

ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ У МЯСНЫХ ЦЫПЛЯТ (*Gallus gallus* L.)*И.А. ЕГОРОВ, А.А. ГРОЗИНА, В.Г. ВЕРТИПРАХОВ, Т.Н. ЛЕНКОВА,
В.А. МАНУКЯН, Т.А. ЕГОРОВА, М.В. КОЩЕЕВА

Биохимические показатели крови имеют важное значение в определении физиологического статуса и состояния здоровья сельскохозяйственных животных и птицы. В последние десятилетия приборная база научных лабораторий значительно обновилась, на смену классическим методам исследования пришли автоматические биохимические анализаторы с коммерческими наборами реактивов. Это ускорило выполнение анализов и повысило точность исследований, что требует определения новых референсных величин изучаемых параметров. В представленной работе впервые приводятся референсные значения биохимических индексов и показателей активности пищеварительных ферментов крови у мясных цыплят (*Gallus gallus* L.) экспериментального кросса и их родительских линий в онтогенезе. Целью работы было определение биохимических показателей крови у цыплят кросса Смена 8 в постэмбриогенезе в сравнении с показателями у птицы исходных линий. Исследования выполняли в 2017 году на линиях пород корниш (линия Б5) и плимутрок (линия Б9) и их гибридах (Б59) селекции ФГУП СГЦ «Смена». Цыплят разделили на группы по 60 гол. Для опытов брали по 10 особей из каждой группы, исследования выполняли в 2 повторностях. Гибридов кормили вволю, а птицу исходных линий ограничивали в корме с 15-суточного возраста. Учитывали сохранность и живую массу птицы в возрасте 1, 7, 14, 21, 28, 35 сут. Кровь получали из яремной вены во время убоя декапитацией. Исследования выполняли на проточном биохимическом полуавтоматическом анализаторе Sinnova BS3000P («SINNOWA Medical Science & Technology Co., Ltd», Китай) с использованием коммерческих наборов реагентов («ДИАКОН-ВЕТ», Россия). У 1-суточных мясных цыплят отмечали низкое содержание в плазме крови общего белка, триглицеридов, кальция, тогда как количество общего фосфора и общего холестерина было относительно высоким по сравнению с таковым в последующие возрастные периоды. Наиболее значительное повышение основных биохимических показателей крови наблюдалось к 7-суточному возрасту. Это было связано, в том числе, с интенсивным ростом цыплят и функциональным становлением их пищеварительной системы. Концентрация общего белка в плазме крови с возрастом птицы увеличивалась, что было обусловлено становлением и совершенствованием процессов биосинтеза белка. Концентрация общего холестерина в плазме крови имела тенденцию к снижению с возрастом, причем этот процесс был наиболее заметен у птицы старше 21 сут. Содержание триглицеридов в плазме крови увеличивалось к 14-суточному возрасту на 41,6-57,1 % по сравнению с предыдущими показателями. Существенных различий по концентрации общего белка между гибридами и цыплятами исходных линий до 35-суточного возраста не наблюдалось. Между гибридами и цыплятами исходных линий имелись различия по содержанию кальция (в возрасте 14, 28 сут), общего фосфора (14, 28 сут), общего холестерина (14, 28 сут) и триглицеридов (7 сут). Показатели активности пищеварительных ферментов в крови относительно живой массы у мясных кур снижались с возрастом, причем наиболее интенсивно изменялась активность трипсина: у гибридов — в 501 раз, у цыплят отцовской линии — в 453 раза, у цыплят материнской линии — в 442 раза с 1-суточного до 35-суточного возраста. Активность амилазы снижалась соответственно в 100, 52 и 50 раз, липазы — в 31, 33 и 35 раз.

Ключевые слова: мясные цыплята, общий белок крови, липидный обмен, кальций и фосфор в крови кур, пищеварительные ферменты крови.

Благодаря транспортной и регуляторной функции крови, между пищеварительной системой и обменом веществ обеспечивается многосторонняя связь. Она выражается не только в тонкой координации пищеварительной деятельности и метаболизма, обусловленной нервной и гормональной регуляцией, но и в наличии специальных функций желудочно-кишечного тракта, способствующих осуществлению химических процессов

* Исследование выполнено при поддержке гранта РФФИ для реализации научного проекта № 16-16-04089 «Изучение физиологических и микробиологических особенностей пищеварения кур мясных пород в эмбриональный и постэмбриональный периоды для создания новых технологий кормления, обеспечивающих максимально полную реализацию генетического потенциала птицы».

в тканях. Наши экспериментальные данные подтверждают научную гипотезу (1, 2) о кругообороте пищеварительных ферментов и их наличии в плазме крови (3-5). В предыдущих работах была показана возрастная динамика панкреатических ферментов в ткани поджелудочной железы и плазме крови у цыплят-бройлеров (6).

Состав крови млекопитающих и птиц отличается постоянством, поскольку только при стабильности состава внутренней среды организма возможна четкая и бесперебойная работа его систем. Биохимические показатели крови важны при определении физиологического статуса и состояния здоровья сельскохозяйственных животных и птицы. Известно, что биохимические показатели крови у кур изменяются с возрастом (7, 8).

В последние десятилетия приборная база научных лабораторий значительно обновилась. На смену классическим методам пришло применение полуавтоматических и полностью автоматизированных биохимических анализаторов с коммерческим набором реактивов. В результате скорость и точность исследований повысились, что требует установления новых референсных значений изучаемых показателей. В специальной литературе представлен обширный, но разноречивый материал по биохимии крови цыплят-бройлеров (9-11), в том числе при использовании различных добавок (12-14) и в зависимости от возраста (15). При этом сравнительные данные, полученные на исходных линиях мясных кур и их гибридов, в доступных публикациях практически отсутствуют. Сведения об изменении биохимических показателей и пищеварительных ферментов крови позволяют проследить за становлением обменных процессов в организме мясных кур разных линий и гибридов в постэмбриональный период. Это особенно актуально при выведении новых кроссов для того, чтобы выделить периоды эффективного развития и обеспечить птицу адекватным питанием для повышения конверсии корма в продукцию.

