

УДК 636.52/58-0.53:612.015.32

МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ В ОРГАНИЗМЕ ЛАКТИРУЮЩИХ КОРОВ В ЗИМНЕ-СТОЙЛОВЫЙ ПЕРИОД

Баран В.П., Соболева Ю.Г., Холод В.М., Белко А.А.

УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины»,
г. Витебск, Республика Беларусь

Изучены показатели липидного, белкового, минерального обменов у лактирующих коров в стойловый период. Установлено, что в начале стойлового периода происходит увеличение содержания общих липидов, триглицеридов, общего холестерина при низком содержании общего белка, альбуминов, апо-β-липопротеинов что в свою очередь сказывается низкими показателями молочной продуктивности. Данный дисбаланс указывает на нарушение транспорта и использования молочной железой липидов, образованных в процессе липогенеза в печени и липолиза в жировых депо.

Активизация биосинтеза белков в конце стойлового периода существенно оптимизирует транспорт и использование липидов, что выражается в существенном снижении содержания общих липидов, триглицеридов, повышении содержания фосфолипидов в крови и повышением среднесуточного удоя у лактирующих коров.

The indices of lipid, protein, mineral metabolism in lactating cows in winter-stable period have been studied. It has been established that at the beginning of winter-stable period the increasing of common lipids, triglycerides and common cholesterol occurs at low contents of common protein, albumins, apo-β-lipoprotein. This, in turn, leads to the low indices of milk performance. This unbalance shows the disorder of transportation and using by mammary gland the lipids formed during the process of lipogenesis in liver and lipolysis in fatty deposit.

Activation of protein biosynthesis at the end of winter-stable period considerably optimizes transportation and use of lipids. This is displayed in significant reducing the contents of common lipids and triglycerides, increasing the contents of phospholipids in blood and increasing average daily milk yield in lactating cows.

Введение. Производительность труда в сельском хозяйстве, во многом зависит от технологий выращивания и эксплуатации животных, которые учитывают возрастные и физиологические потребности организма в питательных веществах, витаминах, минералах, а также позволяют предотвращать массовое развитие заболеваний алиментарной и инфекционной этиологии. Для повышения производительности труда необходимо производить отбор животных по качественным показателям, направленным на получение максимальной продуктивности животных в возможно короткий промежуток времени.

Согласно Государственной программе устойчивого развития села на 2011-2015 годы необходимо достигнуть удоя на одну корову 6,3 тыс. кг при рентабельности 13%. Это требует более глубокого изучения генетических, физиологических и метаболических параметров отечественных пород скота, которые составляют основу поголовья в республике.

Общее функциональное состояние организма отражается в параметрах динамического гомеостаза внутренней среды, оказывает значительное влияние на продуктивность животных и компоненты внутренней среды, которые могут способствовать, препятствовать или не оказывать существенного влияния на степень реализации потенциальных наследственных задатков, продуктивности животных.

Поэтому данные о связи активности метаболитов обмена веществ и удоя коров мы рассматриваем как результат селекционного сочетания показателей продуктивности и внутренней среды, которые непосредственно связаны с осуществлением липидно-углеводного обмена.

Потребность животного в энергии не в полной мере может удовлетворяться за счет поступления питательных веществ с кормом. Так, в начале лактации высокий удой у коров обеспечивается, кроме энергии корма, суточной мобилизацией 2 кг жировых запасов липидных депо, поскольку обменные процессы в этот период направлены на утилизацию жирных кислот для молочной железы. Интенсивная селекция молочного скота на повышение надоев привела к тому, что генетический потенциал продуктивности в ранний период лактации превышает способность животного потреблять достаточное количество корма, что формирует состояние отрицательного энергетического баланса. В период глубокой стельности затраты энергии и пластических веществ у коров определяются скоростью роста плода, а в новотельный период — активностью биосинтеза и секреции компонентов молока, с одной стороны, и неадекватным экзогенным поступлением питательных веществ и энергии — с другой. При этом интенсивное использование жировых и белковых резервов для покрытия возникающего дефицита сопровождается так называемым «сдаиванием» животных и рядом существенных сдвигов в липидном обмене, определяющих последующую продуктивность и состояние здоровья высокопродуктивных коров.

В начале лактации общий обмен веществ практически полностью подчинен процессу молокообразования в вымени. При этом у высокопродуктивных коров за счет тканевых резервов обеспечивается почти половина энергетических затрат на образование компонентов молока (по некоторым данным, расходуется более 300 г белка и до 1000 г жира в сутки). В то же время активная мобилизация резервных липидов может тормозить потребление корма, угнетать собственный синтез липидов в молочной железе и провоцировать интенсивное образование кетоновых тел, вплоть до появления признаков кетоза.

