

## ГЛЮКОЗИНОЛАТЫ РАПСА И РЫЖИКА: СОСТАВ, КОНЦЕНТРАЦИИ, ТОКСИЧНОСТЬ И АНТИПИТАТЕЛЬНОСТЬ ДЛЯ ПТИЦЫ, МЕТОДЫ НЕЙТРАЛИЗАЦИИ — МИНИ-ОБЗОР

Т.А. ЕГОРОВА 

В последние десятилетия в кормлении животных и кормопроизводстве во всем мире все более острой становится проблема дефицита кормового протеина. Она особенно актуальна для регионов, где не возделывается соя (которая считается идеальным источником протеина для всех видов кормов), в том числе для России с ее невысоким объемом внутреннего производства сои. Для решения этой проблемы, снижения себестоимости кормов и импортозависимости по кормовому протеину все шире используются местные ресурсы, в частности масличные культуры семейства *Brassicaceae* рапс (*Brassica napus* L.) и рыжик (*Camelina sativa* L.), которые неприхотливы к условиям возделывания. Их жмыхи и шроты богаты протеином, но при этом содержат антипитательные факторы, в том числе гликозиды — глюкозинолаты (ГЛ). Это защитные вещества растений — вторичные метаболиты, представляющие собой обширный класс О-сульфатов алкил-альдоксимов, у которых к гидроксиминеральному углеродному атому в цис-положении к сульфатной группе присоединен остаток β-D-тиоглюкопиранозиды. Сейчас их идентифицировано уже более 120 (B.A. Halkier и J. Gershenzon, 2006). Однако если токсические и антипитательные эффекты ГЛ рапса и методы их нейтрализации изучены довольно хорошо, то по рыжику такие исследования только начинаются, поскольку эту культуру стали массово возделывать относительно недавно. При работе с рыжиком зачастую приходится ориентироваться на данные исследований на рапсе. Настоящий обзор посвящен анализу свойств ГЛ, их неблагоприятного воздействия на сельскохозяйственную птицу и методам его нейтрализации. Сами по себе ГЛ не токсичны, и их участие в защитном ответе растений на повреждения связан с эндогенными ферментами β-тиоглюкозидазами (мирозиназами), которые в норме локализируются в разных органах и тканях, но при повреждении вступают во взаимодействие. Это приводит к гидролизу ГЛ с отщеплением глюкозы и последующей трансформацией аглюконового остатка в различные потенциально токсичные продукты: изотиоцианаты, тиоцианаты, оксазолондинтионы, нитрилы и эпитионитрилы (D.J. Kliebenstein с соавт., 2005). Аналогичные процессы могут осуществляться микрофлорой пищеварительного тракта птицы. Главным токсическим эффектом этих продуктов считается гойтрогенность — нарушение синтеза и выброса в кровотоки щитовидной железой тиреоидных гормонов, которое при более тяжелых формах интоксикации приводит к гипертрофии железы и образованию зоба. В субтоксических дозах такие метаболиты могут ухудшать рост молодняка, а у несушек — снижать яйценоскость и вызывать «рыбный» запах яиц. По рапсу с 1960-х годов в результате селекция на снижение содержания ГЛ создано значительное число низкогликозидных сортов. По рыжику такие работы начаты недавно, и о получении его низкогликозидных сортов пока не сообщалось. Для уменьшения содержания ГЛ в продуктах переработки рапса и рыжика (шротах и жмыхах) можно использовать разные методы, в частности термообработку (при ~ 100 °С), замачивание в воде, воздействие водными растворами щелочей или сульфата меди, твердофазную микробную ферментацию, микронизацию, экструзию (M.K. Tripathi и A.S. Mishra, 2007). Максимальным допустимым количеством глюкозинолатов в рационах птицы принято считать 5-6 ммоль/кг, что соответствует 5-10 % продуктов из рыжика, 10 % продуктов из немодифицированного рапса и 15-20 % продуктов из рапса с генетически сниженным содержанием глюкозинолатов. Изучение механизмов токсичности ГЛ и антипитательных свойств рапса и в особенности рыжика необходимо для решения практически задач кормления птицы и селекционного улучшения сортов этих кормовых культур.

**Ключевые слова:** сельскохозяйственная птица, кормление, рапс, рыжик, жмыхи, шроты, глюкозинолаты, гойтрогенность, селекция.

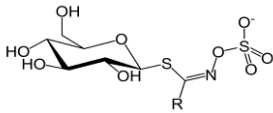
В последние два десятилетия в связи с ростом населения, потребления и производства продуктов животноводства дефицит кормового протеина становится все более острой глобальной проблемой, особенно в регионах, где не возделывается соя (которая считается идеальным источником протеина в кормах для всех видов животных, включая сельскохозяйственную птицу). В России из-за невысоких объемов внутреннего производства сои вопросы обеспечения кормовым протеином тоже актуальны. Для снижения себестоимости кормов и импортозависимости в отечественном птицеводстве используются местные кормовые ресурсы, в частности масличные

культуры семейства *Brassicaceae* — рапс (*Brassica napus* L.) и рыжик (*Camelina sativa* L.). Они неприхотливы и высокоурожайны даже в самых неблагоприятных условиях, проявляют устойчивость к большинству патогенов (1, 2).

Жмыхи и шроты, получаемые после извлечения масла из семян рыжика и рапса, богаты протеином, однако содержат антипитательные факторы, прежде всего гликозиды — глюкозинолаты (ГЛ) (1, 2). Этот факт известен довольно давно, но часто недооценивается при составлении рационов. Кроме того, антипитательные свойства исследовались в основном у рапса, тогда как рыжик в сравнении с рапсом возделывается относительно недавно и в качестве кормовой культуры изучен в меньшей степени.

Несмотря на то, что проблема антипитательных веществ *B. napus* стала менее острой после распространения низкогликозидных каноловых сортов, его изучение остается актуальным для улучшения рапса как кормовой культуры, уточнения регламентов его применения, кроме того, этими данными частично восполняется дефицит информации по рыжику.

Настоящий мини-обзор посвящен токсическим и антипитательным свойствам глюкозинолатов на примере сельскохозяйственной птицы, механизмам токсического действия и способам его нейтрализации.



Общая формула ГЛ. R — боковая цепь.

Биоразнообразие глюкозинолатов и их содержание в рапсе и рыжике. По химической структуре ГЛ представляют собой обширный класс O-сульфатов алкил-альдоксимов, у которых к гидроксиминеральному углеродному атому в цис-положении к сульфатной группе присоединен остаток β-D-тиоглюкопиранозида (рис.). Разнообразие ГЛ обусловлено различиями в структуре боковой цепи (R); в настоящее время идентифицировано более 120 природных соединений этого класса (3, 4).

Сами по себе ГЛ не токсичны, и механизм их защитного действия связан с эндогенными ферментами β-тиоглюкозидазами (известными также как мирозиназы), присутствующими в тех же растениях. В неповрежденном растении они локализуются в разных тканях. При повреждении (например, насекомыми или животными) фермент и его субстрат (ГЛ) вступают во взаимодействие, что приводит к гидролизу ГЛ с отщеплением глюкозы. Далее агликоновый остаток ГЛ трансформируется в различные токсичные продукты: изотиоцианаты, тиоцианаты, оксазолидинтионы, нитрилы и эпитионитрилы; соотношение этих продуктов гидролиза определяется типом субстрата (ГЛ), pH среды, наличием ионов железа и/или эпитиоспецифического протеина (4-7). Этот же процесс ферментативного гидролиза ГЛ мирозиназами в той или иной степени происходит при экстракции масла (в зависимости от технологии и условий), вследствие чего в жмыхах и шротах накапливаются токсичные соединения, прежде всего, изотиоцианаты — наиболее термостабильные продукты гидролиза ГЛ (8). В определенной степени такие же трансформации ГЛ могут происходить в пищеварительной системе животных и птицы под действием микрофлоры (9).

