «Вита-Маркет», Запорожье, Украина;

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», Москва, Россия;

<sup>3</sup> Университет Кента, Кентербери, Великобритания.

E-mail: val@vitamarket.com.ua

### **Аннотация**

В племенной и селекционно-генетической работе с сельскохозяйственной птицей важным аспектом является оценка качества яиц. Помимо усиленного поиска молекулярно-генетических механизмов и маркеров качества яиц, существует необходимость в разработке неразрушающих технологий и математических методов для оценки качества яиц, которые позволяют достаточно точно определять внешние и внутренние параметры яйца без разбивания скорлупы и могут послужить основой для последующих исследований в области повышения качества яичной продукции.

Ключевые слова: математические методы, куры, объем яйца, площадь поверхности яйца, неразрушающее измерение, ошибка вычисления, имитационное моделирование

### **Введение**

В ходе племенной и селекционно-генетической работы с сельскохозяйственной птицей существенным аспектом является оценка качества яиц. Это вызвано, в первую оче-

редь, тем, что бой и трещины скорлупы яйца обуславливают значительные экономические потери в птицеводческой отрасли. Тонкая скорлупа увеличивает риск появления трещин, что в свою очередь приводит к бактериальному загрязнению яиц. Полноценное развитие птичьего эмбриона напрямую зависит от крепкой скорлупы, которая обеспечивает механическую и антибактериальную защиту яйца, предотвращает от избыточной потери влаги и служит первоначальным источником кальция для развития скелета эмбриона птенца. На качество скорлупы могут влиять как генетические особенности птицы, так и ее возраст, особенности кормления (прежде всего кальциевый обмен), условия содержания птицы и микрофлора (прежде всего микоплазмы). Таким образом, качество скорлупы яйца является важным критерием в разведении домашней курицы.

Научный и практический интерес к яйцу домашней птицы не ослабевает и сохраняется на протяжении десятилетий, что связано с его важностью для воспроизводства птицы, а также широкого применения в фармацевтической, косметической и пищевой промышленности. Особенно увеличились сведения о белках яйца в связи с развитием современных высокопроизводительных молекулярно-генетических методов, используемых в сочетании с доступным геномным сиквенсом домашней курицы (International Chicken Genome Sequencing Consortium, 2004). С помощью протеомной и транскриптомной техники были определены более чем несколько сотен белковых компонентов яичного белка (Guerin-Dubiard et al., 2006; Mann, 2007; D'Ambrosio et al., 2008), яичного желтка (Mann, Mann, 2008; Farinazzo et al., 2009), желточной мембраны (Mann, 2008), а также более 500 белков матрицы яичной скорлупы домашней курицы (Mann et al., 2006; Jonchere et al., 2010). Эти исследования дают на сегодняшний день наиболее полный набор сведений о белках яиц и предлагают базовую информацию

для дальнейшего функционального исследования яйца птицы. Например, многие из многочисленных компонентов белка в яйце являются повсеместно встречающимися белками (такими как актин, убиквитин и гистоны; Mann et al., 2006; Mann, 2007; D'Ambrosio et al., 2008). В общем случае эти неспецифические яичные белки широко распространены у всех позвоночных, в том числе у костных рыб и млекопитающих, предполагая эволюционный консерватизм и общие функции у этих животных. Тем не менее было выделено много белков, которые обнаружены только в репродуктивных органах домашней курицы и которые играют важную роль во время развития эмбриона, такие как яичный альбумин (Woo et al., 1981), вителлогенины (Wallace, 1985), овокаликсин-32, овокаликсин-36 (Gautron et al., 2001, 2007) и овоклеидин-116 (Hincke et al., 1999).

Кроме того, проводится поиск молекулярно-генетических маркеров, связанных с качеством яиц (Romanov et al., 1999). Например, было выявлено два мажорных локуса количественных признаков (QTL), маркированных по сайтам однонуклеотидного полиморфизма (SNP): SNP 2\_1 нуклеотидной последовательности CR523443 и SNP rs14491030 последовательности гена *NCAPG*, который кодирует не-SMC субъединицу CAP-G комплекса конденсина I (Баркова и др., 2011; Баркова, Смарагдов, 2013). QTL-локус, маркированный по сайту SNP2\_1, обладает плейотропным эффектом на признаки качества яйца и продуктивности, в частности, имеет достоверную ассоциацию с толщиной скорлупы и массой яйца, а также с яйценоскостью кур-несушек породы красный род-айланд. Аллели сайта rs14991030 (в последовательности гена *NCAPG*) имеют достоверную связь с признаками массы яйца и упругой деформации. Следует принять во внимание, что конденсины являются субъединичными белковыми комплексами,

играющими фундаментальную роль в структурной и функциональной организации хромосом, участвуют в регуляции экспрессии генов, рекомбинации и репарации (Hirano, 2005). Ген *NCAPG* имеет также тенденцию оказывать влияние на признаки роста животных.

Помимо генетических исследований в области повышения качества яичной продукции, еще одним важным аспектом является разработка неразрушающих технологий и математических методов для оценки качества яиц, которые позволяют достаточно точно определять внешние и внутренние параметры яйца без разбивания скорлупы. Объем и площадь поверхности яйца являются ключевыми параметрами, характеризующими его количественные и качественные свойства, в связи с чем как точность, так и удобство их вычислений вызывают целую полемику в научных исследованиях, посвященных этому аспекту.

Первыми, кто поднял данный вопрос, были Romanoff & Romanoff (1949), которые для расчета объема яйца,  $V$ , привели в качестве исходной расчетную формулу для эллипсоидов, а площадь поверхности,  $S$ , предложили рассчитывать, исходя из величины объема:

$$V = \frac{\pi LB^2}{6} = 0,5236LB^2, \quad (1)$$

$$S = kV^{\frac{2}{3}}, \quad (2)$$

где  $k$  — некая константа.

Romanoff & Romanoff (1949), анализируя исследования, проведенные в этом направлении, привели несколько вариантов констант как для формулы (1), так и для формулы (2), дающих погрешность от 1 до 15%, очевидно, в зависимости от выборки и вида яиц, с которыми работали авторы этих работ. Подбор констант, гарантирующих точность расчета данных показателей, продолжился и после 1949

года, с величиной которых можно ознакомиться, к примеру, в обзоре Narushin (1997).

В результате наших теоретических исследований (Narushin, 2005; Narushin et al., 2020a) было продемонстрировано, что  $k$  является не постоянной величиной, а функцией от линейных параметров яйца: его длины,  $L$ , и максимальной ширины,  $B$ . В нашей следующей работе (Narushin et al., 2020b) мы показали, что контуры куриного яйца идеально описываются моделью Гюгельшеффера, а на величину коэффициента  $k$  дополнительное влияние оказывает параметр  $w$ , соответствующий расстоянию сдвига центра эллипса при преобразовании его в овоид. Хотя, казалось бы, приведенные в исследованиях теоретические формулы расчета  $V$  и  $S$  позволяют обеспечить высокую точность определения этих показателей, измерение параметра  $w$  создает сложности в их использовании.

В связи с этим целью данного исследования был вывод расчетных формул объема и площади поверхности куриных яиц, базирующихся на замерах их длины и ширины с использованием метода имитационного моделирования.

### **Методика исследований**

Применение в настоящей работе метода имитационного моделирования было обусловлено необходимостью ухода от некоей ограниченной выборки яиц, результаты измерения которой переносятся авторами на все возможные комбинации, присутствующие в природе. Богатство таких комбинаций может обеспечить только искусственный перебор возможных параметров, что позволило учесть все варианты сочетаний значений трех параметров,  $L$ ,  $B$  и  $w$ , применимых к куриным яйцам и задействованных в расчетных формулах определения  $V$  и  $S$  (Narushin et al., 2020b). При этом более удобно использовать соотношения некоторых

линейных параметров, к примеру, так называемый индекс формы,  $SI=B/L$ , вместо  $B$ , а также  $w/L$  вместо  $w$ .

Основываясь на данных Romanoff & Romanoff (1949), теоретических предпосылках Obradović et al. (2013) по изучению видоизменений геометрических контуров модели Гюгельшеффера, а также наших собственных результатах о возможных разбросах  $w/L$  (Narushin et al., 2020b), нами за основу были приняты следующие вариации этих параметров:

$$L=5,2 \text{ см} \dots 6,4 \text{ см}; SI=B/L=0,66 \dots 0,84; w/L=0 \dots 0,25.$$

Эти данные послужили основой для моделирования большого разнообразия яиц. Изменяя данные для  $L$  с шагом 0,2,  $SI$  с шагом 0,02 и  $w$  с шагом 0,05, мы сымитировали 1820 комбинаций, характерных для всего возможного разнообразия куриных яиц, по которым были рассчитаны реальный объем  $V$  и площадь поверхности  $S$  яйца по формулам из работы Narushin et al. (2020b). Полученные значения  $V$  сравнивали с рассчитанными по формуле для эллипсоидов (1), при этом, чтобы избежать путаницы, объем в формуле (1) обозначали  $V_{el}$ . Значения  $V$  и  $S$  были также использованы для оценки коэффициента  $k$  в формуле (2).

## Результаты исследований и обсуждение

### 1. Объем яйца

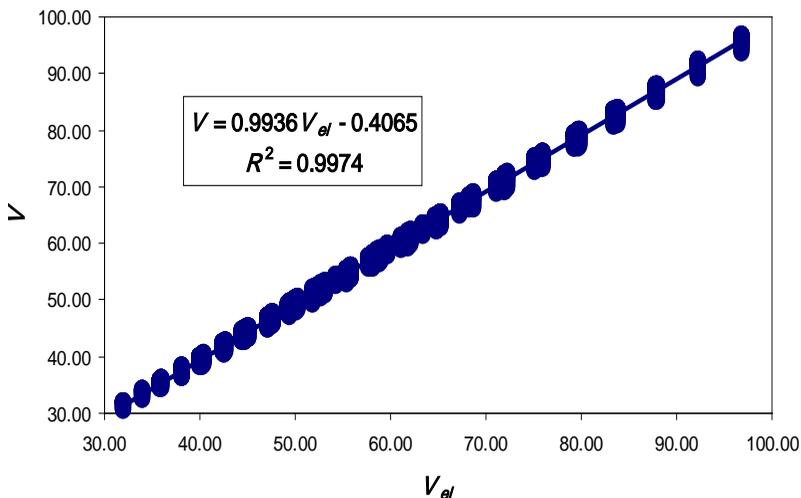
Результаты сравнения расчетных данных  $V$  и  $V_{el}$  показали погрешность вычисления по формуле для эллипсоидов от 0 до 5,1% со средней величиной 1,4%, что в большинстве случаев вполне допустимо при выполнении исследований, не требующих достижения высокой точности. Отношение  $V_{el}/LB^2$  позволило получить среднюю величину константы в формуле (1), равную  $0,5163 \pm 0,0065$ . Использование новой константы в формуле, которая приняла следующий вид:

$$V = 0,5163LB^2, \quad (3)$$

позволило снизить вариацию погрешности до 0...3,7% со средней величиной 1,1%.

Нами были предприняты дальнейшие попытки увеличить точность расчета, для чего данные  $V$  и  $V_{el}$  были аппроксимированы соответствующей функцией (рис. 1).

$$V = f(V_{el})$$



**Рис. 1. Взаимосвязь величины объема куриного яйца с объемом эллипсоида, имеющего аналогичные геометрические размеры длины и максимальной ширины**

В результате для расчета объема куриного яйца можно использовать следующую формулу:

$$V = 0,5202LB^2 - 0,4065. \quad (4)$$

Хотя результаты вычислений несколько приблизились к реальной величине объема, тем не менее ее погрешность, практически, не изменилась в сравнении с формулой (3) и составила 0...3,6% со средней величиной 1,1%.

Наши попытки выразить константу в формуле (1) через значения  $L$  и  $B$  также не дали возможность повысить точность расчета  $V$  ввиду достаточно низкого коэффициента множественной корреляции ( $R=0,221$ ) между этими параметрами.

Таким образом, при расчете объема куриных яиц, в случае, если подобные исследования не предполагают высокой точности измерений, мы предлагаем использовать формулу (4), гарантирующего простоту измерений исходных параметров и достаточную точность получаемых результатов.

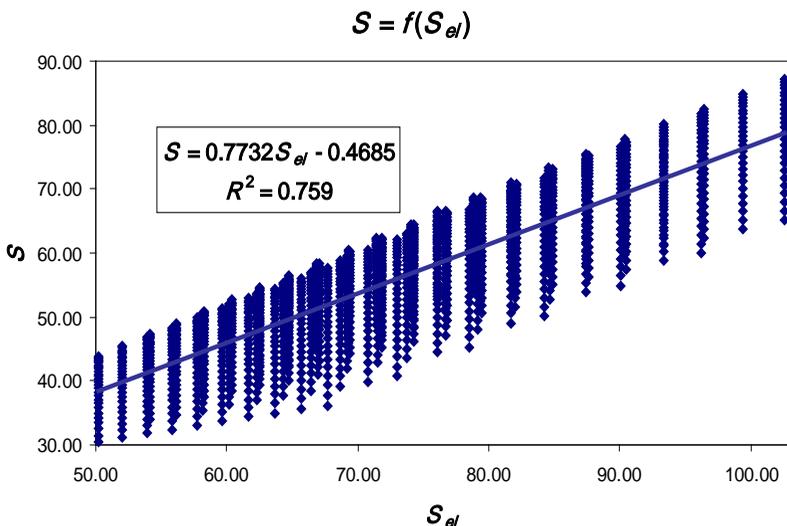
## 2. Площадь поверхности яйца

Величины значений площади поверхности,  $S_{el}$ , определенных по формуле для эллипсоидов, превышали результаты расчета  $S$  по формуле, выведенной для модели Гюгельшеффера (Narushin et al., 2020b), в среднем на 30% ( $S=56,4\pm 10,9$  см<sup>2</sup>, при  $S_{el}=73,5\pm 12,3$  см<sup>2</sup>), в результате чего мы сделали вывод о недопустимости использования расчетной формулы для эллипсоидов при определении площади поверхности куриных яиц.

В связи с этим мы сравнили значения  $S$  и  $S_{el}$  и аппроксимировали их взаимосвязь функциональной зависимостью (рис. 2).

С учетом формулы определения площади поверхности эллипсоидов (например Tee, 2004) и линейной функции их взаимосвязи (рис. 2), окончательную расчетную формулу можно записать в следующем виде:

$$S = 1,2145B \left( L \cdot \frac{\arcsin \sqrt{1 - \frac{B^2}{L^2}}}{\sqrt{1 - \frac{B^2}{L^2}}} + B \right) - 0,4685. \quad (5)$$



**Рис. 2. Взаимосвязь величины площади поверхности куриного яйца с площадью поверхности эллипсоида, имеющего аналогичные геометрические размеры длины и максимальной ширины**

Данный подход позволил несколько повысить точность расчета, тем не менее погрешность находилась в пределах 0...43,5% со средней величиной 8,4%, что требовало иных расчетных методов.

Из формулы (2) путем соответствующего деления значений  $S$  и  $V^{2/3}$  были определены величины коэффициента  $k$ , среднее значение которого было равным  $3,8 \pm 0,34$ . Полученные величины оказались ниже тех, которые когда-либо публиковались и могут быть найдены, к примеру, в работах Romanoff & Romanoff (1949) и Hughes (1984). Завышенные коэффициенты, используемые в настоящее время для подобных расчетов, очевидно, связаны с отсутствием точных методов прямых измерений площади поверхности яиц. Тем не менее замена  $k$  в формуле (2) на его среднее значение 3,8 не позволила значительно повысить точность

расчета. Погрешность измерений, осуществляемых по видоизмененной формуле (2):

$$S = 3,8V^{\frac{2}{3}}, \quad (6)$$

находилась в пределах 0...41,4% со средней величиной 7,8%.

Следующая попытка повысить точность заключалась в поиске адекватной функциональной зависимости  $k$  от совокупности значений  $L$  и  $B$ . Из аппроксимированных уравнений линейной, квадратичной и степенной зависимостей наибольшую точность показала последняя, которая после небольших усовершенствований позволила преобразовать формулу (2) в следующий вид:

$$S = 2,57L^{\frac{1}{2}}B^{\frac{1}{3}}V^{\frac{2}{3}},$$

либо в приведенном к стандартному математическому виду:

$$S = 2,57\sqrt{L} \cdot \sqrt[3]{\frac{V^2}{B}}. \quad (7)$$

Использование формулы (1) позволило несколько повысить точность расчета. Погрешность измерений, осуществляемых с ее использованием, находилась в пределах 0...33,6% со средней величиной 7,5%.

Таким образом, ценность и адекватность полученных формул для расчета объема яиц (4) и площади их поверхности (7) состоит в имитации всех возможных вариаций геометрических параметров, характерных для куриных яиц, что покрывает любую экспериментальную выборку, проводимую с замерахми реальных яиц. Если вычисление объема по упрощенным зависимостям можно смело брать за основу для практических целей, то расчет площади поверхности дает довольно высокую погрешность, в связи с чем при оценке этого параметра авторы рекомендуют по-

мимо замеров  $L$  и  $B$  использовать также параметр  $w$ , с перерасчетом по формуле из работы Narushin et al. (2020b). Предлагаемый нами подход может с успехом применяться в ходе дальнейшей разработки неразрушающих технологий и математических методов для оценки качества яиц.

### Список литературы

Баркова О.Ю., Смарагдов М.Г. Анализ ассоциации однонуклеотидной замены в межгенном районе хромосомы 4 с признаками, определяющими качество яйца домашней курицы // Генетика. 2013. Т. 49. № 7. С. 856–861.

Баркова О.Ю., Сазанова А.Л., Благовещенский И.Ю., Фомищев К.А., Малевски Т., Сазанов А.А. Создание системы генотипирования *Gallus gallus* по аллелям rSNP (регуляторных мононуклеотидных полиморфных сайтов), оказывающим влияние на толщину скорлупы яйца // Генетика. 2011. Т. 47. № 2. С. 243–248.

D'Ambrosio C., Arena S., Scaloni A., Guerrier L., Boschetti E., Mendieta M.E., Citterio A., Righetti P.G. Exploring the chicken egg white proteome with combinatorial peptide ligand libraries // Journal of Proteome Research. 2008. Vol. 7. No. 8. P. 3461–3474.

Farinazzo A., Restuccia U., Bachi A., Guerrier L., Fortis F., Boschetti E., Fasoli E., Citterio A., Righetti P.G. Chicken egg yolk cytoplasmic proteome, mined via combinatorial peptide ligand libraries // Journal of Chromatography. A. 2009. Vol. 1216. No. 8. P. 1241–1252.

Gautron J., Hincke M.T., Mann K., Panheleux M., Bain M., McKee M.D., Solomon S.E., Nys Y. Ovocalyxin-32, a novel chicken eggshell matrix protein. isolation, amino acid sequencing, cloning, and immunocytochemical localization // The Journal of Biological Chemistry. 2001. Vol. 276. No. 42. P. 39243–39252.

Gautron J., Murayama E., Vignal A., Morisson M., McKee M.D., Réhault S., Labas V., Belghazi M., Vidal M.L., Nys Y., Hincke M.T. Cloning of ovocalyxin-36, a novel chicken eggshell protein related to lipopolysaccharide-binding proteins, bactericidal permeability-

increasing proteins, and plunc family proteins // *The Journal of Biological Chemistry*. 2007. Vol. 282. No. 8. P 5273–5286.

Guérin-Dubiard C., Pasco M., Mollé D., Désert C., Croguennec T., Nau F. Proteomic analysis of hen egg white // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006. Vol. 54. No. 11. P. 3901–3910.

Hincke M.T., Gautron J., Tsang C.P., McKee M.D., Nys Y. Molecular cloning and ultrastructural localization of the core protein of an eggshell matrix proteoglycan, ovocleidin-116 // *The Journal of Biological Chemistry*. 1999. Vol. 274. No. 46. P. 32915–32923.

Hirano T. Condensins: organizing and segregating the genome // *Current Biology*. 2005. Vol. 15. No. 7. P. R265–R275.

Hughes R.J. Estimation of shell surface area from measurements of length, breadth, and weight of hen eggs // *Poultry Science*. 1984. Vol. 63. P. 2471–2474.

International Chicken Genome Sequencing Consortium. Sequence and comparative analysis of the chicken genome provide unique perspectives on vertebrate evolution // *Nature*. 2004. Vol. 432. No. 7018. P. 695–716.

Jonchère V., Réhault-Godbert S., Hennequet-Antier C., Cabau C., Sibut V., Cogburn L.A., Nys Y., Gautron J. Gene expression profiling to identify eggshell proteins involved in physical defense of the chicken egg // *BMC Genomics*. 2010. Vol. 11. Article 57.

Mann K. The chicken egg white proteome // *Proteomics*. 2007. Vol. 7. No. 19. P. 3558–3568.

Mann K. Proteomic analysis of the chicken egg vitelline membrane // *Proteomics*. 2008. Vol. 8. No. 11. P. 2322–2332.

Mann K., Mann M. The chicken egg yolk plasma and granule proteomes // *Proteomics*. 2008. Vol. 8. No. 1. P. 178–191.

Mann K., Macek B., Olsen J.V. Proteomic analysis of the acid-soluble organic matrix of the chicken calcified eggshell layer // *Proteomics*. 2006. Vol. 6. No. 13. P. 3801–3810.

Narushin V.G. Non-destructive measurements of egg parameters and quality characteristics // *World's Poultry Science Journal*. 1997. Vol. 57. P. 141–153.

Narushin V.G. Egg geometry calculation using the measurements of length and breadth // *Poultry Science*. 2005. Vol. 84. P. 482–484.

Narushin V.G., Lu G., Cugley J., Romanov M.N., Griffin D.K. A 2-D imaging-assisted geometrical transformation method for non-destructive evaluation of the volume and surface area of avian eggs // *Food Control*. 2020a. Vol. 112. Article107112.

Narushin V.G., Romanov M.N., Lu G., Cugley J., Griffin D.K. Digital imaging assisted geometry of chicken eggs using Hügelschäffer's model // *Biosystems Engineering*. 2020b. Vol. 197. P. 45–55.

Obradović M., Malešević B., Petrović M., Đukanović G. Generating curves of higher order using the generalisation of Hügelschäffer's egg curve construction // *Buletinul Științific al Universității "Politehnica" din Timișoara: Seria Hidrotehnica*. 2013. Vol. 58. P. 110–114.

Romanoff A.L., Romanoff A.J. *The Avian Egg*. New York: John Wiley & Sons Inc., 1949.

Romanov M.N., Miao Y., Wilson P.W., Morris A., Sharp P.J., Dunn I.C. Detection and assay of polymorphism in reproductive gene loci in a commercial broiler breeder population for use in association studies // Conference "From Jay Lush to Genomics: Visions for Animal Breeding and Genetics", J.C.M. Dekkers, S.J. Lamont, M.F. Rothschild (Eds.). Ames, IA, USA: Iowa State University, Department of Animal Science, 1999. P. 155.

Tee G.J. Surface area and capacity of ellipsoids in  $n$  dimensions // *New Zealand Journal of Mathematics*. 2004. Vol. 34. P. 165–198.

Wallace R.A. Vitellogenesis and oocyte growth in nonmammalian vertebrates // *Oogenesis. Developmental Biology (A Comprehensive Synthesis)* / L.W. Browder (ed.). Boston, MA, USA: Springer, 1985. Vol. 1. P. 127–177.

Woo S.L., Beattie W.G., Catterall J.F., Dugaiczuk A., Staden R., Brownlee G.G., O'Malley B.W. Complete nucleotide sequence of the chicken chromosomal ovalbumin gene and its biological significance // *Biochemistry*. 1981. Vol. 20. No. 22. P. 6437–6446.

## **Development of non-destructive technologies and mathematical methods for assessing the egg quality**

*Narushin V.G.,<sup>1</sup> Selina M.V.,<sup>2</sup> Romanov M.N.<sup>2,3</sup>*

<sup>1</sup> Vita-Market Ltd, Zaporozhye, Ukraine;

<sup>2</sup> K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary  
Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia;

<sup>3</sup> University of Kent, Canterbury, UK

### **Abstract**

In poultry breeding as well as selection and genetic work, an important aspect is the evaluation of egg quality. In addition to the intensive search for molecular genetic mechanisms and markers of egg quality, there is a need in developing non-destructive technologies and mathematical methods for assessing the egg quality, which make it possible to accurately determine the external and internal parameters of the egg without breaking the eggshell and can serve as a basis for further research in the field of quality improvement of egg products.

Key words: egg volume, egg surface area, non-destructive measurement, computation error, simulation modelling

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА qRT-PCR ДЛЯ АНАЛИЗА  
ВЛИЯНИЯ ДОБАВЛЕНИЯ В КОРМ НАНОЧАСТИЦ  
ОКСИДА МЕДИ НА ПОКАЗАТЕЛИ РОСТА,  
АНТИОКСИДАНТНЫЕ, ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ  
И ИММУННЫЕ РЕАКЦИИ У ПРОМЫШЛЕННЫХ  
ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ, ПОДВЕРГШИХСЯ  
ТЕПЛОВОМУ СТРЕССУ**

**Сехам Эль-Кассас,<sup>1</sup> Карима Эль-Наггар,<sup>2</sup>  
Сафаа Э. Абдо,<sup>3</sup> Абир А. К. Киррелла<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> Отдел развития благополучия животных, факультет ветеринарной медицины, Университет Кафр-эш-Шейха, Египет;

<sup>2</sup> Отдел питания и ветеринарного клинического питания, факультет ветеринарной медицины, Александрийский университет, Египет;

<sup>3</sup> Отдел развития благополучия животных, факультет ветеринарной медицины, Университет Кафр-эш-Шейха, Египет;

<sup>4</sup> Отдел птицеводства, сельскохозяйственный факультет, Университет Кафр-эш-Шейха, Египет.

E-mail: seham.elkassas@vet.kfs.edu.eg

**Аннотация**

Исследовали влияние добавления наночастиц оксида меди (CuO-NP) на показатели роста, антиоксидантный и неспецифический иммунный ответы у птицы двух промышленных бройлерных кроссов «Росс 308» и «Кобб 500» в условиях теплового стресса. В работе оценивалась экспрессия генов методом qRT-PCR.

Ключевые слова: qRT-PCR, наночастицы оксида меди, тепловой стресс, бройлеры

## **Введение**

Тепловой стресс — одно из самых серьезных неблагоприятных факторов среды, влияющих на птицу, который вызывает иммуносупрессию и снижение продуктивности.

Целью настоящего исследования ставилось изучение влияния добавления наночастиц оксида меди (CuO-NP) на показатели роста, антиоксидантный и неспецифический иммунный ответы у двух промышленных кроссов бройлеров — «Росс 308» и «Кобб 500».

## **Материалы и методы исследований**

В однодневном возрасте цыплята-бройлеры двух промышленных кроссов «Росс 308» и «Кобб 500» были разделены на три группы по три повторности в каждой. Первая группа получала рацион с добавлением 100% рекомендованной потребности в меди в виде CuO, в то время как во второй и третьей группах птицы получали рационы с добавлением 100 и 50% рекомендованной потребности в меди в форме CuO-NP соответственно.

В возрасте 21 дня каждая группа была случайным образом разделена на две подгруппы: 1) содержащуюся при нормальной температуре ( $24\pm 2^\circ\text{C}$ ) и 2) подвергавшуюся тепловому стрессу ( $33\pm 2^\circ\text{C}$  в течение 5 часов в день в течение двух последовательных недель).

Уровни экспрессии генов оценивали с помощью метода qRT-PCR.

## **Результаты исследований и обсуждение**

Продуктивность обоих бройлерных кроссов была улучшена, о чем свидетельствует заметное снижение температуры тела ( $P<0,001$ ) и более высокая масса тела ( $P<0,01$ ), когда CuO-NP добавлялись в рацион, особенно в случае птиц, получавших 50% рекомендованной потребности в Cu с разными реакциями, отмеченными в двух исследуемых кроссах.

Добавление CuO-NP снижает содержание малондегида в печени (MDA) и увеличивает уровни мРНК супероксиддисмутазы (SOD), каталазы (CAT) и глутатионпероксидазы (GPx1) и активности ферментов ( $P < 0,001$ ) с четкой линейной зависимостью между уровнями экспрессии генов и активностью ферментов.

Кроме того, добавка CuO-NP модулировала, хотя и по-разному, уровни транскриптов мРНК белка теплового шока 70 (HSP70), белка теплового шока 90 (HSP90) и фактора теплового шока 3 (HSF3) у птицы кроссов «Росс 308» и «Кобб 500» после теплового воздействия ( $P < 0,001$ ), а также снижала вызванных тепловым стрессом дегенеративных изменений в ткани печени.

В нормальных условиях содержания CuO-NP значительно усиливает иммунный ответ по сравнению с CuO, что проявляется в повышенных уровнях фагоцитарной активности (ПА), активности лизоцима в сыворотке и в результате активации генов иммуномодуляторов, включая *NF- $\kappa$ B*, *PGES*, *IL-1 $\beta$* , *TGF-1 $\beta$* , *IFN- $\gamma$* , *BAX* и *CASP8*. У птиц, подвергавшихся тепловому стрессу, добавление CuO-NP уменьшало вызванные тепловым воздействием воспалительные состояния, о чем свидетельствуют более низкие уровни экспрессии генов, более низкие дегенеративные изменения в селезенке и измененное соотношение гетерофилов/лимфоцитов (H/L).

### **Заключение**

Мы предполагаем, что добавление CuO-NP, особенно на уровне 50% от рекомендуемой потребности в Cu, можно было бы использовать в качестве хорошего альтернативного источника Cu в питании птицы летом. Его можно использовать при нормальной температуре в помещении для усиления иммунного ответа птиц, а во время теплового стресса — для снижения вызванных тепловым стрессом

дегенеративных изменений в зависимости от силы теплового воздействия.

**Using qRT-PCR to analyze the effect of dietary supplementation of copper oxide nanoparticles on growth performance and antioxidant, inflammatory and immune responses of commercial broilers exposed to heat-stress**

*Seham El-Kassas,<sup>1</sup> Karima El-Naggar,<sup>2</sup>  
Safaa E. Abdo,<sup>3</sup> Abeer A. K. Kirrella<sup>4</sup>*

<sup>1</sup>Department of Animal Wealth Development, Faculty of Veterinary Medicine, Kafrelsheikh University, Egypt;

<sup>2</sup>Department of Nutrition and Veterinary Clinical Nutrition, Faculty of Veterinary Medicine, Alexandria University, Egypt;

<sup>3</sup>Department of Animal Wealth Development, Faculty of Veterinary Medicine, Kafrelsheikh University, Egypt;

<sup>4</sup>Poultry Production Department, Faculty of Agriculture, Kafrelsheikh University, Egypt.

**Abstract**

Heat stress (HS) is one of the most serious adverse conditions that affect poultry causing immunosuppression and decrease production. In this study, we investigated the effect of supplementing copper oxide nanoparticles (CuO-NPs) on growth performance, antioxidant and the non-specific immune response in two commercial broiler strains (Ross 308 and Cobb 500). At one day old, chicks were divided into 3 groups with 3 replicates for each. The first group received diet supplemented with 100% of their recommended copper requirements as CuO while, in the second and third groups, birds were given diets supplemented with 100 and 50% of the recommended Cu requirements in the form of CuO-NPs, respectively. At age of 21 day, each group was subdivided randomly into normal ( $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) and heat stressed ( $33\pm 2^{\circ}\text{C}$  for 5 h per day for two successive weeks) groups. Performance of both strains was im-

proved as revealed by a marked reduction in body temperature ( $P<0.001$ ) and a higher body weight ( $P<0.01$ ) when CuO-NPs were supplemented in the diet, especially for the birds receiving 50% of recommended Cu requirements with different responses noted in the two study strains. Supplementing CuO-NPs decreased liver Malondehyde (MDA) content and enhanced Superoxide Dismutase (SOD), Catalase (CAT) and Glutathione peroxidase (GPx1) mRNA levels and enzyme activities ( $P<0.001$ ) with a distinct linear association between gene expression levels and enzyme activities. Besides, CuO-NPs modulated, though variably, liver Heat Shock Protein 70 (HSP70), Heat Shock Protein 90 (HSP90) and Heat Shock Factor 3 (HSF3) mRNA transcript levels among Ross and Cobb chickens following HS ( $P<0.001$ ) as well as reduced HS-induced degenerative changes in hepatic tissue. Under normal housing condition, CuO-NPs significantly enhanced the immune response compared to CuO shown by the increased levels of phagocytic activity (PA), lysozyme serum activity, and by upregulating immune-modulator genes including *NF- $\kappa$ B*, *PGES*, *IL-1 $\beta$* , *TGF-1 $\beta$* , *IFN- $\gamma$* , *BAX* and *CASP8*. In HS birds, supplementation of CuO-NPs reduced HS induced inflammatory conditions, as shown by lower gene expression levels, lower degenerative changes in the spleen, and altered heterophils/lymphocytes (H/L) ratio. We suggest CuO-NPs supplementation, especially at 50% of recommended Cu requirements, could be used as a good alternative source of Cu in poultry nutrition during the summer. It could be used under normal housing temperature to enhance the birds' immune response, and during HS to lower heat stress-induced degenerative changes depending on the magnitude of the HS.

Key words: qRT-PCR, copper oxide nanoparticles, heat stress, broilers

## **СОЦИО-ЭКОНОМИЧЕСКИЕ И ЗООТЕХНИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ К ЗАМЕНЕ КОРМОВЫХ АНТИБИОТИКОВ В РАЦИОНАХ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ**

**Тюрина Д.Г., Лаптев Г.Ю.**

ООО «БИОТРОФ», Санкт-Петербург, Россия.  
E-mail: tiurina@biotrof.ru

### **Аннотация**

Обсуждаются ожидания потребителей относительно качества и безопасности продуктов птицеводства, полученные на основе опроса. Мы сопоставили ожидания потребителей в России и США и пришли к выводу, что они неполны и изолированы. Метапробиотики на основе органических кислот и полезных бактерий могут быть альтернативой антибиотикам, стимулирующим рост в рационах бройлеров. Замена антибиотиков на метапробиотик могла бы стать резервом увеличения прибылей производителей мяса птицы.

Ключевые слова: кормовые антибиотики, птицеводство, опрос, качество продукции, метапробиотик

### **Введение**

Основным понятием неоклассической микроэкономики является представление о том, что потребитель действует рационально. Однако при более глубоком изучении вопроса о мотивах экономического субъекта становится ясно, что существуют непреодолимые препятствия для рационального поведения, среди которых ограниченность информации и транзакционные издержки. В целом потребители не всегда поступают рационально и максимизируют собственную полезность.

С современным развитием поведенческой экономики связывают Ричарда Талера (род. 1945), лауреата Нобелевской премии по экономике за 2017 год, в работах которого были раскрыты присущие потребителям когнитивные искажения: ограниченная рациональность, социальные предпочтения и недостаток самоконтроля. Потребители, действуя по своему усмотрению и не всегда рационально, делают свой выбор под влиянием множества факторов, среди которых вкусовые предпочтения, личные убеждения, особенности характера, ограничения окружающей среды и религиозные нормы. Потребительский выбор оказывает влияние как на текущее состояние товарных и финансовых рынков, так и на их долгосрочное развитие.

Птицеводство как отрасль экономики относится к производству предметов потребления. Однако контакт производителя и потребителя возможен только в вертикально интегрированных холдингах, причем коммуникация производителя и потребителя в этом случае ограничена этикеткой. Как правило, реализация продукции птицеводства потребителю происходит с участием дистрибьюторов, которые выступают от имени потребителей, но в своих интересах. Другими словами, бизнес B2C (business-to-consumer) подменяется бизнесом B2B (business-to-business).

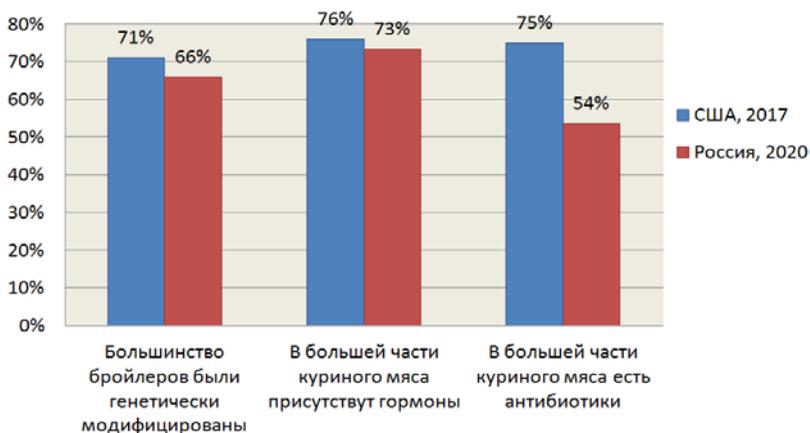
Не вызывает сомнения тот факт, что будущее состояние птицеводства определяют потребители. При этом настроения потребителей формируются под влиянием множества движущих сил. Потребители продукции птицеводства не всегда имеют возможность и желание получить достоверную и научно обоснованную информацию о продуктах питания и их производстве. В связи с этим большое значение имеют опросы общественного мнения.

## Методика исследований

Для изучения мнения потребителей в марте–апреле 2020 года был проведен опрос потребителей о качестве продукции птицеводства и составе кормов. Опрос проводился в форме анонимного анкетирования среди жителей Санкт-Петербурга, в опросе приняло участие 108 человек. Отдельные вопросы были взяты из исследования потребительских настроений по продукции птицеводства, проведенного в США в 2017 году в форме опроса покупателей куриного мяса в магазинах [8]. Таким образом, ставшее давно классическим сравнение русских и американцев пополнилось новыми данными.

## Результаты исследований и обсуждение

Полученные данные свидетельствуют о том, что настроения покупателей в России частично совпадают с настроениями в США (рис. 1).



*Рис. 1. Доля респондентов, ответивших утвердительно на вопросы о продукции птицеводства*

При сравнении результатов двух исследований выявляется схожесть потребительских настроений о качестве ку-

риного мяса, несмотря на различия в доходах и структуре рационов питания респондентов. При этом 76% респондентов в США и 73% респондентов в России уверены, что в большей части куриного мяса присутствуют гормоны. Несколько больше различаются ответы на вопрос о генномодифицированных бройлерах: 71% американцев и 66% россиян верят, что цыплята были генетически модифицированы.

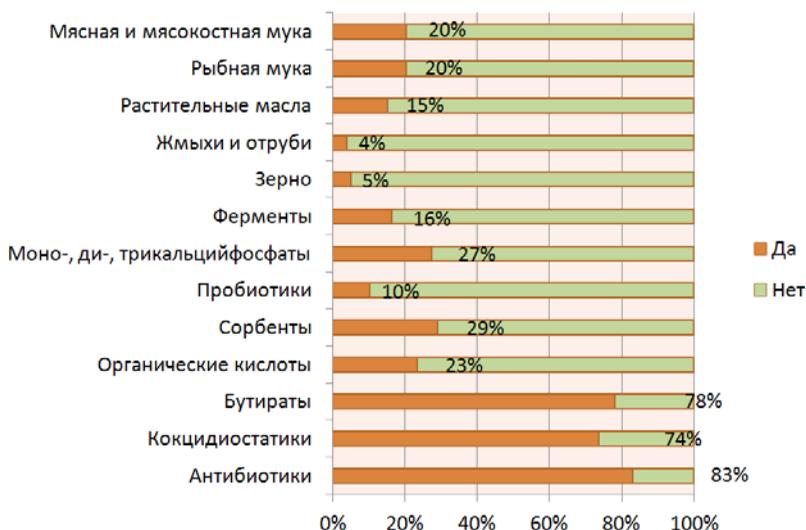
Примечательна разница в ответе на вопрос о присутствии антибиотиков в курином мясе: только 54% респондента в России ответили на него утвердительно, в отличие от 75% респондентов в США. Вероятно, этот факт связан с наличием в магазинах продукции разных технологий выращивания (например, как выращенных без антибиотиков вообще — “no antibiotics ever”, так и по традиционной интенсивной технологии), соответственным образом маркированной, так что потребитель принимает решение, обладая необходимой информацией.



**Рис. 2. Доля опрошенных, ответивших утвердительно на вопросы о качестве куриного мяса**

Продолжение опроса, представленное на рис. 2, позволяет глубже подойти к рассмотрению представлений потребителей о качестве куриного мяса. Вероятно, для потребителя понятия безопасности продуктов питания близки к понятиям о вкусе и полезности, так как 70% и 67% респондентов, соответственно, ответили утвердительно на эти вопросы. Примерно такое же количество потребителей (68%) готово платить премию к цене за мясо птицы при условии, что птица выращена без антибиотиков.

Респондентам было предложено охарактеризовать основные компоненты рациона цыплят с точки зрения опасности. Результаты представлены на рис. 3.



**Рис. 3. Ответы респондентов на вопрос, является ли отдельный компонент рациона кур опасным для человека (Да — является опасным, Нет — не является опасным)**

Интересно, что большинство потребителей оценивают только три компонента рационов как безусловно опасные: это антибиотики, кокцидиостатики и бутираты. Относи-

тельно последних отметим, что опасность, по всей вероятности, основывается на психоактивном воздействии производных масляной кислоты на человека и использованием их в рекреационных целях.

Вместе с тем существенная доля опрошенных считает, что сорбенты (29%) в составе рациона, а также кальций-фосфаты (27%) представляют опасность для человека. Представляется удивительным, что около четверти респондентов видят сорбенты, органические кислоты и источники кальция и фосфора фактором опасности продукции птицеводства.

Тем не менее в этих цифрах кроются резервы роста рентабельности животноводства. Например, информируя потребителей об отсутствии бутиратов в рационе птицы, производитель сможет привлечь на свою сторону 78% потребителей. При умелом маркетинговом сопровождении «безбутиратная» курица может быть продана дороже. По результатам ответов можно сделать вывод, что у большинства потребителей есть желание приобретать мясо птицы, свободное от антибиотиков (так как 83% респондентов считают антибиотики опасными), и они готовы платить премию к цене такой продукции (68% опрошенных).

Многие страны принимают меры по ограничению применения антибиотиков в сельском хозяйстве в связи с риском развития резистентных форм микроорганизмов. К принимаемым мерам относится рыночное регулирование и законодательные ограничения; ряд стран, в том числе Россия, идут по пути запрета отдельных антимикробных препаратов или их классов. Так, с 2020 года в России запрещено применение кормовых антибиотиков.

Многие исследователи [1, 2, 3, 6] сходятся в том, что изменение состава и структуры микрофлоры желудочно-кишечного тракта под влиянием кормовых антибиотиков объясняет проявление ростового эффекта.

В современных условиях не вызывает сомнения тот факт, что кормовые антибиотики не могут являться единственным средством модулирования микробиома желудочно-кишечного тракта птицы. В качестве замены кормовых антибиотиков предлагается использовать комплексный продукт, представляющий композицию органических кислот и солей, а также пробиотических культур. В метапробиотике «Пробиоцид-Ультра» объединены лимонная и фумаровая кислоты с высушенными в среде культивирования полезными штаммами *Bacillus spp.*

Известно, что при отказе от кормовых антибиотиков предприятия рискуют столкнуться с ухудшением показателей выращивания. Удаление антибиотика — стимулятора роста из рациона, по оценкам Кардинал с соавторами, в среднем приведет к снижению среднесуточного прироста на 4,7% и увеличению конверсии на 3,6% [5]. Похожие результаты были получены в Дании, где после отмены антибиотиков коэффициент конверсии в среднем вырос на 2,3% [10]. В России на крупных многотысячных птичниках и многомиллионных птицефабриках результаты выведения антибиотиков из рецепта могут быть значительно хуже. Неудивительно, что специалисты опасаются снижения продуктивности.

На крупной бройлерной птицефабрике был проведен производственный эксперимент по замене кормового антибиотика нозигептида на метапробиотик «Пробиоцид-Ультра» в двух опытных и двух контрольных корпусах. Основные результаты выращивания представлены в табл. 1.

Табличные данные подтверждают, что замена кормового антибиотика метапробиотиком «Пробиоцид-Ультра» не приводит к ухудшению зоотехнических показателей. Стоимость комбикорма, израсходованного на получение 1 кг привеса живой массы, увеличивается незначительно

— на 1,5%. При этом наблюдается увеличение среднесуточного прироста на 2,1% при неизменной сохранности (97,92% в среднем в опытных корпусах и 97,83% в контрольных).

*Таблица 1*

**Основные результаты выращивания цыплят-бройлеров  
в условиях замены кормового антибиотика  
на метапробиотик**

<b>Показатель</b>	<b>Опытный корпус № 1</b>	<b>Опытный корпус № 2</b>	<b>Контрольный корпус № 1</b>	<b>Контрольный корпус № 2</b>	<b>Отношениесреднего по опыту к среднему в контроле</b>
Количество голов на начало опыта	54 556	56 117	56 314	55 351	—446
Средний вес 1 гол. при прореживании, кг	1556,37	1600,55	1574,00	1551,93	+15,49
Средний вес 1 гол. при убое, кг	2370,18	2400,74	2291,19	2387,12	+46,30
Сохранность, %	97,79	98,06	98,51	97,15	+0,09
Среднесуточный прирост, г	57,09	56,57	55,58	55,77	+1,16
Конверсия корма, кг/кг	1,64	1,64	1,60	1,62	+0,03
Стоимость комбикорма на 1 кг привеса, руб.	40,95	40,81	40,17	40,33	+0,62

Высокий уровень сохранности в контрольных и опытных корпусах может быть объяснен применяемой технологией прореживания стада в возрасте 27–30 дней. Наблюдается повышение конверсии в среднем на 1,8%, однако по сравнению с международным опытом по выведению кормовых антибиотиков из рациона это повышение в 1,3 раза меньше.

Таким образом, полное выведение кормового антибиотика из рецепта не приводит к ухудшению зоотехнических показателей, наоборот, наблюдается небольшое увеличение сохранности и среднесуточного прироста.

У потребителей сформирован запрос на покупку мяса птицы, выращенной без антибиотиков. Известно, что существует информационный разрыв между технологиями птицеводства и ожиданиями потребителей. Например, в США зафиксировано негативное отношение потребителей к применению антибиотиков и программ освещения [4]. Большинство покупателей не осведомлено о деталях технологических процессах в животноводстве [9]. При этом существует доля потребителей, для которых вопросы кормления и содержания птицы имеют определяющее значение при покупке в отличие от цены [7]. Результаты проведенного опроса показывают, что настроения потребителей в России частично совпадают с настроениями потребителей в США. Вероятно, на развитие рынка продукции птицеводства в нашей стране оказывают влияние схожие тенденции. Раскрытие информации для потребителей об отдельных аспектах выращивания птицы может быть драйвером роста прибыли птицеводческих компаний. Полная замена кормового антибиотика на метапробиотик и информирование покупателя об отсутствии кормовых антибиотиков в рационе может быть одним из путей повышения эффективности птицеводства как коммерческой деятельности.

