

## БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ТА ВМІСТ ВІЛЬНИХ АМІНОКИСЛОТ КРОВІ КОРІВ ПРИ ГОДІВЛІ СИЛОСОМ З РІЗНИМ РІВНЕМ ЧИСТОГО ПРОТЕЇНУ

В. В. Дубінський<sup>1,2</sup>, М. Гольтерсгінкен<sup>2</sup>, В. В. Влізло<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Інститут біології тварин НААН України, Україна

<sup>2</sup>Клініка великої рогатої худоби Вищої ветеринарної школи, м. Ганновер, Німеччина

*У статті представлені результати досліджень біохімічних показників та вмісту вільних амінокислот у крові корів німецької чорно-рябої породи при згодовуванні трав'яного силосу зі злакового різнотрав'я з різною кількістю чистого протеїну. Встановлено, що у крові корів, яким згодовували силос з рівнем чистого протеїну 48,2 % від сирого протеїну, всі досліджені біохімічні показники знаходились в межах фізіологічних коливань. У крові корів, яким згодовували силос зі зниженим рівнем чистого протеїну (40,9 % від сирого протеїну), порівняно з контрольними, реєстрували зменшення вмісту вільних незамінних амінокислот (цистеїну, аргініну, гліцину, аланіну, тирозину, метіоніну, валіну, фенілаланіну, лейцину, ізолейцину), загального кальцію та селену. Інші біохімічні показники змінювалися незначно (вітамін А та Е, ГГТ, ГЛДГ, сечовина, неорганічний фосфор, мідь), або встановлено тенденцію до їх змін, зокрема децю зростала активність АСТ і креатинкінази, концентрація загального білірубіну та знижувалася кількість холестеролу і цинку.*

**Ключові слова:** КОРОВИ, КРОВ, СИЛОС, ЧИСТИЙ ПРОТЕЇН, БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ, ВІЛЬНІ АМІНОКИСЛОТИ

Однією з важливих особливостей процесів травлення у жуйних тварин є розщеплення кормів у передшлунках. Під дією мікрофлори передшлунків поживні речовини кормів підлягають різноманітним перетворенням, внаслідок цього утворюються амінокислоти, мікробні білки, речовини ліпідної та вуглеводної природи, вітамін та інші біологічно активні сполуки [1, 2, 3].

У багатьох регіонах Німеччини у якості основного корму при годівлі високопродуктивних молочних корів використовують трав'яний силос. Є припущення [4], що згодовування трав'яного силосу, який містить малий відсоток чистого (перетравного) протеїну в сирому, може спричинити порушення ферментативних процесів у передшлунках, розвиток різних симптомів і навіть смерть тварин.

Метою нашої роботи було проаналізувати трав'яний силос, провести клінічні дослідження та визначити показники крові корів у господарстві, де діагностуються захворювання.

### Матеріали і методи

Матеріал досліджень — корови німецької чорно-рябої породи із двох господарств: контрольного, благополучне щодо захворювань, та дослідного, де діагностували захворюваність. Проби крові корів брали з яремної вени вранці через три години після годівлі. Отриману сироватку крові до визначення зберігали при  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Вітамін А та Е в крові досліджували методом флуоресцентної фотометрії. Біохімічні показники крові визначали на біохімічному аналізаторі Cobos Mira. У сироватці крові досліджували активність аспартатамінотрансферази (АСТ) методом P. Felding, гамма-глутамілтрансферази (ГГТ) — кінетично кольоровою реакцією з L- $\gamma$ -глутаміл-4-нітроанілід, глутаматдегідрогенази (ГЛДГ) — оптичним методом H. Schlebusch et. al., креатинкінази (КК) — кінетичним тестом з N-ацетилцистеїном, вміст загального холестеролу ензиматичним методом, загального білірубіну методом Єндрашика і Грофа, загального кальцію методом Gindler E. M., Kind J. D., неорганічного фосфору з ванадат-молібденовим реактивом. Кількість селену (Se), міді (Cu) та цинку (Zn) у сироватці крові встановлювали методом атомно-адсорбційної спектрофотометрії. Концентрацію вільних амінокислот визначали у плазмі крові методом високоефективної рідинної хроматографії.

Аналіз силосу проводили в Інституті годівлі Вищої ветеринарної школи м. Ганновер, Німеччина.

