

*на правах рукописи*



ВАСИЛЬЕВА СВЕТЛАНА ВЛАДИМИРОВНА

**БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ВОЗРАСТНОЙ ДИНАМИКИ  
МИКРОЭЛЕМЕНТОВ У КУР-НЕСУШЕК  
В ЭКОСИСТЕМЕ ПТИЦЕФАБРИКИ**

Специальности: 16 00 06 – ветеринарная санитария, экология,  
зоогигиена и ветеринарно-санитарная экспертиза  
03 00 04 – биохимия

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание учёной степени  
кандидата ветеринарных наук

**САНКТ-ПЕТЕРБУРГ**

2007

Работа выполнена на кафедре биохимии ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

**Научный руководитель –**

доктор ветеринарных наук, профессор Конопатов Юрий Васильевич

**Официальные оппоненты:**

доктор ветеринарных наук, профессор Мухина Нина Васильевна

доктор биологических наук, профессор Хованских Александр Егорович

**Ведущая организация –**

ФГОУ ВПО «Вятская государственная сельскохозяйственная академия»

Защита состоится 30 мая 2007 года в 11 часов на заседании диссертационного совета Д 220.059 02 при ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» по адресу: 196084, г Санкт-Петербург, ул Черниговская, 5

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины»

Автореферат разослан «26» апрел 2007 года и размещён на сайте <http://spbgavm.ru> «26» апрел 2007 г

Учёный секретарь диссертационного совета  
доцент



Сафронов Е Н

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Современная экология – это изучение целого ряда вопросов, переплетающихся с тематикой различных областей естествознания – химией, биохимией, физикой, генетикой, физиологией, геохимией, биофизикой. Сегодня существует множество экологических проблем, для понимания и логической интерпретации которых необходимо использование и биохимических методов. При этом целый ряд метаболических процессов у животных удастся объяснить только с помощью экологического подхода (Уразаев А.А., 1985; Харборн Дж., 1985, Распутный А.И., 1991; Соколов В.Д., 1994, Мухина Н.В. и др., 2006)

В последние десятилетия происходит развитие нового междисциплинарного направления в биологии, название которому экологическая биохимия. Развитию этого направления способствовали успехи в выявлении и идентификации микроколичеств органических веществ в организме животного (Немова Н.Н., Болотников И.А., 1994). Знание биохимии позволяет экологам понимать сложные взаимосвязи между растениями (кормами) и животными, осознать тот факт, что растения и растительноядные животные функционально взаимосвязаны.

В сферу экологической биохимии входит изучение биохимических механизмов приспособления организма животного к экологическим условиям. Современные промышленные технологии в птицеводстве изменяют привычные эволюционные условия существования птицы, не всегда соответствуют физиологическим потребностям организма, и тем самым способствуют появлению метаболических нарушений, протекающих часто в субклинической форме. При изменении условий среды или отдельного экологического фактора (например кормление) состояние адаптивности организма птицы может измениться в нежелательную для человека сторону (Андреева Н.Л., 2003, Кузнецов А.Ф. и др., 2004, Джавадов Э.Д., 2006, Бурлакова Л.В., 2007)

Для нормальной жизнедеятельности организм должен поддерживать относительное динамическое постоянство внутренней среды (гомеостаз): определенный уровень белков, минеральных веществ, витаминов (Скопичев В.Г. и др., 2005; Холод В.М., Курдеко А.П., 2005). Корма являются основным экзогенным фактором, определяющим здоровье сельскохозяйственной птицы. Исследования, посвященные изучению роли белков, жиров, углеводов, витаминов, макро- и микроэлементов в организме птицы, выполненные в предыдущие годы (Георгиевский В.И. и др., 1979, Колабская Л.С., 1982; Беркович В.И., 1986, Жуленко В.Н., Трегулова Е.К., 1991, Придыбайло Н.Д., 1991, Конопатов Ю.В., 1992, Пишванов С.Ю., 1996, Christmas R.В., Harms R.Н., 1984, Kidd M.Т. et al., Sebastian S. et al., 1996) не теряют своей актуальности и сегодня. В последние годы получены дополнительные о биологической роли основных микроэлементов в организме птицы (Садовников Н.В., 1995, Тучемский Л.И., 2001, Деркачев В.В., 2002, Кармолиев Р.Х., 2002, Микулец Ю.И., 2002, Кебец Н.М., 2006, Суязов В.М., 2006, McCarty L. S., 2002, Cufadar Y., Bahtiyarzca Y., 2004)

Период яйценоскости сопряжен с ростом интенсивности анаболических процессов в организме кур-несушек, протекающих при обязательном участии металлоферментов (Айдиния Т.Г., 1987, Лукичева В.А., 1989, Lopes – Alonso M et al, 2004). Недостаток того или иного микроэлемента (железа, цинка, меди, кобальта, селена) может служить причиной сбоя физиолого-биохимических характеристик организма птицы, что приводит к изменению направленности и интенсивности метаболизма на клеточном уровне.

Поэтому остается актуальным в промышленном птицеводстве изучение вопросов корреляции уровня отдельных микроэлементов в комбикормах и выявления возрастных периодов повышенной потребности и оптимальных доз этих нутриентов в кормлении кур-несушек.

**Цель и задачи исследования.** Основная цель исследования – определение роли меди, железа и цинка, как экзогенных кормовых факторов в экосистеме птицефабрики и изучение их обмена в организме птицы и влияния на иммунобиохимические характеристики органов и тканей кур-несушек кросса «Хайсекс белый» в возрасте 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330 и 360 суток.