## Список литературы

1. Джакс Т. Антибиотики в кормлении животных / Пер. с англ. А.Б. Линник. — М.: Сельхозгиз, 1959. — 14 с.
2. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. — М.: Изд-во МГУ; Наука, 2004. — 500 с.
3. Мюллер З. Антибиотики в кормлении сельскохозяйственных животных. — М.: Госиноиздат, 1958. — 20 с.
4. Bernard J., Pesek J., Pan X. Consumer likelihood to purchase chickens with novel production attributes // *Journal of Agricultural and Applied Economics*. — 2007. — Vol. 39. — P. 581–596. doi: 10.22004/ag.econ.6058.
5. Cardinal K.M., Kipper M., Andretta I., Leal Ribeiro A.M. Withdrawal of antibiotic growth promoters from broiler diets: performance indexes and economic impact // *Poultry Science*. — 2019. — Vol. 98. — P. 6659–6667. doi: 10.3382/ps/pez536.
6. Coates M. The mode of action of antibiotics // *World's Poultry Science Journal*. — 1953. — Vol. 9. — No. 1. — P. 14–16. doi: 10.1079/WPS19530004.
7. Cranfield J., Innes B. Consumer preference for production-derived quality: analyzing perceptions of premium chicken production methods // *Agribusiness*. — 2009. — Vol. 25. — P. 395–411. doi: 10.1002/agr.20206.
8. Karavolias J., Salois M.J., Baker K.T., Watkins K. Raised without antibiotics: impact on animal welfare and implications for food policy // *Translational Animal Science*. — 2018. Vol. 2. — No. 4. — P. 337–348. doi: 10.1093/tas/txy016.
9. Lusk J.L., Norwood F.B., Pruitt J.R. Consumer demand for a ban on antibiotic drug use in pork production // *American Journal of Agricultural Economics*. — 2006. — Vol. 88. — No. 4. — P. 1015–1033. doi: 10.1111/j.1467-8276.2006.00913.x.
10. McEwen S.A., Angulo F.J., Collignon P.J. et al. Potential unintended consequences associated with restrictions on antimicrobial use in food-producing animals // *WHO Guidelines on Use of Medically Important Antimicrobials in Food-Producing Animals*. — Geneva: World Health Organization, 2017. — Pt. 2.3. Доступно по адресу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK487949/>.

## **Socio-economic and zootechnical approaches to replacing feed antibiotics in broiler diets**

*Tyurina D.G., Laptev G.Yu.*

OOO “BIOTROF”, St. Petersburg, Russia

### **Abstract**

Consumers' expectations regarding quality and safety of poultry products based on a polling survey are discussed. We paralleled consumers' expectations in Russia and the USA, and conclude that they are incomplete and isolated. A metaprobiotic based on organic acids and beneficial bacteria may be an alternative for antibiotic growth promoters (AGPs) in broiler diets. The substitution of AGPs could be a reserve for rise in profits for poultry producers.

Key words: antibiotic growth promoters, poultry, polling survey, products quality, metaprobiotic

## **ПРЕБИОТИЧЕСКИЕ ДОБАВКИ В КОРМЛЕНИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПТИЦЫ**

**Кочиш И.И., Элькоми Х.С.**

ФГБОУ ВО «Московская государственная академия  
ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА  
имени К.И. Скрябина», Москва, Россия

### **Аннотация**

В настоящее время антибиотикорезистентность является одной из самых серьезных угроз общественному здоровью в мире. Длительное использование антибиотиков привело к развитию резистентных бактерий, накоплению остатков антибиотиков в продуктах птицеводства, представляя опасность для человека, что в конечном итоге привело к запрету использования антибиотиков. Поэтому возникла острая необходимость в альтернативных средствах защиты в птицеводстве. Пребиотические кормовые добавки рассматриваются как одни из наиболее перспективных альтернатив антибиотикам. Применение пребиотиков способствует развитию нормальной микрофлоры кишечника и повышению общей резистентности организма. Добавление пребиотиков в рацион оказывает положительное влияние на яичную и мясную продуктивность. Кроме того, пребиотики могут улучшить пищеварение и стимулировать иммунную систему птицы. Дополнительные исследования необходимы в более стандартизированных условиях, чтобы оценить правильную дозировку и точный механизм действия.

**Ключевые слова:** антибиотикорезистентность, пребиотики, птицеводство, микрофлора кишечника, продуктивность

## Введение

Повышение продуктивности птицы является приоритетной задачей в современном высокоинтенсивном промышленном птицеводстве [1]. В настоящее время большое беспокойство вызывает антибиотикорезистентность (АБР), которая была признана одной из самых серьезных угроз здоровью людей в мире [2]. Многие стратегии были предложены, чтобы контролировать эту проблему, такие как своевременная вакцинация животных, соблюдение зоогиgienических норм, контроль благосостояния животных и улучшение программ разведения, что предполагает увеличение производственных затрат, но этого недостаточно, чтобы полностью снизить риски заражения [3]. Снижение применения или полная отмена антибиотиков в птицеводстве будет иметь положительный эффект, но может оказывать негативное влияние на здоровье населения, вызванное бактериальными инфекциями, такими как *C. perfringens*, *E. coli*, *S. aureus*, *Campylobacter* spp. или *Salmonella* spp. Это также увеличит производственные затраты, вызванные, наряду с ущербом здоровью птицы, снижением продуктивных показателей и, следовательно, повышением стоимости конечной продукции [4].

Был исследован широкий спектр альтернатив антибиотикам в птицеводстве, а именно фитобиотики, пробиотики, пребиотики, ферменты, органические кислоты, травы, специи и вакцины, которые были подробно рассмотрены в нескольких обзорах [5–7]. Пребиотики оказались эффективной альтернативой антибиотикам, поскольку они проходят через пищеварительный тракт, улучшают здоровье желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), предотвращают колонизацию патогенов и поддерживают модуляцию системы защиты животных [8].

Основная цель использования пребиотиков – улучшение роста полезной микрофлоры и снижение содержания нежелательной и патогенной микрофлоры. Улучшение работы пищеварительного тракта приводит к повышению уровня усвоения питательных веществ, что гарантирует высокую продуктивность птиц [5]. Пребиотики дешевле и легче производятся в больших количествах, чем пробиотики, что делает пребиотики отличным вариантом в качестве альтернативы антибиотикам в птицеводстве [9].

### **Типы и характеристики пребиотиков в птицеводстве**

Пребиотики представляют собой функциональную кормовую добавку в виде комплекса неперевариваемых сложнуглеводных пищевых волокон, которые способствуют развитию полезных бактерий в ЖКТ и улучшают здоровье птицы. Есть несколько характеристик, связанных с пребиотическими препаратами: пребиотик не должен гидролизаться или абсорбироваться в верхней части ЖКТ, может быть устойчивым к кислотности желудочного сока и поддерживать рост и метаболическую активность полезной микробиоты ЖКТ [10].

Основными видами пребиотиков являются ди- и трисахариды, олиго- и полисахариды, включая инулин, фруктоолигосахариды (ФОС), галактоолигосахариды, ксилоолигосахариды, пиродекстрины, лактулоза и маннанолигосахариды (МОС) [11]. Пребиотики обычно вводят птицам перорально в первые часы или дни после вылупления либо путем добавления их в корм, либо в воду. Однако недавно было предложено использовать пребиотики *in ovo* для куриных эмбрионов как лучший способ, так как используемые дозы пребиотиков *in ovo* были как минимум в 10 раз ниже, чем после вылупления, но с такими же положительными эффектами, как при пероральном введении [12–13].

## Механизмы действия пребиотиков у птицы

Исследователи не достигли понимания конкретного механизма того, как пребиотики влияют на здоровье животных или как они могут подавлять патогены, но все их положительные эффекты являются результатом влияния на морфологию кишечника и баланс микробиоты, подавляющего воздействия на кишечные и системные инфекции и иммуностимуляции. Более высокая усвояемость питательных веществ и положительные метаболические изменения приводят к улучшению производственных показателей, повышению качества кормов для птицы, общему благополучию животных и в конечном итоге к снижению производственных затрат (рис. 1) [9].

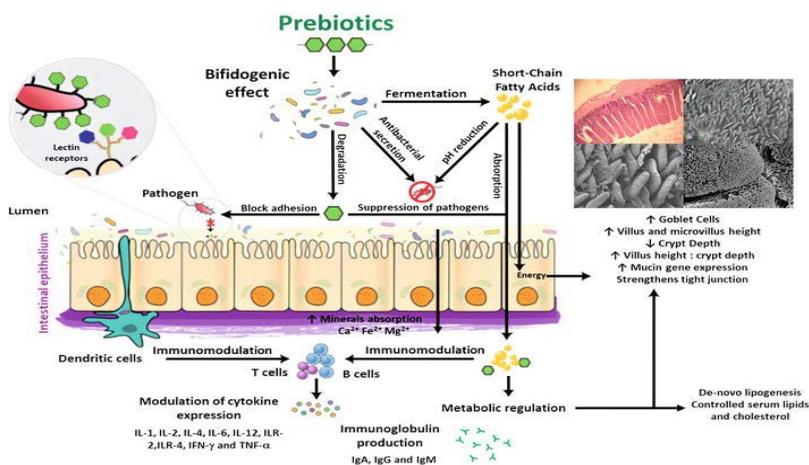


Рис. 1. Механизмы действия пребиотиков

Другой механизм действия — это способность и прилипание пребиотиков к слизистым оболочкам кишечника для предотвращения адгезии и колонизации патогенов [14]. Пребиотики не только улучшают здоровье ЖКТ, но также служат субстратом для роста полезных микроорганизмов ЖКТ (*Lactobacillus* и *Bifidobacterium*), которые могут сни-

жать количество патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, таких как *Campylobacter* и *Salmonella* [15–18].

На сегодняшний день невозможно определить точный механизм действия пребиотиков для уменьшения патогенных инфекций, поэтому необходимы дополнительные исследования для полного выяснения их точной функции и способа действия.

## **Влияние пребиотиков на ЖКТ птицы**

### **1. Баланс кишечной микробиоты**

В птицеводстве микрофлора определяет целостность и здоровье кишечника, играет важную роль в переваривании и усвоении питательных веществ, развитии иммунной системы и подавлении патогенов [19]. В настоящее время известно, что пребиотики положительно влияют на микробиоту кишечника птицы; однако точный механизм и тип взаимодействия будут зависеть от структуры пребиотика и вида птицы. Среди всех микроорганизмов кишечника птицы некоторые бактерии, такие как *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp., имеют положительное влияние на микробиоту кишечника [20]. Применение пребиотиков способствует увеличению полезных бактерий, которые могут ферментировать и метаболизировать пребиотики, стимулируя их распространение и активность, потенциально может влиять на выработку короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) и снижать pH в кишечнике, улучшать метаболизм за счет увеличения активности пищеварительных ферментов и снижения уровней триглицеридов, холестерина и стимулировать иммунную систему, что способствует ингибирующему воздействию на рост патогенных бактерий [21].

Исследования показали, что пребиотики положительно влияют на микробиоту цыплят-бройлеров при низком уровне потенциальных патогенов в ЖКТ. Добавление ФОС в качестве пребиотика к базовому рациону (4,0 г/кг) значи-

тельно увеличивало количество *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* в кишечнике цыплят-бройлеров, в то время количество *Escherichia coli* было значительно снижено по сравнению с контрольной группой [22].

Скармливание бройлерам 0,25% ФОС и 0,05% МОС привело к увеличению разнообразия и популяции *Lactobacillus* и снижению популяций *E. coli* и *C. perfringens* в кишечнике [23]. Применение пробиотических и пребиотических добавок положительно воздействует на микрофлору кишечника здоровых кур-несушек при минимальном влиянии этих добавок на продуктивность. Кормовые добавки способствовали увеличению числа бифидо- и целлюлозолитических бактерий в кишечнике и снижали общее количество патогенной и нежелательной микрофлоры на 25–50 % [24].

## **2. Подавление колонизации патогенами**

Скармливание пребиотиков стимулирует селективный рост бактерий, продуцирующих молочную кислоту, что приводит к увеличению концентрации КЦЖК, таких как пропионат, ацетат и особенно бутират. Высокая активность ферментации и высокая концентрация КЦЖК коррелирует с более низкой рН, который связан с подавлением патогенов [21]. КЦЖК могут быть полезны для предотвращения колонизации патогенов в ЖКТ, например, за счет увеличения выработки муцина бокаловидными клетками, что служит физическим барьером против патогенов и способствует их более низкой колонизации.

Естественная антипатогенная активность кишечной микробиоты птицы известна как «бактериальный антагонизм», через который полезные микроорганизмы конкурируют с потенциально патогенными бактериями за ограничение питательных веществ и мест прикрепления на слизистой оболочке или даже вследствие производства

бактериоцинов, таких как лактоцин, гелветицин, курвацин или бифидоцин, которые могут быть деструктивным для различных грамположительных или грамотрицательных кишечных патогенов, особенно *Salmonella*, *Campylobacter* и *E. coli* [25].

### **3. Морфология кишечника**

Пребиотики помогают улучшить морфологическую структуру кишечника – на макроскопических (длина кишечника) и микроскопических (размер и плотность ворсинок и микроворсинок, глубина крипт) структурах различных отделов кишечника птицы. Добавление пребиотиков в рацион увеличивало количество бокаловидных клеток ворсинок кишечника, которые ответственны за секрецию гликопротеиновых соединений, в основном муцинов, которые связывают патогенные микроорганизмы и снижают их прилипание к слизистой оболочке кишечника [26].

Добавление инулина (1%) и олигофруктозы (1%) в корм цыплят-бройлеров привело к увеличению длины кишечника, лучшему всасыванию питательных веществ и увеличению массы тела [27].

### **Влияние пребиотиков на продуктивность**

Одна из основных задач использования кормовых добавок в птицеводстве – повышение продуктивности. Пребиотики стимулируют рост при увеличении продукции КЦЖК, которые всасываются в кишечнике и используются в качестве источника энергии в тканях, а также стимулируют повышенную метаболическую активность в кишечнике. КЦЖК могут служить регулятором гомеостаза инсулина у цыплят и углеводного обмена, стимулируя метаболическую активность поперечнополосатых мышечных клеток, а также влияют на синтез мышечного белка и показатели роста [28].

Исследования выявили влияние пребиотиков на продуктивность птицы. Добавление маннанолигосахарида (MOS) в количестве 1 мг/кг рациона бройлеров приводит к значительному ( $P < 0,05$ ) увеличению потребления корма и массы тела в течение 14–28 дней и всего периода [29]. Скармливание пробиотиков и пребиотиков улучшило прирост живой массы и коэффициент конверсии корма у бройлеров в возрасте 28 дней [30].

Применение олигофруктозы и инулина увеличивали яйценоскость на 13,35 и 10,73% и вес яйца на птицу – на 12,50 и 10,96% соответственно по сравнению с контрольной группой. Оба пребиотика улучшили коэффициент конверсии корма. Тем не менее через 4 недели не было различий в средней массе яйца, потреблении корма или живой массе [31]. Добавление в рацион маннанолигосахарида (MOS) в количестве 2 г/кг увеличивало потребление корма и массу тела, а также снижало уровень смертности цыплят-бройлеров [32].

### **Воздействие пребиотиков на иммунную систему**

Значительный интерес представляет изучение роли пребиотиков в модуляции иммунной системы. Иммуномодулирующий эффект пребиотиков происходит благодаря экспрессии генов, участвующих в иммунных процессах [33]. Исследования показали, что использование пребиотиков в рационе птицы улучшает иммунитет за счет селективного роста полезной микробиоты, особенно *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, которые положительно влияют на экспрессию генов резистентности [34] и Т-клеточный иммунитет. Эти бактерии воздействуют на эпителий кишечника, продуцируя антимикробные пептиды и цитокины, такие как IL-12, IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$ ; вызывают модуляцию иммунной системы посредством усиления фагоцитоза и пролиферации иммунных клеток,

таких как макрофаги и моноциты; влияют на увеличение выработки IgA, IgM и IgG, активных форм кислорода и азота, а также пролиферирующих Т-лимфоцитов – естественных киллеров (CD3, CD4 и CD8) [34–36].

Некоторые пребиотики увеличивают выработку секреторного IgA в кишечнике, что препятствует прикреплению и проникновению бактерий в кишечник, увеличивает выработку слизи и предотвращает воспаление, которое может вызвать повреждение эпителиальной ткани [9].

Кочиш и др. [1] изучали воздействие пребиотика и пробиотика на показатели продуктивности, состав микробиоты кишечника и экспрессию генов, связанных с иммунитетом у кур-несушек. Авторами установлено, что скармливание пробиотических и пребиотических добавок положительно влияло на микрофлору кишечника, способствовало увеличению числа бифидо- и целлюлозолитических бактерий в кишечнике и снижало общее количество патогенной и нежелательной микрофлоры на 25–50%. Изученные биологически активные добавки оказали разнонаправленное действие на функциональную активность генов, связанных с иммунитетом (*AvBD9*, *IL8*, *PENK*, *AvBD10*) при общей тенденции к стабилизации состояния организма и готовности к подавлению воспалительного процесса. Экспрессия гена *b*-дефензина-9 (*AvBD9*) снизилась в 5 раз, гена проэнкефалина (*PENK*) выросла почти в 2 раза, а гена *b*-дефензина-10 (*AvBD10*) – почти в 1,5 раза, в то время как экспрессия гена интерлейкина-8 (*IL8*) почти не изменилась [1].

### **Заключение**

Из-за проблемы антибиотикорезистентности крайне важно избегать использование антибиотиков и искать эффективные альтернативы, которые могут улучшить благополучие птицы, продуктивность и производственные затраты. В результате проведенных исследований мы можем

сделать вывод, что добавление пребиотиков в рацион оказывает положительное влияние на яичную и мясную продуктивность, способствует повышению общей резистентности организма, экспрессию генов, нормализации микрофлоры ЖКТ, улучшению здоровья кишечника, иммунной системы, борьбе с патогенами. Тем не менее эффективность пребиотиков будет зависеть от многих факторов, таких как тип добавки, дозы, состав основного рациона, характеристики животных и условия окружающей среды, показывая различное влияние на виды птицы.

***Исследования проведены при поддержке гранта Правительств Российской Федерации (договор № 14. W03.31.0013 от 20 февраля 2017 г.).***

### Список литературы

1. Кочиш, И.И. Микрофлора кишечника кур и экспрессия связанных с иммунитетом генов под влиянием пробиотической и пребиотической кормовых добавок / И.И. Кочиш, О.В. Мясникова, В.В. Мартынов, В.И. Смоленский // Сельскохозяйственная биология. 2020. Т. 55. №. 2. С. 315–327.
2. Mehdi Y. et al. Use of antibiotics in broiler production: Global impacts and alternatives // *Animal Nutrition*. –2018. Т. 4. №. 2. С. 170–178.
3. Prestinaci F., Pezzotti P., Pantosti A. Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon // *Pathogens and Global Health*. 2015. Vol. 109. No. 7. P. 309–318.
4. Cervantes, H.M. Antibiotic-free poultry production: is it sustainable? / H.M. Cervantes // *Journal of Applied Poultry Research*. 2015. Vol. 24. No. 1. P. 91–97.
5. Diarra, M.S. Antibiotics in Canadian poultry productions and anticipated alternatives / M.S. Diarra, F. Malouin // *Frontiers in Microbiology*. 2014. Vol. 5. Article 282.
6. Clavijo, V. The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: a review

/ V. Clavijo, M.J.V. Flórez // Poult. Sci. 2018. Vol. 97. P. 1006–1021.

7. Dittoe, D.K. Organic acids and potential for modifying the avian gastrointestinal tract and reducing pathogens and disease/ D.K. Dittoe, S.C. Ricke, A.S. Kiess. // Front. Vet. Sci. 2018. Vol. 5. Article 216.

8. Rivera, J.C. Essential oils as antimicrobials in food systems – a review/ J.C. Rivera, P.G. Crandall, C.A. O’Bryan et al. // Food Control. 2015. Vol. 54. P. 111–119.

9. Sarangi, N.R. Effect of dietary supplementation of prebiotic, probiotic, and synbiotic on growth performance and carcass characteristics of broiler chickens/ N.R. Sarangi, L. Babu, A. Kumar et al. // Veterinary World. 2016. Vol. 9. No. 3. Article 313.

10. Yadav, A.S. Exploring alternatives to antibiotics as health promoting agents in poultry–A review / A.S. Yadav, G. Kolluri, M. Gopi et al. // Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences. 2016. Vol. 4. No. 3S. P. 368–383.

11. Gibson, G.R. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics / G.R. Gibson, M.B. Roberfroid // J. Nutr. 1995. Vol. 125. P. 1401–1412.

12. Alloui, M.N. The usefulness of prebiotics and probiotics in modern poultry nutrition: a review / M.N. Alloui, W. Szczurek, S. Świątkiewicz // Ann. Anim. Sci. 2013. Vol. 13. P. 17–32.

13. Bednarczyk, M. Influence of different prebiotics and mode of their administration on broiler chicken performance / M. Bednarczyk, K. Stadnicka, I. Kozłowska et al. // Animal. 2016. Vol. 10. No. 8. P. 1271–1279.

14. Siwek, M. Prebiotics and synbiotics – *in ovo* delivery for improved lifespan condition in chicken / M. Siwek, A. Slawinska, K. Stadnicka et al. // BMC Veterinary Research. 2018. Vol. 14. No. 1. Article 402.

15. Patterson, J.A. Application of prebiotics and probiotics in poultry production / J.A. Patterson, K.M. Burkholder // Poult Sci. 2003. Vol. 82. P. 627–631.

16. Kim, S.A. Potential for prebiotics as feed additives to limit foodborne *Campylobacter* establishment in the poultry gastrointesti-

nal tract / S.A. Kim, M.J. Jang, S.Y. Kim // *Front. Microbiol.* 2019. Vol. 10. Article 91.

17. Micciche, A.C. A review of prebiotics against Salmonella in poultry: current and future potential for microbiome research application / A.C. Micciche, S.L. Foley, H.O. Pavlidis et al. // *Front. Vet. Sci.* 2018. Vol. 5. Article 191.

18. Ricke, S.C. Potential of fructooligosaccharide prebiotics in alternative and nonconventional poultry production systems / S.C. Ricke // *Poult. Sci.* 2015. Vol. 94. P. 1411–1418.

19. Hajati, H. The application of prebiotics in poultry production / H. Hajati, M. Rezaei // *International Journal of Poultry Science.* 2010. Vol. 9. No. 3. P. 298–304.

20. Shang, Y. Chicken gut microbiota: Importance and detection technology / Y. Shang, S. Kumar, B. Oakley et al. // *Frontiers in Veterinary Science Frontiers.* 2018. Vol. 5. Article 254.

21. Teng, P.Y. Roles of prebiotics in intestinal ecosystem of broilers / P.Y. Teng, W.K. Kim // *Frontiers in Veterinary Science.* 2018. Vol. 5. Article 245.

22. Józefiak, D. Carbohydrate fermentation in the avian ceca: a review / D. Józefiak, A. Rutkowski, S.A. Martin // *Anim. Feed Sci. Technol.* 2004. Vol. 113. P. 1–15.

23. Xu, Z. Effects of dietary fructooligosaccharide on digestive enzyme activities, intestinal microflora and morphology of male broilers / Z. Xu, C. Hu, M. Xia et al. // *Poultry Science.* 2003. Vol. 82. No. 6. P. 1030–1036.

24. Kim, G.B. Effect of dietary prebiotic supplementation on the performance, intestinal microflora, and immune response of broilers / G.B. Kim, Y. Seo, C. Kim et al. // *Poultry Science.* 2011. Vol. 90. P. 75–82.

25. Buclaw, M. The use of inulin in poultry feeding: A review / M. Buclaw // *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition.* 2016. Vol. 100. No. 6. P. 1015–1022.

26. Johansson, M.E. The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria / M.E. Johansson, M. Phillipson, J. Petersson et al. // *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2008. Vol. 105. No. 39. P. 15064–15069.

27. Chen, T.C. Effects of adding chicory fructans in feed on broiler growth performance, serum cholesterol and intestinal length / T.C. Chen // *International Journal of Poultry Science*. 2003. Vol. 2. No. 3. P. 214–219.

28. Matis, G. Effects of oral butyrate application on insulin signaling in various tissues of chickens / G. Matis, A. Kulcsar, V. Turrowski et al. // *Domestic Animal Endocrinology*. 2015. Vol. 50. P. 26–31.

29. Yun, W. Effects of supplementation of probiotics and prebiotics on growth performance, nutrient digestibility, organ weight, fecal microbiota, blood profile, and excreta noxious gas emissions in broilers / W. Yun, D. Lee, Y. Choi et al. // *Journal of Applied Poultry Research*. 2017. Vol. 26. No. 4. P. 584–592.

30. Toghyani M., Toghyani M., Tabeidian S.A. Effect of probiotic and prebiotic as antibiotic growth promoters substitutions on productive and carcass traits of broiler chicks // *International Conference on Food Engineering and Biotechnology*. 2011. Vol. 9. P. 82–86.

31. Chen, Y. Mineral utilization in layers as influenced by dietary oligofructose and inulin / Y. Chen, T. Chen // *International Journal of Poultry Science*. 2004. Vol. 3. No. 7. P. 442–445.

32. Abdel-Raheem S.M., Abd-Allah S.M.S. The effect of single or combined dietary supplementation of mannan oligosaccharide and probiotics on performance and slaughter characteristics of broilers // *Int J Poult Sci*. 2011. Vol. 11. P. 854–862.

33. Lopetuso, L. Bacteriocins and bacteriophages: Therapeutic weapons for gastrointestinal diseases / L. Lopetuso, M. Giorgio, A. Saviano et al. // *International Journal of Molecular Sciences*. 2019. Vol. 20. No. 1. Article 183.

34. Романов, М.Н. Разработка современных биотехнологий для оценки экспрессии генов в связи с устойчивостью к болезням и продуктивностью у домашней птицы / М.Н. Романов, Г.Ю. Лаптев, В.А. Филиппова и др. // *Материалы Международной научно-практической конференции «Молекулярно-генетические технологии для анализа экспрессии генов продуктивности и устойчивости к заболеваниям животных»*. М.: Сельскохозяйственные технологии, 2019. С. 11–41.

35. Ajuwon, K. Toward a better understanding of mechanisms of probiotics and prebiotics action in poultry species / K. Ajuwon // Journal of Applied Poultry Research. 2015. Vol. 25. No. 2. P. 277–283.

36. Patterson, J.A. The Commensal Microbiota. Direct-Fed Microbials and Prebiotics for Animals / J.A. Patterson. New York, USA: Springer, 2012. P. 3–11.

## **Prebiotic additives in feeding of poultry**

*Kochish I.I., Elkomy H.S.*

K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia

### **Abstract**

Antibiotic resistance is currently one of the most serious public health threats in the world. Long-term uses of antibiotics led to the development of resistant bacteria and accumulation of antibiotic residues in poultry products, implying public health problems that ultimately resulted in the ban on the use of antibiotics. Therefore, there is an urgent need for alternative sources of health protection in the poultry industry. Prebiotic feed additives are considered as one of the most promising alternatives to antibiotics. The use of prebiotics contributes to the development of beneficial intestinal microflora and increasing the general resistance of the body. Administration of prebiotics has a positive effect on egg and meat production. In addition, it can improve digestion and stimulate the bird's immune system. More research is needed under more standardized settings to assess the correct dosage and precise mechanism of action.

Key words: antibiotic resistance, prebiotics, poultry farming, intestinal microflora, productivity

**РАЗРАБОТКА ДОБАВКИ —  
СОРБЕНТА МИКОТОКСИНОВ «МЕКАСОРБ»  
ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ПРОДУКТИВНЫХ  
ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ**

**Капитонова Е.А.**

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,  
г. Витебск, Республика Беларусь.  
E-mail: kapitonovalena1110@mail.ru

**Аннотация**

Обеспечение ветеринарно-санитарной защиты на всех технологических уровнях является неотъемлемой частью производственной программы при производстве продукции птицеводства. Требования к качеству и экологической безопасности пищевого сырья и пищевых продуктов с каждым годом становятся все более актуальными. Производство высококачественных комбикормов — важнейший фактор интенсификации птицеводства с целью реализации генетического потенциала высокопродуктивных помесей птицы. Нами разработана и запатентована кормовая добавка-сорбент «МеКаСорб», предназначенная для профилактики микотоксикозов и повышения продуктивности птицы. При определении оптимальной нормы внесения добавки-сорбента установлено, что внесение «МеКаСорб» в норме 1,0% и 2,0% позволяет получить максимальные показатели продуктивности от цыплят-бройлеров. Введение в рацион птицы кормовой добавки-сорбента микотоксинов «МеКаСорб» позволило в лабораторных условиях увеличить живую массу цыплят-бройлеров на 10,3–15,3%; снизить расход кормов на килограмм прироста живой массы на 3,1–

3,5% при обеспечении сохранности поголовья на 100%. Установлено, что наиболее оптимальной и экономически оправданной является норма ввода «МеКаСорба» на уровне 1,0%.

Ключевые слова: сорбент, микотоксикозы, дисбактериозы, профилактика, цыплята-бройлеры, продуктивность, сохранность, расход корма

### **Введение**

В настоящее время птицеводство является наиболее рентабельной подотраслью животноводства. Спрос на продукты птицеводства постоянно увеличивается, что объясняется, во-первых, их диетическими свойствами, биологической полноценностью и хорошими вкусовыми качествами, а, во-вторых, эти продукты не требуют значительных затрат на производство и переработку. При этом в мясе птицы содержится больше полноценного белка, чем в мясе других сельскохозяйственных животных [6]. Сравнительно низкая ценовая группа охлажденного продукта только увеличивает спрос потребителя.

Обеспечение ветеринарно-санитарной защиты на всех технологических этапах производства продукции птицеводства является неотъемлемой частью программы обеспечения продовольственной безопасности. Она не только уменьшает последствия, но и снижает риск возникновения различных инфекционных заболеваний. Источниками заражения птицы в условиях интенсивного производства продукции птицеводства могут служить: переболевшая птица, оборудование, корма (и все ингредиенты для приготовления кормосмеси), ограждающие конструкции, обслуживающий персонал, посторонние лица, грызуны, насекомые и др. [1, 9, 11].

Требования к качеству и обеспечению экологической безопасности продовольственного сырья и продуктов пи-

тания с каждым годом приобретают все большую актуальность. Экологически чистыми считаются пищевые продукты, выработанные из растительного и животного сырья, произведенного в условиях, при которых на показатели выращивания, переработки, хранения и транспортировки не попадают вредные и нежелательные компоненты из окружающей среды. Это возможно лишь в том случае, если эти продукты будут произведены с соблюдением технологической карты-графика производства продукции, исключаящей их загрязнение на каждом этапе производства, и реализованы без промежуточного воздействия неблагоприятных экологических факторов [6, 8, 11].

В последнее время при производстве продукции птицеводства применяются многоярусные клеточные батареи, которые призваны обеспечивать максимальное получение продукции с 1 м<sup>2</sup> пола. При этом гонка за валовым производством мяса может отодвигать на задний план соблюдение санитарных норм и разрывов, обеспечение норм кормления и поения на 1 голову птицы, а также поддержание оптимальных параметров микроклимата на каждом ярусе выращивания птицы [1, 6, 9, 11].

Зачастую в гонке за увеличением производства продукции птицеводства используют антибактериальные препараты [1, 6, 9, 10, 12]. При этом, как установлено многими учеными, применение антибиотиков не только не решает всех проблем, но и предоставляет новые, которых могло бы и не быть. Одной из таких проблем являются дисбактериозы. Установлено, что проблемы дисбактериозов в родительском стаде накладывают свой отпечаток на иммунный статус суточного цыпленка, который только что вылупился из яйца [3, 4, 5, 7].

Производство высококачественных комбикормов является одним из важнейших факторов интенсификации птицеводства для реализации генетического потенциала высо-

копродуктивных кроссов сельскохозяйственной птицы. Поэтому для выполнения программы развития птицеводства намечено ежегодное увеличение производства комбикормов для сельскохозяйственных птиц на 6%. При этом необходимо помнить, что наращивание темпов производства комбикормовой промышленности должно обеспечить высокое качество корма [2, 4, 8, 12].

Целью нашей научной работы явилась разработка добавки-сорбента микотоксинов «МеКаСорб» для профилактики микотоксикозов в бройлерном птицеводстве.

### **Материалы и методы**

Для применения добавки-сорбента микотоксинов «МеКаСорб» при выращивании цыплят-бройлеров нами было приобретено 140 голов суточного возраста кросса «Росс-308», которые были подобраны по принципу условных аналогов по живой массе 43 г и разделены на 4 группы. Цыплятам из 1-й группы скармливался только основной рацион (табл. 1) и они служили контролем. Бройлерам из 2-й группы к основному рациону дополнительно вводили 0,5% добавки-сорбента «МеКаСорб», птице из 3-й группы дополнительно к корму давали 1,0% экспериментальной добавки и молодняку из 4-й группы — 2,0% добавки.

В качестве основного рациона для подопытной птицы мы использовали комбикорма согласно возрасту птицы, которые по питательности соответствовали всем предъявляемым требованиям и декларации ВУ/112 11.01. ТР 025 005 04493 от 16.10.2017 г. до 15.01.2022 г., СТБ 1842-2008.

При наблюдении за цыплятами контрольной и опытных групп учитывали прирост живой массы (еженедельно посредством взвешивания), расход корма на единицу продукции, клиническое состояние цыплят-бройлеров и причины их выбытия. В конце опыта был проведен анализ качества полученной продукции.

Таблица 1

**Рецепты основного рациона комбикормов  
для цыплят-бройлеров, %**

Ингредиенты	Возраст, дней			
	1–10 (Престартер)	11–24 (Стартер)	25–37 (Гровер)	старше 38 (Финиш)
Кукуруза желтозернистая	50,5	49,35	46,45	42,70
Пшеница	6,00	–	–	–
Тритикале	–	6,00	9,00	15,40
Шрот соевый	30,00	31,00	27,00	19,50
Шрот подсолнеч- никовый	3,50	4,00	5,00	7,00
Рыбная мука	4,00	2,00	–	–
Мясокостная мука	–	–	4,00	6,00
Масло рапсовое	1,70	3,30	4,30	5,60
Фосфат монокальций	1,30	1,20	1,25	1,40
Мел	1,15	1,15	1,00	0,40
Премикс	2,00	2,00	2,00	2,00
В 100 г комбикорма содержится:				
Обменной энергии, кДж	1268	1295	1307	1327
Сырого протеина, %	22,21	22,21	21,12	19,82
Сырой клетчатки, %	3,39	3,39	3,67	3,68
Сырого жира, %	6,20	6,20	7,98	9,60
Кальция, %	1,08	1,08	1,04	1,02
Фосфора, %	0,76	0,76	0,78	0,77
Натрия, %	0,17	0,17	0,18	0,17

Ингредиенты	Возраст, дней			
	1–10 (Престартер)	11–24 (Стартер)	25–37 (Гровер)	старше 38 (Финиш)
Лизина, %	1,460	1,369	1,261	1,128
Метионина + цистина, %	1,072	1,030	0,988	0,914
Триптофана, %	0,284	0,278	0,265	0,253

В основу разработки добавки-сорбента нами был взят трепел месторождения «Стальное» Могилевской области, который может выступать и как самостоятельный сорбционный компонент, а также в составе смесей в качестве носителя (наполнителя). Первичные требования к трепелу были закреплены в ТУ ВУ 300002681.008-2010, в дальнейшем они были доработаны в ТУ ВУ 790013216.002-2013. На базе трепела белорусскими учеными были разработаны целый ряд добавок-сорбентов. Нами была разработана и запатентована кормовая добавка сорбент «МеКа-Сорб», в основе которой содержится трепел, обогащенный кормовыми дрожжами и ферментом.

В условиях лаборатории Научно-исследовательского института прикладной ветеринарной медицины и биотехнологии УО ВГАВМ нами была определена сорбционная способность «МеКаСорб». Адсорбция/десорбция проводилась в условиях при обеспечении рН 3,3 ед.,  $t=37^{\circ}\text{C}$ . Результаты сорбционной емкости добавки-сорбента «МеКа-Сорб» представлены в табл. 2.

На основании лабораторных испытаний было установлено, что трепел, обогащенный для лучшей стимуляции прироста живой массы кормовыми дрожжами и ферментом, обладал максимальной сорбционной способностью по отношению к афлатоксину и относительно средней сорбционной емкостью по отношению к Т-2 токсину, дезоксиниваленолу, охратоксину и зеараленону — на уровне 58,26–32,7%.

**Результаты сорбционной способности «МеКаСорб»**

<b>Микотоксин</b>	<b>Исходное содержание в корме, мг/кг</b>	<b>Адсорбция. Экспозиция 1 час, мг/кг</b>	<b>%</b>	<b>Десорбция. Экспозиция 1 час, мг/кг</b>	<b>%</b>
Афлатоксин	1,53	0	100	0	0
Т-2 токсин	52,64	21,97	58,26	19,9	0
Охратоксин	13,32	8,3	37,68	7,98	0
Зеараленон	119,92	80,7	32,7	75,9	0
Дезоксиниваленол	0,48	0,251	47,7	0,211	0

Далее в условиях клиники кафедры эпизоотологии УО ВГАВМ нами был проведен научно-лабораторный опыт на цыплятах-бройлерах кросса «Росс-308». Для определения оптимальной нормы ввода в комбикорма сельскохозяйственной птицы разработанная нами добавка-сорбент «МеКаСорб» скармливалась в различных дозировках согласно схеме опыта. Определение динамики живой массы подопытных цыплят-бройлеров еженедельно производили на электронных весах фирмы First с дискретностью 0,1 г.

**Результаты исследований и обсуждение**

Результаты контрольных взвешиваний подопытных цыплят-бройлеров представлены в табл. 3.

Как видно из показателей табл. 3, во все периоды выращивания в опытных группах, где давалась добавка-сорбент микотоксинов «МеКаСорб», приросты живой массы цыплят-бройлеров были выше, чем в контроле.

В середине периода выращивания (21 день) живая масса цыплят-бройлеров 2-й опытной группы была выше показателей бройлеров из 1-й контрольной группы на 8,2%, в 3-й

опытной группе — на 11% и в 4-й опытной группе — на 12,5%.

Таблица 3

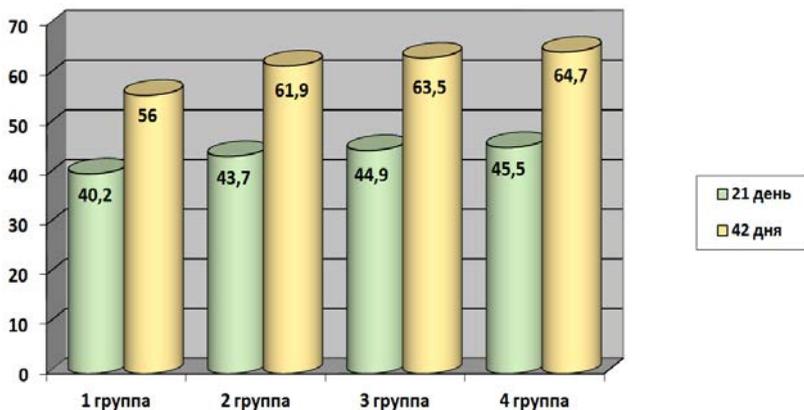
**Результаты контрольных взвешивания подопытных цыплят-бройлеров при введении в рацион добавки-сорбента микотоксинов «МеКаСорб» ( $M \pm m$ ,  $n=35$ )**

Период выращивания	1-я группа (контроль), г/гол.	2-я опытная группа, г/гол.	3-я опытная группа, г/гол.	4-я опытная группа, г/гол.
I (7-й день)	195,8±4,32	205,5±3,24	206,7±3,53	202,3±3,54
II (14-й день)	426,5±6,54	485,8±5,73***	520,5±5,32***	575,2±5,64***
III (21-й день)	887,4±8,63	960,5±7,31***	985,3±7,75***	998,6±7,64***
IV (28-й день)	1298,8±10,87	1470,0±9,54***	1485,4±9,53***	1507,8±9,62***
V (35-й день)	1877,3±13,96	2085,0±11,46***	2100,1±11,54***	2133,5±11,31***
VI (42-й день)	2395,5±15,65	2642,8±13,36***	2710,3±13,65***	2762,2±13,42***

Примечание: \*  $P \leq 0,05$ ; \*\*  $P \leq 0,01$ ; \*\*\*  $P \leq 0,001$ .

К концу выращивания подопытных цыплят-бройлеров (42 дня) живая масса птиц опытных групп достоверно превышала показатели по живой массе аналогов из 1-й контрольной группы. Цыплята-бройлеры кросса «Росс-308» из 4-й группы превышали показатели цыплят-бройлеров из 1-й группы на 15,3%. Цыплята из 3-й группы были на 13,1% тяжелее, чем в 1-й контрольной группе. Молодняк из 2-й группы на 10,3% превышал показатели аналогов контрольной группы.

Динамика среднесуточных приростов цыплят-бройлеров при введении в рацион добавки-сорбента микотоксинов «МеКаСорб» представлена на рис. 1.



*Рис. 1. Среднесуточный прирост цыплят-бройлеров, г*

Из показателей, представленных на рисунке, видно, что аналогичная тенденция сохранилась при расчете среднесуточных приростов цыплят-бройлеров.

В середине периода выращивания среднесуточный прирост цыплят-бройлеров из 2-й группы на 8,7% превосходил показатель цыплят 1-й контрольной группы. У цыплят-бройлеров из 3-й группы, по сравнению с цыплятами 1-й группы среднесуточный прирост был больше на 11,7%. Среднесуточный прирост цыплят-бройлеров 4-й группы на 13,2% был выше, чем у цыплят из 1-й контрольной группы.

Аналогичная тенденция сохранилась и к концу периода выращивания подопытных цыплят-бройлеров. Так, среднесуточный прирост цыплят-бройлеров из 2-й группы на 10,5% был выше, чем в контроле, у цыплят 3-й группы — на 13,4%, а у цыплят 4-й группы — на 15,5%, что говорит в пользу эффективности введения в комбикорм цыплят-

бройлеров разработанной и запатентованной нами кормовой добавки-сорбента микотоксинов «МеКаСорб».

Основные зоотехнические показатели полученные при выращивании цыплят-бройлеров, которым скармливалась добавка-сорбента микотоксинов «МеКаСорб» приведены в табл. 4.

*Таблица 4*

**Основные зоотехнические показатели цыплят-бройлеров**

Показатели	Группы			
	1	2	3	4
Сохранность, гол.	34	35	35	35
Сохранность, %	97,1	100,0	100,0	100,0
в % к контролю	100	102,9	102,9	102,9
Затраты корма на 1 кг прироста живой массы, кг	1,98	1,92	1,92	1,91
в % к контролю	100	96,9	96,9	96,5

Сохранность — комплексный показатель, который включает соблюдение технологии выращивания, вакцинацию, профилактику, полноценное кормление, обеспечение оптимальных параметров микроклимата, квалификацию обслуживающего персонала и проч. Установлено, что сохранность поголовья цыплят-бройлеров зависит на 25–30% от генетического потенциала птицы, на 50% — от уровня кормления и на 20–25% — от условий содержания. И если фактический падеж легко посчитать, то ущерб от слабой птицы из-за ее недостаточной продуктивности трудно поддается оценке.

За период проведения испытаний в лабораторных условиях во всех опытных группах удалось сохранить поголо-

вье на уровне 100%. В 1-й контрольной группе пала 1 птица (-2,9%), при вскрытии нами было установлено, что это не было связано с факторами кормления.

Рацион кормления очень важен для физиологически гармоничного развития птицы. Он обычно составляется исходя из продуктивности и возраста птицы. Для получения стабильных приростов живой массы необходимо соблюдать технологические нормативы обеспечения кормления и поения.

Расход корма на 1 кг прироста живой массы цыплят-бройлеров кросса «Росс-308» в опытных группах удалось несколько уменьшить по сравнению с контролем. Так, расход корма на 1 кг прироста живой массы сократился: во 2-й группе — на 3,1%, в 3-й группе — на 3,1% и в 4-й группе — на 3,5%. Введение в рацион цыплят-бройлеров кормовой добавки-сорбента «МеКаСорб» позволило сократить расход корма во 2-й группе на 0,60 г/кг комбикорма, в 3-й группе — на 0,60 г/кг комбикорма и в 4-й группе — на 0,70 г/кг комбикорма.

В заключение отметим, что введение в рацион цыплят-бройлеров разработанной нами и запатентованной кормовой добавки-сорбента микотоксинов «МеКаСорб» позволил в лабораторных условиях увеличить живую массу цыплят-бройлеров кросса «Росс-308» на 10,3–15,3% и сократить расход корма на 1 кг прироста живой массы на 3,1–3,5%, при обеспечении 100%-ной сохранности поголовья.

### **Список литературы**

1. Ветеринарная технология защиты выращивания ремонтного молодняка птицы в ОАО «Витебская бройлерная птицефабрика» / П.М. Кузьменко [и др.]. // Ученые записки УО ВГАВМ: научно-практический журнал. — Витебск: УО ВГАВМ, 2011. — Т. 47. — № 1. — С. 399–403.

2. Гласкович М.А. Анализ повышения эффективности использования кормовой базы на птицефабриках Республики Беларусь / М.А. Гласкович, Е.А. Капитонова // Ученые записки УО ВГАВМ: научно-практический журнал. — Витебск: УО ВГАВМ, 2011. — Т. 47. — Вып. 1. — С. 333–335.

3. Капитонова Е.А. Профилактика дисбактериозов / Е.А. Капитонова // Материалы VII Международной научно-практической конференции «Экология и инновации». — Витебск: ВГАВМ, 2008. — С. 100–101.

4. Капитонова Е.А. Профилактика действия микотоксинов в растительных кормах / Е.А. Капитонова, А.А. Гласкович, С.В. Абраסקова // Материалы Международной научно-практической конференции «Земледелие, растениеводство, селекция: настоящее и будущее». — Жодино: РУП «НПЦ НАН Беларуси по растениеводству», 2012. — С. 302–305.