В представленной работе впервые приводятся референсные значения биохимических показателей и активности пищеварительных ферментов крови у мясных цыплят экспериментального кросса и их родительских линий в онтогенезе. Установлено, что активность пищеварительных ферментов в крови относительно живой массы снижается с 1-суточного до 35-суточного возраста, причем наибольшие изменения отмечены для трипсина: у гибридов — в 501 раз, у цыплят отцовской линии — в 453 раза, у цыплят материнской линии — в 442 раза. Активность амилазы снижалась соответственно в 100, 52 и 50 раз, липазы — в 31, 33 и 35 раз.

Целью настоящей работы было изучение биохимических показателей крови у мясных цыплят (*Gallus gallus* L.) кросса Смена 8 в постэмбриогенезе и их сравнение с показателями у птицы исходных линий.

Методика. Исследования выполняли в 2017 году на исходных линиях пород корниш (линия Б5) и плимутрок (Б9) и их гибридах кросса Смена 8 (Б59) селекции ФГУП ППЗ СГЦ «Смена». В период выполнения опытов цыпленка содержали в виварии Всероссийского научно-исследовательского и технологического института птицеводства (по 60 гол. в группе) при соблюдении условий кормления и содержания, рекомендуемых для соответствующего кросса и исходных линий. Для опытов брали по 10 цыплят из каждой группы, исследования выполняли в 2 повторностях. Гибридов кормили вволю, птицу исходных линий ограничивали в корме с 15-суточного возраста. Учитывали сохранность и живую массу птицы в возрасте 1, 7, 14, 21, 28, 35 сут.

Кровь получали из яремной вены во время убоя декапитацией. В пробирки добавляли свежеприготовленный раствор цитрата натрия, кровь

центрифугировали при 5000 об/мин в течение 5 мин, полученную плазму изучали на проточном полуавтоматическом анализаторе Sinnowa BS3000P («SINNOWA Medical Science & Technology Co., Ltd», Китай) с использованием биохимических наборов («ДИАКОН-ВЕТ», Россия) для определения общего белка, общего холестерина, триглицеридов, кальция и фосфора.

Плазму крови исследовали на активность амилазы и липазы на приборе Chem well 2900 (T) («Awareness Technology», США) с использованием соответствующих наборов реагентов («Human GmbH», Германия). При определении активности панкреатической амилазы и липазы 200 мкл буферного раствора (состав для амилазы — Goods buffer, NaCl, MgCl₂, α -Glucosidase, monoclonal antibodies against salivary amylase, sodium azide, pH 7,15; для липазы — Goods buffer, aurodesoxycholate, Desoxycholate, Calcium ions, colipase sodium azide, pH 8,0) смешивали с 4,0 мкл плазмы крови и инкубировали при температуре 37 °С в течение соответственно 3 и 5 мин. Затем добавляли 50 мкл субстрата (состав для амилазы — Goods buffer, EPS-G7, sodium azide, pH 7,15; для липазы — Tartrate buffer, lipase substrate, пропан-1-ол, pH 4,0) и инкубировали 2 мин, после чего с использованием фильтров соответственно для $\lambda = 405$ нм и $\lambda = 580$ нм учитывали оптическую плотность (absorbance, A) через 1, 2 и 3 мин (для амилазы) и через 1 и 2 мин (для липазы) и вычисляли средние значения $\Delta A/\text{мин}$. Активность трипсина оценивали на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Sinnowa BS-3000P («SINNOWA Medical Science & Technology Co., Ltd», КНР) (15).

В каждый возрастной период в двух опытах было выполнено не менее 20 исследований для каждого из показателей. Статистическая обработка результатов включала расчет среднего значения (M) и стандартные ошибки среднего ($\pm SEM$) в программе Microsoft Excel 2010. Достоверность различий оценивали по t -критерию Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $P < 0,05$.

Результаты. В условиях ФГУП СГЦ «Смена» проводится совершенствование и создание линий и кроссов мясных кур с использованием современных методов и приемов селекции и разработок по оценке и отбору молодняка и взрослой птицы (16, 17). Птицу, отобранную для опытов, содержали на рационах, состав которых представлен в таблице 1.

1. Состав (%) и показатели качества рационов для мясных цыплят (*Gallus galus L.*) кросса Смена 8 и птицы исходных линий в разном возрасте

Ингредиент, показатель	Цыплята-бройлеры			Куры родительских линий
	1-14 сут	15-21 сут	22-41 сут	1-49 сут
Кукуруза	22,000	20,566	17,000	10,000
Пшеница	27,806	36,292	40,355	49,480
Соевый шрот	20,107	8,526	2,950	—
Подсолнечный жмых	15,000	20,000	25,000	18,580
Отруби пшеничные	—	—	—	17,310
Кукурузный глютен	7,171	5,709	4,064	—
Масло соевое	4,000	5,000	6,977	—
Соль поваренная	0,216	0,219	0,217	0,250
Монокальцийфосфат	0,864	0,780	0,617	1,040
Известняк	1,536	1,508	1,470	2,500
Лизин	0,300	0,400	0,350	0,350
Премикс	1,000	1,000	1,000	1,000
В 100 г комбикорма:				
обменная энергия, ккал	305,000	311,000	320,000	255,000
сырой протеин, г	24,840	21,378	19,786	15,590
сырая клетчатка, г	5,029	4,996	5,211	6,730
кальций, г	0,938	0,889	0,809	1,000
фосфор общий, г	0,773	0,728	0,683	0,800
фосфор усвояемый, г	0,499	0,469	0,429	—

Примечание. Прочерки означают отсутствие компонента в рационе.