В связи с этим нами были поставлены следующие задачи:

- провести исследование возрастной динамики гематологических показателей и содержания микроэлементов – меди, железа и цинка в крови, печени и яйце от начала продуктивного периода до 12-месячного возраста кур-несушек данного кросса,
- подвергнуть анализу баланс микроэлементов в связи с элиминацией их с яйцом в продуктивный период для обоснования периодов повышенной потребности в них для организма кур-несушек,
- определить эффективность применения различных доз меди на основе гематологических показателей, антиоксидантной системы и микроэлементного обмена на сохранность и продуктивность кур-несушек.

**Научная новизна.**

- Проведено комплексное определение концентрации меди, железа и цинка в крови, печени, селезёнке, грудной мышце, бедренной кости у кур-несушек кросса «Хайсекс белый» в возрасте от 210 до 270 суток.
- Впервые изучена концентрация меди и железа в гомогенате яиц кур-несушек указанного кросса в зависимости от возраста.
- Детально изучены показатели антиоксидантной системы кур-несушек кросса «Хайсекс белый» под влиянием добавок в рацион сульфата меди.
- Впервые исследованы иммунологические показатели крови кур-несушек кросса «Хайсекс белый» Т-, В- и О-лимфоциты, лизосомально-катионные белки и миелопероксидаза гетерофильных гранулоцитов под влиянием добавок в рацион различных доз меди.

**Практическая ценность работы и реализация результатов исследований.** С учетом клинических данных, биохимических и

иммунологических исследований органов и тканей кур-несушек экспериментально обоснована оптимальная добавка меди в рацион птицы

Установлена эффективность дополнительного введения меди до уровня 20 мг/кг корма в рацион кур-несушек кросса «Хайсекс белый» в возрасте 210 – 270 суток в условиях крупнейшей в Европе птицефабрики ЗАО «Птицефабрика Синявинская» Ленинградской области

Результаты исследований использованы в образовательных программах подготовки специалистов агропромышленного комплекса в Воронежском государственном аграрном университете, Вятской государственной сельскохозяйственной академии, Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии при чтении лекций и проведении практических занятий

**Апробация работы.** Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на

- научных конференциях профессорско-преподавательского состава ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская Государственная Академия ветеринарной медицины» (1999, 2003, 2005 гг ),
- международном симпозиуме «Современные проблемы ветеринарной диетологии и нутрициологии» (Санкт-Петербург, 2003),
- научной конференции молодых ученых и студентов ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская Государственная Академия ветеринарной медицины» (Санкт-Петербург, 2004 г )

**Публикации.** По материалам диссертационной работы опубликовано 6 научных статей

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Динамика количества эритроцитов, концентрации гемоглобина, церулоплазмينا в крови, а также железа, меди и цинка в крови, печени и яйце у кур-несушек кросса «Хайсекс белый» 120 – 360 суток.
2. Динамика изменения гематологических, иммуно-биохимических, показателей крови кур-несушек в связи с различными добавками меди в рацион в период с 210 по 270 суток
3. Микроэлементный статус организма кур-несушек после скармливания им различных доз меди в период с 210 по 270 суток

**Объем и структура диссертации.** Диссертация изложена на 133 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, собственных исследований, обсуждения результатов исследований, выводов и практических предложений, списка литературы, включающего 221 источников, из них 59 иностранных

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Экспериментальная часть работы была выполнена в течение 2001 – 2005 гг. на кафедре биохимии ФГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» и в химико-токсикологическом отделе ФГУ «Ленинградская межобластная ветеринарная лаборатория». Научно-производственный эксперимент выполнен в производственных условиях ЗАО «Птицефабрика Синявинская» Ленинградской области.

На первом этапе эксперимента мы проводили изучение динамики эритроцитов, гемоглобина, церулоплазмينا, меди, железа и цинка у кур-несушек кросса «Хайсекс белый» со 120 до 360 дневного возраста.

Подопытные животные содержались в условиях птицефабрики в типовых клетках КБМ, БКН-3 с плотностью посадки 5 голов. Для кормления использовался комбикорм марки ПК-1, доведенный по содержанию витаминов и микроэлементов до норм рекомендованных компанией «EURIBRID B. V.», разработчика кросса. Поение птицы nippleное. Микроклимат в помещениях соответствовал установленным зооигиеническим требованиям.

У подопытной птицы в возрасте 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330 и 360 дней получали цельную кровь, ее сыворотку, печень и яйцо.

В цельной крови изучали содержание эритроцитов и гемоглобина по общепринятым методикам, концентрацию меди, железа и цинка методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии.

В сыворотке крови определяли содержание церулоплазмينا по Ревину.

В печени и гомогенате яйца изучали концентрацию меди, железа и цинка тем же методом, что и в крови.

На каждом сроке исследования отбирали 6 голов птицы и 10 яиц.

Вторая часть эксперимента была посвящена изучению добавки к рациону различных доз сульфата меди и ее влиянию на гематологические, биохимические и иммунологические показатели кур-несушек кросса «Хайсекс белый».

Для проведения эксперимента были отобраны клинически здоровые животные в возрасте 210 дней из которых сформировали 4 группы по 8 голов в каждой. Условия содержания и кормления были такими же, что и в предыдущем опыте.