5. Красочко П.А. Роль микрофлоры в возникновении заболеваний у животных и птиц / П.А. Красочко, В.М. Голушко, Е.А. Капитонова // Материалы Международной научно-практической конференции «Проблемы интенсификации производства продуктов животноводства». — Жодино: РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству», 2008. — С. 292–294.

6. Оперативный контроль и коррекция кормления высокопродуктивной птицы: учебное пособие по специальности 36.05.01 «Ветеринарно-санитарная экспертиза» (бакалавриат), 36.04.01 «Ветеринарно-санитарная экспертиза» (магистратура), 36.03.02 «Зоотехния» (бакалавриат), 36.04.02 «Зоотехния» (магистратура) / Подобед Л.И. [и др.]. — СПб: ФГБОУ ВО СПбГУВМ. — 2020. — 419 с.

7. Определение микробиоценоза кишечного тракта животных в норме и при дисбактериозах: рекомендации / Алешкевич В.Н. [и др.]. — Витебск: ВГАВМ, 2017. — 39 с.

8. Санитарно-гигиеническое значение бактерий и плесневых грибов в изменении качества кормов: учеб.-метод. пособие / С.В. Абраסקова [и др.]. — Витебск, 2012. — 32 с.

9. Сборник производственных ситуаций по гигиене животных: учеб.-метод. пособие / Медведский В.А. [и др.]. — Витебск: УО ВГАВМ, 2011. — 40 с.

10. Современное состояние и проблемы применения антибиотиков в сельском хозяйстве / Е.А. Капитонова, М.А. Гласкович, П.М. Кузьменко [и др.] // Ученые записки УО ВГАВМ: научно-практический журнал. — Витебск, 2011. — Т. 47. — № 1–2. — С. 284–288.

11. Технология производства продукции животноводства. Курс лекций: в 2 ч. Ч. 1. Технология производства продукции скотоводства, свиноводства и птицеводства: учеб.-метод. пособие / М.А. Гласкович, Е.А. Капитонова, Т.В. Соляник [и др.]. — Горки: БГСХА, 2017. — 240 с.

12. Усовершенствование системы лечебно-профилактических и диагностических мероприятий в бройлерном птицеводстве / А.А. Гласкович [и др.] // I Международная научно-практическая конференция «Ветеринарная медицина на пути инновационного развития». — Гродно: ГрГАУ, 2016. — С. 134–143.

## **Development of additive sorbent of mycotoxins MeKaSorb for increasing the broiler chickens productive indices**

*Kapitonova E.A.*

Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine,  
Vitebsk, Republic of Belarus

### **Abstract**

Ensuring veterinary and sanitary protection at all technological levels is an integral part of the program of the production of poultry produce. The requirement for the quality and environmental safety of food raw materials and food products becomes more and more relevant every year. The production of high-quality mixed feed is the most important factor in the intensification of poultry farming to realize the genetic potential of highly productive poultry crosses. We have developed and patented a feed additive sorbent MeKaSorb that is intended for the prevention of mycotoxicoses and increase of the poultry performance. In determining the optimal rate of additive

sorbent supplementation, we have established that the administration of MeKaSorb at a rate of 1.0% and 2.0% enabled obtaining maximum production traits in broiler chickens. The supplementation of the poultry diet with the feed additive/mycotoxin sorbent MeKaSorb in laboratory conditions resulted in raising the body weight of broiler chickens by 10.3–15.3% and reducing feed consumption per 1 kilogram of body weight gain by 3.1–3.5%, while ensuring 100% safety of birds. We have established that the most optimal and economically justified is the administration rate of MeKaSorb at the level of 1.0%.

Key words: sorbent, mycotoxicoses, dysbacterioses, prevention, broiler chickens, productivity, safety, feed consumption

## **ПРИМЕНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ПРОДУКТИВНОСТИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПТИЦЫ**

**Карпенко Л.Ю.,<sup>1</sup> Гласкович С.А.,<sup>2</sup>  
Гласкович М.А.,<sup>2</sup> Юркевич В.В.,<sup>2</sup>  
Вергинская-Филипенко А.О.,<sup>2</sup> Папсуева М.И.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация;

<sup>2</sup> УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь;

<sup>3</sup> УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия, г. Горки, Республика Беларусь.  
E-mail: mglaskovich@mail.ru

### **Аннотация**

В статье представлены результаты экспериментов по изучению влияния иммунобиологических препаратов на продуктивность и общеклинические и биохимические показатели у цыплят-бройлеров. Установлено, что их использование у цыплят-бройлеров способствует повышению биологической ценности мяса и экономической эффективности выращивания бройлеров.

Ключевые слова: цыплята-бройлеры, конверсия корма, кормовая добавка, пробиотики, продукты метаболизма лакто- и бифидобактерий, водорастворимый экстракт прополиса, нано- и коллоидные частицы серебра, живая масса, среднесуточный прирост, сохранность

### **Введение**

В последнее время принцип использования антибиотиков с целью усиления темпов роста и улучшения эффек-

тивности кормления все больше и больше подвергается жесточайшей критике [1, 9]. В результате этого произошло резкое уменьшение или полное исключение использования такого рода препаратов в птицеводческой индустрии многих стран. Антибиотики как стимуляторы роста применяются в рационах животных с 1950-х годов. Но уже в 1960-е годы эта практика изменилась, что привело к сокращению их использования в европейских странах [2, 5, 7]. Прежде чем принять решение использовать или нет стимуляторы роста при выращивании птицы, и если да, то какие, необходимо рассмотреть строение и функции отделов кишечного тракта птицы. Кишечник бройлера вполне типичен для птицы вообще. Пища смешивается со слюной и через пищевод выполняет подобные функции. Увлажненная пища медленно продвигается в железистый преджелудок. Здесь происходит расщепление протеинов под действием пепсина и соляной кислоты. Сокращения стенок зоба, пищевода, железистого преджелудка и собственно желудка скоординированы и влияют на процессы пищеварения в тонком кишечнике. Основное переваривание корма происходит в двенадцатиперстной кишке. Непереваренная клетчатка проходит в толстый кишечник и является субстратом для роста бактерий в слепой кишке. Большое количество бактерий сосредоточено в зобе (главным образом, лактобактерии), конечных отделах тонкого кишечника, а также в слепой и толстой кишке [2, 7, 13, 14]. Существует две принципиальные причины, которые уменьшают эффективность пищеварения и которые зачастую проявляются одновременно. Это, во-первых, нарушение всасывания при повреждении активной поверхности кишечника паразитами (например, кокцидиями), вирусами, токсинами и бактериями. При этом уменьшается количество клеток с ворсинками, укорачиваются и деформируются сами ворсинки. Поврежденные клетки (энтероциты) заменяются клетками,

которые мигрируют с крипт между ворсинками, что приводит к снижению всасывающей способности кишечника. Во-вторых, это уменьшение переваривания и всасывания при увеличении концентрации некоторых видов бактерий в кишечнике. Нормальный ответ организма птицы на снижение переваривания и всасывания состоит в замедлении темпа прохождения пищи (увеличении времени абсорбции). Для дикого предка бройлера, существующего при скудном рационе, это, возможно, имело бы положительный эффект. Однако уменьшение скорости прохождения пищи у современных бройлеров, наоборот, способствует избыточному росту патогенной и условно-патогенной микрофлоры в тонком отделе кишечника. Очевидно, что эта микрофлора сильно влияет на нормальное функционирование кишечника.

Антибиотические стимуляторы роста используют уже около 50 лет для регулирования состояния кишечной флоры и в конечном итоге осуществляют контроль избыточного размножения патогенных и условно-патогенных бактерий в тонком отделе кишечника. Встает закономерный вопрос, можно ли каким либо иным способом препятствовать избыточному росту патогенной и условно патогенной микрофлоры и стабилизировать нормальную микрофлору кишечника? Известно, что большинство микроорганизмов, населяющих кишечник, безопасны и не вызывают заболеваний. Происходит постоянная конкуренция между бактериями различных видов за пространство и питательные вещества. Безвредные и условно патогенные бактерии сдерживают рост и размножение друг друга [10, 13, 14, 15]. Однако температурный стресс, смена рациона питания, перегруппировки, вакцинации и антибиотикотерапия неизбежно отражаются на микробиологическом балансе в желудочно-кишечном тракте и сдвигают его в сторону патогенной или условно-патогенной микрофлоры [5, 11, 12].

При таких нарушениях, кишечный баланс может быть восстановлен с помощью благоприятных бактерий, дополнительно вводимых с пищей. Замещение нежелательных бактерий конкурирующими с ними полезными лежит в основе использования пробиотиков. Отбор бактерий, способствующих поддержанию кишечного баланса, проводит сама природа. У птиц, живущих в природных условиях, кишечный баланс, как правило, не заменяется под действием смены питания, как это часто происходит в промышленном птицеводстве. В природе наличие микробиологического баланса в кишечнике определяется главным образом почвой. В условиях современного птицеводства популяция бактерий в кишечнике находится под постоянным прессингом условно-патогенной микрофлоры, а наличие микробиологического баланса в желудочно-кишечном тракте, как правило, отсутствует. Рацион питания построен так, чтобы обеспечивать максимально быстрый рост птицы за возможно более короткий промежуток времени. Однако повышенная концентрация питательных веществ в рационе зачастую приводит к нарушению кишечного баланса. Часто наблюдается парадоксальная ситуация — тщательно сбалансированное кормление не дает ожидаемых результатов. Введение птице пробиотических бактерий, которые являются антагонистами патогенных, помогает восстановить кишечный баланс, и таким образом способствует повышению рентабельности птицеводства [1, 2, 3, 4]. Однако нативные формы препаратов не нашли широкого применения из-за трудности стандартизации, транспортировки и хранения и поэтому не всегда эффективны [6, 8]. Применение лиофилизированной сушки позволило приступить к выпуску сухих препаратов, содержащих живые микроорганизмы, а также значительно увеличить срок хранения пробиотиков и, самое главное, производить стандартные препараты [5, 6, 13, 14]. Использование пробиотических

препаратов и добавок эффективно в том случае, если в процессе их применения они приживутся в кишечнике. Стимулируя сокоотделительную и ферментообразовательную функции желудочно-кишечного тракта, пробиотики способствуют нормализации работы органов пищеварения. Действие пробиотика проявилось в улучшении показателей естественной резистентности подопытных цыплят-бройлеров — их гематологических, биохимических и иммунологических характеристик. Большое внимание разработке пробиотиков и кормовых добавок на их основе, организации их производства, внедрению в животноводство и птицеводство уделяется и в Республике Беларусь, и в Российской Федерации. Таким образом, исходя из литературных данных, пробиотики и кормовые добавки на их основе, способны корректировать желудочно-кишечный микробиоценоз, повышать местную защиту и предупреждать развитие ряда гиповитаминозов. Механизм их действия направлен на принудительное заселение кишечника животных и птицы конкурентоспособными штаммами бактерий, входящих в пробиотики, с помощью которых контролируется численность условно-патогенной микрофлоры путем вытеснения ее из кишечного микробиоценоза и подавления бурного размножения в просвете кишечника [7, 8].

### **Материал и методика исследований**

Материалом для исследований служили цыплята-бройлеры и изучаемые препараты. Динамику изменения живой массы цыплят-бройлеров учитывали путем взвешивания контрольной и двух опытных групп начиная с точного возраста. Оценку использования комбикормов проводили согласно ведомости расхода комбикормов по группам. Затраты корма на 1 кг прироста находили как отношение затрат корма на все поголовье к живой массе цыплят-бройлеров в 42 дня. Для характеристики продуктив-

ных качеств цыплят-бройлеров были изучены общепринятые признаки по мясной продуктивности. Для проверки достоверности оценки полученных результатов использовали критерий достоверности. Он позволяет в каждом конкретном случае выяснить, удовлетворяют ли полученные результаты нашей гипотезе. Цифровой материал экспериментов подвергнут математико-статистической обработке на персональном компьютере методами вариационной статистики с использованием программы Microsoft Excel 2003. В условиях птицефабрик Республики Беларусь — СООО «Витконпродукт» Шумилинская бройлерная птицефабрика, РУСПП «Городокская птицефабрика» Городокского района Витебской области, ОАО «Витебская бройлерная птицефабрика» Витебского района Витебской области, ОАО «Агрокомбинат «Дзержинский» д. Дворище, РУСПСП «Птицефабрика Дружба» Барановичского района Брестской области, ОАО «Оранчицкая птицефабрика» Пружанского района Брестской области — были проведены научно-хозяйственные опыты по выявлению наиболее оптимальных доз введения в рацион биологически активных стимуляторов: «Продукты метаболизма лактобактерий», «Биофлор», «Биококтейль-НК», «Аргобифилак», «Флавойодин», «Экодиар», кормовая добавка Т2, и их влияние на основные показатели продуктивности сельскохозяйственной птицы.

### **Результаты исследований и обсуждение**

Препарат **«Продукты метаболизма лактобактерий»** представляет собой фильтрат внеклеточных продуктов обмена веществ культуры молочнокислых бактерий и содержит в своем составе биосинтетическую молочную кислоту, бактериоцины и полисахариды. Он содержит также незаменимые аминокислоты, органические кислоты, витамины, в том числе группы В, микроэлементы и пребиотические

компоненты. В ходе лабораторных опытов было сформировано 3 группы по 23 головы в каждой:

1) контроль — основной рацион (ОР) без дополнительных добавок каких-либо препаратов;

2) опытная — ОР + «Продукты метаболизма лактобактерий» в соотношении 0,05 мл / 0,5 л H<sub>2</sub>O, которые выпаивали в 3 цикла по 5 дней с интервалом в 7 дней: 1-й цикл — с 3-го по 7-й день; 2-й цикл — с 15-го по 19-й день; 3-й цикл — с 27-го по 30-й день;

3) опытная — ОР + «Продукты метаболизма лактобактерий» в соотношении 0,1 мл / 0,5 л, которые выпаивали в 3 цикла по 5 дней с интервалом в 7 дней: 1-й цикл — с 3-го по 7-й день; 2-й цикл — с 15-го по 19-й день; 3-й цикл — с 27-го по 30-й день.

За период выращивания в 42 дня у молодняка птицы 2-й опытной группы была максимально высокая средняя живая масса — 3308,10 г против 2953,90 г в контроле ( $P \leq 0,001$ ), которая превышала контрольные показатели на 12,0% ( $P < 0,001$ ). В 3-й опытной группе средняя живая масса в конце периода выращивания (42 дня) составила 3211,10 г ( $P \leq 0,01$ ), или 108,7%, что на 8,7% больше контрольной группы. Соответственно среднесуточный прирост 3-й опытной группы был выше контрольных показателей на 6%, или на 8,82 процентных пункта (п.п.). Кислотное число жира в трех подопытных группах составляло от  $0,65 \pm 0,03$  до  $0,69 \pm 0,01$  мг КОН, а в контроле —  $0,70 \pm 0,03$  мг КОН. Показатели перекисного числа йода колебались в двух опытных группах от  $0,007 \pm 0,05$  до  $0,008 \pm 0,04\%$  йода (при норме до 0,01) и не превышали допустимых значений. Это свидетельствует о положительном влиянии изучаемой композиции на процессы жирового обмена, а также на доброкачественность мяса: показатель рН мяса находился в допустимых пределах — от  $5,80 \pm 0,08$  до  $5,88 \pm 0,07$ ; относительная биологическая цен-

ность во 2-й опытной группе была  $100,1 \pm 0,02$ , а в третьей —  $100,2 \pm 0,5$ . Схема введения «Продуктов метаболизма лактобактерий» в рацион цыплят-бройлеров 2-й группы признана за оптимальную: 0,05 мл / 0,5 л  $H_2O$ , при выпаивании в 3 цикла по 5 дней подряд, с интервалом в 7 дней: 1-й цикл — с 3-го по 7-й день; 2-й цикл — с 15-го по 19-й день; 3-й цикл — с 27-го по 30-й день выращивания цыплят-бройлеров.

Применение пробиотика «Биофлор» из расчета 0,1 мл/гол. начиная с суточного возраста 1 раз в день в течение первых 5 дней в 4 цикла с интервалом 7 дней до конца периода выращивания показало в опытных группах превосходство над контрольной по живой массе на 2,6–4,7%. Затраты кормов на 1 кг прироста сократились на 2,6–4,6%. Сохранность птиц в опытных группах составила 96,1 и 99,3% против 92,8 и 93% в контроле и повысилась на 3,5 и 6,7%. В результате проведенных бактериологических исследований микроорганизмы из подопытных образцов мяса и внутренних органов не выделены. Физико-химические показатели опытных и контрольных групп достоверных различий не имеют и находятся в пределах нормы. Проявлений токсичности для инфузорий не установлено.

Лечебно-профилактический препарат «Биококтейль-НК» представляет собой смесь живых кишечных палочек, биологически активных веществ среды культивирования и прополиса. Для проведения испытаний в птичнике № 13 (СООО «Витконпродукт» Шумилинская бройлерная птицефабрика) в суточном возрасте было сформировано 4 группы птиц в количестве 2000 голов (1 контрольная и 3 опытные) по 500 голов в каждой цыплят-бройлеров кросса «Кобб 500». Птица 1-й группы служила контролем. Цыплятам-бройлерам 2-й опытной группы задавали «Биококтейль-НК» с питьевой водой из расчета 0,1–0,2 мл/гол. (10,0–20,0 млн микробных тел) начиная с суточного воз-

раста в течение первых 5 дней выращивания (I цикл). Птице 3-й опытной группы задавали «Биококтейль-НК» в дозе 0,1–0,2 мл/гол. (10,0–20,0 млн микробных тел) начиная с суточного возраста в течение первых 5 дней в 3 цикла с интервалом в 7–10 дней до конца периода выращивания: в 1–5-й дни жизни (I цикл), в 13–17-й дни жизни (II цикл), в 28–32-й дни жизни (III цикл). Птице 4-й опытной группы задавали препарат в дозе 0,1–0,2 мл/гол. (10,0–20,0 млн микробных тел) начиная с суточного возраста в течение первых 5 дней в 4 цикла с интервалом 7 дней до конца периода выращивания. Применение препарата «Биококтейль-НК» позволило увеличить интенсивность роста цыплят-бройлеров на 3,5%, снизить затраты корма на производства 1 кг прироста живой массы на 4,95%, повысить сохранность молодняка птиц на 3,4% и снизить падеж птиц до 1,6% (при технологической норме 5%). Проведенные расчеты показали, что введение препарата «Биококтейль-НК» в рацион бройлеров экономически оправдано, так как сохранность молодняка в 4-й опытной группе повысилась на 3,4%, в третьей — на 2,5%, во второй — на 1,3%. Показатели биологической ценности мяса опытной и контрольной групп достоверных отличий не имели. Проявлений токсичности для инфузорий не установлено (в норме количество измененных форм клеток инфузорий составляет от 0,1% до 1%). Следовательно, применение пробиотика «Биококтейль-НК» отрицательно на биологическую ценность и безвредность продукта не влияет. Мясо птицы по органолептическим, физико-химическим и бактериологическим показателям, а также биологической ценности и безвредности превосходило мясо контрольной группы.

**Композиционная форма с продуктами пчеловодства «Аргобифилак»** создана на основе продуктов метаболизма лакто- и бифидобактерий, водорастворимого экстракта прополиса, наночастиц и коллоидных частиц серебра и ме-

ди. Фармакологические свойства пробиотика определяют находящиеся в нем продукты обмена веществ культуры лакто- и бифидобактерий. Они обладают антагонистической активностью в отношении широкого спектра патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, включая эшерихии, сальмонеллы, протей, стафилококки, клебсиеллы и другие виды. Применяют в кормлении птицы для повышения продуктивности, естественной резистентности организма, сохранности молодняка, улучшения поедаемости и усвояемости питательных веществ корма, а также при технологических стрессах. На основании проведенных нами исследований установлено, что композиционную форму с продуктами пчеловодства «Аргобифилак» следует выпаивать цыплятам-бройлерам по схеме второй опытной группы, а именно: в 3 цикла по 7 дней подряд из расчета 0,1 мл на 0,5 л питьевой воды по следующей схеме: 1-й цикл: с 3-го по 7-й день — выпаивание «Аргобифилака»; с 8-го по 14-й день — выпаивание не производят; 2-й цикл: с 15-го по 19-й день — выпаивание «Аргобифилака»; с 20-го по 26-й день — выпаивание не производят; 3-й цикл: с 27-го по 30-й день — выпаивание «Аргобифилака». При оценке качества полученных из подопытных образцов тушек было определено, что мясо цыплят-бройлеров 2-й и 3-й опытных групп согласно СТБ 1945-2010 «Мясо птицы. Общие технические условия» соответствует I сорту. В 1-й контрольной группе 80% тушек были отнесены к I сорту и 20% тушек ко II сорту. Убойный выход в контроле составил 69,14%, во 2-й опытной группе — 73,38%, а в 3-й — 73,19%. Самый высокий убойный выход наблюдался во 2-й опытной группе и на 0,19 п.п. превосходил 3-ю опытную группу, а контрольную — на 4,24 п.п. Допускается применение «Аргобифилака» в комплексе с симптоматическими и антибактериальными средствами. Применение «Аргобифилака» положительно влияет на качество птице-

водческой продукции. После его применения мясо птицы используется без ограничений.

**Композиционная форма с продуктами пчеловодства «Флавойодин»** состоит из прополетина — 5%, апимикса (водных экстрактов мервы, трутневого гомогената, воска, перги) — 5%, йодополимерного комплекса — 0,1%. Комплекс способствует восстановлению угнетенных звеньев клеточного, гуморального иммунитета и обмена веществ у больных животных до уровня здоровых. Композиционную форму с продуктами пчеловодства «Флавойодин» применяют в кормлении сельскохозяйственной птицы с целью повышения продуктивности, естественной резистентности организма, сохранности молодняка, улучшения поедаемости корма и усвояемости его питательных веществ, а также при технологических стрессах. На основании проведенных нами исследований установлено, что композиционную форму с продуктами пчеловодства «Флавойодин» следует выпаивать цыплятам-бройлерам в 3 цикла по 7 дней подряд из расчета 0,1 мл на 0,5 л питьевой воды по следующей схеме: 1-й цикл: с 3-го по 7-й день — выпаивание «Флавойодина»; с 8-го по 14-й день — выпаивание не производят; 2-й цикл: с 15-го по 19-й день — выпаивание «Флавойодина»; с 20-го по 26-й день — выпаивание не производят; 3-й цикл: с 27-го по 30-й день — выпаивание «Флавойодина». Введение в рацион цыплят-бройлеров препарата «Флавойодин» из расчета 0,1 мл / 0,5 л H<sub>2</sub>O способствует увеличению живой массы на 14–15%, среднесуточного прироста на 13,12%, повышению сохранности на 7,24% и снижению падежа птиц до 2,48%. Затраты кормов на 1 кг прироста живой массы составляют 1,84 кг. Живая масса в 42 дня равнялась 2830 кг. Допускается применение «Флавойодина» в комплексе с симптоматическими и антибактериальными средствами. Применение «Флавойодина» положительно влияет на качество птицеводческой продук-

ции. После его применения мясо птицы используется без ограничений.

**Композиционная форма с продуктами пчеловодства «Экодиар»** состоит из прополетина — 5%, апимикса (водных экстрактов мервы, трутневого гомогената, воска, перги) — 5%, водного экстракта живицы — 5%. На основании проведенных нами исследований установлено, что композиционную форму с продуктами пчеловодства «Экодиар» следует выпаивать цыплятам-бройлерам в 3 цикла по 7 дней подряд из расчета 0,1 мл на 0,5 л питьевой воды по следующей схеме: 1-й цикл: с 3-го по 7-й день — выпаивание «Экодиар»; с 8-го по 14-й день — выпаивание не производят; 2-й цикл: с 15-го по 19-й день — выпаивание «Экодиар»; с 20-го по 26-й день — выпаивание не производят; 3-й цикл: с 27-го по 30-й день — выпаивание «Экодиар». Допускается применение «Экодиара» в комплексе с симптоматическими и антибактериальными средствами. Применение «Экодиара» положительно влияет на качество птицеводческой продукции. После его применения мясо используются без ограничений. «Экодиар» безвреден и не требует применения специальных мер защиты животных и человека. Композиционную форму с продуктами пчеловодства «Экодиар» применяют в кормлении птицы для повышения продуктивности, естественной резистентности организма, сохранности молодняка, улучшения поедаемости и усвояемости питательных веществ корма, а также при технологических стрессах.

**Комплексная витаминно-минеральная добавка Т2** (рабочее название «**Віомах–Миг**») включает в себя: пробиотик «Муцинол», биологически активные компоненты — углеводы, витамины (А, D, E), поваренная соль, биоэлементы (монокальций фосфат, сера, магний и цинк сернокислый, железный и медный купорос, марганец сернокислый, кобальт, калий йодистый, натрий), ферменты, мел

кормовой в количествах и соотношениях, необходимых для обеспечения биохимической потребности организма, микробиологический белок, фосфолипиды рапса. Опытную цыплят-бройлеров содержали в одном помещении напольно. Кормовая добавка давалась согласно схеме опыта: 1-я группа — контроль (основной рацион без кормовой добавки); 2-я опытная — кормовая добавка (0,1 г/кг комбикорма); 3-я опытная — кормовая добавка (0,2 г/кг комбикорма); 4-я опытная — кормовая добавка (0,3 г/кг комбикорма); 5-я опытная группа — кормовая добавка (0,4 г/кг комбикорма). Применение комплексной витаминно-минеральной добавки «Віомах–Миг» экономически оправдано. Сохранность поголовья по сравнению с показателями контрольной группы увеличилась от 2,5 до 6,25 п.п. Средняя живая масса в убойном возрасте, соответственно, как и среднесуточные приросты, были выше контрольных показателей на 2,47–16,81% ( $P \leq 0,001$ ). Расход корма на 1 кг прироста живой массы сократился на 0,10–0,32 кг. Таким образом, применение комплексной кормовой витаминно-минеральной добавки «Віомах–Миг» оказывает положительное влияние на сохранность и среднесуточные приросты цыплят-бройлеров при наименьших затратах комбикорма.

### **Заключение**

1. В ходе экспериментальных исследований было установлено, что введение в рацион птицы биологически активных добавок повышает сохранность цыплят-бройлеров, среднюю живую массу, среднесуточный прирост, нормализует обмен веществ у молодняка, улучшает качества мяса; происходит повышение рентабельности производства.
2. Введение в рацион исследуемых стимуляторов приводит к снижению отрицательных последствий при техно-

логических стрессах, возможных нарушениях зоотехнических параметров, изменениях в рационе.

3. Результаты исследований могут быть использованы в птицеводстве для повышения естественной резистентности, сохранности и продуктивности цыплят-бройлеров. Применение препаратов может служить альтернативой использованию антибиотиков и способствовать повышению качества продукции птицеводства.

### Список литературы

1. Гласкович М.А. Ветеринарно-санитарные показатели мяса птицы при включении в рацион нанобиокорректора «ВитоЛАД» / М.А. Гласкович, П.И. Пахомов, Е.А. Капитонова, Т.В. Бондарь, Н.В. Бабахина // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал / УО ВГАВМ. — Витебск: УО ВГАВМ, 2010. — Т. 46, вып. 1, ч. 2. — С. 111–114.

2. Гласкович М.А. Профилактика технологических стрессов в бройлерном птицеводстве при введении в рацион экологически чистых препаратов / М.А. Гласкович // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал / УО ВГАВМ. — Витебск: УО ВГАВМ, 2009. — Т. 45, вып. 1, ч. 2. — С. 15–18.

3. Гласкович М.А. Влияние препарата «Вигозин» на общеклинические показатели крови при кормлении цыплят-бройлеров / М.А. Гласкович // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал / УО ВГАВМ. — Витебск: УО ВГАВМ, 2008. — Т. 44, вып. 2, ч. 2. — С. 55–59.

4. Гласкович М.А. Фагоцитарная активность псевдоэозинофилов крови у цыплят-бройлеров при введении в рацион «Апистимулина-А» / М.А. Гласкович, В.А. Медведский, П.А. Кра-

сочко // Исследования молодых ученых в решении проблем животноводства: Материалы III Международной научно-практической конференции (г. Витебск, 30 мая 2003 года) / Витебская государственная академия ветеринарной медицины. — Витебск, 2003. — С. 53–54.

5. Гласкович М.А., Папсуева М.И. Применение кормовой добавки «БИОМАХ–МИГ» в рационах цыплят-бройлеров / М.А. Гласкович, М.И. Папсуева // Ветеринарное дело: производственно-практическое рекламное издание, 2018. — № 8 (86). — С. 5–9.

6. Гласкович М.А. Влияние препарата «Биококтейль-НК» на биохимические показатели крови цыплят-бройлеров кросса «Кобб-500» / М.А. Гласкович, В.М. Голушко // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал / УО ВГАВМ. — Витебск: УО ВГАВМ, 2008. — Т. 44, вып. 1. — С. 89–92.

7. Гласкович М.А. Разработка и внедрение в ветеринарную практику новых комплексных препаратов / М.А. Гласкович, С.А. Гласкович, М.И. Папсуева // Ветеринарная медицина на пути инновационного развития: сборник материалов I Международной научно-практической конференции (Гродно, 15–16 декабря 2015 года). — Гродно: ГГАУ, 2016. — С. 151–155.

8. Гласкович М.А. Влияние совместного использования пробиотика «Биофлор» и продуктов пчеловодства на продуктивность и иммунную систему цыплят-бройлеров / М.А. Гласкович, П.А. Красочко // Ветеринарная наука-производству: научные труды / РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С.Н. Вышелесского НАН Беларуси». — Мн., 2005. — Вып. 38. — С. 167–169.

9. Гласкович М.А. Современное состояние и проблемы применения антибиотиков в сельском хозяйстве / Е.А. Капитонова, М.А. Гласкович, П.М. Кузьменко, С.А. Гласкович, Б.Н. Соболев // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал / УО ВГАВМ. — Витебск: УО ВГАВМ, 2011. — Т. 47, вып. 2, ч. 1. — С. 284–288.

10. Гласкович М.А. Иммуностимуляторы природного происхождения в птицеводстве / М.А. Гласкович // Наше сельское хозяйство. — 2010. — № 10. — С. 57–61.

11. Гласкович М.А. Роль биологически активных веществ в повышении эффективности полноценного кормления птицы / М.А. Гласкович // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства: материалы XII Международной научно-практической конференции, посвященной 75-летию образования кафедры зоогигиены, экологии и микробиологии УО БГСХА. — Горки, 2009. — С. 59–65.

12. Гласкович М.А. Опыт корректировки рационов цыплят-бройлеров в условиях птицефабрик республики Беларусь / М.А. Гласкович, Л.Ю. Карпенко, А.Б. Балькина, А.А. Бахта // Международный вестник ветеринарии (International Bulletin of Veterinary Medicine). — СПб.: ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2018. — № 1. — С. 33–40.

13. Гласкович М.А. Препараты микробного происхождения и их влияние на биологический ресурс цыплят-бройлеров: рекомендации производству / М.А. Гласкович [и др.]. — Горки: БГСХА, 2017. — 92 с.

14. Гласкович М.А. Рекомендации по использованию иммуностимулятора «Апистимулин-А» для выращивания сельскохозяйственной птицы / М.А. Гласкович [и др.] // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал / УО ВГАВМ. — Витебск: УО ВГАВМ, 2008. — 20 с.

15. Гласкович М.А. Особенности нормированного кормления сельскохозяйственной птицы / М. Гласкович, С. Гласкович, В. Юркевич, Ю. Воронович, М. Папсуева // Ветеринарное дело: производственно-практическое рекламное издание. — 2016. — № 6 (60). — С. 25–29.

## Use of probiotics to increase performance in poultry

*Karpenko L.Yu.,<sup>1</sup> Glaskovich C.A.,<sup>2</sup> Glaskovich M.A.,<sup>2</sup>  
Yurkevich V.V.,<sup>2</sup> Vertinskaya-Filipenko A.O.,<sup>2</sup> Papsueva M.I.<sup>3</sup>*

<sup>1</sup> Federal State-Funded Educational Institution of Higher Education “St. Petersburg State University of Veterinary Medicine”, St. Petersburg, Russian Federation;

<sup>2</sup> Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus;

<sup>3</sup> EE “Belarusian State Agricultural Academy”, Gorki, the Republic of Belarus.

### Abstract

In the article, the results of experiments are reported on studying effects of immunobiological preparations on performance and clinical biochemical factors in broiler chickens. It was established that their use in broiler chickens promoted raising the biological value of meat and the economic efficiency of broiler production.

Key words: broiler chickens, feed conversion, feed supplement, probiotics, metabolic products of lacto- and bifidobacteria, water-soluble propolis extract, nano- and colloidal particles of silver, body weight, daily body weight gain, safety

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ В РАЦИОНАХ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ ПРОДУКТОВ МЕТАБОЛИЗМА БИФИДОБАКТЕРИЙ

Юркевич В.В.,<sup>1</sup> Гласкович М.А.,<sup>1</sup> Карпенко Л.Ю.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь;

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация.

E-mail: mglaskovich@mail.ru

### Аннотация

Очевидно, что в настоящее время человечество находится в преддверие достаточно серьезной проблемы обеспечения населения планеты продуктами питания, которую необходимо решать, используя современные достижения науки и практики. Усилия и ресурсы многих передовых стран направлены на решение этой проблемы. В настоящих исследованиях показано, что использование продуктов метаболизма бифидобактерий способствует значительному увеличению сохранности во 2-й и 3-й опытных группах. В 1-й контрольной группе сохранность на 42-е сутки выращивания составила 82,6%, во 2-й и 3-й опытных группах — 95,6%. Разница в сохранности между опытными группами и контрольной группой составила 15,8% (во 2-й и 3-й группах). За 42-дневный период выращивания живая масса цыплят-бройлеров 2-й опытной группы составила 3162,80 г ( $P \leq 0,005$ ) в сравнении с контрольной группой (2953,90 г), что было на 7,07% ( $P < 0,05$ ) больше. Наибольшая среднесуточный прирост живой массы по сравнению с контрольной группой наблюдалась в 3-й опытной группе — 3298,00 г ( $P \leq 0,001$ ), что было на 11,65% больше, чем

в контрольной группе. Соответственно среднесуточный привес в 3-й опытной группе был выше, чем в контроле, на 11,65 п.п. Затраты корма на 1 кг прироста живой массы к концу периода выращивания в контрольной группе составили 1,88 кг, а во 2-й и 3-й опытных группах — 1,85 и 1,83 кг, соответственно, что означает процентное снижение этого показателя во 2-й и 3-й опытных группах на 13,55 и 14,49 п.п., соответственно. Таким образом, введение в рацион продуктов метаболизма бифидобактерий положительно сказалось на выживаемости и среднесуточном привесе цыплят-бройлеров при минимальных затратах корма. Оптимальная схема внесения добавки «Бифидум-бактерин жидкий» включает дозировку в 10 мл питьевой воды на 100 голов один раз в сутки до конца вегетационного периода.

Ключевые слова: цыплята-бройлеры, конверсия корма, бифидобактерии, живая масса, среднесуточный прирост, сохранность

### **Введение**

Бифидобактерии являются наиболее важным компонентом нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта животных и человека как по представительству в составе микробиоценозов, так и по полифункциональной роли в поддержании гомеостаза макроорганизма [1, 3, 10, 15, 16]. Бифидобактерии стимулируют синтез иммуноглобулинов, способствуют уменьшению проницаемости сосудистых и тканевых барьеров для токсинов патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, стимулируют лимфоидный аппарат.

Бифидобактерии широко известны как классические пробиотические микроорганизмы и сегодня набирают всё большую популярность. Эти микроорганизмы заселяют кишечник суточных цыплят-бройлеров и, вступив с ним в

устойчивый симбиоз, сопровождают, а на протяжении всего цикла выращивания оказывают благотворное влияние на его здоровье и рост [5, 6, 7, 8, 9, 17]. Эти удивительные микроорганизмы обладают огромным биотехнологическим потенциалом и сегодня широко используются в медицине, ветеринарии, пищевой и фармацевтической промышленности, сельском хозяйстве и других областях народного хозяйства [2, 3, 4].

Благотворное влияние бифидобактерий на организм хозяина велико и разнообразно. Они участвуют в ферментативных процессах, выполняют витаминообразующую функцию (синтез витаминов группы В, витамина К, фолиевой и никотиновой кислот), улучшают показатели белкового, липидного и минерального обмена, так как усиливают гидролиз белков, сбраживают углеводы, омыляют жиры, растворяют клетчатку, стимулируют перистальтику кишечника, способствуют нормальному очищению кишечника, а также способствуют синтезу незаменимых аминокислот, лучшему усвоению солей кальция, витамина D, обладают антианемическим, антирахитическим и антиаллергическим действием, стимулируют лимфоидный аппарат [11, 12, 13, 14].

### **Материалы и методы исследований**

Длительность опытов должна быть таковой, что бы в них можно было получить объективные и исчерпывающие данные по изучаемому вопросу. Кратковременные опыты могут приводить к ошибочным выводам. Объективность полученных в опыте результатов будет высокой только в том случае, если они повторяются во второй раз, третий раз и т.д. Повторные опыты можно проводить в одни и те же сроки в течение двух смежных лет или в разные сезоны года. Только в этом случае можно утверждать, что влияние и степень влияния изучаемого фактора или кормовой до-

бавки и препарата имели место. В связи с тем, что стоимость цыплят-бройлеров, покупка комбикормов, содержание птицы в лаборатории экономически высока, нами было принято решение содержать птицу до 63 дней выращивания, а не 42 дня. Поэтому для чистоты эксперимента с 03.06.2019 г. по 16.08.2019 г. в виварии УО ВГАВМ был проведен длительный лабораторно-экспериментальный опыт по изучению эффективности использования препарата «Продукты метаболизма бифидобактерий», получаемого при производстве заквасок (Институт мясо-молочной промышленности, г. Минск), и его влияния на основные зоотехнические показатели цыплят-бройлеров кросса «Росс 308».

Препарат **«Продукты метаболизма бифидобактерий»** представляет собой жидкую микробную массу бифидобактерий, являющихся естественным защитным фактором организма человека и животных, который стабилизирует количественное соотношение анаэробной и аэробной аутофлоры слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта. «Продукты метаболизма бифидобактерий» содержат бифидобактерии, которые в норме должны составлять 90% от всего микробного пейзажа толстого кишечника животного и определять его здоровье и иммунный статус. В производимом фармакологическом продукте бактерии находятся в живой биологически активной форме и поэтому начинают свою жизнедеятельность в кишечнике сразу после приема препарата. Данная особенность отличает жидкую форму пробиотика от сухой, в которой бактерии находятся в глубоком анабиозе, и переход к активному физиологическому состоянию у них наступает через 8–10 часов после приема внутрь. За это время большая их часть выводится из организма, в результате чего значительно уменьшается эффективность препарата при синдроме диареи.

Взвешивание цыплят-бройлеров проводилось еженедельно на весах SALTER. Цыплят в количестве 10 голов отбирали методом случайной выборки, а полученные результаты распространялись на всю группу. В качестве сравнительно-расчетных данных были использованы показатели контрольной группы.

Кормление и содержание птицы было нормированным, кормами, изготовленными ОАО «Витебской бройлерной птицефабрики»: комбикорм для цыплят-бройлеров в возрасте 0–10 дней в виде крупки (КД-П 5-1-427); комбикорм для цыплят-бройлеров в возрасте 11–24 дня в виде крупки (КД-П 5-2-430); комбикорм для цыплят-бройлеров от 25 дней и до убоя в виде гранул (КД-П 6-1-420).

Для характеристики продуктивных качеств цыплят-бройлеров были изучены общепринятые признаки по мясной продуктивности. Динамику изменения живой массы цыплят-бройлеров учитывали путем взвешивания контрольной и двух опытных групп начиная с суточного возраста — в 7, 14, 21, 28, 35, 42 и 63 дня. На основании полученных данных по живой массе в различные возрастные периоды рассчитали абсолютный, относительный и среднесуточный приросты.

Оценку использования комбикормов проводили согласно ведомости расхода комбикормов по группам. Затраты корма на 1 кг прироста находили как отношение затрат корма на все поголовье к живой массе цыплят-бройлеров в 42 и 64 дня.

Для проверки достоверности оценки полученных результатов использовали критерий достоверности; он позволяет в каждом конкретном случае выяснить, удовлетворяют ли полученные результаты нашей гипотезе. Цифровой материал экспериментов подвергнут математико-статистической обработке на персональном компьютере методами вариационной статистики с использованием про-

граммы Microsoft Excel 2003; различия считали достоверными при  $P \leq 0,05$ ,  $P \leq 0,01$  и  $P \leq 0,001$ .

Препарат «**Бифидумбактерин жидкий**» представляет собой жидкую микробную массу бифидобактерий, являющихся естественным защитным фактором организма, который стабилизирует количественное соотношение анаэробной и аэробной аутофлоры слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта. Бифидобактерии, продуцируя уксусную и молочную кислоты, создают кислую среду, способствуют всасыванию кальция, железа, витамина D, синтезируют витамины группы B и K, нормализуют перистальтику кишечника, препятствуют количественному увеличению патогенной, гнилостной и газообразующей микрофлоры. С точки зрения инфекционной патологии особое значение имеет высокая антагонистическая активность бифидобактерий к патогенным бактериям.

«Бифидумбактерин жидкий» содержит бифидобактерии, которые в норме должны составлять 90% от всего микробного пейзажа толстого кишечника животного и определять его здоровье и иммунный статус. В производимом НП ООО «Бифико» (Республика Беларусь) препарате бактерии находятся в живой биологически активной форме и поэтому начинают свою жизнедеятельность в кишечнике сразу после приема препарата. Данная особенность отличает жидкую форму пробиотика от сухой, в которой бактерии находятся в глубоком анабиозе. Переход к активному физиологическому состоянию у них наступает через 8–10 ч после приема внутрь. За это время большая их часть выводится из организма, в результате чего значительно уменьшается эффективность препарата при синдроме диареи. Кроме того, жидкий пробиотик содержит продукты жизнедеятельности бактерий, чрезвычайно полезные для организма животного: незаменимые аминокислоты, органиче-

ские кислоты и интерферонстимулирующие вещества. Эти достоинства значительно превалируют над единственным недостатком жидкого пробиотика — необходимостью соблюдения температурного режима хранения. Кроме того, «Бифидумбактерин жидкий» в 5 раз дешевле сухих аналогов.

Использование «Бифидумбактерина жидкого» позволяет сохранить поголовье сельскохозяйственной птицы, избавиться от кишечных инфекций, избежать применения дорогостоящих антибиотиков, химиопрепаратов и других лекарственных средств, что особенно важно, так как продукция птицеводства используется в пищу человека.

Препарат обладает высокой антагонистической активностью и по эффективности действия не уступает некоторым антибиотикам и химиотерапевтическим средствам. К тому же он не оказывает губительного действия на нормальную микрофлору пищеварительного тракта, не загрязняет продукты животноводства, т.е. является экологически чистым препаратом.

**Основной эффект при использовании препарата «Бифидумбактерин жидкий» заключается в высокой антагонистической активности против патогенной микрофлоры; нормализации кишечного биоценоза и улучшении усвояемости корма; защите от инфицирования патогенными и условно-патогенными микроорганизмами; усилении иммунного статуса животных и птицы; стимуляции роста и развития; профилактике авитаминоза.**

### **Результаты исследований**

В ходе лабораторных опытов было сформировано три группы по 23 головы в каждой. Схема выпойки представлена в табл. 1.

Проведенные исследования показали, что введение в рацион цыплят-бройлеров «Продуктов метаболизма бифи-

добактерий» оправдано. При более детальном анализе данных показателей обнаружено, что в середине технологического периода (28 дней) живая масса в контроле была 1485,40 г, в 2-й опытной группе — 1575,20 г и в 3-й опытной группе — 1646,70 г ( $P \leq 0,05$ ).

Таблица 1

**Схема выпойки «Продуктов метаболизма бифидобактерий»**

№ группы	Схема выпойки продуктов метаболитов
1 контроль (23 гол.)	Основной рацион (ОР) без дополнительных добавок каких-либо препаратов
2 опытная (23 гол.)	ОР + 0,05 мл «Продукты метаболизма бифидобактерий» / 0,5 л H <sub>2</sub> O; выпаивали в 3 цикла по 5 дней с интервалом в 7 дней: 1 цикл — с 3-го по 7-й день; 2 цикл — с 15-го по 19-й день; 3 цикл — с 27-го по 30-й день
3 опытная (23 гол.)	ОР + 0,1 мл / 0,5 л H <sub>2</sub> O «Продукты метаболизма бифидобактерий»; выпаивали в 3 цикла по 5 дней с интервалом в 7 дней: 1 цикл — с 3-го по 7-й день; 2 цикл — с 15-го по 19-й день; 3 цикл — с 27-го по 30-й день

Средняя живая масса в процентном отношении в середине технологического периода выращивания (28 дней) в контроле была 100%, во 2-й опытной группе — 106% и в 3-й опытной группе — 110,86% ( $P \leq 0,05$ ), т.е. увеличилась по сравнению с контрольной группой на 6% (2-я опытная) и на 10,86% (3-я опытная группа). За период выращивания в 42 дня у молодняка птицы 2-й опытной группы живая масса составляла 3162,80 г ( $P \leq 0,005$ ), или 107% по сравнению с контролем (2953,90 г), т.е. превышала контрольные показатели на 7% ( $P < 0,05$ ). В 3-й опытной группе наблюдалась максимально высокая средняя живая масса по срав-

нению с контрольной группой — 3298,00 г ( $P \leq 0,001$ ), или 111,65%, т.е. на 11,65% больше контрольной группы. Соответственно среднесуточный прирост 3-й опытной группы был выше контрольных показателей на 11,65 п.п.

При детализированном анализе таких важных показателей, как абсолютный, среднесуточный и относительный приросты, мы видим, что в 1-й контрольной группе они составляли 2899,0 г (абсолютный), 69 г (среднесуточный) и 48,2 г (относительный); во 2-й опытной группе — 3112,80 г (абсолютный), 74,11 г (среднесуточный) и 48,44 г (относительный); в 3-й опытной группе — 3244,00 г (абсолютный), 77,24 г (среднесуточный) и 48,39 г (относительный). Необходимо отметить, что у цыплят-бройлеров двух опытных групп все показатели были выше контрольной группы: абсолютного прироста — на 213,8 г, или 7,37% (2-я группа), и на 345 г, или 11,90% (3-я опытная группа); среднесуточного прироста — на 5,09 г, или 7,37% (2-я группа), и на 8,22 г, или 11,90% (3-я группа); относительного прироста — на 0,26 г, или 0,53% (2-я группа), и на 0,21 г, или 0,43% (3-я группа).

