

Активность пищеварительных ферментов в кишечнике и помете цыплят-бройлеров при использовании кормовой добавки Синкра AVI

Вертипрахов В.Г., доктор биологических наук, главный научный сотрудник - зав. отделом физиологии и биохимии

Борисенко К.В., аспирант

ФГБНУ Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства»

Российской академии наук (ФНЦ «ВНИТИП» РАН)

Сирухи М.Н., бизнес-менеджер

Компания «Даниско Дюпон»



Аннотация: Изучено влияние ферментно-пробиотического комплекса Синкра AVI (200 мг/кг корма) на дуоденальную активность пищеварительных ферментов и наличие ферментативной активности в помете у цыплят-бройлеров на фоне рациона с трудногидролизуемыми компонентами (10% пшеничных отрубей). Опыт проведен на 6 цыплятах с хронической дуоденальной fistулой в возрасте 20-42 дней жизни, половина из которых получала добавку, а половина нет (контроль). С учетом повторностей по каждой группе было получено не менее 60 значений. Установлено, что у бройлеров, получавших добавку, активность липазы в химусе 12-перстной кишки достоверно увеличивалась на 38,6%, а активность щелочной фосфатазы снижалась на 20,6% ($p<0,05$) по сравнению с показателями контроля, тогда как активности амилазы и протеаз оставались на прежнем уровне. При этом активности амилазы и протеаз в помете бройлеров, получавших добавку, достоверно снижались по сравнению с контролем на 67,1 и 28,9% соответственно ($p<0,05$). Полученные данные свидетельствуют о положительном влиянии изучаемой кормовой добавки на кишечное пищеварение.

Ключевые слова: цыплята-бройлеры, дуоденальная активность ферментов, активность ферментов в помете, ферментно-пробиотическая кормовая добавка.

Введение. Использование ферментных и пробиотических препаратов в рационах птицы должно базироваться на знании процессов пищеварения, поскольку экзогенные ферменты и микроорганизмы вступают во взаимодействие с эндогенными, что не всегда дает положительный эффект.

Актуальность применения ферментно-пробиотического комплекса (коммерческое название Синкра AVI), представляющего собой комбинацию ферментов (ксиланазы, амилазы, протеазы) и пробиотических культур на основе 3 штаммов *Aspergillus amyloliquefaciens*, связана с тем, что при выращивании бройлеров

используются корма, содержащие трудногидролизуемые компоненты, и для повышения эффективности их использования в рацион добавляют такого рода препараты. Традиционно используемые для яичной и племенной птицы в качестве «разбавителя питательности» пшеничные отруби относятся к трудно-



гидролизуемым компонентам корма, они реже включаются в рационы бройлеров по причине ухудшения показателей продуктивности. Известно, что высокое содержание в отрубях некрахмалистых полисахаридов (НКП) и других антипитательных факторов (фитаты, связанный с клетчаткой белок и др.) не только снижает питательную ценность рациона, но и способствует избыточной выработке эндогенных пищеварительных ферментов организмом бройлеров [1]. Сообщалось, что высокое содержание НКП и грубый помол пшеничных отрубей способствуют уменьшению высоты кишечных ворсинок и более интенсивному слущиванию муцина эпителия кишечника, приводя к снижению эффективности переваривания корма и большим эндогенным потерям питательных веществ, а нередко и заболеваниям пищеварительного канала [2,3].

Важно также понимать, что птица потребляет не субстраты как таковые, а ингредиенты кормов, в которых субстраты содержатся в виде сложных матриц. Для расщепления данных матриц бывает недостаточно собственных пищеварительных ферментов, поэтому в корма вводят экзогенные ферменты. Например, ксиланаза гидролизует ксиланы (вид НКП) ингредиентов корма в

желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) птицы, снижает вязкость кишечного содержимого, повышает доступность питательных веществ. Экзогенные амилаза и протеаза стимулируют выработку собственных пищеварительных ферментов, повышая переваримость крахмала и белка [4].

Для птицы характерно преобладание пристеночного пищеварения и абсорбция питательных веществ через многочисленные выросты собственной пластинки слизистой оболочки кишки. В научной литературе описана способность пробиотических бактерий *Bacillus spp.* прикрепляться к слизистой оболочке кишечника и улучшать его структуру: длину ворсинок, глубину крипт, что в итоге повышает продуктивность птицы. Лучшая гистоструктура кишечника, вероятно, будет влиять и на более интенсивную резорбцию пищеварительных ферментов обратно из ЖКТ, снижая потери ферментов с пометом [5].