В органах одного и того же растения могут преобладать ГЛ с разными боковыми цепями. Так, в семенах рапса основные ГЛ — это прогойтрин (2-гидрокси-3-бутенил-глюкозинолат) и глюконапин (3-бутенил-глюкозинолат), а в вегетативных частях и особенно в корнях — глюкобрассицианопин (4-пентенил-глюкозинолат), глюкобрассицин (3-индолилметил-глюкозинолат) и 4-гидроксиглюкобрассицин, глюконастурциин (2-фенилэтил-глюкозинолат) (10, 11). Причем эти ГЛ не только различаются струк-

турно, но, по-видимому, выполняют неодинаковые функции: ГЛ семян отвечают за защиту потомства, тогда как ГЛ вегетативных частей — за охрану территории. Оставаясь в почве, они гидролизуются (в основном, до изотиоцианатов) и оказывают аллелопатическое фитотоксическое воздействие на другие растения (12). Именно с таким эффектом связывают снижение урожайности культур, сменяющих рапс в севообороте. Сообщалось, например, что соя и подсолнечник на полях после рапса сильно отставали в раннем росте, чего не наблюдалось у ячменя или при высеве сои и подсолнечника после зимнего пара (13). В семенах рыжика преобладают ГЛ с длинными алифатическими боковыми цепями: 9-метилсульфинилнонил-глюкозинолат и особенно 10-метилсульфинилдецил-глюкозинолат (глюкокамелинин), на который приходится около 60-70 % от всех ГЛ семян (14).

Состав и концентрация ГЛ в разных партиях семян в сильной степени зависят от сорта, ареала выращивания и технологии возделывания (15). Например, в Великобритании у обычных сортов рапса содержание ГЛ варьирует в пределах 90-186 ммоль/кг сырой массы семян (то есть при влажности около 9 %), а у сортов, полученных в результате селекции на низкое содержание ГЛ, — 10-14 ммоль/кг (16). У рыжика в семенах накапливается меньше ГЛ, чем у рапса. Так, у 10 изученных генотипов рыжика содержание ГЛ в семенах варьирует от 13,2 до 36,2 ммоль/кг сухого вещества при среднем значении 24,0 ммоль/кг (14). В более позднем исследовании 47 образцов рыжика эти показатели составили соответственно 19,6-40,3 и 30,3 ммоль/кг (17).

Токсичность глюкозинолатов и их влияние на птицу. Главным проявлением токсичности продуктов гидролиза и биотрансформации ГЛ в организме животных и птицы считается гойтрогенный эффект (от *goitre* — зоб), то есть нарушение синтеза и выброса в кровотоки щитовидной железой тиреоидных гормонов, которое при более тяжелых формах интоксикации приводит к гипертрофии железы и образованию зоба. В гойтрогенный эффект ГЛ вовлечены почти все возможные продукты их гидролиза, исключая (эпителио)нитрилы. Тиоцианатные анионы — это прямые конкуренты йода за взаимодействие с трансмембранным белком натрий-йод симпортером (NIS), обеспечивающим их проникновение через клеточные мембраны с последующим связыванием с тирозиновыми остатками тиреоглобулина в фолликулах щитовидной железы. Оксазолидинтионы, например гойтрин (один из продуктов гидролиза прогойтрина рапса), ингибируют димеризацию диiodтирозина (T2) в тироксин (T4) и реакцию T2 с моноiodтирозином (T1) с образованием трийодтиронина (T3), а также гидролиз тиреоглобулина эндогенной протеазой железы с последующей секрецией высвобожденных при этом T3 и T4 в кровотоки. Изотиоцианаты вносят меньший вклад в гойтрогенный эффект, хотя они могут превращаться в тиоцианаты или образовывать оксазолидинтионы. В результате всех этих процессов количество T3 и T4 в крови снижается, в передней доле гипофиза усиливается биосинтез тиреотропина, что, в свою очередь, повышает активность фолликулов щитовидной железы и приводит, в конечном счете, к ее гипертрофии (18).

Нитрилы (продукты гидролиза ГЛ) вызывают раздражение слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и образование локальных некротических поражений, а также проявляют гепатотоксичность и нефротоксичность. Сообщалось, что при скармливании несушкам рациона с 20 % богатого ГЛ рапса, помимо достоверного снижения яйценоскости, статистически значимо повышалась концентрация уратов в плазме крови, наблюдалось увеличение печени с развитием в ней ретикулоза и кровотокающих поражений (19). У индеек, получавших рационы с высоким содержанием ГЛ в течение 16 нед, отмечали фиброз и дегенерацию паренхимальных клеток центральной

доли печени; с 4-й до 12-й нед формировались многочисленные очаги некроза, а к 16-й нед развивался обширный цирроз (20).

ГЛ и продукты их распада в организме птицы довольно эффективно метаболизируются и выводятся почками и печенью. Остаточные количества этих веществ в мясе и даже в этих органах химическим анализом практически не обнаруживаются, ухудшение качества мяса органолептически также не выявляется даже при 17-20 % рапса в рационе (21). Однако исследования остаточных количеств метаболитов ГЛ в птицепродуктах проводились довольно давно, и их результаты, возможно, стоит пересмотреть с использованием более чувствительных современных методов химического анализа.

У несушек с рапсом связана проблема рыбного запаха яиц, особенно у более подверженных этому коричневых генотипов. Сперва причиной считали исключительно синапин рапса, но затем было установлено, что прогойтрин также вносит вклад в этот нежелательный эффект. Сообщалось, что появление рыбного запаха яиц начиналось при дозе прогойтрина в рационе без рапса 0,3 мкмоль/г (что соответствует дозе общих ГЛ 0,5 ммоль/кг) для коричневых несушек и 1 мкмоль/г — для белых (21). Рыбный запах яиц обусловлен высоким содержанием в желтке триметиламина (ТМА), который образуется в пищеварительном тракте при бактериальной ферментации холина и затем через кровоток переносится в развивающиеся в яичнике фолликулы (22). Скармливание высоких доз рапса может приводить, с одной стороны, к избытку холина в кишечном химусе из-за высокого содержания в рапсе синапина; с другой стороны, гойтрин, образующийся из прогойтрина рапса при его расщеплении мирозиназами или кишечной микрофлорой, конкурентно ингибирует флавин-содержащую монооксигеназу-3 (FMO3) — фермент, катализирующий окисление в пищеварительном тракте ТМА до лишнего запаха N-оксида ТМА (23).

Позднее было показано, что снижение активности FMO3 связано с однонуклеотидной заменой (single nucleotide polymorphism, SNP) А на Т в позиции 984 кодирующей последовательности гена этого фермента, расположенного у кур в 8-й хромосоме, что приводит к замене в самом ферменте треонина на серин в положении 329, причем, по данным разных исследований, мутация может быть рецессивной (24) или аддитивной (25). Сообщалось также, что эта мутация в эволюционно высококонсервативной последовательности FMO3 не вызывает изменения экспрессии гена фермента у генотипов, различающихся по указанному однонуклеотидному полиморфизму (АА, ТТ, АТ). Фенотипическое проявление этого признака (рыбный запах яиц) связано скорее с влиянием мутации на функционирование субстрат-распознающего участка фермента (24). Следовательно, такой эффект можно если не исключить, то существенно снизить, если не использовать в селекционных программах несушек — носителей этой мутации. Кроме того, сообщалось, что повышение содержания канолового шрота (0, 6, 12, 18 и 24 %) в рационах коричневых несушек с разным генотипом по указанному полиморфизму и скармливание этих рационов в течение 4 нед приводило к достоверному ( $p < 0,05$ ) линейному увеличению содержания ТМА в желтке яиц только у гомозиготного мутантного генотипа ТТ, но не у генотипов АА и АТ. При этом скармливание несушкам с генотипом ТТ контрольного рациона с повышенным содержанием синтетического холина, соответствующим количеству синапина в тех же дозах канолового шрота, не приводило к росту содержания ТМА в желтке (26). Вероятно, это означает, что в составе канолового шрота прогойтрин (как ингибитор FMO3) вносит в наблюдаемый эффект более значительный вклад, чем синапин (как поставщик субстрата для FMO3). Эти данные также свидетельствуют о том, что

проблема рыбного запаха яиц при высоких дозах рапса может быть успешно решена методами генетической селекции несушек.