- 1-я подопытная группа получала стандартный комбикорм ПК-1 с содержанием меди 5 мг/кг корма (в пересчете на чистый элемент)
- 2-я подопытная группа получала комбикорм ПК-1 в который дополнительно вводили сульфат меди до суммарного содержания микроэлемента 20 мг/кг корма
- 3-я подопытная группа получала комбикорм ПК-1 в который дополнительно вводили сульфат меди до суммарного содержания микроэлемента 100 мг/кг корма

- Контрольная группа получала комбикорм ПК-1 с добавлением сульфата меди до суммарного содержания микроэлемента 10 мг/кг корма (рекомендация компании «EURIBRID В V»)

Продолжительность опыта составляла 60 дней

У всех групп птиц на 1-й, 15-й, 30-й, 45-й и 60-й дни эксперимента получали стабилизированную кровь и сыворотку

В крови исследовали содержание эритроцитов, гемоглобина и лейкоцитов по общепринятым методикам, процентное соотношение субпопуляций лимфоцитов цитохимическим методом по Хейхоу Ф Г Дж, Кваглино Д (1983), активность миелопероксидазы по методу Греймма-Кноля (1963) и содержания лизосомально-катионных белков по Шубичу М Г. (1974) в гетерофилах, активность каталазы методом перманганатометрии и супероксиддисмутазы по методу Костюка В А (1990) в эритроцитах

В сыворотке крови определяли содержание общего белка рефрактометрически, концентрацию общих иммуноглобулинов по Костына М А (1983), количество малонового диальдегида по Моренковой Е Н (1983) и церулоплазмину по Ревину

В конце опытного периода кур убивали, получали пробы печени, селезенки, бедренной кости, грудной мышцы, в которых определяли концентрацию железа, меди и цинка по вышеуказанной методике

Полученный цифровой материал был статистически обработан методом вариационной статистики и оценен по критерию Стьюдента

## НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ЭКСПЕРИМЕНТ

С учетом результатов, полученных в эксперименте 1 и эксперименте 2 по определению оптимальной дозы меди в рационе, нами был проведен научно-производственный эксперимент в условиях птицефабрики В эксперименте использовано продуктивное стадо кур-несушек, контрольное и опытное стадо имели начальное поголовье по 36,5 тысяч голов Птица каждого стада получала стандартный комбикорм марки ПК-1 с общим содержанием меди 10 мг/кг в расчете на чистый элемент В рацион опытного стада дополнительно вводили добавку меди (в виде сернокислой соли) в количестве 10 мг/кг корма в период от 210 до 270 дней Наблюдение проводили до конца продуктивного периода по следующим зоотехническим характеристикам

- сохранность поголовья, %
- прирост по живой массе, г
- средняя продуктивность за исследуемый период, %
- яйцемасса на одну несушку за исследуемый период, кг

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 1. Экологическая обстановка в «ЗАО Птицефабрика Снявинская»

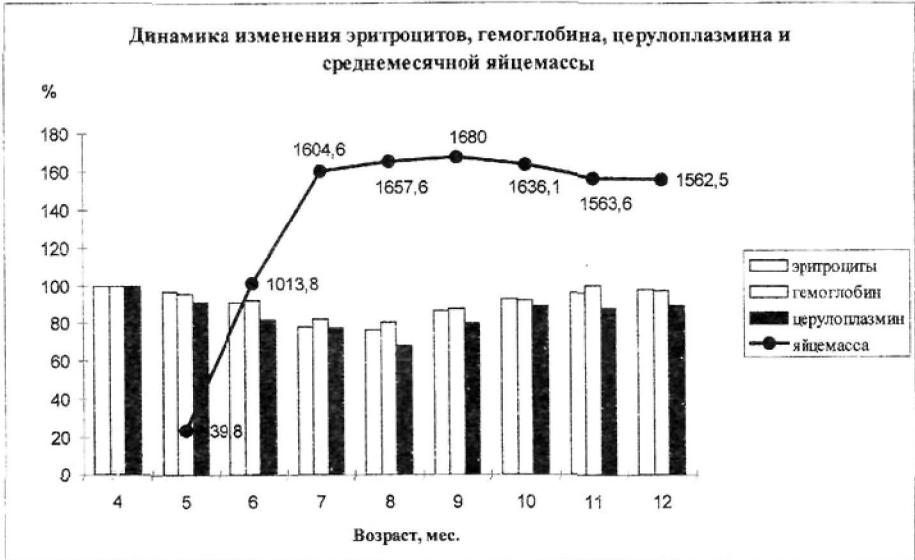
«ЗАО Птицефабрика Снявинская» является крупнейшей птицефабрикой яичного направления в Европе. Она располагается в Кировском районе Ленинградской области в 60 км от Санкт-Петербурга по Мурманскому шоссе, что является экологически чистой зоной. Состоит из двух частей птицефабрики «Назия», осуществляющей племенное разведение и птицефабрики «Снявинская», где сосредоточено промышленное птицеводство. В промышленной зоне продуктивная птица содержится в специальных 9-тиэтажных корпусах, а также в одноэтажных птичниках. Общая вместимость на одном этаже – 36 тысяч голов. Клетки типа КБМ, БКН-3 составлены в 8 рядов и 4 яруса, плотность посадки – 5 голов на одну клетку. Кормосмесь подается механизировано в кормовой желоб, поение nippleное. Водоснабжение – централизованное. Птицефабрика получает готовые полнорационные комбикорма из разных комбикормовых заводов. Партии комбикормов исследуются на содержание микроэлементов и витаминов в ФГУ «Ленинградская межобластная ветеринарная лаборатория». Имеющийся в промышленной зоне птицефабрики собственный кормоцех позволяет дорабатывать получаемые комбикорма витаминами и микроэлементами в соответствии с рекомендуемыми нормами ВНИТИП, а так же фирмой «EURIBRID BV», являющейся производителем данного кресса. Суммарное содержание микроэлементов в кормах доводится до следующих концентраций: меди – 9-11 мг, железа – 135-140 мг, цинка – 90-94 мг на килограмм комбикорма.

Зоогигиенические параметры помещений, такие, как температура, относительная влажность, скорость движения, газовый состав воздуха строго соблюдаются в соответствии с установленными нормами.

Таким образом, можно констатировать внутреннюю экологическую ситуацию птицефабрики, как стабильную и благополучную. Контроль качества кормов предупреждает экзогенное влияние вредных факторов. Однако, корма следует рассматривать, как возможный источник экотоксикантов.