Поэтому целью настоящей работы являлось изучение влияния кормового ферментно-

пробиотического комплекса (коммерческое название Синкра AVI) на активность пищеварительных ферментов в кишечнике цыплят-бройлеров на фоне добавки в их рацион пшеничных отрубей в качестве трудногидролизуемого компонента.

Материал и методика

исследований. Опыты выполняли на 12 цыплятах-бройлерах кросса «Смена-8» 20-42-суточного возраста в соответствии с требованиями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ETS №123, Страсбург, 1986) [6]. В экспериментах были использованы интактные бройлеры (6 гол.) и бройлеры с хронической дуodenальной fistулой (6 гол.). Птица находилась в виварии ФНЦ «ВНИТИП» РАН в условиях кормления и содержания в соответствии с требованиями для данной возрастной группы и кросса [9]. В качестве трудногидролизуемого ингредиента в стандартный рацион вводили «сверху» 10%

Таблица 1. Схема опыта

Подопытная птица	Группа	Кол-во голов	Особенности кормления
Интактные цыплята-бройлеры	контрольная	3	Основной рацион (ОР) - финишный комбикорм для бройлеров, соответствующий требованиям [7], с добавкой 10% пшеничных отрубей
	опытная	3	ОР + Синкра AVI 101 TPT, 200 мг/кг
Цыплята-бройлеры с duodenальной fistулой	контрольная	3	ОР
	опытная	3	ОР + Синкра AVI 101 TPT, 200 мг/кг



пшеничных отрубей. Схема опыта представлена в табл. 1.

Интактные бройлеры содержались в качестве группы сравнительного контроля физиологического состояния оперированной птицы, пробы у них не отбирались. На протяжении опыта поведение, потребление корма, прирост живой массы у интактных и фистулированных бройлеров существенно не различались.

Операция фистулирования 12-перстной кишки выполнялась в соответствии с методикой, разработанной в лаборатории физиологии ФНЦ «ВНИТИП» РАН [8]. После периода послеоперационного выздоровления фистулированная птица была здоровой, потери аппетита и диареи не наблюдалось.

Взятие биологических проб выполняли ежедневно утром в одно и тоже время в течение 20 суток. Брали образцы помета (собирали индивидуально суточный помет, подсушивали и затем отбирали усредненные аликвоты). Дуоденальный химус собирали через 1 ч после кормления птицы

в количестве 3-5 мл, центрифугировали при 3000 об./мин в течение 3 мин.

Активность ферментов и биохимические показатели исследовали после сушки биологического материала (образцов помета и химуса) в лиофильной сушилке серии TFD (ilShinbiobase Co., Ltd, Корея) в течение 48 ч при температуре $-77,8^{\circ}\text{C}$ и давлении 5 mTorr. Полученный (абсолютно сухой) материал разводили раствором Рингера 1:100, гомогенизировали, центрифугировали и выполняли биохимические исследования.

Активность амилазы определяли по методу Smith-Roe в модификации для определения высокой активности фермента [10]; протеаз - по гидролизу казеина, очищенного по Гаммерстену, при колориметрическом контроле (длина волны 450 нм), активность выражали в мг расщепленного субстрата на 1 мл ферментативного материала, находящегося в исследуемой жидкости, в течение 1 мин [10]; липазы и щелочной фосфатазы (ЩФ) - на полуав-

томатическом биохимическом анализаторе BS-3000P (SINNOWA, Китай) с набором ветеринарных диагностических реагентов для определения концентрации этих ферментов в крови животных компании «ДИАКОН-ВЕТ» (РФ).

С учетом повторностей на каждой группе было получено не менее 60 значений. Для статистической обработки результатов использовали программное обеспечение JMP Statistic Trial 14.1.0, с помощью которого выполняли расчет среднего значения (M) и среднеквадратичного отклонения ($\pm m$). Достоверность различий устанавливали по t-критерию Стьюдента, различия считали статистически значимыми при $p<0,05$.

Результаты исследования

и их обсуждение. Данные по дуоденальной активности ферментов у цыплят-бройлеров представлены в табл. 2.