Субтоксичные количества ГЛ в продуктах из рапса не вызывают у несушек выраженных негативных проявлений, тогда как относительно высокие дозы ГЛ, отрицательно влияют на эффективность использования кормов и показатели продуктивности. У коричневых кур-несушек при добавлении 30 % рапсового жмыха или шрота к рациону (контроль — без добавок) достоверно ( $p < 0,01$ ) снижалась масса яиц, переваримость сухого вещества рационов на 5 %, сырого протеина — на 4 %, использование валовой энергии — на 7 %, а также переваримость всех незаменимых аминокислот, за исключением триптофана. Из положительных эффектов отмечено достоверное ( $p < 0,01$ ) повышение на 1,6 % содержания мононенасыщенных жирных кислот (МНЖК) в желтке (27). То, что перечисленные негативные эффекты связаны именно с антипитательными веществами рапса (ГЛ и эруковой кислотой), подтверждается результатами другого опыта, в котором изучали влияние экспеллерного шрота (7 и 14 % в рационе против 30 % в опыте М.А. Ogyschak с коллегами) из семян четырех сортов рапса, существенно различающихся по накоплению этих веществ, на эффективность пищеварения и качество яиц (28). В течение всего эксперимента (8 нед) у птицы, получавшей шроты с максимальным содержанием ГЛ, отмечали достоверное снижение переваримости всех основных питательных веществ рационов; уменьшение высоты кишечных ворсинок и глубины крипт, массы яиц, также снижались показатели их качества, в особенности качества белка (высота белка, единицы Хау) (28). При сравнении трех сортов рапса с разным содержанием ГЛ в семенах приготовленный шрот в течение 12 нед скармливали уткам-несушкам (10 % в рационе), что привело к достоверному снижению массы яиц и потребления корма (29). Последний эффект наблюдается часто, и его причиной традиционно считают кисло-горький вкус ГЛ и продуктов их гидролиза, что делает корма менее привлекательными для животных и птицы (30). При этом высота белка и число единиц Хау по сравнению с контролем не уменьшались, концентрация МНЖК в желтке достоверно снижалась, что противоречило данным другого опыта (27), а полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) — повышалась (29). В результате соотношение суммы ненасыщенных и насыщенных жирных кислот оставалось в пределах значения в контроле. Во всех трех опытных группах отмечали достоверное ( $p < 0,01$ ) повышение концентрации ТМА и 5-винил-1,3-оксазолидин-2-тиона в желтке, выраженное тем сильнее, чем выше было содержание ГЛ в шроте. Таким образом, опыт показал негативное влияние ГЛ на качество желтка, но не белка. Полученные данные могут указывать на определенную видоспецифичность реакции птицы на ГЛ (27-29).

У цыплят-бройлеров умеренные дозы ГЛ в рационах способны достоверно снижать потребление корма и приросты живой массы без выраженных патологических изменений, связанных с токсичностью ГЛ, включая концентрации тиреоидных гормонов в плазме крови и признаки гепатотоксичности. Интересно, что конверсия корма при этом может оставаться практически неизменной (31). В том же исследовании установили достоверную отрицательную корреляцию между потреблением ГЛ и приростом живой массы ( $r^2 = -0,74$ ;  $p < 0,05$ ). Сообщалось также, что количество общих ГЛ в рационе 2-4 ммоль/кг (соответствует добавлению примерно 20 % канолового шрота) практически не влияло на рост бройлеров, и лишь дозы более 10 ммоль/кг приводили к достоверному снижению среднесуточного прироста живой массы (32). В недавнем опыте (33) 10 и 30 % полножирного немодифицированного рапса в рационе приводили к высокодостоверному

( $p < 0,0001$ ) ухудшению конверсии корма, уменьшению его потребления, снижению живой массы и ее прироста по сравнению с контролем. В группах бройлеров, получавших 20 и 40 % канолового шрота, показатели были хуже, чем в контроле, но лучше, чем у птицы, получавшей полножирный рапс (33). В другом опыте (34) добавление 20 % канолового шрота в рацион, наоборот, не приводило к снижению как потребления корма, так и эффективности роста бройлеров по сравнению с контролем. Рационы в контроле (без рапса) и в опыте (с каноловым шротом) были выравнены по обменной энергии, количество грубой клетчатки во втором было заметно выше, чем в первом. В результате в слепых отростках кишечника у цыплят из опытной группы увеличилось число целлюлолитических микроорганизмов, а в химусе — содержание продуцируемых ими короткоцепочечных жирных кислот, которые служат источниками энергии для хозяина, что можно рассматривать как положительный эффект. Однако анализ метаболома поджелудочной железы, печени и грудных мышц цыплят показал, что рацион с рапсом (даже каноловым) повышает риск развития панкреатита и оксидативного стресса в печени. Тем не менее метаболический профиль изученных органов и показатели продуктивности свидетельствовали о способности организма цыплят достаточно эффективно противодействовать кормовому стрессу, по крайней мере, при умеренном количестве рапсового шрота в рационе.

Наблюдаемые в опытах различия по продуктивности птицы при сходных количествах добавок из рапса могут объясняться как неодинаковым содержанием в них антипитательных веществ, включая ГЛ (его определяли не во всех случаях), так и неодинаковой доступностью энергии и аминокислот из этих добавок. Действительно, на бройлерах в сравнительном исследовании образцов канолового шрота от 6 канадских заводов установлены значительные и достоверные различия по доступности аминокислот и содержанию обменной энергии (35). Кроме того, могут иметь значение различия в протеомных профилях в зависимости от происхождения рапса, что влияет на эффективность деградации белков ферментными системами пищеварительных органов птицы и усвоение аминокислот (36).

Рыжик, используемый в настоящее время в кормлении во всем мире, намного менее разнообразен генетически, чем рапс. Опыты по оценке воздействия очищенных препаратов ГЛ рыжика на птицу, насколько нам известно, не проводились, а результаты при скармливании рыжикового жмыха или шрота противоречивы. Возможно, это связано с местом и условиями выращивания рыжика и/или технологией извлечения масла. Так, добавление 5 и 10 % рыжикового жмыха механического (эспеллерного) отжима в рационы бройлеров с 1-х до 37-х сут жизни линейно и достоверно снижало живую массу и потребление корма в период с 15-х по 37-е сут при отсутствии влияния обеих доз жмыха на относительную массу щитовидной железы и выраженность симптомов гепатотоксичности (37). Еще в одном эксперименте (38) 4 % рыжикового масла и 5 и 10 % жмыха или полножирных семян достоверно ( $p < 0,05$ ) снижали потребление корма и прирост живой массы у бройлеров в условиях высокогорья и холодового стресса.

Однако другие авторы сообщали, что при ступенчатом повышении количества рыжикового шрота в рационе бройлеров с 10-х по 37-е сут жизни с 5 до 25 % различия по потреблению корма при 0–20 % шрота были незначительными, и лишь при 25 % оно существенно снижалось, прирост живой массы начинал значительно уменьшаться при дозах выше 15 %, а относительная масса щитовидной железы достоверно увеличивалась только при 20–25 % шрота (9). В 42-суточном эксперименте на бройлерах с нарастающими дозами рыжикового жмыха в рационе (8–24 % с шагом 8 %) (39) вообще

не отмечали существенного влияния добавки ни на скорость роста, ни на потребление корма. Масса щитовидной железы также не изменялась, хотя дозозависимо повышалась концентрация Т3 и Т4 в крови. Масса поджелудочной железы на 28-е и 42-е сут жизни линейно и достоверно увеличивалась с ростом дозы рыжика. Также линейно и достоверно ( $p < 0,01$ ) снижалась переваримость всех основных питательных веществ рационов.