### Результати й обговорення

При клінічному дослідженні тварин з дослідного господарства встановлювали запори або проноси, схуднення, зниження продуктивності, хронічний ламініт, набряки, залежування. Інколи хвороба закінчувалась смертю. Оскільки захворювання корів частіше реєструється при згодовуванні трав'яного силосу першого покосу, тому він був відібраний для досліджень. Встановлено (табл. 1), що у господарстві, де діагностували захворювання тварин, рівень чистого протеїну в трав'яному силосі першого покосу був низьким і складав 40,9 % від сирого протеїну. У контрольному господарстві він дорівнював 48,2 %.

Таблиця 1

Вміст поживних речовин у 1 кг силосу

Показник	Контрольне господарство	Дослідне господарство
СР, г/кг корму	341	321
СЗ, г/кг корму	39,8	35,3
СП, г/кг корму	59,3	55,8
ЧП, г/кг корму	28,6	22,8
ЧП, % від СП	48,2	40,9
СЖ, г/кг корму	11,1	11,0
СК, г/кг корму	94,8	89,8
НДК, г/кг корму	180	167
КДК, г/кг корму	108	102
pH	4,70	4,37

*Примітки:* СР — суха речовина, СЗ — сира зола, СП — сирий протеїн, ЧП — чистий протеїн, СЖ — сирий жир, СК — сира клітковина, НДК — нейтральна детергентна клітковина, КДК — кисла детергентна клітковина

При дослідженні сироватки крові у клінічно здорових і хворих тварин встановлено (табл. 2), що більшість показників не відрізняються між собою. Зокрема, вміст вітаміну А та Е в крові корів з контрольного та дослідного господарств був ідентичним і знаходився у межах фізіологічних коливань.

Активність АСТ у крові корів з дослідного господарства значно коливалась, а у частини тварин реєстрували гіперферментемію. Однак вірогідної різниці між хворими та здоровими коровами не встановлено. Подібні зміни реєстрували і при визначенні у крові активності КК. Оскільки ці ферменти локалізуються переважно в цитозолі скелетних м'язів, то можна зробити висновок, що висока активність КК та АСТ у сироватці крові пов'язана з ураженням м'язової тканини. Активність ГГТ і ГЛДГ у крові дослідних та контрольних корів не відрізнялася. Концентрація загального білірубину в сироватці крові корів, які споживали силос із низьким вмістом чистого білка, була вищою від контрольної, однак гіпербілірубінемію встановлювали не у всіх тварин, тому збільшення було не вірогідним. Отже, беручи до уваги відсутність зростання активності ГЛДГ та ГГТ і незначне збільшення вмісту загального білірубину, можна констатувати, що ураження печінки не може бути причиною захворюваності корів.

Рівень холестеролу в крові корів контрольної та дослідної груп знаходився у межах фізіологічних коливань, хоча у тварин, які отримували силос з низьким вмістом чистого протеїну, він мав тенденцію до зниження. Концентрація сечовини у сироватці крові двох груп корів була на нижній межі норми.

Біохімічні показники крові корів дослідного та контрольного господарств

Показник	Контрольне господарство (n=7)	Дослідне господарство (n=7)
	M±m	M±m
Віт. А, мкмоль/л	2,1±0,14	2,8±0,45
Віт. Е, мкмоль/л	14,2±1,87	14,2±2,59
АСТ, од/л	66,3±12,14	151,0±87,80
ГГТ, од/л	20,1±3,75	14,0±2,00
ГЛДГ, од/л	6,4±1,20	8,0±2,67
КК, од/л	86,8±5,86	303,4±110,04
Холестерин, ммоль/л	4,4±0,39	3,3±0,55
Загальний білірубін, мкмоль/л	4,7±0,48	8,0±2,08
Сечовина, ммоль/л	3,2±0,21	3,5±0,45
Са, ммоль/л	2,4±0,04	2,3±0,02*
Р, ммоль/л	1,7±0,11	1,5±0,05
Se, мкмоль/л	1,29±0,137	0,73±0,066**
Сu, мкмоль/л	15,0±0,71	14,3±1,62
Zn, мкмоль/л	13,6±0,67	11,9±1,40

Примітки: \* —  $p < 0,05$ , \*\* —  $p < 0,01$ , порівняно з контролем

При дослідженні показників мінерального обміну встановлено низькі їх значення у сироватці крові корів з обох господарств (табл. 2). Так, вміст кальцію у сироватці крові корів був знижений в обох групах, однак у тварин, які поїдали силос з низькою кількістю чистого протеїну, показник був вірогідно ( $p < 0,05$ ) меншим, порівняно з контрольними.

Що стосується мікроелементів, то встановлено зменшення вмісту селену в крові корів з господарства, де діагностували захворювання, і він був вірогідно ( $p < 0,01$ ) нижчим порівняно з контрольними тваринами.