Белки — важнейшая часть плазмы крови (18). Около 60 % всех белков плазмы приходится на долю альбумина, который играет основную роль в поддержании онкотического давления крови, а также выполняет транспортную и питательную функции, остальная часть приходится на α - и β -глобулины и другие белки плазмы, в том числе ферменты (трипсин, амилазу, липазу). У цыплят 1-суточного возраста содержание белка в плазме крови было значительно ниже, чем в последующие периоды жизни (табл. 2), что связано с низкой функцией биосинтеза белка (18).

2. Биохимические показатели крови и живая масса у мясных цыплят (*Gallus gallus* L.) исходных линий и их гибридов в зависимости от возраста ($n = 20$, $M \pm SEM$)

Исходные линии и гибрид	живая масса, г	Показатель				
		общий белок, г/л	холестерин, ммоль/л	триглицериды, ммоль/л	кальций, ммоль/л	фосфор, ммоль/л
1-суточные цыплята						
Линия 5	44,8±0,25	27,2±0,36	5,3±0,04	2,3±0,05	3,0±0,10	3,5±0,13
Линия Б9	43,2±0,23	27,6±0,70	5,2±0,06	2,4±0,03	3,1±0,01	3,7±0,25
Гибрид Б59	44,7±0,14	28,9±0,68	5,2±0,09	2,4±0,08	3,1±0,01	4,1±0,27
7-суточные цыплята						
Линия Б5	136,1±1,67	38,9±0,92	5,3±0,05	2,1±0,02	4,3±0,11	2,1±0,03
Линия Б9	121,8±1,36*	41,0±0,84	5,3±0,02	2,2±0,04	4,3±0,05	2,2±0,04
Гибрид Б59	136,1±1,55	38,7±0,81	5,2±0,05	2,4±0,03	4,3±0,05	2,4±0,23
14-суточные цыплята						
Линия Б5	278,0±4,91	33,8±1,18	5,2±0,03	3,3±0,07	4,3±0,15	2,6±0,07**
Линия Б9	252,3±4,32**	33,1±1,27	5,2±0,04	3,3±0,04	5,5±0,12*	2,6±0,11**
Гибрид Б59	313,4±7,62	34,1±0,48	5,9±0,10	3,4±0,10	4,6±0,06	2,1±0,09
21-суточные цыплята						
Линия Б5	578,1±13,93**	35,2±0,67	3,7±0,03	3,2±0,04	3,8±0,11	1,8±0,09
Линия Б9	499,0±11,41**	34,8±1,14	3,8±0,04	3,1±0,04	4,1±0,13	1,8±0,05
Гибрид Б59	677,5±19,50	33,7±0,49	3,8±0,02	3,2±0,06	4,0±0,09	1,7±0,12
28-суточные цыплята						
Линия Б5	967,1±24,31**	38,7±1,04	3,8±0,04	3,1±0,02	3,5±0,19**	1,9±0,07*
Линия Б9	796,0±2,62**	40,6±0,82	3,8±0,04	3,1±0,02	4,5±0,13	1,9±0,05*
Гибрид Б59	1146,1±38,43	39,8±1,27	4,2±0,12	3,2±0,06	4,3±0,06	2,4±0,21
35-суточные цыплята						
Линия Б5	1609,2±26,91**	41,4±1,31	4,6±0,12	3,3±0,11	2,8±0,05	2,3±0,04
Линия Б9	1394,0±30,62**	41,7±0,81	4,4±0,05	2,9±0,02	3,0±0,03	2,2±0,05
Гибрид Б59	1996,3±98,31	40,7±2,04	4,5±0,07	3,2±0,18	3,1±0,22	2,3±0,04

*, ** Различия с гибридной птицей статистически значимы соответственно при $P \leq 0,05$ и $P \leq 0,001$.

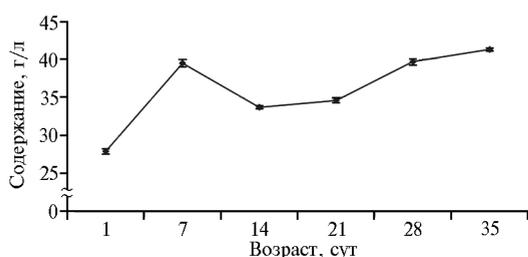


Рис. 1. Содержание общего белка в плазме крови у мясных цыплят (*Gallus gallus* L.) кросса Смена 8 и птицы исходных линий в зависимости от возраста (средние показатели по трем группам, $n = 30$).

Количество общего белка крови уже к 7-суточному возрасту резко увеличивалось (на 33,9-48,5 %) и достигало максимального значения. При этом у цыплят исходной линии Б9 концентрация белка в плазме крови достоверно превышала аналогичный показатель у гибридов и цыплят исходной линии Б5 на 5,4 % ($P < 0,1$). К 14-суточному возрасту содержание белка снижалось в среднем по всем группам до 33,1 г/л и сохранялось в течение следующей недели жизни. К 28-м сут оно увеличивалось до 40,6-41,7 г/л ($P < 0,05$), далее не изменяясь до 35-х сут (рис. 1).

Вопросы обмена липидов в организме птицы имеют важное значение, поскольку липиды служат энергоемким субстратом: при окислении 1,0 г жира образуется 9,3 ккал энергии, что в 2,2 раза больше, чем при окислении белков и углеводов. Жиры мобилизуют кальций из внутриклеточного депо, регулируют многие биологические процессы в крови, сти-

мулируют пищеварительную функцию поджелудочной железы и повышают содержание липазы в панкреатическом соке. В организме нейтральные жиры находятся в форме запасного и протоплазматического жира, в состав которого входят фосфолипиды и липопротеиды. Холестерол — одноатомный циклический спирт, который входит в состав внешних клеточных мембран (19). Из него синтезируется прегненолон — предшественник всех стероидов (альдостерон, кортизол, кортикостерон, прогестерон, эстрадиол, тестостерон, холевые и другие желчные кислоты, витамины группы D). Триглицериды, или истинные жиры, — это производные трехатомного спирта глицерина и высших жирных кислот (19).