К достоинствам рыжика как кормовой культуры относится высокое содержание n-3 ПНЖК (40, 41), что позволяет использовать рыжик для обогащения ими яиц и мяса птицы, а также, например, для профилактики асцитоза у бройлеров в условиях высокогорья (38). Рыжик содержит от 25,9 до 36,7 %  $\alpha$ -линоленовой кислоты ( $C_{18:3}$  n-3) от суммы всех жирных кислот (41). Скармливание бройлерам рыжикового жмыха (8-24 %), семени (10 %) или масла (2,5-6,9 %) повышает содержание  $\alpha$ -линоленовой кислоты в мышцах соответственно в 1,3-4,4; 2,4-2,9 и 2,3-7,2 раза по сравнению с контролем, а n-3 ПНЖК в мышцах и печени — в 1,5-3,9 раза (41). Аналогичные данные были получены и другими авторами (42).

Результаты опытов по скармливанию рыжикового жмыха курам-несушкам противоречивы. Так, по одному из сообщений, при скармливании рыжикового жмыха несушкам (5, 10 и 15 %) лучшую яйценоскость и лучший жирнокислотный профиль яиц получили при дозе 5 %; при 15 % потребление корма достоверно снижалось, а качество скорлупы ухудшалось (отмечали повышение процента яиц с мягкой скорлупой) (9). В другом эксперименте 10 и 20 % жмыха в рационе с 18-й до 51-й нед жизни несушек не снижали ни потребления корма, ни яйценоскости, а качество скорлупы, наоборот, улучшалось, особенно с увеличением возраста несушек (43).

Таким образом, имеющиеся сведения об эффективности использования рыжика в кормлении птицы неоднозначны, в связи с чем представляет интерес определение содержания в рыжике ГЛ и, возможно, других антипитательных факторов, а также amino- и жирнокислотных профилей.

Селекция на снижение содержания глюкозинолатов. Значительное накопление ГЛ, а также эруковой кислоты и синапина в семенах рапса стимулировало исследования по селекции этой культуры на снижение содержания указанных антипитательных факторов. В 1967 году у польского сорта рапса Bronowski был обнаружен аллель, ответственный за существенное снижение накопления ГЛ в семенах. Интродукция этого аллеля в сорта с обычным уровнем синтеза ГЛ дала гибриды с генетически сниженной продукцией ГЛ (44). С тех пор получено множество низкогликозидных сортов рапса, у которых количество ГЛ в семенах не превышает 25-30 ммоль/кг (такие сорта обычно называют каноловыми). Однако выведенные сорта оказались менее устойчивыми к вредителям (насекомым и диким птицам) и патогенам: поскольку накопление общих ГЛ в семенах и листьях — признаки с высокой положительной корреляцией ( $r^2 = 0,79$ ), селекция на уменьшение количества ГЛ в семенах привела к снижению содержания ГЛ в листьях. Поэтому следующей задачей стало создание низкогликозидных сортов, сохраняющих эффективные концентрации гликозидов в вегетативных частях растения.

Было установлено, что у капустных растений ГЛ синтезируются в три стадии с участием аминокислот, которые определяют структуру боковой цепи. По типу этих цепей ГЛ можно разделить на три группы: алифатические (в их биосинтезе используются аланин, лейцин, изолейцин, валин, метионин и его метаболиты с удлиненной углеродной цепью), бензольные (производные фенилаланина и тирозина) и индольные (производные триптофана) (4, 45). Биосинтез ГЛ этих трех групп протекает независимо и ре-

гулируется разными наборами генов (45). В семенах преобладают алифатические ГЛ, в вегетативных частях — бензольные и индольные, следовательно, возможно существование генотипов рапса с низким содержанием общих ГЛ в семенах и нормальным — в листьях. В недавнем полногеномном исследовании генетических ассоциаций (GWAS) признаков биосинтеза ГЛ у рапса одним из кандидатных генов, ответственных за такую комбинацию, назван *BnaA03g40190D* (46).

Кроме того, оказалось, что биосинтез ГЛ (включая алифатические) протекает преимущественно в питающих тканях (листьях, стенках семенных стручков), а в семенах (зародыши) синтезированные ГЛ переносятся через флоэму транспортными белками, специфичными в отношении ГЛ (47). У резуховидки Таля *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (популярный модельный вид для изучения биохимии и генетики растений семейства *Brassicaceae*) обнаружены два таких белка — GTR1 и GTR2, причем у растений, мутантных по генам обоих белков, не происходит накопления ГЛ в семенах, а количество ГЛ в листьях и стенках стручков повышается более чем в 10 раз (48). Таким образом, селекция рапса на снижение содержания ГЛ в семенах возможна через воздействие как на определенные механизмы биосинтеза ГЛ (снижение продукции алифатических ГЛ при поддержании достаточного уровня синтеза индольных), так и на экспрессию транспортеров ГЛ (49).

В отличие от рапса, в мировой практике промышленное возделывание рыжика началось относительно недавно (2), и, насколько нам известно, о создании низкогликозидных коммерческих сортов пока не сообщалось. Однако имеются данные о генетических различиях между сортами рыжика посевного (*C. sativa*) и родственными видами (*C. microcarpa*, *C. alyssum*, *C. rumelica*, *C. hispida*) по содержанию некоторых ГЛ (50), что свидетельствует о принципиальной возможности такой селекции.

Другие методы снижения содержания глюкозинолатов в кормопродуктах. Содержание ГЛ и продуктов их гидролиза в рапсовых жмыхах и шротах можно снизить термообработкой (при температурах порядка 100 °С), замачиванием в воде, обработкой водными растворами щелочей или сульфата меди, твердофазной микробной ферментацией, микронизацией, экструзией (15). В частности, термической обработки при температурах ниже 70 °С достаточно для нейтрализации мирозиназы (51). Эти методы различаются по эффективности нейтрализации ГЛ (от 40–45 до 90–95 %). Однако физические методы весьма энергозатратны и потому дорогостоящи. Кроме того, многие из них заметно снижают качество корма, в частности растворимость, илеальную переваримость и всасывание сырого протеина и некоторых аминокислот. Наиболее эффективной стратегией снижения содержания ГЛ и токсичных продуктов их биотрансформации в рапсовых кормопродуктах сейчас принято считать селекцию рапса (52, 53).

При извлечении масла с помощью растворителей последующий прогрев (тостирование) шрота для его десольвентизации обеспечивает достаточно эффективную нейтрализацию ГЛ, мирозиназ и связанных с ними токсинов. При этом следует помнить, что температура и продолжительность тостирования положительно влияют на эффективность нейтрализации ГЛ, но негативно — на кормовое качество шрота. Так, показано, что увеличение продолжительности тостирования одного и того же шрота с 48 до 93 мин достоверно снижает у свиней переваримость сырого протеина и большинства аминокислот, а также повышает содержание в шроте нейтральной и кислой фракций клетчатки (54). Анализ 40 образцов шротов и 40 образцов жмыхов, произведенных в Польше из рапса урожая 2003 года, показал, что среднее содержание ГЛ в шротах составило 14,6 ммоль/кг сухого вещества,



в жмыхах — 17,4 ммоль/кг, то есть находилось в пределах допустимых норм. Показано также, что увеличение времени тостирования и жмыхов, и шротов с 20 до 30 мин снижает коэффициент доступности лизина (55). Рапсовые жмыхи холодного (механического) отжима имеет смысл тостировать, если содержание ГЛ в них превышает допустимый порог 20 ммоль/кг. Например, в исследовании (8) содержание общих ГЛ в жмыхе холодного отжима составило  $9,9 \pm 0,7$  ммоль/кг. Такие жмыхи можно использовать в кормах без предварительной обработки, а также для получения протеиновых концентратов, причем в процессе их производства содержание ГЛ уменьшается еще сильнее.