В связи с вышеизложенным достаточно интересным является выяснение характера метаболических перестроек в организме лактирующих коров в зимне-стойловый период и выяснение

взаимосвязи показателей продуктивности коров с показателями липидного и белкового метаболизма дойных животных.

Материалы и методы исследований. Исследования проводились в ПРУП «Витебскоблгаз» филиале «Мазоловогаз». В опытах задействовали 30 коров белорусской черно-пестрой породы 4 – 7-летнего возраста, находящихся в одинаковых условиях. В процессе исследований изучалось содержание метаболитов липидного обмена: общих липидов (ОЛ), триглицеридов (ТГ), фосфолипидов (ФЛ), общего холестерина (ОХ), белкового обмена: содержание общего белка (ОБ), альбуминов (СА), активности ферментов аланинаминотрансферазы (АлАт), аспартатаминотрансферазы (АсАт), гамма - глутамилтранспептидазы (ГГТП) а также показателей минерального обмена – общего кальция (Са) и неорганического фосфора (Рн).

Кровь отбирали из яремной вены утром, до кормления. Сыворотку крови получали после свертывания крови при температуре + 37 °С с последующим охлаждением до + 4 °С и центрифугированием в течение 15 минут при 3000 об/мин.

Общий холестерол (ОХ) в сыворотке крови определяли ферментативным методом, с использованием набора НТК «Анализ Х». Содержание общих фосфолипидов (ФЛ) по липоидному фосфору - по количеству фосфора в осадке после минерализации, с последующим образованием фосфорнованадатмолибденовой кислоты с использованием наборов НТК «Анализ Х».

Содержание общих фосфолипидов (ФЛ) по липоидному фосфору - по количеству фосфора в осадке после минерализации, с последующим образованием фосфорнованадатмолибденовой кислоты с использованием наборов НТК «Анализ Х».

Определение содержания триглицеридов (ТГ) проводили по методу Flecher M.J. с применением наборов фирмы «Лахема». Исследование содержания общего кальция проводили по реакции с глиоксаль - бис-диоксианилином с использованием набора НТПК «Анализ Х». Содержание общего фосфора проводили по реакции образования фосфорномолибденовой кислоты с использованием набора НТПК «Анализ Х».

Концентрацию общего белка исследовали биуретовым методом с помощью стандартных наборов реактивов производства НТПК «Анализ Х». Расчет вели по калибровочным кривым. Содержание альбуминов определяли по реакции с бромкрезоловым зеленым с использованием стандартных наборов реактивов производства НТПК «Анализ Х» (Республика Беларусь).

Индикаторные ферменты АСТ (КФ 2.6.1.1) и АЛТ (КФ 2.6.1.2) определяли константным методом с использованием стандартных наборов реактивов производства НТПК «Анализ Х» (Республика Беларусь). Активность щелочной фосфатазы (ЩФ, фосфомоноэстераза I, КФ 3.1.3.1) определяли по образованию 4 – нитрофенола при гидролизе 4 - нитрофенилфосфата в N- метил - D - глюкозаминоном буфере с образованием 4 - нитрофенола и фосфата. Содержание 4 – нитрофенола определяли спектрофотометрически по приросту оптической плотности инкубационной смеси при 420 нм в течение 3 мин.

Определение холинэстеразной активности (ХЭ, ацилхолингидролаза «неспецифическая», псевдохолинэстераза, КФ 3.1.1.8) проводили спектрофотометрически с применением наборов фирмы «Лахема» (Чехия) модифицированным нами методом. Активность фермента определяли по приращению оптической плотности инкубационной смеси при 405 нм в интервале с 10 - й по 70 - ю секунду вместо требуемого по методике интервала между 30 - й и 90 - й секундой исходя из того, что определение ферментативной активности следует проводить в оптимальных для данного показателя условиях. В предложенном нами временном интервале активность сывороточной ХЭ в среднем на 40 % выше.

Изучение гамма - глутамилтранспептидазы (ГГТП, гамма - глутамилтрансфераза, ГГТФ, КФ 2.3.2.2) проводили унифицированным методом по «конечной точке» с использованием наборов ООО «ОльвексДиагностикум» (Россия, Санкт-Петербург).

Тимоловую пробу ставили с использованием стандартного набора реактивов производства НТПК «Анализ Х».