У пробах крові корів як з контрольного, так і дослідного господарств концентрація цинку була дещо нижчою за норму і особливо це виражалось у корів, які споживали мало чистого білка. Проте вміст міді в контрольних та дослідних пробах крові корів відповідав нормативним значенням і не відрізнявся між групами. Вільні амінокислоти крові в багатьох випадках служать маркерами повноцінного живлення та порушення функціонального стану організму [5]. Для високопродуктивних корів лімітуючими амінокислотами є лізин, метіонін, треонін та аргінін [6]. При визначенні концентрації вільних амінокислот у плазмі крові встановлено, що у корів, які споживали силос з низьким вмістом чистого протеїну, вона була за всіма показниками нижчою (табл. 3). Так, проведені нами дослідження показали, що кількість метіоніну в крові корів дослідного господарства, була утричі нижчою ( $p < 0,001$ ) від контрольних. Концентрація аргініну в плазмі крові значно ( $p < 0,01$ ) знижувалася у корів, які споживали силос з низьким вмістом чистого протеїну. Вміст лізину та треоніну в крові обох груп корів не відрізнявся між собою, хоча у дослідних реєстрували тенденцію до зменшення.

Крім цього, у крові дослідних корів нами встановлено вірогідно нижчі значення цистеїну ( $p < 0,05$ ), гліцину ( $p < 0,01$ ), аланіну ( $p < 0,01$ ), тирозину ( $p < 0,001$ ), валіну ( $p < 0,01$ ), фенілаланіну ( $p < 0,01$ ), ізoleyцину ( $p < 0,01$ ) та лейцину ( $p < 0,01$ ). Вміст інших амінокислот також дещо знижувався (табл. 3).

Таблиця 3

Вміст вільних амінокислот у плазмі крові корів дослідного та контрольного господарств (мкмоль/л)

Показник	Контрольне господарство (n=5)	Дослідне господарство (n=9)
	M±m	M±m
Цистеїн	14,8±1,84	8,6±1,91*
Аргінін	99,5±5,90	58,6±10,66**
Аспарагінова кислота	32,4±7,86	18,8±5,05
Глутамінова кислота	14,7±12,36	4,3±2,10

Треонін	61,3±16,74	50,8±15,02
Гліцин	167,3±7,61	100,8±16,89**
Аланін	115,4±11,36	56,5±13,96**
Тирозін	37,7±0,69	14,3±3,57***
Пролін	106,9±2,73	96,0±6,48
Метіонін	35,7±5,66	10,0±2,28***
Валін	116,4±12,40	47,6±11,17**
Фенілаланін	41,6±2,18	19,0±5,04**
Ізолейцин	58,6±6,73	25,4±5,94**
Лейцин	75,0±7,51	34,7±9,17**
Лізин	50,5±5,01	35,6±13,37

*Примітки:* \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$ ; \*\*\* —  $p < 0,001$ , порівняно з контролем

Мікроорганізми рубця жуйних засвоюють амінокислоти кормів та синтезують білки власного тіла, які засвоюються організмом у тонкому кишечнику. Для корів, продуктивність яких складає понад 20 кг молока в день, цього протеїну недостатньо. Тому такі тварини повинні отримувати додатково протеїн та амінокислоти, які захищені від мікрофлори рубця, і можуть перетравлюватися та абсорбуватися в тонкому кишечнику [7]. Отже, зниження рівня чистого протеїну в трав'яному силосі спричиняє зростання кількості небілкового азоту, до нього відносяться й вільні амінокислоти, які швидко розщеплюється мікроорганізмами рубця. Тому згодовування силосу з низьким вмістом чистого протеїну можливо і призвело до зниження концентрації вільних амінокислот у крові корів.

### **Висновки**

У крові корів, які споживали трав'яний силос із низьким вмістом чистого протеїну, встановлено зниження рівня вільних, зокрема незамінних амінокислот, а саме: цистеїну, гліцину, аланіну, тирозину, метіоніну, валіну, фенілаланіну, лейцину, ізолейцину. Це дозволяє зробити припущення про негативний вплив силосу зі зниженим рівнем чистого протеїну на ферментативні процеси в рубці і як наслідок недостатнім засвоєнням організмом корів життєво необхідних амінокислот, що може спричинити розвиток захворюваності. Проте інші біохімічні показники не вказували на суттєві порушення функціонального стану організму.

**Перспективи подальших досліджень.** Для вивчення змін ферментативних процесів у рубці корів при згодовуванні трав'яного силосу із різним рівнем чистого протеїну доцільно провести дослідження *in vitro* з використанням приладу «штучний рубець». Планується встановити концентрацію вільних амінокислот у вмісті рубця при ферментації силосу з різними рівнями чистого протеїну.