Наши экспериментальные данные показывают, что существенных изменений в активности амилазы и протеаз при введении в корм добавки Синкрап AVI 101 ТРТ не наблюдается. Достоверное увеличение активности липазы на 38,6% ($p<0,05$) в опытной группе обусловлено, по-видимому, изменением функции печени и секреции желчи. Об этом свидетельствует стимуляция активности липазы и снижение активности

Таблица 2. Дуоденальная активность ферментов при использовании в рационе цыплят-бройлеров кормовой добавки Синкрап AVI 101 ТРТ (n=60)

Фермент	Фермент	
	контрольная	опытная
Амилаза, мг/мл/мин	4050±313,1	3365±261,8
Липаза, ед./мл	50,5±5,72	70,1±6,61*
Протеазы, мг/мл/мин	307±32,7	307±31,0
Щелочная фосфатаза, ед./л	113639±8332,9	90291±7614,1*

* различия с контрольной группой достоверны при $p<0,05$.



ЩФ - тканевого фермента, который гидролизует фосфоэфирыные связи фосфорных соединений в кишечнике. Поскольку этот фермент является диагностическим показателем функции печени и образуется при разрушении ее клеток, то факт снижения активности ЩФ следует интерпретировать как положительное свидетельство оптимизации ее деятельности. Таким образом, несмотря на наличие в составе кормовой добавки амилазы, ксиланазы и протеаз, препарат не оказывал существенного влияния на дуodenальную активность ферментов, за исключением липазы и ЩФ. Это можно объяснить особенностями пищеварительной системы птицы, имеющей зоб, поскольку там происходит предварительная обработка корма, и не исключено действие экзогенных ферментов на субстрат, в частности, в зобе, которое приводит к гидролизу части крахмала и протеина.

Для более полного представления об активности пищеварительных ферментов в организме бройлеров были выполнены исследования их активности в

помете (табл. 3).

Активность амилазы и протеаз в помете бройлеров достоверно снизилась на 67,1 и 28,9% соответственно ($p<0,05$), что связано со снижением скорости перемещения кишечного химуса по пищеварительному тракту, что также повышает вероятность рекуперации энзимов в кровь для дальнейшего формирования секрета в поджелудочной железе [11,12]. Это является критерием состояния здоровья пищеварительного канала, поскольку при расстройствах пищеварения выделение пищеварительных ферментов с экскрементами резко возрастает, что связано с диареей [13]. В данном случае наблюдается положительное влияние изучаемой кормовой добавки на состояние здоровья кишечника у бройлеров.

Заключение. Таким образом, при изучении дуоденальной активности пищеварительных ферментов установлено, что при вводе кормовой добавки Синкра AVI 101 TPT в рацион цыплят-бройлеров в дозе 200 мг/кг корма достоверно увеличивается

активность липазы на 38,6% и снижается активность щелочной фосфатазы на 20,6% ($p<0,05$), тогда как активность амилазы и протеаз остается на прежнем уровне. При этом активность амилазы и протеаз в помете бройлеров снижается по сравнению с контрольной группой на 67,1 и 28,9% соответственно, что указывает на положительное влияние изучаемой кормовой добавки на кишечное пищеварение.

Литература

- Cowieson A.J., Ravindran V., Selle P.H., Influence of dietary phytic acid and source of microbial phytase on ileal endogenous amino acid flows in broiler chickens // Poult. Sci. - 2008. - V. 87, No 11.-P.2287-2299.
- Morel P.C.H., Melai J., Eady S.L., Coles G. D. Effect of non-starch polysaccharides and resistant starch on mucin secretion and endogenous amino acid losses in pigs // Asian-Australas. J. Anim. Sci. - 2005. - V. 18, No 11.-P. 1634-1641.
- Ravindran V. Feed-induced specific ileal endogenous amino acid losses: Measurement and significance in the protein nutrition of monogastric animals // Anim. Feed Sci. Technol. - 2016. -V. 221.-P. 304-313.
- Борисенко К.В., Вертипрахов В.Г. Активность пищеварительных ферментов при добавке в корм бройлеров протеазы // Птицеводство. - 2018. - №10. - С. 20-23.
- Можейко Л. А. Секреция и рекре-

Таблица 3. Активность ферментов в лиофилизированном помете цыплят-бройлеров при использовании в рационе кормовой добавки Синкра AVI 101 TPT (n=60)

Фермент	Фермент	
	контрольная	опытная
Амилаза, мг/мл/мин	340±14,1	112±12,4*
Липаза, ед./мл	60,7±6,11	75,4±6,85
Протеазы, мг/мл/мин	45±2,7	32±2,9*
Щелочная фосфатаза, ед./л	18442±1647,5	15936±1076,5

* различия с контрольной группой достоверны при $p<0,05$.