Среди наиболее эффективных методов снижения содержания ГЛ в продуктах из рапса, который позволяет сохранить количество и доступность аминокислот и повысить содержание обменной энергии, — ферментирование, для чего обычно используются специально подобранные композиции микроорганизмов. Недавно была разработана технология твердофазной ферментации рапсового шрота с использованием штаммов *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus subtilis* и *Saccharomyces cerevisiae*; сообщалось, что количество кажущееся обменной энергии увеличивается с 7,44 МДж/кг в неферментированном шроте до 8,51 МДж/кг в ферментированном при повышении илеальной переваримости (доступности) аланина, валина, изолейцина, лейцина, тирозина, лизина, аргинина и фенилаланина и сохранении доступности аспарагиновой и глутаминовой кислот, гистидина, треонина, серина, пролина, глицина, метионина и цистина на уровне таковой в неферментированном шроте (56). Ферментированный шрот не только достоверно ( $p < 0,05$ ) увеличивал потребление корма и прирост живой массы у бройлеров по сравнению с неферментированным, но и достоверно снижал окислительный стресс (в плазме крови концентрации супероксиддисмутазы и общая антиоксидантная емкость повышались, а концентрация малонового диальдегида снижалась) (57). Все это косвенно свидетельствует об эффективности нейтрализации ГЛ в процессе ферментации. Ферментование рапсового шрота с использованием *Bacillus subtilis* и *Aspergillus niger* достоверно уменьшало в нем содержание ГЛ (58). При скормливании такого шрота курам-несушкам взамен 33, 66 и 100 % соевого шрота отмечали достоверно ( $p < 0,05$ ) более высокие показатели яйценоскости и массы яиц, чем при добавлении в рацион неферментированного рапсового шрота. Однако при полной замене соевого шрота на оба вида рапсового эти показатели достоверно снижались по сравнению с контролем (58).

Эффективно также одновременное добавление в рационы экзогенных ферментов  $\beta$ -глюканазы, ксиланазы, пектиназы, целлюлазы, повышающих переваримость грубой клетчатки рапсового шрота. Сообщалось (59), что при 20 % ферментированного канолового шрота в рационе бройлеров в сочетании с мультиэнзимным препаратом, содержащим в числе прочих названные выше ферменты, достоверно ( $p < 0,05$ ) повышались показатели продуктивности, антиоксидантного статуса и иммунного статуса цыплят (масса бурсы Фабрициуса и титр антител против ньюкаслской болезни) по сравнению с группами, получавшими по 20 % неферментированного или ферментированного шрота или 20 % неферментированного шрота в сочетании с тем же ферментным препаратом.

Для рыжиковых жмыхов и шротов с высоким содержанием ГЛ их дезактивация с использованием перечисленных методов до сих пор достаточно актуальна. Недавно в опытах на бройлерах была показана эффективность микронизации полножирного зерна рыжика (60, 61). Однако в связи с тем, что рыжик стал широко использоваться в кормлении относительно

недавно, подобных исследований пока мало и проблема нейтрализации ГЛ рыжика требует дальнейшего изучения. На современном этапе в практическом кормопроизводстве и кормлении можно ориентироваться на результаты, полученные ранее в исследованиях на рапсе (с необходимыми корректировками).

Рекомендуемые дозы продуктов из рапса и рыжика в рационах птицы. По мнению М.К. Tripathi и А.С. Mishra (15), максимально допустимым уровнем ГЛ в рационах птицы можно считать 5-6 ммоль/кг. В рационах несушек рекомендуется использовать низкогликозидные сорта рапса (00, канола) в количествах, не превышающих 10 %, тогда как бройлерам — до 20 % практически без ущерба для здоровья и продуктивности. Добавки из жмыхов и шротов обычных сортов рапса должны составлять не более 10-15 % рациона для бройлеров и 7-8 % — для несушек; рекомендуется также обязательное предварительное тостирование этих продуктов. При использовании рапсовых продуктов как основных источников белка в рационах птицы их можно дополнять другими альтернативными источниками протеина, например подсолнечниковым шротом (62). Это также позволяет снизить стоимость рациона и итоговое содержание в нем ГЛ.

Количество продуктов из рыжика в рационах цыплят-бройлеров и кур-несушек определяется содержанием ГЛ и обычно может составлять до 5-10 % (40). Те же количества добавок рыжика в корма рекомендуются для растущих мясных перепелов (63). Есть все основания считать, что селекция рыжика на снижение содержания ГЛ в семенах со временем откроет более широкие перспективы использования этой культуры в кормлении птицы.

Наконец, стоит отметить, что в последние годы неоднократно сообщалось о положительных эффектах ГЛ при умеренных дозах их потребления человеком. В популяционных исследованиях установлено, что потребление значительного количества капустных культур снижает риск ряда онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний. Считается, что изотиоцианаты (продукты гидролиза ГЛ) препятствуют карциногенезу, росту опухолей и распространению метастазов, а также проявляют противовоспалительные и антиоксидантные свойства (64, 65). Следовательно, и у птицы невысокие кормовые дозы ГЛ могут оказывать подобные положительные эффекты. В частности, сообщалось, что добавление аллил-изотиоцианата (500 и 1000 г/т) в рацион бройлеров, инвазированных *Eimeria maxima*, улучшало морфофункциональное состояние кишечника (33).

Итак, анализ данных литературных по токсичности и антипитательным свойствам глюкозинолатов (ГЛ) и продуктов их гидролиза показывает, что их высокие дозы приводят к гипертрофии щитовидной железы, проявлениям гепато- и нефротоксичности. При уменьшении дозы ГЛ снижается функция пищеварительной системы, потребление корма, переваримость и использование питательных веществ (без выраженных токсических эффектов). Эти антипитательные свойства приводят к ухудшению роста молодняка, снижению яичной продуктивности взрослой птицы и качества яиц, могут вызывать рыбный запах яиц. Масличные культуры рапс и рыжик и продукты, получаемые из них при извлечении масла, содержат ГЛ, но представляют собой ценные источники белка, необходимого для кормления животных и птицы. Возможность использовать эти продукты особенно важна для регионов, где климатические условия не позволяют эффективно возделывать сою, но можно выращивать более неприхотливые рапс и рыжик. Для снижения содержания ГЛ в таких кормовых добавках разработаны различные методы (микронизация или экструзия, микробная ферментация, в частности твердофазная). Наиболее эффективным подходом представляется селекция растения на снижение содержания ГЛ и других антипитательных

веществ (эруковой кислоты, синапина). После распространения низкогликозидных каноловых сортов проблема антипитательных веществ рапса стала менее острой. Однако изучение этого вида остается актуальным для его улучшения в качестве кормовой культуры, уточнения регламентов применения, кроме того, этими данными частично восполняется дефицит подобной информации по рыжику.