У 1-суточных цыплят содержание холестерина и триглицеридов не отличалось от такового у взрослой птицы (см. табл. 2). На 21-е сут наблюдалось снижение количества холестерина на 30,2 % у цыплят отцовской линии и на 27,0 % — у цыплят материнской линии и цыплят-бройлеров по сравнению с 1-суточным возрастом. Этот показатель сохранялся до 35-суточного возраста, когда происходило увеличение значений соответственно на 21,0; 15,8 и 7,1 % по сравнению с предыдущим периодом. Количество триглицеридов в крови до 14-суточного возраста существенно не изменялось, затем оно возрастало на 43,5 % у цыплят отцовской линии, на 37,5 % — у цыплят материнской линии, на 41,7 % — у цыплят-бройлеров. Такой показатель сохранялся до 35-х сут.

Минеральные вещества участвуют в поддержании нормального водного баланса и кислотно-щелочного равновесия, распределении воды в организме, генерации возбуждения в нервах и мышцах, проводимости нервных импульсов по нервным волокнам и т.д. (20). Они входят в состав опорных тканей (кальций) и соединений, богатых энергией (сера, фосфор), оказывают влияние на ферментативную активность и функции живого организма. В этом отношении значительная роль принадлежит кальцию, фосфору, магнию и целому ряду микроэлементов (20). Главная особенность минерального обмена у кур состоит в том, что процессы поступления минеральных веществ и их выведение не уравновешены между собой, и это влияет на показатели продуктивности птицы (20).

Около 50 % кальция плазмы крови находится в ионизированном виде, 45 % связано с альбуминами, около 5 % — с фосфатами и цитратами. Содержание кальция в крови определяется балансом процессов всасывания в кишечнике, перераспределения между клеточными пространствами организма, обмена в костях и выведения почками. Эти процессы находятся под контролем паратиреоидного гормона (паратгормона), тиреокальцитонина и активной формой витамина D (21). Все виды обмена в организме неразрывно связаны с превращением фосфорной кислоты. Фосфор встречается главным образом в виде аниона PO_4^{3-} . Он принимает участие в обеспечении организма энергией и в метаболических процессах (21).

У цыплят, вылупившихся из яйца, количество кальция в плазме крови было достаточно низким, но уже в 1-ю нед постэмбриональной жизни оно повышалось на 38,7 % и оставалось таким (с небольшими колебаниями) до 35-х сут. В 14-суточном возрасте отмечались различия по содержанию кальция в плазме крови у гибридов и цыплят линии Б9: у последних количество кальция было достоверно выше, чем у гибридов (на 19,6 %, $P < 0,001$) и цыплят линии Б5 (21,8 %, $P < 0,01$). В 28-суточном возрасте наблюдалось увеличение этого показателя у гибридов по сравнению с цыплятами линии Б5 на 18,6 %. В возрасте 35 сут количество кальция снижалось до $2,8 \pm 0,05$ и $3,0 \pm 0,03$ ммоль/л у цыплят исходных линий

и до $3,1 \pm 0,22$ ммоль/л — у гибридов.

Содержание фосфора у 1-суточных цыплят было высоким, к 7-м сут оно снижалось в 1,7 раза (рис. 2). Некоторый спад отмечался к 21-м сут, затем в 28-суточном возрасте следовал подъем, который сохранялся до 35-х сут. Между группами наблюдались различия по концентрации фосфора в плазме крови в 14-суточном (у цыплят исходных линий она была на 23,8 % по сравнению с гибридами) и 28-суточном возрасте (оказалась на 20,8 % выше у гибридов по сравнению с цыплятами исходных линий).

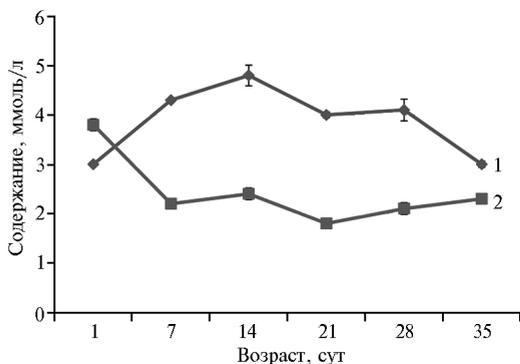


Рис. 2. Содержание кальция (1) и фосфора (2) в плазме крови у мясных цыплят (*Gallus gallus* L.) кросса Смена 8 и птиц исходных линий в зависимости от возраста (средние показатели по трем группам, $n = 30$).

суточном — снижалось у гибридов (1,3:1), цыплят линии Б9 (1,4:1) и линии Б5 (1,2:1).

Кровь, наряду с транспортной, выполняет регуляторную функцию благодаря наличию гормонов, пептидов, минеральных веществ, ферментов. Известно, что пищеварительные ферменты поступают в кровь, выполняя там регуляторную функцию (1, 2, 22). Поэтому биохимический анализ крови был бы неполным без данных о возрастных изменениях пищеварительных ферментов в плазме крови у мясных кур. К 21-м сут у цыплят отцовской и материнской линий активность амилазы снижалась на 53,8 и 52,1 %. К 35-суточному возрасту наблюдалось ее повышение соответственно на 15,5 и 17,2 % по сравнению с показателем в 1-суточном возрасте (табл. 3). Активность амилазы на единицу (г) живой массы птицы неуклонно снижалась с возрастом: в период с 1-х по 35-е сут у цыплят отцовской линии в 58 раз, у цыплят материнской линии — в 50 раз. У гибридов активность амилазы повышалась с 1-суточного до 14-суточного возраста на 93,1 %, а в дальнейшем отмечается резкий спад ферментативной активности в плазме крови на 55,6 % по сравнению с таковой у 1-суточных цыплят. За 35 сут выращивания активность амилазы в расчете на единицу живой массы бройлеров снижалась в 100 раз, то есть в значительно большей степени (почти в 2 раза), чем у особей исходных линий.