*V. V. Dubinskiy, M. Hoeltersshinken, V. V. Vlizlo*

### **BIOCHEMICAL INDICES AND FREE AMINOACIDS CONTENT IN COWS BLOOD AT FEEDING SILAGE WITH DIFFERENT LEVEL OF PURE PROTEIN**

#### **S u m m a r y**

The results of researches of biochemical indices and free aminoacids content in blood of German black-and-white breed cows at feeding different cereal herbs with different content of pure protein are presented in this article. It was established, that in the blood of cows fed silage with pure protein level — 48,2 % from raw protein, all investigated biochemical indices were within the frames of physiological fluctuations. In blood of cows fed silage with decreased level of pure protein (40,9 % from raw protein) the decrease of free non-substitution aminoacids (cysteine, arginine, glycine, alanine, tyrosine, methionine, valine, phenylalanine, leucine, isoleucine) crude calcium and selenium was observed in comparison with control. Other biochemical indices changed insufficiently (vitamins A and E, urea, non-organic phosphorus, copper, GGT, GIDG) and the tendency to their changes was established, the activity of AST and creatine kinase and concentration of crude bilirubin increased and the amount of cholesterol and zinc decreased

*В. В. Дубинский, М. Гольтерсгинкен, В. В. Влизло*

## **БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И СОДЕРЖАНИЕ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ КРОВИ КОРОВ ПРИ СКАРМЛИВАНИИ СИЛОСА С РАЗНЫМ УРОВНЕМ ЧИСТОГО ПРОТЕИНА**

### **А н н о т а ц и я**

В статье представлены результаты исследования биохимических показателей и содержания свободных аминокислот в крови коров немецкой черно-пестрой породы при скармлировании травяного силоса из злакового разнотравья с разным количеством чистого протеина. Установлено, что в крови коров, которым скармливали силос с уровнем чистого протеина 48,2 % от сырого протеина, все биохимические показатели находились в границах физиологических колебаний. В крови коров, которым скармливали силос со сниженным уровнем чистого протеина (40,9 % от сырого протеина), регистрировали уменьшение, по сравнению с контрольными, содержания свободных незаменимых аминокислот (цистеина, аргинина, глицина, аланина, тирозина, метионина, валина, фенилаланина, лейцина, изолейцина), общего кальция и селена. Другие биохимические показатели изменялись незначительно (витамины А и Е, ГГТ, ГЛДГ, мочевины, неорганический фосфор, купрум), или устанавливали тенденцию к увеличению активности АСТ и креатинкиназы, концентрации общего билирубина, а также снижению количества холестерина и цинка.

1. *Левченко В. І.* Ветеринарна клінічна біохімія / В. І. Левченко, В. В. Влізло, І. П. Кондрахін та ін. ; За ред. В. І. Левченка і В. І. Галаса. — Біла Церква, 2002. — 400 с.

2. *Зінов'єв С. Г.* Вплив мікроорганізмів на якість та поживність кормів / С. Г. Зінов'єв // Український біохімічний журнал. — 2002. — Т. 74., № 46. — С. 17–19.

3. *Greiling H.* Lehrbuch der Klinischer Chemie und Pathobiochemie / H. Greiling, A. M. Gressner // 3<sup>rd</sup> ed. Stuttgart. — New York, 1995.

4. *Schwagerick B.* Eine chronische Erkrankung bei Milchkühen mit Nachweis von Botulinumtoxin / B. Schwagerick, H. Böhnelt // Praktischer Tierarzt. — 2001. — 82 (7). — S. 516–524.

5. *Kellogg D. W.* Alterations of Amino Acids in Plasma of Lactating Cows During the Experimental Induction of Ketosis / D. W. Kellogg, D. W. Darnall // J. of Dairy Sci. — 1972. — Vol. 5. — № 12. — P. 1768–1774.

6. *Eschenlauer S.* Ammonia production by ruminal microorganisms and enumeration, isolation, and characterization of bacteria capable of growth on peptides and amino acids from the sheep rumen / S. Eschenlauer, N. D. Walker et al. // Appl. Environ. Microbiol. — 2002. — 68. — P. 4925–4931.

7. *Невоструєва І. В.* Перетравлення поживних речовин у шлунково-кишковому тракті корів при зниженні в раціоні кількості розщеплюваного в рубці протеїну / І. В. Невоструєва, І. В. Вудмаска // Біологія тварин. — 2008. — Т. 10, № 1–2. — С. 184–210.

**Рецензент:** гол. н. сп. лабораторії живлення ВРХ, д. б. н., проф. В. Г. Янович