ФГБНУ ФНЦ Всероссийский научно-исследовательский  
и технологический институт птицеводства,  
141311 Россия, Московская обл., г. Сергиев Посад, ул. Птицеградская, 10,  
e-mail: eta164@yandex.ru ✉

Поступила в редакцию  
10 декабря 2022 года

*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2023, V. 58, № 6, pp. 1021-1034

## GLUCOSINOLATES IN RAPE AND CAMELINA: COMPOSITION, CONCENTRATIONS, TOXICITY AND ANTI-NUTRITIVE EFFECTS IN POULTRY, METHODS OF NEUTRALIZATION — A MINI-REVIEW

T.A. Egorova ✉

Federal Scientific Center All-Russian Research and Technological Institute of Poultry, 10, ul. Ptitsegradskaya, Sergiev Posad, Moscow Province, 141311 Russia, e-mail eta164@yandex.ru (✉ corresponding author)

ORCID:

Egorova T.A. [orcid.org/0000-0002-5102-2248](https://orcid.org/0000-0002-5102-2248)

The author declares no conflict of interests

Final revision received December 10, 2022

Accepted February 16, 2023

doi: 10.15389/agrobiol.2023.6.1021eng

### Abstract

During the last decades animal nutrition and feed production in the World encounter the increasingly important problem of the deficit of feed-grade protein especially urgent for the regions (including Russian Federation) where the soybeans (considered an “ideal” protein source in feeds for all animal and poultry species) cannot be effectively cultivated. To solve this problem, decrease feeding costs and dependence on the imported soybeans the local vegetable protein sources are increasingly used including *Brassicaceae* oil crops rape (*Brassica napus* L.) and camelina (*Camelina sativa* L.) which are highly tolerant to the conditions of cultivation. Though cakes and meals of these crops are rich in protein they contain certain anti-nutritive factors including glycosides called glucosinolates (GLs), a vast group of protective secondary plant metabolites, alkyl-aldoxime O-sulphates containing the residue of  $\beta$ -D-thioglucopyranoside bonded to the hydroximine carbon in *cis*-position to the sulphate group. At present over 120 natural GLs are identified (B.A. Halkier and J. Gershenzon, 2006). The toxic and anti-nutritive effects of the GLs in rapeseed and methods for their neutralization are relatively well studied; however, the effects of GLs in camelina are still understudied (due to its relatively short history of large-scale cultivation) and hence the data obtained on rape should be used for the assessment of possible effects of camelina. The detrimental biological effects of the GLs on poultry, their mechanisms and methods of neutralization are reviewed herein. The GLs per se are non-toxic and their protective role in the plants is related to the endogenous plant enzymes  $\beta$ -thioglucosidases (myrosinases): GLs and myrosinases normally (in an intact plant) localized in different tissues contact after the damage of the plant (e.g. by insects or other herbivores) resulting in the enzymatic hydrolysis of the GLs and transformation of their aglycone residues into the potentially toxic products: isothiocyanates, thiocyanates, oxazolydine-thiones, nitriles, epithionitriles (D.J. Kliebenstein et al., 2005). Similar processes could be also induced by the enzymes of intestinal microbiota in poultry. Main toxic effect of almost all these products is goitrogenicity involving disturbance of the synthesis and secretion of thyroid hormones into the bloodstream and (in cases of heavier exposure) hypertrophy of the thyroid gland and formation of the goiter. In sub-toxic doses these GL metabolites can hamper the growth in young poultry, decrease egg production and quality in adult hens, induce “fishy taint” of the eggs. Since 1960s the rape has been intensively selected for decreased GL content and a wide range of low-GL cultivars are now present in the market; similar work with the camelina is still at its start. Concentrations of the GLs in cakes and meals of these crops can be decreased by thermal treatment (at ca. 100 °C), soaking in water, treatments with solutions of alkali or copper sulphate, solid-phase microbial fermentation, micronization, extrusion, etc. (M.K. Tripathi and A.S. Mishra, 2007). Maximal permissible level of the GLs in diets for poultry is apparently 5-6 mM/kg, corresponding to dietary levels of the products of the native rape ca. 10 %, low-GL rape varieties 15-20 %, camelina products 5-10 %. The studies on the toxic and anti-nutritive effects of rape and especially camelina are necessary for the practice of poultry nutrition and important for further genetic improvement of these crops.

Keywords: poultry, nutrition, rape, camelina, cakes, meals, glucosinolates, goitrogenicity,

## REFERENCES

1. Egorova T.A., Lenkova T.N. Rapeseed (*Brassica napus* L.) and its prospective useage in poultry diet (review). *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2015, 50(2): 172-182 (doi: 10.15389/agrobiology.2015.2.172eng).
2. Ghidoli M., Ponzoni E., Araniti F., Miglio D., Pilu R. Genetic improvement of *Camelina sativa* (L.) Crantz: opportunities and challenges. *Plants (Basel)*, 2023, 12(3): 570 (doi: 10.3390/plants12030570).
3. Fahey J.W., Zalcmán A.T., Talalay P. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, 2001, 56(1): 5-51 (doi: 10.1016/S0031-9422(00)00316-2).
4. Halkier B.A., Gershenzon J. Biology and biochemistry of glucosinolates. *Annual Review of Plant Biology*, 2006, 57(1): 303-333 (doi: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105228).
5. Rask L., Andreasson E., Ekbom B., Eriksson S., Pontoppidan B., Meijer J. Myrosinase: gene family evolution and herbivore defense in *Brassicaceae*. *Plant Molecular Biology*, 2000, 42(1): 93-113 (doi: 10.1023/A:1006380021658).
6. Kliebenstein D.J., Kroymann J., Mitchell-Olds T. The glucosinolate-myrosinase system in an ecological and evolutionary context. *Current Opinion in Plant Biology*, 2005, 8(3): 264-271 (doi: 10.1016/j.pbi.2005.03.002).
7. Song L., Morrison J.J., Botting N.P., Thornalley P.J. Analysis of glucosinolates, isothiocyanates, and amine degradation products in vegetable extracts and blood plasma by LC-MS/MS. *Analytical Biochemistry*, 2005, 347(2): 234-243 (doi: 10.1016/j.ab.2005.09.040).
8. Miklavčič Višnjevec A., Tamayo Tenorio A., Steenkjær Hastrup A.C., Hansen N., Peeters K., Schwarzkopf M. Glucosinolates and isothiocyanates in processed rapeseed determined by HPLC-DAD-qTOF. *Plants (Basel)*, 2021, 10(11): 2548 (doi: 10.3390/plants10112548).
9. EFSA. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on glucosinolates as undesirable substances in animal feed. *EFSA Journal*, 2008, (590): 1-76.
10. Brown P.D., Morra M.J. Hydrolysis products of glucosinolates in *Brassica napus* tissues as inhibitors of seed germination. *Plant and Soil*, 1996, 181(2): 307-316 (doi: 10.1007/BF00012065).
11. Vierheilig H., Bennett R., Kiddle G., Kaldorf M., Ludwig-Müller J. Differences in glucosinolate patterns and arbuscular mycorrhizal status of glucosinolate-containing plant species. *New Phytologist*, 2000, 146(2): 343-352 (doi: 10.1046/j.1469-8137.2000.00642.x).
12. Morra M.J., Kirkegaard J.A. Isothiocyanate release from soil-incorporated Brassica tissues. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34(11): 1683-1690 (doi: 10.1016/S0038-0717(02)00153-0).
13. Okada K., Matsuzaki M., Yasumoto S. Effect of the preceding crops in rice-based double-cropping systems including rapeseed and sunflower. *Japan Journal of Crop Science*, 2008, 77(extra issue 1): 96-97.
14. Schuster A., Friedt W. Glucosinolate content and composition as parameters of quality of *Camelina* seed. *Industrial Crops and Products*, 1998, 7(2-3): 297-302 (doi: 10.1016/S0926-6690(97)00061-7).
15. Tripathi M.K., Mishra A.S. Glucosinolates in animal nutrition: A review. *Animal Feed Science and Technology*, 2007, 132(1-2): 1-27 (doi: 10.1016/j.anifeedsci.2006.03.003).
16. Lardy G.P., Kerley M.S. Effect of increasing the dietary level of rapeseed meal on intake by growing beef steers. *Journal of Animal Science*, 1994, 72(8): 1936-1942 (doi: 10.2527/1994.7281936x).
17. Russo R., Reggiani R. Glucosinolates and sinapine in Camelina meal. *Food and Nutrition Sciences*, 2017, 8(12): 1063-1073 (doi: 10.4236/fns.2017.812078).
18. Burel C., Boujard T., Kaushik S.J., Boeuf G., Mol K.A., van der Geyten G.S., Darras V.M., Kuhn E.R., Pradet-Balade B., Querat B., Quinsac A., Krouti M., Ribaillier D. Effects of rapeseed meal glucosinolates on thyroid metabolism and feed utilization in rainbow trout. *General and Comparative Endocrinology*, 2001, 124(3): 343-358 (doi: 10.1006/gcen.2001.7723).
19. Martland M.F., Butler E.J., Fenwick G.R. Rapeseed induced liver haemorrhage reticulolysis and biochemical changes in laying hens: the effects of feeding high and low glucosinolate meals. *Research in Veterinary Science*, 1984, 36(3): 298-309.
20. Umemura T., Yamashiro S., Bhatnagar M.K., Moody D.L., Slinger S.J. Liver fibrosis of the turkey on rapeseed products. *Research in Veterinary Science*, 1977, 23(2): 139-145.
21. Mawson R., Heaney R.K., Zduńczyk Z., Kozłowska H. Rapeseed meal-glucosinolates and their antinutritional effects. Part 6. Taint in end-products. *Nahrung*, 1995, 39(1): 21-31 (doi: 10.1002/food.19950390103).
22. March B.E., MacMillan C. Trimethylamine production in the caeca and small intestine as a cause of fishy taints in eggs. *Poultry Science*, 1979, 58(1): 93-98 (doi: 10.3382/PS.0580093).
23. Goh Y.K., Robblee A.R., Clandinin D.R. Influence of glucosinolates and free oxazolidinethione in a laying hen diet containing a constant amount of sinapine on the trimethylamine content and fishy odor of eggs from brown-shelled egg layers. *Canadian Journal of Animal Science*, 1983, 63(3): 671-676 (doi: 10.4141/cjas83-075).