Активность липазы с 1-суточного до 7-суточного возраста увеличивалась на 66,7 % (отцовская линия, $P < 0,001$), 53,3 % (материнская линия, $p < 0,001$) и 64,3 % (гибриды, $P < 0,001$). К 28-м сут наблюдали снижение этого показателя в 2,5-2,3 раза во всех группах с подъемом к 35-суточному возрасту до значений, зарегистрированных у 7-суточных цыплят. Активность липазы в расчете на единицу массы птицы снижалось с 1- до 35-суточного возраста у цыплят отцовской линии в 33 раза, материнской — в 35 раз, у гибридов — в 31 раз.

В 1-суточном возрасте соотношение между кальцием и фосфором составляло 1:0,8-1:0,7, что было связано с эмбриональным периодом и соответствующим минеральным обменом. К 7-м сут соотношение изменялось в сторону увеличения количества кальция — до 1,9:1, а к 14-м сут оно повышалось до 2,2:1 у гибридов, до 2.1:1 — у цыплят исходной линии Б9 и снижалось до 1,6:1 у цыплят исходной линии Б5. В 28-суточном возрасте кальций-фосфорное соотношение изменялось в большую сторону у цыплят линии Б9 (2,4:1), а в 35-

3. Активность пищеварительных ферментов в плазме крови и их отношение на единицу живой массы у мясных цыплят исходных линий и гибридов в зависимости от возраста ($n = 20, M \pm SEM$)

Исходные линии и гибриды	Активность амилазы		Активность липазы		Активность трипсина	
	в плазме крови, У/л	относительно массы (г) птицы	в плазме крови, У/л	относительно массы (г) птицы	в плазме крови, У/л	относительно массы (г) птицы
	1-суточные цыплята					
Линия Б5	827±132,9	18,45	15±0,8	0,33	203±12,7	4,53
Линия Б9	929±92,9	21,50	15±0,9	0,35	191±11,2	4,42
Гибрид Б59	671±50,5	15,00	14±0,3	0,31	224±12,1	5,01
	7-суточные цыплята					
Линия Б5	704±66,3	5,17	25±1,7	0,18	29±5,2	0,21
Линия Б9	926±107,9	7,60	23±1,5	0,19	21±1,9	0,17
Гибрид Б59	1001±21,4	7,35	23±1,5	0,17	19±4,3	0,14
	14-суточные цыплята					
Линия Б5	583±56,6	2,10	20±3,7	0,07	30±3,7	0,11
Линия Б9	832±136,3	3,29	21±2,3	0,08	30±1,4	0,12
Гибрид Б59	1296±358,3	4,13	16±1,7	0,05	29±3,5	0,09
	21-суточные цыплята					
Линия Б5	382±39,0	0,66	15±0,5	0,02	29±3,6	0,05
Линия Б9	445±103,7	0,89	14±1,3	0,03	23±3,2	0,05
Гибрид Б59	525±95,0	0,77	18±2,2	0,03	23±2,1	0,03
	28-суточные цыплята					
Линия Б5	564±124,0	0,58	10±1,4	0,01	18±1,2	0,02
Линия Б9	642±82,3	0,81	11±0,6	0,01	20±1,4	0,02
Гибрид Б59	516±86,7	0,45	10±1,4	0,01	19±1,4	0,02
	35-суточные цыплята					
Линия Б5	510±71,3	0,32	22±2,2	0,01	16±1,1	0,01
Линия Б9	605±86,3	0,43	18±1,1	0,01	12±2,5	0,01
Гибрид Б59	298±28,2	0,15	20±2,8	0,01	23±3,6	0,01

В плазме крови у 1-суточных цыплят наблюдалась высокая активность трипсина, что могло быть связано с выработкой достаточного количества ингибиторов, сдерживающих активность фермента в период эмбриогенеза. К 7-м сут активность трипсина снижалась у цыплят отцовской линии в 7,0 раза, материнской — 9,1 раза, у гибридов — в 11,8 раза. В дальнейшем наблюдается постепенное снижение этого показателя как в абсолютных величинах, так и относительно живой массы. В целом относительный показатель активности трипсина на единицу живой массы снизился за 35-суточный период исследований у цыплят отцовской линии в 453 раза, материнской — 442 раза, гибридов — в 501 раз. Это можно объяснить ингибированием протеолитической активности эмбриона в яйце в связи с наличием легкоусвояемых форм белка, используемых для формирования тканей организма (23). Следовательно, относительное уменьшение активности пищеварительных ферментов в плазме крови с возрастом свидетельствует о снижении интенсивности обменных процессов в организме и указывает на выполнение ферментами, особенно трипсином, регуляторной функции.

В нашем опыте у 1-суточных цыплят содержание белка в плазме крови было значительно ниже, чем в последующие периоды жизни. Аналогичный феномен, который описан также у детей, объясняется низкой белковообразовательной функцией на этом этапе онтогенеза (18). У бройлеров рост показателей общего белка наблюдается в период с 14-х до 42-е сут (24). На содержание общего белка в крови птицы влияют такие факторы, как количество жировых отложений (25) и стресс (26). С выявленной нами динамикой концентрации общего белка в плазме крови цыплят согласовывались возрастные модуляции активности трипсина (23), которая изменяется в процессе становления пищеварительной функции в раннем онтогенезе и зависит от количества и качества протеина корма (27).