Конверсия корма является отношением количества затраченной кормовой смеси к единице полученной продукции. Таким образом, получается, что чем больше данный конверсионный коэффициент, тем больше кормовой смеси нужно использовать, чтобы получить птицеводческую продукцию. Низкий процент конверсионного коэффициента говорит о том, что используются кормовые добавки высокого качества. Коэффициент конверсии кормовых смесей зависит еще и от некоторых физиологических процессов, происходящих в организме птицы, которые выражаются перевариваемостью и усвояемостью питательных веществ. На эти процессы оказывают влияние такие факторы, как составляющие рациона и свойства кормовых смесей. Поэтому, чтобы снизить коэффициент кормовых

смесей, необходимо кормить птицу качественными комбикормами.

Затраты корма на 1 кг прироста живой массы к концу периода выращивания в контрольной группе составили 1,88 кг, во 2-й опытной группе — 1,85 кг, а в 3-й опытной группе — 1,83 кг. В процентном соотношении это выражено следующими цифрами: во 2-й опытной группе этот показатель уменьшился на 13,55 п.п., а в 3-й — на 14,5 п.п.

Таким образом, введение в рацион «Продуктов метаболизма бифидобактерий» оказывает положительное влияние на сохранность и среднесуточные приросты цыплят-бройлеров при наименьших затратах комбикорма.

Данные выращивания цыплят-бройлеров в 63 дня также подтверждал нашу гипотезу о положительном влиянии «Продуктов метаболизма бифидобактерий»: средняя живая масса в контроле составила 3707,80 г (100,00%), во 2-й опытной группе — 4138,10 г ( $P \leq 0,001$ ), или 111,61%, в 3-й опытной группе — 4350,70 г ( $P \leq 0,001$ ), или 117,34%, т. е. с превышением контроля на 11,61 и 17,34% соответственно.

Абсолютный, среднесуточный и относительный прирост в 1-й контрольной группе составил: 3652,90 г (абсолютный), 57,98 г (среднесуточный) и 48,54 г (относительный); во 2-й опытной группе — 4088,10 г (абсолютный), 64,89 г (среднесуточный) и 48,81 г (относительный); в 3-й опытной группе — 4296,70 г (абсолютный прирост), 68,20 г (среднесуточный) и 48,77 г (относительный). У цыплят-бройлеров двух опытных групп все показатели были выше контрольной группы: абсолютного прироста — на 435,2 г, или 11,91% (2-я группа), и на 643,8 г, или 17,62% (3-я опытная группа); среднесуточного прироста — на 6,91 г, или 11,91% (2-я группа) и на 10,22 г, или 17,62% (3-я группа); относительного прироста — на 0,27 г, или 0,5% (2-я группа), и на 0,23 г, или 0,47% (3-я группа).

Конверсия корма составила 2,14 кг в контроле, 2,14 кг в 2-й опытной группе и 2,12 кг в 3-й опытной группе, т.е. на 63-е сутки она так же понижалась.

При патологоанатомическом вскрытии трупов цыплят первой (контрольной) группы (4 гол., 17,4%) были установлены изменения, характерные для кормового токсикоза и нарушения обмена веществ: острая венозная гиперемия — 4,35% (1 гол.), жировая дистрофия печени — 4,35% (1 гол.), зернистая дистрофия почек — 4,35% (1 гол.), зернистая дистрофия миокарда — 4,35% (1 гол.). Во 2-й опытной группе таких заболеваний не наблюдалось, процент падежа молодняка птицы составил 4,35% (1 гол.) из-за нарушения обмена веществ (4,35%, 1 гол.). В 3-й опытной группе процент падежа молодняка птицы составил 4,35% по причине травматизма (4,35%, 1 гол.).

Таким образом, проведенные исследования показали, что введение в рацион цыплят-бройлеров «Продуктов метаболизма бифидобактерий» оправдано, так как падеж цыплят-бройлеров во второй опытной группе снизился на 13,05 п.п. и в третьей также на 13,05 п.п.

В европейской практике для сравнения результатов выращивания птицы используют Европейский показатель эффективности выращивания цыплят-бройлеров, который отражает такие важные показатели, как сохранность поголовья, средняя живая масса, конверсия корма и срок откорма бройлеров. Известно, что при выполнении нормативных показателей индекс эффективности откорма бройлеров для современных кроссов, к которым относится «Росс 308», должен быть на уровне 300 и выше. Наиболее эффективное и экономичное выращивание цыплят-бройлеров происходило в третьей опытной группе, где европейский показатель эффективности выращивания составил 410,44 пункта; во второй он был равен 389,35 пункта и в контроле — 309,04 пункта. В опытных группах это про-

изошло благодаря повышению живой массы бройлеров и снижению затрат кормов на единицу продукции. Эта тенденция продолжалась и до 63-го дня выращивания опытной птицы: наиболее эффективное и экономичное выращивание цыплят-бройлеров происходило в третьей опытной группе, где европейский показатель эффективности выращивания составил 311,59 пункта; во второй он равнялся 293,59 пункта, в контроле — 227,19 пункта.

Далее рассмотрим действие следующего пробиотика «Бифидумбактерин жидкий» (табл. 2).

*Таблица 2*

**Схема применения пробиотика «Бифидумбактерин жидкий»**

<b>Группа</b>	<b>Рацион цыплят-бройлеров</b>
1-я контрольная	ОР (основной рацион): КД-П-5 — первый период выращивания, КД-П-6 — второй период выращивания
2-я опытная	ОР + «Бифидумбактерин жидкий» с питьевой водой в дозе 10 мл на 100 гол. цыплят-бройлеров 1 раз в день до конца периода выращивания

Расчет количества корма проводили по результатам предварительного еженедельного взвешивания 25% птицы от каждой группы через 5–6 ч после кормления. Взвешивание проводили на весах SALTER методом случайной выборки. Взвешивание каждой птицы осуществляли отдельно, общую массу суммировали и подсчитывали среднюю массу одной головы.

Данные о динамике живой массы и среднесуточных приростов, о затратах корма, падеже и сохранности молодняка птицы представлены в табл. 3. Проведенные расчеты показали, что введение в рацион цыплят-бройлеров пробиотического препарата «Бифидумбактерин жидкий» экономически оправдано, так как сохранность молодняка в

2-й опытной группе составила 98,4% против 88,0% в контроле.

Таблица 3

**Основные показатели молодняка птицы при применении пробиотика «Бифидумбактерин жидкий» ( $M \pm m$ ,  $n=10$ )**

Показатели	Группы	
	1-я контрольная	2-я опытная
Возраст 28 дней		
Средняя живая масса по группе, г	872,49±0,320	1031,67±0,41***
в % к контролю	100,0	118,24
Среднесуточный прирост, г	38,7	40,3***
в % к контролю	100,0	104,13
Возраст 42 дня		
Средняя живая масса по группе, г	2102,8±0,24	2213,6±0,18***
в % к контролю	100,0	105,27
Среднесуточный прирост, г	51,3	56,2***
в % к контролю	100,0	109,36
Количество птиц в начале опыта, гол.	500	500
Сохранность, %	88,0	98,4
Сохранность, гол.	440	492
в % к контролю	100,0	111,81
Падеж, %	12,0	1,6
Падеж, гол.	60	8
Затраты корма на 1 кг прироста за весь период выращивания, кг	2,28	2,13
в % к контролю	100	93,42

\*\*\*  $P < 0,001$ .

За период выращивания у молодняка птицы 2-й опытной группы, получавшего препарат «Бифидумбактерин жидкий» с питьевой водой в дозе 10 мл на 100 гол. цыплят-бройлеров 1 раз в день до конца периода выращивания, был более высоким среднесуточный прирост живой массы как в 28-дневном возрасте (40,3 г против 38,7 г в контроле), так и в 42-дневном возрасте (56,2 г против 51,3 г в контроле). Живая масса цыплят 2-й опытной группы была выше, чем контрольной, на 18,24% и составляла (1031,67±0,41) г в 28-дневном возрасте и (872,49±0,320) г в 42-дневном возрасте.

Положительное влияние препарата «Бифидумбактерин жидкий» на организм цыплят-бройлеров, выражающееся в стимуляции естественных факторов защиты, позволило повысить сохранность молодняка: в 2-й опытной группе пало 8 гол. (1,6%), а в контрольной — 60 гол. (12%).

Применение препарата «Бифидумбактерин жидкий» в рационах цыплят-бройлеров способствует повышению сохранности птиц на 5,4%, средней живой массы цыплят-бройлеров на 3,4% и среднесуточных приростов на 3,6%, что является экономически эффективным.

Применение пробиотика оказывает положительное влияние на однородность поголовья. Конверсия корма достигает более 5,5%. Пробиотический препарат «Бифидумбактерин жидкий» повышает естественную резистентность организма птиц, нормализует кишечное пищеварение цыплят-бройлеров, что стимулирует, в свою очередь, функциональное состояние печени и обменные процессы в организме, в частности обмен белка и минеральных веществ. Препарат в рекомендуемой дозе не вызывает осложнений и не оказывает побочного действия на организм птицы. Противопоказаний к применению препарата не имеется.

## Заключение

Проведенные расчеты показали, что применение препаратов «Продукты метаболизма бифидобактерий» и «Бифидумбактерин жидкий» в птицеводстве оправдано. Выпойка «Продуктов метаболизма бифидобактерий» в 3-й опытной группе признана оптимальной: 0,1 мл / 0,5 л H<sub>2</sub>O, выпаивать в 3 цикла по 5 дней подряд, с интервалом в 7 дней: 1-й цикл — с 3-го по 7-й день; 2-й цикл — с 15-го по 19-й день; 3-й цикл — с 27-го по 30-й день выращивания цыплят-бройлеров. Оптимальным режимом применения пробиотика «Бифидумбактерин жидкий» на цыплятах-бройлерах является выпаивание 1 раз в день с питьевой водой в дозе 10 мл на 100 гол. ежедневно в течение всего периода выращивания.

## Список литературы

1. Гласкович М.А. Влияние «Апистимулина-А» на естественную резистентность, мясную продуктивность и сохранность цыплят-бройлеров / М.А. Гласкович, А.А. Гласкович, В.М. Голушко, П.А. Красочко // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал / УО ВГАВМ. — Витебск: УО ВГАВМ, 2005. — Т. 41, вып. 2, ч. 3. — С. 47–49.
2. Гласкович М.А. Влияние технологии выращивания на резистентность организма сельскохозяйственной птицы / М.А. Гласкович // Современные технологии сельскохозяйственного производства: Материалы XI Международной научно-практической конференции / Гродненский государственный аграрный университет. — Гродно: УО ГГАУ, 2008. — С. 239–240.
3. Гласкович М.А. Разработка и внедрение в ветеринарную практику новых комплексных препаратов / М.А. Гласкович, С.А. Гласкович, М.И. Папсуева // Ветеринарная медицина на пути инновационного развития: Сборник материалов I Между-

народной научно-практической конференции (Гродно, 15–16 декабря 2015 года). — Гродно: ГГАУ, 2016. — С. 151–155.

4. Гласкович М.А. Современное состояние и проблемы применения антибиотиков в сельском хозяйстве / Е.А. Капитонова, М.А. Гласкович, П.М. Кузьменко, С.А. Гласкович, Б.Н. Соболев // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал / УО ВГАВМ. — Витебск: УО ВГАВМ, 2011. — Т. 47, вып. 2, ч. 1. — С 284–288.

5. Гласкович М.А. Влияние препарата «Биококтейль-НК» на биохимические показатели крови цыплят-бройлеров кросса «Кобб-500» / М.А. Гласкович, В.М. Голушко // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал / УО ВГАВМ. — Витебск: УО ВГАВМ, 2008. — Т. 44, вып. 1. — С. 89–92.

6. Гласкович М.А. Влияние препарата «Вигозин» на общеклинические показатели крови при кормлении цыплят-бройлеров / М.А. Гласкович // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал / УО ВГАВМ. — Витебск: УО ВГАВМ, 2008. — Т. 44, вып. 2, ч. 2. — С. 55–59.

7. Гласкович М.А. Иммуностимуляторы природного происхождения в птицеводстве / М.А. Гласкович // Наше сельское хозяйство. — 2010. — № 10. — С. 57–61.

8. Гласкович М.А. Влияние совместного использования пробиотика «Биофлор» и продуктов пчеловодства на продуктивность и иммунную систему цыплят-бройлеров / М.А. Гласкович, П.А. Красочко // Ветеринарная наука-производству: научные труды / РНИУП «Институт экспериментальной ветеринарии имени С.Н. Вышелесского НАН Беларуси». — Мн., 2005. — Вып. 38. — С. 167–169.

9. Гласкович М.А. Фагоцитарная активность псевдоэозинофилов крови у цыплят-бройлеров при введении в рацион «Апистимулина-А» / М.А. Гласкович, В.А. Медведский, П.А. Красочко // Исследования молодых ученых в решении проблем жи-

вотноводства: Материалы III Международной научно-практической конференции (г. Витебск, 30 мая 2003 года) / Витебская государственная академия ветеринарной медицины. — Витебск, 2003. — С. 53–54.

10. Гласкович М.А. Роль биологически активных веществ в повышении эффективности полноценного кормления птицы / М.А. Гласкович // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства: материалы XII Международной научно-практической конференции, посвященной 75-летию образования кафедры зоогигиены, экологии и микробиологии УО БГСХА. — Горки, 2009. — С. 59–65.

11. Гласкович М.А. Профилактика технологических стрессов в бройлерном птицеводстве при введении в рацион экологически чистых препаратов / М.А. Гласкович // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал / УО ВГАВМ. — Витебск: УО ВГАВМ, 2009. — Т. 45, вып. 1, ч. 2. — С. 15–18.

12. Гласкович М. Особенности нормированного кормления сельскохозяйственной птицы / М. Гласкович, С. Гласкович, В. Юркевич, Ю. Воронович, М. Папсуева // Ветеринарное дело: производственно-практическое рекламное издание. — 2016. — № 6 (60). — С. 25–29.

13. Гласкович М.А. Опыт корректировки рационов цыплят-бройлеров в условиях птицефабрик республики Беларусь / М.А. Гласкович, Л.Ю. Карпенко, А.Б. Балыкина, А.А. Бахта // Международный вестник ветеринарии (International Bulletin of Veterinary Medicine). — СПб.: ФГБОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины, 2018. — № 1. — С. 33–40.

14. Папсуева М.И. Физико-химические показатели, биологическая ценность и безвредность мяса птицы при включении в комбикорма кормовой добавки «БИОМАХ–МИГ» / М.И. Папсуева, науч. рук. М.А. Гласкович // Материалы онлайн-конференции «Развитие аграрной науки в разработках молодых ученых». (20–24 марта 2018 г.) — п. Майский: Издательство ФГБОУ ВО Белгородский ГАУ, 2018. — 231 с. — С.96–105.

15. Гласкович М.А. Препараты микробного происхождения и их влияние на биологический ресурс цыплят-бройлеров: рекомендации производству / М.А. Гласкович [и др.]. — Горки: БГСХА, 2017. — 92 с.

16. Гласкович М.А. Рекомендации по использованию иммуностимулятора «Апистимулин-А» для выращивания сельскохозяйственной птицы / М.А. Гласкович [и др.] // Ученые записки учреждения образования «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»: научно-практический журнал / УО ВГАВМ. — Витебск: УО ВГАВМ, 2008. — 20 с.

17. Гласкович М.А. Технология производства яиц и мяса птицы / М. Гласкович, С. Гласкович, Ю. Воронович, В. Юркевич, М. Папеусева // Ветеринарное дело. — 2015. — № 11 (53). — С. 19–25.

18. Гласкович М.А. Эффективность применения в птицеводстве кормовых добавок различного механизма действия: рекомендации / М.А. Гласкович [и др.]. — Горки: БГСХА, 2019. — 82 с.

## **Experimental justification of using the bifidobacteria metabolism products in the broiler chicken diets**

*Yurkevich V.V.,<sup>1</sup> Glaskovich M.A.,<sup>1</sup> Karpenko L.Yu.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine, Vitebsk, Republic of Belarus;

<sup>2</sup> Federal State-Funded Educational Institution of Higher Education “St. Petersburg State University of Veterinary Medicine”, St. Petersburg, Russian Federation

### **Abstract**

Obviously, there is presently a need to predict occurrence of a rather serious problem of supplying the human population with the foodstuffs that the mankind is obliged to solve using advanced achievements in science and practice. Efforts and resources of many advanced countries are directed toward deci-

sion of this problem. The present studies have shown that the use of bifidobacteria metabolism products contributes to a significant survival rate increase in the 2nd and 3rd experimental groups. In the 1st control group, the survival rate on the 42nd day of growing was 82.6%, and that in the 2nd and 3rd experimental groups 95.6%. The difference in survival rate between the experimental groups and the control group was 15.8% (in 2nd and 3rd groups). During the growing period of 42 days, body weight of broiler chickens in the 2nd experimental group was 3162.80 g ( $P \leq 0.005$ ) and exceeded that in the control group (2953.90 g), or by 7.07% ( $P < 0.05$ ). The highest average daily weight gain as compared to the control group was observed in the 3rd experimental group, 3298.00 g ( $P \leq 0.001$ ), which was 11.65% higher than that in the control group. Accordingly, the average daily gain in the 3rd experimental group was higher than that in the control by 11.65 pp. Feed conversion per 1 kg of body weight gain by the end of the growing period in the control group was 1.88 kg, and that in the 2nd and 3rd experimental groups 1.85 and 1.83 kg, respectively, meaning a percentage reduction of this index in the 2nd and 3rd experimental groups by 13.55 and 14.49 pp, respectively. Thus, the administration of bifidobacteria metabolism products in the diet had a positive effect on the survival rate and average daily weight gain in broiler chickens at the lowest feed conversion. The optimal scheme of supplementing the additive Bifidumbacterin Liquid includes 10 ml drinking water per 100 birds once a day until the end of the growing period.

**Key words:** broiler chickens, feed conversion, bifidobacteria, body weight, daily body weight gain, survival rate

**МОДУЛИРУЮЩИЙ ЭФФЕКТ ГАММА-АМИНОМАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ НА ПОТРЕБЛЕНИЕ КОРМА И ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ ПОТРЕБЛЕНИЯ КОРМА У ПРОМЫШЛЕННЫХ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ, ВЫРАЩИВАЕМЫХ В НОРМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ И УСЛОВИЯХ ТЕПЛОВОГО СТРЕССА**

**Сафаа Э. Абдо,<sup>1</sup> Сехам Эль-Кассас,<sup>2</sup>  
Карима Эль-Наггар,<sup>3</sup> Раша А. Аль-Вакил,<sup>4</sup>  
Абир А.К. Киррелла<sup>5</sup>**

<sup>1</sup> Отдел развития благополучия животных, факультет ветеринарной медицины, Университет Кафр-эш-Шейха, Египет;

<sup>2</sup> Отдел развития благополучия животных, факультет ветеринарной медицины, Университет Кафр-эш-Шейха, Египет;

<sup>3</sup> Отдел питания и ветеринарного клинического питания, факультет ветеринарной медицины, Александрийский университет, Египет;

<sup>4</sup> Отдел а физиологии, факультет ветеринарной медицины, Университет Кафр-эш-Шейха, Египет;

<sup>5</sup> Отдел птицеводства, сельскохозяйственный факультет, Университет Кафр-эш-Шейха, Египет.

E-mail: safaa\_abdo2010@vet.kfs.edu.eg

**Аннотация**

Исследовано влияние добавления гамма-аминомасляной кислоты на показатели роста и экспрессию генов у птицы двух промышленных бройлерных кроссов «Росс 308» и «Кобб 500» в нормальных условиях и условиях теплового стресса. Экспрессия генов оценивалась в работе методом qRT-PCR.

Ключевые слова: qRT-PCR, гамма-аминомасляная кислота, тепловой стресс, бройлеры

## **Введение**

Потребление корма является ключевым фактором, влияющим на показатели роста птицы. Однако стрессовые факторы, такие как тепловой стресс, оказывают неблагоприятное воздействие на потребление корма птицами, влияя на скорость роста.

Настоящее исследование было проведено с целью изучить влияние добавок гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) на показатели роста бройлеров, а также относительную экспрессию мРНК некоторых генов центральных и периферических физиологических сигналов, регулирующих потребление корма, в норме и при тепловом стрессе.

## **Методика исследований**

Всего было использовано 192 трехдневных цыпленка-бройлера обоего пола от двух промышленных кроссов «Росс 308» и «Кобб 500». Птиц разделили на 2 группы: контрольную группу и опытную группу, получавшую ГАМК (из расчета 100 мг на 1 кг корма).

В возрасте 21-го дня каждая группа каждого кросса была случайным образом разделена на две подгруппы: одна подвергалась воздействию теплового стресса ( $33\pm 2^\circ\text{C}$  в течение 5 ч. в день в течение 2 недель), а другая оставалась при термонеutralной температуре ( $24^\circ\text{C}$ ).

Оценку экспрессии генов осуществляли методом qRT-PCR.

## **Результаты исследований и обсуждение**

Как показали результаты исследований, ГАМК значительно увеличивал живую массу, прибавку в весе и потребление корма при нормальных условиях и условиях теплового стресса. Добавка ГАМК значительно модулировала экспрессию генов, связанных с потреблением корма при

тепловом стрессе, уменьшая количество нейропептидов, ингибирующих потребление корма, таких как POMC, лептин, грелин и ССК, и увеличивая экспрессию нейропептидов, стимулирующих потребление корма, таких как AgRP и NPY. Более того, ГАМК значительно изменяет экспрессию генов *FAS* и *ACASA*, что приводит к значительному увеличению содержания жира в брюшной полости у птиц, выращенных в нормальном режиме. Напротив, ГАМК снижает содержание жира у птиц «Кобб 500» и увеличивает его у птиц «Росс 308» в условиях теплового стресса. Следовательно, ГАМК (100 мг/кг корма) является сильным нейромедиатором, стимулирующим потребление корма, и его регулирующие эффекты зависят от кросса бройлеров и температуры в птичнике.

### **The modulatory effect of gamma-aminobutyric acid on feed intake and feed intake genes expression in commercial broilers reared under normal and heat stress conditions**

**Safaa E. Abdo,<sup>1</sup> Seham El-Kassas,<sup>2</sup> Karima El-Naggar,<sup>3</sup>  
Rasha A. Al Wakeel,<sup>4</sup> Abeer A.K. Kirrella<sup>5</sup>**

<sup>1</sup> Genetics and Genetic Engineering, Department of Animal Wealth Development, Faculty of Veterinary Medicine, Kafrelsheikh University, Egypt;

<sup>2</sup> Animal, Poultry and Fish Breeding and Production, Department of Animal Wealth Development, Faculty of Veterinary Medicine, Kafrelsheikh University, Egypt;

<sup>3</sup> Department of Nutrition and Veterinary Clinical Nutrition, Faculty of Veterinary Medicine, Alexandria University, 22758, Egypt;

<sup>4</sup> Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Kafrelsheikh University, Egypt;

<sup>5</sup> Poultry Physiology, Poultry Production Department, Faculty of Agriculture, Kafrelsheikh University, Egypt.

## Abstract

Feed intake (FI) is a key factor that affects poultry growth performance. However, stressors such as heat stress (HS) have adverse effects on bird feed intake, influencing growth rate. This study was conducted to investigate the effects of dietary gamma-aminobutyric acid (GABA) supplementation on broiler growth performance, and the relative mRNA expression of some central and peripheral FI-regulating genes under normal and HS. A total of 192 three-day old chicks of mixed sex from two commercial broiler strains (Ross 308 and Cobb 500) were used. The birds were allocated into 2 groups: a control group and GABA-supplemented group (100 mg/kg diet). At 21 days of age, each group of each strain was randomly subdivided into two subgroups: one was exposed to HS ( $33\pm 2^{\circ}\text{C}$  for 5 h/day for 2 weeks), while the other remained at thermoneutral temperature ( $24^{\circ}\text{C}$ ). GABA significantly increased body weight (BW), weight gain (WG), and FI under normal and HS conditions. GABA supplementation significantly modulated FI genes expression during HS, by reducing the FI-inhibiting neuropeptides, such as POMC, leptin, Ghrelin, and CCK, and by increasing the expression of FI-stimulating neuropeptides such as AgRP and NPY. Moreover, GABA significantly altered *FAS* and *ACACA* gene expression, resulting in significant increases in abdominal fat content in birds reared normally. In contrast, GABA lowered fat content in Cobb birds and increased it in Ross birds under HS. Therefore, GABA (100 mg/kg diet) is a strong FI-stimulating neurotransmitter and its regulatory effects depend on broiler strain and housing temperature.

Key words: qRT-PCR, gamma-aminobutyric acid, heat stress, broilers

**ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ, ГЕНЕТИЧЕСКИЕ  
И БИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ  
В СЕЛЕКЦИИ ОВЕЦ И КОЗ**

**Марзанов Н.С.,<sup>1</sup> Девришов Д.А.,<sup>2</sup> Фейзуллаев Ф.Р.,<sup>2</sup>  
Марзанова С.Н.,<sup>2</sup> Комкова Е.А.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста», Россия;

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», Россия;

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тверская государственная сельскохозяйственная академия», Россия.

E-mail: nmarzanov@yandex.ru

**Аннотация**

Работа посвящена возможностям использования маркирующих систем в мелком рогатом скотоводстве. На базе накопленного опыта раскрываются принципы, лежащие в основе генного маркирования и генетического мониторинга у овец и коз. Даны генетические особенности тонкорунным, полутонкорунным и грубошерстным породам овец. Сравнительный анализ различных типов генетических маркеров показал конкретные аспекты их применения. Обсуждается эффективность использования маркирующих систем в разведении этих животных.

Ключевые слова: овцы, козы, селекция, иммунологические, генетические и биологические маркеры

## **Введение**

История интенсивного изучения различных типов маркирующих систем в породах овец и коз насчитывает более 40 лет. Успехи данных исследований обусловили в последнее время развитие особого направления в мелком рогатом скотоводстве — маркерной селекции — оценке потенциальных возможностей животных по их внутренним морфофизиологическим особенностям. Накоплен определенный опыт по их исследованию и применению в селекции овец и коз. В последние годы все маркерные системы, с учетом методики их определения и использования, делят на три следующие группы. Маркерные системы I порядка включают группы крови, полиморфизм белков и ферментов крови и молока, антигены главного комплекса гистосовместимости I класса, антигены тромбоцитов и аллотипы белков сыворотки крови. К маркерным системам II порядка (или анонимным маркерам) относятся полиморфные системы ДНК-маркеров — микросателлиты и антигены главного комплекса гистосовместимости II класса. К маркерным системам III класса относятся те, которые связаны с хозяйственно полезными признаками или моногенными наследственными болезнями (гены многоплодия — бурула и инвердейл; гены мышечной гипертрофии — кэллпейг и карвелл; ген двойной обмускуленности у бельгийских текселей; ген внутримышечного глазка; синдром паукообразности конечностей; ген рогатости или комолости и др.).

Полиморфизм микросателлитов, эритроцитарных, полиморфных систем белков крови и молока, генов многоплодия овец, хорошо исследованы у российских, европейских, американских, азиатских и африканских пород мелкого рогатого скота. Начаты масштабные исследования по

геномной селекции и предложены наборы для исследований различных видов животных — СНИП-маркеров и системы CRISPR/Cas9 (Rasmusen, 1982; Osterhoff et al., 1987; Nguyen et al., 1992; Lauvergne et al., 1996; Barillet et al., 2005; Tapio et al., 2010; Малюченко и др., 2011; Nicolazzi et al., 2015; Веллер, 2018; Марзанов и др., 2019а, б; Ozerov et al., 2020).

В настоящее время известно 10 генетических систем групп крови (А, В, С, D, М, R, I, F<sub>30</sub>, F<sub>41</sub> и X-Z), из которых 7 подтверждены в ряде лабораторий мира — членов Международного общества генетики животных (МОГЖ). Группы крови овец и коз разделяют на системы, выявляемые как с помощью естественных антител (R, I — у овец и R — у коз), так и иммунными антителами — аллогемолизинами (А, В, С, М, R — у овец и коз). Здесь следует отметить, что система групп крови D у овец может выявляться, как R-система (в виде аллоагглютининов, а также аллогемолизинов). Система I овец, одна из уникальных и выявляется через R- и O-антигены; ее невозможно выявлять напрямую, поскольку нет сывороток-реагентов. Данная система групп крови отсутствует у коз. Методом внутрипородной и межпородной иммунизации накоплен банк реагентов овец и коз, вскрывающий от 15 до 32 эритроцитарных реагентов. В ряде лабораторий мира имеются номерные сыворотки-реагенты, требующие своей классификации (Марзанов, 1994; Марзанов и др., 2020).

В процессе изучения групп крови у овец установлено, что эритроцитарные антигены по их иммуногенности можно разделить на пять групп: 1) сильные антигены Aa и Ab (А-система), Bb (В-система), Ca (С-система); 2) антигены со средней иммуногенностью — Vd, Ve<sub>2</sub>, Vi (В-система), Cb (С-система); 3) слабые антигены — Vc, Vg, Ve<sub>1</sub> (В-система), Ma (М-система), агглютиногены Da, Db (D-система); 4) антигены R и O (R-система), выявляемые с помо-

щью естественных антител, и 5) антигены, на которые не выработаны еще антитела. К ним относятся антигены I и i (I-система) (Марзанов и др., 2010).

Имеется огромное количество аллелей и локусов микросателлитов в системе МОГЖ, требующих их систематизации и активного использования. Сейчас для популяционно-генетических исследований рекомендовано использование наборов по 30 локусов микросателлитов для овец и коз (FAO, CGRFA-13/11/Inf. 20, 2011). Для включения новых систем в процесс аттестации животных, требуется их проверка. Новая Зеландия располагает стадом из различных пород овец в виде семейств (отец-мать-потомок), тестируемых различными типами маркирующих систем. Хорошим источником являются также Comparison-тесты, проводимые периодически по линии МОГЖ для большинства сельскохозяйственных животных.

В своей работе мы использовали 20 локусов микросателлитов. В результате изучен аллелотип основных пород овец, разводимых на территории бывшего СССР. Показаны особенности каждой породы, установлены факторы, влияющие на формирование аллелотипа в различных условиях внешней среды. Наиболее важными факторами окружающей среды, формирующие аллелотип породы овец, оказались географическая широта и средняя годовая температура. В целом генетическая изменчивость грубошерстных пород была выше в географически низких широтах, что соотносится с данными, полученными на других видах позвоночных. В результате защита популяций, обитающих в низких широтах, может сохранить внутривидовое разнообразие в значительно большей степени, чем сохранение такого же количества популяций в географически высоких широтах. Этот факт особенно важно учитывать при планировании программ по сохранению биоразнообразия популяций, поскольку породы животных, разводимых ближе к

центрам одомашнивания, обладают более высокой генетической изменчивостью и могут служить источником генов, способствующим адаптации в условиях глобального изменения климата (Ozerov et al., 2020).

Главный комплекс гистосовместимости (major histocompatibility complex, МНС) располагается на 20-й хромосоме овец и получил название *Ovar* (от *Ovis aries*) (Hediger et al., 1991). Он играет важную роль в установлении антигенов, ассоциируемых с устойчивостью или чувствительностью к болезням (Dukkipati et al., 2006). У овец и коз он подразделяется на три класса МНС — I, II и III (Shrivastava et al., 2015). С помощью цитотоксического теста в ряде стран мира (Франции, Германии, Великобритании и др.) идентифицированы от 13 до 31 лимфоцитарных антигенов I класса МНС, контролируемых четырьмя генетическими локусами — OLA-A, OLA-B, OLA-C и OLA-Z (Millot, 1986). Проводятся международные Comparison-тесты по лимфоцитарным антигенам; выявлены ряд общих антигенов у овец и коз ( $W_1$ ,  $W_2$ ); показано, что они являются антигенами I класса МНС (Cullen et al., 1984). В Индии у коз породы рохилканди показана общность по гену *DRB1* II класса МНС с овцами пород индийская гароли и шотландская черномордая в сравнении с другими представителями пород коз (Shrivastava et al., 2015). Исследованиями Shen et al. (2014) установлено, что овцы с гаплотипами *DRB1-SacIab/DRB1-Mvalbb/DQB1-TaqIaa/DQB1-HaeIII* устойчивы к гидатидозу (кистозному эхинококкозу). По данным Valilou et al. (2015), у овец в локусе *Ovar-DRB1* при генотипе A1/A1, выявляемом с помощью *PstI*-рестриктазы, количество яиц кишечных нематод было меньше на 30–41%, чем у остальных вариантов. Что касается локусов III класса МНС, то они не получили должного изучения, хотя имеются отдельные работы по их участию в иммунитете.

По данным Manwell и Baker (1977), овцы обладают таким же количеством локусов полиморфных белков, как и человек, т.е. на уровне 20%. На основе глубоких исследований генетики белков молока стало возможным улучшение его технологических качеств. Особую значимость имеет определение такого биологически активного вещества, как кателицидин. Он является биологическим маркером, по которому можно судить, имеется ли мастит у овцематки или нет. В молоке здорового животного его практически не бывает. Другим хорошим биологическим маркером является подсчет соматических клеток. У овец нормой считается количество менее 500 000 клеток на 1 мл молока. Подобные исследования представляют большой интерес при изготовлении сыров из овечьего молока (Addis et al., 2016).

Генетический мониторинг и генное маркирование, основанные на изучении и использовании маркирующих систем мелкого рогатого скота в последнее время все шире применяются в селекционной работе.

### **Контроль достоверности происхождения**

В практике разведения овец и коз используется два метода из биотехнологии — искусственное осеменение и пересадка эмбрионов. Разработка методов искусственного осеменения позволила существенно увеличить интенсивность отбора баранов и повысить точность оценки их племенной ценности. В то же время генетический вклад в прогресс селекции матерей баранов во много раз ниже вклада отцов баранов. Это объясняется низкой интенсивностью селекции матерей баранов и ненадежной оценкой их племенной ценности из-за получения небольшого числа потомков. Эти ограничения и призвана снять трансплантация эмбрионов. Трансплантация позволила создать в США свою популяцию коз породы боеер из ЮАР, обладающей прекрасными мясными качествами. Ранее им приходилось

покупать козликов этой породы за 10–30 тыс. долларов США.

Для внесения в племенную книгу ягнят или козлят, полученных путем пересадки зигот, требуется знание достоверности их происхождения. Кроме того, использование маркирующих систем необходимо по следующим причинам:

1. Вследствие большого числа ожидаемого потомства от биотехнологических приемов при минимальном применении производителей.

2. Для того чтобы исключить путаницу на предприятии искусственного осеменения во время временного хранения, транспортировки семени или глубокого замораживания эмбрионов.

3. Для быстрого размножения экзотических пород, находящихся под угрозой сокращения или исчезновения.

Определены временные факты становления генетических структур, знание которых имеет важное значение для установления достоверности происхождения ягнят. Анализ проведенных исследований показал, что антигены систем А, В, С и D можно определять практически сразу после рождения. Что же касается антигенов R-системы (R, O), то они выявлялись соответственно на 20,5- и 31-й дни жизни ягненка. Фактор Ma впервые обнаружился на 45-й день, окончательное его формирование у особей отмечалось к 2-месячному возрасту. Типы гемоглобина, трансферрина и альбумина у овец обнаруживаются при рождении, как и антигены систем групп крови А, В, С и D; типы преальбумина — в 1-месячном возрасте. В связи с этим имеется преимущество в использовании микросателлитов, которые можно определять в любом возрасте. Они же имеют и другое преимущество — в силу кодоминантного типа наследования аллелей (Егоров, 1973; Марзанов и др., 2004; Люцканов, 2009).

За редким исключением, выявляемые группы крови у овец и коз передаются как простые менделирующие признаки, присутствие которых доминирует над их отсутствием. На этом уровне серологическими тестами у овец невозможно дифференцировать гомозиготу от гетерозиготы (за исключением  $i^-$ , O- и «нулевого» антигенов, кодируемых генотипами  $i/i$ , O/O и  $-/-$ ). Поэтому необходима полная триада родословной информации (отец–мать–потомок). Ягненок обычно получает 50% генного пула каждого родителя. Различают условное и безусловное исключения достоверности происхождения ягненка. Условное исключение заключается в невозможности точно определить отцовство из-за наличия у предполагаемого родителя часто встречающихся в популяции аллелей микросателлитов, полиморфных белков или групп крови. Например, у овец тонкорунных пород такими антигенами и полиморфными белками являются Aa, Bb, Vf, Cb, Mb и NB, частота встречаемости которых находится в пределах 50–100% (Марзанов, 1994).

С помощью безусловного исключения устанавливают, что один из предполагаемых родителей по типу своей крови не может им быть, независимо от типа крови другого партнера родительской пары. Потомок должен содержать по одному из двух аллелей отца и матери. Выявление достоверности тем выше, чем больше полиморфизма в локусах микросателлитов и полиморфных белков, спектра моноспецифических сывороток и разнообразия по антигенному составу в исследуемом поголовье овец. Отцовство можно исключить при условии, если материнство не вызывает сомнений в следующих случаях:

1. Потомок имеет аллель микросателлитного локуса, полиморфного белка или антигена групп крови, не представленный ни у одного из родителей.

2. У потомка отсутствует маркер, который представлен у предполагаемого гомозиготного отца.

3. Потомок гомозиготен по аллелю или антигену, отсутствующему у предполагаемого отца. Этот тип исключения родства распространяется на все системы. Исключением является R-система групп крови у овец. Проявление R- и O-антигенов R-системы групп крови у овец зависит от эпистатического действия рецессивного генотипа ( $I^i/I^i$ ) из независимого локуса I на проявление R- и O-антигенов у исследуемого животного. Поэтому R-система используется не всегда при определении достоверности происхождения ягнят (Марзанов, 1991).

В овцеводстве возможно несколько причин ошибок, которые необходимо знать при определении достоверности происхождения ягнят:

1. Нарушение правил осеменения, когда овцематку оплодотворяют семенем не от назначенного барана-улучшателя, а покрывают пробником или баранчиками, которые еще ходят в маточной отаре.

2. Широко практикуемое в каракулеводстве перераспределение ягнят между матками. В отдельные годы каждого четвертого ягненка выращивают не под своей матерью, а под чужой, у которой ягненок забит на смушку.

3. Переманивание ягнят чужими матерями, если у них погиб плод или он был мертворожденным.

4. Недосмотр техников по искусственному осеменению, когда в процессе искусственного осеменения используют сперму от другого барана.

5. Некачественное мечение ягнят, небрежное чтение индивидуальных номеров, заполнение журнала осеменения овец и бонитировки ягнят, оформление ведомости проверки племенной ценности барана-производителя по качеству потомства.

б. Замена пробирок при взятии крови для определения ее групп крови или других типов генетических маркеров, описка при подготовке документов.

На основании накопленного опыта считаем необходимым, установление отцовства в следующих случаях:

1. Во-первых, если овцематка была покрыта двумя разными баранами в среднем интервале 17 дней (от 15 до 19).

2. Во-вторых, если интервал между покрытиями превышает 19 дней и суягность, считая от последнего покрытия, затянулась сверх того срока, который характерен для данной породы. Мы установили пределы несоответствия племенных записей в родословных по отдельным хозяйствам России и Молдовы. Они составляют от 3,3 до 27,3% (всего исследовано 618 триад, или 1051 голова). Установлено, что для раскрытия состояния племенных записей достаточно провести анализ крови у 20–30% молодняка в отаре из 600–800 овцематок. В небольших стадах (200–500 овцематок) доля тестируемого молодняка увеличивается от 30 до 50%. Наибольшее количество недостоверных записей приходится на ложное отцовство (Марзанов, 1991; Люцканов, 2009). Schmid и Suzuki (1980) из 1731 меринсовых овец исключили ложное отцовство у 3%. В контрольных группах мясных овец этот процент был выше 12,5–37%. По другим данным, в первые годы тестирования недостоверность происхождения бывает выше 20%; в последующие годы эта цифра падает до 6–8% (Hoјny, Stratil, 1978).

При определении достоверности происхождения молодняка вскрыли ряд закономерностей, имеющих не только теоретическое, но и практическое значение:

а) генетический анализ достоверности происхождения ягнят по микросателлитам, полиморфным белкам и группам крови является наиболее эффективным и объективным средством проверки истинности родословных;

б) анализ эффективности генетических маркеров показал, что первенство при решении этой проблемы принадлежит микросателлитам, А-, В- и С-локусам групп крови, трансферрину, преальбумину, гемоглобину и эстеразе. Суммарная разрешающая способность использованных систем составила от 82,5 до 100%;

в) по полиморфным белкам и антигенам групп крови не следует подвергать исследованию ягнят на достоверность происхождения в течение первых двух месяцев из-за незрелости белковых и эритроцитарных структур крови. В данном случае оптимальным генетическим маркером являются микросателлиты;

г) широкая апробация генетического метода при определении достоверности происхождения ягнят показала, целесообразно его проводить для проверки родословных, при оценке баранов по качеству потомства, трансплантации эмбрионов, установлении моно- и дизиготных ягнят, искусственном осеменении овец и при купле-продаже производителей (Марзанов, 1994; Озеров и др., 2007; Марзанов и др., 2020).

### **Оценка баранов-производителей по номинальным и истинным дочерям**

Оценка баранов по качеству потомства проводится для определения их племенной ценности. Обычно предстоит ответить на вопрос, кем является проверяемый баран-производитель — улучшателем, нейтральным или ухудшателем. В связи с большими ошибками в родословных племенных животных приходится различать оценку баранов, осуществляемую по номинальным и истинным дочерям. По данным Люцканова (2009), преимуществом пользуется оценка баранов по истинным дочерям, выявляемым генетическим методом. Кроме того, этим методом удастся оценить значение фактора сочетаемости родительских пар и

определить реальную потребность в семени того или иного барана-производителя при искусственном осеменении.

### **Определение типа зиготности ягнят-близнецов**

В случае, если ягнята в двойнях разнополые, ярочки зачастую остаются бесплодными из-за явления фримартинизма. До последнего времени это явление трудно диагностировалось. Благодаря использованию групп крови стало возможным определение мозаичности антигенов групп крови у близнецов. Всего нами было исследовано 483 ягненка двойневого, тройневого и четвертневого происхождения. Из них 381 ягненок принадлежали тонкорунным, полутонкорунным и грубошерстным породам овец. Полученные результаты сравнивали с результатами исследований 102 ягнят романовской породы. У овец наибольшее количество монозиготных ягнят было получено от овцематок романовской породы (7,9%). От маток других направлений продуктивности было получено 2,1% монозиготных ягнят. Встречаемость мозаиков составила у тонкорунных, полутонкорунных и грубошерстных пород на уровне 0,3%, а у романовских овец — 2%. У коз все исследованные двойневые особи были дизиготными немозаиками. Считаем, что монозиготные особи являются клонированными животными в естественных условиях среды и могут заменять десятки опытных животных при проведении точных биологических опытов (Марзанов и др., 2019б).

### **Аллелофонд и генетическая структура различных пород овец**

При определении родства и происхождения пород овец раньше использовали результаты генеалогических, экстерьерных и краниологических исследований. Однако эти критерии не всегда были достаточны для таких исследований. Благодаря маркирующим системам крови стала воз-

можной реальная оценка генетического разнообразия пород. Накопление знаний по микросателлитам, полиморфным белкам и группам крови привело к обогащению наших знаний по физиологии крови овец и коз, а применение статистических методов — более глубокому пониманию генетических взаимоотношений между породами (Tucker, 1975; Clarke et al., 1989; Астафьева, 2017).

Исследованные популяции тонкорунных пород (кавказская, асканийская, киргизская, казахский меринос) отличались своим аллелотипом по 10 системам крови. Расчеты индекса генетического сходства по 30 аллелям в 10 системах полиморфных белков и групп крови показали различия пород; коэффициенты генетического сходства составляли от 0,424 до 0,681. Распределение генотипов гемоглобина для разных экологических зон показали, что на равнине преобладают овцы с генотипом  $HB^{B/B}$ , а в горах и регионах с высокой влажностью — наоборот, животные с генотипами  $HB^{A/A}$  и  $HB^{A/B}$ . Исключением из всех пород мериносов являются французский рамбулье и закрытые стада австралийских мериносов; у них частота встречаемости аллеля  $HB^A$  была выше, чем у аллеля  $HB^B$ , что связано с инбридингом. Белок гемоглобина А ( $HB^A$ ) обладает более близким сродством к кислороду. Возможно, поэтому частота встречаемости аллеля  $HB^A$  выше у романовских овец, разводимых в экстремальных условиях Центральной России (Nguyen et al., 1992; Астафьева, 2017; Марзанов и др., 2020).

Анализ трех поколений остфризских овец показал превалирование двух аллелей трансферрина ( $TF^C$  и  $TF^D$ ). В целом для двух европейских пород (тексель и остфризская) была характерна высокая частота встречаемости  $TF^C$ , тогда как для мериносовых популяций — аллелей  $TF^A$  и  $TF^D$ , а у каракуля —  $TF^B$ . Североказахстанская полутонкорунная создана более 30 лет назад на базе тонкорунно-

грубошерстных овец с использованием длинношерстных производителей разных пород (Хамицаев, 1983). У нее частота встречаемости  $TF^P$  была низкой, как и у большинства пород. Вместе с тем особый интерес вызывает распределение частот других четырех трансферриновых аллелей. Как и в случае мериносов, кроссбредные овцы характеризовались наличием высокой частоты аллелей  $TF^A$  и  $TF^D$ . Почти с такой же частотой встречался и  $TF^C$ , что является характерным для большинства европейских полутонкорунных пород. Повышенная частота аллеля  $TF^B$  говорит о присутствии определенной доли «кровности» местных грубошерстных казахстанских овец. Словом, у североказахстанской кроссбредной породы комбинируются аллели мериносов, длинношерстных полутонкорунных и местных грубошерстных популяций овец (Марзанов и др., 2010).