24. Honkatukia M., Reese K., Preisinger R., Tuiskula-Haavisto M., Weigend S., Roito J., Mäki-Tanila A., Vilkki J. Fishy taint in chicken eggs is associated with a substitution within a conserved motif of the *FMO3* gene. *Genomics*, 2005, 86(2): 225-232 (doi: 10.1016/j.ygeno.2005.04.005).
25. Kretzschmar K., Reese K., Honkatukia M., Eding H., Preisinger R., Karl H., Dänicke S., Weigend S. Effect of flavin containing monooxygenase (FMO3) genotype on trimethylamine (TMA) content in the chicken egg yolk. *Archiv für Geflügelkunde*, 2007, 71(6): 200-206.
26. Ward A.K., Classen H.L., Buchanan F.C. Fishy-egg tainting is recessively inherited when brown-shelled layers are fed canola meal. *Poultry Science*, 2009, 88(4): 714-721 (doi: 10.3382/ps.2008-00430).
27. Oryschak M.A., Smit M.N., Beltranena E. *Brassica napus* and *Brassica juncea* extruded-expelled cake and solvent-extracted meal as feedstuffs for laying hens: Lay performance, egg quality, and nutrient digestibility. *Poultry Science*, 2020, 99(1): 350-363 (doi: 10.3382/ps/pez501).
28. Zhu L.P., Wang J.P., Ding X.M., Bai S.P., Zeng Q.F., Su Z.W., Xuan Y., Applegate T.J., Zhang K.Y. The effects of varieties and levels of rapeseed expeller cake on egg production performance, egg quality, nutrient digestibility, and duodenum morphology in laying hens. *Poultry Science*, 2019, 98(10): 4942-4953 (doi: 10.3382/ps/pez254).
29. Tan Q., Wang J.P., Zeng Q.F., Ding X.M., Bai S.P., Peng H.W., Xuan Y., Zhang K.Y. Effects of rapeseed meal on laying performance and egg quality in laying ducks. *Poultry Science*, 2022, 101(3): 101678 (doi: 10.1016/j.psj.2021.101678).
30. Bell J.M., Shires A. Comparison and digestibility by pigs of hull fractions from rapeseed cultivars with yellow or brown seed coats. *Canadian Journal of Animal Science*, 1982, 62(2): 557-565 (doi: 10.4141/cjas82-065).
31. Kloss P., Jeffrey E., Wallig M., Tumbleson M., Parsons C., Johnson L., Reuber M. Efficacy of feeding glucosinolate-extracted crambe meal to broiler chicks. *Poultry Science*, 1994, 73(10): 1542-1551 (doi: 10.3382/ps.0731542).
32. Mawson R., Heaney R.K., Zdunczyk Z., Kozłowska H. Rapeseed meal glucosinolates and their antinutritional effects. Part 4. Goitrogenicity and internal organs abnormalities in animals. *Nahrung*, 1994, 38(2): 178-191 (doi: 10.1002/food.19940380210).
33. Yadav S., Teng P.Y., Singh A.K., Choi J., Kim W.K. Influence of *Brassica* spp. rapeseed and canola meal, and supplementation of bioactive compound (AITC) on growth performance, intestinal permeability, oocyst shedding, lesion score, histomorphology, and gene expression of broilers challenged with *E. maxima*. *Poultry Science*, 2022, 101(2): 101583 (doi: 10.1016/j.psj.2021.101583).
34. Inglis G.D., Wright B.D., Sheppard S.A., Abbott D.W., Oryschak M.A., Montina T. Expeller-pressed canola (*Brassica napus*) meal modulates the structure and function of the cecal microbiota, and alters the metabolome of the pancreas, liver, and breast muscle of broiler chickens. *Animals (Basel)*, 2021, 11(2): 577 (doi: 10.3390/ani11020577).
35. Adewole D.I., Rogiewicz A., Dyck B., Slominski B.A. Effects of canola meal source on the standardized ileal digestible amino acids and apparent metabolizable energy contents for broiler chickens. *Poultry Science*, 2017, 96(12): 4298-4306 (doi: 10.3382/ps/pex245).
36. Recoules E., Lessire M., Labas V., Duclos M.J., Combes-Soia L., Lardic L., Peyronnet C., Quinsac A., Narcy A., Réhault-Godbert S. Digestion dynamics in broilers fed rapeseed meal. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 3052 (doi: 10.1038/s41598-019-38725-1).
37. Ryhänen E.-L., Perttälä S., Tupasela T., Valaja J., Eriksson C., Larkka K. Effect of *Camelina sativa* expeller cake on performance and meat quality of broilers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2007, 87(8): 1489-1494 (doi: 10.1002/jsfa.2864).
38. Hajiazizi F., Sadeghi A., Karimi A. The effects of dietary inclusion of *Camelina sativa* on performance and ascites incidence in broilers subjected to cold exposure. *Veterinary Medicine and Science*, 2023, 9(4): 1711-1725 (doi: 10.1002/vms3.1185).
39. Oryschak M.A., Christianson C.B., Beltranena E. *Camelina sativa* cake for broiler chickens: effects of increasing dietary inclusion on clinical signs of toxicity, feed disappearance, and nutrient digestibility. *Translational Animal Science*, 2020, 4(2): txaa029 (doi: 10.1093/tas/txaa029).
40. Singh Y., Cullere M., Tümová E., Dalle Zotte A. *Camelina sativa* as a sustainable and feasible feedstuff for broiler poultry species: A review. *Czech Journal of Animal Science*, 2023, 68(7): 277-295 (doi: 10.17221/29/2023-CJAS).
41. Juodka R., Nainienė R., Juškienė V., Juška R., Leikus R., Kadžienė G., Stankevičienė D. *Camelina (Camelina sativa (L.) Crantz)* as feedstuffs in meat type poultry diet: a source of protein and n-3 fatty acids. *Animals (Basel)*, 2022, 12(3): 295 (doi: 10.3390/ani12030295).
42. Orczewska-Dudek S., Pietras M. The effect of dietary *Camelina sativa* oil or cake in the diets of broiler chickens on growth performance, fatty acid profile, and sensory quality of meat. *Animals (Basel)*, 2019, 9(10): 734 (doi: 10.3390/ani9100734).
43. Lolli S., Grilli G., Ferrari L., Battelli G., Pozzo S., Galasso I., Russo R., Brasca M., Reggiani R., Ferrante V. Effect of different percentage of *Camelina sativa* cake in laying hens diet: performance, welfare, and eggshell quality. *Animals (Basel)*, 2020, 10(8): 1396 (doi: 10.3390/ani10081396).
44. Kondra Z., Stefánsson B. Inheritance of the major glucosinolates of rapeseed (*Brassica napus*) meal. *Canadian J. Plant. Sci.*, 1970, 50(6): 643-647 (doi: 10.4141/cjps70-122).
45. Kliebenstein D.J., Gershenzon J., Mitchell-Olds T. Comparative quantitative trait loci mapping