Наблюдаемые нами изменения в концентрации холестерина и триглицеридов соответствовали возрастным колебаниям активности липа-

зы у бройлеров и цыплят исходных линий: ранее мы также отмечали снижение активности фермента в ткани поджелудочной железы и плазме крови в период после 21-суточного возраста (23). Отметим, что в научной литературе сведения о содержании холестерина и триглицеридов в плазме крови птицы противоречивы. Так, по данным С.Ю. Гулюшина с соавт. (28), содержание холестерина в крови у 36-суточных цыплят-бройлеров кросса Cobb Avian 48 составило 2,8 ммоль/л. Согласно С.А. Ермолиной с соавт. (29), концентрация холестерина у цыплят-бройлеров кросса Смена 7 в конце выращивания достигала $5,8 \pm 0,10$ ммоль/л. О.С. Котлярова (9) отмечает, что концентрация холестерина в сыворотке крови бройлеров кросса ISA Hubbard F15 зависит от возраста: у 12-14-суточных цыплят она составляла 2,1-3,8, у 18-20-суточных — 4,5-4,6, у 24-26-суточных — 2,7-4,9, у 34-36-суточных — 3,2-3,6 ммоль/л. В работе А.Г. Кошцаева (30) для холестерина приводится значение 0,25 ммоль/л. Известно (31), что на интенсивность липидного обмена оказывает влияние ограниченное кормление мясных кур в ранний период онтогенеза.

Е.Н. Назарова (9) установила, что у бройлеров кросса Смена 7 содержание триглицеридов изменяется с возрастом: у 1-суточных цыплят оно составляло 0,69, у 7-суточных — 0,77, у 14-суточных — 0,66, у 21-суточных — 0,68, у 28-суточных — 0,59, у 35-суточных — 0,61 ммоль/л. На основании полученных данных автор делает вывод о том, что желчные кислоты обеспечивают снижение всасывания липидов в желудочно-кишечном тракте, что способствует прохождению жира транзитом через пищеварительную систему и ведет к снижению концентрации липидов в сыворотке крови. По данным А.Г. Кошцаева (30), содержание триглицеридов в крови у цыплят-бройлеров составляло 0,02 ммоль/л. У бройлеров кросса Hubbard концентрация триглицеридов в сыворотке крови колебалась от 0,28 до 0,51 ммоль/л (20).

Таким образом, выявленные нами закономерности белкового, липидного и минерального обмена у мясных кур в онтогенезе и в сравнительном аспекте (исходные линии и их гибриды) расширяют общие представления о биологических особенностях формирования пищеварительной функции у птиц. Полученные результаты позволяют определить критические периоды развития, когда происходит функциональное становление и адаптация всех систем организма. На этих этапах птице требуются наиболее благоприятные режимы кормления и содержания, что в значительной степени определит жизнеспособность и продуктивность особи в дальнейшем. Наши данные углубляют доступную информацию о пищеварительных ферментах плазмы крови у птицы. Следует отметить, что подобные исследования в целом малочисленны (32), а сведения о возрастной динамике активности этих ферментов у линий и гибридов мясной птицы практически отсутствуют.

Итак, у 1-суточных мясных цыплят исходных линий пород корниш, плимутрок и их гибридов кросса Смена 8 наблюдается низкое содержание в плазме крови общего белка, триглицеридов, кальция, а показатели фосфора и холестерина имеют достаточно высокие значения. Наиболее значительное повышение основных показателей крови происходит к 7-суточному возрасту, что связано с интенсивным ростом и функциональным становлением пищеварительной системы. Количество общего белка с возрастом у гибридов и цыплят исходных линий увеличивается, что обусловлено становлением организма и совершенствованием белковообразовательной функции. Показатели липидного обмена снижаются с возрастом птицы, особенно после 21-х сут. Динамика содержания триглицеридов

имеет обратную тенденцию, увеличиваясь к 14-м сут на 41,6-57,1 % по сравнению с предыдущими значениями. Существенных различий по общему белку между гибридами и цыплятами исходных линий до 35-суточного возраста не наблюдается. Однако имеются различия в концентрации кальция (в возрасте 14, 28 сут), фосфора (14, 28 сут), холестерина (14, 28 сут) и триглицеридов (7 сут). Показатели активности пищеварительных ферментов в крови относительно живой массы у мясных кур снижаются с возрастом, наиболее интенсивно меняется содержание трипсина: у гибридов — в 501 раз, у цыплят отцовской линии — в 453 раза, у цыплят материнской линии — в 442 раза (с 1- до 35-суточного возраста). Активность амилазы относительно живой массы птицы снижается соответственно в 100, 52 и 50 раз, липазы — в 31, 33 и 35 раз.

ФГБНУ ФНЦ Всероссийский научно-исследовательский
и технологический институт птицеводства РАН,
141311 Россия, Московская обл., г. Сергиев Посад,
ул. Птицегоградская, 10,
e-mail: Olga@vnitip.ru, alena_fisinina@mail.ru, Vertiprakhov63@mail.ru ✉,
dissovet@vnitip.ru, manukyan@vnitip.ru, eta164@mail.ru, vlk.733@mail.ru

Поступила в редакцию
19 апреля 2018 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2018, V. 53, № 4, pp. 820-830

THE AGE DYNAMICS OF BIOCHEMICAL BLOOD INDICES IN BROILER CHICKEN (*Gallus gallus* L.)