У романовских овец в отличие от других пород отмечается превалирование частоты аллеля  $HB^A$ , ярко выраженный полиморфизм по альбумину и наличие до четырех аллелей по трансферрину ( $TF^A$ ,  $TF^B$ ,  $TF^C$ ,  $TF^D$ ) (Амбросьева, 1993; Марзанов и др., 2017б). Высокая частота в популяции антигена Ма — характерный признак для грубошерстных овец. Установлено, что при высоком уровне калия (НК-тип) в эритроцитах всегда присутствует антиген Ма и, наоборот, при низком уровне (ЛК-тип) — антиген Mb (Tucker, 1975). При исследовании ряда пород с различным качеством шерсти была установлена определенная закономерность по антигену Ма. У кавказской породы уровень антигена Ма составил всего 13,2%, у цигайской — 62, остфризской — 66, тексельской — 74, романовской — 87,5 и каракульской — 96,4%. Отсюда можно сделать вывод о том, что чем грубее шерсть у овец, тем выше встречаемость антигена Ма. Низкая частота аллеля Ма и концентрация калия в эритроцитах крови (ЛК-тип) в популяциях мериносовых овец являются признаком, связанным с опре-

деленными шерстными качествами, по которым ведется селекция в тонкорунном овцеводстве (Марзанов и др., 2010).

Таким образом, маркирующие системы крови и молока могут быть использованы в селекционной работе в следующих случаях:

- при определении достоверности происхождения ягнят и козлят, оценке баранов по качеству потомства, аттестации ценных животных, полученных методом трансплантации;
- при проведении генетической характеристики пород и различных групп синтетических популяций;
- с целью установления гомо- и гетерозиготности у исчезающих пород овец и коз;
- при изучении корреляций с различными хозяйственно-полезными признаками;
- при установлении филогенетической связи между породами;
- для картирования хромосом, при диагностировании моно- и дизиготного молодняка.

### Список литературы

1. Амбросьева Л.Д. Генетическая структура романовской породы овец по полиморфным системам белков: дисс. канд. биол. наук. — М., 1993. — 160 с.
2. Астафьева Е.Е. Генетическая оценка видов и пород животных, разводимых в разных экологических условиях: дисс. канд. биол. наук. — М., 2017. — 132 с.
3. Веллер Дж.И. Геномная селекция животных. — СПб.: Проспект Науки, 2018. — 208 с.
4. Егоров Е.А. Генетические системы белков крови овец. — Ташкент: Фан, 1973. — 223 с.
5. Люцканов П.И. Создание новых типов цыгайских и каракульских овец в Республике Молдова с использованием генети-

ческих маркеров: дисс. докт. биол. наук. — Дубровицы, 2009. — 220 с.

6. Малюченко О.П., Алексеев Я.И., Монахова Ю.А., Марзанова С.Н., Марзанов Н.С. Изучение молекулярной изменчивости генов плодовитости BMP-15 и GDF9 у романовской породы овец // Известия ТСХА. — 2011. — № 6. — С.167–169.

7. Марзанов Н.С. Иммунология и иммуногенетика овец и коз. — Кишинев: Штиинца, 1991. — 238 с.

8. Марзанов Н.С. Физиологические маркеры крови овец и коз: теоретические и прикладные аспекты их применения: дисс. докт. биол. наук. — Дубровицы, 1994. — 348 с.

9. Марзанов Н.С., Насибов М.Г., Марзанова Л.К., Озеров М.Ю., Кантанен Ю. Аллелофонд у различных пород овец по микросателлитам. — Дубровицы. 2004. — 119 с.

10. Марзанов Н.С., Насибов М.Г., Марзанова Л.К., Озеров М.Ю., Кантанен Ю., Лобков В.Ю. Генетические маркеры в теории и практике разведения овец. — М.: Пионер, 2010. — 184 с.

11. Марзанов Н.С., Фейзуллаев Ф.Р., Марзанова Л.К., Комкова Е.А., Озеров М.Ю., Кантанен Ю., Лазебный О.Е., Марзанова С.Н. Оценка аллелофонда овец полутонкорунных пород по различным типам генетических маркеров. — М.: ЗооВетКнига, 2017а. — 67 с.

12. Марзанов Н.С., Лушников В.П., Марзанова Л.К., Комкова Е.А., Марзанова С.Н., Астафьева Е.Е. Классификатор для оценки аллелофонда овец романовской породы по различным типам генетических маркеров. — М., 2017б. — 36 с.

13. Марзанов Н.С., Малюченко О.П., Корецкая Е.А., Марзанова С.Н., Тимошенко Ю.И., Фейзуллаев Ф.Р., Марзанова Л.К. Характеристика романовской породы по локусу BMP-15, ответственному за многоплодие овец // Российская сельскохозяйственная наука. — 2019а. — № 3. — С. 47–50. doi: 10.31857/S2500-26272019347-50.

14. Марзанов Н.С., Корецкая Е.А., Марзанова С.Н., Шукюрова Е.Б., Марзанова Л.К., Девришов Д.А. Иммуногенетический способ диагностики моно- и дизиготности у потомков четырех видов жвачных животных // Известия ТСХА. — 2019б. — № 6. — С.49–61. doi: 10.34677/0021-342x-2019-6-49-61.

15. Марзанов Н.С., Корецкая Е.А., Марзанова С.Н., Озеров М.Ю., Девришов Д.А. Оценка аллелофонда овец романовской породы на основе иммунологических, генетических и биологических маркеров: рекомендации — М., 2020. — 64 с.

16. Озеров, М.Ю., Марзанов Н.С., Тапио М., Марзанова Л.К., Петров С.Н., Марзанов Ю.С., Кантанен Ю. Использование микросателлитных локусов для определения достоверности происхождения потомства у овец // Доклады РАСХН. — 2007. — № 2. — С.32–36.

17. Хамицаев Р.С. Эффективность сочетания различных пород при создании кроссбредного овцеводства // Автореф. дисс. докт. с.-х. наук. Дубровицы, 1983. — 36 с.

18. Addis M.F., Tedde V., Dore S., Pisanu S., Puggioni G.M.G., Roggio A.M., Pagnozzi D., Lollai S., Cannas E.A., Uzzau S. Evaluation of milk cathelicidin for detection of dairy sheep mastitis // J. Dairy Sci. — 2016. — Vol. 99. — P.6446–6456. doi: 10.3168/jds.2015-10293.

19. Barillet F., Arranz J.-J., Carta A. Mapping quantitative trait loci for milk production and genetic polymorphisms of milk proteins in dairy sheep // Genet. Sel. Evol. — 2005. — Vol. 37. — Suppl. 1. — P. S109–S123.

20. Clarke S.W., Tucker E.M., Hall S.J.G. Genetic polymorphisms and their relationships with inbreeding and breed structure in rare British sheep: the Portland, Manx Soghtan and Hebridean // Conserv. Biol. — 1989. — Vol. 3. — No. 4. — P. 381–388.

21. Cullen P.R., Millot P., Nguyen T.C. Sheep histocompatibility antigens: a population level comparison between lymphocyte antigens previously defined in France, England and Scotland sheep red cell groups // Anim. Blood Groups Biochem. Genet. — 1985. — Vol. 16. — P. 19–34.

22. Dukkupati V.S.R., Blair H.T., Garrick D.J., Murray A. 'Ovar-Mhc' — Ovine major histocompatibility complex: Role in genetic resistance to diseases // N. Z. Vet. J. — 2006. — Vol. 54. — No. 4. — P.153–160.

23. FAO, CGRFA-13/11/Inf. 20, 2011. Дата обращения 29 января 2020 года.

24. Hediger R., Ansari H.A., Stranzinger G.F. Chromosome banding and gene localizations support extensive conservation of chromosome structure between cattle and sheep // *Cytogenet. Cell Genet.* — 1991. — Vol. 57. — No. 2–3. — P.127–134.
25. Shen H, Han G, Jia B, Jiang S, Du Y. MHC-*DRB1/DQB1* gene polymorphism and its association with resistance/susceptibility to cystic echinococcosis in Chinese Merino sheep // *J. Parasitol. Res.* — 2014. — Article ID 272601. doi: 10.1155/2014/272601.
26. Lauvergne J.J., Dolling C.H.S., Renieri C. Mendelian inheritance in sheep 1996 (MIS 96). — France: Committee on Genetic Nomenclature of Sheep and Goats (COGNOSAG); Camerino, Italy: University of Camerino, 1996. — 214 p.
27. Manwell C., Baker C.M.A. Genetic distance between the Australian Merino and the Poll Dorset Sheep // *Genet. Res.* — 1977. — Vol. 20. — No. 3. — P.239–253.
28. Nicolazzi E.L., Biffani S., Biscarini F., Orozco ter Wengel P., Caprera A., Nazzicari N., Stella A. Software solutions for the live-stock genomics SNP array revolution // *Anim. Genet.* — 2015. — Vol. 46. — No. 4. — P. 343–353. doi: 10.1111/age.12295.
29. Nguyen T.C. Genetic systems of red cell blood groups in goat // *Anim. Genet.* — 1990. — Vol. 21. — P. 133–145.
30. Nguyen T.C., Morera L., Llanes D., Leger P. Sheep blood polymorphism and genetic divergence between French Rambouillet and Spanish Merino: role of genetic drift // *Anim. Genet.* — 1992. — Vol. 23. — P. 325–332.
31. Osterhoff D.R., Schmid D.O., Schoeman S.M. The stability of genetic markers as identified in goat // *S. Afr. J. Anim. Sci.* — 1987. — Vol. 3. — P.133–137.
32. Ozerov M.Yu., Tapio M., Kantanen J., Marzanova S.N., Koretskaya E.A., Lushnikov V.P., Marzanov N.S. Environmental factors affecting genetic variance in coarse-wool sheep // *Russ. Agricult. Sci.* — 2020. — Vol. 46. — No. 1. — P. 65–70. doi: 10.3103/S1068367420010127.
33. Rasmusen B.A. Blood groups polimorphisms // *Animal Genetics* / Ed. By F.B. Hutt, B.A. Rasmusen. — 2nd edn. — USA: John Wiley and Sons. — 1982. — Chap. 21. — P. 488–507.

34. Schmid D.O., Suzuki S. Animal blood group research; today and future in West Germany and Japan // *J. Agr. Sci. Jpn.* — 1980. — Vol. 25. — No. 2. — P. 91–112.

35. Shrivastava K., Kumar P., Sahoo N.R., Kumar A., Khan M.F., Kumar A., Prasad A., Patel B.H.M., Nasir A., Bhushan B., Sharma D. Genotyping of major histocompatibility complex Class II DRB gene in Rohilkhandi goats by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism and DNA sequencing // *Vet. World.* — 2015. — Vol. 8. — No. 10. — P. 1183–1188.

36. Tapio M., Ozerov M., Tapio I., Toro M.A., Marzanov N., Cinkulov M., Goncharenko G., Kiselyova T., Murawski M., Kantanen J. Microsatellite-based genetic diversity and population structure of domestic sheep in northern Eurasia // *BMC Genet.* — 2010. — Vol. 11. — No. 76. — P. 1–36.

37. Tucker E.M. Genetic markers in the plasma and red blood cells // *The Blood of Sheep; Composition and Function* / Ed. by M.H. Blunt. — Berlin, Heidelberg: Springer Verlag, 1975. — P. 123–153.

38. Valilou R.H., Rafat S.A., Notter D.R., Shojda D., Moghaddam G., Nematollahi A. Fecal egg counts for gastrointestinal nematodes are associated with a polymorphism in the MHC-DRB1 gene in the Iranian Ghezel sheep breed // *Front. Genet.* — 2015. — Vol. 6. — Article 105. doi: 10.3389/fgene.2015.00105.

### **Immunological, genetic and biological markers in sheep and goat breeding**

*Marzanov N.S.<sup>1</sup>, Devrishov D.A.<sup>2</sup>, Feizullaev F.R.<sup>2</sup>,  
Marzanova S.N.<sup>2</sup>, Koreckaja E.A.<sup>3</sup>*

<sup>1</sup>L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, Russia;

<sup>2</sup>Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after K.I. Skryabin, Russia;

<sup>3</sup>Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Tver State Agricultural Academy”, Russia.

## **Abstract**

The article overviews the prospects of using marking systems in small cattle breeding. Based on the accumulated experience, the principles underlying genetic marking and genetic monitoring in sheep and goats are revealed. Genetic features of fine-wool, semi-fine-wool and coarse-wool sheep breeds are reported. A comparative analysis of various types of genetic markers has shown specific aspects of their application. The efficiency of the use of marking systems in the breeding of these animals is discussed.

Key words: sheep, goat, breeding, immunological, genetic and biological markers

## **ВАЖНОСТЬ ПРОФИЛАКТИКИ МИКРОЭЛЕМЕНТОЗОВ В ПУШНОМ ЗВЕРОВОДСТВЕ**

**Балакирев Н.А., Максимов В.И., Дельцов А.А.**

ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», Москва, Россия.

E-mail: deltsov-81@mail.ru

### **Аннотация**

Показано, что в настоящее время ведутся разработки комплексной фармакологически активной системы на основе биополимеров для профилактики и лечения микроэлементозов у пушных зверей, т.к. они более биодоступны. Повышение биодоступности, снижение токсичности и побочных эффектов, увеличение фармакологической эффективности за счет устранения конкуренции и усиления синергетического действия возможны за счет разработки и оптимизации комплексной системы на основе биополимеров.

Ключевые слова: пушное звероводство, кормление, микроэлементы, препараты железа

Одной из ведущих отраслей животноводства Российской Федерации является пушное звероводство, которое на протяжении многих веков является символом России. Большинство мирового объема шкурки многих видов пушных зверей производилось в России, обеспечивая отрасли важнейшие конкурентные преимущества.

Основным фактором, оказывающим влияние на рост, развитие зверей, их воспроизводительную способность, формирование волосяного покрова и качество шкурки, яв-

ляется обеспечение животных необходимыми биологически активными веществами. Полноценное (сбалансированное по питательным веществам и энергии) кормление позволяет реализовать на практике генетически обусловленный уровень продуктивности зверей, является основой профилактики заболеваний обмена веществ и эффективно их лечения.

В кормлении пушных зверей широко используют отходы боенских производств и рыбной промышленности. Однако использование в кормлении пушных зверей некоторых видов рыб (путассу, отходы тресковых рыб, сайка), в которых содержится триметиламиноксид (ТМАО), связывающий ионы железа, делает недоступным данный микроэлемент для усвоения организмом зверей. Это может стать причиной нарушений обмена веществ — микроэлементозов и в том числе привести к возникновению железодефицитной анемии, гипокобальтоза, гипокупроза, эндемического зоба и к снижению продуктивности и ухудшению качества волосяного покрова зверей.

В связи с этим разработка способов профилактики и лечения микроэлементозов, связанных с нарушением минерального обмена, ведущего к нарушению качества шкурки, имеет важное практическое значение как для зоотехнии, ветеринарии и товароведения, так и развития сельского хозяйства страны в целом.

Для профилактики и ликвидации микроэлементозов среди пушных зверей используют лекарственные средства и кормовые добавки, включающие макро- и микроэлементы, а разработка данных препаратов является одним из приоритетных направлений ветеринарной фармакологии и терапии, которое направлено на повышение сохранности, стимуляцию продуктивности и увеличение качественной продукции.

До настоящих исследований для лечения и профилактики железодефицитной анемии применяли препараты железа для энтерального и парентерального введения, и именно ферротерапия является залогом успешного лечения недостатка железа. Например, наиболее положительно зарекомендовали себя железодекстрановые препараты (железодекстран — iron dextran complex). В 1950-х годах были синтезированы первые железодекстрановые препараты, в которых трехвалентное железо находится в соединении с декстраном. Декстран — полимер глюкозы, который продуцируют микроорганизмы *Leuconostoc mesenteroides*, а также другие виды микроорганизмов при росте на средах, содержащих сахарозу. Коммерчески доступные препараты этого ряда обычно представляют собой водные растворы декстрановых комплексов гидроокиси железа (III) и содержат, как правило, 5,0–10,0% железа по весу.

Существуют множество различных препаратов, содержащих железо, используемых *per os* или парентерально для лечения железодефицитных состояний. Широко используются монокомпонентные средства, содержащие только железо (сульфат железа, генмофер, актиферрин, ферроградумент, мальтофер и др.), и препараты, которые, помимо железа, содержат витамин С, фолиевую кислоту, витамин В<sub>12</sub>, глюконат меди, глюконат марганца и др. (ферроплекс, фефолвит, тардиферон, фенюльс, актиферрин-композитум, иберет-филмтаб и др.). По мнению Т.В. Казюковой и соавт. (2000), все железосодержащие лекарственные препараты можно подразделить на две основные группы: 1) ионные препараты железа, представляющие собой солевые и полисахаридные соединения железа, и 2) неионные соединения, состоящие из гидроксид-полимальтозного комплекса трехвалентного железа (мальтофер, мальтофер фол). Каждая из этих групп препаратов имеет свои преимущества и недостатки.

Большинство ионных препаратов представлены железом в виде двухвалентной формы, которое легко доступно для всасывания в желудочно-кишечном тракте и которое быстро проникает в кровь.

Из неионных препаратов заслуживает внимания мальтофер, обладающий высокой эффективностью в лечении дефицита железа при одновременном отсутствии побочных явлений и осложнений.

Однако применяемые препараты имеют ряд недостатков (высокая токсичность, слабая биодоступность, анафилактические реакции, новообразования в месте инъекции, противопоказание при гиповитаминозе Е и др.), что сказывается на их безопасности и эффективности, в том числе активации свободнорадикальных процессов, снижении антиокислительной активности сыворотки крови и др.

При этом неблагоприятным моментом для пушных зверей является не только недостаток железа, но и его избыток, поскольку, являясь металлом с переменной валентностью, железо обладает прооксидантным действием, т. е. в ряде биохимических реакций (Фентона, Хабера–Вайса, Осипова) приводит к образованию активных форм кислорода и оказывает токсическое действие на функции печени и сердечно-сосудистой системы, нарушает гормональный статус и вызывает дисфункцию иммунной системы.

В то же время активация процессов свободнорадикального окисления и снижения антиоксидантной защиты организма происходит при многих болезнях, включая железодефицитную анемию и другие микроэлементозы, приводит к нарушению обмена витаминов, что и объясняет, например, противопоказание применения препаратов железа при гиповитаминозе Е.

При гипоксии и ишемии в первую очередь усиливается образование малоактивного супероксидного анионрадикала, являющегося слабым окислителем и не способ-

ным непосредственно инициировать реакции пероксидного окисления липидов. В связи с этим очевидна важная роль в индукции процессов липопероксидации более агрессивных гидроксильного и гидропероксильного радикалов, образование которых резко усиливается при участии ионов металлов с переменной валентностью, в том числе железа, препараты которого используют для профилактики и лечения железодефицитной анемии.

Избыточное восполнение дефицита железа не только активирует свободнорадикальное окисление, но и инициирует печеночную экспрессию гепсидина, который в свою очередь препятствует усвоению железа, по типу отрицательной обратной связи. Другими словами, чем больше вводить в организм железа, тем хуже оно усваивается.

Таким образом, в современных условиях при профилактике и лечении микроэлементозов, в том числе железодефицитной анемии у пушных зверей, возникает необходимость коррекции изменений свободнорадикальных процессов, обусловленных как проводимой ферротерапией, с одной стороны, явлениями гипоксии, с другой стороны, при одновременном стимулировании усвоения железа, не активирующем экспрессию гепсидина.

Этот момент особенно важен при разработке и применении современных фармакологических препаратов для лечения и профилактики железодефицитной анемии у пушных зверей, потому что именно препараты железа являются основой успешного лечения микроэлементозов, в том числе железодефицитной анемии.

В связи с тем, что важное значение в патогенезе анемии у пушных зверей имеет не столько усиление образования активных форм кислорода, сколько ослабление антиоксидантной защиты организма, следует особое внимание уделить новым комплексным препаратам, содержащим не только железо, но и такие важные микроэлементы, участ-

вующие в обмене железа, кроветворении и системе антиоксидантной защиты организма, как селен, йод, медь и кобальт.

Важным моментом является учет способа доставки микроэлементов в организме пушных зверей. Несомненно, более физиологичным и менее трудоемким является их оральное введение, а не инъекционное, влекущее за собой значительные побочные эффекты и трудорасходы. Используемые для орального введения минеральные соединения различных микроэлементов и их хелатные соединения (глюконаты, аминокислоты, комплексонаты) также имеют ряд недостатков в виде высокой токсичности и малой функциональной роли лиганда, который отвечает лишь за поддержание водорастворимости и биодоступности целевого иона, поскольку лиганд и ион усваиваются организмом сепаратно. Кроме того, применение микроэлементов в таком виде не исключает конкуренции микроэлементов друг с другом. Таким образом, разработка комплексной фармакологически активной системы на основе биополимеров для профилактики и лечения микроэлементозов у пушных зверей является актуальной, фундаментальной и практической задачей науки. Повышение биодоступности, снижение токсичности и побочных эффектов, увеличение фармакологической эффективности за счет устранения конкуренции и усиления синергетического действия возможны за счет разработки и оптимизации комплексной системы на основе биополимеров.

В связи с этим в ФГБОУ ВО МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина коллективом авторов ведется работа по исследованию и разработке и изучению влияния фармакологически активного соединения на основе полимерного (железа гидроксид полимальтозного) комплекса на организм пушных зверей для лечения и профилактики микроэлементозов.

*Исследования выполнены при финансовой поддержке гранта РФФИ, договор № 20-016-00105/20 от 20.03.2020 г.*

### **Список литературы**

1. Балакирев Н.А. Кормление норок. М.: Научная библиотека, 2015. 270 с.
2. Дельцов А.А., Косова И.В. Анализ производителей лекарственных средств для ветеринарного применения в России // Здоровье и образование в XXI веке. 2014. Т. 16. № 2. С. 3–6.
3. Дельцов А.А., Максимов В.И., Балакирев Н.А., Козлов С.А., Ипполитова Т.В. Физиологическое выявление железогидроксид полимальтозного комплекса на развитие половой функции у белых крыс // Ветеринария. 2019. № 2. С. 45–50.
4. Ковальский В.В. Проблемы биогеохимии микроэлементов и геохимической экологии // Избранные труды / В.В. Ковальский. М: Россельхозакадемия, 2009. 357 с.
5. Самохин В.Т. Гипомикроэлементозы и здоровье животных / В.Т. Самохин // Экологические проблемы патологии, фармакологии и терапии животных: сборник. Воронеж, 1997. С. 12–17.
6. Dimitrov J.D. Functional variability of antibodies upon oxidative processes / J.D. Dimitrov, T.L. Vassilev, S. Andre et al. // Autoimmun Rev. 2008. Vol. 7. No. 7. P. 574–578.
7. Fitzimons E. The anaemias of chronic disease. Remains hard to distinguish from iron deficiency anaemia in some cases / E. Fitzimons, J. Brock // Brit Med J. 2001. Vol. 322. P. 811.
8. González Sánchez D. Supplying organic trace minerals becomes common practice // All About Feed. 2010. Vol. 1. No. 4. P. 18–20.

### **Relevance of the development of a pharmacologically active compound based on a polymer complex for prevention and treatment of microelementosis in fur farming**

*Balakirev N.A., Maksimov V.I., Deltsov A.A.  
K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary  
Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia*

## **Abstract**

The article overviews the relevance of research, development and study of the effect of a pharmacologically active compound based on a polymer complex on the body of fur-bearing animals for the treatment and prevention of microelementosis characterized by the negative impact of both lack and excess of iron on the body.

Lack of iron can lead to iron-deficiency anemia, decline in productivity and deterioration of the quality of animal hair.

At the same time, iron is a metal with a variable valence. Iron has a pro-oxidant effect, meaning that it leads to the formation of reactive oxygen species and has a toxic effect on the liver and cardiovascular system, violates the hormonal status and causes immune system dysfunction, being in excess in the animal's body.

Special attention should be paid to the new complex preparations containing not only iron, but also such important trace elements involved in iron metabolism, hematopoiesis and the body's antioxidant defense system as selenium, iodine, copper and cobalt.

One of the main points is taking into account the method of delivery of trace elements into the animal's body. A complex system based on biopolymers is currently under development. It will increase bioavailability, reduce toxicity and side effects, increase pharmacological efficiency by eliminating competition, and enhance the synergistic effect of mineral compounds received in the animal's body.

To that end, a research team from MSAVM&B – MVA named after K.I. Skryabin is working on development and study of the effect of a pharmacologically active compound based on a polymer (iron-hydroxide polymaltose) complex on the body of fur-bearing animals for the treatment and prevention of microelementosis.

**Key words:** fur farming, feeding, microelements, iron drugs

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ  
КОМБИКОРМОВ КР-1  
ДЛЯ МОЛОДНЯКА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА  
С ВКЛЮЧЕНИЕМ В СОСТАВ СОЛОДОВЫХ РОСТКОВ**

**Разумовский С.Н.**

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству»,  
г. Жодино, Республика Беларусь.  
E-mail: razumjvskiysergey@mail.ru

**Аннотация**

На основании исследований уровня кормления составлен рацион молодняка в возрасте 75–116 дней, который в основном включал зерно, сено, кукурузный силос, разнотравный сенаж и цельное молоко. Разработаны рецептуры комбикорма КР-1 с разной степенью добавления солодовых ростков (5, 10 и 15%) вместо кукурузы и тритикале, питательная ценность которых составила 1,13 кормовой единицы. Использование солодовых ростков в комбикорме способствовало увеличению концентрации белка на 9,7%, энергетического соотношения белка с 0,35 до 0,39 и азотного баланса в рубце на 2,7 г. Установлено, что использование проростков солода в количестве 5% по массе в комбикорме для телят КР-1 вместо зерновых компонентов позволило получить прирост живой массы за период испытаний 806 г, что составило 9,3% выше контрольного значения, при снижении стоимости корма для прироста на 7,3%. Скармливание разработанного комбикорма с добавкой 5% ростков солода способствовало снижению затрат на прирост живой массы телят на 10%.

Ключевые слова: комбикорма, рацион, ячмень, подсолнечный шрот, солодовые ростки, прирост живой массы, затраты кормов

## **Введение**

Физиологически обоснованное кормление — это залог успеха в выращивании сельскохозяйственных животных и птицы, потому как установлено, что рост, развитие, будущая продуктивность и сохранность на 25% зависят от генетического потенциала животного, на столько же от условий содержания и на 50% — от условий кормления.

Для производства животноводческой продукции требуется большое количество растительного белка (на получение 1 кг животного белка необходимо 5–7 кг растительного), для чего используют жмыхи, шроты, зернобобовые и отходы промышленности, перерабатывающей сельскохозяйственную продукцию.

Солодовые ростки — это вторичный продукт пивоварения, состоящий из корешков, отделенных от проросшего и высушенного солода.

Выход солодовых ростков зависит от длительности процесса солодоращения и составляет 3–5% к массе получаемого солода. Сравнительный анализ солодовых ростков и ячменя свидетельствует о том, что по химическому составу и большинству основных элементов питательности солодовые ростки, как минимум, не уступают ячменю. Так, по содержанию сырого и переваримого протеина солодовые ростки превосходят ячмень, который является основным компонентом комбикормов многих рецептов, соответственно в 2,0 и 2,2 раза, а по фосфору — в 2,1 раза. Солодовые ростки также превосходят ячмень по содержанию магния, серы, меди, цинка и марганца. При этом протеин солодовых ростков в 2–2,5 раза дешевле протеина зерновых культур. В солодовых ростках обнаружены аминокис-

лоты: аспарагиновая и глютаминовая, серин, треонин, аланин, тирозин, валин, метионин, лейцин, изолейцин, в-фенилаланин и пролин. В них обнаружена муравьиная, яблочная, аспарагиновая, янтарная, уксусная, молочная, щавелевая, пропионовая и лимонная кислоты, дубильные вещества. В углеводный комплекс входят клетчатка, пентозаны и сахара; их количество составляет 19–22% (в пересчете на глюкозу). Из них витаминов В<sub>2</sub>, В<sub>3</sub>, В<sub>6</sub>, В<sub>12</sub>, РР и Е значительно больше в ростках, чем в солоде. В то же время солодовые ростки значительно уступают ячменю по содержанию сырого жира и крахмала.

Учитывая проведенный литературный анализ, в Республике Беларусь отсутствует официально установленная физиологически обоснованная норма ввода солодовых ростков в состав комбикормов для молодняка крупного рогатого скота всех возрастов, выращиваемого на мясо. В то же время имеется такое предприятие, как ОАО «Белсолод», которое в год производит около 130 тысяч тонн солода. Не проводилось и исследований по эффективности скармливания комбикормов с солодовыми ростками в составе рационов молодняка крупного рогатого скота.

Целями работы являются разработка составов комбикормов концентратов КР-1 с включением солодовых ростков и определение оптимальных норм ввода солодовых ростков в состав комбикормов для телят в возрасте 10–75 дней и эффективности их использования в кормлении молодняка крупного рогатого скота.

### **Методика исследований**

Для решения поставленных задач в соответствии со схемой исследований (табл. 1) сотрудниками лаборатории кормления и физиологии питания крупного рогатого скота РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству» организован и проведен научно-хозяйствен-

ный опыт по установлению оптимальной нормы ввода солодовых ростков в состав комбикормов КР-1 для молодняка крупного рогатого скота при выращивании на мясо с последующим скармливанием комбикормов в рационах основанных на высококачественных травяных кормах, отвечающих физиологическим потребностям и нормам кормления.

*Таблица 1*

**Схема исследований**

<b>Группы</b>	<b>Кол-во животных, гол.</b>	<b>Продолжительность опыта, дней</b>	<b>Особенности кормления</b>
<b>Научно-хозяйственный опыт</b>			
I контрольная	10	65	Основной рацион — состав кормов рациона, утвержденный в хозяйстве, + комбикорм стандартный КР-1
II опытная	10		Основной рацион + комбикорм КР-1 № 1 (5% солодовых ростков)
III опытная	10		Основной рацион + комбикорм КР-1 № 1 (10% солодовых ростков)
IV опытная	10		Основной рацион + комбикорм КР-1 № 2 (15% солодовых ростков)

Научно-хозяйственный опыт организован на молодняке крупного рогатого скота I фазы выращивания при скармливании комбикорма КР-1 с разными дозами солодовых ростков в условиях МТФ «Рассошное» ГП «ЖодиноАгро-ПлемЭлита».

В процессе исследований использованы зоотехнические, биохимические и математические методы анализа и изучены следующие показатели:

1. Расход кормов — при проведении контрольного кормления в научно-хозяйственном опыте один раз в 10 дней за два смежных дня.

2. Химический состав и питательность кормов — путем общего зоотехнического анализа. Отбор проб кормов осуществлялся в период опытов. Корма отбирались в ГП «ЖодиноАгроПлемЭлита» Смолевичского района Минской области.

3. Качество кормов — в лаборатории оценки качества кормов и биохимических анализов РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству». В кормах определены: кормовые единицы и обменная энергия — расчетным путём по формулам, влага — по ГОСТ 13496.3-92, азот — автоматическим анализатором азота по Кьельдалю UDK-159 (по ГОСТ 13496.4-93. П.2), клетчатка — по модифицированному методу Геннеберга — Штомана на FIWE 6; сырой жир — по ГОСТ 13496.15-97, зола — по ГОСТ 26226-95 п. 1, макро- и микроэлементы: кальций — комплексометрическим методом в модификации А.Ф. Арсеньева; фосфор — по Фиске–Суббороу;

4. Кровь для исследований — отбор проб крови осуществляли у 3 телят из каждой группы в конце опыта через 2,5–3 часа после утреннего кормления. В крови определяли гематологические показатели (содержание эритроцитов и их индексы, тромбоцитов, лейкоцитов и гемоглобина) с использованием автоматического анализатора Uritvet plus. В сыворотке крови — содержание общего белка и его фракций, глюкозы, мочевины, холестерина, АлАТ, АсАТ, общего кальция, фосфора неорганического — на биохимическом анализаторе Accent-200. Для определения формен-

ных элементов и минеральной части использована цельная кровь, для биохимических показателей — сыворотка.

5. Продукцию выращивания изучали путем индивидуальных ежемесячных контрольных взвешиваний.

6. Для определения содержания в исследуемых кормах расщепляемого и нерасщепляемого протеина в условиях физиологического корпуса РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству» проведены опыты *in vivo* (бычки в возрасте 7–9 мес.) в полном соответствии с методикой проведения данных опытов с периодом выдержки исследуемых кормов в рубце в течение 6 часов.

Цифровые данные обработаны биометрически методом вариационной статистики по П.Ф. Рокицкому (1973).

Установлен следующий уровень кормления молодняка крупного рогатого скота в ГП «ЖодиноАгроПлемЭлита»: рацион молодняка в возрасте 10–75 дней состоял из молока цельного, сена злаково-бобового; для приучения к поеданию грубых кормов животные также получали небольшое количество разнотравного сенажа. В качестве концентрированного корма скармливали комбикорм КР-1 и цельный овес.

Для проведения научно-хозяйственного опыта нами разработаны составы комбикормов КР-1 с вводом различных уровней солодовых ростков (табл. 2).

В составе опытного комбикорма солодовыми ростками заменяли зерно кукурузы и тритикале, а в IV опытном также 2% подсолнечного шрота. Данные изменения в рецептуре незначительно повлияли на питательность, которая во всех комбикормах находилась на уровне 1,13 корм. ед. с содержанием энергии 11,2 МДж в контроле и до 11,22 МДж в IV опытном комбикорме. По сухому веществу наиболее выгодный вариант оказался в IV опытном рецепте — 893 г против 879 г в контроле.

Таблица 2

## Состав и питательность комбикормов КР-1

Показатель	Комбикорм			
	I	II	III	IV
Кукуруза, %	25	20	20	20
Солодовые ростки, %	–	5	10	15
Тритикале, %	17	17	12	10
Пшеница, %	20	20	20	19
Шрот подсолнечный, %	15	15	15	13
ЗЦМ, %	10	10	10	10
Соль, %	1	1	1	1
Мел, %	1	1	1	1
Премикс ПКР-1, %	1	1	1	1
Дрожжи кормовые, %	10	10	10	10
Итого	100	100	100	100
В комбикорме содержится:				
Кормовые единицы	1,13	1,13	1,13	1,13
Обменная энергия, МДж	11,2	11,18	11,19	11,22
Сухое вещество, г	879	884	888	893
Сырой протеин, г	205,5	214,3	222,7	225,5
Переваримый протеин, г	165,1	173,1	180,4	182,9
Расщепляемый протеин, г	166,8	173,7	180,3	183,0
Нерасщепляемый протеин, г	38,6	40,6	42,3	42,5
Сырой жир, г	21,4	20,8	20,8	20,8
Сырая клетчатка, г	44,4	48,5	52,3	54,1
БЭВ	545	536	528	526
Крахмал, г	334	306	281	265
Сахара, г	48,4	47,2	46,1	44,0
Кальций, г	5,8	5,8	5,7	5,6
Фосфор, г	6,2	6,4	6,4	6,5
Магний, г	6,2	6,2	5,8	5,4
Калий, г	8,6	8,5	8,3	8,1
Сера, г	1,9	2,2	2,6	2,9
Натрий, г	4,7	4,6	4,6	4,6

Показатель	Комбикорм			
	I	II	III	IV
Хлор, г	7,1	6,9	6,9	6,9
Железо, мг	111	108	105	97
Медь, мг	12,7	12,9	13,0	12,7
Цинк, мг	61,8	63,1	64,2	65,2
Марганец, мг	65,8	66,0	65,4	64,7
Кобальт, мг	3,96	3,95	3,95	3,94
Йод, мг	0,49	0,48	0,46	0,43
Селен, мг	0,1	0,1	0,1	0,1
Каротин, мг	2,8	2,4	2,4	2,3
Витамин Д, МЕ	3000	3000	3000	3000
Витамин Е, мг	34,9	33,3	31,9	31,0
Стоимость, руб.	0,67	0,66	0,66	0,65

Аналогичная картина установлена и по содержанию сырого протеина, которое было в IV опытном рецепте на 25 г выше контрольного показателя. С увеличением уровня ввода солодовых ростков повысилось незначительно и количество сырой клетчатки — с 44,5 г в контроле до 54,2 г в IV опытном комбикорме. Замечено снижение содержания крахмала на 80 г и сахара на 4 г. При незначительном снижении кальция установлена тенденция по увеличению фосфора в комбикормах, содержащих солодовые ростки, которая отмечена и по уровню серы и цинка. По остальным элементам значительных расхождений не установлено. Снижение уровня кальция выразилось в уменьшении отношения кальция к фосфору: если в контроле оно соответствовало 0,94 к 1, то в IV опытном составе — 0,87 к 1. Энергопротеиновое отношение в контрольном комбикорме составило 0,35, а с увеличением уровня солодовых ростков повысилось в IV комбикорме до 0,39. Аналогичная картина установлена и по балансу азота в рубце, который повысился на 2,7 г.

На основании проведенных контрольных кормлений за период опыта установлен фактический рацион телят, который состоял на 64–67% из молока и на 24–25% из комбикорма-стартера. Остальную часть рациона занимали зерно кукурузы и овса, сена злаково-бобового и разнотравного сенажа (табл. 3).

Таблица 3

**Средний рацион кормления молодняка  
крупного рогатого скота за опытный период**

Показатель	Группа			
	I	II	III	IV
Кормовые единицы	2,27	2,30	2,29	2,28
Обменная энергия, МДж	21,0	21,7	21,6	21,5
Сухое вещество, г	1396	1493	1483	1475
Сырой протеин, г	306	322	324	323
Переваримый протеин, г	267	277	279	279
Сырой жир, г	201	198	198	198
Сырая клетчатка, г	88	123	122	121
БЭВ, г	646	692	682	676
Крахмал, г	199	191	179	167
Сахар, г	280	277	276	275
Кальций, г	12,5	13,3	13,1	13,0
Фосфор, г	10,1	10,5	10,4	10,4
Магний, г	4,2	4,5	4,2	4,0
Калий, г	16,3	17,9	17,6	17,4
Сера, г	3,0	3,4	3,5	3,6
Натрий, г	6,6	6,2	6,6	6,6
Хлор, г	3,4	3,5	3,4	3,4
Железо, мг	136	163	157	150,7
Медь, мг	8,2	8,9	8,9	8,6

Показатель	Группа			
	I	II	III	IV
Цинк, мг	48,6	53,2	53,1	52,9
Марганец, мг	54,5	63,8	62,5	61,5
Кобальт, мг	2,01	2,13	2,1	2,06
Йод, мг	0,35	0,37	0,36	0,34
Селен, мг	0,05	0,05	0,05	0,05
Каротин, мг	13	18	18	17
Витамин Д, МЕ	1531	1621	1595	1571
Витамин Е, мг	40	47	45	45
Стоимость, руб.	2,54	2,49	2,49	2,48
Валовая энергия, МДж	28,4	30,17	30,01	29,86

По питательности и содержанию обменной энергии различия между группами были минимальны — от 2,27 корм. ед. и 21 МДж в I контрольной группе до 2,3 корм. ед. и 21,7 МДж во II опытной группе. Результаты III и IV групп были в границах выше перечисленных. По потреблению сухого вещества разница была несколько больше: так, в контрольной группе оно равнялось 1396 г, а в опытных было на 5,6–6,9% больше. Большее потребление комбикормов опытными животными способствовало и большему уровню протеина в рационе — 322–324 г против 306 г в контроле. В результате скармливания различных комбикормов установлено, что сахаро-протеиновое отношение составило в контроле 1,04, а в опытных группах находилось на уровне 0,98–1,0. Энергопротеиновое отношение равнялось 0,3, в то время как валовая энергия рациона составила в контроле 28,4 МДж, а в опытных группах — 29,9–30,2 МДж; коэффициент использования энергии на поддержание был равен 0,8, а отношение кальция к фосфору во всех рационах было 1,24–1,27.

## Результаты исследований и обсуждение

Использование различных уровней солодовых ростков в составе комбикорма взамен зерна определенным образом отразилось на продуктивности телят (табл. 4).

Таблица 4

### Показатели продуктивности и затраты кормов

Показатель	Группа			
	I	II	III	IV
Живая масса в начале опыта, кг	40,76±2,2	42,62±1,4	41,93±1,5	43,34±1,6
Живая масса в конце опыта, кг	88,7±1,9	95±1,5	89,2±1,3	87,7±1,6
Валовый прирост, кг	47,94±1,0	52,38±0,8	47,27±1,3	44,36±1,9
Среднесуточный прирост, г	737±16,0	806±12,0	727±20,3	682±29,2
+/- к контролю, г	—	68	-10	-55
+/- к контролю, %	—	9,3	-1,4	-7,5
Затраты кормов на 1 кг прироста	3,08	2,85	3,15	3,34
+/- к контролю, %	—	-7,3	2,3	8,5
Энергия прироста или отложения, МДж	7,10	8,05	6,99	6,45
Конверсия энергии в прирост, %	1,49	1,75	1,51	1,39
Затраты обменной энергии на 1 МДж в приросте живой массы, МДж	2,96	2,70	3,09	3,34
Затраты обменной энергии на 1 кг прироста, МДж	28,5	26,9	29,7	31,5
Затраты сырого протеина на 1 кг прироста живой массы, г	415	399	445	473

Так, скармливание рационов с опытным комбикормом неоднозначно отразилось на продуктивности. Наибольшая продуктивность отмечена у телят II опытной группы, имевшей в составе комбикорма 5% солодовых ростков, что составило за 65 дней опыта в среднем 806 г на голову в сутки.

Дальнейшее увеличение концентрации солодовых ростков в комбикорме на 5 и 10% в III и IV группах снизило прирост живой массы на 1,4 и 7,5%, соответственно. При этом 5%-ный уровень в комбикорме II опытной группы позволил увеличить прирост на 9,3%. Данное влияние (как положительное во II опытной группе, так и отрицательное в III и IV группах) отразилось и в отношении затрат кормов на получение прироста в группах, понизив их на 7,3% во II группе и повысив на 2,3 и 8,5% в III и IV группах, соответственно. В результате затраты обменной энергии на 1 кг прироста в контрольной группе оказались ниже, чем в III и IV опытных группах; та же тенденция сохранилась и по затратам сырого протеина на прирост.

Более развернутые показатели энергоэффективности скармливаемых рационов показали, что энергия прироста составила 8,05 МДж во II опытной группе, которой скармливали комбикорм с 5% солодовых ростков; вторым результатом оказался контроль — 7,1 МДж, а в III и IV опытных группах этот показатель оказался ниже на 1,5 и 9,2% соответственно. Затраты обменной энергии на 1 МДж в приросте живой массы во II опытной группе были ниже контрольного показателя на 0,26 МДж, а в III и IV опытных группах — соответственно на 0,39 и 0,64 МДж выше.

Важным элементом оценки скармливаемых рационов на современном этапе производства продукции животноводства является экономическая эффективность применения кормовых средств в сельском хозяйстве (табл. 5).

Таблица 5

## Экономическая эффективность выращивания телят

Показатель	Группа			
	I	II	III	IV
Стоимость суточного рациона, руб.	2,56	2,52	2,52	2,51
Стоимость кормов на 1 кг прироста, руб.	3,47	3,13	3,47	3,68
Себестоимость 1 кг прироста, руб.	5,17	4,65	5,16	5,47
+/- к контролю, %		-10,1	-0,2	5,8
Закупочная цена 1 кг прироста живой массы высшей упитанности с НДС, руб.	2,42	2,42	2,42	2,42
Получено дополнительно прибыли на 1 гол. от реализации, руб.	-131,60	-116,99	-129,36	-135,43
Всего прибыли на 1 гол. за опыт, руб.	-131,60	-79,44	-130,57	-157,75
Всего прибыли на 1 гол. за опыт $\pm$ к контролю, руб.	-	52,16	1,03	-26,15
Прибыль за опыт на все поголовье $\pm$ к контролю, руб.	-	521,6	10,3	-261,5

В нашем случае наиболее дорогим оказался контрольный рацион, вероятно из-за того, что комбикорм с вводом солодовых ростков был ниже по стоимости и чем выше была норма ввода, тем рацион был дешевле. Так, использование комбикормов с включением 5% в комбикорм позволило снизить стоимость рациона на 34 копейки. Данная

разность положительно повлияла на себестоимость продукции выращивания, которая в этой группе снизилась по отношению к контролю на 10,1%. Однако довольно резкое снижение продуктивности в остальных опытных группах при использовании комбикормов с более высокими уровнями солодовых ростков не позволило снизить себестоимость продукции по отношению к контрольному показателю. В то же время комбикорма с 5% солодовых ростков при скармливании в рационах телят способствовали получению прибыли 521,6 руб. на все поголовье по отношению к контролю за опытный период.

### Список литературы

1. Белоусова Н.И. Комплексное использование сырья на предприятиях мясной промышленности / Белоусова Н.И., Мануйлова Т.А. // Пищевая промышленность. — 2007. — № 7. — С. 33–41.
2. Вардевалян Л.Г. Научные и практические основы выращивания телят: моногр. / Л.Г. Вардевалян. — Ереван: Самарк, 2009. — 101 с.
3. Ганущенко О.Ф. «Разгон рубца» кормим телят правильно / О.Ф. Ганущенко // Белорусское сельское хозяйство. — 2013. — № 4. — С. 65–67.
4. Голушко В.М. Физиология пищеварения и кормления крупного рогатого скота: учеб. пособие / В.М. Голушко [и др.]. — Гродно, 2005. — 441 с.
5. Ерембетов К. Эффективность биоконверсии питательных веществ корма в мясопродукцию / К. Ерембетов, В. Галочкина, Д. Шариева // Мясо-молочное скотоводство. — 2005. — № 4. — С. 22–23.
6. Карпеня М.М. Влияние разных доз микроэлементов на показатели крови ремонтных бычков / М.М. Карпеня // Зоотехническая наука Беларуси: сб. науч. тр. / Ин-т животноводства Нац. акад. наук Беларуси. — Мн.: Хата, 2002. — Вып. 37. — С. 240–243.

7. Киреенко Н.В. Способы повышения содержания и эффективности использования протеина в рационах крупного рогатого скота / Н.В. Киреенко, Н.А. Яцко. — Червень: МОУП «Червенская типография», 2006. — 248 с.

8. Ковзов В.В. Пищеварение и обмен веществ у крупного рогатого скота / В.В. Ковзов, С.Л. Борознов. — Мн.: Бизнесофсет, 2009. — С. 220–225.

9. Козинец А.И. Препараты на основе растительных экстрактов в кормлении молодняка крупного рогатого скота / А.И. Козинец, М.А. Надаринская, О.Г. Голушко, Т.Г. Козинец // Зоотехническая наука Беларуси: сб. науч. тр. — Жодино, 2014 — Т. 49, ч. 2. — С. 45–104.

10. Лапотко А.М. О вкусной и здоровой пище для телят. Как обеспечить физиологически эффективное начало развития молодняка крупного рогатого скота / А.М. Лапотко, Н.И. Песоцкий // Белорусское сельское хозяйство. — 2009. — № 2 (82). — С. 26–30.