- ция панкреатических ферментов. 2. Рекреция панкреатических ферментов // Ж. Гродненского мед. унив. - 2017.-№4(15) С. 381-385.
- 6 . Электронный ресурс: www.conventions.ru
7. Фисинин В.И., Манукян В.А., Ленкова Т.Н. [и др.] Руководство по оптимизации рецептов комбикормов для сельскохозяйственной птицы. - Сергиев Посад: ВНИТИП, 2014. - 155 с.
8. Фисинин В.И., Вертипрахов В.Г., Грозина А.А., Кислова И.В., Кощеева М.В. Кишечное пищеварение и биохимия крови у кур-несушек (*Gallus gallus* L.) при введении в рацион микродобавки хрома // С.-х. биология. - 2019.-Т. 54, №4. - С. 810-819.
9. Егоров И.А., Манукян В.А., Ленкова Т.Н. [и др.] Методика проведения научных и производственных исследований по кормлению сельскохозяйственной птицы. Молекулярно-генетические методы определения микрофлоры кишечника. - Сергиев Посад: ВНИТИП, 2013. - 51 с.
10. Батоев Ц.Ж. Физиология пищеварения птиц. - Улан-Удэ: изд-во Бурятского госуниверситета, 2001. - 214 с.
11. Rothman S.S., Liebow C., Isenman L. Conservation of digestive enzymes // *Physiol. Rev.* - 2002. - V. 82. - P. 1-18.
12. Коротко Г.Ф. Рециркуляция ферментов пищеварительных желез //
- Рос. ж. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. - 2011. - №4. - С. 14-21.
13. Вертипрахов В.Г. Гогина Н.Н., Грозина А.А., Хасanova Л.В., Ребракова Т.М. Пищеварение и обмен веществ у мясных кур при экспериментальном микотоксикозе // Ветеринария и кормление. - 2017. - № 6. - С. 17-20.
- Для контакта с авторами:**
- Вертипрахов Владимир Георгиевич**
E-mail: vertiprakhov63@mail.ru
- Борисенко Константин Владимирович**
E-mail: belakostya@mail.ru
- Сирухи Марина Николаевна**
Тел.: +7 (915) 114-53-13



The Activities of the Digestive Enzymes in Duodenal Digesta and Feces in Broilers Fed Diet Supplemented with Wheat Bran and Additive Syncra® AVI

Vertiprakhov V.G.¹, Borisenko K.V.¹, Sirukhi M.N.²

¹Federal Scientific Center "All-Russian Research and Technological Institute of Poultry" of Russian Academy of Sciences; ²Danisco Animal Nutrition

Summary: The effects of the supplementation of finisher diet for broilers containing large amount of wheat bran (10% of total diet) with additive Syncra® AVI (200 ppm) combining enzymatic and probiotic activities on the duodenal and fecal activities of the digestive enzymes were studied on 6 broilers with chronic duodenal fistulae at 20-42 days of age; 3 birds were fed the non-supplemented diet (control treatment), and 3 birds were fed the diet supplemented with the additive. No less than 60 figures for each parameter studied were determined in all replicates of the trial. Duodenal activity of lipase in broilers fed the additive was significantly higher by 38.6% in compare to control, duodenal activity of alkaline phosphatase lower by 20.6% ($P<0.05$); duodenal activities of amylase and proteases remained at the level of the control. Furthermore, the activities of amylase and proteases in feces of intact broilers fed the additive were significantly lower in compare to control by 67.1 and 28.9%, respectively ($P<0.05$). These data evidence the beneficial effect of the additive on the intestinal digestion in broilers, even with a high level of poorly hydrolysable dietary ingredients.

Key words: broiler chicks, duodenal activities of digestive enzymes, fecal activities of digestive enzymes, feed additive with enzymatic and probiotic activities.