### 2. Динамика показателей кроветворения в связи с продуктивностью и микроэлементного обмена у кур-несушек в период с 4- по 12-месячный возраст

Изучение динамики количества эритроцитов, гемоглобина и церулоплазмينا в крови кур-несушек с 4- по 12-месячный возраст позволило выявить период снижения этих показателей, соответствующий пику яйцекладки (рис 1). Так, в возрасте птицы 7, 8 и 9 месяцев отмечаются наиболее высокие показатели среднемесячной яйцемассы (1604 – 1680 г). Именно этот период характеризуется достоверным снижением количества эритроцитов (на 15,1 – 30,3 %), гемоглобина (на 13,5 – 23,9%) и церулоплазмينا (на 24,7 – 46,3%).



Очевидно, на этой стадии приоритетом является обеспечение репродуктивных процессов в организме, что проявляется в мобилизации микроэлементов из печени в кровь для последующего отложения их в растущих фолликулах с возможным использованием механизмов активного транспорта веществ в формирующиеся яйцеклетки. Комплекс эстрогенных гормонов проявляющих наибольшую активность при интенсивной яйцекладке приводит к резкой интенсификации систем, обеспечивающих синтез овогенных веществ (белков, жиров, углеводов) для формирования яйца. В то же время эстрогены могут способствовать развитию анемии, ингибируя синтез эритропоэтина. Принимая во внимание активную роль микроэлементов не только в синтезе гемоглобина и эритропоэзе, а также и в осуществлении дыхательной функции крови, мы проследили возрастную динамику содержания железа, меди и цинка в цельной крови и печени курнесушек с 4 по 12-месячный возраст (таблица 1). У птицы установлено наибольшее содержание всех исследуемых микроэлементов как в крови, так и в печени в начале наблюдения – в возрасте 4 месяца. Для формирования яйца кроме пластического материала, требуется и адекватное энергообеспечение, одним из важных составляющих которого является цепь железо- и медьсодержащих ферментов биологического окисления – цитохромов.

Содержание меди, железа и цинка в крови и печени кур в возрастной динамике,  $M \pm m$  (n=6)

Возраст (мес)	Медь, мг/кг		Железо, мг/кг		Цинк, мг/кг	
	Кровь	Печень	Кровь	Печень	Кровь	Печень
4	1,48±0,04	5,11±0,22	268,18±16,42	280,18±18,67	10,04±0,33	42,14±1,88
5	1,36±0,05	4,60±0,17	242,62±17,89	252,16±21,97	9,21±0,40	35,78±1,28
6	1,40±0,06	4,36±0,23 p<0,05	231,48±14,23	221,49±13,69 p<0,05	8,69±0,33 p<0,05	37,16±2,80
7	1,37±0,03	3,23±0,12 p<0,001	218,95±13,09 p<0,05	210,34±14,48 p<0,05	7,87±0,38 p<0,01	35,24±1,29 p<0,05
8	1,06±0,05 p<0,001	2,38±0,12 p<0,001	208,21±10,85 p<0,05	216,93±14,81 p<0,05	6,95±0,52 p<0,01	33,93±1,98 p<0,05
9	0,91±0,04 p<0,001	2,69±0,14 p<0,001	216,86±11,62	283,03±24,15	6,41±0,34 p<0,001	32,81±1,57 p<0,01
10	0,85±0,04 p<0,001	3,04±0,12 p<0,001	220,71±16,93	260,62±5,30	6,56±0,33 p<0,001	31,42±0,97 p<0,001
11	0,99±0,04 p<0,001	3,20±0,18 p<0,001	224,59±14,65	256,12±5,59	5,58±0,28 p<0,001	32,12±1,18 p<0,01
12	1,07±0,04 p<0,001	3,59±0,09 p<0,001	218,17±13,48	262,83±6,55	5,84±0,34 p<0,001	30,96±1,09 p<0,001

Примечание уровень достоверности (P) выведен при сравнении с изучаемыми показателями в 4-месячном возрасте

Отмечается снижение меди с начала эксперимента до минимальных значений к 8 (печень) и 10 месяцам (кровь), что отличается от исходных показателей в 2,1 и 1,7 раза, соответственно (P<0,01). Далее, до конца наблюдения определяется некоторое увеличение этого микроэлемента в исследуемых тканях.

В крови и печени определяется нижний пик концентрации железа в возрасте 8 и 7 месяцев, соответственно, что отличается от исходных значений на 30%

Уровень цинка в крови снижается в течение всего эксперимента, становясь к концу исследования в 1,7 раза ниже исходного показателя ( $P < 0,01$ ) В печени количество микроэлемента уменьшается к 8 месяцам на 16%, после чего его уровень стабилизируется

### 3. Изучение элиминации меди, железа и цинка с яйцом в связи с потребляемым их количеством с кормом

Исследования позволили выявить определенную взаимосвязь микроэлементного статуса кур-несушек с продуктивностью и показателями кроветворения. Наименьшие концентрации меди, железа и цинка в печени, а также меди и железа в крови определяется в период пика яйцекладки, что указывает на элиминацию микроэлементов с яйцом. Используя данные птицефабрики «Синявинская» о количестве потребляемого корма одной несушкой в день и содержание микроэлементов в корме, мы рассчитали процент выделения меди, железа и цинка с яйцом от их количества, потребленного с кормом. Расчет показал, что в период наблюдения процент выделенного количества микроэлементов от потребленного за месяц в целом составил меди 2,3 – 10,53 %, железа 1,7 – 7,59 %, цинка 0,79 – 3,95 %

Таблица 2

#### Доля выделяемых с яйцом меди, железа и цинка от количества, потребленного с кормом

Возраст птицы, мес	Доля выделенной с яйцом меди, %	Доля выделенного с яйцом железа, %	Доля выделенного с яйцом цинка, %
5	2,3	1,7	0,79
6	6,85	5,7	2,70
7	9,77	7,47	3,95
8	10,53	6,81	3,75
9	9,49	7,57	3,97
10	8,60	7,15	3,93
11	8,49	7,59	3,65
12	8,97	7,25	3,73

Очевидно, чем выше этот показатель для микроэлемента, тем больше организм птицы испытывает в нем потребность. Так как из исследуемых микроэлементов наибольший процент выделения определен для меди, то можно предположить наличие дефицита этого металла в рационе птицы. Для выявления периода наибольшей потребности в меди, мы детально изучили динамику выделения микроэлемента с яйцом и установили, что наиболее выраженная потеря меди с яйцом происходит в период с 7 по 9-месячный

возраст (что составило 9,49 – 10,53% от потреблённого его количества с кормом).