11. Пестис В.К. Кормление молодняка крупного рогатого скота: моногр. / В.К. Пестис, С.Н. Пилюк. — Гродно: ГГАУ, 2009. — С. 213–216.

12. Радчиков В.Ф. Пути и способы повышения эффективности использования кормов при выращивании молодняка крупного рогатого скота / В.Ф. Радчиков, В.К. Гурин, В.П. Цай. — Мн.: БИТ «Хата», 2002. — С. 70–78.

13. Радчиков В.Ф. Новые источники протеина в рационах молодняка крупного рогатого скота / В.Ф. Радчиков, В.П. Цай. — Мн.: УП «Технопринт», 2004. — 106 с.

14. Смунев В.И. Технология получения и выращивания здоровых телят: монография. — Витебск, 2017. С. 60–109.

15. Татаркина Н.И. Кормление мясного скота / Н.И. Татаркина // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. — 2008. — №1. — С. 19.

16. Хохрин С.Н. Корма и кормление животных: учеб. пособие. — СПб.: Издательство «Лань», 2002. — 512 с.

## **Development of compound feed KR-1 for young cattle with the addition of barley malt sprouts**

*Razumovskiy S.N.*

Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Animal Breeding, Zhodino, Belarus

### **Abstract**

Based on the studies of the level of feeding, the diet of young animals aged 75–116 days was established, which consisted mainly of mixed grass hay, corn silage, hay from perennial grasses and whole milk. Formulations of compound feed KR-1 with a different level of adding malt sprouts (5, 10 and 15%) instead of corn and triticale were developed, the nutritional value of which was 1.13 feed units. The use of malt sprouts in the compound feed contributed to an increase in protein concentration by 9.7%, in an energy protein ratio from 0.35 to 0.39, and in the nitrogen balance in the rumen by 2.7 g. It was established that the use of malt sprouts in an amount of 5% by weight in the KR-1 compound feed for calves, instead of grain components, enabled to obtain 806 g of body weight gain during the test period, which was 9.3% higher than the control value, while reducing the cost of feed for gaining growth by 7.3%. Feeding the developed compound feed with the supplement of 5% malt sprouts contributed to a decrease in the cost of growth in body weight of calves by 10%.

Key words: feed, diet, barley, sunflower meal, malt sprouts, hematological indicators, live weight gain, feed costs

**СКАРМЛИВАНИЕ ТЕЛЯТАМ ДОБАВКИ  
ИЗ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ  
ОТ ПРОИЗВОДСТВА ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ  
В КАЧЕСТВЕ ПОДКИСЛИТЕЛЯ**

**Надаринская М.А., Голушко О.Г., Козинец А.И.**

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси», г. Жодино, Республика Беларусь.  
E-mail: serovdv@mail.ru

**Аннотация**

В исследовании эффективности скармливания культуральной жидкости, полученной при производстве лимонной кислоты и смешанной с молоком, телятам с трехнедельного возраста в дозировке 16, 24 и 36 мл, а также животным с 5-дневного возраста в дозировке 8, 12 и 24 мл показан положительный эффект на здоровье, иммунитет и продуктивность. Было установлено, что после одного месяца скармливания телятам новой добавки с 3-недельного возраста продуктивность увеличивалась на 6,5; 9,1 и 4,5% соответственно. Молодые животные, получавшие рацион с добавлением лимонного концентрата с 5-дневного возраста, улучшили среднесуточный прирост веса на 4,2; 7,4 и 9,3% соответственно. Введение подкисляющей кормовой добавки способствовало улучшению морфофункциональных свойств эритроцитов и тромбоцитов, а также положительно влияло на иммунный ответ лейкоцитарного профиля, что обеспечивало активацию естественной резистентности у животных.

Ключевые слова: культуральная жидкость, производство лимонной кислоты, молочный период, телята, гематология, резистентность, продуктивность.

## Введение

Современное животноводство существенно страдает от высокого уровня бактерий, вирусов и микроскопических грибов, воздействующих на теленка в постнатальном онтогенезе, поэтому профилактика и лечение желудочно-кишечных заболеваний у животных, возбудителями которых являются условно-патогенные кишечные микроорганизмы, имеет не только экономическое, но и социальное значение. Развиваясь в определенных условиях окружающей среды, растущий организм из многочисленных факторов этой среды ассимилирует и требует для своего существования комплекс тех питательных веществ, без которых не может нормально протекать процесс роста и развития. Полноценное формирование организма обеспечивается точным по времени созревaniem жизненно важных функциональных систем. Но на жизнедеятельность организма теленка оказывают влияние факторы, нарушающие естественную резистентность к опасным агентам. Вследствие этого снижается эффективность использования питательных веществ корма, что негативно отражается на состоянии здоровья животных и продуктивности. В значительной степени это обусловлено большой микробной нагрузкой на поголовье в первый месяц жизни.

Правила использования антибиотиков в животноводстве существенно осложняют профилактику желудочно-кишечных заболеваний у молодняка. Ужесточение системности и частоты применения антибиотиков в Евросоюзе производителям молока и мяса вплоть до полного запрета, особенно для тех, кто применял их для роста показателей отрасли животноводства и в профилактических целях, является мерой ограничения появления устойчивых к ним микрофлоры. По новым правилам использовать антибиотики в животноводстве можно будет только при операциях

или на индивидуальной основе. При заболевании группы животных возможно применение антибиотиков, чтобы остановить распространение заболевания. В настоящее время в Евросоюзе наблюдается ситуация, когда при заболевании одного животного для профилактики лечат все стадо [1]. Поэтому возникла необходимость поиска новых добавок, способных предотвратить негативное действие антибиотических веществ, которые можно использовать для повышения резистентности организма животных [6, 7, 10].

При специфической ветеринарной терапии нередко снижаются защитно-приспособительные реакции организма, а также эффективность лечения (интоксикация, аллергические реакции). Это побудило ученых заняться проблемой сочетания специфической терапии с различными средствами повышения естественной сопротивляемости организма к инфекции в целях мобилизации его защитно-приспособительных реакций [2, 8]. В связи с этим важную роль отводят подкислителям. Это кормовые добавки, состоящие из органических (в некоторых случаях неорганических) кислот или их солей, которые применяют для консервации кормов, подкисления среды пищеварительного канала и контроля уровня патогенной микрофлоры в кормах и организме животных [7, 9, 11]. Многочисленными исследованиями было установлено, что самым эффективным и достаточно безопасным для сельскохозяйственных животных является применение органических кислот в качестве реагентов по снижению pH желудочно-кишечного тракта [3, 6, 11]. Подкислители предотвращают контаминацию кормов, снижают концентрацию болезнетворных бактерий в рационах и пищеварительном тракте животных и птицы, активируют развитие полезной микрофлоры. Они стимулируют секрецию ферментов желудка, поджелудочной железы и кишечника, увеличивают потребление кормов и усвоение питательных веществ. Это положительно

влияет на сохранность поголовья, интенсивность роста, а также позволяет снизить затраты на производство продукции. Считается, что органические кислоты с разной химической структурой имеют общий механизм действия: изменяют внутриклеточный уровень рН граматрицательных бактерий, разрушают их клеточные мембраны и угнетают их основные обменные процессы [2, 5, 7].

После производства лимонной кислоты с помощью гриба *Aspergillus niger* остается большое количество отработанного субстрата с культуральной жидкостью с достаточно существенным содержанием органических кислот, в частности, лимонной. Вследствие своей высокой растворимости лимонная кислота быстро распределяется в жидкостях и при легкой растворимости хелатов необходимых питательных веществ улучшает переваримость питательных веществ, не меняя вкусовых качеств кормов. Также отмечено, что она повышает реакцию на антибиотики, контролирует уровень рН желудка и кишечника и тем самым создаёт благоприятные условия для развития собственной микрофлоры, повышая резистентность организма [6].

Целью наших исследований было изучить эффективность применения кормовой добавки на основе культуральной жидкости после производства лимонной кислоты в период выпойки телятам молока.

### **Материалы и методы**

Для изучения эффективности ввода продуктов после производства лимонной кислоты молодняку крупного рогатого скота проведены два научно-хозяйственных опыта в РДУП «ЖодиноАгроПлемЭлита» Смолевичского района Минской области. Для этого сформировали по принципу пар-аналогов с учетом возраста и живой массы четыре группы телят по 8 гол. в каждой со средней начальной жи-

вой массой 49 кг в возрасте 21 дня в первом эксперименте и 40 кг и с 5-дневного возраста во втором исследовании.

Кормовую добавку в качестве подкислителя в первом научно-хозяйственном опыте скармливали телятам в смеси с молоком: во II опытной группе в количестве 16 мл/гол. лимонного концентрата в сутки, в III опытной группе — в количестве 24 мл/гол./сут. и в IV группе — 32 мл/гол./сут. Животные с добавкой получали ежедневно 1,84 мг лимонной кислоты во II группе, 2,76 мг в III группе и 3,68 мг в IV группе. Телятам I контрольной группы выпаивали молоко без использования кормовой добавки. Продолжительность предварительного периода составила 4 дня и учетного — 30 дней.

Во втором научно-хозяйственном опыте с учетом результатов первого экспериментальную добавку лимонного концентрата в состав молока уже вводили телятам с 4–5-дневного возраста в количестве: 8 мл на голову в сутки во II группе, 16 мл в III опытной группе и 24 мл в IV группе. Телята опытных групп ежедневно с испытываемой кормовой добавкой получали 0,92, 1,84 и 2,76 мг лимонной кислоты, соответственно. Продолжительность скармливания составила 30 дней.

Для контроля за состоянием здоровья отбирали кровь по окончании периода выпаивания молока с лимонным концентратом от 5 голов в каждой группе.

Средний суточный рацион телят в первом опыте состоял из восстановленного заменителя молока 6 л, зерносмеси 0,5 кг и комбикорма КР-1 0,4 кг. В расчете на 1 кормовую единицу приходилось в среднем 120,3–121,7 г переваримого протеина. Поступление с кормами сухого вещества находилось в пределах 1,6 кг, в 1 кг которого содержалось в среднем 0,55–0,56 кормовых единиц, 23,3 г сырой клетчатки и 16,6 МДж обменной энергии. Соотношение кальция к фосфору в рационе телят контрольной группы было рав-

ным 1,11. Сахаро-протеиновое отношение составило в среднем по группам 1,19:1.

Во втором опыте у телят был сходный рацион, и в расчете на 1 кормовую единицу приходилось в среднем по группам 133,6 г сырого протеина. Поступление с кормами сухого вещества находилось в пределах 1,49–1,6 кг, в 1 кг которого содержалось в среднем 0,54–0,56 кормовых единиц, 22,5 г сырой клетчатки и 16,99–16,63 МДж обменной энергии. Соотношение кальция к фосфору в рационе телят I группы было равным 1,09–1,10. Сахаро-протеиновое отношение составило в среднем по группам 1,2:1.

### Результаты исследований и обсуждение

По окончании скармливания добавки в составе восстановленного молока установлено, что к двухмесячному возрасту телята, получавшие 16 мл добавки, превосходили контрольных сверстников по валовому приросту на 1,47 кг, потреблявшие 24 мл — на 2,07 кг и получавшие 32 мл — на 1,11 кг (табл. 1).

Таблица 1

### Показатели продуктивности молодняка крупного рогатого скота

Показатели	Группа			
	I	II	III	IV
Живая масса на начало опыта, кг	49,6±2,02	47,5±1,23	48,0±3,06	50,9±1,23
Конечная живая масса, кг	72,73±2,91	72,10±2,15	73,2±3,45	75,14±1,69
Валовой прирост за 30 дней, кг	23,13±1,39	24,60±1,64	25,20±1,28	24,24±0,99
Среднесуточный прирост за опыт, г	770±51,23	820±65,9	840±38,6	808±68,6

Среднесуточный прирост животных во II группе был больше, чем наблюдался у контрольных аналогов на 50 г, что было выше на 6,5%. С увеличением дозировки трехнедельным телятам подкисляющей добавки до 24 мл на голову в сутки среднесуточный прирост увеличился на 70 г, или 9,1% относительно контрольных аналогов. Животные, с молоком которым ввели максимальную дозировку в количестве 32 мл, превосходили контрольных телят по среднесуточному привесу только на 38 г, или на 4,9%.

В процессе исследования морфо-биохимических показателей крови телят, которое проводили после месяца скармливания новой добавки, установлено улучшение течения обменных процессов в организме опытного молодняка (табл. 2).

Стоит отметить, что концентрация важных для окислительно-восстановительных процессов кровяных клеток была ниже нормативного показателя к полуторамесячному возрасту, однако высокая тенденция повышения связана с улучшением энергетической обеспеченности организма животных и смены красных кровяных клеток в этот период. Инициация смены эритроцитарных клеток видна по достоверному увеличению показателя MCV, что указывает на молодые клетки, размер которых больше, чем у полноценных зрелых эритроцитов. Разница с контролем составила во II группе 9,9% ( $P < 0,05$ ), в III группе — 8,4% и в IV группе — 11,5%. Принимая во внимание показатели RDW, стоит указать, что у животных, получавших 24 мл добавки этот показатель был минимальным, что, наряду со средним объемом эритроцитов, указывает на стабилизационный характер процесса эритропоэза.

Отмечено достоверное увеличение гематокрита в крови опытных аналогов на 6,6%, что в 1,9 и 1,2 раза выше контрольных результатов. Однако на фоне низкого уровня гематокрита стоит отметить положительное влияние добавки

на его нормализацию в кровяном русле к окончанию выпашивания.

Таблица 2

**Морфофункциональные свойства крови  
телят 3-недельного возраста**

Показатели	Группы			
	I	II	III	IV
Эритроциты (RBC), $10^{12}$ /л	2,84±0,19	3,78±0,33	4,43±0,61*	4,82±0,43*
Средний объем эритроцитов (MCV), мкм <sup>3</sup>	34,47±0,59	37,88±0,38*	37,35±0,89*	38,45±0,97*
Ширина распреде- ления эритроцитов (RDW), %	15,13±0,23	14,98±0,38	14,13±0,29*	14,5±0,25*
Гематокрит (HCT), %	8,63±1,75	14,3±1,36*	16,63±2,59*	18,63±2,11**
Тромбоциты (PLT), $10^9$ /л	1177±39,6	753,5±122,8	822,0±168,8	607,8±130,2*
Средний объем тромбоцитов (MPV), мкм <sup>3</sup>	10,73±0,23	9,65±7,77	9,90±0,81	9,43±0,64
Компактный объем тромбоцитов (PCT), %	1,22±0,15	0,65±0,15*	0,85±0,21	0,59±0,15*
Гемоглобин (HGB), г/л	77,7±9,33	80,5±4,94	97,3±9,52	103,9±5,34*
Лейкоциты, $10^9$ /л	7,73±0,71	8,45±1,49	8,93±1,69	13,9±0,89

Концентрация тромбоцитов в крови контрольных аналогов к полуторамесячному возрасту было существенно выше нормы, тогда как введение концентрата лимонной кислоты снизило уровень этих клеток в крови на 36% во II группе, на 30,2% в III группе и на 48,4% в IV группе.

Интенсивность обменных процессов в организме подразумевает под собой повышение окислительной способности крови и увеличение потребностей в кислороде, связанных с такими изменениями. Размер и строение эритроцита имеет непосредственное влияние на свойства, которыми могут характеризоваться красные кровяные клетки.

Содержание гемоглобина в общей крови к полуторамесячному возрасту увеличилось с потреблением добавки на 3,6% во II группе, на 25,2% в III группе и на 33,7% в IV группе.

Количество лейкоцитов с вводом добавки увеличилось в пределах биохимического норматива к окончанию ее скармливания на 9,3% при получении телятами 16 мл добавки и на 15,5% при вводе животным 24 мл добавки. Отмечено, что при поедании телятами добавки в количестве 32 мл наблюдалось повышение уровня лейкоцитов в 1,8 раза в сравнении с контрольными аналогами, что было в пределах верхней границы нормы и указывало на снижение обмена при внесении максимальной дозировки.

Изменение картины лейкоцитарного профиля с вводом добавки в сыворотке крови телят — это влияние на иммунный ответ организма животных (табл. 3).

Содержание лимфоцитов в крови животных увеличивается в ответ как на негативные изменения, так и на отклонения в самом организме, вызванные адаптацией к стрессовым условиям. По окончании скармливания добавки в крови телят II группы наблюдалось повышение на 18,4%, на 11,3% в образцах животных III группы и на 31,2% у аналогов из IV группы. Полученная разница свидетельствует о том, что животные, получавшие 24 мл подкисляющей добавки, имевшие наименьшее повышение лимфоцитов, лучше прошли процесс как адаптации к изменениям в кормлении, так и развития устойчивости к вирусогенным и бактериальным агентам. Данный фактор подтверждается

тем, что у животных III группы отмечено снижение показателя клеток среднего размера, которые, являясь предшественниками основных форм лейкоцитов, стабилизировались через месяц поедания добавки.

Таблица 3

**Показатели лейкоцитарной формулы крови у телят, которые получали добавку с трехнедельного возраста**

Показатели	Группы			
	I	II	III	IV
Лимфоциты (LYM), $10^9/\text{л}$	3,53±0,22	4,18±0,74	3,93±0,62	4,63±0,42
Клетки среднего размера (MID), $10^9/\text{л}$	2,03±0,33	2,50±0,60	1,83±0,18	2,00±0,20
Гранулоциты (GRAN), $10^9/\text{л}$	2,17±0,87	1,78±0,26	3,18±1,09	7,28±0,73
Лимфоциты (LYM%), %	45,6±2,45	49,1±3,99	45,1±2,60	33,3±3,18
Клетки среднего размера (MID%), %	27,30±5,99	28,50±2,00	22,60±1,63	24,33±0,91
Гранулоциты (GRAN%), %	27,2±8,28	22,4±3,42	32,3±6,57	42,37±1,46

Гранулоциты — это нейтрофилы, базофилы и эозинофилы. Они составляют около 60% от всех белых кровяных клеток. Среди них наиболее многочисленными являются нейтрофильные гранулоциты — самая многочисленная группа зернистых лейкоцитов. Они в большей степени отвечают за иммунный ответ организма. Нейтрофилы могут осуществлять фагоцитоз, но способны поглощать только небольшие частицы, поэтому их относят к микрофагам. После поглощения чужеродных клеток они погибают, при этом освобождается большое количество активных веществ, которые приводят к повреждению вредных микро-

организмов, усиливают воспалительные процессы и передвижение иммунных клеток к очагу инфекции. Количество гранулоцитов в крови аналогов из II группы снизилось в сравнении с контролем на 18%. Увеличение ввода добавки до 24 мл способствовало повышению на 18,8%, и при даче максимальной дозировки 32 мл отмечено повышение в 1,6 раза. Абсолютное содержание гранулоцитов в крови относительно всех форменных элементов было больше контроля в III группе – на 5,1 п.п. Доведение добавки до 32 мл на голову провоцировало повышение гранулоцитов, что превышало контрольный результат на 25,2 п.п.

Во втором опыте продуктивность телят через месяц исследований по скармливанию добавки повысилась в сравнении с контрольными животными (табл. 4).

*Таблица 4*

**Показатели среднесуточного прироста у телят с 5-дневного возраста**

Показатели	Группа			
	I	II	III	IV
Живая масса начало опыта, кг	40,0±2,72	43,6±1,23	40,2±3,06	45,8±2,06
Конечная живая масса, кг	58,5±2,49	63,0±1,05	60,2±1,91	68,0±2,21
Валовой прирост за 30 дней, кг	18,5±0,803	19,4±0,68	20,0±1,28	20,6±0,68
Среднесуточный прирост за опыт, г	623±26,86	649±22,3	669±27,3	681±22,5

Валовой прирост по окончанию скармливания добавки во II группе повысился на 0,9 кг, или на 4,9%; при скармливании телятам 16 мл добавки они превысили контрольных сверстников на 1,5 кг, или на 8,1%, а с вводом 24 мл

добавки — на 2,1 кг, или на 11,4%. Среднесуточный привес за месяц при включении добавки во II группе повысился на 26 г, или на 4,2%, в III группе — на 46 г, или 7,4%, и в IV группе — на 58 г, или на 9,3%.

Анализ гематологического профиля животных после скармливания добавки телятам с пятидневного возраста свидетельствует о повышении активности окислительно-восстановительных процессов в организме (табл. 5).

При изучении размеров и активности эритроцитов подопытных животных не установлено существенного влияния потребления животными добавки с пятидневного возраста и по окончании ее ввода к двухмесячному возрасту. Концентрация самих эритроцитов в организме повысилась на 6,8% во II группе, на 31,5% в III группе и на 25,7% в IV группе. Количество гематокрита в крови животных повысилось на 6,8% во II группе, на 33,3% в III группе и на 28,5% в IV группе. Концентрация гемоглобина увеличилась на 12,3% во II группе, на 30,9% в III группе и на 24,3% в IV группе. Содержание тромбоцитарных клеток в образцах крови контрольных животных превышало верхний предел норматива ( $260-700 \cdot 10^9/\text{л}$ ). Концентрация тромбоцитов в крови опытных животных при вводе 8 мл добавки снизилась на 12,2%, при включении 16 мл животным каждый день — на 23,7%, и при даче 24 мл добавки разница составила 5,2%. Следует отметить, что морфофункциональные свойства тромбоцитов с учетом их размера и активности при скармливании испытуемой добавки улучшились. Данные по MPV и PCT характеризуются снижением показателей в сравнении с контролем, что указывает на положительное влияние вводимой добавки на развитие тромбоцитарных клеток и повышение их функциональной активности. Средний объем тромбоцитов снизился на 10,1% во II группе, на 7,7% в III группе и на 12,1% в IV группе.

**Морфофункциональные свойства крови телят  
с 5-дневного возраста**

Показатели	Группы			
	I	II	III	IV
Эритроциты (RBC), $10^{12}$ /л	3,11±0,35	3,32±0,43	4,09±0,58	3,91±0,39
Средний объем эритроцитов (MCV), мкм <sup>3</sup>	36,93±0,65	36,70±0,68	37,35±0,78	37,9±0,43
Ширина распределения эритроцитов (RDW), %	14,3±0,23	15,2±0,34	14,43±0,47	14,48±0,39
Гематокрит (HCT), %	11,5±1,49	12,28±1,77	15,33±2,45	14,8±1,59
Тромбоциты (PLT), $10^9$ /л	822,5±136,1	722,3±141,1	627,3±150,7	779,4±130,2
Средний объем тромбоцитов (MPV), мкм <sup>3</sup>	10,73±0,23	9,65±7,77	9,90±0,81	9,43±0,64
Компактный объем тромбоцитов (PCT), %	0,71±0,16	0,69±0,19	0,57±0,18	0,79±0,19
Гемоглобин (HGB), г/л	70,5±4,56	79,2±5,95	92,25±9,28	87,6±5,94
Лейкоциты, $10^9$ /л	7,73±0,71	8,45±1,49	8,93±1,69	13,9±0,89

Содержание лейкоцитов при общей норме в сыворотке крови, равной 4,5–12,0  $10^9$ /л, в образцах подопытных животных было выше после скармливания добавки, чем в контроле. Максимальная дозировка способствовала некоторому превышению нормативного показателя. Количество лимфоцитов как защитной формы лейкоцитарных кле-

ток организма телят с включением добавки повысилось в группе, получавшей 16 мл добавки, на 30,3% (табл. 6).

Повышение уровня вводимой добавки до 24 мл, как в предыдущем опыте, снизила показатель концентрации лимфоцитов на 3,0%. Количество средних клеток в крови телят при дозировке в 24 мл/сут. вызвало снижение показателя на 25%. Абсолютное количество гранулоцитов при скармливании лимонного концентрата в дозировке было у телят постарше, а в исследованиях на 5-дневных выросло на 1,32 п.п. При этом отмечены повышение этого показателя во II группе на 2,14 п.п. и снижение в III группе в сторону лимфоцитного показателя.

*Таблица 6*

**Показатели лейкоцитарной формулы крови у телят,  
получавших добавку с 5-дневного возраста**

Показатели	Группы			
	I	II	III	IV
Лимфоциты (LYM), $10^9/\text{л}$	3,3±0,35	3,3±0,43	4,30±0,78	3,2±0,35
Клетки среднего размера (MID), $10^9/\text{л}$	1,60±0,12	1,56±0,15	1,90±0,30	1,20±0,19
Гранулоциты (GRAN), $10^9/\text{л}$	4,5±1,14	4,1±0,71	3,0±0,59	3,8±0,36
Лимфоциты (LYM%), %	36,98±5,64	36,12±2,59	46,58±3,31	39,28±1,39
Клетки среднего размера (MID%), %	17,34±3,12	16,66±1,71	20,48±2,93	14,32±1,28
Гранулоциты (GRAN%), %	45,08±8,39	47,22±3,34	32,95±7,39	46,40±2,51

Абсолютное содержание клеток среднего размера было минимальным у аналогов из IV группы, что указывает на

становление собственных защитных сил организма, благодаря чему уровень предшественников лейкоцитов снизился на 3,02 п.п. при повышении показателя в III группе на 3,14 п.п. Уровень абсолютного содержания лимфоцитов, при максимальном показателе в III группе, у аналогов из IV группы был выше на 2,3 п.п., чем в контроле, и ниже чем у сверстников, получавших 16 мл/сут., на 7,3 п.п.

### **Выводы**

Скармливание телятам добавки на основе культуральной жидкости после производства лимонной кислоты в молочный период с трехнедельного и 5-дневного возраста оказывает положительное влияние на течение окислительно-восстановительных процессов, повышая содержание эритроцитов и гемоглобина, обеспечивает качественный процесс тромбоцитопоэза, улучшая морфофункциональные характеристики тромбоцитов и оказывает выраженный иммунный ответ лейкоцитарного профиля организма животных. Улучшение естественной резистентности и сохранение нормофлоры у телят способствует улучшению не только усвояемости питательных веществ, но и сохранности их для повышения продуктивности животных.

### **Список литературы**

1. В Евросоюзе ограничат использование антибиотиков в животноводстве // Портал Intex-press [Электронный ресурс]. — 2018. — Режим доступа: <https://www.intex-press.by/2018/11/01/v-evrosoyuze-ogranichat-ispolzovanie-antibiotikov-v-zhivotnovodstve/>. — Дата доступа: 01.11.18.
2. Игнатъев В. Все еще применяете антибиотики? Альтернатива есть! / В. Игнатъев // Животноводство России. — 2003. — № 4. — С. 18–19.
3. Использование сухого мицелия — отхода производства лимонной кислоты в кормлении молодняка крупного рогатого

скота, свиней и овец / И.В. Слесарев [и др.] // Методич. рекомендации. — Минск, 1989. — С. 15.

4. Консерванты для комбикормов / Л.И. Карпов [и др.] // Кормопроизводство. — 1986. — № 8. — С. 38.

5. Кубасов К.К. Лимонная кислота. Обзор / К.К. Кубасов, С.В. Берстенёв, Д.В. Волков, К.Ж. Жамбакин // Новости науки Казахстана. — Алматы. — № 3 (125). — 2015.

6. Лушников К.В. Органические кислоты: свойства и спектр применения в сельском хозяйстве / К.В. Лушников, Желамский С.В. // <http://www.agrogos-companv.ru/library/article/?nid=14>.

7. Методические рекомендации по применению подкислителей при производстве комбикормов для сельскохозяйственных животных и птицы / Г.С. Корнилович [и др.].

8. Найденский М. Применение органических кислот для развития животных / М. Найденский, Р. Кормилиев, В. Лукачева // Комбикорма. — 2002. — № 7. — С. 53.

9. Нефедов Г.В. В выгоды финских консервантов убедились многие // Животноводство России. — 2002. — № 4. — С. 18–19.

10. Онищенко А.П. Ослабление стрессов при интенсивной технологии производства говядины / А.П. Онищенко, А.М. Моностырев // Монография. — Троицк: М-во сел. хоз-ва Рос. Федерации, ФГБОУ ВПО «Урал. гос. акад. ветеринар. Медицины». — 2012. — 109–112.

11. Столляр А. Подкислители кормов. Давайте разберемся / А. Столляр. — Ценовик. — № 11. — 2011. — С. 70.

12. Эббинге Б. Подкислители улучшают корма / Б. Эббинге // Животноводство России. — 2004. — № 9. — С. 34–35.

### **Feeding animals with supplement prepared from culture fluid obtained during citric acid production and used as acidifier**

*Nadarinskaya M.A., Golushko O.G., Kozinets A.I.*

Research and Practical Center of the National Academy  
of Sciences of Belarus for Animal Breeding, Zhodino, Belarus

## **Abstract**

A study of efficiency of feeding a culture fluid obtained during production of citric acid and mixed with milk to calves from 3 weeks of age in dosage of 16, 24 and 36 ml, and to animals from 5 days of age in dosage of 8, 12 and 24 ml suggested a positive effect on health, immunity and performance. It has been determined that after one month of feeding calves with a new supplement from 3 weeks of age, the performance increased by 6.5, 9.1 and 4.5%, respectively. Young animals fed the diet supplemented with citric concentrate from the 5-day age improved their average daily weight gain by 4.2, 7.4 and 9.3%, respectively. Administration of acidifying feed supplement facilitated improvement of morphofunctional properties of erythrocytes and platelets, and had a positive effect on immune response of leukocyte profile, which ensured activation of natural resistance in animals.

Key words: culture fluid, citric acid production, lactation period, calves, hematology, resistance, performance

**БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНАЯ ДОБАВКА  
НА ОСНОВЕ ГРИБА *FUSARIUM SAMBUCINUM*  
ПРИ СКАРМЛИВАНИИ ТЕЛЯТАМ  
В МОЛОЧНЫЙ ПЕРИОД**

**Надаринская М.А., Голушко О.Г.**

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси», г. Жодино, Республика Беларусь.

E-mail: serovdv@mail.ru

**Аннотация**

При изучении биологически активной добавки Acido Bio-CIT на основе культуральной жидкости гриба *Fusarium sambucinum*, скормливаемой телятам в молочный период в количестве 40, 60 и 80 мл на животное в сутки, установлено положительное влияние на нарушения пищеварения за счет усиления естественных защитных факторов, обеспечивающих наилучший рост и развитие животных. Установлено, что введение добавки «Ацидо Био-ЦИТ» снижает среднюю продолжительность нарушений при пониженном диапазоне температур и влажности в случае максимальной дозировке 80 мл, показывая значительное уменьшение количества погибших телят. Доказано, что продуктивность после поения телят добавкой увеличилась в среднем на 5,6; 9,5 и 9,2% соответственно, с периодом последствия 2 месяца, а опытные животные превосходили контроль на 4,3; 7,2 и 9,6% соответственно. Гематологический профиль телят, получавших добавку «Ацидо Био-ЦИТ», отличался повышением уровня эритроцитов, гемоглобина и гематокрита. Добавка, используемая для кормления телят в суточном количестве 80 мл,

способствовала усилению иммуномодулирующего эффекта за счет увеличения моноцитов и нейтрофилов.

Ключевые слова: телята, молочный период, расстройство пищеварения, биологически активная добавка, *Fusarium sambucinum*, продуктивность, гематологические показатели

## **Введение**

Существенным резервом увеличения производства продуктов животноводства и улучшения их качества является систематическое снижение заболеваемости и отхода поголовья животных. Одной из важных задач современного животноводства является улучшение стрессоустойчивости животных. По мере индустриализации сельского хозяйства все больше обостряется подверженность молодняка стрессу в постнатальном развитии и обуславливается все большим перечнем факторов. По данным многочисленных исследований, стрессоустойчивость животного на 70–80% зависит от кормления и содержания и лишь на 20–30% от генетического потенциала [6, 12].

Влияние стрессов на продуктивность зависит от силы неблагоприятного воздействия и уровня резистентности или устойчивости организма теленка к ним. Серьезный стресс, который может привести к патологии и клиническим признакам болезни, в производстве купируют тканевыми препаратами и транквилизаторами, что не наносит такого ущерба животноводству, как стресс с небольшой силой воздействия. Неблагоприятные погодные условия, снижение качества кормов, перенесенные заболевания матери, вакцинация и перегруппировка могут обусловить физиологическое течение стресса без клинических признаков [4, 8]. Отклонения в организме в постнатальный или молочный период вызывают нарушения, начиная с дисбаланса микрофлоры, что приводит к изменениям на разных

этапах метаболизма. Следствием всех сопутствующих причин является ухудшение здоровья и уменьшение продуктивности.

Последствием сильного стрессового воздействия является значительный процент расстройств желудочно-кишечного тракта, которые, ослабляя сопротивляемость организма теленка, могут привести к более серьезным формам заболеваний (диспепсия, гастроэнтерит и др.), а при острой форме их протекания и к гибели животных [7]. Вопрос о заселении и поддержании специфической микрофлоры желудочно-кишечного тракта молодняка всплывает всякий раз, когда продуктивность и рост молодняка в первые месяцы жизни, имеет низкие показатели. Решением такой существенной проблемы скотоводства является использование пробиотиков, пребиотиков, симбиотиков и тканевых стимуляторов. У каждого предложения производству есть свои преимущества и свои минусы [3, 5].

В последнее десятилетие актуально решение проблем предотвращения и лечения желудочно-кишечных расстройств у молодняка в раннем онтогенезе, профилактики энтеритов, а также изыскание рычагов воздействия для мобилизации метаболизма после воздействия стресса [1].

Одним из решений является использование пептидов в кормлении животных. Внимание ученых к природным пептидам, которые воздействуют на множество физиологических функций организма, в значительной степени обусловлено их высокой биологической активностью [10]. Действие пептидов на клеточном уровне ведет к восстановлению синтеза белков, функциональности органов и тканей, укреплению иммунной системы, нормализации функции печени, углеводного обмена и др. [9, 13]. Интерес к природным фенольным соединениям обусловлен тем, что они, будучи постоянными компонентами растительных клеток и тканей, выполняют в их составе ряд существен-

ных метаболических, регуляторных и защитных функций, систематически поступая с кормом в организм животных и длительно на него воздействуют [2, 14].

Использование культуральной жидкости монокультуры продукта метаболизма гриба *Fusarium sambucinum* и препаратов на ее основе как источника пептидов и биологически активных веществ фенольной природы практиковалось в медицине на беременных женщинах и людях с ослабленным иммунитетом и пожилого возраста, а также в качестве протекторной обработки после лучевой терапии [11]. В сельском хозяйстве добавки на ее основе использовались на гипотрофичном поголовье поросят и телят. В Европе кормовые добавки на основе культуральной жидкости *Fusarium sambucinum* скармливали ценным видам животных (беговые лошади, производители и др.) [9].

Целью наших исследований явилось изучение скармливания добавки на основе культуральной жидкости гриба *Fusarium sambucinum* в рационах телят в молочный период.

### **Методика исследований**

На основе культуральной жидкости гриба *Fusarium sambucinum* в ООО «Инновационные технологии» получена биологически активная добавка «Асидо Био-ЦИТ» с дополнительным включением органических кислот. По данным РУП «Центральная научно-исследовательская лаборатория», в добавке содержится 10,03% сухого вещества с преобладающим количеством молочной и лимонной кислот — 3,1 и 3,6%, соответственно, на средней нише присутствует муравьиная — 2,0%, а также другие органические кислоты — бензойная, уксусная, щавелевая, пропионовая (в пределах 0,2–0,58%).

Исследования по вводу биологически активной добавки «Асидо Био-ЦИТ» проводились на телятах со средней жи-

вой массой 40,0 кг в условиях РДУП «ЖодиноАгроПлемЭлита» Смолевичского района Минской области. Опытным животным на 2-й день после рождения выпаивали биологически активную добавку «Асидо Био-ЦИТ» в количестве 40, 60 и 80 мл на голову по два раза в день по 20, 30 и 40 мл на голову за разовую дачу молока (II, III и IV группы). Продолжительность исследований составила 65 дней.

Эксперименты на телятах молочного периода проведены в весеннее время, когда животные имеют более сниженную жизнеспособность и устойчивость, чем в другое время года по причине низкой витаминной питательности рациона коров-матерей. Их адаптационная способность и склонность к первому расстройству пищеварения анализировалась до первого ее проявления с подсчетом дней продолжительности заболевания. Учитывался температурный режим, который в ночное время находился в пределах 0–1,0°C и в дневное был в пределах 7,6–8,1°C при влажности 82–85%. Высокая влажность и низкая ночная температура способствовали напряжению всех обменных процессов для сохранения организма теленка здоровым, а наличие дополнительного стресс-фактора, коим в нашем случае явилось сборное молоко, негативно сказывалось на теленке.

### **Результаты исследований и обсуждение**

Известно, что первым критическим периодом для молочного молодняка считают 5–6-й день жизни. В наших исследованиях наблюдалось первое проявление расстройства на 5-й день жизни, сопровождаемое очень жидким стулом у телят из II опытной и I контрольной у 60–70% поголовья. У аналогов, которым выпаивали 80 мл добавки в день, первые проявления расстройства были на 7-й день у 20% поголовья. Данная тема имеет свое продолжение в том, что чем раньше началось расстройство пищеварения и

дольше растянулась продолжительность заболевания, тем ниже устойчивость организма, что и наблюдалось у животных I контрольной и II группы при начале заболевания на 5-й день (табл. 1).

*Таблица 1*

**Проявление признаков расстройства пищеварения у подопытных телят**

День проявления поноса	Группы			
	I контрольная	II опытная	III опытная	IV опытная
На 5-й день, %	9	22	–	–
6-й день, %	9	44	10	–
7-й день, %	18	–	20	20
8-й день, %	18	24	40	70,0
9–10-й день, %	36	–	30	–
Пало животных, %	10	10	–	–
Не болело животных, %	–	–	–	10

Инициация заболевания на 6-й день являлась критическим моментом для всех подопытных телят, кроме животных IV группы, получавших 80 мл добавки. Расстройство желудочно-кишечного тракта в контрольной группе привело к заболеванию диспепсией и сильному расстройству пищеварения от 6 до 8 дней. Продолжительность расстройства пищеварения в среднем по опытным группам составила 4 дня с небольшим отклонением во II группе, при разнице с контролем 42,9%.

Нарушение пищеварения в контрольной группе на фоне сильного обезвоживания и диспепсии вызывало не только отказ от еды, но и отказ от воды и требовало ветеринарно-

го вмешательства, тогда как при расстройстве пищеварения в пределах 2–3 дней в опытных группах не всегда требовалась медикаментозная помощь.

Вторым критическим периодом для телят раннего постнатального периода считается 14 дней, чаще в производстве он сдвигается к 9–10-му дню. Установлено, что продолжительность расстройства пищеварения у животных, болевших в этот период в контроле, была выше на 25%, чем в группах получавших 60 и 80 мл биологически активной добавки на голову в сутки. Общий анализ показателей учета ветеринарной помощи (табл. 2) указывает, что всем заболевшим животным в I и во II группе вводили антимикробные препараты 3–4 дня, тогда как в группе, получавшей 60 мл добавки на голову в сутки, инъекции антибиотиков делали только 3 головам из 10. В результате исследований установлено, что в IV группе ветеринарному вмешательству подверглось 1 голова из 10, или 10%.

*Таблица 2*

**Ветеринарные мероприятия по лечению расстройства  
желудочно-кишечного тракта у подопытных телят,  
получавших биологически активную добавку  
«Асидо Био-ЦИТ»**

Период	Группы			
	I	II	III	IV
Начало лечения 3-й день заболевания, гол.	3	3	2	1
Начало лечения 4-й день заболевания, гол.	5	4	1	–
Продолжительность лечения 2 дня, гол.	–	1	–	1

Период	Группы			
	I	II	III	IV
Продолжительность лечения 3 дня, гол.	–	4	3	–
Продолжительность лечения 4 дня, гол.	8	2	–	–
Обработка интерфероном, гол.	8	3	2	–
Обработка антибактериальными препаратами, гол.	8	7	3	1
В среднем по группе прошли ветеринарное лечение, гол.	8	7	3	1
Затраты на группу с учетом препаратов, руб.	20,52	13,12	4,71	0,61

Рацион телят по фактически съеденным кормам состоял из молока (сборного) в количестве 6,0 л на голову, зерно-меси (пшеница–овес) — 0,55–0,65 кг, комбикорма КР-1 — 0,55–0,65 кг и включения биологически активной добавки к молоку у опытных телят.

Установлено, что поедание концентрированной части рациона животными опытных групп увеличилось. Потребность в сухом веществе у телят первой фазы выращивания составляет 3,0 кормовых единицы, что практически покрывалось кормами рациона. Установлено, что обеспеченность протеином составила 140 г сырого протеина на 1 кормовую единицу, 127 г переваримого протеина и 8,5 Мдж обменной энергии.

По интенсивности роста молодняк крупного рогатого скота при скармливании добавки превзошел контрольных аналогов (табл. 3).

Через два месяца после окончания выпаивания добавки «Асидо Био-ЦИТ» установлено, что по валовому приросту

за период исследований телята, получавшие с молоком 40 мл препарата, превысили аналогов из контроля на 2,0 кг. Животные, получавшие 60 мл добавки, превзошли аналогов из контрольной группы на 3,4 кг, что составило 9,5% в сравнении с контролем. Поступление с молоком добавки в количестве 80 мл на голову обеспечило повышение валового прироста на 3,3 кг, или на 9,2% относительно контрольных телят.

Таблица 3

**Показатели продуктивности телят**

Показатели	Группа			
	I	II	III	IV
Живая масса при постановке на опыт, кг	40,6±0,81	39,6±1,62	41,1±0,92	40,6±1,12
Конечная живая масса, кг	76,3±2,45	77,3±3,66	80,2±1,49	79,6±2,58
Валовой прирост, кг	35,7±2,16	37,7±3,20	39,1±2,10	39,0±2,12
Среднесуточный прирост за опыт, г	576±22,2	608±60,5	631±24,5	629±26,9

Среднесуточный прирост за период скармливания добавки у опытных животных во II группе был выше показателей в контрольной группе на 32 г, или на 5,6%. Увеличение дозировки вводимого с кормами добавки на основе культуральной жидкости гриба в III группе обеспечило разницу в 56 г, или 9,5%. Аналоги из IV группы по среднесуточному приросту отличались от контроля по истечению периода скармливания на 53 г, или 9,2%.

По окончанию скармливания добавки и перевода телят на выгульное групповое содержание в юртах по 15 голов за их ростом и развитием проводилось наблюдение по приростам живой массы без учета расхода кормов (табл. 4).

Таблица 4

## Показатели живой массы телят в период последствий

Показатели	Группы			
	I	II	III	IV
Живая масса телят на начало исследований, кг	35,9±0,82	39,6±1,62	41,13±0,92	40,6±1,12
Живая масса телят в период последствий скармливаемой добавки, кг	125,2±4,32	132,7±4,32	136,8±4,20	138,4±8,89
Валовой привес за время скармливания и последствий добавки, кг	89,3±2,13	93,1±11,34	95,7±4,01*	97,8±4,33*
Средний суточный прирост, г	763±35,4	796±35,4	818±29,7*	836±30,5*
Дней опыта и наблюдения	117±1,17	117±1,17	117±1,13	117±0,99
% к контролю	–	4,3	7,2	9,6

Установлено, что телята, получавшие опытную добавку, превзошли контрольных аналогов через два месяца периода последствий по валовому приросту на 3,8 кг во II группе, на 6,4 кг в III группе и на 8,5 кг в IV группе. Контрольный расчет среднесуточного привеса телят в среднем за весь период выпаивания добавки и времени последствий (117 дней) показал, что у животных, получавших добавку, показатели продуктивности были выше. Выпаивание телятам 40 мл на гол./сут. способствовало получению валового прироста на 33 г, или 4,3%, выше, чем в контроле. У животных, получавших 60 мл/гол./сут., показатели прироста превзошли контрольных сверстников на 55 г, или

7,2%. Максимальный прирост в среднем за период выпаивания и последействия добавки обеспечило скармливание 80 мл/гол./сут. в IV группе, что превысило показатели контрольных телят на 73 г, или 9,6%.

В результате полученных экспериментальных данных можно сделать вывод, что животные, получавшие 80 мл добавки «Асидо-Био ЦИТ», развивались и росли лучше других подопытных аналогов.

Интенсивность обмена веществ — один из важных рычагов роста и развития животных в первый месяц после рождения. По активности синтеза эритроцитов на фоне высокого влияния внешних факторов можно проследить отражение на организме теленка негативных воздействий. Состояние здоровья животных характеризуется по уровню интенсивности обмена и показателям гуморальной защиты, которые отражает морфологический состав крови (табл. 5). Содержание эритроцитов, клеток отвечающих за скорость окислительных процессов, в крови животных после двухмесячного периода скармливания повысилось на 10,9% при вводе 40 мл добавки, на 13,9% при выпаивании 60 мл добавки и на 14,6% при включении 80 мл. Таким образом, при изучении полученных данных установлено положительное влияние от введения биологически активной добавки «Асидо-Био ЦИТ» в жидкой форме.

В условиях иммунодепрессии повышаются гемоциркулирующая функция, отражающаяся в повышении свертываемости и числа тромбоцитов, и регенеративная — путем возрастания количества эритроцитов и других форменных элементов. Количество гемоглобина превысило показатели в контроле на 10,9% во II группе, на 15,9% в III группе и на 14,9% в III группе. Уровень лейкоцитов в крови у телят, получавших минимальную дозировку кормовой добавки, имеет несколько повышенное количество их в крови, что превысило контроль на 36,6%. Количество лимфоцитов

увеличилось на 18,5%, моноцитов — на 11,3%, эозинофилов — на 6,2% и нейтрофилов — на 18,6%. Данный фактор обмена в большей степени объясняется непосредственной реакцией организма на живую культуру гриба при низкой концентрации кислот.

Таблица 5

**Гематологические показатели телят  
при скармливании добавки «Асидо Био-ЦИТ»  
в жидкой форме через 3–5 дней после рождения**

Показатели	Группы			
	I контроль	II опытная (40 мл)	III опытная (60 мл)	IV опытная (80 мл)
Эритроциты, $10^{12}/л$	8,01±0,42	8,88±0,77	9,12±0,70	9,18±0,44
Гемоглобин, г/л	68,0±3,26	75,4±5,92	78,8±7,14	78,1±6,40
Гематокрит, %	21,98±2,91	21,82±5,29	26,2±4,39	26,0±2,64
Лейкоциты, тыс. $мм^3$	11,2±1,44	15,3±0,88	11,36±3,00	14,0±0,44
Лимфоциты, %	54,7±3,03	44,57±3,88	51,02±8,57	27,10±9,30
Моноциты, %	6,63±1,34	7,38±2,54	7,90±1,99	8,08±1,03
Эозинофилы, %	7,3±2,33	7,75±1,56	7,83±4,50	7,88±2,35
Нейтрофилы, %	35,64±5,09	42,28±5,28	38,96±11,44	69,8±17,54
Тромбоциты, $10^9/л$	1040±122,3	615,3±156,9	975,0±116,5	639,5±138,5

Анализ данных клеточного состава системы белой крови у животных III группы свидетельствует, что концентрация лейкоцитов в сыворотке осталась на уровне с контрольными показателями, количество лимфоцитов превысило контрольный результат лишь на 6,7%, а содержание нейтрофилов — на 9,3%. Данная разница была ниже в

сравнении с группой, получавшей минимальную дозировку, что в большей степени объяснимо при сравнении с животными IV группы.