I.A. Egorov, A.A. Grozina, V.G. Vertiprakhov, T.N. Lenkova, V.A. Manukyan,
T.A. Egorova, M.V. Koshcheyeva

Federal Scientific Center All-Russian Research and Technological Poultry Institute RAS, Federal Agency of Scientific Organizations, 10, ul. Ptitsegradskaya, Sergiev Posad, Moscow Province, 141311 Russia, e-mail Olga@vnitip.ru, alena_fisinina@mail.ru, Vertiprakhov63@mail.ru ✉, dissovet@vnitip.ru, manukyan@vnitip.ru, eta164@mail.ru, vlk.733@mail.ru

ORCID:

Egorov I.A. orcid.org/0000-0001-9122-9553

Grozina A.A. orcid.org/0000-0002-3088-0454

Vertiprakhov V.G. orcid.org/0000-0002-3240-7636

Lenkova T.N. orcid.org/0000-0001-8026-3983

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Supported financially by Russian Science Foundation, grant № 16-16-04089 “Digestion physiology and microbiology in meat chickens during embryonic and postembryonic periods to develop feeding technologies for ensuring maximum poultry performance”

Received April 19, 2018

doi: 10.15389/agrobiologia.2018.4.820eng

Abstract

Biochemical blood indices are important characteristics of physiological and health status of agricultural animals and poultry. In the past decades, the advanced measuring methodology and equipment including the development of automatic biochemical analyzers with standardized reagent kits have led to the significantly faster procedures and higher accuracy of analysis. The reference values of the biochemical indices determined by classic methods should therefore be redefined. In this study we report for the first time the revised reference values of biochemical blood indices including circulatory activity of blood digestive enzymes in growing broiler chicks (*Gallus gallus* L.) during early ontogenesis (1 to 35 days of age). In the study, the hybrid chicks of an experimental broiler cross Smena 8 (line B59) were compared to their parental lines (Cornish line B5 and Plymouth Rock line B9) selected at the Smena Center for Genetic Selection (60 birds per genotype). The hybrids were fed ad libitum; parental lines were restricted in feed since day 15 of age. Mortality and live bodyweight were determined at 1, 7, 14, 21, 28, and 35 days of age. Two replicates of 10 birds per genotype were randomly taken for biochemical blood analyses. Blood was sampled from the jugular vein of decapitated chicks. Biochemical blood indices were measured by a flow semi-automatic biochemical analyzer Sinnowa BS3000P (Sinnowa Medical Science & Technology Co., Ltd., China) using reagent kits DIACON-VET (Russia). At 1 day of age in all studied genotypes concentrations of total protein, triglycerides, and calcium in blood serum were lower while concentrations of total phosphorus and total cholesterol were higher as compared to all subsequent ages. The most substantial increase in biochemical blood indices occurred during the first 7 days of age. This was due, among other factors, to the intensive growth of the body and the functional formation

of the digestive system for this age period. The total protein concentration in blood serum increased with age in all genotypes because of proceeded body growth and the enhanced ability of protein synthesis. Concentration of total cholesterol tended to decrease with age, especially after 21 days of age. Concentration of triglycerides in serum increased to 14 days of age by 41.6-57.1 % as compared to the previous ages. There were no significant differences between the genotypes in total blood protein until 35 days of age. The hybrid chicks and their parental lines differed in the blood concentration of calcium, total phosphorus, and total cholesterol at 14 and 28 days of age, and triglycerides at 7 days of age. The blood digestive enzyme activities per live bodyweight decreased from day 1 to day 35 of age, most notably for trypsin (501-fold in hybrids, 453-fold in the Cornish line, and 442-fold in the Plymouth Rock line). Blood amylase activity decreased 100-, 52-, 50-fold, and lipase activity decreased 31-fold, 33-fold, and 35-fold, respectively.

Keywords: broiler chicken, total protein in blood serum, lipid exchange, calcium and phosphorus in serum, digestive enzymes in serum.

REFERENCES

- Rothman S., Liebow C., Isenman L. Conservation of digestive enzymes. *Phys. Rev.*, 2002, 82: 1-18 (doi: 10.1152/physrev.00022.2001).
- Korot'ko G.F. *Fizicheskaya kul'tura, sport — nauka i praktika*, 2013, 1: 51-57 (in Russ.).
- Vertiprakhov V.G., Grozina A.A., Dolgorukova A.M. The activity of pancreatic enzymes on different stages of metabolism in broiler chicks. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*, 2016, 51(4): 509-515 (doi: 10.15389/agrobiology.2016.4.509eng).
- Fisinin V.L., Osmonyan A.K., Mahdavi R., Egorov I.A. Nutrient density of prestarter diets from 1 to 10 days of age affects intestinal morphometry, enzyme activity, serum indices and performance of broiler chickens. *Animal Nutrition*, 2017, 3(3): 258-265 (doi: 10.1016/j.aninu.2017.06.005).
- Egorov I.A., Vertiprakhov V.G., Lenkova T.N., Manukyan V.A., Grozina A.A., Egorova T.A.. *Pitsevodstvo*, 2017, 2: 23-29 (in Russ.).
- Gerasimenko V.V., Katkova T.V., Nazarova E.A. *Fundamental'nye issledovaniya*, 2011, 8-1: 88-90 (in Russ.).
- Cherkasova V.V., Zelenskii K.S. *Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta*, 2009, 4(24-1): 60-63 (in Russ.).
- Ponomarev V.A., Pronin V.V., Kletikova L.V., Malovichko L.V., Yakimenko N.N. *Klinicheskie i biokhimicheskie pokazateli krovi ptits* [Clinical and biochemical parameters of blood of birds]. Ivanovo, 2014: 69-132 (in Russ.).
- Alagawany M., Attia A.I., Ibrahim Z.A., Mahmoud R.A., El-Sayed S.A. The effectiveness of dietary sunflower meal and exogenous enzyme on growth, digestive enzymes, carcass traits, and blood chemistry of broilers. *Environ. Sci. Pollut. R.*, 2017, 24(13): 12319-12327 (doi: 10.1007/s11356-017-8934-4).
- Lala A.O., Ajayi O.L., Okwelum N., Oso A.O., Fakorede T.V., Adebayo T.A., Jagbojo J.E. Haematological, biochemical and organ changes in broiler chickens fed varying levels of *Morinda lucida* (brimstone) leaf meal supplementation in the diets. *Trop. Anim. Health Pro.*, 2018, 50(5): 1005-1010 (doi: 10.1007/s11250-018-1524-8).
- Dong X.Y., Yin Z.Z., Ma Y.Z., Cao H.Y., Dong D.J. Effects of rearing systems on laying performance, egg quality, and serum biochemistry of Xianju chickens in summer. *Poultry Sci.*, 2017, 96(11): 3896-3900 (doi: 10.3382/ps/pex155).
- Kamely M., Karimi Torshizi M.A., Rahimi S. Blood biochemistry, thyroid hormones, and performance in broilers with ascites caused by caffeine. *Poultry Sci.*, 2016, 95(11): 2673-2678 (doi: 10.3382/ps/pew227).
- Toghyani M., Mosavi S.K., Modaresi M., Landy N. Evaluation of kefir as a potential probiotic on growth performance, serum biochemistry and immune responses in broiler chicks. *Animal Nutrition*, 2015, 1(4): 305-309 (doi: 10.1016/j.aninu.2015.11.010).
- Mikhailova A.G., Khairullin R.F., Demidyuk I.V., Kostrov S.V., Grinberg N.V., Burova T.V., Grinberg V.Y., Rumsh L.D. Cloning, sequencing, expression, and characterization of thermostability of oligopeptidase B from *Serratia proteamaculans*, a novel psychrophilic protease. *Protein Expres. Purif.*, 2014, 93: 63-76 (doi: 10.1016/j.pep.2013.10.011).
- Kierończyk B., Sassek M., Pruszy ska-Oszmałek E., Kołodziejski P., Rawski M., Świątkiewicz S., Józefiak D. The physiological response of broiler chickens to the dietary supplementation of the bacteriocin nisin and ionophore coccidiostats. *Poultry Sci.*, 2017, 96(11): 4026-4037 (doi: 10.3382/ps/pex234).
- Egorova A. *Pitsevodstvo*, 2012, 12: 8-10 (in Russ.).
- Emanuilova Zh.V., Efimov D.N., Tuchemskii L.I., Egorova A.V. *Rossiiskaya sel'skokhozyaistvennaya nauka*, 2014, 2: 48-51 (in Russ.).
- Kuznik B.I. *Fiziologiya i patologiya sistemy krovi* [Physiology and pathology of blood]. Chita, 2002 (in Russ.).