#### 4. Влияние различных добавок сульфата меди в рацион кур-несушек с 210- по 270-дневный возраст на показатели кроветворения

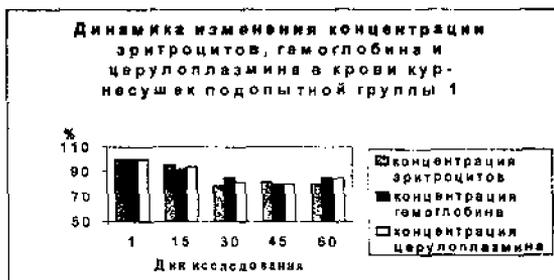
Как известно, дефицит меди в рационе вызывает анемию, сопровождающуюся снижением уровня гемоглобина и концентрации меди в печени. Таким образом, мы выявили, что у кур-несушек кросса «Хайсекс белый» во время пика яйцекладки (7 – 9 месяцев) происходит уменьшение концентрации гемоглобина, эритроцитов, церулоплазмينا при снижении уровня исследуемых микроэлементов, а в наибольшей степени меди в крови и печени. Учитывая наивысший процент потери меди с яйцом от количества, потреблённого с кормом, по сравнению с другими микроэлементами, мы предприняли попытку скорректировать добавку меди в рацион кур-несушек в период с 7 до 9 месячного возраста. С этой целью и был проведён эксперимент 2, в рамках которого исследовали влияние на организм птицы в данный период различные дозы сульфата меди.

Для выявления оптимального количества меди в рационе мы проводили мониторинг показателей кроветворения, эффективности антиоксидантной системы организма, а также иммунологических показателей и микроэлементного обмена.

Результаты исследования показали, что содержание меди в коммерческих комбикормах составляло 5,0 мг/кг, железа 135,2 мг/кг и цинка 93,6 мг/кг корма (в пересчёте на чистый металл). Куры-несушки, получавшие этот комбикорм, составили первую подопытную группу эксперимента 2.

В рационе контрольной группы суммарное содержание меди составило 10 мг/кг корма, в среднем, в таком же количестве, как и в условиях ЗАО «Птицефабрика Синявинская» (согласно рекомендациям фирмы «EURIBRID В.В.» – производителя кросса «Хайсекс белый»). Птица 2 и 3 подопытных групп получала кормосмесь с суммарным содержанием меди 20 мг и 100 мг на килограмм корма, соответственно (в виде сернокислой соли).

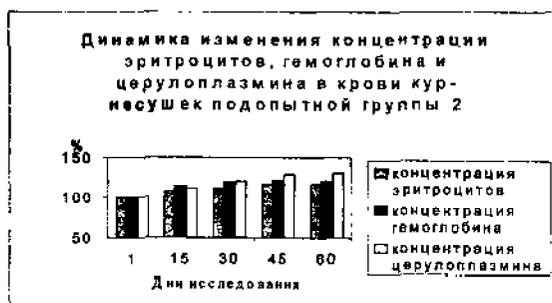
Рисунок 2



Результаты исследований показали, что куры-несушки группы 1, получавшие пониженное количество меди в рационе, по сравнению с контролем, имели достоверное снижение с 30 дня исследования количества эритроцитов, гемоглобина, церулоплазмينا на 19,6%, 16,7% и 17,6%, соответственно (рис. 2).

Куры-несушки группы 2, получавшие добавки сернистой меди из расчёта 20 мг/кг корма, имели в конце 2-месячного эксперимента максимальное количество эритроцитов в крови, по сравнению с контрольной группой ( $P < 0,01$ ). Куры этой группы имели также и более высокую концентрацию гемоглобина крови, чем куры контрольной группы ( $P < 0,05$ ). Добавки меди в рацион данной группы птицы имели эффект на концентрацию церулоплазмينا в сыворотке крови, которая в конце эксперимента была достоверно выше, чем в контроле на 37 % (рис. 3).

Рисунок 3



В подопытной группе 3 к 30 дню эксперимента выявляется наиболее быстрый рост эритроцитов, гемоглобина и церулоплазмينا на 17,3%, 35,1% и 48,8%, соответственно ( $P < 0,01$ ). Однако, к концу периода наблюдения концентрация эритроцитов не имела достоверных различий по сравнению с контролем. Уровень гемоглобина и церулоплазмينا оставался выше, чем в контрольной группе, но был ниже, чем в группе 2 (рис.4).

Рисунок 4



## 5. Влияние различных добавок сульфата меди в рацион кур-несушек с 210- по 270-дневный возраст на состояние антиоксидантной системы

Как известно, медь, являясь металлом с переменной валентностью, может оказывать прооксидантный эффект (Кудрин А.В. и др., 2000). Однако, входя в состав антиоксидлительного фермента супероксиддисмутазы (СОД), а также влияя на синтез гема, а значит и гемсодержащего фермента каталазы, может оказывать и антиоксидантное действие. Исходя из вышеуказанного, мы сочли необходимым оценить влияние различных доз меди на состояние антиоксидантной системы кур-несушек.