Содержание апо-β-липопротеинов (апо - β – ЛП по Бурштейну и Самай) в сыворотке крови определяли турбидиметрическим методом с использованием хлористого кальция и гепарина с применением наборов фирмы «Лахема» (Чешская республика).

Исследования проводились в середине (январь - февраль 2008 года) и в конце стойлового периода (апрель 2007 - март 2008 года).

Полученные данные были обработаны статистически с использованием программы «Microsoft Excel».

Результаты исследований. Обращают на себя внимание значительные различия в продуктивности лактирующих коров в середине и конце стойлового периода (таблица 1). Так, среднесуточный удой в конце стойлового периода был достоверно выше на 21,05 % по отношению к начальному периоду исследований.

При анализе показателей липидного обмена необходимо отметить значительное снижение содержания общих липидов - в 3,89 раза, триглицеридов - в 2,17 раза. В то же время уровень общего холестерина не имел значимых изменений по сравнению с предыдущим сроком исследований. Содержание общих фосфолипидов к концу стойлового периода достоверно возрастало в 1,43 раза. Проба на содержание апо - β - липопротеинов является тестом определения суммарного содержания бета - и пре-бета-липопротеинов, которые являются транспортными формами холестерина. Уровень апо - β - ЛП за период наблюдений возрастал на 41,8 %.

Выявленные изменения в метаболизме липидов в немалой степени связаны с одной стороны с обеспечением энергетическими субстратами клеток и тканей собственного организма и развивающегося плода, а с другой – с необходимостью обеспечения молочной железы компонентами для биосинтеза молока. Снижение содержания ОЛ, ТГ, общего холестерина, возможно, связано с их использованием на биосинтез компонентов липидов молока в молочной железе. По данным ряда авторов высокопродуктивная корова может расходовать из тканей тела более 300 г белка и до 1000 г жира в сутки (Овчаренко и соавт., 1975). По другим наблюдениям высокий удой у коров обеспечивался, кроме энергии корма, путем мобилизации 2 кг жира тела в день (Исламова, 1968; Charmanetal., 1985). В условиях доминанты лактации липогенетическая активность жировой ткани падает, а молочной железы возрастает. По ряду данных (Emery, 1979; Vernon, Cleg, Flint, 1985), за период ранней лактации у коров расходуется до 60 кг тканевых липидов. Вместе с тем мобилизация резервных липидов, кроме положительного влияния, при резко выраженной степени, имеет и свои отрицательные стороны: она может тормозить потребление корма, угнетать липосинтезирующую функцию молочной железы. При этом существует возможность развития кетоза. Поскольку кетоновые тела имеют меньший энергетический эффект, чем углеводы и липиды корма, то организм может испытывать дефицит энергетических субстратов и снижать продуктивность. Следовательно, количество и активность использования жировых запасов – критические факторы оптимизации молочной продуктивности, потребления корма, воспроизводства и состояния здоровья коров.

При статистической обработке полученных результатов было изучено наличие корреляционных взаимосвязей между показателями метаболизма липидов и среднесуточным удоем у лактирующих коров. Так, было выявлено наличие устойчивой взаимосвязи среднесуточного удоя с содержанием общих липидов в сыворотке крови ($r = 0,99$), уровнем общих фосфолипидов ($r = 0,67$), отрицательной корреляционной зависимости среднесуточного удоя и содержанием апо – β - ЛП ($r = - 0,91$).

Таблица 173 - Показатели липидного обмена и продуктивности лактирующих коров в середине и конце зимне - стойлового периода

Показатели	Середина стойлового периода	Конец стойлового периода
Среднесут. удой, л	15,00 ± 1,26	19,00 ± 2,02*
ТГ, ммоль/л	1,35 ± 0,07	0,62 ± 0,10***
ОЛ, г/л	8,37 ± 0,56	2,15 ± 0,20***
ОХ, ммоль/л	4,78 ± 0,34	4,70 ± 0,30
ФЛ, ммоль/л	4,57 ± 1,07	6,51 ± 0,56**
Апо- β -ЛП, у.е.	14,05 ± 0,83	24,14 ± 1,89***

Примечание: *P < 0,05; **P < 0,01; *** P < 0,001 по отношению к началу исследований.

При анализе результатов исследования показателей белкового метаболизма (таблица 174) обращает на себя внимание достоверное увеличение содержания общего белка в сыворотке крови. Так, к концу периода наблюдений уровень общего белка возрастал на 27,26 % . Аналогично происходило изменение содержания сывороточного альбумина, уровень которого возрастал на 47,33 % по сравнению с начальным периодом исследований.