19. Metreveli T.V. *Biokhimiya zhivotnykh* /Pod redaktsiei N.S. Sheveleva [Animal biochemistry. N.S. Shevelev (ed.)]. St. Petersburg, 2005 (in Russ.).
20. Azarnova T.O., Naidenskii M., Bobyl'kova A. *Zhivotnovodstvo Rossii*, 2012, 7: 13-15 (in Russ.).
21. Bessarabov B.F., Alekseeva S.A., Kletikova L.V. *Laboratornaya diagnostika klinicheskogo i immunobiologicheskogo statusa u sel'skokhozyaistvennoi ptitsy* [Laboratory diagnostics of clinical and immunobiological status of poultry]. Moscow, 2008 (in Russ.).
22. Laporte J.C., Tremolieres J. Regulation hormonale de la sécrétion enzymatique du pancréas exocrine. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, ser. D, 1971, 273: 1205-1207.
23. Egorov I.A., Vertiprakhov V.G., Grozina A.A., Laptev G.Yu., Nikonov I.N., Novikova N.I., Il'ina L.A., Ilydyrym E.A., Filippova V.A., Dubrovin A.V., Manukyan V.A., Lenkova T.N. Age dynamics of pancreas secretory function and intestinal microbiota in meat broiler chicks and their parental lines. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*, 2017, 52(4): 757-766 (doi: 10.15389/agrobiology.2017.4.757rus).
24. Piotrowska A., Burlikowska K., Szymeczko R. Changes in blood chemistry in broiler chickens during the fattening period. *Folia biologica (Krakow)*, 2011, 59(3-4): 183-187 (doi: 10.3409/fb59).
25. Dong J.Q., Zhang H., Jiang X.F., Wang S.Z., Du Z.Q., Wang Z.P., Leng L., Cao Z.P., Li Y.M., Luan P., Li H. Comparison of serum biochemical parameters between two broiler chicken lines divergently selected for abdominal fat content. *J. Anim. Sci.*, 2015, 93(7): 3278-3286 (doi: 10.2527/jas.2015-8871).
26. Hu H., Bai X., Shah A.A., Wen A.Y., Hua J.L., Che C.Y., He S.J., Jiang J.P., Cai Z.H., Dai S.F. Dietary supplementation with glutamine and γ -aminobutyric acid improves growth performance and serum parameters in 22- to 35-day-old broilers exposed to hot environment. *J. Anim. Physiol. An. N.*, 2016, 100(2): 361-370 (doi: 10.1111/jpn.12346).
27. Somova O.V. *Uchenye zapiski UO VGAVM*, 2012, 1(48): 142-145 (in Russ.).
28. Gulyushin S.Yu., Zernov R.A. Methyl group donors — promising means for prevention of chronic mycotoxicosis. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*, 2011, 2: 21-31.
29. Ermolina S.A., Buldakova K.V., Sozinov V.A. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*, 2014(9): 34-37 (in Russ.).
30. Koshchaev A.G. *Biotehnologiya proizvodstva i primeneniya funktsional'nykh kormovykh dobavok dlya ptitsy. Avtoreferat doktorskoi dissertatsii* [Biotechnology of production and application of functional feed additives for poultry. DSc Thesis]. Krasnodar, 2008 (in Russ.).
31. Yang X., Zhuang J., Rao K., Li X., Zhao R. Effect of early feed restriction on hepatic lipid metabolism and expression of lipogenic genes in broiler chickens. *Res. Vet. Sci.*, 2010, 89(3): 438-444 (doi: 10.1016/j.rvsc.2010.04.003).
32. Amann O., Visschers M.J.M., Dorrestein G.M., Westerhof I., Lumeij J.T. Exocrine pancreatic insufficiency in pigeons. *Avian Pathol.*, 2006, 35(1): 58-62 (doi: 10.1080/03079450500465791).