В крови кур-несушек группы 1 с минимальным содержанием меди в рационе на протяжении опыта прослеживается снижение активности СОД (рис.5).

Рисунок 5



На 60 сутки этот показатель был достоверно ниже на 29,4%, чем в контроле. Активность каталазы до 30 дня напротив, несколько увеличивается, но к концу наблюдений достоверно снижается. Уровень малонового диальдегида (МДА) в этой группе монотонно повышался, и к концу исследования превышал контрольный показатель в 1,4 раза.

В подопытной группе 2 наблюдается постепенный рост активности СОД на 41,5 % и каталазы на 24,4 % на 30 день, эти показатели остаются стабильными до конца периода исследований (рис. 6). Концентрация МДА в этой группе в течение опыта значительно снижается – на 30 день практически в 2 раза, а на 60 – в 3,2 раза по сравнению с исходным уровнем.

Рисунок 6



В 3 подопытной группе в первой половине эксперимента происходит более выраженный, чем во второй группе рост активности обоих антиоксидантных ферментов, но к концу исследования активность СОД резко снижается, достигая исходного уровня (рис.7).

Однако, активность каталазы достоверно растёт на протяжении всего опыта, увеличиваясь, в конечном счёте, в 1,7 раза. Интересно то, что при этом уровень малонового диальдегида уже через 15 дней достоверно снижается, однако, в дальнейшем довольно быстро увеличивается. К концу опыта этот показатель достоверно превышает исходный в 2,3 раза.

Анализируя изменения данных показателей мы исходим из того, что антиоксидантный статус организма отражает не только активность антиокислительных ферментов, но и их соотношение с продуктами ПОД, к которым относится малоновый диальдегид (Линецкая И.Л., 1993; Кармолиев Р.Х., 2005). Очевидно, что наиболее положительное влияние оказывает добавка меди в рацион в общем количестве 20 мг/кг корма, что проявляется в повышении активности СОД и каталазы на фоне снижения уровня МДА.

Рисунок 7



В случае введения в рацион 100 мг меди на 1 кг корма благоприятное влияние на антиоксидантный статус прослеживалось только до 30 дня наблюдения, в дальнейшем отмечалось разобщение взаимодействия ферментов-антиоксидантов на фоне роста концентрации малонового диальдегида. По-видимому, медь вначале более интенсивно оказывает антиоксидантный эффект, включаясь в состав СОД и церулоплазмينا, и усиливая синтез гема и каталазы. Затем при насыщении органических структур медью активируются процессы свободно-радикального окисления, прямым доказательством которого является динамика малонового диальдегида, являющегося продуктом перекисного окисления липидов. Разобщение активности СОД и каталазы можно объяснить с одной стороны разрушительным воздействием активных форм кислорода (АФК) на саму молекулу супероксиддисмутазы (Стволинский С А, 2003), в результате чего активность этого фермента, в конечном счете, падает.

В отношении каталазы можно предположить, что увеличение субстрата, т.е. перекиси водорода, является пусковым фактором для выработки фермента. На основании полученных данных можно сделать вывод и о связи синтеза гемоглобина и каталазы с количеством меди в рационе.

Следует отметить, что у птицы первой подопытной группы уменьшение активности супероксиддисмутазы связано не только с повреждением молекулы самого фермента свободными радикалами (Сальникова Л.А., 1990), но еще и с дефицитом в рационе меди, которая является составной частью фермента (Синевич О Ю, 2000). Однако, активность каталазы в этой группе снижается не сразу, а только на 45 день наблюдения. До этого наблюдается даже некоторая тенденция к росту этого показателя. Мы можем объяснить это, во-первых, устойчивостью фермента к воздействию СР, а во-вторых, компенсаторными возможностями организма к противостоянию в отношении АФК, в частности – перекиси водорода и усилению синтеза в связи с этим каталазы до тех пор, пока эти возможности не будут исчерпаны.

## **6 Влияние различных добавок сульфата меди в рацион кур-несушек с 210- по 270-дневный возраст на иммунологические показатели.**

В группе, получавшей кормосмесь с содержанием меди 5 мг на 1 килограмм, к концу периода наблюдения отмечалось достоверное снижение количества лейкоцитов на 33%. При этом выявлена тенденция к снижению общего белка и иммуноглобулинов сыворотки крови, количества Т- и В-лимфоцитов, при достоверном снижении активности миелопероксидазы (МПО) и уровня лизосомально-катионных белков (ЛКБ) гетерофилов крови. Эти характеристики объективно отражают снижение неспецифической защиты клеток крови (Колабская Л С, 1982, Пигаревский В Е., 1988).

В крови кур-несушек группы 2, получавших к контрольному рациону добавку соли меди до 20 мг/кг, в конце эксперимента установлено максимальное количество лейкоцитов, по сравнению с контролем ( $P < 0,01$ ).

Отмечен достоверный рост процента Т- и В-лимфоцитов в сравнении с контрольной группой

Добавки меди из расчета 100 мг/кг корма (группа 3) вызвали тенденцию к повышению концентрации общего белка и иммуноглобулинов сыворотки крови кур-несушек к концу эксперимента

Под влиянием добавок соли меди в рацион кур-несушек группы 2 и группы 3 установлено повышение функциональной активности гетерофилов крови, свидетельством этому является повышение активности МПО и уровня ЛКБ в клетках. Учитывая тот факт, что миелопероксидаза является гемсодержащим ферментом, вполне объяснимо повышение его синтеза под влиянием дополнительных добавок меди в рационе. В доступной нам литературе не удалось найти данных о влиянии меди на функциональную активность гетерофилов у кур.