Таблица 174 - Показатели белкового метаболизма лактирующих коров в середине и конце стойлового периода

Показатели	Середина стойлового периода	Конец стойлового периода
ОБ, г/л	58,11 ± 1,19	79,89 ± 2,95***
СА, г/л	12,13 ± 0,26	23,03 ± 0,58***
АСТ, мккат/л	0,26 ± 0,02	0,20 ± 0,03
АЛТ, мккат/л	0,19 ± 0,02	0,16 ± 0,02
ХЭ, мккат/л	4,89 ± 1,54	20,89 ± 9,58**
ТП, S-H	0,46 ± 0,12	2,02 ± 0,55*
ГТП, мккат/л	0,21 ± 0,03	1,01 ± 0,03

Примечание: *P < 0,05; **P < 0,01; *** P < 0,001 по отношению к началу исследований

Активность ферментов трансаминаз имела противоположную тенденцию в динамике изменений. Так, активность АСТ снижалась на 23,08 %, а уровень активности АЛТ - на 15,79. Активность ХЭ у лактирующих коров к концу периода исследований значительно возросла: в 4,27 раза. ХЭ синтезируется в печени, откуда секретируется в плазму вместе с альбумином, вырабатываясь в одном с ним локусе, поэтому степень ее активности в крови служит тестом, отражающим функциональное состояние печени.

Тимоловая проба также является ориентировочным тестом оценки функционального состояния печени. С ее помощью удается диагностировать «синдром воспаления», который сопровождает многие поражения печеночной паренхимы. В ответ на значительное повышение содержания общего белка и альбуминов происходит значимое увеличение показателя тимоловой пробы как маркера увеличения синтеза бета - и гамма – глобулинов, в основном связанных с бета - глобулинами липидов. Так, уровень сульфгидрильных групп имел достоверное повышение к концу периода наблюдения - в 4,39 раза.

ГТП - преимущественно мембранно-связанный гликопротеин, катализирующий перенос аминокислот через клеточную мембрану. Она регулирует разрушение и конъюгацию глутатиона, тем самым влияет на синтез белка в тканях. Также ГТП обеспечивает катализ, связанный с гидролизом гамма - глутамилового пептида с образованием свободной гамма - глутамилового кислоты (Henryetal.,

1974). Активизация синтеза белка в организме лактирующих коров сопровождалась достоверным повышением активности ГГТП в 4,80 раза.

При выяснении наличия корреляционных взаимосвязей были выявлены положительные корреляции высокой степени среднесуточного удоя с активностью ГГТП ($r = 0,79$), активностью АЛТ ($r = 0,64$), уровнем сульфгидрильных групп тимоловой пробы ($r = 0,87$), положительной взаимосвязи средней степени с содержанием альбуминов в крови ($r = 0,53$), отрицательной корреляции высокой степени среднесуточного удоя с содержанием общего белка ($r = - 0,99$).

При изучении показателей минерального обмена (таблица 175) было выявлено значительное достоверное повышение содержания кальция в крови коров к концу зимне - стойлового периода. Так, уровень кальция в сыворотке крови возрастал на 38,65 % по сравнению с начальным периодом исследования. Возможно, столь значимое увеличение кальция при стабильном рационе связано со снижением его расходования на построение скелета плода в д стельности. В пользу нормализации обеспечения кальцием организма лактирующих коров указывает и снижение активности щелочной фосфатазы с $0,71 \pm 0,05$ мккат/л до $0,38 \pm 0,06$ мккат/л.

Содержание неорганического фосфора к концу периода наблюдений достоверно повышалось на 11,28 %. Прослеживается наличие отрицательной корреляции средней степени среднесуточного удоя и содержания кальция в крови ($r = - 0,58$).

Таблица 175 - Показатели минерального обмена лактирующих коров в середине и конце зимне – стойлового периода

Показатели	Середина стойлового периода	Конец стойлового периода
P неорг., ммоль/л	$4,09 \pm 0,29$	$4,61 \pm 0,54$
Ca, ммоль/л	$1,28 \pm 0,13$	$2,07 \pm 0,07$

Примечание: *** $P < 0,001$ по отношению к началу исследований.

Заключение. Метаболизм липидов и белков в середине и конце стойлового периода имеет существенные различия. В начале стойлового периода происходит увеличение содержания ОЛ, ТГ, ОХ, что, возможно, обусловлено высоким уровнем липолиза в жировых депо. Однако высокий уровень липидов в крови при низком содержании общего белка, альбуминов, апо-β-ЛП сопровождается низкими показателями продуктивности, что указывает на нарушение транспорта и использования молочной железой липидов, образованных в процессе липогенеза в печени и липолиза в жировых депо.