При максимальной дозировке добавки общее содержание лейкоцитов в организме телят увеличилось на 25%, что на фоне увеличения уровня лимфоцитов в 2 раза, моноцитов на 21,9% и нейтрофилов в 1,9 раза указывает на лучший иммунный ответ в организме животных этой группы. С учетом имеющихся данных во II и III группах установлено, что показатели естественной резистентности при стрессах различной этиологии вызваны реакцией самого организма. Иммуномодуляция за счет внесения кормовой добавки в III группе имеет ограниченный потенциал и скорее обосновано сохранением естественной резистентности, тогда как доведение дозировки выпаивания добавки до 80 мл спровоцировало рост и развитие белых клеток крови.

### **Заключение**

С учетом имеющихся результатов исследований по изучению эффективности выпаивания молодняку крупного рогатого скота в постнатальный период биологически активной добавки «Асидо-Био ЦИТ» на основе культуральной жидкости гриба *Fusarium sambucinum* установлено положительное влияние на показатели естественной резистентности при распространенных стрессах различной этиологии за счет иммуноустойчивости, что способствует повышению продуктивности и сохранению здоровья при скармливании 80 мл/гол./сут.

### **Список литературы**

1. Авакьянц Б.М. Сравнительная оценка различных методов лечения диспепсии телят / Б.М. Авакьянц, А.В. Коробов, А.И. Шретер // Новое в диагностике, лечении и профилактике болезней животных. — М., 1996. — С. 31–33.

2. Барабой В.А. Биологическое действие растительных фенольных соединений / В.А. Барабой. — К.: Наукова думка, 1976. — 250 с.
3. Борознов С.Л. Использование пробиотиков и пребиотиков в лечении и профилактике болезней телят / С.Л. Борознов // Учёные записки Витебской государственной академии ветеринарной медицины. — 2008. — Т. 44, вып. 1. — С.69–73.
4. Емельяненко П.А. Иммунная система жвачных / П.А. Емельяненко // Проблемы ветеринарной иммунологии. — М.: ВАСХНИЛ, 1985. — С. 40–46.
5. Иванова Л.И. Повышение сохранности телят / Л.И. Иванова, Е.К. Кокорина, П.Е. Лесков // Молочное и мясное скотоводство. — 1986. — № 5. — С. 50–51.
6. Карпуть И.М. Иммунология и иммунопатология болезней молодняка / И.М. Карпуть. — Мн.: Ураджай, 1983. — 250 с.
7. Мищенко В.А. Меры борьбы с диареями новорождённых телят / В.А. Мищенко [и др.] // Ветеринария. — 2002. — № 4. — С. 16–19.
8. Молчанов М.В. К вопросу о сроках иммунологической реактивности у телят / М.В. Молчанов [и др.] // Сельскохозяйственная биология. — 1981. — № 2. — С. 292–294.
9. Погорельская Л.В. Пептидные биорегуляторы на основе метаболитов мицелиальных грибов / Л.В. Погорельская [и др.] // <http://www.floravit.ru/doclad.pdf>.
10. Структура и свойства пептидов // <http://studopedia.org/1-7444.html>.
11. Студеникин В.М. Пептидные биорегуляторы и их применение: от неонатологии до геронтологии / В.М. Студеникин, Л.А. Пак, С.В. Балканская, В.И. Шелковский, С.Ш. Турсунхужаева // <https://www.lvrach.ru/2010/06/14354644/>.
12. Терехов В.И. Проблемы острых кишечных болезней молодняка сельскохозяйственных животных и их решения / В.И. Терехов // Актуальные проблемы молодняка в современных условиях: сб. науч. тр. — Воронеж, 2002. — С. 48–51.
13. Чипенс Г.И. Структурные основы действия пептидных и белковых иммунорегуляторов / Г.И. Чипенс. — Рига, 1990. — 348 с.

14. Böhm G. Die Flavonoide. Mitt. 1–8 // Arzneimittel-Forsch. — 1959. — Bd. 9. — S. 539; Bd. 10. — S. 647; Bd. 12. — S. 778; 1960. — Bd. 1. — S. 54; Bd. 2. — S. 139.

**Biologically active supplement based on *Fusarium sambucinum* fungus for feeding calves during dairy period**

*Nadarinskaya M.A., Golushko O.G.*

Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Animal Breeding, Zhodino, Belarus

**Abstract**

When studying biologically active supplement Acido Bio-CIT based on a culture fluid from the fungus *Fusarium sambucinum* and fed to calves during dairy period in the amount of 40, 60 and 80 ml per animal a day, positive effect on digestive disorders has been determined in terms of growth of natural defense factors, which ensured the best growth and development of animals. With administration of the Acido Bio-CIT supplement, it has been found that the average duration of disorders in a reduced temperature range and humidity lowered at a maximum dosage of 80 ml against the background of significant decrease in the number of perished calves. It has been proved that performance after watering calves with supplement increased on average by 5.6, 9.5 and 9.2%, respectively, with a two-month aftereffect period, and the experimental animals surpassed the control by 4.3, 7.2 and 9.6%, respectively. The hematological profile of calves fed the Acido Bio-CIT supplement has been distinguished by an increase in the level of erythrocytes, hemoglobin and hematocrit. The supplement used in the daily amount of 80 ml for feeding calves contributed to higher immunomodulatory effect due to increase in monocytes and neutrophils.

Key words: calves, dairy period, indigestion, dietary supplement, *Fusarium sambucinum*, performance, hematological parameters

## **ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ ФИТАЗНОЙ ДОБАВКИ НА ОБЩЕЕ МИКРОБНОЕ ЧИСЛО И СОСТАВ МИКРОФЛОРЫ КИШЕЧНИКА МЯСНЫХ ЛИНИЙ КУР**

**Мотин М.С., Мясникова О.В., Манукян В.А.,  
Куванов Т.К., Берникова К.Е.**

ФГБОУ ВО «Московская государственная академия  
ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА  
имени К.И. Скрябина», Москва, Россия.  
E-mail: krox1710@gmail.com

### **Аннотация**

В настоящей работе проводили исследование состава микробиома в желудочно-кишечном тракте у кур мясного направления методами ПЦР в реальном времени и NGS-секвенирования при добавлении в рацион препарата Фитаза. После длительного скармливания добавки из образцов содержимого слепых отростков выделили ДНК, определено общее микробное число и состав микрофлоры.

Ключевые слова: куры-несушки, желудочно-кишечный тракт, слепые отростки, микрофлора, микробиота, микробиом, RT-PCR, NGS-секвенирование, ПЦР

### **Введение**

В настоящее время воздействие пробиотиков, антибиотиков и других препаратов на состав микрофлоры желудочно-кишечного тракта как у яичной, так и у мясной птицы изучается с помощью молекулярно-генетических методов, таких как T-RFLP, ПЦР в реальном времени (RT-qPCR) и др. [1–3]. В исследованиях, проводимых в Международной лаборатории молекулярной генетики и геномики птицы при МВА имени К.И. Скрябина [2–13], в чис-

ле других поставлена задача оценить современными молекулярно-биологическими методами влияние препарата Фитаза [14] на микробиом кишечника у кур мясных линий. Разработанный сотрудниками лаборатории метод оценки общего микробного числа с помощью ПЦР в реальном времени позволяет в короткие сроки определить количество микроорганизмов через эквивалент к ДНК *E. coli*. Методом NGS-секвенирования с использованием секвенатора Ion S5™ System возможно изучать некультивируемую микрофлору кишечника.

Целью работы являлось максимально полно оценить влияние препарата Фитаза на микробиом кур мясных линий.

### **Материалы и методы исследований**

Для проведения исследований были предоставлены образцы содержимого слепых отростков у трех линий птицы: 1) Б-6 — материнской линии отцовской родительской формы породы корниш, 2) Б-7 М/О — медленнооперяющейся отцовской линии материнской родительской формы породы плимутрок и 3) Б-7 Б/О — быстрооперяющейся отцовской линии материнской родительской формы породы плимутрок.

Из кур каждой линии было сформировано по одной экспериментальной и одной опытной группе; схема эксперимента приведена в табл. 1.

Возраст птицы на момент исследований составлял 28–30 недель. Через неделю после начала скормливания исследуемых кормов по 5 голов кур из каждой группы были подвергнуты эвтаназии.

*Пробоподготовка*, включая методику выделения ДНК из образцов химуса слепых отростков, для обеих групп была идентична.

**Схема эксперимента  
по скармливанию различных кормовых ингредиентов  
линейным курам мясного направления продуктивности**

<b>Группа</b>	<b>Б6</b>	<b>Б7 М/О (медленно-оперяющиеся)</b>	<b>Б7 Б/О (быстро-оперяющиеся)</b>
Контроль	Стандартный комбикорм для несушек ПК-1		
Опыт (Фитаза)	Стандартный комбикорм для несушек ПК-1 + Фитаза		

Для отбора проб проводили эвтаназию кур по истечении срока скармливания добавки. Отбор содержимого слепых отростков кишечника в одноразовые пробирки типа Eppendorf выполняли после вскрытия тушки с соблюдением условий асептики. До транспортировки в лабораторию образцы замораживали при  $-20^{\circ}\text{C}$  и перевозку материала осуществляли в специальном термоконтейнере с охлаждающими элементами (с хладагентом) при  $-18^{\circ}\text{C}$ .

ДНК из химуса для анализов микробиома выделяли набором QIAamp PowerFecal DNA Kit (QIAGEN) при помощи автоматической станции для выделения нуклеиновых кислот и белков QIAcube. Качество препарата ДНК оценивали количественно на аппарате Qubit 3.0.

Для изучения состава микрофлоры были использованы современные молекулярно-генетические методы: NGS-секвенирование и RT-qPCR.

NGS-секвенирование — это один из новейших методов определения состава микрофлоры по геномному профилю. Секвенатор нового поколения считывает и расшифровывает геномы микроорганизмов, которые представлены участками гена 16S рРНК. Секвенирование проводилось с помощью системы Ion GeneStudio™ S5 System и с применением Ion 520™ Chip. Подготовка геномной библиотеки

осуществлялась по протоколам с использованием наборов Ion Xpress™ Plus Library Kit, Ion Plus Fragment Library Kit, Ion AmpliSeq™ Library Kit 2.0 и Ion 16S™ Metagenomics Kit (Thermo Fisher Scientific) [8,15].

Анализ с помощью RT-qPCR выполняли согласно существующей методике [8,11]. При проведении RT-qPCR использовали флуоресцентный краситель SYBR Green (Диаэм, Евроген, Россия). Реакцию проводили на амплификаторах LightCycler® 96 System и LightCycler® 460 System (Roche, Швейцария).

В режиме реального времени система высчитывала общее микробное число по заданной формуле и через эквивалент к ДНК *E. coli* методом прямого сравнения. Математическую обработку результатов выполняли в программе MS Excel и с помощью программного обеспечения Ion Reporter.

### **Результаты исследований**

По данным завершеного исследования общего микробного числа и состава микрофлоры птицы получены результаты, представленные в табл. 2–4, где приведены показатели общего микробного числа и процентного содержания таксонов — филумов, порядков и семейств микроорганизмов.

У кур линии Б-6 (табл. 2) в опытной группе по сравнению с контролем наблюдалось: уменьшение численности бактерий филума Actinobacteria на 72%, в том числе представителей порядка Bifidobacteriales на 78%; рост бактерий филумов Bacteroidetes и Proteobacteria; увеличение представителей порядка Lactobacillales на 85%, а также увеличение почти в 2 раза бактерий порядка Tenericutes, но в целом находились в пределах нормы.

Таблица 2

**Микробный профиль кур опытной и контрольной группы  
линии Б-6, %**

Таксоны	Б-6		
	Контроль	Фитаза	± к контролю
Филум Actinobacteria, в т.ч.:	1,6±0,09	0,45±0,37	-72%
порядок Bifidobacteriales	0,09±0,01	0,02±0,01	-78%
Филум Bacteroidetes	30,61±0,23	42,71±3,62	+40%
Филум Firmicutes, в т.ч.:	57,82±0,5	43,89±6,17	-24%
порядок Lactobacillales	2,56±0,12	4,73±2,01	+85%
порядок Clostridiales	44,78±1,98	31,47±9,37	-30%
семейство Ruminococcaceae	12,12±0,47	9,75±2,36	-20%
порядок Selenomonadales	0,57±0,05	1,02±0,73	+80%
Филум Fusobacteria	0±0	0,13±0,02	-
Филум Proteobacteria, в т.ч.:	9,19±0,01	11,81±2,62	+29%
семейство Enterobacteriaceae	6,14±0,14	1,37±1,07	-78%
Филум Synergistetes	0,69±0,26	0,44±0,21	-36%
Филум Tenericutes, в т.ч.:	0,11±0,05	0,32±0,06	+194%
семейство Mycoplasmataceae	0,06±0	0,1±0,09	+67%
Общее микробное число	$1,12 \times 10^7$	$1,04 \times 10^7$	-7%

*Примечание.* Число кур в каждой группе — по 4 головы одного возраста.

У кур линии Б-7 Б/О (табл. 3) в опытной группе по сравнению с контролем было обнаружено: уменьшение численности представителей Actinobacteria на 66%, в том числе порядка Bifidobacteriales на 90%; процентное содержание филумов Bacteroidetes, Proteobacteria и Firmicutes незначительно изменилось; патогенные микроорганизмы филумов Synergistetes и Tenericutes увеличились, но в целом находились в пределах нормы.

У кур линии Б-7 М/О (табл. 4) в опытной группе по сравнению с контролем наблюдалось: уменьшение численности представителей Actinobacteria на 52%, в том числе порядка Bifidobacteriales на 86%; увеличение численности Firmicutes на 54%, в том числе бактерий порядка Lactobacillales в 4 раза, порядка Clostridiales на 96% и целлюлозолитических бактерий семейства Ruminococcaceae на 47%.

Таблица 3

**Микробный профиль кур опытной и контрольной группы линии Б-7 быстрооперяющейся, %**

Таксоны	Б-7 Б/О		
	Контроль	Фитаза	± к контролю
Филум Actinobacteria, в т.ч.:	1,35±0,58	0,46±0,33	-66%
порядок Bifidobacteriales	0,35±0,05	0,03±0,01	-90%
Филум Bacteroidetes	34,62±13,13	35,72±2,35	+3%
Филум Firmicutes, в т.ч.:	40,77±7,64	43±2,56	+5%
порядок Lactobacillales	3,02±1,21	4,23±0,73	+40%

Таксоны	Б-7 Б/О		
	Контроль	Фитаза	± к контролю
порядок Clostridiales	22,58±13,36	28,2±1,39	+25%
семейство Ruminococcaceae	8,23±3,63	9,92±0,22	+20%
порядок Selenomonadales	2±0,78	1,08±0,96	-46%
Филум Fusobacteria	0±0	0,04±0,02	-
Филум Proteobacteria, в т.ч.:	22,19±5,65	19,95±4,68	-10%
семейство Enterobacteriaceae	2,18±1,47	15,92±2,97	+630%
Филум Synergistetes	0,4±0,05	0,5±0,29	+24%
Филум Tenericutes, в т.ч.:	0,02±0,02	0,19±0,09	+142%
семейство Mycoplasmataceae	0,08±0,04	0,05±0,04	+125%
Общее микробное число	$1,68 \times 10^7$	$1,37 \times 10^7$	-18%

*Примечание.* Число кур в каждой группе — по 4 головы одного возраста.

Таблица 4

**Микробный профиль кур опытной и контрольной группы линии Б-7 медленно опережающейся, %**

Таксоны	Б-7 М/О		
	Контроль	Фитаза	± к контролю
Филум Actinobacteria, в т.ч.:	0,56±0,13	0,27±0,13	-52%
порядок Bifidobacteriales	0,15±0,07	0,02±0,01	-86%

Таксоны	Б-7 М/О		
	Контроль	Фитаза	± к контролю
Филум Bacteroidetes	38,31±2,06	37,91±3,93	-1%
Филум Firmicutes, в т.ч.:	30,99±2,55	47,6±6,21	+54%
порядок Lactobacillales	1,11±0,43	5,62±0,87	+406%
порядок Clostridiales	16,89±3,16	33,1±6	+96%
семейство Ruminococcaceae	7,15±2,37	10,49±1,18	+47%
порядок Selenomonadales	1,41±0,96	2,28±0,65	+62%
Филум Fusobacteria	0±0	1,11±1,38	-
Филум Proteobacteria, в т.ч.:	27,55±1,56	12,1±3,57	-56%
семейство Enterobacteriaceae	19,58±0,41	2,62±1,02	-87%
Филум Synergistetes, в т.ч.:	2,09±0,33	0,43±0,24	-80%
филум Tenericutes	0,78±0,36	0,52±0,44	-33%
семейство Mycoplasmataceae	0,58±0,03	0,34±0,45	-41%
Общее микробное число	1,51×10 <sup>7</sup>	1,52×10 <sup>7</sup>	+0,6%

*Примечание.* Число кур в каждой группе — по 4 головы одного возраста.

### Обсуждение и выводы

Из табл. 2–4 следует, что препарат Фитаза не повлиял на общее микробное число, что свидетельствует об отсутствии у препарата антимикробных свойств, которые наносили бы ощутимое воздействие на микробиоценоз, делая его уязвимым и нестабильным.

Скармливание Фитазы с кормом привело к снижению бактерий порядка *Bifidobacteriales* на 78–91%. Кроме того,

после скормливания Фитазы во всех опытных группах, получавших добавку, увеличилось количество лактобактерий на 85–406%. Различия были статистически достоверны.

Во всех исследуемых линиях в опыте были выявлены в малосущественных количествах фузобактерии; в контрольных группах присутствие этих условно-патогенных микроорганизмов не отмечено вовсе. Среди обнаруженных в опытных группах бактерий филума *Fusobacteria* встречался вид *Fusobacterium necrogenes*, который является анаэробной мезофильной бактерией, ранее обнаруженной в слепой кишке уток и внесенной в базу Culture Collection University of Gothenburg (CCUG 4949T) Гётеборгского университета, Швеция [16]. Внешние мембраны фузобактерий сложены из мощных липополисахаридов, в состав которых входят липид А и основной олигосахарид, содержащий по одной фосфатной группе на каждом углеводе [17]. Так как препарат Фитаза — это фермент, катализирующий дефосфорилирование, можно предположить, что лучшее расщепление и выделение в микробиом свободных фосфорсодержащих радикалов и продуктов дефосфорилирования создали благоприятные условия для развития этих микроорганизмов.

После скормливания все опытные группы стали также сходны по содержанию основных филумов микроорганизмов, населяющих микробиом кур, что говорит о стабилизирующем эффекте добавки.

### Список литературы

1. Грозина А.А. Состав микрофлоры желудочно-кишечного тракта у цыплят-бройлеров при воздействии пробиотика и антибиотика (по данным T-RFLP–RT-PCR) // Сельскохозяйственная биология. 2014. № 6. С. 46–58.
2. Лаптев Г.Ю., Ильина Л.А., Никонов И.Н., Кочиш И.И., Романов М.Н., Смоленский В.И., Панин А.Н., Йылдырым Е.А.,

Новикова Н.И., Филиппова В.А., Дубровин А.В. Определение микробиоценозов кишечника кур породы «Хайсекс» методом T-RFLP в онтогенезе // *Acta Naturae*. 2017. Т. 9. Спецвып. № 1. С. 33.

3. Romanov M.N., Laptev G.Yu., Nikonov I.N., Ilyina L.A., Novikova N.I., Barkova O.Yu., Griffin D.K., Kochish I.I., Smolensky V.I., Panin A.N., Shaposhnikov M.N. Determination of microbiocoenoses in the intestine of the Hisex Brown hens in ontogenesis using T-RFLP method // *Insights in Nutrition and Metabolism*. 2017. Vol. 1. No. 3. P. 39.

4. Romanov M.N., Griffin D.K., Panin A.N., Kochish I.I., Smolensky V.I., Laptev G.Yu., Nikonov I.N., Ilyina L.A. Comparison of gut microbiota in hens of the crosses Hisex Brown and Lohmann Brown // *Insights in Nutrition and Metabolism*. 2017. Vol. 1. No. 3. P. 30.

5. Surai P.F., Kochish I.I., Griffin D.K., Nikonov I.N., Romanov M.N. Microbiome and antioxidant system of the gut in chicken: food for thoughts // *Insights in Nutrition and Metabolism*. 2017. Vol. 1. No. 3. P.34.

6. Nikonov I.N., Il'ina L.A., Kochish I.I., Romanov M.N., Podobed L.I., Laptev G.Yu., Panin A.N., Smolenskij V.I., Suraj P.F. Changing the intestinal microbiota of chickens in ontogenesis // *Ukrainian Journal of Ecology*. 2017. Vol. 7. No. 4. P. 492–499.

7. Nikonov I.N., Kochish I.I., Ilyina L.A., Romanov M.N., Shevhuzhev A.F. Microbiota in the intestines of cross chick Lohmann Brown in ontogeny // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2017. Vol. 8. No. 6. P. 645–654.

8. Кочиш И.И., Лаптев Г.Ю., Никонов И.Н., Смоленский В.И., Сурай П.Ф. Кормовые и ветеринарные аспекты состояния микробиоты кишечника кур-несушек. М.: Сельскохозяйственные технологии, 2017. 182 с.

9. Кочиш И.И., Романов М.Н., Никонов И.Н., Ильина Л.А., Лаптев Г.Ю. Определение микробиоценозов кишечника кур яичных кроссов // *Мировые и российские тренды развития птицеводства: реалии и вызовы будущего: Материалы XIX Международной конференции (Сергиев Посад, 15–17 мая 2018 г.) / Всемир. науч. ассоц. по птицеводству (ВНАП). Рос. отд-ние, НП*

«Научный центр по птицеводству»; под ред. акад. РАН, проф. В.И. Фисина. Сергиев Посад Моск. обл.: Всерос. науч.-исслед. и технол. ин-т птицеводства, 2018. С. 240–243.

10. Nikonov I., Romanov M.N., Kochish I.I., Surai P. Determination of microbiocoenoses in the intestine of the Hisex Brown hens in ontogenesis // World's Poultry Science Journal. 2018. Suppl. (The XVth European Poultry Conference. Dubrovnik, Croatia. 17th to 21st September 2018. Conference Information and Proceedings. Zagreb, Croatia: Croatian Branch of the World's Poultry Science Association under the hospice of the World's Poultry Science Journal). P. 337.

11. Методические рекомендации по внедрению разработанной системы профилактики бактерий-патогенов путем коррекции рационов питания у кур несушек и применения антимикробных добавок / Кочиш И.И., Смоленский В.И., Лаптев Г.Ю., Романов М.Н., Никонов И.Н., Панин А.Н., Сурай П.Ф., Ильина Л.А., Мясникова О.В., Селина М.В., Коренюга М.В., Колесникова Р.Р., Шихбабаев Э.У.; Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина. М.: МВА имени К.И. Скрябина, 2018.

12. Laptev G.Yu., Filippova V.A., Kochish I.I., Yildirim E.A., Ilina L.A., Dubrovin A.V., Brazhnik E.A., Novikova N.I., Novikova O.B., Dmitrieva M.E., Smolensky V.I., Surai P.F., Griffin D.K., Romanov M.N. Examination of the expression of immunity genes and bacterial profiles in the caecum of growing chickens infected with *Salmonella* Enteritidis and fed a phytobiotic // Animals. 2019. Vol. 9. No. 9. Article 615.

13. Narushin V.G., Laptev G.Yu., Yildirim E.A., Ilina L.A., Filippova V.A., Kochish I.I., Gorfunkel E.P., Dubrovin A.V., Novikova N.I., Dunyashev T.P., Smolensky V.I., Surai P.F., Bondarenko Yu.V., Griffin D.K., Romanov M.N. Modelling effects of phytobiotic administration on coherent responses to *Salmonella* infection in laying hens // Italian Journal of Animal Science. 2020. Vol. 19. No. 1. P. 282–287.

14. Труфанов О. Фитаза в кормлении сельскохозяйственных животных и птицы. К.: ПолиграфИнко, 2011. 112 с.

15. Amit-Romach E., Sklan D., Uni Z. Microflora ecology of the chicken intestine using 16S ribosomal DNA primers // Poultry Science. 2004. Vol. 83. No. 7. P. 1093–1098.

16. CCUG 4949T — *Fusobacterium necrogenes*. Culture Collection University of Gothenburg. University of Gothenburg, Sweden (<https://www.ccug.se/strain?id=4949>).

17. Khan M.M., Ernst O., Sun J., Fraser I.D.C., Ernst R.K., Goodlett D.R., Nita-Lazar A. Mass spectrometry-based structural analysis and systems immunoproteomics strategies for deciphering the host response to endotoxin // Journal of Molecular Biology. 2018. Vol. 430. No. 17. P. 2641–2660.

### **Assessment of the effect of phytase supplement on the total microbial count and composition of the intestinal microflora of chicken meat lines**

*Motin M.S., Myasnikova O.V., Manukyan V.A.,  
Kuvanov T.K., Bernikova K.E.*

K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary  
Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia

#### **Abstract**

In this work, we studied the composition of the microbiome in the gastrointestinal tract of meat-type chickens using real-time PCR and NGS sequencing with the addition of Phytase to the diet. After prolonged feeding of the supplement, DNA was isolated from samples of the contents of the cecum, and the total microbial number and composition of the microflora was examined.

Key words: laying hens, gastrointestinal tract, cecum, microflora, microbiota, microbiome, RT-PCR, NGS sequencing, PCR

**ИССЛЕДОВАНИЕ МЕСТНОГО РАЗДРАЖАЮЩЕГО,  
КОЖНО-РЕЗОРБТИВНОГО  
И СЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ  
НОВОЙ СЕРАБИОПОЛИМЕРНОЙ КОМПОЗИЦИИ**

**Земцов И.П., Кузнецов С.В.**

Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина.  
E-mail: kuznetsovsergei76@yandex.ru

**Аннотация**

В большинстве случаев фармацевтический рынок представлен средствами химически синтезированных соединений с большим разнообразием молекулярных структур и с неизученными до конца особенностями фармако-токсикологических воздействий и отдаленных эффектов на организм в целом. Биологически активные полимеры в дерматологической практике привлекают внимание благодаря уникальным физико-химическим свойствам, разнообразию биологической активности, а также заданным определенным свойствам, которые имеют большое значение для создания новых лекарственных форм предназначенных для применения не только в медицинской, но и в ветеринарной практике. Модификация исследуемой составной композиции лекарственной формы имеет уникальное свойство, которое выражается, прежде всего, в биосовместимости и потенцировании базисных и вспомогательных компонентов лекарственной формы, высокой биологической активности и биодоступности, а также безопасностью в применении. В статье приведены результаты определения местного и кожно-резорбтивного действия композиций в сочетании с биополимером на лабораторных животных.

Ключевые слова: сераорганические соединения, серабиополимерная композиция, блефароспазм, местное и кожно-резорбтивное действия, сенсibiliзирующее действие.

## **Введение**

В последнее время в ветеринарной практике используется ряд активных биологических соединений в различных лекарственных формах для наружного применения, с сильно отличающимися механизмами действия. Данная композиция и входящий в ее состав биополимер природного происхождения потенцирует действие серасодержащих компонентов, увеличивая их биодоступность и ряд фармакологических свойств. По результатам исследований ряда авторов биополимер определяет структурную и молекулярную характеристику параметров лекарственной формы, молекулярная масса и количественное соотношение химических звеньев и их расположение в полимерной цепи обуславливает многообразие биологических свойств (Кузнецов, 2009; Земцов, Кузнецов, 2017).

Экспериментальное фармакологическое изучение новых композиций, изыскание новых эффектов, сочетаний из двух или более известных и изучаемых веществ, является новым лекарственным средством, с не всегда предсказуемыми воздействиями на организм, отсюда следует непременное условие предъявляемое к каждой новой субстанции, кроме ее апробации на эффективность: соответствие ее безвредности и изучению токсических свойств (Дорожкин, 2019). Данная серабиополимерная композиция обусловлена рядом необходимых новых биологически активных веществ, с целенаправленным действием и с целью перспектив их использования в ветеринарной практике.

Целью настоящего исследования является определение местного, кожно-резорбтивного и сенсibiliзирующего

действия новой композиции в сочетании с биополимером, а также изучение заданных потенцирующих характеристик последнего. Для достижения данной цели были поставлены следующие задачи: установить воздействие серасодержащей, серабиополимерной композиции и биополимера на слизистую глаза. Исследовать местно-раздражающее действие на кожный покров лабораторных животных, выявить параметры кожно-резорбтивного и сенсibiliзирующего действия при однократном и многократном применении, учитывая, что данная композиция предназначена для наружного применения, а схема эксперимента включала в основном исследования, предусматривающие контактное действие с кожным покровом.

### **Материалы и методы исследований**

Исследования проведены на кафедре физиологии, фармакологии и токсикологии имени А.Н. Голикова и И.Е. Мозгова ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина». Объектом исследования служили три вида животных с живой массой: белые лабораторные мыши 18–20 грамм (n=20), крысы 180–200 грамм (n=20) и кролики пород «Белый паннон» и «Серый великан» (n=12) 2,0–2,5 килограмма. Опытные и контрольные группы были сформированы по принципу аналогов с учетом массы тела и пола животных. При проведении опыта условия содержания соответствовали зоогигиеническим требованиям, кормление опытных животных соответствовало рациону, все исследования осуществлялись в соответствии с Федеральным Законом № ФЗ-61 «Об обращении лекарственных средств» от 12.04.2010, Европейской конвенцией по защите позвоночных животных используемых в экспериментальных и других научных целях (Страсбург, 1986). Руководство по экспериментальному (доклиническому) изуче-

нию новых фармакологических веществ (под ред. Р.У. Хабреева. 2-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2005).

В ходе опыта использовалась методика кожных аппликаций, на выстриженный участок кожного покрова, ближе к середине туловища, наносили по одной капле раствора испытуемой композиции, гелеобразной формы, биополимерная композиция наносилась на протяжении 14 дней кратностью по 5 раз в неделю. Реакцию кожного покрова учитывали ежедневно по шкале оценки кожных проб.

Исследование сенсibiliзирующего действия биополимерной композиции проводили путем 20 повторных нежных аппликаций на участок боковой поверхности туловища 5 раз в неделю. Композицию в виде чистой гелеобразной мазевой формы наносили равномерным слоем на весь участок аппликации с помощью глазной стеклянной лопаточки. Реакцию кожного покрова на воздействие композиций оценивали после 5 минут, 2, 24, 48, 72 и 96 часов после однократного нанесения с учетом функциональных и структурных изменений кожи: эритемы, отека, изъязвлений и изменения температуры.

В опыте метода конъюнктивальной пробы использовали 2 капли водной эмульсии композиции наносимой глазной пипеткой с вытянутым тонким концом под верхнее веко, во второй глаз (контрольный) вводили 2 капли дистиллированной воды. Реакцию учитывали через 15 минут. При оценке раздражающего действия препарата учитывали состояние слизистой оболочки глаза и век, наличие инъекции сосудов и секреции слезных желез.

### **Результаты собственных исследований**

Изучение местного раздражающего действия проводили на белых мышах в количестве 20 штук, которые были разделены на опытные и контрольные группы, в последующем, которым композиции в нативном виде и в составе

комплекса наносили на выстриженные участки кожи в межлопаточной области, ежедневно в течение двух недель. Животным контрольной группы наносили чистую гелеобразную мазевую форму. Наблюдение за животными вели в течение 30 дней. На месте нанесения композиции не наблюдали значительных изменений со стороны кожного покрова. Реакцию кожи учитывали ежедневно по шкале оценки кожных проб. На месте воздействия сера нативной композиции у всех лабораторных животных на 6–7-й день опыта наблюдали возникновение незначительно слабой десквамации эпителия. У животных контрольной группы на кожном покрове отмечалось незначительная картина поверхностного шелушения дермы, которая не была связана с использованием чистой гелеобразной мазевой формы. К 12-му дню в опытной группе при использовании сера нативной композиции происходило полное очищение кожи в месте нанесения, кожа сохраняла светло-розовый цвет с хорошо сформированным волосяным покровом, хорошо визуализировался рост нового волосяного покрова. У мышей контрольной группы, местных и резорбтивных проявлений в течение всего опыта не наблюдалось.

Конъюнктивальную пробу проводили на 20 крысах сформированных в группы по принципу аналогов. В результате использования сера нативной композиции было установлено, что через 40–50 минут у лабораторных животных замечено незначительное слезотечение, легкая гиперемия века и слезного протока, которая проходила через 40–50 минут. В контроле конъюнктивальной пробы изменений не наблюдалось. При использовании серабиополимерной композиции наблюдалось незначительное слезотечение или его отсутствие, в сравнении с исследованиями сера нативной композиции, но присутствовала легкая гиперемия века и слезного покрова. Слизистая контрольного глаза за все время наблюдений оставалась бледно-

розовой, отечность ее не отмечалась, слезотечение и истечения из этого глаза отсутствовали.

Идентично для изучения влияния соединения серабиополимерной композиций на слизистую глаза кроликов по принципу аналогов были сформированы две группы животных (по 6 животных на каждую композицию) со здоровой конъюнктивой глаз. Пипеткой наносили первой группе животных в один глаз 2 капли эмульсии сера нативной композиции, а второй группе эмульсию серабиополимерной композиции. Через 2 и 24 часа в оба глаза согласно методике закапывали по 5 капель 1%-ного водного раствора флюоресцина на 2%-ном растворе гидрокарбоната натрия. После чего в течение первого часа и в последующем непрерывно на протяжении 3 дней вели наблюдение за опытными животными.

Учитывали общее состояние и состояние конъюнктивы опытного и контрольного глаза, обращая внимание на цвет и отек слизистой, а также наличие выделений из глаз.

У животных первой группы после введения сера нативной композиции отмечалось незначительное слезотечение в течение 40–60 минут. Слабая степень гиперемии конъюнктивы без эрозии и воспалительных явлений отмечалась у единичных животных на протяжении 24 часов. Во второй группе, после введения серабиополимерной композиции в виде водной эмульсии, у животных наблюдали кратковременные, незначительные изменения, которые проявлялись кратковременным блефароспазмом продолжительностью 18–20 минут, с незначительным слезотечением. Через 3–4 часа наблюдалась небольшая гиперемия век, признаки раздражения слизистой оболочки постепенно проходили, в течение 2 часов.

Реакцию на блефароспазм у опытных кроликов учитывали по следующей шкале в течение 30 минут (быстрая реакция) и через 24–48 часа (гиперчувствительность замед-

ленного типа) и оценивали в (баллах): 1 — легкое покраснение слезного протока; 2 — покраснение слезного протока и склеры в направлении к роговице; 3 — покраснение всей конъюнктивы и склеры. Для контроля в левый глаз каждого кролика наносили по одной капле дистиллированной воды. Учет реакции проводили через 5 минут, 2, 24, 48, 72 и 96 часов с момента закапывания, данные приведены в табл. 1.

*Таблица 1*

**Действие серабиополимерной композиций на слизистую глаз кроликов (n=12) (M±m)**

Композиция	Блефароспазм в баллах				
	при введении	через 30 мин.	через 1 час	через 2 часа	через 1 сут.
Сера-нативная композиция	0	1	1	1	0
Контроль	0	0	0	0	0
Серабиополимерная композиция	0	1	1	0	0
Контроль	0	0	0	0	0

В результате исследований нами установлено, что через 30 минут после нанесения исследуемых композиций у кроликов отмечалась незначительная гиперемия и отек слизистой конъюнктивы опытных глаз, умеренное незначительное слезотечение из них. При использовании серабиополимерной композиции эти изменения были по степени выраженности непродолжительными по времени в сравнении с использованием сера нативной композиции и прохо-

дили в течение 30–40 минут быстрее. При использовании раствора флюоресцина, цвет слизистой опытного глаза не изменился. Физиологические показатели у животных оставались в пределах физиологической нормы.

Изучение местного действия композиций оценивали на также на 12 кроликах. За день до опыта у кроликов в области спины, с обеих сторон симметрично от позвоночного столба, выстригали волосяной покров размером 8×8 см. В ходе эксперимента первой группе наносили с одной стороны сера нативную композицию, второй группе серабиополимерную, а с контрольной стороны — чистую гелеобразную мазевую форму.

*Таблица 2*

**Показатели состояния кожи кроликов после нанесения серабиополимерной композиции, n=12 (M±m)**

Показатели	Группа животных	
	1	2
РН кожи	5,3±0,03	5,5±0,04
Эритема, баллы	0	0
Толщина кожной складки, мм	3,45±0,07*	3,52±0,04
Температура кожи	38,4±0,02	38,6±0,04

*Примечание:* \*p<0,05.

В опыте по изучению раздражающих свойств серабиополимерной композиции использовали внутрикожную методику введения, в результате чего было установлено, что через 30 минут после введения композиции отмечается слабовыраженное раздражающее действие, через 60 минут слабо раздражающее действие композиции было умеренным, через 4 часа отсутствовало. Реакцию кожного покрова учитывали ежедневно по шкале оценки кожных проб: 0 баллов отсутствие эритемы, 1 балл очень слабое покрасне-

ние (розовый тон), 2 балла видимое покраснение, (розово-красный тон), 3 балла покраснение, умеренное до сильно-го, (красный тон); 4 балла — резко выраженная эритема, (ярко-красный тон) с образованием струпа, данные приведены в табл. 2.

После чего кроликам внутривенно вводили 1%-ный раствор трипановой сини на физиологическом растворе в дозе 1 мл на 1 кг живой массы для учета раздражающего действия соединения.

Таблица 3

Данные о клиническом состоянии организма кроликов,  
n=12 (M±m)

Время исследования	Сера-нативная композиция (n=6)			Серабиополимерная композиция (n=6)		
	Температура	Пульс	Дыхание	Температура	Пульс	Дыхание
Физиологическая норма	38,5–39,5	120–160	50–60	38,5–39,5	120–160	50–60
Исходное	38,7±0,01	127,0±0,67	52,0±2,0	38,8±0,02	124,0±0,62	52,0±1,0
Спустя 30 мин.	38,6±0,04	129,0±0,73	53,0±1,0	38,6±0,04	128,0±0,67	51,0±2,0
1 час	38,7±0,05*	126,0±0,69	52,0±2,0	38,7±0,01	127,0±0,82	52,0±1,0
2 часа	38,6±0,04	129,±0,71	55,0±1,0	38,8±0,03	129,0±0,69	54,0±1,0
3 часа	38,8±0,01	127,0±0,68	54,0±1,0	38,6±0,02	126,0±0,84	54,0±1,0
4 часа	38,8±0,01	126,0±0,82	54,0±1,0	38,7±0,01	129,0±0,65	52,0±1,0
5 часов	38,7±0,03	129,0±0,70	54,0±1,0	38,8±0,01	127,0±0,64	53,0±2,0

Примечание: \*p<0,05.

За животными вели наблюдение в течение 2 недель, ежедневно отмечали общее состояние (поведение, нарушение координации движений, наличие судорог, температуру тела, частоту пульса, дыхание) и изменения на коже. Они показали, что после нанесения на кожу композиции сера-нативной и серабиополимерной композиции, не отмечалось клинических изменений на протяжении всего времени наблюдений. Температура тела, частота пульса и дыхания в минуту, была в пределах физиологической нормы для данного вида животных, приведены в табл. 3.

Таблица 4

**Раздражающее действие серабиополимерной композиции при внутрикожном методе введения кроликам, n=12 (M±m)**

Время исследования	Сера-нативная композиция (n=6)		Серабиополимерная композиция (n=6)	
	оценка в баллах	раздражающий эффект	оценка в баллах	раздражающий эффект
Исходное	0	отсутствие эритемы	0	отсутствие эритемы
Спустя 30 мин.	1	очень слабое покраснение	1	очень слабое покраснение
1 час	2	Видимое покраснение,	1	очень слабое покраснение
2 часа	1	очень слабое покраснение	0	отсутствие эритемы
3 часа	0	отсутствие эритемы	0	отсутствие эритемы
4 часа	0	отсутствие эритемы	0	отсутствие эритемы
5 часов	0	отсутствие эритемы	0	отсутствие эритемы

Цвет опытного участка кожи сопровождался легкой гиперемией в течение 30 минут, после чего она проходила в течение часа, уже на 7-й день аппликаций композиции сера-нативной композиции и серабиополимерной слабая гиперемия кожи отсутствовала. Цвет опытных участков кожного покрова не изменялся. Первое тестирование проводили после 10 аппликаций в случае выявления аллергической реакции, прекращали дальнейшее нанесение композиций, в ходе всего опыта данная аллергическая реакция отсутствовала. Это свидетельствовало об отсутствии кожно-резорбтивного действия изучаемых композиций на кожный покров кроликов, что представлено в табл. 4.

## **Выводы**

Результаты исследований свидетельствуют о том, что сера-нативная композиция и серабиополимерная вызывают у мышей незначительное и быстро проходящее раздражающее действие, что обусловлено составом и механизмом действия серасодержащих лекарственных форм.

На основании полученных результатов, при однократном воздействии на слизистую глаз крыс исследуемых композиций, было установлено местное слабо выраженное раздражающее действие. При многократном нанесении, установлено, что композиции в виде эмульсии сера-нативной и серабиополимерной оказывают слабое, быстро проходящее действие на слизистую глаз крыс.

Конъюнктивальная проба свидетельствует, о том, что при нанесении серабиополимерной композиции на слизистую глаза кроликов оказывает незначительное и быстро проходящее раздражающее действие, в сравнении с сера-нативной композицией, за счет сорбирующего эффекта.

Местный раздражающий эффект сера-нативной и серабиополимерной композиции, у опытных кроликов на кож-

ный покров при длительном применении более 14 дней выражен слабо, после нанесения исследуемых композиций, не отмечалось видимых клинических изменений у опытных животных на протяжении всего времени наблюдений. Цвет кожного покрова сопровождался легкой гиперемией в течение 30 минут, после чего она проходила в течение часа, значительно быстрее во второй опытной группе, уже на 7-й день аппликаций сера-нативной и серабиополимерной композиций слабая гиперемия кожи отсутствовала. Цвет опытных участков в ходе исследований не изменялся, что свидетельствовало об отсутствии кожно-резорбтивного действия данных композиций лабораторных животных.

### Список литературы

1. Дорожкин В.И., Бирюкова Н.П., Бахмутова Т.В. Современные требования к изучению общетоксического действия фармакологических веществ (обзор). Российский журнал проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2019. № 2(30). С. 205–215.
2. Земцов И.П., Кузнецов С.В. Исследование острой токсичности и кумуляционных свойств меркаптанов нефтехимического происхождения. Сборник: Наука молодых — инновационному развитию АПК. Материалы X Юбилейной Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых. Башкирский государственный аграрный университет. 2017. С. 128–133.
3. Кузнецов С.В., Исмаилова А.Ф., Кирилов В.Г. Некоторые токсико-фармакологические свойства нового комплексного сероорганического соединения. Книга: И.П. Павлов и современные проблемы биологии и медицины. Конференция посвященная 150-летию со дня рождения академика И.П. Павлова: тезисы докладов сообщений. 1999. С. 20–21.
4. Слесаренко Н.А., Борхунова Е.Н., Борунова С.М., Кузнецов С.В., Абрамов П.Н., Широкова Е.О. Методология научного исследования. Санкт-Петербург, 2018 (2-е изд., стереотипное).

## **Study of the local irritant, skin-resorptive and sensitizing action of the new sulfur of biopolymer composition**

*Zemtsov I.P., Kuznetsov S.V.*

K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia

### **Abstract**

In most cases, the pharmaceutical market is represented by means of chemically synthesized compounds with a wide variety of molecular structures and with features of pharmacotoxicological effects and long-term effects on the body as a whole that are not fully understood. Biologically active polymers in dermatological practice attract attention due to their unique physical and chemical properties, a variety of biological activity, as well as specific properties that are of great importance for the creation of new dosage forms intended for use not only in medical but also in veterinary practice. Modification of the studied compound composition of the dosage form has a unique property, which is expressed primarily in the biocompatibility and potentiation of the basic and auxiliary components of the dosage form, high biological activity and bioavailability, as well as safety in use. The article presents the results of determining the local and skin-resorptive effects of compositions in combination with a biopolymer on laboratory animals.

**Key words:** organosulfur compounds, sulfur biopolymer composition, blepharospasm, local and skin-resorptive action, sensitizing effect.

**ГЕН РЕЦЕПТОРА МЕЛАНКОРТИНА 4 (*MC4R*)  
И ЕГО АССОЦИАЦИЯ С БИОХИМИЧЕСКИМИ  
ПОКАЗАТЕЛЯМИ СЫВОРОТКИ КРОВИ,  
ОТКОРМОЧНЫМИ И МЯСНЫМИ КАЧЕСТВАМИ  
МОЛОДНЯКА СВИНЕЙ КРУПНОЙ БЕЛОЙ ПОРОДЫ**

**Халак В.И.**

Государственное учреждение Институт зерновых культур НААН Украины, г. Днепр, Украина.  
E-mail: v16kh91@gmail.com

Ключевые слова: молодняк свиней, генотип, биохимические показатели сыворотки крови, откормочные и мясные качества, экономическая эффективность, изменчивость, корреляция

**Введение**

Теоретической основой для проведения исследований являются научные разработки отечественных и зарубежных ученых [2–6, 9, 11–16, 19, 21].

**Цель работы** — изучить биохимические показатели сыворотки крови, откормочные и мясные качества молодняка свиней разных генотипов по гену рецептора меланокортина 4 (*MC4R*), определить уровень корреляционных связей между признаками и экономическую эффективность результатов исследований.

**Материалы и методы**

Экспериментальную часть исследований проведено в агроформированиях Днепропетровской области, лаборатории генетики Института свиноводства и АПП НААН, лаборатории животноводства Государственного учреждения Институт зерновых культур НААН и научно-исследова-

тельском центре биобезопасности и экологического контроля ресурсов АПК Днепропетровского государственного аграрного университета.