- of aliphatic, indolic and benzylic glucosinolate production in *Arabidopsis thaliana* leaves and seeds. *Genetics*, 2001, 159(1): 359-370 (doi: 10.1093/genetics/159.1.359).
46. Liu S., Huang H., Yi X., Zhang Y., Yang Q., Zhang C., Fan C., Zhou Y. Dissection of genetic architecture for glucosinolate accumulations in leaves and seeds of *Brassica napus* by genome-wide association study. *Plant Biotechnology Journal*, 2020, 18(6): 1472-1484 (doi: 10.1111/pbi.13314).
  47. Nour-Eldin H.H., Halkier B.A. Piecing together the transport pathway of aliphatic glucosinolates. *Phytochemistry Reviews*, 2009, 8(1): 53-67 (doi: 10.1007/s11101-008-9110-8).
  48. Nour-Eldin H.H., Andersen T.G., Burrow M., Madsen S.R., Jørgensen M.E., Olsen C.E., Dreyer I., Hedrich R., Geiger D., Halkier B.A. NRT/PTR transporters are essential for translocation of glucosinolate defense compounds to seeds. *Nature*, 2012, 488(7412): 531-534 (doi: 10.1038/nature11285).
  49. Nour-Eldin H.H., Madsen S.R., Engelen S., Jørgensen M.E., Olsen C.E., Andersen J.S., Seynnaeve D., Verhoye T., Fulawka R., Denolf P., Halkier B.A. Reduction of antinutritional glucosinolates in Brassica oilseeds by mutation of genes encoding transporters. *Nature Biotechnology*, 2017, 35(4): 377-382 (doi: 10.1038/nbt.3823).
  50. Russo R., Galasso I., Reggiani R. Glucosinolate content among *Camelina* species. *American Journal of Plant Sciences*, 2014, 5(3): 294-298 (doi: 10.4236/ajps.2014.53040).
  51. Kozłowska H.J., Nowak H., Nowak J. Characterisation of myrosinase in Polish varieties of rapeseed. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1983, 34(11): 1171-1178 (doi: 10.1002/jsfa.2740341104).
  52. Nega T., Woldes Y. Review on nutritional limitations and opportunities of using rapeseed meal and other rape seed by-products in animal feeding. *Journal of Nutritional Health and Food Engineering*, 2018, 8(1): 43-48 (doi: 10.15406/jnhfe.2018.08.00254).
  53. So K.K.Y., Duncan R.W. Breeding Canola (*Brassica napus* L.) for protein in feed and food. *Plants (Basel)*, 2021, 10(10): 2220 (doi: 10.3390/plants10102220).
  54. Eklund M., Sauer N., Schüne F., Messerschmidt U., Rosenfelder P., Htoo J.K., Mosenthin R. Effect of processing of rapeseed under defined conditions in a pilot plant on chemical composition and standardized ileal amino acid digestibility in rapeseed meal for pigs. *Journal of Animal Science*, 2015, 93(6): 2813-2825 (doi: 10.2527/jas.2014-8210).
  55. Wiąz M., Mroczyk M., Józefiak D., Rutkowski A. Composition of rapeseed cakes and meals manufactured under different technological conditions. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 2005, 14(Suppl. 1): 507-510 (doi: 10.22358/jafs/70718/2005).
  56. Wu Z., Liu J., Chen J., Pirzado S.A., Li Y., Cai H., Liu G. Effects of fermentation on standardized ileal digestibility of amino acids and apparent metabolizable energy in rapeseed meal fed to broiler chickens. *Animals (Basel)*, 2020, 10(10): 1774 (doi: 10.3390/ani10101774).
  57. Wu Z., Chen J., Pirzado S.A., Haile T.H., Cai H., Liu G. The effect of fermented and raw rapeseed meal on the growth performance, immune status and intestinal morphology of broiler chickens. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition (Berlin)*, 2022, 106(2): 296-307 (doi: 10.1111/jpn.13593).
  58. Taheri M., Dastar B., Ashayerizadeh O., Mirshekar R. The effect of fermented rapeseed meal on production performance, egg quality and hatchability in broiler breeders after peak production. *British Poultry Science*, 2023, 64(2): 259-267 (doi: 10.1080/00071668.2022.2144712).
  59. Elbaz A.M., El-Sheikh S.E., Abdel-Maksoud A. Growth performance, nutrient digestibility, antioxidant state, ileal histomorphometry, and cecal ecology of broilers fed on fermented canola meal with and without exogenous enzymes. *Tropical Animal Health and Production*, 2023, 55(1): 46 (doi: 10.1007/s11250-023-03476-9).
  60. Zając M., Kiczorowska B., Samolińska W., Klebaniuk R. Inclusion of camelina, flax, and sunflower seeds in the diets for broiler chickens: apparent digestibility of nutrients, growth performance, health status, and carcass and meat quality traits. *Animals (Basel)*, 2020, 10(2): 321 (doi: 10.3390/ani10020321).
  61. Zając M., Kiczorowska B., Samolińska W., Kowalczyk-Pecka D., Andrejko D., Kiczorowski P. Effect of inclusion of micronized camelina, sunflower, and flax seeds in the broiler chicken diet on performance productivity, nutrient utilization, and intestinal microbial populations. *Poultry Science*, 2021, 100(7): 101118 (doi: 10.1016/j.psj.2021.101118).
  62. Pirgozliev V.R., Whiting I.M., Mansbridge S.C., Rose S.P. Sunflower and rapeseed meal as alternative feed materials to soybean meal for sustainable egg production, using aged laying hens. *British Poultry Science*, 2023, 64(5): 634-640 (doi: 10.1080/00071668.2023.2239176).
  63. Cullere M., Singh Y., Pellattiero E., Berzuini S., Galasso I., Clemente C., Dalle Zotte A. Effect of the dietary inclusion of *Camelina sativa* cake into quail diet on live performance, carcass traits, and meat quality. *Poultry Science*, 2023, 102(6): 102650 (doi: 10.1016/j.psj.2023.102650).
  64. Traka M.H. Health benefits of glucosinolates. In: *Advances in botanical research*. S. Kopriva (ed.). Academic Press, 2016, 80(Chtp. 9): 247-279 (doi: 10.1016/bs.abr.2016.06.004).
  65. Akram M., Jabeen F., Riaz M., Said Khan F., Okushanova E., Imran M., Shariati M.A., Riaz T., Egbuna Ch., Ezeofor N.J. Health benefits of glucosinolate isolated from cruciferous and other vegetables. In: *Preparation of phytopharmaceuticals for the management of disorders*. Ch. Egbuna, A.P. Mishra, M.R. Goyal (eds.). Academic Press, 2021, Chtp. 19: 361-371 (doi: 10.1016/B978-0-12-820284-5.00006-X).