Активизация биосинтеза белков (ОБ, СА, апо-β-ЛП, бета - и гамма -глобулинов) в конце стойлового периода существенно оптимизирует транспорт и использование липидов, что выражается в существенном снижении содержания ОЛ, ТГ, повышении содержания ФЛ в крови и повышением среднесуточного удоя у лактирующих коров.

Для повышения продуктивности лактирующих коров в стойловый период необходимо оптимизировать соотношение липидов, белков, кальция в рационе с учетом энергетических потребностей организма и планируемой продуктивности, что обеспечивало бы их нормальное всасывание, транспорт и вовлечение в метаболизм белков и липидов молока. В то же время метаболические изменения обмена липидов и белков в организме коров в связи с доминантой лактации требуют дальнейшего глубокого изучения, поскольку такие исследования позволили бы лучше понять вклад тканевых липидных резервов в общую энергетику организма и образование молока, что позволило бы обеспечивать более обоснованную подготовку рациона животных к лактации с заданной продуктивностью.

Литература. 1. Душкин Е.В. О связи между функцией молочной железы и жировой дистрофией печени у высокопродуктивных коров / Е.В. Душкин // *Сельскохозяйственная биология*, 2010, № 2, с. 18-24. 2. Холод, В.М. Справочник по ветеринарной биохимии / В.М. Холод, Г.Ф. Ермолаев – Мн.: Ураджай, 1988.- 168 с.3. Кармолиев, Р.Х. Клинико-биохимическая оценка патологических процессов в организме животных: учеб. пособие / Р.Х. Кармолиев; Моск. гос. акад. ветеринар. медицины и биотехнологии. – М.: МГАВМИБ, 1997. – 49 с. 4. Мотузко Н.С. Содержание общих липидов в сыворотке крови крупного рогатого скота / Н.С. Мотузко, О.В. Хвостова // *Ученые записки Витебской ордена «Знак Почета» государственной академии ветеринарной медицины*, 2003. – Т. 39, ч. 2. – С. 77-79. 5. Камышников, В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2 т. / В.С. Камышников. – Мн.: Беларусь, 2000. – Т.2. – 495 с. 6. Янович, В.Г. Обмен липидов в тканях у животных в онтогенезе / В.Г. Янович, П.З. Лагодюк - М., Агропромиздат.- 1991. - 317с. 7. Холод, В.М. Рекомендации по использованию в диагностике патологии печени гепатоспещифического метаболического профиля сыворотки крови крупного рогатого скота: утв. ГУВ МСХиП РБ 21.03.2008 г. / В.М. Холод, Ю.Г. Соболева. - Витебск: ВГАВМ, 2008. - 31 с. 8. Казарцев, В.В. Унифицированная система биохимического контроля за состоянием обмена веществ коров / В.В. Казарцев, А.Н. Ратошный // *Зоотехния*. – М., 1986. – Вып. 3. – С. 323 – 330. 9. Кожевникова, Л.К. Использование принципов биохимического мониторинга в животноводческих промышленных комплексах / Л.К. Кожевникова // *Физиология продуктивности животных – решению Прод. Программы СССР: Материалы Всесоюз. конф., Тарту, 13 – 15 сент. 1989 г. – Таллинн, 1990. – Ч. 1. – С. 32 – 33. 10. Корякина, Л.П. Об особенностях биохимических показателей крови крупного рогатого скота в Центральной Якутии / Л.П. Корякина // *Сельскохозяйственная биология*. – 2008. - № 4. – С. 71 – 73. 11. Сафонов, В.А. Клиническое значение показателей белкового и микроэлементного гомеостаза высокопродуктивных молочных коров / В.А. Сафонов // *Актуальные проблемы ветеринарной медицины: материалы Междунар. науч. – практ. конф., посвящ. 125 – летию ветеринарии Курской обл., Курск, 22 – 23 мая 2008 г. / Курск. гос. с.-х. акад. – Курск, 2008. – С. 350 – 353. 12. Скиба, О.О. Профілактика порушень мінерального обміну в організмі корів із застосуванням сполук біогенних мікроелементів: автореф. дис... канд. вет. наук: 16.00.01 / О.О. Скиба; Нац. аграр. ун-т. – Киев, 2006. – 21 с.**

Статья передана в печать 04.01.2013г.