Объектом исследований был молодняк свиней крупной белой породы английского и венгерского происхождения. Для определения генотипа молодняка свиней по гену рецептора меланокортина 4 (*MC4R*) в качестве биоматериала использовали ушные выщипы. ДНК-типирование животных проводили в лаборатории генетики Института свиноводства и АПП НААН [17, 20].

Содержание общего белка (г/л), мочевины (ммоль/л), азота мочевины (мг%) и креатинина (мкмоль/л) в сыворотке крови 5-месячных животных определяли по общепринятым методикам [7].

Оценку животных по откормочным и мясным качествам проводили с учетом следующих показателей: среднесуточный прирост живой массы за период контрольного откорма (г); возраст достижения живой массы 100 кг (дней); длина охлажденной туши (см); длина беконной половины охлажденной полутуши (см); толщина шпика на уровне 6–7 грудных позвонков (мм). Для интегрированной оценки молодняка свиней разных генотипов по откормочным и мясным качествам использовали селекционный индекс СИ (1) и индекс «Т-фактор» (2) [18]:

$$СИ = 0,18 \times X_1 - 4,46 \times X_2, \quad (1)$$

где СИ — селекционный индекс (баллов),  $X_1$  — среднесуточный прирост живой массы за период контрольного откорма (г),  $X_2$  — толщина шпика на уровне 6–7 грудных позвонков (мм) [1];

$$T = \text{Толщина шпика (мм)} / \text{Длина охлажденной туши (см)} \quad (2)$$

Экономическую эффективность результатов исследований (3) рассчитывали по формуле:

$$E = Ц \times \frac{C \times П}{100} \times Л \times К, \quad (3)$$

где  $E$  — стоимость дополнительной продукции (грн.);  $Ц$  — закупочная цена единицы продукции;  $C$  — средняя продуктивность животных;  $П$  — средняя надбавка основной продукции (%), которая выражена в процентах на 1 голову при использовании нового или улучшенного селекционного достижения по сравнению с продуктивностью животных базового использования;  $Л$  — постоянный коэффициент уменьшения результата, который связан с дополнительными затратами на дополнительную продукцию (0,75);  $К$  — количество поголовья сельскохозяйственных животных нового или улучшенного селекционного достижения (голов) [10].

Биометрическую обработку результатов исследований проводили по методике Г.Ф. Лакина [8].

### **Результаты исследований**

Установлено, что биохимические показатели сыворотки крови молодняка свиней подопытных групп соответствуют физиологической норме клинически здоровых животных (табл. 1).

Разница между группами по содержанию общего белка в сыворотке крови составляет 4,62 г/л ( $td=3,48$ ;  $P<0,01$ ), мочевины — 0,33 ммоль/л ( $td=0,51$ ;  $P>0,05$ ), азота мочевины — 0,27 мг% ( $td=0,30$ ;  $P>0,05$ ), креатинина — 15,24 мкмоль/л ( $td=1,52$ ;  $P>0,05$ ). Максимальный коэффициент изменчивости биохимических показателей сыворотки крови установлен по показателю содержания мочевины (мг%) ( $Cv \pm Sc_v = 34,13 \pm 8,532\%$ ) у животных I группы (MC4R<sup>AA</sup>).

Результаты контрольного откорма молодняка свиней подконтрольного стада ( $n=50$ ) свидетельствуют о том, что среднесуточный прирост живой массы животных состав-

ляет  $779,9 \pm 53,81$  г ( $C_v=4,84\%$ ), возраст достижения живой массы 100 кг —  $177,2 \pm 0,68$  дней ( $C_v=2,82\%$ ), толщина шпика на уровне 6–7 грудных позвонков —  $20,4 \pm 0,35$  мм ( $C_v=12,48\%$ ), длина охлажденной туши —  $96,4 \pm 0,33$  см ( $C_v=1,78\%$ ), длина беконной половины охлажденной полу-туши —  $85,4 \pm 0,59$  см ( $C_v=3,59\%$ ). Селекционный индекс СИ колеблется в пределах от 23,29 до 84,77, индекс «Т-фактор» — от 0,183 до 0,252 баллов.

Таблица 1

**Биохимические показатели сыворотки крови молодняка свиней подопытных групп, n=8**

Показатели, единицы измерения	Биометрические показатели	Генотип	
		<i>MC4R<sup>AA</sup></i>	<i>MC4R<sup>AG</sup></i>
		Группа	
		I	II
Общий белок, г/л	$\bar{X} \pm \bar{S}_X$	$81,25 \pm 0,977$	$85,87 \pm 0,895$
	$C_v \pm S_{C_v}, \%$	$3,40 \pm 0,850$	$2,95 \pm 0,737$
Мочевина, ммоль/л	$\bar{X} \pm \bar{S}_X$	$4,77 \pm 0,576$	$5,10 \pm 0,275$
	$C_v \pm S_{C_v}, \%$	$34,13 \pm 8,532$	$15,26 \pm 3,815$
Азот мочевины, мг%	$\bar{X} \pm \bar{S}_X$	$10,02 \pm 0,741$	$9,75 \pm 0,525$
	$C_v \pm S_{C_v}, \%$	$19,55 \pm 4,887$	$15,25 \pm 3,812$
Креатинин, мкмоль/л	$\bar{X} \pm \bar{S}_X$	$221,57 \pm 5,218$	$206,33 \pm 8,507$
	$C_v \pm S_{C_v}, \%$	$6,23 \pm 1,557$	$10,10 \pm 2,525$

Результаты исследований откормочных и мясных качеств молодняка свиней крупной белой породы разных генотипов по гену рецептора меланокортина 4 (*MC4R<sup>AA</sup>*, *MC4R<sup>AG</sup>*) приведены табл. 2.

Таблица 2

**Откормочные и мясные качества молодняка свиней  
крупной белой породы разных генотипов  
по гену рецептора меланокортина 4 ( $MC4R^{AA}$ ,  $MC4R^{AG}$ )**

Показатели, единицы измерения	Биометрические показатели	Генотип	
		$MC4R^{AA}$	$MC4R^{AG}$
		Группа	
		I	II
Среднесуточный прирост живой массы за период контрольного откорма, г	n	24	26
	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	760,8±6,22	796,0±7,08**
	Cv±Sc <sub>v</sub> , %	3,67±0,530	4,54±0,629
Возраст достижения живой массы 100 кг, дней	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	178,5±1,08	174,4±1,09**
	Cv±Sc <sub>v</sub> , %	2,72±0,393	3,19±0,442
Толщина шпика на уровне 6–7 грудных позвонков, мм	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	21,4±0,55	19,5±0,51*
	Cv±Sc <sub>v</sub> , %	11,59±1,674	13,43±1,862
Селекционный индекс СИ, баллов	lim	19,15–75,21	25,36–80,63
	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	53,11±2,672	41,51±2,991**
	Cv±Sc <sub>v</sub> , %	23,60±3,410	32,23±4,470
Длина охлажденной туши, см	n	9	15
	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	95,1±0,35	97,3±0,42***
	Cv±Sc <sub>v</sub> , %	1,10±0,259	1,67±0,305
Длина беконной половины охлажденной полутуши, см	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	83,3±0,60	86,2±0,57***
	Cv±Sc <sub>v</sub> , %	2,16±0,509	2,56±0,468
Индекс «Т-фактор», баллов	$\bar{X} \pm S\bar{X}$	0,210±0,0048	0,228±0,0056*
	Cv±Sc <sub>v</sub> , %	8,84±1,277	7,38±1,643

Примечание: \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$ , \*\*\*  $P < 0,001$ .

Исследования показали, что молодняк свиней II группы ( $MC4R^{AG}$ ) превосходил ровесников I ( $MC4R^{AA}$ ) по среднесуточному приросту живой массы за период контрольного откорма в среднем на 33,8 г ( $td=3,49$ ;  $P<0,01$ ), возрасту достижения живой массы 100 кг — 3,9 дня ( $td=2,80$ ;  $P<0,01$ ), толщине шпика на уровне 6–7 грудных позвонков — 1,8 мм ( $td=2,60$ ;  $P<0,05$ ), длине охлажденной туши — 2,2 см ( $td=4,07$ ;  $P<0,001$ ), длине беконной половины охлажденной полутуши — 2,9 см ( $td=3,53$ ;  $P<0,001$ ).

Разница между группами по селекционному индексу СИ составляет 11,69 баллов ( $td=2,90$ ;  $P<0,01$ ), по индексу «Т-фактор» — 0,018 баллов ( $td=2,46$ ;  $P<0,05$ ).

Установлено, что коэффициенты корреляции между показателями интерьера, откормочными и мясными качествами молодняка свиней разных генотипов по гену рецептора меланокортина 4 ( $MC4R$ ) варьируют от  $-0,917$  до  $0,635$  (табл. 3).

Таблица 3

**Коэффициенты корреляции между показателями интерьера, откормочными и мясными качествами молодняка свиней разных генотипов по гену рецептора меланокортина 4 ( $MC4R$ ),  $r \pm Sr$**

Откормочные и мясные качества	Биохимические показатели сыворотки крови	Генотип	
		$MC4R^{AA}$	$MC4R^{AG}$
		Группа	
		I	II
Среднесуточный прирост живой массы за	1	$-0,152 \pm 0,2330$	$0,269 \pm 0,2154$
	2	$0,568 \pm 0,1940^*$	$-0,272 \pm 0,2152$
	3	$0,536 \pm 0,1990^*$	$-0,279 \pm 0,2147$

период контрольного откорма, г	4	0,475±0,2074*	0,086±0,2228
Возраст достижения живой массы 100 кг, дней	1	0,254±0,2280	0,286±0,2143
	2	-0,563±0,1948*	0,124±0,2219
	3	-0,679±0,1730***	0,129±0,2217
	4	0,288±0,2257	0,442±0,2006*
Толщина шпика на уровне 6–7 грудных позвонков, мм	1	-0,035±0,2356	0,635±0,1727**
	2	-0,337±0,2219	-0,678±0,1644***
	3	-0,353±0,2205	-0,677±0,1646***
	4	0,036±0,2355	-0,024±0,2235
Длина охлажденной туши, см	1	0,216±0,2301	-0,665±0,1670***
	2	0,067±0,2352	0,302±0,2132
	3	-0,154±0,2323	0,303±0,2131
	4	-0,156±0,2328	-0,917±0,0892***
Длина беконной половины охлажденной полутуши, см	1	0,152±0,2330	-0,596±0,1796**
	2	0,120±0,2340	0,577±0,1826**
	3	-0,299±0,2249	0,576±0,1828**
	4	0,074±0,2351	-0,787±0,1380***

*Примечание:* 1 — общий белок, г/л, 2 — мочевины, ммоль/л, 3 — азот мочевины, мг%, 4 — креатинин, мкмоль/л; \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$ , \*\*\*  $P < 0,001$ .

Количество достоверных корреляционных связей между показателями интерьера, откормочными и мясными качествами у животных генотипа  $MC4R^{AA}$  составляет 25,0%,  $MC4R^{AG}$  — 50,0%.

Достоверные коэффициенты корреляции установлены между следующими парами признаков: у молодняка генотипа  $MC4R^{AA}$  — среднесуточный прирост живой массы за период контрольного откорма × содержание мочевины ( $r=0,568$ ,  $t_r=2,93$ ), × содержание азота мочевины ( $r=0,536$ ,

tr=2,69), × концентрация креатинина ( $r=0,475$ , tr=2,29); возраст достижения живой массы 100 кг × содержания азота мочевины ( $r=-0,563$ , tr=2,89), × концентрация креатинина ( $r=-0,679$ , tr=3,92). У молодняка генотипа  $MC4R^{AG}$  — возраст достижения живой массы 100 кг × концентрация креатинина ( $r=-0,442$ , tr=2,20); толщина шпика на уровне 6–7 грудных позвонков × содержание общего белка ( $r=0,635$ , tr=3,68), × содержание мочевины ( $r=-0,678$ , tr=4,12), × содержание азота мочевины ( $r=-0,677$ , tr=4,11); длина охлажденной туши × содержание общего белка ( $r=-0,665$ , tr=3,98), × концентрация креатинина ( $r=-0,917$ , tr=10,28); длина беконной половины охлажденной полутуши × содержание общего белка ( $r=-0,596$ , tr=3,32), × содержание мочевины ( $r=0,577$ , tr=3,16), × содержание азота мочевины ( $r=0,576$ , tr=3,15), × концентрация креатинина ( $r=-0,787$ , tr=5,70).

Таблица 4

**Экономическая эффективность использования молодняка свиней крупной белой породы разных генотипов по гену рецептора меланокортина 4 ( $MC4R^{AA}$ ,  $MC4R^{AG}$ )**

Группа, генотип	n	Среднесуточный прирост живой массы за период контрольного откорма, г	Получено дополнительной продукции, %	Стоимость дополнительной продукции, гривен / USD
Общая группа	50	779,9±53,81	–	–
I — $MC4R^{AA}$	24	760,8±6,22	-2,45	-652,04 / -23,71
II — $MC4R^{AG}$	26	796,0±7,08	2,02	537,60 / 19,54

*Примечание:* \* цена реализации молодняка свиней живой массой 95–105 кг на перерабатывающие предприятия региона составляла в конце опыта 45,5 гривен, или 1,65 долларов США, за 1 кг.

Результаты расчета экономической эффективности использования молодняка свиней крупной белой породы разных генотипов по гену рецептора меланокортина 4 ( $MC4R^{AA}$ ,  $MC4R^{AG}$ ) приведены в табл. 4.

Установлено, что максимальная прибавка дополнительной продукции получена от молодняка свиней II группы ( $MC4R^{AG}$ ) — 2,02%, а ее стоимость составляла 537,60 гривен или 19,54 долларов США.

## Выводы

1. Установлено, что биохимические показатели сыворотки крови молодняка свиней разных генотипов по гену рецептора меланокортина 4 ( $MC4R^{AA}$ ,  $MC4R^{AG}$ ) соответствуют физиологической норме клинически здоровых животных, а по откормочным и мясным качествам (возраст достижения живой массы 100 кг, толщина шпика на уровне 6–7 грудных позвонков, длина охлажденной туши) принадлежат к I классу и классу элита.

2. Достоверную разницу между животными разных генотипов по гену рецептора меланокортина 4 ( $MC4R^{AA}$ ,  $MC4R^{AG}$ ) установлено по среднесуточному приросту живой массы за период контрольного откорма (33,8 г,  $td=3,49$ ;  $P<0,01$ ), возрасту достижения живой массы 100 кг (3,9 дня,  $td=2,80$ ;  $P<0,01$ ), толщине шпика на уровне 6–7 грудных позвонков (1,8 мм,  $td=2,60$ ;  $P<0,05$ ), длине охлажденной туши (2,2 см,  $td=4,07$ ;  $P<0,001$ ), длине беконной половины охлажденной полутуши (2,9 см,  $td=3,53$ ;  $P<0,001$ ), селекционному индексу СИ (11,69 баллов,  $td=2,90$ ;  $P<0,01$ ), индексу «Т-фактор» (0,018 баллов,  $td=2,46$ ;  $P<0,05$ ).

3. Коэффициенты корреляции между показателями интерьера, откормочными и мясными качествами молодняка свиней разных генотипов по гену рецептора меланокортина 4 ( $MC4R$ ) варьируют от  $-0,917$  до  $0,635$ .

4. Максимальную прибавку дополнительной продукции получено от молодняка свиней II группы ( $MC4R^{AG}$ ) — 2,02%, а ее стоимость составляла 537,60 гривен, или 19,54 USD. Указанное свидетельствует об эффективности использования ДНК-маркеров в селекции свиней крупной белой породы.

### Список литературы

1. Бажов Г.М., Комлацкий В.И. Биотехнология интенсивного свиноводства. М.: Росагропромиздат, 1989. 269 с.

2. Балацкий В.Н., Саенко А.М., Гришина Л.П. Полиморфизм локуса рецептора эстрогена 1 в популяциях свиней разных генотипов и его ассоциация с репродуктивными признаками свиноматок крупной белой породы // Цитология и генетика. 2012. № 4. С. 48–54

3. Гетманцева Л.В., Карпенко Е.А., Чикотин Д.В. Использование ДНК-маркеров в селекции свиней // Перспективное свиноводство. 2012. № 1. С. 20–21.

4. Гладырь Е.А., Эрнст Л.К., Костюнина О.В. Изучение генома свиней (*Sus scrofa*) с использованием ДНК-маркеров // Сельскохозяйственная биология. 2009. № 2. С. 16–26.

5. Епишко О.А. Гены, детерминирующие воспроизводительную функцию свиноматок // Весці національної академії наук Біларусі. 2008. № 2. С. 81–85.

6. Зиновьева Н.А., Эрнст Л.К. Проблемы биотехнологии и селекции сельскохозяйственных животных. Дубровицы, ВИЖ, 2006. 316 с.

7. Лабораторні методи досліджень у біології, тваринництві та ветеринарній медицині: довідник / В.В. Влізло та ін. Львів: СПОЛОМ, 2012. 767 с.

8. Лакин Г.Ф. Биометрия: учебное пособие для биол. спец. М.: Высшая школа. 1990. 352 с.

9. Максимов Г.В., Гетманцева Л.В. Влияние гена  $MC4R$  на мясную продуктивность свиней // Главный зоотехник. 2011. № 10. С. 9–14.

10. Методика определения экономической эффективности использования в сельском хозяйстве результатов научно-исследовательских работ, новой технологии, изобретений и рационализаторских предложений. М.: ВАИИПИ, 1983. 149 с.

11. Показники відтворювальної здатності та їх повторюваність у свиноматок різних генотипів з урахуванням поліморфізму G.1426G>A гена MC4R / В.І. Халак та ін. // Свинарство. Міжвідомчий тематичний науковий збірник Інституту свинарства і АПВ НААН. Полтава, 2020. Вип. 74. С. 49–62. <https://doi.org/10.37143/0371-4365-2020-74-06>.

12. Попков А.Н., Шейко И.П., Лобан Н.А., Василюк О.Я. Использование методов молекулярной генной диагностики для повышения откормочных и мясных качеств свиней белорусской крупной белой пород // Весці нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя аграрных навук. 2008. № 4. С. 70–74.

13. Association analyses of MC4R and PRKAG3 genes in pigs with different EBV for growth / S.E.F. Guimaraes et al. // 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production Brazil, 2006.

14. Associations of prolactin receptor (PRLR) genotypes and reproductive traits in pigs / A. Barreras-Serrano et al. // Proc. Western Section, Amer. Soc. Anim. Sci. 2009. № 60. P. 52–55.

15. Bernichtein S., Touraine P., Goffin V. New concepts in prolactin biology // J. Endocrinol. 2010. Vol. 206. P. 1–11.

16. Drogemuller C., Thieven U., Harlissius B. An *AvaI* and a *MspA1I* polymorphism at the porcine oestrogen receptor (ESR) gene // Anim. Genet. 1997. Vol. 28. P. 59.

17. Functional and phylogenetic analyses of a melanocortin 4 receptor mutation in domestic pigs / K.S. Kim et al. // Domest. Anim. Endocrinol. 2004. Vol. 6. P. 75–86.

18. Hazel L.N., Kline E.A. Mechanical measurement of fatness and carcass value in live hogs // J. Anim. Sci. 1952. Vol. 11. P. 313–318.

19. Houston R.D., Cameron N.D., Rance K.A. A *melanocortin-4 receptor (MC4R)* polymorphism is associated with performance traits in divergently selected Large White pig populations // Anim. Genet. 2004. Vol. 35. P. 386–390.

20. Kim K.S., Larsen N.J., Rothshild M.F. Rapid communication: linkage and physical mapping of the porcine *melanocortin-4 receptor (MC4R)* gene // J. Anim. Sci. 2000. Vol. 78. P. 791–792.

21. Kozyr V., Khalak V., Povod M. DNA-type results swine for MC4R-gene and its association with productivity // Agrolife: Scientific journal. Bucharest: University of Agronomic Sciences and Veterinary Medicine of Bucharest. 2019. Vol. 8. No. 1. P. 128–133.

### **Melanocortin-4 receptor gene (MC4R) and its association with biochemical parameters of blood serum, fattening and meat qualities in young Large White pigs**

*Khalak V.I.*

State Institution Institute of Grain Crops, National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine, Dnipro, Ukraine

#### **Abstract**

The article presents the results of studies on biochemical parameters of blood serum, fattening and meat qualities of young pigs of different genotypes for the melanocortin-4 receptor gene (*MC4R*). The level of correlations between the traits and the economic efficiency of research results are determined. It was found that the biochemical parameters of blood serum of young pigs of different genotypes for the melanocortin-4 receptor gene (*MC4R<sup>AA</sup>*, *MC4R<sup>AG</sup>*) correspond to the physiological norm of clinically healthy animals. In terms of fattening and meat qualities (age at which live weight is 100 kg in days, fat thickness at 6–7 thoracic vertebrae in mm, and chilled carcass length in cm), they belong to the 1st class and the elite class. A significant difference between animals of different genotypes (*MC4R<sup>AA</sup>*, *MC4R<sup>AG</sup>*) was established for the average daily gain in live weight during the control feeding period (4,42%), the age at which live weight was 100 kg (2,29%), the thickness of fat at the level of 6–7 thoracic vertebrae (8,87%),

the length of the chilled carcass (2,26%), the length of the bacon half of the chilled side (3,36%), the SI selection index (21,84%), the T-factor index (7,89%). Correlation coefficients between the parameters of the interior, fattening and meat qualities of young pigs of different genotypes for the melanocortin receptor gene-4 (*MC4R*) vary from -0,917 to 0,635. The maximum increase in additional production (2,02%) was obtained from young pigs of the II group (*MC4R*<sup>AG</sup>), and its cost gain was 537,60 UAN, or 19,54 US dollars. This indicates the effectiveness of the use of DNA markers in the selection of Large White pigs.

Key words: young pigs, genotype, biochemical parameters of blood serum, fattening and meat qualities, economic efficiency, variability, correlation

**ДЕЙСТВИЕ ПРЕБИОТИКА ВЕТЕЛАКТ  
НА МИКРОБИОМ КИШЕЧНИКА  
И ПРОДУКТИВНОСТЬ КУР-НЕСУШЕК  
В ПРОМЫШЛЕННЫХ УСЛОВИЯХ**

**Кочиш И.И., Мясникова О.В., Коренюга М.В.,  
Мотин М.С., Элькоми Х.С.**

ФГБОУ ВО «Московская государственная академия  
ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА  
имени К.И. Скрябина», Москва, Россия  
E-mail: omyasnikova71@gmail.com

**Аннотация**

В настоящей работе проводилась оценка продуктивных показателей и состава микробиома в промышленных условиях на курах-несушках родительского стада. Изучена динамика влияния пребиотической добавки Ветелакт на количественный и качественный состав микробиома в желудочно-кишечном тракте у кур-несушек методами количественной ПЦР и NGS-секвенирования. После скармливания пребиотика из образцов содержимого слепых отростков кур выделили ДНК и определили общее микробное число и состав микрофлоры сразу после выпойки и через 10 дней после окончания дачи препарата. По результатам применения пребиотической добавки определена динамика изменения микрофлоры с учетом пролонгированного действия препарата на продуктивные качества кур.

Ключевые слова: куры-несушки, желудочно-кишечный тракт, слепые отростки, микрофлора, микробиота, микробиом, RT-qPCR, NGS-секвенирование, ПЦР

## Введение

При использовании кормовых добавок важно оценивать их влияние не только в целом на здоровье и продуктивность птицы, но и на состав микробиоты ее кишечника и экспрессию целевых генов, ответственных за формирование иммунного ответа и хозяйственно полезных признаков. Изучение микробиоты и генной экспрессии у животных и птицы проводят с помощью таких современных молекулярно-генетических методик, как T-RFLP, ПЦР в реальном времени (RT-qPCR) и др. [1–3]. В последнее время к их арсеналу добавился высокопроизводительный метод NGS-секвенирования, например с использованием секвенатора Ion S5™ System, который позволяет максимально полно изучать микрофлору кишечника, в том числе ту, которая не культивируется в лабораторных условиях.

В условиях производства птица находится под давлением множества внешних неблагоприятных факторов, включая повышение бактериального фона с возрастом птицы, высокая скученность, которая приводит к травмам, конкуренции у кормушки и другим стрессам. В результате резистентность у птицы с возрастом ухудшается, снижается продуктивность и сохранность. Возможность поддержания организма птицы экологически безопасными способами и без больших финансовых вложений является желанием каждого производителя.

Поиск решения названных проблем у кур-несушек путем использования пребиотиков остается актуальным и малоизученным. В исследованиях, которые осуществляются в Международной лаборатории молекулярной генетики и геномики птицы с применением молекулярно-биологических методов, созданной в МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина [2–13], одной из задач являлась оценка влияния пребиотического препарата Ветелакт [14] на со-

стояние микробиома в кишечнике кур родительского стада. Ранее были проведены лабораторные испытания пребиотика Ветелакт на малом поголовье молодой птицы в виварии при кафедре зоогигиены и птицеводства имени А.К. Даниловой МГАВМиБ – МВА имени К.И. Скрябина; при этом был отмечен положительный эффект скармливания Ветелакта на микробиом и определено влияние препарата на экспрессию генов. Целью настоящей работы является измерение динамики воздействия препарата Ветелакт на продуктивность и микробиом кур в промышленных условиях.

### **Материалы и методы исследований**

Для определения влияния пребиотического препарата Ветелакт в промышленных условиях проводили опыт на курах-несушках в возрасте 56–59 недель.

Исследования проводили на площадке родительского стада ООО «Птицефабрика Линдовская – племенной завод». Для опыта были подобраны два птичника с курами-несушками одного возраста, с идентичными условиями клеточного содержания и уровнем продуктивности. Общая численность кур в двух птичниках на начало опыта составляла 11 051 голов. Случайным образом один из птичников был определен в качестве опытного, а второй — контрольного. В контроле и опыте куры получали стандартный рацион, соответствующий по питательности принятым нормативам. В опытном птичнике происходила выпойка препарата Ветелакт через систему Dosatron в соответствии с рекомендациями производителя препарата (0,1 мл на 1 кг живой массы в день) на протяжении 7 суток. Ежедневно учитывали выбытие птицы, общее количество снесенных яиц и количество яиц по категориям (инкубационное, брак), выход инкубационного яйца и процент яиц с дефектами скорлупы (насечка, бой). Интенсивность яйцекладки,

выход инкубационных яиц и процент насечки рассчитывали по неделям.

Возраст птицы на момент начала исследований по влиянию кормовой добавки составлял 57 недель. Перед началом выпойки Ветелакта, в день окончания и через 10 дней после выпойки пребиотика по 10 голов кур из опытного птичника были подвергнуты эвтаназии для отбора проб.

Методика подготовки проб, включая выделение ДНК из образцов химуса слепых отростков, совпадала для обеих групп. ДНК из химуса для последующей оценки микробиома получали с помощью набора QIAamp Power Fecal DNA Kit (QIAGEN) и при использовании автоматической станции QIAcube connect, предназначенной для выделения нуклеиновых кислот и белков. Качество выделенной микробной ДНК контролировали количественно с помощью прибора Qubit 3.0.

Состав микробиоценозов слепых отростков исследовали посредством современных молекулярно-генетические методов: NGS-секвенирования и RT-qPCR.

Для NGS-секвенирования использовали Ion 520™ Chip на базе системы Ion GeneStudio™ S5 System. Геномную библиотеку готовили в соответствии с протоколами для наборов Ion Xpress™ Plus Library Kit, Ion Plus Fragment Library Kit, Ion AmpliSeq Library Kit 2.0 и Ion 16 Metagenomics Kit (Thermo Fisher Scientific) [8, 15].

При проведении RT-qPCR на амплификаторе Light-Cycler® 96 System (Roche, Швейцария) и по существующей методике [8, 11] применяли флуоресцентный краситель SYBR Green (Диаэм, Евроген, Россия).

В процессе анализа система в реальном времени определяла общее микробное число согласно заданной формуле и посредством прямого сравнения на основе эквивалента к ДНК *E. coli*. Результаты подвергали математической обработке с помощью программы MS Excel.

Анализ результатов секвенирования для определения микробного состава проводили с помощью сетевого программного продукта Ion Reporter (<https://ionreporter.thermo-fisher.com/ir/>).

### Результаты исследований и обсуждение

Показатели продуктивности в опытном и контрольном птичниках приведены в табл. 1. Учет проводили ежесуточно, и по итогам рассчитывали средние показатели за неделю. При ежедневном учете яичной продуктивности было отмечено, что в опытной группе яйценоскость начала увеличиваться через 5 суток после начала выпаивания Ветелакта.

Таблица 1

#### Показатели продуктивности кур-несушек родительского стада в опытном и контрольном птичниках

Возраст, нед.	Интенсивность яйцекладки, %		Выход инкубационного яйца, %		Насечка и бой яйца, %		Сохранность птицы, %	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
56–57	55,1	51,6	92,5	94,4	2,6	2,7	99,2	99,8
57–58	52,3	52,1	92,9	94,1	2,8	2,5	99,5	99,1
58–59	48,7*	53,8*	91,2*	93,4*	3,1	2,9	99,1	99,3

\* разница достоверна при  $p < 0,05$ .

Общеизвестно, что после пика яйцекладки куры постепенно снижают яйценоскость, и по нормативу скорость

снижения составляет 1,5–2,0% в неделю. Однако, как следует из табл. 1, после проведения выпойки куры в опытном птичнике показали небольшое увеличение яйценоскости, в то время как в контрольном птичнике наблюдался ожидаемый спад яичной продуктивности. При поголовье в каждом птичнике более 5 тысяч голов разница в показателях продуктивности достоверна при  $p < 0,05$ . Кроме того, при примерно равной сохранности замечена тенденция к улучшению качества скорлупы: процент поврежденного при сборе яйца немного снизился, что сказалось на выходе инкубационных яиц.

В пересчете на 1000 голов ежедневная разница в получении инкубационного яйца составила в опыте 48 яиц, или 13%.

Таким образом, Ветелакт оказал положительное пролонгированное влияние на продуктивные показатели.

Исследование состава микробиоты показало, что до начала опыта микробный профиль слепых отростков у птицы в опытном и контрольном птичнике был примерно одинаков, не имел статистических различий и соответствовал нормативу.

У птицы опытной группы сразу после выпойки численность бактерий филума *Actinobacteria* увеличилась на 100% ( $p < 0,05$ ), в том числе представителей порядка *Bifidobacteriales* — в 10 раз ( $p < 0,05$ ). Увеличилась также численность микроорганизмов филума *Bacteroidetes* — на 29,41% ( $p < 0,05$ ). Было отмечено достоверное увеличение бактерий порядка *Lactobacillales* — на 183,33% ( $p < 0,05$ ). Остальные таксоны микроорганизмов изменились в пределах нормы, и не была установлена их связь с применением пребиотика.

У птицы опытной группы через 10 суток после выпойки по сравнению с уровнем микробиоты до выпойки обнару-

жено достоверное увеличение численности бактерий филума *Actinobacteria* — на 72,11% ( $p < 0,01$ ), в том числе бактерий порядка *Bifidobacteriales* — в 7 раз ( $p < 0,05$ ). Увеличилась численность представителей филума *Bacteroidetes* — на 31,48% ( $p < 0,05$ ). Было также отмечено достоверное увеличение бактерий порядка *Lactobacillales* — на 192,31% ( $p < 0,01$ ). Остальные таксоны микроорганизмов изменились в пределах нормы, и не была установлена их связь с применением пребиотика. По сравнению с составом микробиоты сразу после применения Ветелакта наблюдалось некоторое снижение филума *Actinobacteria* (на 30%) и бактерий порядка *Bifidobacteriales*. В то же время наблюдалась тенденция некоторого роста численности бактерий порядка *Lactobacillales* (на 9%;  $p > 0,05$ ).

Таким образом, полученные результаты показали на постепенном снижении численности микроорганизмов, на которых направлено стимулирующее действие пребиотика. При этом в процессе отмечено пролонгированное действие пребиотика Ветелакт на яйценоскость кур.

***Исследования проведены при поддержке гранта Правительств Российской Федерации (договор № 14. W03.31.0013 от 20 февраля 2017 г.).***

### Список литературы

1. Грозина А.А. Состав микрофлоры желудочно-кишечного тракта у цыплят-бройлеров при воздействии пробиотика и антибиотика (по данным T-RFLP–RT-PCR) // Сельскохозяйственная биология. 2014. № 6. С. 46–58.
2. Лаптев Г.Ю., Ильина Л.А., Никонов И.Н., Кочиш И.И., Романов М.Н., Смоленский В.И., Панин А.Н., Ыылдырым Е.А., Новикова Н.И., Филиппова В.А., Дубровин А.В. Определение микробиоценозов кишечника кур породы «Хайсекс» методом T-RFLP в онтогенезе // Acta Naturae. 2017. Т. 9. Спецвып. № 1. С. 33.

3. Romanov M.N., Laptev G.Yu., Nikonov I.N., Ilyina L.A., Novikova N.I., Barkova O.Yu., Griffin D.K., Kochish I.I., Smolensky V.I., Panin A.N., Shaposhnikov M.N. Determination of microbio-cenoses in the intestine of the Hisex Brown hens in ontogenesis using T-RFLP method // *Insights in Nutrition and Metabolism*. 2017. Vol. 1.No. 3. P. 39.

4. Romanov M.N., Griffin D.K., Panin A.N., Kochish I.I., Smolensky V.I., Laptev G.Yu., Nikonov I.N., Ilyina L.A. Comparison of gut microbiota in hens of the crosses Hisex Brown and Lohmann Brown // *Insights in Nutrition and Metabolism*. 2017. Vol. 1. No. 3. P. 30.

5. Surai P.F., Kochish I.I., Griffin D.K., Nikonov I.N., Romanov M.N. Microbiome and antioxidant system of the gut in chicken: food for thoughts // *Insights in Nutrition and Metabolism*. 2017. Vol. 1. No. 3. P.34.

6. Nikonov I.N., Ilyina L.A., Kochish I.I., Romanov M.N., Podobed L.I., Laptev G.Yu., Panin A.N., Smolenskij V.I., Suraj P.F. Changing the intestinal microbiota of chickens in ontogenesis // *Ukrainian Journal of Ecology*. 2017. Vol. 7. No. 4. P. 492–499.

7. Nikonov I.N., Kochish I.I., Ilyina L.A., Romanov M.N., Shevhuzhev A.F. Microbiota in the intestines of cross chick Lohmann Brown in ontogeny // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2017. Vol. 8. No. 6. P. 645–654.

8. Кочиш И.И., Лаптев Г.Ю., Никонов И.Н., Смоленский В.И., Сурай П.Ф. Кормовые и ветеринарные аспекты состояния микробиоты кишечника кур-несушек. М.: Сельскохозяйственные технологии, 2017. 182 с.

9. Кочиш И.И., Романов М.Н., Никонов И.Н., Ильина Л.А., Лаптев Г.Ю. Определение микробиоценозов кишечника кур яичных кроссов // *Мировые и российские тренды развития птицеводства: реалии и вызовы будущего: Материалы XIX Международной конференции (Сергиев Посад, 15–17 мая 2018 г.) / Всемир. науч. ассоц. по птицеводству (ВНАП). Рос. отд-ние, НП «Научный центр по птицеводству»; под ред. акад. РАН, проф. В.И. Фисина. Сергиев Посад Моск. обл.: Всерос. науч.-исслед. и технол. ин-т птицеводства, 2018. С. 240–243.*

10. Nikonov I., Romanov M.N., Kochish I.I., Surai P. Determination of microbiocoenoses in the intestine of the Hisex Brown hens in ontogenesis // *World's Poultry Science Journal*. 2018. Suppl. (The XVth European Poultry Conference. Dubrovnik, Croatia. 17th to 21st September 2018. Conference Information and Proceedings. Zagreb, Croatia: Croatian Branch of the World's Poultry Science Association under the hospice of the World's Poultry Science Journal). P. 337.

11. Методические рекомендации по внедрению разработанной системы профилактики бактерий-патогенов путем коррекции рационов питания у кур несушек и применения антимикробных добавок / Кочиш И.И., Смоленский В.И., Лаптев Г.Ю., Романов М.Н., Никонов И.Н., Панин А.Н., Сурай П.Ф., Ильина Л.А., Мясникова О.В., Селина М.В., Коренюга М.В., Колесникова Р.Р., Шихбабаев Э.У.; Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина. М.: МВА им. К.И. Скрябина, 2018.

12. Laptev G.Yu., Filippova V.A., Kochish I.I., Yildirim E.A., Pina L.A., Dubrovin A.V., Brazhnik E.A., Novikova N.I., Novikova O.B., Dmitrieva M.E., Smolensky V.I., Surai P.F., Griffin D.K., Romanov M.N. Examination of the expression of immunity genes and bacterial profiles in the caecum of growing chickens infected with *Salmonella Enteritidis* and fed a phytobiotic // *Animals*. 2019. Vol. 9.No. 9. Article 615.

13. Narushin V.G., Laptev G.Yu., Yildirim E.A., Pina L.A., Filippova V.A., Kochish I.I., Gorfunkel E.P., Dubrovin A.V., Novikova N.I., Dunnyashev T.P., Smolensky V.I., Surai P.F., Bondarenko Yu.V., Griffin D.K., Romanov M.N. Modelling effects of phytobiotic administration on coherent responses to *Salmonella* infection in laying hens // *Italian Journal of Animal Science*. 2020. Vol. 19. No. 1. P. 282–287.

14. Околелова Т.М., Лесниченко И.Ю., Енгашев С.В. Пребиотик Ветелакт в мясном и яичном птицеводстве // *Птицеводство*. 2015. №8. С. 15–17.

15. Amit-Romach E., Sklan D., Uni Z. Microflora ecology of the chicken intestine using 16S ribosomal DNA primers // *Poultry Science*. 2004. Vol. 83. No. 7. P. 1093–1098.

## **Influence of prebiotic Vetelact on the intestinal microbiome and production of egg layers at industrial conditions**

*Kochish I.I., Myasnikova O.V., Korenyuga M.V.,  
Motin M.S., Elkomy H.S.*

K.I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary  
Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia

### **Abstract**

In this work, we evaluated the productivity and composition of the microbiome in an industrial environment on laying hens of the parent flock. The dynamics of the influence of the prebiotic additive Vetelact on the quantitative and qualitative composition of the microbiome in the gastrointestinal tract of laying hens was studied by quantitative PCR and NGS sequencing. After administering the prebiotic in the liquid form, DNA was isolated from the samples of the chickens' cecal contents, and the total microbial number and the composition of the microflora were determined immediately after giving the additive and 10 days after the end of its administration. According to the results of the use of a prebiotic supplement, the dynamics of changes in microflora was determined, taking into account the prolonged action of the additive.

**Key words:** laying hens, gastrointestinal tract, cecum, microflora, microbiota, microbiome, RT-qPCR, NGS sequencing, PCR

## СОДЕРЖАНИЕ

Приветствие ректора С.В. Полябина .....	3
О результатах реализации мегагранта по направлению научного исследования «Разработка современных биотехнологий для оценки экспрессии генов в связи с продуктивностью и устойчивостью к заболеваниям в птицеводстве» .....	5
<i>И.И. Кочиш</i>	
Современные молекулярно-генетические и геномные технологии в области изучения биологии птиц.	
1. Прикладные исследования.....	13
<i>Романов М.Н., Лаптев Г.Ю., Йылдырым Е.А., Ильина Л.А., Филиппова В.А., Кочиш И.И., Дубровин А.В., Новикова Н.И., Дуняшев Т.П., Смоленский В.И., Никонов И.Н., Селина М.В., Сурай П.Ф.</i>	
Современные молекулярно-генетические и геномные технологии в области изучения биологии птиц.	
2. Фундаментальные исследования .....	34
<i>Романов М.Н., Киазим Л., О'Коннор Р., Гриффин Д.К.</i>	
Полиморфизм однонуклеотидных замен в генах миостатина и пролактина у кур исходных линий кросса «Смена-8» .....	45
<i>Кочиш И.И., Мясникова О.В., Мартынов В.В., Бойко Е.Е., Коренюга М.В.</i>	
Фрактальная биоконсолидация микроорганизмов в кишечниках кур-несушек вследствие применения кормовой добавки из минерала шунгита.....	59
<i>Кочиш И.И., Полябин С.В., Воробьев Н.И., Никонов И.Н.</i>	
Оценка экспрессии генов, ответственных за формирование скорлупы и яичного белка, у кур-несушек родительского стада под влиянием различных кормовых добавок .....	76
<i>Манукян В.А., Мясникова О.В., Берникова К.Е., Куванов Т.К., Мотин М.С., Зимин Е.Е., Шарафетдинов Г.Р.</i>	

- Математическая оценка данных межвидовой  
 БАК-гибридизации в процессе геномного картирования  
 у белошейной зонотрихии как модели поведения птиц .....91  
*Романов М.Н., Нарушин В.Г., Гонсер Р.А., Тамтл Э.М.*
- Полифенольные соединения в кормлении птицы:  
 микробиота, редокс-баланс и витагены в кишечнике.....100  
*Сурай П.Ф., Кочиш И.И., Фисинин В.И.,  
 Никонов И.Н., Романов М.Н.*
- Математическая оценка влияния  
 инфекционного заражения и кормовой добавки  
 на показатели яйценоскости у кур-несушек .....115  
*Нарушин В.Г., Романов М.Н., Лаптев Г.Ю.,  
 Ёылдырым Е.А., Ильина Л.А., Филиппова В.А.,  
 Кочиш И.И., Дубровин А.В., Новикова Н.И., Дунашев Т.П.*
- Сравнительный анализ микрофлоры пищеварительного тракта  
 молодых цыплят-бройлеров и взрослых кур-несушек  
 при факторах заражения и применения эфирных масел.....125  
*Дубровин А.В., Лаптев Г.Ю., Ильина Л.А.,  
 Филиппова В.А., Ёылдырым Е.А., Бражник Е.А.,  
 Новикова О.Б., Кочиш И.И.*
- Генетические маркеры  
 мясной продуктивности домашних птиц .....136  
*Титов В.Ю., Кочиш И.И., Никонов И.Н., Коренюга М.В.,  
 Мясникова О.В., Куванов Т.К., Долгорукова А.М.*
- Разработка неразрушающих технологий  
 и математических методов для оценки качества яиц.....151  
*Нарушин В.Г., Селина М.В., Романов М.Н.*
- Использование метода qRT-PCR для анализа влияния  
 добавления в корм наночастиц оксида меди  
 на показатели роста, антиоксидантные, воспалительные  
 и иммунные реакции у промышленных цыплят-бройлеров,  
 подвергшихся тепловому стрессу .....165  
*Сехам Эль-Кассас, Карима Эль-Наггар,  
 Сафаа Э. Абдо, Абир А. К. Киррелла*

Социо-экономические и зоотехнические подходы к замене кормовых антибиотиков в рационах цыплят-бройлеров.....	170
<i>Тюрина Д.Г., Лантев Г.Ю.</i>	
Пребиотические добавки в кормлении сельскохозяйственной птицы.....	181
<i>Кочиш И.И., Элькоми Х.С.</i>	
Разработка добавки — сорбента микотоксинов «МеКаСорб» для повышения продуктивных показателей цыплят-бройлеров .....	195
<i>Капитонова Е.А.</i>	
Применение биологически активных добавок для повышения продуктивности сельскохозяйственной птицы .....	209
<i>Карпенко Л.Ю., Гласкович С.А., Гласкович М.А., Юркевич В.В., Вертинская-Филипенко А.О., Папсуева М.И.</i>	
Экспериментальное обоснование применения в рационах цыплят-бройлеров продуктов метаболизма бифидобактерий.....	226
<i>Юркевич В.В., Гласкович М.А., Карпенко Л.Ю.</i>	
Модулирующий эффект гамма-аминомасляной кислоты на потребление корма и экспрессию генов потребления корма у промышленных цыплят-бройлеров, выращиваемых в нормальных условиях и условиях теплового стресса .....	245
<i>Сафаа Э. Абдо, Сехам Эль-Кассас, Карима Эль-Наггар, Рашиа А. Аль-Вакил, Абир А.К. Киррелла</i>	
Иммунологические, генетические и биологические маркеры в селекции овец и коз.....	249
<i>Марзанов Н.С., Девришов Д.А., Фейзуллаев Ф.Р., Марзанова С.Н., Комкова Е.А.</i>	
Важность профилактики микроэлементозов в пушном звероводстве .....	269
<i>Балакирев Н.А., Максимов В.И., Дельцов А.А.</i>	

Эффективность использования комбикормов КР-1 для молодняка крупного рогатого скота с включением в состав солодовых ростков.....	277
<i>Разумовский С.Н.</i>	
Скармливание телятам добавки из культуральной жидкости от производства лимонной кислоты в качестве подкислителя.....	293
<i>Надаринская М.А., Голушко О.Г., Козинец А.И.</i>	
Биологически активная добавка на основе гриба <i>Fusarium sambucinum</i> при скармливании телятам в молочный период.....	310
<i>Надаринская М.А., Голушко О.Г.</i>	
Оценка влияния фитазной добавки на общее микробное число и состав микрофлоры кишечника мясных линий кур.....	325
<i>Мотин М.С., Мясникова О.В., Манукян В.А., Куванов Т.К., Берникова К.Е.</i>	
Исследование местного раздражающего, кожно-резорбтивного и сенсibiliзирующего действия новой серабиополимерной композиции.....	337
<i>Земцов И.П., Кузнецов С.В.</i>	
Ген рецептора меланокортина 4 ( <i>MC4R</i> ) и его ассоциация с биохимическими показателями сыворотки крови, откормочными и мясными качествами молодняка свиной крупной белой породы.....	350
<i>Халак В.И.</i>	
Действие пребиотика Ветелакт на микробиом кишечника и продуктивность кур-несушек в промышленных условиях.....	363
<i>Кочиш И.И., Мясникова О.В., Коренюга М.В., Мотин М.С., Элькоми Х.С.</i>	

Ассоциация образовательных и научно-исследовательских учреждений  
по координации образовательной и научной деятельности в  
сельскохозяйственных отраслях «ветеринария, зоотехния и биотехнология»

Формат А5. Гарнитура Times New Roman  
Бумага офсетная. Печать цифровая  
Тираж 70 экз.

ООО «Издательство Сельскохозяйственные технологии»  
109472, г. Москва, ул. Ташкентская, д.34, корп.4, оф.2  
Тел.: (495) 919-44-52,374-56-50  
[www.zoovetkniga.ru](http://www.zoovetkniga.ru)