Таким образом, очевидно неблагоприятное влияние дефицита меди в рационе кур-несушек кросса «Хайсекс белый» в период от 7 до 9 месяцев на иммунную систему, проявляющееся в снижении лейкопоза, синтеза общего белка и иммуноглобулинов сыворотки крови, изменением соотношения лимфоцитарных клеток в пользу недифференцированных, а также снижением количества ферментов гетерофилов. Напротив, дополнительные добавки меди как в количестве 20 мг/кг, так и 100 мг/кг корма оказывали стимулирующее влияние на все исследуемые показатели иммунной системы птицы в данный период. Это можно объяснить, во-первых, усилением энергетических процессов в клетках организма ввиду усиления интенсивности тканевого дыхания на фоне повышения уровня гемоглобина и эритроцитов, а значит и улучшения оксигенации тканей. Во-вторых, увеличение продукции гема способствует и регенерации самих ферментов дыхательной цепи – цитохромов, один из которых содержит в своей структуре медь. Как следствие – увеличение регенерации молекул АТФ для обеспечения практически любых синтетических процессов.

## **7 Влияние различных добавок сульфата меди в рацион кур-несушек с 210- по 270-дневный возраст на микроэлементный статус.**

Наши исследования показали, что различные дозы меди в рационе заметно сказываются на микроэлементном статусе птицы, в частности на концентрации меди, железа и цинка в различных органах и тканях. Особенно выраженное влияние оказывает пониженное (5 мг/кг) и повышенное (100 мг/кг) содержание меди в рационе. При скормливание низких доз меди происходит следующая динамика микроэлементов в крови: уровень меди и железа постепенно снижается, становясь к концу эксперимента на 33 % и 20% соответственно ниже исходного, причем уже на 30 день степень изменения меди достоверна. Концентрация цинка в этой группе на протяжении всего периода исследования практически не меняется. В 3 группе наблюдается интенсивный рост концентрации меди, причем на 45 день она превышает исходную вдвое. Претерпевает постепенный рост и

уровень железа в этой группе, однако, к концу исследования этот показатель становится выше исходного лишь на 14 %. Антагонистические отношения между уровнем меди и цинка в крови определяются в данной группе, начиная с 45 дня наблюдения чем более увеличивается содержание одного микроэлемента, тем более снижается концентрация другого. Так, в конечном счете, количество цинка в крови кур-несушек 3 группы достоверно уменьшается на 30 %.

Наиболее благоприятное воздействие на динамику микроэлементов в крови за весь период исследования оказывала доза меди 20 мг на килограмм корма. В группе 2 отмечался умеренный рост как количества меди, так и железа в цельной крови при неизменном содержании цинка.

Анализируя степень элиминации микроэлементов в различных органах и тканях кур-несушек после скармливания в течение 60 суток различных доз меди, можно отметить, что пониженное количество меди в рационе приводит к достоверному снижению накопления меди и железа в печени на 39 % и 22 % соответственно. В отношении цинка выявляется достоверное увеличение его уровня в бедренной кости. Мы можем объяснить это возможным увеличением остеокластических процессов в костной ткани, которые требуют воздействия цинксодержащего фермента щелочной фосфатазы, в большом количестве содержащегося в костной ткани. Не исключено, что при недостатке меди в рационе изменяется и минеральный обмен, при котором повышается степень резорбции минеральных элементов из костей (Скоблин А. П., Белоус А. М., 1968). Применение рациона, содержащего медь в количестве 100 мг/кг корма, приводит к значительному увеличению как этого микроэлемента - в печени (в 2,4 раза), селезенке (в 1,4 раза) и грудной мышце (в 1,6 раза), так и железа в этих же органах и тканях на 19,21 %, 31 % и 38,8 % соответственно (степень увеличения статистически достоверна). Если медь накапливается в печени, то железо - в селезенке и мышце. По-видимому, в селезенке этот микроэлемент в наибольшей степени представлен в составе гемоглобина эритроцитов, а в мышечной ткани - в составе миоглобина, цитохромов. В этой группе отмечается достоверное снижение концентрации цинка в печени, селезенке и костной ткани (на 72 %, 24,6 % и 47,5 % соответственно) и тенденция к уменьшению в мышечной ткани. Очевидно, именно достаточное превышение количества меди в рационе по отношению к контролю приводит к развитию антагонизма между медью и цинком. Не исключено, что снижение концентрации цинка в организме птицы может являться одним из патогенетических факторов в развитии патологии иммунокомпетентных органов. И, наконец, скармливание комбикорма с содержанием меди в количестве 20 мг/кг способствует достоверному увеличению содержания меди и железа в печени (на 35,6 %), а также тенденции к росту меди, железа и цинка в селезенке, бедренной кости и грудной мышце. В печени уровень железа несколько превышает контрольный, а содержание цинка - практически соответствует контрольному значению.

В литературе широко освещаются вопросы взаимодействия микроэлементов, однако, многие аспекты не изучены и не объяснены. Так, нам не удалось найти сведения о механизме потери цинка при избытке меди в рационе. На наш взгляд, не исключена конкуренция этих микроэлементов в отношении транспортных белков на уровне абсорбции в кишечнике.

Обобщая вышесказанное, можно утверждать, что медь является чрезвычайно важным микроэлементом в организме птицы, что подтверждают результаты научно-производственного эксперимента, в котором определено положительное влияние добавки меди в рацион кур-несушек кросса «Хайсекс белый» в условиях ЗАО «Птицефабрика Синявинская» до уровня 20 мг/кг корма (чистого элемента) на производственные показатели (прирост, сохранность и продуктивность).

### ВЫВОДЫ

1. ЗАО «Птицефабрика Синявинская» является автономной экосистемой, в которой поддерживается постоянство внутренних факторов содержания птицы. Корма, ввозимые из разных геохимических зон, различаются по микроэлементному составу, и поэтому рассматриваются, как экзогенный фактор, существенно влияющий на биохимический статус кур-несушек.
2. У кур-несушек кросса «Хайсекс белый» в период пика яйцекладки (210 – 270 дней) достоверно снижается концентрация гемоглобина, эритроцитов в крови и церулоплазмينا в сыворотке.
3. Наивысшее содержание микроэлементов железа, меди и цинка в период от 120 по 360 дней у кур-несушек в крови и печени наблюдается в возрасте 120 дней, что обусловлено предкладковой подготовкой организма для обеспечения эффективного овогенеза.
4. В течение периода наблюдения (120-360 дней) у птицы содержание меди и железа постепенно снижалось и достигало минимальных значений в крови: меди – в 10 месяцев, железа – в 8 месяцев, в печени: меди – в 8 месяцев, железа – в 7 месяцев. Концентрация цинка в крови постепенно падала в течение эксперимента, уменьшаясь к 12-месячному возрасту в 1,7 раза.
5. У кур-несушек кросса «Хайсекс белый» в период от 7 до 12 месяцев доля выделенной с яйцом меди от полученной с кормом в целом наиболее высока в период пика яйцекладки (210-270 дней) и составила 9,49 – 10,53%, что превышает элиминацию железа (6,41 – 7,59%) и цинка (3,65 – 3,97%).
6. Содержание сульфата меди на уровне 5 мг/кг корма (чистого элемента) в период от 210 до 270-дневного возраста у кур-несушек является недостаточным, так как приводит к снижению, по сравнению с контролем, содержания эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов, меди и железа в крови, церулоплазмينا, общего белка и общего содержания иммуноглобулинов в сыворотке крови; к уменьшению концентрации меди

и железа в печени; к усилению свободно-радикальных процессов и накоплению продуктов перекисного окисления липидов, а также к угнетению клеточного и гуморального иммунитета

- 7 Дополнительное введение сульфата меди в рацион кур-несушек в период 210-270 дней до 20 мг/кг корма (чистый элемент) оказывает наиболее благоприятный эффект на организм птицы, что выражается в увеличении концентрации гемоглобина, церулоплазмينا, эритроцитов, лейкоцитов, общего белка, общего содержания иммуноглобулинов, по сравнению с контрольной группой У птицы выявлялась активизация ферментов антиоксидантной защиты организма на фоне достоверного снижения концентрации малонового диальдегида
- 8 Медь в дозе 100 мг/кг корма (в виде серноокислой соли), вводимая в рацион птицы от 210 до 270 дней является экотоксикантом, о чём свидетельствует рост концентрации малонового диальдегида при снижении активности супероксиддисмутазы. Определялось наибольшее содержание меди и железа в крови и печени, на фоне достоверного снижения концентрации цинка в этих же тканях, что свидетельствует о включении антагонистических взаимодействий микроэлементов и превышении порога биотической дозы меди
- 9 Добавление серноокислой меди до уровня 20 мг/кг корма (чистый элемент) в рацион кур-несушек кросса «Хайсекс белый» в условиях ЗАО «Птицефабрика Синявинская» в период от 210 до 270 дней приводило к росту средней продуктивности на 1,3%, привесу по живой массе на 15%, увеличению яйцемассы на 2,4% и сохранности – на 0,5% в течение периода наблюдения от 210 до 450 дней

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ**

- 1 Рекомендуем проводить обязательное исследование каждой партии комбикормов, поступающих на птицефабрику для определения в них содержания меди, железа и цинка методом атомно-абсорбционной спектrophотометрии и корректировать их уровень в соответствии с рекомендуемыми нормами с учётом возраста и направления продуктивности птицы.
- 2 Ввиду выявленной повышенной потребности в меди у кур-несушек кросса «Хайсекс белый» в период пика яйцекладки рекомендуем вводить дополнительные добавки серноокислой меди в рацион до 20 мг/кг в расчёте на чистый элемент с 210 по 270-дневный возраст
- 3 Материалы диссертационной работы могут быть использованы в учебном процессе при чтении лекций и проведения практических занятий по биологической химии, а также при написании учебников и учебных пособий

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ  
ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Васильева С.В Влияние меди на распределение некоторых элементов в крови, печени и селезенке кур-несушек / С.В. Васильева // Актуальные проблемы ветер медицины. сб науч тр – СПбГАВМ – СПб, 2000 – С 28-30
2. Васильева С.В Влияние меди на белковый обмен организма птицы / С.В. Васильева // Актуальные проблемы ветер медицины сб науч тр – СПбГАВМ – СПб, 2000 – С 30-32
3. Васильева С.В Влияние меди на белковый спектр крови у кур-несушек /С.В. Васильева // Материалы 57-й науч конф молодых ученых и студентов СПбГАВМ – СПб – 2003 – С 6-8
4. Конопатов Ю.В. Коррекция гипохромной анемии у кур-несушек / Ю.В. Конопатов, С.В. Васильева// Материалы второго междунар симп «Совр проблемы вет диетологии и нутрициологии» (22 – 24 апреля 2003 г) – СПб, - 2003. – С 67-68
5. Васильева С.В Состояние антиоксидантной системы у кур-несушек под влиянием различных доз сульфата меди / С.В. Васильева // Матер науч конф профессорско-преподавательского сост – СПбГАВМ – СПб, - 2004 – С 19-20
6. Васильева С.В Изменения микроэлементного статуса и показателей кроветворения у кур-несушек кросса «Хайсекс белый» в продуктивный период / С.В. Васильева // Ученые зап Казанской гос акад вет медицины им Н.Э. Баумана – Казань – 2006. – т 184 – С 49-57

Отпечатано в ООО “Репригт”,  
заказ № 24/04 24.04 2007 г, тираж 100 экз.  
198188, Санкт-Петербург, ул. М Говорова, 8А  
тел · (812) 785-09-11